

## **Relazione I anno**

### **PROGETTO DI RICERCA FIRS “SOIL-SINK”**

#### **Linea 3 Diversità genetica e funzionale dei microrganismi**

#### **Unità Operativa -06 Diversità genetica e funzionale dei funghi simbiotici**

**Capofila : *Paola Bonfante***

L'unità operativa 06 si compone di due gruppi di ricerca:

- Torino: Dipartimento di Biologia Vegetale dell'Unito e IPP-CNR
- Roma: CRA, Istituto per la Nutrizione delle Piante

Scopo generale della Unità operativa è l'identificazione di funghi micorrizici arbuscolari (AM) in due campi sperimentali uno nelle Marche e l'altro in Sardegna aventi differenti caratteristiche pedoclimatiche e culturali. In particolare, si intende studiare le eventuali influenze di diversi parametri, quali il sito, la stagione, la coltura e la pratica agronomica, sulla diversità ecologica delle comunità endemiche di funghi micorrizici arbuscolari.

Obiettivi specifici affrontati nel 1°anno :

- Identificazione di funghi micorrizici arbuscolari attraverso approcci morfologici e molecolari nell' agrosistema collinare di “Serra de' Conti” (AN) e nei vigneti di Berchidda (SS).
- Studio della composizione e biodiversità delle comunità di funghi AM associati a sistemi agricoli a diversa condizione culturale (suolo lavorato *versus* sodo, a diverse concimazioni di N, suolo ad inerbimento naturale *versus* suolo lavorato)

## RELAZIONE SULLA ATTIVITA' SVOLTA DAL GRUPPO DI RICERCA COORDINATO da Paola Bonfante

Gruppo di lavoro: Erica Lumini, Roberto Borriello, Francesca Gatto, Valeria Bianciotto.

Scopo dell'attività di questa prima fase è quello di identificare i funghi AM attraverso un approccio molecolare

Al fine di valutare la composizione e la biodiversità della comunità dei funghi AM nei siti individuati dal progetto, il gruppo di Torino ha affrontato il lavoro analizzando la presenza dei funghi micorrizici nelle radici attraverso osservazioni morfologiche, e identificando tali funghi nel suolo e nelle radici attraverso un approccio molecolare,.

### Materiali e metodi

#### Campionamento

##### A. Sito marchigiano (Serra de' Conti Ancona):

Il primo campionamento è stato eseguito nell'Autunno 2006 (19/10/2006) in accordo con altre unità operative afferenti alla LINEA3, sui suoli coltivati a mais e frumento; il secondo campionamento è stato eseguito nella tarda primavera 2007 (giugno) durante il ciclo vegetativo del mais. Questo sito è ripartito in due blocchi suddivisi in diverse parcelle, le quali differiscono tra loro per il tipo di lavorazione effettuata (lavorato (tradizionale) e non lavorato (sodo) e per il livello di concimazione (0 e 90 U di N). Ogni tesi è stata replicata due volte.

In dettaglio sono stati campionati:

- suolo sul tipo di lavorazione "suolo sodo" e suolo lavorato,
- piante spontanee (*Plantago*, *Setaria*, *Epilobium*) sul tipo di lavorazione "suolo sodo" nel primo campionamento
- Piante di mais, nel secondo campionamento

Sia sul suolo che sulle radici delle piante spontanee sono state effettuate estrazioni di DNA totale e successive amplificazioni PCR con primer per funghi AM per valutare e confrontare la composizione della comunità AM in queste due situazioni

Allo stato attuale sono stati analizzati i campioni di suolo riportati in tabella :

BLOCCO	TIPO DI LAVORAZIONE	TIPO CONCIMAZIONE	DI	CODICE UTILIZZATO
B1	Suolo sodo	N 0		S0-2
B1	Suolo sodo	N 0		S0-3
B1	Suolo sodo	N 90		S1-2
B1	Suolo sodo	N 90		S1-3
B1	Suolo lavorato	N 0		T0-2
B1	Suolo lavorato	N 0		T0-3
B1	Suolo lavorato	N 90		T1-2
B1	Suolo lavorato	N 90		T1-3

##### B. Sito sardo (Berchidda -SS)

Il suddetto sito è caratterizzato da due vigneti a diversa condizione colturale (vigneto inerbito e vigneto lavorato).

Il primo campionamento è stato eseguito nell'Inverno 2007 (5-6/02/07) sui suoli di vigneto inerbito e lavorato, il secondo campionamento è stato eseguito nella primavera 2007 (2-3/05/07). Quest'ultimo è stato effettuato in accordo con altre unità operative afferenti alla LINEA3.

In dettaglio sono stati campionati:

- Suolo dei due vigneti con diverso tipo di lavorazione in prossimità delle piante di vite e nell'interfila.
- Radici di vite

## **Analisi morfologica e molecolare**

Le radici sono state separate da suolo e utilizzate per analisi morfologiche e molecolari. Ciascun campione di radice è stato separato dal suolo rizosferico e sottoposto a lavaggio in H<sub>2</sub>O distillata. In particolare, le radici destinate all'analisi molecolare sono state conservate a -80°C così come i campioni di suolo rizosferico.

Le radici destinate ad analisi morfologiche sono state colorate con Blu cotone 0.1% (soluzione in Ac. Lattico 80%) al fine di stabilirne lo stato micotrofico e in particolare la presenza di funghi micorrizici.

È stata fatta un'estrazione di DNA direttamente dal suolo e successiva amplificazione in PCR con diverse coppie di primer per batteri e funghi per verificarne l'amplificabilità.

Nel primo periodo è stata eseguita una messa a punto sia delle condizioni di reazione (cicli PCR, utilizzo di Touch-down) che della miscela di reazione migliore per l'amplificazione.

Sia l'estrazione del DNA dai suoli che la successiva amplificazione in PCR si è rivelata difficoltosa rispetto a quelle normalmente effettuate nei nostri laboratori su altri tipi di suolo, probabilmente per la presenza di quantità notevoli di argilla.

La presenza di funghi AM nel suolo e *in planta* è stata evidenziata utilizzando due coppie di primers disegnate per l'amplificazione di un frammento di circa 550 paia di basi della subunità minore (SSU) e maggiore (LSU) del DNA ribosomale.

Il DNA estratto è stato amplificato con successo con primer fungini sia dai campioni provenienti dal sito marchigiano che da quelli sardi. I prodotti PCR ottenuti sono stati purificati e sottoposti a clonaggio con vettore pGEM-T. Dopo trasformazione sono state allestite minilibrary allo scopo di verificare, per un numero utile di cloni, i possibili profili di restrizione.

L'analisi PCR-RFLP ha permesso di ottenere cloni rappresentativi per ciascun RFLP che sono stati sequenziati per l'identificazione molecolare dei funghi AM presenti nel sistema agronomico considerato.

## **Risultati e discussione**

### Analisi morfologica

Nei due siti considerati tutte le piante campionate (sia spontanee che coltivate) sono risultate micorrizzate e ricche di arbuscoli (considerati l'interfaccia di scambio tra fungo/pianta). Questo ci ha permesso di concludere **che l'inoculo è presente ed attivo nel suolo in entrambi i siti sperimentali.**

La Fig. 1 a, b rappresenta due radici completamente micorrizzate delle piante spontanee campionate nel primo campionamento del sito delle Marche. La frequenza di micorrizzazione è risultata molto alta (circa 90%) in tutte le piante spontanee analizzate (*Plantago*, *Setaria*, *Epilobium*).

In particolare per la *Plantago* i valori sono stati i seguenti:

F= 90% Frequenza di micorrizzazione

M=24,35% Intensità di colonizzazione del parenchima corticale

a=60,19% Presenza e qualità degli arbuscoli-della parte micorrizzata della radice  
A=14,66% Qualità degli arbuscoli su tutta la radice considerata.

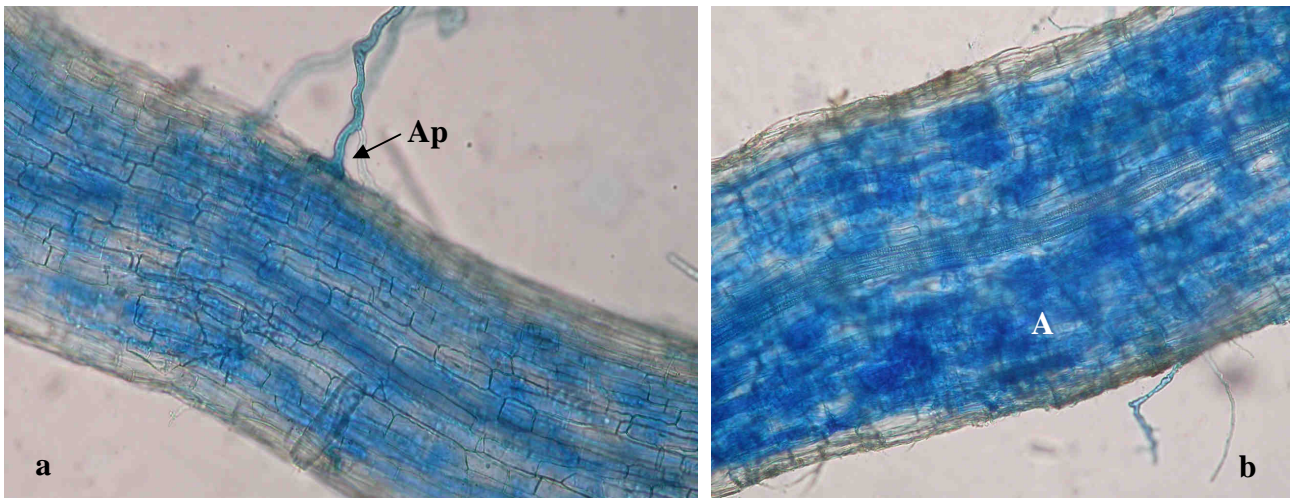


Fig. 1 a, b. Radici micorrizzate di *Plantago* sp.(a) e *Setaria* sp.(b). Il parenchima corticale risulta completamente colonizzato con tipiche strutture fungine micorrizico arbuscolari (Ap: appressorio, A: zona con arbuscoli):

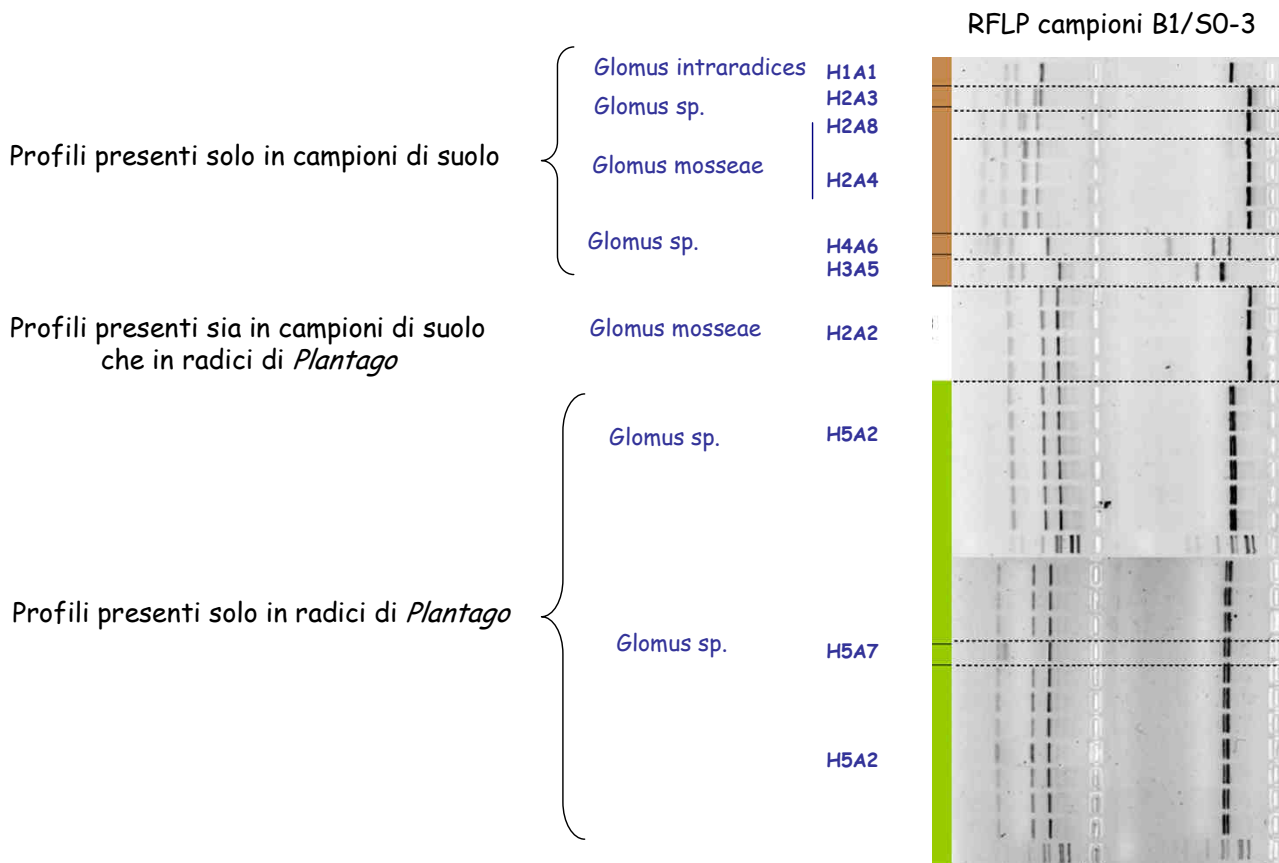
#### Identificazione molecolare dei Funghi AM

##### *Sito marchigiano*

La messa a punto dell'estrazione di DNA da suolo e da radici ha permesso di identificare sequenze diverse riferibili **a funghi AM e quindi di concludere che l'inoculo micorrizico arbuscolare è presente e diversificato.**

L'analisi di circa 300 cloni ha portato all'identificazione di 14 RFLP types per la SSU, e 12 RFLP types per la LSU corrispondenti a sequenze genomiche di funghi AM; sono stati inoltre rilevati alcuni profili corrispondenti ad altri microrganismi del suolo.

In particolare per i risultati ottenuti sui campioni di suolo non lavorato (sodo): il confronto dei profili RFLP e delle sequenze ottenute da suolo e da radici di piante spontanee ha evidenziato che alcuni AMF phlotypes sono presenti sia nella radice che nel suolo, mentre altri sono caratteristici o del suolo o della radice. **Quindi la comunità' AMF presente nei due comparti (suolo-radice) differisce lasciando supporre che le radici delle piante ospiti siano "recettive o preferenziali" verso alcuni taxa di AMF presenti nel suolo (Fig.3).**



**Fig.3:** Identificazione molecolare di funghi micorrizici arbuscolari presenti nel suolo non lavorato (campione S0-3) e sulle radici di *Plantago*.

**Inoltre il confronto dei profili RFLP e delle sequenze ottenute da suolo non lavorato e lavorato ha evidenziato che tali suoli sono caratterizzati da un numero e un tipo di profili diversi.** Per caratterizzare la diversità delle specie componenti la comunità fungina arbuscolare è stato calcolato l'Indice della diversità ecologica di Shannon (H). (Esso considera l'abbondanza relativa di una specie in rapporto alle altre presenti nel campionamento. Effettuando un conteggio in un determinato sito delle specie presenti: si otterranno dei valori alti nel caso in cui l'area campionata presenti un'elevata densità di specie mentre si otterrà valore 0 se tutti gli individui campionati appartengono alla stessa specie).

La biodiversità della comunità fungina micorrizico arbuscolare (AMF diversità) misurata con l'indice di Shannon varia da  $H=0,8$  per il suolo lavorato a  $H=1,46$  per il suolo sodo dove è stato inoltre possibile calcolare lo stesso indice combinando i dati ottenuti dall'analisi del suolo e quelli derivati dalla specie ospite spontanea *Plantago* sp. ( $H=1,98$ ) che risulta essere un buon indicatore di quali funghi AM sono presenti in un particolare sito (Scheublin et al. AEM 2004).

Pur tenendo conto che fattori, quali la taglia del campione, l'area di campionamento e il numero di cloni analizzati, possono influenzare il valore di diversità dei funghi AM, i dati ottenuti risultano per il suolo lavorato in accordo con quelli ottenuti da altri autori per agroecosistemi caratterizzati da agricoltura intensiva (high input agriculture systems) (Helgason et al. 1998, Oehl et al. 2003, and Daniell et al. 2001).

Per ciò che concerne il suolo sodo, l'indice H si avvicina ai valori riscontrati in ecosistemi meno perturbati quali i pascoli di zone temperate (Vandenkoornhuysse et al. 2002).

**Inoltre, dai primi dati risulta che la fertilizzazione non sembra avere influenza significativa sulle comunità AMF che invece risultano significativamente influenzate dai due diversi tipi di lavorazione.**

Dai campioni fin'ora analizzati si sono ottenute un centinaio di sequenze corrispondenti ai diversi profili RFLP individuati per le due subunità ribosomali.

Per verificare l'identità delle sequenze, esse sono state successivamente utilizzate come queries per interrogazioni in GenBank attraverso l'algoritmo di ricerca NCBI BLAST. Le sequenze sono state allineate con ClustalX, che ha permesso l'identificazione dei polimorfismi. Gli allineamenti sono stati aggiustati manualmente con GeneDoc e sono stati utilizzati per analisi filogenetiche Neighbour-Joining (NJ) con K-2-P (Kimura two-parameter) e Maximum Parsimony method (MP) con MEGA version 4 (Tamura, Dudley, Nei, and Kumar 2007). La robustezza dei rami interni è stata saggiata con un'analisi bootstrap (1000 ripetizioni).

L'analisi filogenetica delle sequenze ottenute dimostra che i phylotypes di funghi AM maggiormente presenti sono appartenenti al genere *Glomus* dei due gruppi "Glomus group A" e "Glomus group B" (secondo la classificazione Schuessler et al. 2001 e Schwarzott et al. 2001) e ad alcuni membri della famiglia Diversisporaceae.

In particolare all'interno del gruppo "Glomus group A (Aa-Ab)" sembrano essere presenti funghi AM filogeneticamente correlati con *Glomus mosseae*, *G. intraradices*, *G. caledonium*, *G. fasciculatum* e numerosi altri *Glomus* sp. che non è possibile, sulla base delle sequenze ottenute, associare a specie tipo ben caratterizzate..

#### *Sito sardo*

Sui campioni di suolo prelevati è stato applicato lo stesso protocollo per l'estrazione ed amplificazione del DNA messo a punto sui suoli del sito marchigiano.

Tutti i campioni analizzati sono stati amplificati con successo con entrambe le coppie di primers fungini arbuscolari.

E' da sottolineare che in questo caso l'amplificazione del DNA direttamente dal suolo è risultata più semplice rispetto al suolo argilloso dei campioni marchigiani.

Attualmente si sta procedendo al clonaggio, screening dei cloni RFLP e sequenziamento.

## **RELAZIONE SULLA ATTIVITA' SVOLTA DAL GRUPPO DI RICERCA COORDINATO dalla dott. Elvira Rea**

Gruppo di lavoro: Monica Tullio, Carlos Rivera e Cristina Mirabelli.

Scopo dell'attività è la caratterizzazione morfologica delle spore di funghi AM presenti nel suolo al fine di valutare le eventuali influenze di diversi parametri quali il sito, la stagione, la coltura e la pratica agronomica, sulla diversità ecologica delle comunità endemiche di tali funghi.

Lo studio ha riguardato le comunità di funghi AM endemiche di due campi: uno sito in provincia di Ancona ed un altro sito in provincia di Sassari.

### **Caratterizzazione morfologica delle spore di funghi AM presenti nel suolo di un campo sito in provincia di Ancona.**

Il suddetto campo è ripartito in due blocchi suddivisi in diverse parcelle, le quali differiscono tra loro per il tipo di lavorazione effettuata (tradizionale e non lavorato) e per il livello di concimazione (0 e 90 U di N). Ogni tesi è stata replicata due volte.

L'attività è consistita in:

- Prelievi di suolo (0-30 cm), tre per ogni parcella, equidistanti e posti su di una ipotetica linea centrale, sono stati effettuati nel mese di Novembre 2006 (prima della semina del mais e successivamente alla lavorazione ed alla concimazione) e Giugno 2007 (durante il ciclo vegetativo del mais). I campioni di suolo sono stati messi a seccare all'aria.

Sui campioni di suolo prelevati nel mese di Novembre 2006 è stata effettuata:

- La separazione delle spore di funghi micorrizici Arbuscolari dal suolo e successivo riconoscimento morfologico. Una quantità fissa di terreno (50 g) è stata sospesa in acqua e dopo decantazione si è proceduto al setacciamento (luce netta dei setacci 500  $\mu$ m, 180  $\mu$ m, 125  $\mu$ m e 63  $\mu$ m). Le spore, raccolte da ogni setaccio e versate in una capsula Petri con una griglia composta da quadrati di 1 cm di lato, sono state osservate e contate allo stereoscopio. Per l'identificazione morfologica delle spore sono state consultate le descrizioni originali (Schenck and Perez, 1990) ed un database creato da Morton consultabile su internet ([http://invam.caf.wvu.edu/Myc\\_Info/Taxonomy/species.htm](http://invam.caf.wvu.edu/Myc_Info/Taxonomy/species.htm)).

Sono state effettuate due repliche per ogni campione.

- La determinazione di indici ecologici. Sono stati determinati i seguenti indici ecologici:  
Indice di ricchezza di Margalef come misura della diversità delle specie in relazione al numero totale di specie presenti ed al numero totale delle spore rinvenute ( $R_m = (R-1)/\log N$ , R è il numero di specie appartenenti alla comunità, N è il numero totale di tutte le spore rinvenute) (Margalef, 1958).

Indice della dominanza ecologica come misura della dominanza di una specie nella comunità ( $C = ((N_i/N)/R)^2$ ,  $N_i$  è il numero delle spore appartenenti alla specie  $i_{esima}$ ) (Simpson, 1949).

Indice della diversità ecologica di Shannon Wiener come misura comunemente utilizzata per caratterizzare la diversità ecologica delle specie componenti una comunità ( $H' = -\sum((N_i/N)/\log(N_i/N))$ ) (Begon et al., 1998).

Densità delle spore (D) come misura del numero di spore AM presenti in 50 g di suolo.

Tutti i risultati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica mediante metodo ANOVA ( $p < 0,05$ ).

### **Caratterizzazione morfologica delle spore di funghi AM presenti nel suolo di vigneti siti in provincia di Sassari.**

In provincia di Sassari, sono stati effettuati prelievi di suolo in due vigneti, i quali differivano tra di loro per la gestione del suolo (lavorazione, inerbimento).

L'attività è consistita in:

- **Prelievi di suolo** (10-30 cm) sono stati effettuati nel mese di Maggio 2007, durante il ciclo vegetativo della vite. Carotaggi di suolo sono stati condotti sia nell'interfila che il più possibile vicino alla pianta. I campioni di suolo sono stati messi a seccare all'aria.

## Risultati

- **Comunità di funghi micorrizici arbuscolari presente nel suolo del campo di Ancona.**

La comunità di funghi micorrizici arbuscolari presente nel suddetto campo sperimentale, prima della semina del mais e dopo la lavorazione e concimazione, era composta dalle seguenti specie: *G. clarum*, *G. mosseae*, *G. geosporum*, *G. luteum*, *G. etunicatum*, *G. versiforme*, *G. deserticola*. La densità spongina risulta essere influenzata solamente dalla lavorazione del suolo e non dalla concimazione. Le parcelle non lavorate possiedono una dotazione di propaguli nel suolo più alta rispetto a quelle lavorate (tab. 1).

Tab. 1- Valori di densità spongina rilevati nel campo sperimentale di Ancona

	<b>Densità spore N750 g suolo</b>
<b>Non lavorato</b>	<b>153</b>
<b>Lavorato</b>	<b>129</b>
<b>Sig</b>	<b>*</b>
<b>0 N</b>	<b>136</b>
<b>90 N</b>	<b>146</b>
<b>Sig</b>	<b>ns</b>

Lettere diverse differiscono in modo statisticamente significativo ( $p \leq 0.05$ ) in base al Fisher's least significant difference test (LSD)

Per quanto riguarda gli indici ecologici considerati, solo l'indice di Ricchezza di Margalef presenta una relazione statisticamente significativa con il fattore lavorazione del suolo. Le parcelle lavorate presentano i valori più alti di tale indice rispetto a quelle non lavorate (tab. 2).

Tab. 2- Valori dell'Indice di Ricchezza di Margalef (Rm), Indice della dominanza ecologica (C) e dell'Indice di diversità ecologica di Shannon Wiener (H') della comunità fungina presente nel campo sperimentale di Ancona.

	<b>Rm</b>	<b>C</b>	<b>H'</b>
<b>Non lavorato</b>	<b>2,76</b>	<b>0,00034</b>	<b>1,30</b>
<b>Lavorato</b>	<b>2,86</b>	<b>0,00044</b>	<b>1,33</b>
<b>Sig.</b>	<b>*</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>0 N</b>	<b>2,82</b>	<b>0,00037</b>	<b>1,33</b>
<b>90 N</b>	<b>2,79</b>	<b>0,00041</b>	<b>1,30</b>
<b>Sig.</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>

Lettere diverse differiscono in modo statisticamente significativo ( $p \leq 0.05$ ) in base al Fisher's least significant difference test (LSD)



## **Conclusioni**

Le osservazioni condotte sulla comunità endemica di funghi micorrizici arbuscolari presenti in un campo sito in provincia di Ancona hanno confermato che la densità di propaguli fungini è influenzata dalla lavorazione alla quale è sottoposto il suolo, come è noto dalla bibliografia (Jansa et al., 2003, Romani et al., 2005).

Per quanto riguarda la ricchezza in specie delle comunità studiate, non è chiaro il motivo per il quale la comunità fungina presente nelle parcelle lavorate risulta possedere un valore di ricchezza in specie maggiore rispetto a quella presente nelle parcelle non lavorate. La differenza osservata è dovuta non al numero di specie rinvenute, in quanto tutte le parcelle possiedono lo stesso numero di specie presenti, bensì al numero totale di individui costituenti tali comunità che risulta essere inferiore in quella presente nelle parcelle lavorate. Tuttavia le osservazioni condotte sono da considerarsi il punto di partenza per quelle che si protrarranno negli anni successivi. Le ulteriori indagini permetteranno di ottenere informazioni fondamentali sulla dinamica delle comunità fungine in funzione dei diversi parametri considerati.

## **Unità Operativa -06 Diversità genetica e funzionale dei funghi simbiotici**

### **Conclusioni generali**

Grazie ad approcci combinati di morfologia e biologia molecolare, i risultati ottenuti dall'Unità Operativa 06 nel primo anno hanno portato all'identificazione di una comunità di funghi AM presente nell' agrosistema collinare di "Serra de' Conti" (AN) e in grado di attivamente colonizzare le piante spontanee e coltivate.

I dati suggeriscono che la comunità sia ben differenziata e influenzata nella sua composizione e diversità dai due trattamenti di lavorazione (sodo e lavorato), piuttosto che dai trattamenti di fertilizzazione (con e senza azoto). Inoltre, il confronto tra i profili RFLP e le sequenze ottenute da suolo e quelli dalle radici di piante spontanee evidenzia alcune specificità. Si ipotizza che la comunità AMF presente nei due compartimenti (suolo-radice) differisca, in quanto le radici delle piante ospiti potrebbero essere "recettive o preferenziali" solo verso alcuni taxa di AMF presenti nel suolo.

I dati di biodiversità fin'ora ottenuti risultano in accordo con quelli ottenuti da altri autori in diversi agroecosistemi caratterizzati da agricoltura intensiva (intensively managed arable lands), quali quelli riportati da Helgason et al. 1998, Oehl et al. 2003, and Daniell et al. 2001.

La prossima tappa sarà quella di allargare l'analisi ai vigneti sardi. La sfida sarà poi quella di legare l'identificazione e la caratterizzazione delle comunità AMF presenti in campo con il loro significato funzionale all'interno dell'agroecosistema oggetto di studio.

I risultati fino ad ora ottenuti saranno oggetto di un poster per il congresso "Rhizosphere 2007, Montpellier, Francia 26-31/08/07).

Di seguito ne viene riportato il riassunto:

#### **Composition and diversity of arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities in soils under different tillage practices and fertilizer regimens.**

Erica Lumini<sup>1</sup>, Roberto Borriello<sup>1</sup>, Valeria Bianciotto<sup>2</sup>, Paola Bonfante<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dip. Biologia Vegetale Università degli Studi di Torino and <sup>2</sup>Istituto Protezione Piante(IPP) CNR Torino, V.le Mattioli 25, 10125 Torino (Italy).

Intensification of land use practices has resulted in a widely documented reduction in soil quality and productivity. The productivity and health of agricultural systems are, dependent on the functional processes of soil microbial communities. In most agrosystems, AM fungi are a main component of soil microbiota and are thought to increase plant and soil health by improving plant fitness and soil quality, through an improved nutrient (N and P) uptake and soil stability. As obligate mutualistic symbionts, they colonize the roots of the majority of plants, including most crop plants.

The aim of this study was to investigate the relationship between management intensity and the diversity of symbiotically active AMF communities in the crop roots and those present in the soil.

The selected site is a hilly agrosystem characterized by clayey soils in the municipality of Serra de' Conti (Ancona, Central Italy) and represents a long term experiment of maize/wheat rotation. We used molecular techniques to investigate whether different crop management practices (two different tillage and fertilizer regimens applied since 1994) have affected the AM fungal community associated to this agrosystem.

DNA extracted from soils and roots was analysed using AM fungal-specific primers to amplify sequences from partial small and large subunit of ribosomal RNA genes. Cloned fragments obtained from each sample types were analyzed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) and the 15% of these were sequenced. Phylogenetic analysis revealed fungal types belonging to *Glomus* group A and B. Preliminary results showed that the AM fungal types in soils are different from those living in roots. Some sequences were closely related to fungal types observed in other agrosystems described in previous studies.

The ordination analysis indicates that the composition of the AMF community is significantly affected by the tillage system more than by the fertilizer treatment. In conclusion, since some fungal types were treatment specific, agricultural practices can directly or indirectly influence AM biodiversity.

