



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
DOCTORADO INTERDISCIPLINARIO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**MICROBIOMA DEL SUELO EN EL PARQUE NACIONAL LA
CAMPANA DESDE UNA PERSPECTIVA BIOGEOGRÁFICA**

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Ambientales

Carolina Andrea Quinteros Urquieta

Director de tesis: Dr. Jean Pierre Francois Sepúlveda

Codirector de tesis: Dra. Verónica Molina

Valparaíso, Chile

2024

“Durante la ascensión noto que sobre la vertiente septentrional no crecen sino zarzas, en tanto que la vertiente meridional está cubierta de un bambú que llega a alcanzar hasta 15 pies de altura. En algunos lugares se encuentran palmeras y quedo asombrado al hallar una de ellas a 4.500 pies de altitud (1.350 metros)”.

Ascensión al Monte La Campana, 16 de agosto de
1834. Charles Darwin.

Resumen

Los suelos son esenciales en los ecosistemas terrestres, apoyando ciclos biogeoquímicos y la ecología vegetal, con el microbioma del suelo jugando un papel clave en estas funciones. Sin embargo, su estudio ha sido limitado, especialmente en los ecosistemas de Chile Central. Mediante una revisión bibliográfica se identificaron brechas de conocimiento y oportunidades para investigar el microbioma del suelo en Chile, país que, debido a su biodiversidad única y variedad de biomas, podría actuar como un laboratorio natural.

Esta tesis se llevó a cabo en el Parque Nacional La Campana (PNLC), el que es reconocido mundialmente por su flora y fauna, más no por su riqueza microbiana. Se caracterizó la estructura y composición de las comunidades microbianas (bacterias, arqueas y hongos) y su relación con cuatro comunidades vegetales del PNLC: bosque esclerófilo, matorral xerófito, bosque higrófilo y bosque esclerófilo seco, desde un enfoque de toposecuencia (exposición, elevación y pendiente). La composición microbiana del suelo se caracterizó mediante secuenciación masiva (iTag-16S rRNA, V4 e ITS1-5F) a partir del ADN extraído de la superficie del suelo (5 cm, n = 16), y de perfiles de suelo en ladera expuestas a condiciones solares opuestas, del bosque esclerófilo y el matorral xerófito, en tres niveles de profundidad (5, 10 y 15 cm). Se identificaron las unidades de vegetación mediante censos poblacionales, y se determinaron las condiciones fisicoquímicas del suelo (densidad seca, pH y fraccionamiento isotópico de C y N de la materia orgánica).

Se observó que las variables ambientales, especialmente las relacionadas con la ubicación, influyen en la composición microbiana. Los filos dominantes fueron Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Ascomycota y Basidiomycota. En el bosque esclerófilo predominaron Crenarchaeote, Humicola y Mortierella; en el matorral xerófito, Chloroflexi, Cyanobacteria y Alternaria; en el bosque esclerófilo seco, Solicoccozyma; y en el bosque higrófilo, Cladophialophora. Las laderas

orientadas al norte y sur afectaron la variabilidad procarionte, asociándose a las comunidades vegetales presentes en esos sitios. Las Actinobacteria fueron particularmente abundantes en el matorral xerófito. La capa superficial del suelo presentó alta abundancia de bacterias y hongos, aunque con menor diversidad que las capas más profundas, que mostraron mayor riqueza de ASVs exclusivas, incluyendo arqueas AOA.

Los resultados destacan que el microbioma del suelo del PNLC está estrechamente vinculado a las características vegetales y topoclimáticas, sugiriendo una relación predictiva entre las condiciones ambientales y la estructura microbiana. Este estudio contribuye a cerrar la brecha de conocimiento sobre los microbiomas de los suelos en ecosistemas subrepresentados, como Chile Central. El estudio revela una fuerte asociación entre el microbioma del suelo y las variables ambientales en el PNLC, subrayando la importancia de la diversidad microbiana en los ciclos biogeoquímicos.

Palabras claves: suelo, mediterráneo, diversidad microbiana, esclerófilo, xerófito

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Resumen	III
Capítulo I. Introducción general	1
1.1. Espacio Biológico Del Suelo	2
1.2. Diversidad de microorganismos en el suelo, su distribución y desafíos metodológicos	4
1.3. La diversidad microbiana en Chile. Un estado-del-arte.....	6
1.4. El Parque Nacional la Campana (PNLC) como caso de estudio.....	10
Abreviaturas.....	15
Capítulo II. Hipótesis y objetivos	16
2.1. Hipótesis	17
2.2. Objetivo general	18
2.3. Objetivos específicos	18
Capítulo III	19
Rising awareness to improve conservation of microorganisms in terrestrial ecosystems: advances and future directions in soil microbial diversity from Chile and the Antarctic Peninsula.....	19
3.1. Abstract.....	21
3.2. Introduction	22
3.3. Historical context of research and funding development contributing to the study of (soil) microbial diversity in Chile	25
3.4. Methodology.....	29
Rationale of data selection.....	29
Data handling	30
3.4. Towards a better understanding of soil microbial communities in Chile and the Antarctic Peninsula	32
3.4.1. Historical and geographical trends	32
3.4.2. Main taxa and ecosystems studied	34
3.5. Main research scope and funding for the study of soil microbial diversity in Chile and the Antarctic Peninsula.....	37
3.5.1. Main scopes of the soil microbial diversity studies	37
3.5.2. Sources of fundings	40
3.6. From cultivation to omics techniques.....	41
3.7. Future directions and opportunities to study soil microorganisms in Chile	45
3.7.1. Collaborative multi- and interdisciplinary studies.....	46
3.7.2. Increase and decentralize funding for high-throughput sequencing.....	47
3.7.3. Long term studies	49

3.8. Conclusions.....	49
3.9. Acknowledgments	50
3.10. Funding	50
3.11. References.....	51
Capítulo IV.....	61
Microbial Diversity of Soil in a Mediterranean Biodiversity Hotspot: Parque Nacional La Campana, Chile	61
4.1. Abstract.....	63
4.2. Introduction	64
4.3. Materials and Methods	66
4.3.1. Study Area	66
4.3.2. Study Sites and Sample Collection	68
4.3.3. Climate Variables in PNLC.....	70
4.3.4. Soil and Organic Matter Physicochemical Analysis	71
4.3.5. DNA Extraction and Sequencing of Prokaryote and Fungal Phylogenetic Markers	71
4.3.6. Analysis of Microbial Composition and Other Statistic Data	72
4.4. Results	73
4.4.1. Environmental and Soil Physicochemical Conditions.....	73
4.4.2. Sequencing and Structure of the Soil Microbial Community	76
4.4.3. Microbial Composition in Different Types of Environments.....	79
4.4.4. Distribution of Microbial Communities among the Different Plant Communities.....	83
4.4.5. Analysis of Differential Abundance of Microorganisms.....	85
4.4.6. Predicted Potential Microbial Function	87
4.5. Discussion.....	89
4.5.1. Toposequence, Microbial and Plant Communities in PNLC	89
4.5.2. Variation in the Microbial Community and Its Association with the Environmental Conditions of the Plant Communities.....	90
4.5.3. Key Microbial Taxa, Potential Functions and Their Relation with the Different Plant Communities of PNLC	93
4.6. Conclusions.....	95
4.7. Supplementary Materials:.....	96
4.8. Author Contributions:.....	96
4.9. Funding:	97
4.10. Data Availability Statement:.....	97
4.11. Acknowledgments:	97
4.12. Conflicts of Interest:.....	97

4.13. References	98
Capítulo V.....	107
Soil microbial communities changes along depth and contrasting facing slopes at the Parque Nacional La Campana, Chile	108
5.1. Abstract.....	109
5.2. Introduction	110
5.3. Materials and Methods	112
5.3.1. Study area and sampling collection.....	112
5.3.2. Soil sampling	113
5.3.3. Vegetation coverage and environmental conditions in PNLC	115
5.3.4. Soil physicochemical analysis	115
5.3.5. DNA extraction and sequencing of phylogenetic markers of prokaryotes and fungi.....	116
5.3.6. Analysis of microbial composition and statistical analyses	117
5.4. Results	119
5.4.1. Environmental and soil physicochemical <i>conditions</i>	119
5.4.2. Microbial community alpha and beta diversity spatial changes (site and depth)	120
5.4.4 Microbial community composition spatial changes (depth and sites).....	123
5.3.3. Microbial community composition spatial changes (depth and sites).....	124
5.3.4. Microbial community abundance and functional potential traits with depth	127
5.4. Discussion	129
5.4.1. <i>Spatial changes of the microbial community composition</i>	129
5.4.2. Soil conditions and vegetation as drivers of microbial community spatial changes traits in the soils of PNLC	131
5.4.4. Funcional and ecological microbial community potential in PNLC	133
5.5. Conclusions.....	135
5.6. Supplementary Materials	136
5.7. Author Contributions.....	150
5.8. Funding	150
5.9. Data Availability Statement.....	151
5.10. Acknowledgments	151
5.11. References.....	151
Capítulo VI. Discusión final.....	159
6.1. Discusión final	160
6.1.1. El microbioma del suelo como objeto de estudio. Un estado-del-arte.	160
6.1.2. Sesgos metodológicos y perspectivas de futuras investigaciones.....	162

6.1.3. Reservorios microbianos del suelo, funciones e interacciones ecológicas en un contexto espacio-temporal amplio.....	165
6.1.4. Características y funciones del microbioma del suelo en un Hotspot de biodiversidad para Chile Central	168
Capítulo VII. Conclusión general	173
Capítulo VIII. Referencias	176
Capítulo IX.....	187
Anexo 1	187
Capítulo X.....	261
Anexo 2	261

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura I.1: Bacterias detectadas a nivel de phyla en siete ecosistemas.	9
Figura I.2: Análisis clúster de a partir de presencia/ausencia de phyla bacterianas en cinco ecosistemas.	9
Figure II.1. Number of soil-related research grants funded by Chilean National Agency for Research and Development (ANID).....	28
Figure II.2. Number of studies focusing on soil microbiome diversity in Chile and Antarctic Peninsula.	34
Figure II.3. Type of microorganisms studied from soils in Chile and the Antarctic Peninsula.....	35
Figure II.4. Main soil use categories for each macrozone.....	36
Figure II.5. Proportion of studies addressing one of the main research scopes identified in this dataset.	39
Figure II.6. Timeline and importance of funding sources.	41
Figure II.7. Chronological and quantitative analysis of the methods used to study microbial diversity in soils.	44
Figure IV.1. Map that shows PNLC sampling locations.	67
Figure IV.2. Graphical representation of the four sample sites characterized by their exposure and elevation.....	68
Figure IV.3. Physicochemical variables of the soil samples.....	74
Figure IV.4. Redundancy analysis (RDA) that shows the variability of the environmental conditions associated with the plant communities.	75
Figure IV.5. (a) Prokaryote and (b) fungi soil microorganism's alpha diversity in PNLC plant communities.....	77
Figure IV.6. PCoA (PERMANOVA p-value < 0.05) that illustrates the microbial variability of the soil of the plant communities at the phylum level of (a) prokaryotes and (b) fungi.	79
Figure IV.7. Venn diagram that shows the comparison of ASVs richness associated with (a) prokaryotes and (b) fungi, grouped on the basis of the soil of the plant communities.	80
Figure IV.8. The box plot shows the relative abundance of bacterial and archaeal phyla in the PNLC soil categorized by the different plant communities.	81
Figure IV.9. The box plots show the relative abundance of the fungal phyla in the PNLC soil categorized by different plant communities.....	83
Figure IV.10. Heatmap of the 18 most abundant genera of prokaryotes in the soil ($n = 16$) analyzed in PNLC, categorized by plant communities.....	84
Figure IV.11. Heatmap for the 20 genera of fungi in the soil ($n = 16$) analyzed in PNLC categorized by plant communities.....	85
Figure IV.12. Volcano plot that shows the ASVs of microorganisms (bacteria, archaea and fungi) when comparing the xerophytic shrubland vs. sclerophyllous forest plant communities in PNLC.	86

Figure IV.13. Volcano plot that shows the ASVs of microorganism when comparing the hygrophilous forest and dry sclerophyllous forest plant communities in PNLC.	87
Figure IV.14. Predicted potential microbial function profile by comparison of the 4 study sites. (a) Prokaryotes, (b) fungi.	88
Figure V.1. Map that shows PNLC sampling locations (1 = Sclerophyllous Forest, 2 = Xerophytic shrubland) in three depths (5, 10, 15 cm).	113
Figure V.2. Sampling sites and soil layers.	114
Figure V.3: Alpha diversity of soil microorganisms of the sclerophyllous forest and xerophytic shrubland northern and southern slope face of the PNLC at three depths (5-10-15 cm) for (a) prokaryotes and (b) fungi.	121
Figure V.4: Non-metric multidimensional scaling (NMDS) showing the microbial community structure variability of different soil layers determined at the sclerophyllous forest and xerophytic shrubland of (a) prokaryotes and (b) fungi.	123
Figure V.5. Venn diagram showing the shared and exclusive ASV associated with (a) prokaryotes and (b) fungi, grouped according to the soils depth layers determined at the sclerophyllous forest and xerophytic shrubland.	124
Figure V.6: Heatmap of the 20 most abundant prokaryotes genera distribution in three soil depths layers (5 cm, 10 cm, 15 cm) determined at the sclerophyllous forest and xerophytic shrubland.	126
Figure V.7: Heatmap of the 20 most abundant fungi genera distribution in three soil depths layers (5 cm, 10 cm, 15 cm) determined at the sclerophyllous forest and xerophytic	127
Figure V.8: Specific quantification via qPCR of a) bacteria, b) fungi, c) archaea, d) AOA in soil profiles (5 cm, 10 cm, 15 cm depth) determined at the sclerophyllous forest and xerophytic shrubland.	129

ÍNDICE DE FIGURAS SUPLEMENTARIAS

Figure S V.1: Distribution of physicochemical conditions in the soil profiles: a) C/N ratios, b) pH c) dry density and d) isotopic signature variability ($\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$) determined for SF and XS.	136
Figure S V.2.: Rarefaction curves for prokaryotes.	137
Figure S V.3.: Rarefaction curves for fungi.	137
Figure S V.4.: (a) Box plot of prokaryotes phyla relative abundances determined at sclerophyllous forest, (b) Box plot of prokaryotes phyla relative abundances determined at xerophytic shrubland of the PNLC.	138
Figure S V.5.: (a) Box plot of prokaryotes phyla relative abundances determined at sclerophyllous forest; (b) Box plot of prokaryotes phyla relative abundances determined at xerophytic shrubland of the PNLC.	138
Figure S V.6.: Heatmap of potentially discriminative prokaryote ASVs having a significant differentiation comparing north and south slope faces at three depth levels (5 cm, 10 cm, 15 cm).	139

Figure S V.7: Heatmap of potentially discriminative fungi ASVs having a significant differentiation comparing north and south slope faces at three depth levels (5 cm, 10 cm, 15 cm).....	140
Figure S V.8: Predicted potential microbial function profile by comparison of XS and SF at three depth levels (5 cm, 10 cm, 15 cm) for prokaryotes.....	141
Figure S V.9: Predicted potential microbial function profile by comparison of XS and SF at three depth levels (5 cm, 10 cm, 15 cm) for fungi.....	142

ÍNDICE DE TABLAS

Table III.1. Categories and details of the techniques reported in the current survey. ...	31
Table IV.2. Sampling points.....	70
Table V.3. Specific location, site characteristics, predominant plant community and other topographic features such as elevation and orientation.	119

ÍNDICE DE TABLAS SUPLEMENTARIAS

Table S V.1: Specific location, site characteristics, predominant plant community and other topographic features such as elevation and orientation.	142
Table S V.2: Environmental conditions of the sampling sites.....	143
Table S V.3: Primers for quantifying bacteria, archaea, and fungi, and specific amplification conditions for each group.	145
Table S V.4: Per-sample sequence counts.....	146
Table S V.5: Physicochemical conditions of XS and SF soils.	147
Table S V.6: Comparison of dominant phyla between studies of northern and southern slopes of the PNLC.....	148
Table S V.7: Comparison of physicochemical conditions between studies of northern and southern slopes of the PNLC.	149
Table S V.8.: Comparison of Bacterial and Archaeal Gene Copy Numbers (g-1 soil) between studies of northern and southern slopes of the PNLC.....	149

Capítulo I. Introducción general

1.1. Espacio Biológico Del Suelo

El suelo es la capa superficial de la corteza terrestre, biológicamente activa, que proviene de la desintegración o alteración física y química de las rocas y de la actividad biológica. Está compuesto por minerales, materia orgánica, aire, agua y organismos vivos (Montanarella et al., 2015; Ridder, 2007). Es, además, considerado un recurso natural limitado y no renovable a escala humana, porque su tasa de formación a lo largo del tiempo es generalmente baja o muy baja (Stockmann et al., 2014).

Comprender el papel del suelo en el ecosistema es un desafío, ya que, aunque el suelo se define como un cuerpo natural que interactúa de manera dinámica con la atmósfera y los estratos (Viles, 2012), su verdadera función como interfaz y regulador de estas interacciones ocurre a nivel microscópico, a través del microbioma del suelo. Este microbioma está compuesto por una diversidad de microorganismos, tanto eucariontes (como algas, hongos y protozoos) como procariontes (bacterias y arqueas) (Philippot et al., 2013), que juegan un papel fundamental en la salud del suelo y en la sostenibilidad de los ecosistemas (Nair & Raja, 2017; Philippot et al., 2013). La interacción de estos microorganismos es esencial para la regulación de procesos ecológicos clave, cumpliendo funciones cruciales en los ecosistemas como: i. Participar en el ciclo de nutrientes (Jobbágy & Jackson, 2001), al descomponer la materia orgánica, liberando nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo y azufre que son absorbidos por las plantas (Falkowski et al., 2008); o bien, al fijar nitrógeno atmosférico, convirtiéndolo en formas disponibles para las plantas (Falkowski et al., 2008); ii. en la estructura del suelo, al producir sustancias que participan en procesos de aglutinación/agregación de partículas, aumentando así la porosidad y aireación del suelo. Esto a su vez, favorece el drenaje y la penetración de raíces (Iqbal et al., 2005); iii. participar en la supresión de patógenos, al competir por nutrientes y espacio con microorganismos patógenos de las plantas, y producir antibióticos y otras sustancias que inhiben el crecimiento de fitopatógenos (Iorio et al.,

2018a), iv. promoción del crecimiento vegetal a través de relaciones simbióticas con hongos micorrícicos, sintetizar sustancias promotoras del crecimiento como fitohormonas, solubilizar nutrientes minerales, haciéndolos más disponibles para las plantas, y estimular el desarrollo radicular y la absorción de agua y nutrientes (Coban et al., 2022); y v. biodegradación y biorremediación, al degradar contaminantes orgánicos como pesticidas y derrames de petróleo e inmovilizar metales pesados, reduciendo su biodisponibilidad (Gałązka et al., 2018).

Una característica del microbioma es que, a escala del suelo, el espacio ocupado por microorganismos vivos representa una pequeña proporción de menos del 5% del espacio disponible total. En este microcosmos, completamente dinámico, diferentes factores controlan la estructura y composición de las comunidades microbianas como el pH, contenido de agua, estructura del suelo, presencia de raíces, variaciones climáticas y actividad biótica (Ettema, 2002). Como resultado, áreas o porciones del suelo exhiben una mayor actividad metabólica (heterotrófica o autotrófica) generando 'puntos calientes', esto en función a la disponibilidad de agregados con diferentes propiedades fisicoquímicas, como materia orgánica particulada acumulada (Parkin, 1987), estiércol animal (Petersen et al., 1996), o la rizosfera (Lynch & de Leij, 2012; Pinton et al., 2007). A su vez, y a una escala de paisaje, características químicas, físicas y biológicas generan microhábitats que difieren tanto en el tiempo como en el espacio (Pinton et al., 2007). Es decir, no distribuyéndose al azar, sino que siguiendo patrones espaciales de agregación a diferentes escalas (de nm a km) que se superponen entre sí (Cáceres-Ruz et al., 2012).

A pesar de la aparente complejidad de este universo multiescalar, existe un consenso emergente sobre qué factores son más importantes en controlar la variedad y abundancia de las comunidades de microorganismos del suelo. Así, el pH aparece como el más importante seguido de la disponibilidad de nitrógeno (Cederlund et al., 2014), el contenido de carbono orgánico del suelo (Sul et al., 2013), la temperatura (Oliverio et al., 2017) y la condición redox (Pett-Ridge &

Firestone, 2005). Mientras que otros factores menos estudiados rutinariamente pero que igualmente influyen en modificar la composición y estructura de los microbiomas, son la textura y estructura del suelo, vegetación y las interacciones biológicas como la competencia y la depredación por parte de virus y pastoreadores “control top-down” (Fierer, 2017)

1.2. Diversidad de microorganismos en el suelo, su distribución y desafíos metodológicos

La diversidad microbiana en el suelo es compleja de estudiar, ya sea por la multiplicidad de hábitats presentes en el suelo, por la disparidad entre el tamaño de los microorganismos y el área comparativamente grande que puede ser muestreada (Fierer, 2017). Al respecto, existen estimaciones de que los microorganismos activos varían en el suelo entre 0,1% y 2%, no superando el 5% de la biomasa microbiana total, y con un potencial activo que entre el 10 y 60%, como el de las esporas de hongos, que se mantienen en una condición de latencia en espera de condiciones favorables para su reproducción (Blagodatskaya & Kuzyakov, 2013).

Los desafíos para el estudio de microorganismos de suelo no solo están relacionados a la técnica de muestreo, sino que también al análisis. En principio, se utilizaron técnicas de cultivo para bacterias, pero proporcionaban información limitada dado por que solo <1% de los microorganismos puede recuperarse o aislarse en cultivo, un hecho conocido como la anomalía de crecimiento microbiano en placas (Madigan et al., 2008). Con la introducción de técnicas como el marcador molecular y la amplificación basada en PCR del gen 16S rRNA, el polimorfismo de longitud de fragmento de restricción (RFLP), el polimorfismo de longitud de fragmento de restricción terminal (T-RFLP), entre otras, fue posible examinar y conocer la estructura de comunidades microbianas del suelo, aun cuando esta aproximación se limita a microorganismos abundantes (Pedrós-Alió,

2007). En la actualidad, y con el advenimiento de tecnologías de secuenciación de alto rendimiento y técnicas de cultivo mejoradas, se dio paso a una nueva era de la ecología microbiana conocida como la era ómica (Nair & Raja, 2017). En ella confluyen la “metagenómica”, técnica que analiza en conjunto múltiples genomas (DNA), y las demás técnicas de secuenciación masiva dependientes de PCR, especialmente la secuenciación de alto rendimiento del ARNr 16S. El resultado, ha sido una transformación en el conocimiento en torno a la microbiología, al poderse identificar y cuantificar poblaciones microbianas presentes en muestras de suelo, y así caracterizar patrones de biodiversidad microbiana y capacidades funcionales de sus comunidades (Caporaso et al., 2011).

Otros enfoques metodológicos, se han basado en el acoplamiento de la biología molecular y las técnicas isotópicas, a modo de examinar características biológicas y fisicoquímicas del ambiente con relación a comprender mejor la dinámica de los microbiomas. Al identificar procesos metabólicos específicos dentro de comunidades microbianas complejas, se revela qué organismos están activos en condiciones particulares y qué sustratos utilizan (Alcolombri et al., 2022; Berry & Loy, 2018). Esto permite comprender las interacciones competitivas y cooperativas entre especies (Berry & Loy, 2018; Kleiner et al., 2023), así como determinar cómo contribuyen a las funciones generales del ecosistema o cómo varían sus actividades en respuesta a gradientes ambientales (Alcolombri et al., 2022). No obstante, aún existe una dificultad en vincular taxones microbianos específicos a muchos procesos del suelo, limitando en gran manera nuestro conocimiento respecto a cómo factores bióticos y abióticos influyen sobre determinados taxones (Fierer, 2017). A pesar de estas limitaciones, existen estudios que indican que algunos microorganismos, como la phylum Chloroflexi y parte de las Actinobacterias, pueden ser más sensibles que otros a las condiciones ambientales cambiantes. Por ejemplo, se destacan los cambios estacionales en la temperatura del suelo, las fluctuaciones rápidas en la disponibilidad de carbono del suelo (Placella et al., 2012), la humedad del suelo

(Kuz'yakov & Blagodatskaya, 2015; Morrissey et al., 2016), las variaciones asociadas a la exposición, pendiente y altitud (Bardelli et al., 2017) y respuestas a perturbaciones como son los incendios forestales (Pérez-Valera et al., 2019; Rodríguez et al., 2018).

En este último contexto, es importante destacar que el bioma del suelo presenta una gran fragilidad a presiones antropogénicas las cuales ponen en riesgo su biodiversidad y funcionalidad (Vilkiene et al., 2023). El cambio climático, la alteración y fragmentación de ecosistemas/hábitats, y la llegada de especies invasoras surgen como importantes factores a escala de paisaje (Gardi et al., 2009). Mientras que la erosión, la compactación, la contaminación química, y la disminución de la materia orgánica en los suelos parecieran cobrar mayor relevancia a menor escala (Qiu et al., 2021). En total, todos estos factores se relacionan intrincadamente con actividades humanas asociadas tanto a la agricultura y la ganadería (Veresoglou et al., 2015), como a la industria, a obras de infraestructura, entre otros (Quintanilla, 2014).

A escala global, la biodiversidad microbiana del suelo ha sido caracterizada y mapeada por Iniciativas como el Earth Microbiome Project (EMP) (Gilbert et al., 2014) y el Global Soil Biodiversity Initiative. A nivel regional, se destaca el trabajo de Fierer & Jackson (2006) el cual determina que, si bien la diversidad y la riqueza de las comunidades bacterianas del suelo difieren según el tipo de ecosistema, estas diferencias podrían explicarse en gran medida por el pH del suelo. El autor se basa en resultados colectados en diferentes biomas de América del Norte y Sur, señalando que las variables que predicen la distribución de plantas y animales, como son la temperatura del sitio, la latitud y otras variables como la distancia geográfica no tienen porque necesariamente ser las mismas que rigen en el microbioma (Fierer & Jackson, 2006).

1.3. La diversidad microbiana en Chile. Un estado-del-arte.

En Chile los estudios de microorganismos del suelo se han focalizado en zonas con potencial productivo silvoagropecuario, especialmente para organismos eucariotas como los hongos (Aguilera et al., 2014; Benedetti et al., 2018; Carrillo et al., 1992) y en el caso de organismos procariotas como bacterias y arqueas, en áreas de climas extremos (Bull & Asenjo, 2013; Dorador et al., 2008; Okoro et al., 2009). Los demás estudios disponibles respecto a otros ecosistemas terrestres son, en comparación, aun escasos. No obstante, estos constituyen la única fuente de información a fin de establecer un marco referencial mínimo que permita elaborar hipótesis de trabajo. Por lo tanto, y como un primer paso, se procedió a realizar una revisión bibliográfica y compilación de información, referente a estudios en Chile de la diversidad de los phyla de bacterias presentes en muestras de suelo de diferentes ecosistemas (Figura I.1). Esto, a fin de realizar comparaciones entre estos respecto a la estructura de las comunidades microbianas presentes en el suelo, y detectar potenciales patrones. Siete ecosistemas distintivos para Chile fueron los que circunscriben a estos estudios: el desierto tropical interior con vegetación escasa (Acuña et al., 2016; Bachar et al., 2010), el matorral xerófito (Bachar et al., 2010; Mapelli et al., 2020), el bosque y matorral esclerófilo (Bachar et al., 2010; Pérez-Valera et al., 2019), el bosque higrófilo (Dukunde et al., 2019), el bosque caducifolio (Demenois et al., 2020; Osburn et al., 2019), el bosque subantártico (Acuña et al., 2016; Jorquera et al., 2014) y la estepa mediterránea-templada oriental (Acuña et al., 2016; Jorquera et al., 2014). Como resultado, se destacan dos hallazgos: (i) Existen phyla comunes para más de un tipo de ecosistema, por ejemplo: Acidobacteria, que es común para los ecosistemas desierto tropical interior con vegetación, matorral xerófito, bosque y matorral esclerófilo, bosque higrófilo, bosque caducifolio y de estepa mediterránea-templada oriental. Bacteroidetes y Gemmatimonadetes son comunes para los ecosistemas desierto tropical interior con vegetación, matorral xerófito, bosque y matorral esclerófilo, bosque higrófilo, bosque caducifolio. Mientras que los phyla Cyanobacteria, Chloroflexi, Firmicutes, Verrucomicrobia, Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Proteobacteria y Planctomycetes son comunes para los ecosistemas desierto tropical interior con vegetación, matorral

xerófito, bosque y matorral esclerófilo y bosque caducifolio. (ii) Phyla presentes a nivel de “biósfera rara”, podrían considerarse distintivos de algunos ecosistemas, como por ejemplo el hecho que solo en los suelos del bosque y matorral esclerófilo se presentan phyla “candidate phyla radiation (CPR)” OP11, WS3, GN02, NKB19 y TM6 entre otras (Rinke et al., 2013). Estos hallazgos, pueden ser apreciados parcialmente mediante un análisis cluster a partir de presencia/ausencia de phyla bacterianas presentes en dichos ecosistemas (Figura I.2). Así, se observan al menos tres grandes grupos en donde dos se caracterizan por representar una aparente homogeneidad en el origen de las muestras (M2: matorral esclerófilo, C1 y C2: bosque caducifolio), mientras que un tercero es de carácter cosmopolita al agrupar diferentes ecosistemas. Si bien es probable que dada la simplicidad del ejercicio se presente algún tipo de sesgo asociado por ejemplo, a las técnicas utilizadas como puede ser el hecho que para el caso del bosque y matorral esclerófilo en donde no se da cuenta de la “rara biósfera”, los resultados parecieran indicar que los aparentes cambios observados en la biodiversidad microbiana de los ecosistemas no serían producto del azar. Por lo tanto, surge la pregunta sobre que variables podrían dar cuenta de estos aparentes patrones de diversidad microbiana a escala de ecosistema. Esta pregunta es parcialmente abordada por la iniciativa científica Alemana-Chilena Earthshape, y por lo tanto constituye un punto de partida a fin de establecer hipótesis de trabajo (Bernhard et al., 2018; Oeser et al., 2018).

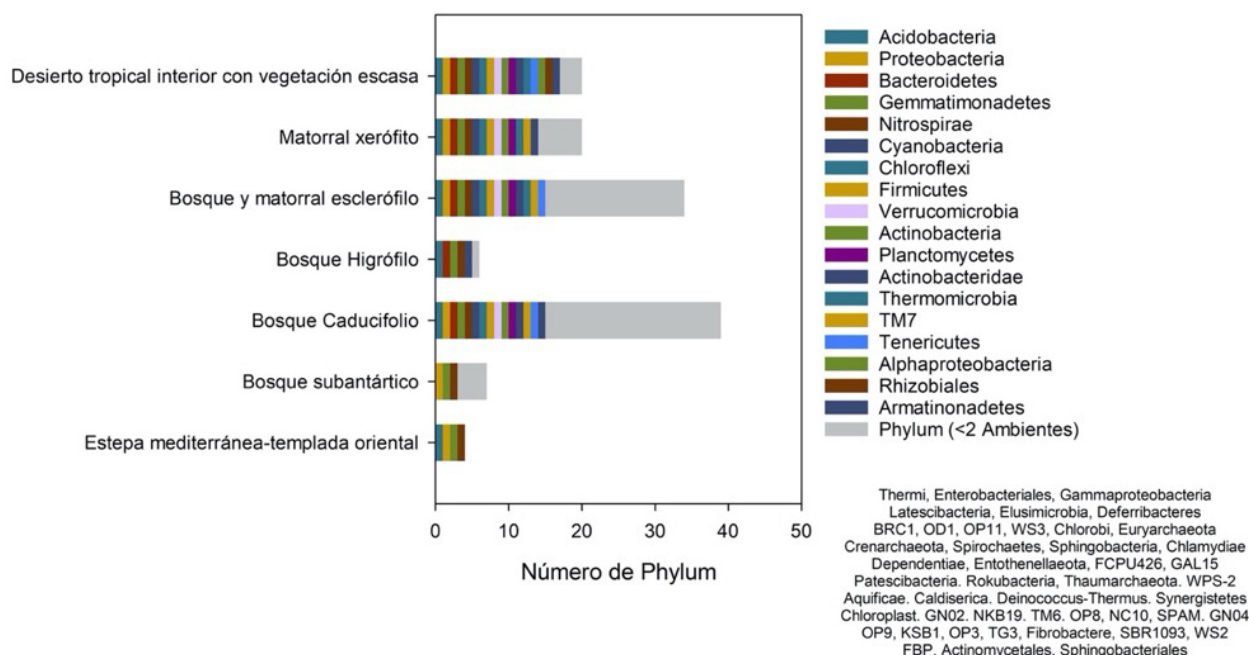


Figura I.1: Bacterias detectadas a nivel de phyla en siete ecosistemas.

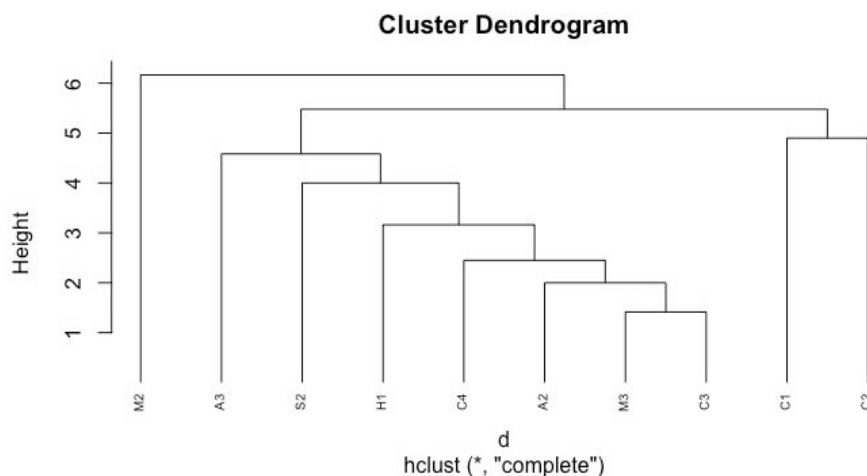


Figura I.2: Análisis clúster de a partir de presencia/ausencia de phyla bacterianas en cinco ecosistemas.

A: desierto tropical interior con vegetación escasa, S: matorral xerófito, M: bosque y matorral esclerófilo, H: bosque higrófilo y C: bosque caducifolio.

Como se mencionó anteriormente, estudios relativos a capturar la biodiversidad de los microorganismos presentes en los suelos del territorio nacional resultan adecuados a fin caracterizar pequeñas escalas del paisaje. No obstante, el uso de diferentes aproximaciones metodológicas tanto en la técnica como en el

muestreo, limitan considerablemente la comparación entre ecosistemas. En este contexto, se destaca la ya mencionada iniciativa científica Alemana-Chilena Earthshape, la cual analizó la abundancia microbiana en cuatro diferentes áreas de la Cordillera de la Costa: Pan de Azúcar, Santa Gracia, La Campana y Nahuelbuta. Si bien su objetivo principal era comprender cómo los organismos participan en dar forma y función a la superficie de la Tierra a lo largo del tiempo (Bernhard, 2018; Oeser, 2018), el estudio de pedones a lo largo de un gradiente bioclimático tan amplio (desierto hasta bosque templado) provee de información sustancial a fin de elaborar hipótesis respecto a los microbiomas y las características y funciones del suelo en ecosistemas chilenos. Interesantes son los resultados en relación a aparentes cambios en la composición y de comunidades microbianas en función a variables a escala de paisaje como lo es el relieve (Bernhard, 2018; Oeser, 2018). En específico, se observa que las abundancias de bacterias y arqueas, obtenidas mediante análisis PCR y qPCR, son mayores en sectores de ladera umbría que en ladera de solana (Bernhard, 2018). Esto, se opone totalmente a lo señalado por otros estudios, los cuales indican que las bacterias presentan mayor abundancia en laderas de solana, independiente de la altitud (Bardelli et al., 2017). El bajo número de muestras (n=4) presentes en el estudio de Earthshape, impide la comprobación robusta de esta aparente diferencia, pero a la vez resalta la importancia de la de escala espacial en el enfoque del estudio de los microbiomas del suelo. Por lo tanto, aquí surge la oportunidad de poner a prueba esta y otras hipótesis relacionadas con comprender el rol del microbioma del suelo en la historia del paisaje. Para esto, se estableció como un caso de estudio, un área representativa para la vegetación tipo mediterránea de Chile Central, como lo es el Parque Nacional la Campana (PNLC).

1.4. El Parque Nacional la Campana (PNLC) como caso de estudio

El Parque Nacional La Campana (PNLC), ubicado en la zona central de Chile, abarca 8,000 hectáreas y fue declarado Parque Nacional en 1967 y Reserva de

la Biósfera en 1987. Este parque es reconocido como un importante “hotspot” de biodiversidad, albergando aproximadamente 430 especies de plantas nativas, muchas de ellas endémicas (Elórtogui & Moreira-Muñoz, 2009; Hauck et al., 2016). La diversidad de ecosistemas en el PNLC incluye bosques esclerófilos mediterráneos y matorrales, que son fundamentales para el equilibrio ecológico y sustentan diversas poblaciones de vida silvestre (Bidegain et al., 2019a).

Las comunidades locales dependen en gran medida de los servicios ecosistémicos que ofrece la Reserva de la Biósfera y el PNLC, como agua potable, purificación del aire y regulación del clima, esenciales para su bienestar y salud medioambiental (Guerra et al., 2022; Peddle et al., 2024). No obstante, el PNLC enfrenta amenazas derivadas de actividades humanas, como incendios, extracción de recursos biológicos como la Palma chilena, y la introducción de ganado doméstico y especies exóticas invasoras (Corporación Nacional Forestal (CONAF), 2016), que comprometen la integridad de sus ecosistemas (Guerra et al., 2020, 2022; Peddle et al., 2024).

El PNLC se emplaza en la Cordillera de la Costa, la cual en este sector presenta un relieve accidentado, formado por valles profundos, cerros y quebradas, producto de millones de años de historia climática y tectónica. El punto más alto del parque es el Cerro La Campana, con 1.880 metros sobre el nivel del mar, y al igual que gran parte del parque está formado por rocas graníticas del Cretácico. El clima es de tipo mediterráneo, y se caracteriza por temperaturas anuales promedio de 18°C, con inviernos templados y lluviosos, y veranos calurosos y secos (Hauck et al., 2016). En términos de su composición vegetal, las zonas de elevación media (400-1100 m sobre el nivel del mar) albergan comunidades esclerófilas, incluyendo bosques dominados por *Quillaja saponaria* y *Lithraea caustica*, Quillay y Litre respectivamente, o bien matorrales xerófitos, constituidos por el Matorral de Tebo (*Trevoa trinervis*). Estas comunidades se distribuyen en laderas de umbrías (orientadas al sur) y laderas soleadas (orientadas al norte), respectivamente. En tanto, los fondos de valle albergan comunidades higrófilas como el Bosque de Peumo y Boldo (*Cryptocaria alba* y

Peumus boldus). Además, en el sector norte del PNLC se presentan bosques de palmas (Elórtégui & Moreira-Muñoz, 2009). A mayores elevaciones (1,100-2,000 m sobre el nivel del mar), se observa una transición hacia comunidades subalpinas caracterizadas por bosques de roble y matorrales de neneo (Elórtégui & Moreira-Muñoz, 2009; Hauck et al., 2016).

Estudios del microbioma del suelo en ecosistemas mediterráneos, especialmente en *hotspots* de biodiversidad, dan cuenta de la positiva correlación entre la biodiversidad microbiana del suelo y la resistencia general de los ecosistemas, ante cambios ambientales como la sequía o eventos de perturbación (Kondratyeva et al., 2020; Qiu et al., 2021; Vilkiene et al., 2023). Esto, ya que el microbioma del suelo es esencial para mantener la salud y el crecimiento de las plantas mediante el ciclo de los nutrientes y la descomposición de la materia orgánica. De hecho, estos microorganismos desempeñan un papel clave en los procesos del ciclo de nutrientes, como la fijación del nitrógeno y la solubilización del fósforo, que son vitales para la nutrición de las plantas. Esto es especialmente importante en suelos mediterráneos pobres en nutrientes, ya que pueden limitar el crecimiento de la vegetación (Bidegain et al., 2019b; Peddle et al., 2024). Junto con lo anterior, comprender el microbioma del suelo puede servir de base para las prácticas de restauración de ecosistemas degradados. Los estudios demuestran que las zonas con mayor diversidad microbiana suelen recuperarse más rápidamente tras las perturbaciones, lo que las convierte en esenciales para las estrategias de conservación eficaces (Bidegain et al., 2019b; Peddle et al., 2024). Además, los microorganismos del suelo contribuyen al almacenamiento de carbono en los suelos, lo que es fundamental para mitigar el cambio climático. Unas comunidades microbianas sanas mejoran la estructura y la estabilidad del suelo, favoreciendo un mayor potencial de secuestro de carbono (Guerra et al., 2020, 2022). De este modo, los estudios del microbioma del suelo proporcionan información sobre las interacciones entre la biodiversidad sobre el suelo (plantas y animales) y las comunidades microbianas subterráneas. Esta interconexión es vital para comprender la salud y el funcionamiento general del ecosistema

(Peddle et al., 2024). Por lo tanto, dimensionar correctamente las potenciales funciones del microbioma del PNLC es crucial en los esfuerzos de conservación.

Tal como se enunciaba en la sección anterior, estudios comparativos entre variables ambientales y características del microbioma del suelo, indican que las comunidades bacterianas del suelo varían significativamente en relación con variables del relieve y topográficas, como lo es la orientación. De este modo, las laderas orientadas al norte reciben mayor radiación solar, lo que puede provocar un aumento de la temperatura del suelo y alterar los niveles de humedad, afectando a la diversidad microbiana y a la estructura de la comunidad (Bardelli et al., 2017; Rodríguez et al., 2022b). Por ejemplo, se ha observado una mayor especialización bacteriana en laderas orientadas al sur, probablemente debido a condiciones microclimáticas más estables que promueven adaptaciones microbianas específicas (Rodríguez et al., 2022b). Por el contrario, las laderas orientadas al norte pueden albergar una gama más amplia de especies generalistas debido a la fluctuación de las condiciones (Rodríguez et al., 2022b). Junto con lo anterior, la orientación de la ladera influye en las propiedades del suelo, como el pH, el contenido de materia orgánica y la disponibilidad de nutrientes (Rodríguez et al., 2022b). De este modo, las laderas orientadas al norte, que reciben más radiación solar, suelen tener una menor retención de humedad y una menor acumulación de materia orgánica, lo que da lugar a suelos menos fértiles en comparación con sus homólogas orientadas al sur (Bardelli et al., 2017; Rodríguez et al., 2022b) donde incluso la actividad enzimática del suelo puede ser menor (Bardelli et al., 2017).

En base a los antecedentes recién presentados, se destaca que la exposición de las laderas pareciera ser un factor crítico para dar cuenta de cambios en la diversidad y actividad microbiana en el suelo. En particular, factores como la temperatura, la humedad relativa y materia orgánica surgen como determinantes en explicar la composición y estructura de los microbiomas del suelo. De este modo, las capacidades funcionales de las comunidades microbianas también deberían diferir en función de la exposición de la ladera. Por ejemplo, las

comunidades de las laderas orientadas al sur debiesen tener más consorcios de microorganismos asociados a la descomposición de la materia orgánica que las laderas orientadas al norte. Esto dado a las diferencias en el contenido de materia orgánica y humedad del suelo entre ambos sectores (C. Li et al., 2023; Rodriguez et al., 2022b). Así mismo, fenómenos como el cambio climático o la actividad humana, también parecieran ser claves al controlar la biodiversidad del microbiana del suelo y sus funciones (Kondratyeva et al., 2020). Por ejemplo, el aumento de la exposición solar en las laderas orientadas al norte conduce además, a mayores tasas de evapotranspiración, reduciendo aún más la disponibilidad de agua para las comunidades microbianas e influyendo en su composición (Rodriguez et al., 2022). Por lo tanto, resulta clave estudiar con mayor detalle como variables ambientales asociadas a los biotopos que se presentan al interior del PNLC, se correlacionan con características como la composición y estructura del microbioma del suelo. De este modo, y utilizando una aproximación desde el paisaje, es posible proponer la presencia de una toposecuencia que reflejaría el rol del relieve en explicar la distribución, composición y estructura de los ecosistemas microbianos presentes en los suelos al interior del Parque Nacional La Campana.

ABREVIATURAS

XF: Xerophytic shrubland / Matorral xerófito

SF: Sclerophyllous forest / Bosque esclerófilo

HF: Hygrophilous forest / Bosque higrófilo

DSF: Dry sclerophyllous forest / Bosque esclerófilo seco

ASV: Amplicon Variant Sequence / Variante de secuencia de amplicón

AOA: Ammonia-Oxidizing Archaea / Arqueas oxidantes del amonio

ITS: Internal transcribed spacer / Espaciador transcrito interno

m.a.s.l: Meters above sea level / Metros sobre el nivel del mar

PNLC: Parque Nacional La Campana

PCoA: Principal Coordinate Analysis / Análisis de coordenadas principales

PCR: Polymerase chain reaction / Reacción en cadena de la polimerasa

qPCR: Quantitative polymerase chain reaction / PCR en tiempo real

rRNA: Ribosomal ribonucleic acid / Ácido ribonucleico ribosomal

Capítulo II. Hipótesis y objetivos

2.1. Hipótesis

Dada la alta diversidad de ambientes bióticos y abióticos que se presentan al interior del PNLC, se espera encontrar diferentes tipos de ensamblajes microbianos. No obstante, la distribución de estos no sería al azar, ya que seguirían de cerca gradientes ambientales asociados a factores como la temperatura, la humedad relativa y materia orgánica. De este modo, se plantea que tanto la composición y estructura del microbioma del suelo varían en función a una toposecuencia, dada por:

- Las comunidades microbianas del suelo y sus características, como abundancia y potencial funcional, variarán de acuerdo con la profundidad del suelo y la exposición solar, alcanzando una baja diversidad, abundancia y funcionalidad restringida en las laderas del norte (áreas más soleadas) del PNLC.
- Los ecosistemas esclerófilos (bosque esclerófilo y matorral xerófito) presentan micorrizas y filos comunes, mientras que el bosque esclerófilo seco y el bosque higrófilo mostrarán agrupaciones micorrícicas específicas y filos microbianos distintivos a nivel de la biósfera rara (<0.1%), asociadas a la presencia de palmas.

2.2. Objetivo general

Determinar la relación entre la composición y estructura de las comunidades microbianas del suelo y la integración de factores bióticos y abióticos del paisaje presente al interior del PNLC en una toposecuencia.

2.3. Objetivos específicos

- Caracterizar los consorcios de comunidades microbianas del suelo asociadas a distintas unidades del paisaje y comunidades vegetales presentes al interior del PNLC, y ubicarlas a lo largo de gradientes ambientales operando a diferente escala (i.e. toposecuencia) a fin de identificar los principales factores involucrados en modificar su composición y estructura.
- Identificar cambios en la composición y estructura de los consorcios de comunidades microbianas del suelo a escala de pedón (i.e. profundidad) a lo largo de una toposecuencia al interior del PNLC, a fin de caracterizar con mayor detalle sus potenciales funciones ecosistémicas.

Capítulo III

Rising awareness to improve conservation of microorganisms in terrestrial ecosystems: advances and future directions in soil microbial diversity from Chile and the Antarctic Peninsula

Céline Lavergne^{1,2}, Léa Cabrol^{3,4}, Sara Cuadros-Orellana⁵, Carolina Quinteros⁶, Alexandra Stoll^{7,8}, Carolina Yáñez⁹, Joseline Tapia¹⁰, Julieta Orlando^{4,11}, Claudia Rojas^{12,13}

Publicado en Front. Environ. Sci., 15 February 2024
Sec. Biogeochemical Dynamics
Volume 12 - 2024 | <https://doi.org/10.3389/fenvs.2024.1326158>

¹ HUB AMBIENTAL UPLA, Laboratory of Aquatic Environmental Research, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile

² Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile

³ Aix-Marseille University, Univ Toulon, CNRS, IRD, M.I.O. UM 110, Mediterranean Institute of Oceanography, Marseille, France

⁴ Millennium Institute Biodiversity of Antarctic and Subantarctic Ecosystems (BASE), Santiago, Chile

⁵ Centro de Biotecnología de los Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica de Maule, Talca, Chile

⁶ Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile

⁷ Laboratorio de Microbiología Aplicada, Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas, La Serena 1720256, Chile

⁸ Instituto de Investigación Multidisciplinario en Ciencia y Tecnología, Universidad de La Serena, La Serena 1720256, Chile

⁹ Grupo Ecología Microbiana de la Rizósfera (EMRi), Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile

¹⁰ Departamento de Ciencias Geológicas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile

¹¹ Laboratory of Microbial Ecology, Department of Ecological Sciences, Faculty of Sciences, Universidad de Chile, Santiago, Chile

¹² Laboratory of Soil Microbial Ecology and Biogeochemistry (LEMiBiS), Institute of Agri-Food, Animal and Environmental Sciences (ICA3), Universidad de O'Higgins, San Fernando, Chile

¹³ Center of Applied Ecology and Sustainability (CAPES), Santiago, Chile

Corresponding author: Claudia Rojas, claudia.rojas@uoh.cl

Conflict of interest: Authors declare no conflict of interest.



OPEN ACCESS

EDITED BY
Marta Sebastian,
Institut de Ciències del Mar, CSIC, Spain

REVIEWED BY
Antti Juhani Rissanen,
Tampere University, Finland
Yi Zhai,
Berkeley Lab (DOE), United States

*CORRESPONDENCE
Claudia Rojas,
✉ claudia.rojas@uoh.cl

RECEIVED 22 October 2023
ACCEPTED 29 January 2024
PUBLISHED 15 February 2024

CITATION
Lavergne C, Cabrol L, Cuadros-Orellana S,
Quinteros-Urquieta C, Stoll A, Yáñez C, Tapia J,
Orlando J and Rojas C (2024), Rising awareness
to improve conservation of microorganisms in
terrestrial ecosystems: advances and future
directions in soil microbial diversity from Chile
and the Antarctic Peninsula.
Front. Environ. Sci. 12:1326158.
doi: 10.3389/fenvs.2024.1326158

COPYRIGHT
© 2024 Lavergne, Cabrol, Cuadros-Orellana,
Quinteros-Urquieta, Stoll, Yáñez, Tapia,
Orlando and Rojas. This is an open-access
article distributed under the terms of the
Creative Commons Attribution License (CC BY).
The use, distribution or reproduction in other
forums is permitted, provided the original
author(s) and the copyright owner(s) are
credited and that the original publication in this
journal is cited, in accordance with accepted
academic practice. No use, distribution or
reproduction is permitted which does not
comply with these terms.

Rising awareness to improve conservation of microorganisms in terrestrial ecosystems: advances and future directions in soil microbial diversity from Chile and the Antarctic Peninsula

Céline Lavergne^{1,2}, Léa Cabrol^{3,4}, Sara Cuadros-Orellana⁵,
Carolina Quinteros-Urquieta^{1,6}, Alexandra Stoll^{7,8},
Carolina Yáñez⁹, Joseline Tapia¹⁰, Julieta Orlando^{4,11} and
Claudia Rojas^{12,13*}

¹HUB Ambiental UPLA, Laboratorio Observatorio de Ecología Microbiana, Laboratory of Aquatic Environmental Research, Laboratorio de Geografía Ambiental & Palinología, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile, ²Departamento de Ciencias y Geografía, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile, ³Aix-Marseille University, University Toulon, CNRS, IRD, M.I.O. UM 110, Mediterranean Institute of Oceanography, Marseille, France, ⁴Millennium Institute Biodiversity of Antarctic and Subantarctic Ecosystems (BASE), Santiago, Chile, ⁵Centro de Biotecnología de los Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Talca, Chile, ⁶Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile, ⁷Laboratorio de Microbiología Aplicada, Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas, La Serena, Chile, ⁸Instituto de Investigación Multidisciplinario en Ciencia y Tecnología, Universidad de La Serena, La Serena, Chile, ⁹Grupo Ecología Microbiana de la Rizósfera (EMRI), Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile, ¹⁰Departamento de Ciencias Geológicas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile, ¹¹Laboratory of Microbial Ecology, Department of Ecological Sciences, Faculty of Sciences, Universidad de Chile, Santiago, Chile, ¹²Laboratory of Soil Microbial Ecology and Biogeochemistry (LEMIBIS), Institute of Agri-Food, Animal and Environmental Sciences (ICA3), Universidad de O'Higgins, San Fernando, Chile, ¹³Center of Applied Ecology and Sustainability (CAPEs), Santiago, Chile

Soil ecosystems are important reservoirs of biodiversity, as they are the most diverse habitat on Earth. Microbial biodiversity plays key roles in many ecosystem services, including the support to biogeochemical cycles. However, despite great advances in the understanding of the role of soil microbiota in providing benefits to nature and humankind, there is still much knowledge to be gained from understudied areas across the globe. Indeed, underrepresentation of the Global South in ecological studies has been suggested as an important gap that could compromise global solutions to conservation and the current biodiversity and climate crisis. In the Southern hemisphere, the southwest of South America, which includes Chile, runs behind the rest of the continent on studies related to soil microbial diversity and ecosystem functions. Therefore, to gain a better understanding of the global biodiversity and environment crisis, essential perspectives and knowledge from underrepresented regions need to be acknowledged to avoid biases in the scientific community. The main objective of this work is to understand how soil microbial diversity has been studied in Chile and the Antarctic Peninsula since 1975 to identify main knowledge gaps and funding opportunities for future research. Our survey consists of 343 articles representing 1,335 sampling points from Continental Chile to the Antarctic

3.1. Abstract

Soil ecosystems are important reservoirs of biodiversity, as they are the most diverse habitat on Earth. Microbial biodiversity plays key roles in many ecosystem services, including the support to biogeochemical cycles. However, despite great advances in the understanding of the role of soil microbiota in providing benefits to nature and humankind, there is still much knowledge to be gained from understudied areas across the globe. Indeed, underrepresentation of the Global South in ecological studies has been suggested as an important gap that could compromise global solutions to conservation and the current biodiversity and climate crisis. In the Southern hemisphere, the southwest of South America, which includes Chile, runs behind the rest of the continent on studies related to soil microbial diversity and ecosystem functions. Therefore, to gain a better understanding of the global biodiversity and environment crisis, essential perspectives and knowledge from underrepresented regions need to be acknowledged to avoid biases in the scientific community. The main objective of this work is to understand how soil microbial diversity has been studied in Chile and the Antarctic Peninsula since 1975 to identify main knowledge gaps and funding opportunities for future research. Our survey consists of 343 articles representing 1335 sampling points from Continental Chile to the Antarctic Peninsula. It revealed a better representation of articles studying bacterial and fungal diversity in the extreme regions of Chile funded by both international funds and the National Agency for Research and Development (ANID). To study microbial diversity, cultivation-based methods are still the most commonly used, whereas molecular studies are increasing but insufficiently applied. We have identified and argued the need to enhance collaborative multi- and interdisciplinary efforts, fundings for sequencing effort, and long-term studies to provide robust and informative knowledge about soil microbial communities.

Key words: Global South, biogeography, microbial ecology, biodiversity

3.2. Introduction

Soil ecosystems are important reservoirs of biodiversity, as they are the most diverse habitat on Earth (Anthony et al., 2023). This biodiversity varies from microscopic constituents such as bacteria, archaea, fungi, and viruses, up to macroscopic life, all of which can spend their entire or part of their life cycle within the soil environment (FAO et al., 2020). Recently, it has been estimated that up to 50% and 90% of all bacteria and fungi identified on Earth are present in soil ecosystems, respectively (Anthony et al., 2023). It is indeed the soil spatial and temporal heterogeneity, along with characteristics missing in other microbial habitats (e.g., rhizosphere environments or spatial isolation within soil aggregate microhabitats), which contributes to this considerable variety of life (Jansson and Hofmockel, 2018). At a local scale, this diversity is mainly driven by soil physicochemical properties (e.g., pH and soil organic carbon) (Fierer et al., 2017), while spatial patterns at a global scale have been attributed to variations in plant composition and climate conditions, in addition to soil properties (Bardgett and van der Putten, 2014). It has also been pointed out that species richness belowground does not follow the same trend as aboveground biodiversity (Bardgett and van der Putten, 2014).

Microbial biodiversity plays key roles in many soil functions, which in turn results in important soil ecosystem services (Wall et al., 2012). In addition to the contribution to biogeochemical cycles, among others (Bardgett and van der Putten, 2014), soil microorganisms have been recognized as important drivers of ecosystem multifunctionality (i.e., ecosystem functions and services) in terrestrial environments at a global scale (Delgado-Baquerizo et al., 2016). Due to their wide range of functional capacities and their adaptation to diverse (including extreme) conditions, soil microorganisms offer potential biotechnological applications for food or pharmaceutical production. Despite great advances in the understanding of the role of soil microbiota in providing benefits to nature and humankind, much knowledge is needed to better comprehend its specific role in particular soil processes (Jansson and Hofmockel, 2018). Nowadays, global awareness of the

soil biodiversity transcendence in ecosystem functioning not only encourages the scientific community to further decipher soil microbial roles in the environment (i.e., from a genetic to a functional diversity level) (Bardgett and van der Putten, 2014; Jansson and Hofmockel, 2018), but also to contribute from academia with appropriate knowledge and technological solutions beyond academia. This is particularly important to support policy makers and stakeholders in their attributions to encourage sustainable soil management practices to preserve such biodiversity, functioning and associated ecosystem services (Cavicchioli et al., 2019).

In a global context, many of the studies conducted on soil biodiversity have taken place either in temperate ecosystems of the northern hemisphere (Guerra et al., 2020) or in tropical regions with a strong bias towards agroecosystems (Hartmann and Six, 2022). In ecology, this underrepresentation of the Global South has been suggested as an important gap that could compromise global solutions to conservation and the current biodiversity and climate crisis (Maas et al., 2021). In the Southern hemisphere, the southwest of South America, which includes Chile, particularly lacks studies on soil microbial diversity and ecosystem functions, as opposed to those conducted in the northern part of the continent (Guerra et al., 2020). The ecological significance of this region is beyond local, as Chile has been considered as a “biogeographic island” (Scherson et al., 2017), because it is surrounded by natural barriers (Altiplano, Atacama Desert, Los Andes Mountains, Pacific Ocean, Patagonian ice fields, Southern Ocean and Antarctica) that result in the evolution of a unique biota (Villagrán and Hinojosa, 1997; Villagrán and Armesto, 2005). The large latitudinal gradient characteristic of the Chilean territory, results in biogeographical and climatic conditions favoring the development of a rich and varied biodiversity, with 31,000 native species reported (Ministerio del Medio Ambiente – Chile, 2018) and around 25 % of them endemic (up to >50% for fishes, amphibians, reptiles, and plants) (Ministerio del Medio Ambiente – Chile, 2018). Moreover, Chile host one of the five Mediterranean biomes on Earth, which is considered one of the 36 worldwide global hotspots of conservation priority due to its endemism and a high degree of habitat loss, mainly

due to the conversion and replacement of the native vegetation (Fuentes Castillo et al., 2019). Therefore, to gain a better understanding of the global biodiversity and environment crisis, as it has been previously reinforced (Nielsen et al., 2017; Nuñez et al., 2019), essential perspectives and knowledge from underrepresented regions need to be acknowledged to avoid biases in the scientific community (Maas et al., 2021). This is particularly critical in zone of the globe such as Chile, where unprecedented climatic anomalies such as unprecedent droughts are expected to occur sooner than expected and increase in frequency in the next 30 years regardless of emission scenarios (Satoh et al., 2022).

In Chile recent efforts documenting the state of knowledge of soil biodiversity have pointed out disparities on soil taxa and ecosystem functions studied (Marín et al. 2022). Other national surveys have reported the distribution of soil organic carbon (Pfeiffer et al., 2020), and provided a gridded database on soil physical and hydraulic properties (Dinamarca et al., 2023), contributing to a better understanding of the environmental variables that could affect microbial diversity. Here, we complement these efforts by presenting a compilation and an in-depth analysis of additional aspects of soil microbial biodiversity studies conducted in Chile and the Antarctic Peninsula. In this systematic review, we have included the Antarctic Peninsula due to the scientific significance for Chile, reflected in specific financing programs developed to support research at this place. Moreover, we considered that it was important to incorporate this area because of administrative, geological, and biological connections with the continental territory. Thus, the area to cover includes diverse biomes, from the Atacama Desert to Antarctica, which adds complexity to the literature search and data analysis. Moreover, we add data generated in the past 50 years challenging to handle and analyze due to considerable changes in methodology registered overtime. The present review is the collective effort of a multidisciplinary group of researchers (microbiologists, ecologists, geneticists, soil scientists, and

geologists), and the data we present herein may serve as a guide to decision-makers regarding environmental conservation efforts, agroecosystems development, research funding, among others. The main objective of this work is to understand how soil microbial diversity has been studied in Chile and the Antarctic Peninsula since 1975 to identify main knowledge gaps and finding opportunities for future research.

3.3. Historical context of research and funding development contributing to the study of (soil) microbial diversity in Chile

The formal study of microorganisms in Chile began in the 1880s, with the foundation of the Histology and Pathological Anatomy Laboratories, in the Faculty of Medicine of the University of Chile (Rodríguez, 1992; Osorio, 2010). Microbiology was, at that moment, limited to bacteriological studies focusing on infectious pathologies (Seeger and Espinoza, 2008). In 1927, the Agronomic Institute was transferred to the University of Chile as the Faculty of Agronomy and Veterinary Medicine (Facultad de Ciencias Agronómicas Universidad de Chile. Historia, 2023) and in 1953, microbiologists from the Bacteriological Institute of Chile created the first Chilean Association of Microbiology (ACHM) now named Chilean Society of Microbiology (SOMICH) (Osorio, 2015). Along with SOMICH, the Society of Ecology of Chile (SOCECOL) and the Chilean Society of Soil Science (SCHCS) founded in the 70's have greatly contributed to the study of soil biodiversity in the Chilean territory. In terms of documentation of soil studies in Chile, in 1968, a soil map was published as one of the first efforts to show a classification of soils with taxonomic and cartographic units, with the aim to contribute to an adequate agricultural soil management (Alcayaga, 1968). Later, in 1992, the Map of Associations of Large Soil Groups in Chile gathered information from numerous soil studies carried out in Chile since the 1960s (Luzio and Alcayaga, 1992). Related to soils and biodiversity, the work on Mediterranean-type ecosystems (di Castri and Mooney, 1973) and microbial

activity in this type of climate (Schaefer, 1973) are among the earliest documented works paving the way to the study of soil microbial diversity in Chile.

Funding formalization to support research, scientific and technological development in Chile is reflected by the creation of several institutions and instruments. The Chilean Economic Development Agency (Corporación de Fomento de la Producción—CORFO) was created in 1939 to link research and productive development (Nazer Ahumada, 2016). Based on the Antarctic Treaty (signed on December 1, 1959, in Washington), the Chilean Antarctic Institute (Instituto Antártico Chileno—INACH) was established in 1963 to promote advances in Antarctic science (Ministerio de Relaciones Exteriores - Chile, 1966). The following year, the Institute of Agricultural Research (Instituto de Investigaciones Agropecuarias—INIA) (Quesada, 2016) was created. In 1953, the United Nations Economic Commission for Latin America and the Caribbean (ECLA, Comisión Económica para América Latina y el Caribe—CEPAL recommended the creation of a coordinating institution for technological research, with fiscal funds available (CEPAL—Comisión Económica para América Latina, 1953). From this, the National Commission of Scientific and Technological Research (Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica—CONICYT), currently the National Research and Development Agency (Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo—ANID) was founded in 1966 (Ministerio de Educación - Chile, 2018). The latter agency was created in 2018 with the objective of becoming a coordinating and funding hub for the advancement of science and technology in the national context, with a new institutional framework that created the Ministry of Science, Technology, Knowledge and Innovation (MinCTC&I) (Ministerio de Educación - Chile, 2018).

The first CONICYT (currently ANID) program was created in 1971 (Zárate et al., 2022); later, in 1981 the Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT) was launched, hence funding research projects since 1982 (Fig.II.1). This funding was developed as a competitive grant to support fundamental and applied science (Zárate et al., 2022), with the objective to

maintain and strengthen national capacity for high quality research (Benavente et al., 2012). The National Fund for Scientific and Technological Development (Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico—FONDEF) was created in 1991 to promote collaboration between academia and private sector by financing research in applied sciences (Benavente et al., 2012). Other relevant sources of research funding in Chile include the Millennium Science Initiative Program (Programa Iniciativa Científica Milenio) created in 1999 to finance research in the areas of Social and Natural Sciences. Since 2011, the Millennium Initiative is part of the MinCTC&I, and until 2013 it has supported 13 Millennium Institutes in the Natural and Exact Sciences and 15 Millennium Nucleus in the same areas (Ministerio de Ciencia Tecnología Conocimiento e Innovación, 2023). It is worth noticing that only two Institutes (Millennium Institute—BASE, Millennium Institute—SECOS) and three Nucleus (Millennium Nucleus—UPWELL, Millennium Nucleus—NUTME, and Millennium Nucleus—LiLi) specially focus on biodiversity, ecology and/or conservation mainly on aquatic related ecosystems (except LiLi) (Ministerio de Ciencia Tecnología Conocimiento e Innovación, 2023). In addition, another instrument created under ANID is the Centros Basales with the aim to strengthen Chile's scientific capabilities towards greater social and economic development (ANID—Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo, 2023). By 2024, out of the 19 Centros Basales, two (CAPES and IEB) concentrate their research on ecology, biodiversity, and sustainability.

Even with all this battery of programs and institutions, FONDECYT has remained the most important horizontal mechanism for funding scientific research in Chile (Benavente et al., 2012) (Fig. II.1). Despite the undoubted contribution to the national scientific development, it has also been recognized that up to 60% of funding from this program has been granted to only two, out of the 30 Universities belonging to the Consejo de Rectores de las Universidades Chilenas (CRUCH), both in the capital of Chile (Parada, 1999). Since 1981, ANID has funded 473 projects related to soil science (including “terrestrial” or “soil” terms in the title of the project), of which 50 have focused on soil biodiversity and/or microorganism

studies (Fig.II.1, white dots). Of such studies, 46% have been led by the sole University of La Frontera, in the Araucanía administrative region, representing a total of 2,171 k€ accumulated since 1981.

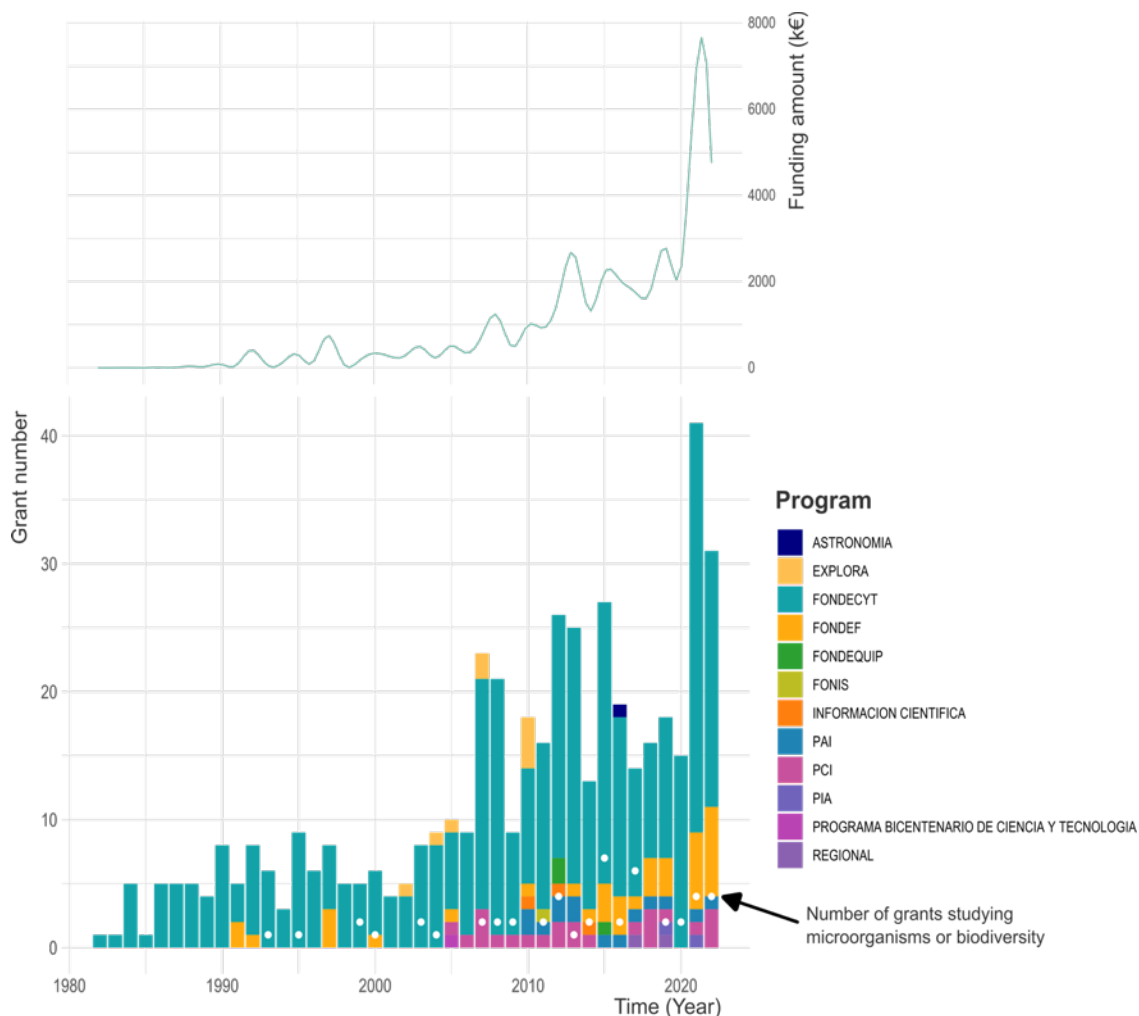


Figure III.1. Number of soil-related research grants funded by Chilean National Agency for Research and Development (ANID).

White points represented the number of grants corresponding to projects focusing on soil microorganisms or biodiversity. Dataset extracted and filtered from <https://github.com/ANID-GITHUB/Historico-de-Proyectos-Adjudicados>. ASTRONOMIA: Grant for scientific projects in Astronomy; EXPLORA: Programa Nacional de Divulgación y Valoración de la Ciencia y la Tecnología / National program for science and technology outreach; FONDECYT: Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico; FONDEF: Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico / National fund for scientific and technological development; FONDEQUIP: Programa de Equipamiento Científico y Tecnológico / National fund for scientific and technological equipment; FONIS: Fondo Nacional de Investigación y Desarrollo en Salud / National Fund for Research and Development in Health sciences; INFORMACION CIENTIFICA: Fund for strengthening the national scientific journals; PAI: Programa de Atracción e Inserción de Capital Humano Avanzado / Advanced human capital attraction and insertion program; PCI: Programa de cooperación internacional / International cooperation

program; PIA: Programa de investigación asociativa / Associative research program; PROGRAMA BICENTENARIO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA: Bicentennial program for sciences and technology; REGIONAL = National fund for the implementation of regional science and technology research centers.

3.4. Methodology

We created a dataset following the method described by Guerra et al. (2020) adapted to our topic of interest. Briefly, we collected published literature on studies of soil microbial biodiversity. For this literature search, we conducted independent searches in the Web of Knowledge (WOS), the SCOPUS and the PUBMED databases on June 23rd, 2023, within papers published between 1975 and 2023. For the first search, we used the keywords (soil OR sand) AND ("Antarctic Peninsula" OR Chile*) AND (*bacteria* OR fung* OR *archaea* OR vir* OR microbi* OR metagen* OR metatranscript* OR metataxon* OR genom*) using the 'Topic' search option, which includes title, abstract, author keywords, and Keywords Plus. Chile has strong commitments for the conservation and study of the Antarctic Peninsula. In this context, this territory was included in our study because of administrative, geological, and biological connections as well as scientific relevance for the country.

Rationale of data selection

The initial search returned 1,424 publications, which were further manually selected based on the following inclusion criteria: (1) soil samples excluding biocrusts, marine and lacustrine sediments (the "sand*" keyword being not selective enough to exclude sediments); (2) in situ soil samples were not modified by researchers before analysis (e.g., excluding microcosm or mesocosm incubation); (3) in the case of study after atypical events that may have caused a major change on natural microbial communities (e.g., following a wildfire), the study was only considered if they also provided a control point; (4) study was conducted in the Chilean claimed territory (including Antarctic Peninsula) (the "Chile*" keyword being not selective enough to exclude studies outside Chile); (5)

only original studies (i.e., reviews were excluded); (6) only studies with diversity data (i.e., studies with only microbial activity measurements were excluded). The list of selected publications based on the criteria previously described is available in Mendeley data repository at: [10.17632/vxpjcfvth.1](https://data.mendeley.com/datasets/vxpjcfvth/1).

Data handling

Among the 1,424 studies returned by the performed search, a total of 343 articles fitted the scope according to the criteria described in the methodological section. These 343 articles represented 1,335 sampling points where microbial biodiversity was studied in soils from Chile and the Antarctic Peninsula.

All the statistical analysis and figures were performed with the R software version 4.3.1 (R Core Team, 2021) using the R studio version 2023.09.0. The main packages used for the analysis of the dataset related to data frame manipulation, generation of the figures and visual purposes are listed with the corresponding references as supplementary information (see details in Table S1).

The sampling sites were classified into seven macrozones, grouping the administrative regions of Chile, to provide a spatial interpretation of the results (Fig.II.2): North (17 °S to 29 °S: Arica y Parinacota, Tarapacá, Antofagasta, and Atacama), Central (29 °S to 34 °S: Coquimbo, Valparaíso, and Metropolitana), Central-South (34 °S to 38 °S: O'Higgins, Maule, Ñuble, and Biobío), South (38 °S to 44 °S: Araucanía, Los Ríos, and Los Lagos including Chiloe island), Austral (44 °S to 56 °S: Aysén and Magallanes y la Antártica Chilena including Tierra del Fuego and Cape Horn), Insular (i.e., Chilean islands not considered in other regions including Easter Island, Juan Fernandez Archipelago), and the Antarctic Peninsula; two studies did not exhibit the information and hence were classified as "Non provided".

The methodology used in every selected article was clustered into 23 groups (Table 1).

The main objective of every article was reported and clustered into eight categories, named application potential, climate change, extreme environments, new species, effect of disturbance, functionality insights, biogeography, and others (which included descriptive surveys, biotic interactions, bioprospective studies, and paleomicrobiology surveys) (Figure S.II.1). A maximum of three categories was attributed to every single study; thus, a single article can contribute to more than one category.

Table III.1. Categories and details of the techniques reported in the current survey.

Categories	Techniques
CLONES	includes the whole cloning-sequencing approach
CULTURE	enrichment and isolation
DETERMINATION-HYPHAE	-
DETERMINATION-SPORES	-
DGGE	denaturing gradient gel electrophoresis
FLOW CYTOMETRY	cell detection and counting by flow cytometry
GENOMICS	whole genome sequencing of a single taxa included only if a non-disturbed initial sampling was provided in studies including inoculation of soil pots, greenhouse assay, microcosms, mesocosms, incubation vials, bioreactors, in situ soil inoculation, in situ soil chambers
INCUBATIONS	
METABARCODING	amplicon sequencing of 16S rRNA, 18S rRNA gene ITS gene or other functional genes at the whole community level, through 454 pyrosequencing or Illumina MiSeq
METAGENOMICS	shotgun metagenomic sequencing
MICROARRAY	Life Detector Chip containing 300 antibodies, oligonucleotide probes GeoChip for functional genes, PhyloChip for strain taxonomic identification
MICROSCOPY	-
OTHER FINGERPRINTS	nucleic acid-based fingerprints, including Temperature gradient gel electrophoresis – TGGE, Amplified ribosomal DNA restriction analysis – ARDRA, Single-strand conformation polymorphism – SSCP, BOX-PCR, Most probable number PCR – MPN-PCR, Southern Blot
PCR	-

PHYSIOLOGY	individual enzymatic activity or microbial metabolic activities of a global pathway; Biolog ecoplates--bacteria, archaea and micro-eukaryotes; community-level physiological profiling – CLPP; biodegradation assays; substrate utilization; antimicrobial activities; production of biochemical components; Plant growth-promoting capabilities – PGP
PIGMENTS	-
PLFA	fatty acid-based profiles
qPCR	gene abundance or expression of targeted genes by quantitative PCR
RESPIRATION	it is one class of “PHYSIOLOGY”
SEQUENCING	gene or gene fragment sequencing on individual populations obtained after culture or fingerprint such as DGGE band
SIDEROPHORES	-
T-RFLP	terminal restriction fragment-length polymorphism
TOXICITY ASSAYS	exposition to UV-C, heavy metal

3.4. Towards a better understanding of soil microbial communities in Chile and the Antarctic Peninsula

3.4.1. Historical and geographical trends

From a historical point of view, the first study reporting microbial diversity in soils from Chile (and the Antarctic Peninsula), within the time frame of this study (1975-2023), was documented in 1977 (Fig. II.2). It described two new fungal species from subantarctic Magallanes ecoregion and Antarctic Peninsula (Caretta and Piontelli, 1977). Later, from 1977 to 2005, we found few publications related to the scope of our study, with zero to two reports per year matching our research criteria. The exception to this was observed in 2002 when five studies were conducted in the South of Chile, in the South-Central area (n = 2), Easter Island, and Antarctic Peninsula. Four out of these five studies focused on fungal biodiversity, while the Antarctic study described microalgal communities. From 2005 onwards, the number increased exponentially to reach 11 studies per year between 2010-2015 and 25 per year between 2015-2023. Noticeably, the South

and Austral territories were the most studied areas in 1985, 1992, 2011, 2013, 2014, and 2016, accumulating 43 surveys until 2016. This tendency changed between 2017 and 2021, when the focus shifted to the Northern zone of Chile, particularly to the Atacama Desert, recognized as an analog of the soils on Mars since 2003 approximately; thus, as a relevant extreme ecosystem for the discovery of life (Azua-Bustos et al., 2012; Azua-Bustos et al., 2022). Lately, since 2022, studies from the Antarctic Peninsula have increased, both in proportions (60.6% of the studies per year) and absolute number of studies (i.e., $n = 30$ in 2022 and $n = 14$ in 2023).

The unique and extreme conditions of the Atacama Desert have been recognized globally due to its ecological niches, resulting in microbial life of scientific, technological, and conservation relevance (Bull et al., 2016; Contador et al., 2020). Our findings add to previous reports at the national scale, highlighting this site as one of the most studied places in Chile in terms of soil microbial diversity (Marín et al., 2022). The Atacama Desert, located within the dry subtropical climate belt, has been recognized as the driest and oldest desert on our planet, where no altitudinal movement has been detected since the end of the Jurassic (150 million years ago) (Hartley et al., 2005) and a cold marine upwelling current since at least the early Cenozoic is present (Azua-Bustos et al., 2012). Descriptions of the Atacama Desert soil microbiota date back to 1966 when NASA sought basic information on desert environments to develop and test instruments for the Viking Mission in 1976 (Cameron et al., 1966). Since this NASA mission provided inconclusive results about the existence of life on Mars, no sites were described during the 1980s (Azua-Bustos et al., 2012). Later, from the early 1990s, we identified two studies reporting the diversity of halophilic bacteria in this extreme environment (Prado et al., 1991; Prado et al., 1993). Then, in 2000, the extreme conditions of the Atacama Desert for the development of life were reported using light and solar UV-B radiation experiments (Dose et al., 2001). A milestone in the investigation of microorganisms from the Atacama Desert was published in 2003 by the group led by Chris McKay, who obtained comparable results as the experiments performed in the Viking Landers missions on Mars,

this time with samples taken in the Yungay area (80 km from Antofagasta). They found active decomposition of organic species in these soils and extremely low levels of culturable bacteria in the samples, which validated the Atacama Desert as a Mars analog. (McKay et al., 2003; Navarro-González et al., 2003).

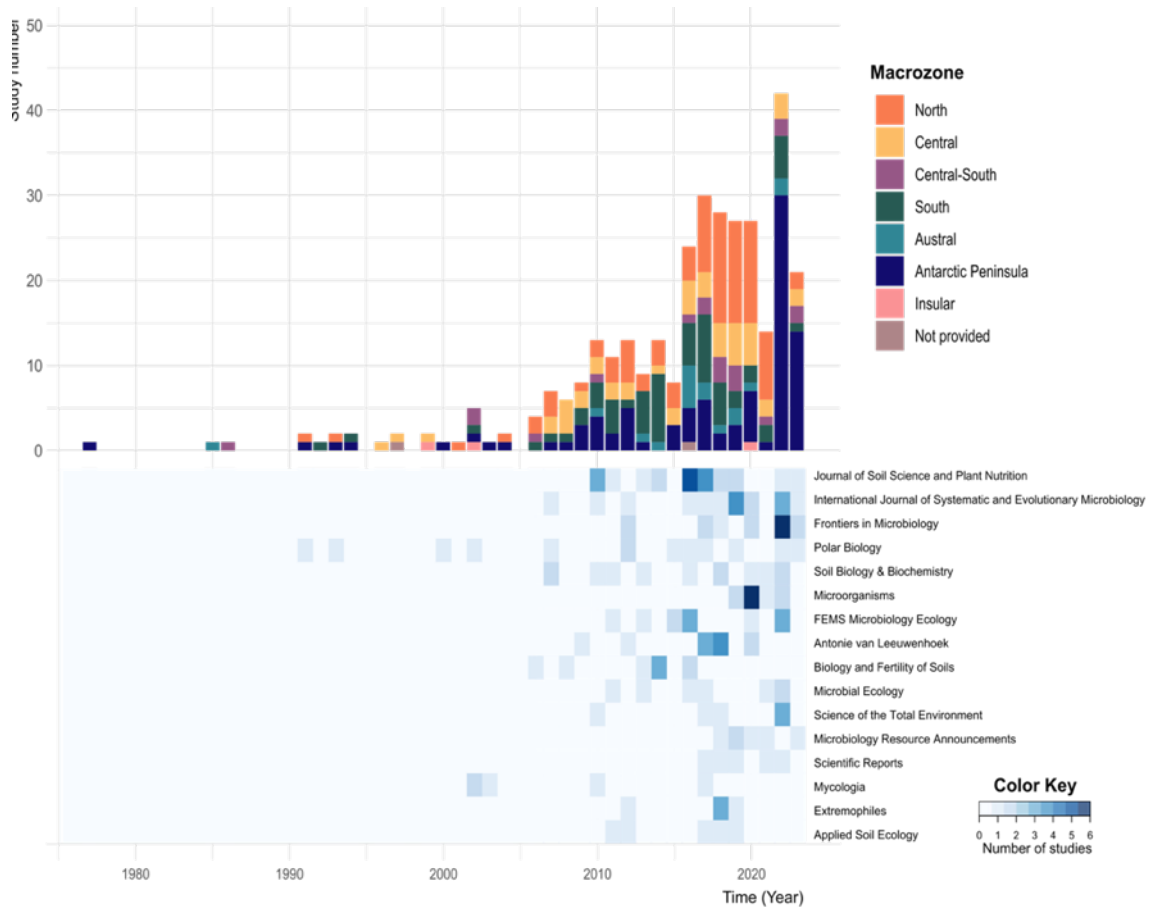


Figure III.2. Number of studies focusing on soil microbiome diversity in Chile and Antarctic Peninsula.

Top panel: number of soil microbial diversity studies per year and per Chilean macrozone. Bottom panel: number of soil microbial diversity studies published per year in the 16 most frequent scientific journals (only showing journals with more than five publications in total).

3.4.2. Main taxa and ecosystems studied

According to our search, out of the targeted microorganisms (i.e., bacteria, archaea, fungi, other microorganisms) studied in Chile and the Antarctic Peninsula, bacteria represent 73% of the studies, followed by fungi with 38% of

the studies (Fig. II.3). Studies focusing on bacteria were common in the North macrozone, representing 30.2% of the study, while articles reporting fungi biodiversity made up 63.6% of the sampling sites at Antarctic and South macrozone. Interestingly, archaeal communities were the main objective of only one study where two archaeal metagenome-assembled genomes (MAGs) were reconstructed (Santos et al., 2021), while two studies focused on the ammonia-oxidizing bacteria and archaea in Central Chile (Bustamante et al., 2012) and the Antarctic Peninsula (Han et al., 2013).

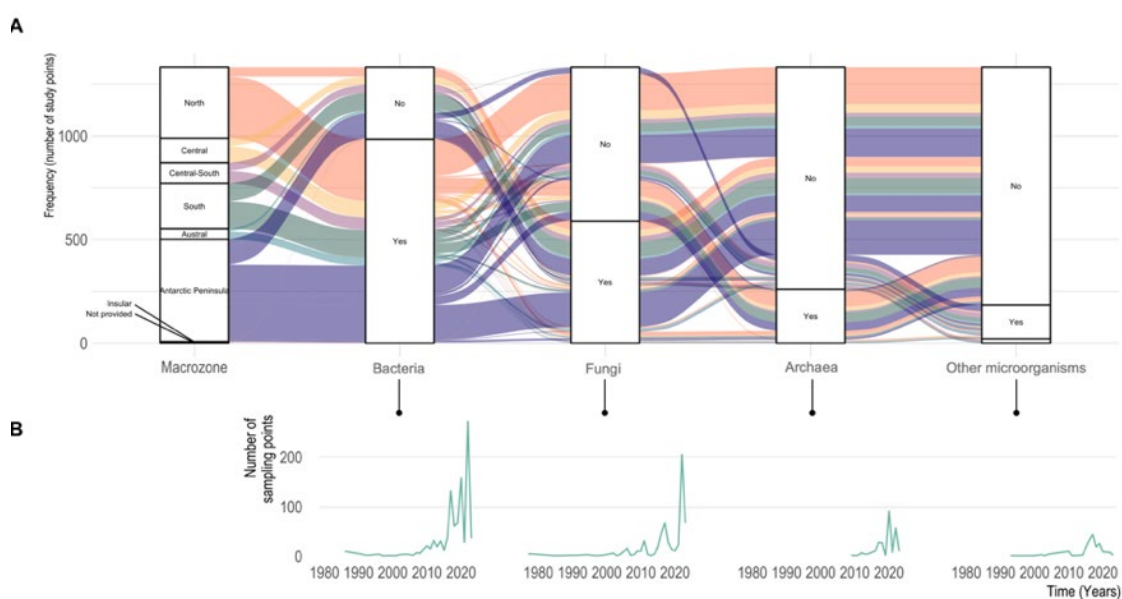


Figure III.3. Type of microorganisms studied from soils in Chile and the Antarctic Peninsula. A. Frequency based on the number of sampling points ($n = 1,335$ sampling points from 343 studies) is given for Bacteria, Archaea, Fungi and Other microorganisms by Chilean Macrozone (first clustering and color). Color for macrozone is similar to figure 2 and figure 3. B. Evolution of the number of sampling points studied per year for every microorganism group considered in this study.

The surveyed ecosystems in the selected publications were representative of the main biomes and/or land use of the region across macrozones (Fig. II.4). Desert and salt flat reports represented up to 87.8% of the studies conducted in the North of Chile (corresponding to Arica y Parinacota, Tarapacá, Antofagasta, and Atacama administrative regions), which represents the driest territory in the country, with desertic arid to semi-arid climates. The central zone (corresponding to the Coquimbo and Valparaíso regions, and the Metropolitan region, where

Santiago, the capital of the country is located), with the highest population density in Chile, encompassed the greatest diversity of ecosystems studied, including scrublands and human-impacted ecosystems (e.g., urban and industrial). In the South-Central area (O'Higgins, Maule, Ñuble & Biobío regions) and Southern territory (La Araucanía, Los Lagos, Los Ríos regions), 86.8% of the selected studies focused on agricultural, forest, and grassland ecosystems, which is consistent with the main land uses at these places. Indeed, the Maule, Ñuble, Biobío, and Araucanía regions have the highest annual and permanent crop area (around 350,000 Ha each) and forest plantation area (500,000 to 980,000 Ha each; ODEPA—Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (2019)) in the country. Finally, forest and scrubland studies dominated in the Austral macrozone (Aysén and Magallanes regions) which is in line with the highest area of native forest reported in the Los Lagos, Aysén, and Magallanes y la Antártica Chilena regions (2,400,000 to 4,400,000 Ha each; ODEPA—Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (2019)).



Figure III.4. Main soil use categories for each macrozone.
The number of sampling points per macrozone is indicated between brackets.

3.5. Main research scope and funding for the study of soil microbial diversity in Chile and the Antarctic Peninsula

3.5.1. Main scopes of the soil microbial diversity studies

Out of the eighth research scopes categories used in this survey (Fig. II.5), 202 articles focused on studies including descriptive, biotic interactions, bioprospecting studies, and paleomicrobiology surveys (shown as Others in Fig. II.5). Descriptive studies, focusing mainly on the identification of novel species of bacteria and fungi, represented about 40% of these surveys. The second most abundant category corresponded to biotechnological applications (shown as Application in Fig. II.4), with 145 out of 343 of the articles identified in our study. Half of the biotechnological applications relate to the agricultural sector, with an important focus on plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), which can enhance plant growth by a wide variety of mechanisms like phosphate solubilization, siderophore production, biological nitrogen fixation, phytohormone production, antifungal activity, induction of resistance to pathogen toxins, promotion of beneficial symbioses, etc. (Bhattacharyya and Jha, 2012). PGPRs offer an attractive way to replace the use of chemical fertilizers or pesticides for the development of sustainable agriculture. In our survey, agricultural application studies focus on crops of interest for Chile or on the adaptation to harsh climatic conditions (e.g., Fuentes et al., 2020; Meza et al., 2022). Another important sector of application is the use of soil microorganisms for bioremediation of contaminated sites, especially by oil (e.g., Serrano and Leiva, 2017; Vázquez et al., 2017), as well as the use of microbial consortia naturally adapted to specific conditions (e.g. low temperature) for bioenergy (methane) production (Aguilar Muñoz et al., 2022). Several extremophilic strains have also been isolated, especially from Antarctic ecosystems, and evaluated for their capacity to produce enzymes of commercial

interest, acting as biocatalysts able to carry out reactions at nonstandard conditions (Cabrera and Blamey, 2018; Espina et al., 2022).

Another important focus of the articles selected was the adaptation to extreme environments with 106 studies. These included conditions including dryness, temperature, and salinity, all of which are typical extreme conditions found in the desert and salt flats of Northern Chile (e.g., Paulino-Lima et al., 2013; Pulschen et al., 2015). These studies are of particular interest for astrobiology and take place in the Atacama Desert, reflecting the relevance of extreme environments at a global scale in the search for life. Indeed, in 2003, the European Science Foundation (ESF) launched support for the Investigating Life in Extreme Environments (ILEE) initiative, highlighting the need for a coordinated, interdisciplinary approach to future "Life in extreme environments" (LEXEN) research. The Coordinating Action for Research on the Study of Life in Extreme Environments (CAREX) was developed between 2008 and 2011 and had four priority areas: (1) contributions of life in extreme environments to biogeochemical cycles and responses to environmental change, (2) stressful environments - responses, adaptation, and evolution, (3) biodiversity, bioenergetics and interactions in extreme environments, and (4) life and habitability (Martins et al., 2017).

The biogeographic distribution of soil microorganisms and how it is related to latitudinal, altitudinal, edaphic, climatic, or biotic (e.g., vegetation cover) gradients also took an important proportion of the studies, with 92 of them focusing on this topic. The peculiar geographic and geomorphological context of Chile, with considerable latitudinal and altitudinal gradients, reflected over more than 4,000 km of expansion from North to South, and few hundred kilometers starting from the Pacific Ocean up to > 6,000 m.a.s.l in the Andes Cordillera, resulting in more than 20 climatic regimes in the country (ODEPA—Oficina de Estudios y Políticas Agrarias, 2019). These unique natural gradients represent a remarkable diversity of ecosystems to explore soil microbial diversity patterns. In our survey, 20 studies focused on altitudinal gradients (e.g., Renny et al., 2017; Rodríguez-Echeverría

et al., 2021) and 17 on the influence of latitudinal variation (e.g., Marín et al., 2017; Knief et al., 2020).

Lastly, studies on disturbance, functionality, and climate change were represented by 89, 87, and 44 studies, respectively. Not surprisingly, within the effect of climate change, in Chile, the main research scope was the effect of water scarcity (linked to increased aridity), on soil microbiomes (Neilson et al., 2017) followed by glacial retreat effects on soil microbial communities (Fernández-Martínez et al., 2017). Within the environmental and anthropogenic disturbances identified in our survey, the majority were related to agriculture management, bringing new insights about how to prevent soil degradation (Ramírez et al., 2020) or leaching (Cardenas et al., 2013). The high proportion of studies assessing the impact of inorganic contaminants (mainly metals) can be related to the importance of the mining activity in Chile (e.g., Altimira et al., 2012; Carvajal et al., 2023).

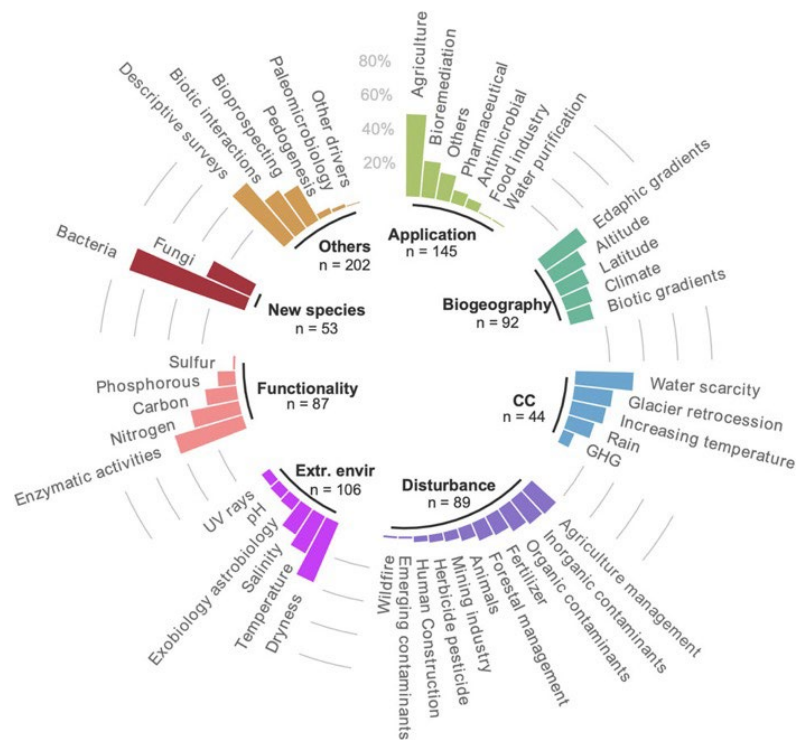


Figure III.5. Proportion of studies addressing one of the main research scopes identified in this dataset.

A single study can match several (sub)categories. CC: climate change; GHG: greenhouse gas; Extr. Env.: extreme environments.

3.5.2. Sources of fundings

Out of the reported sources financing research on soil microbial diversity in Chile (23 studies did not provide such information), international funding supported 53% of the studies (Fig. II.6), of which 59% was dedicated to studies in continental Chile. FONDECYT was the main national financial support, funding 28.7% of the studies (i.e., n = 141). This Chilean research grant represents the earliest national funding instrument supporting soil microbial diversity studies, with publications acknowledging this from 1992 until the present. The second most important pecuniary source with 8.9% of the studies funded is the so-called “Others” category that includes funding from universities or regional government, bilateral cooperation projects between CONICYT and equivalent foreign research agencies (e.g., Argentina, UK, Spain), programs funded by ANID that favor the insertion into the academia, Education Quality, and Equity Improvement Program (MECESUP Program) and private companies (e.g., Agroenergía Ingeniería Genética S.A, Anglo American Sur Ltda.). Overall, 25.5% of the Antarctic studies involving Chilean institutions were financed or co-financed by the Chilean Antarctic Institute (INACH). Interestingly, although INACH was founded in 1964 and started to finance research in 1995, only in 2016 did the first study on soil microbial diversity in Antarctica receive financial support from this institution (Fig. II.6).

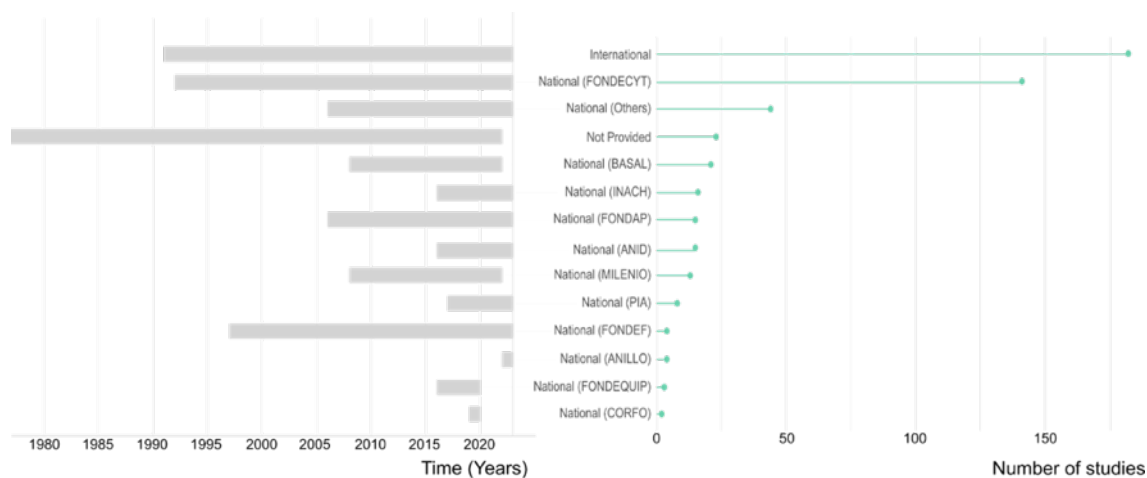


Figure III.6. Timeline and importance of funding sources.

Left panel: timeline of funding sources considering that one single study can be supported by one or more funding sources. Right panel: quantitative importance of funding sources expressed as the number of studies funded.

3.6. From cultivation to omics techniques

Culture was the most employed methodology (46.4% of the studies; Fig. II.7), followed by sequencing (27.7% of the studies) and physiological-based approaches (23.3% of the studies). Since 1975, cultivation-based methods have allowed the detection and description of soil microorganisms in Chile. This technique remained the unique approach for microorganism exploration until 1997 and nowadays it is still used, often in combination with other methods (Fig. II.7). In our survey, 15.5% of the studies ($n = 53$) allowed the isolation/culture of 61 new microbial taxa (40 bacteria and 21 fungi). This input represents a great contribution to scientific knowledge on soil biodiversity, as these contributed to better comprehend the diversity of Actinobacteria (Idris et al., 2017), Micromonospora (Carro et al., 2018) and Actinomycetes (Okoro et al., 2009). Additionally, they revealed functions still not described in various genus such as biodegradation of chlorinated aromatic compounds (Fulthorpe et al., 1996), metal-chelating compound production (Machuca et al., 2007), tolerance to UV-C (Paulino-Lima et al., 2013), biomineralization of Li-containing nanomaterials by Li-resistant bacteria (Bruna et al., 2022), degradation of PAH (Gran-Scheuch et al.,

2020) and antiproliferative activity against a colon cancer cell line (Pavón et al., 2023). The new strains were mainly isolated from the North macrozone (50.9% of the studies, n = 30) and the Antarctic Peninsula (23.7% of the studies, n =14). In the other macrozones, the remaining 9 studies described mainly new fungal species or genus (n = 10) such as the new genus *Nothophytophthora* gen. nov. (Jung et al., 2017) or *Podospora selenospora* sp. nov. discovered from the A0 horizon of a Chilean xerophilic forest soil of the Central-South region (Stchigel et al., 2002).

In 1997, we began to observe the first culture-independent studies using DNA sequencing, cloning, and amino-acid-based fingerprint techniques (Fig. II.7). The evolution and change of methods allowed to study new aspects of microbial communities. The metabarcoding of a target gene used as a proxy of diversity (mainly 16S rRNA gene for prokaryotes, ITS gene for fungi, and 18S rRNA gene for eukaryotes) began to appear in 2012 in our dataset. Despite the recent incorporation of metabarcoding at the national context, this is the third most used technique with a total of 79 (23 %) studies, revealing a very fast spreading of this low-cost high-throughput technique providing access to the whole diversity of a community, overpassing the culture biases and limitations. Indeed, most of the data reported for archaea came from studies using metabarcoding approaches based on sequencing of the 16S rRNA genes. The improvement on sequencing technologies and the decrease of cost resulted in an increase of the use of metagenomic techniques since 2017 (both Illumina MiSeq and Oxford Minion). Metabarcoding, metagenomic or metranscriptomic data were available from the Central, Central-South and Austral regions in a total of no more than 81 sampling points. Continental Chile only accounted for 52.2% of all the sampling points (i.e., 291 sampling points) where high throughput sequencing techniques are applied (Fig. S.II.4). In our survey, we detected 10 studies using shot-gun sequencing since 2017, with four of them published in 2022 (Fig. II.7). This technique provides access to the full genomic content of a community, which is useful for functional insights and reveals the metabolic potential of a community, by overpassing the PCR-based biases of metabarcoding. Hence, genomes of uncultured

microorganisms can be reconstructed through the generation of MAGs) to explore new putative functions or genes (Hernández et al., 2020). Also, complete genomes of previously isolated strain can be provided (Valenzuela-Heredia et al., 2020; Núñez-Montero et al., 2023). Yet, this approach is based on community DNA, and does not specifically target active microorganisms through their RNA. Based on the publication revised in this survey, no metatranscriptomic study has been reported for the study of microbial diversity in soils from Chile. The difference in soil microbial community representation by culture-dependent and culture-independent approaches has been extensively reported (e.g. Stefani et al., 2015; Hinsu et al., 2021), even in the Chilean Andean highlands (Maza et al., 2019) resulting in the identification of some taxa overrepresented by culture-dependent techniques compared to high throughput sequencing. Also, through cultivation, Hinsu et al. (2021) showed the detection of a large proportion of amplicon sequence variants (ASVs) not retrieved by 16S rRNA gene metabarcoding, suggesting the need to associate different approaches and methodologies. Importantly, 62.7% of the studies combined two or more methodological approaches to provide a more complete picture of microbial diversity. It is interesting to note the efforts to go beyond a sole description, by coupling diversity surveys based on molecular data with functional approaches such as the measurement of diverse enzymatic activities make up 23.3% of the studies (Fig. II.7).

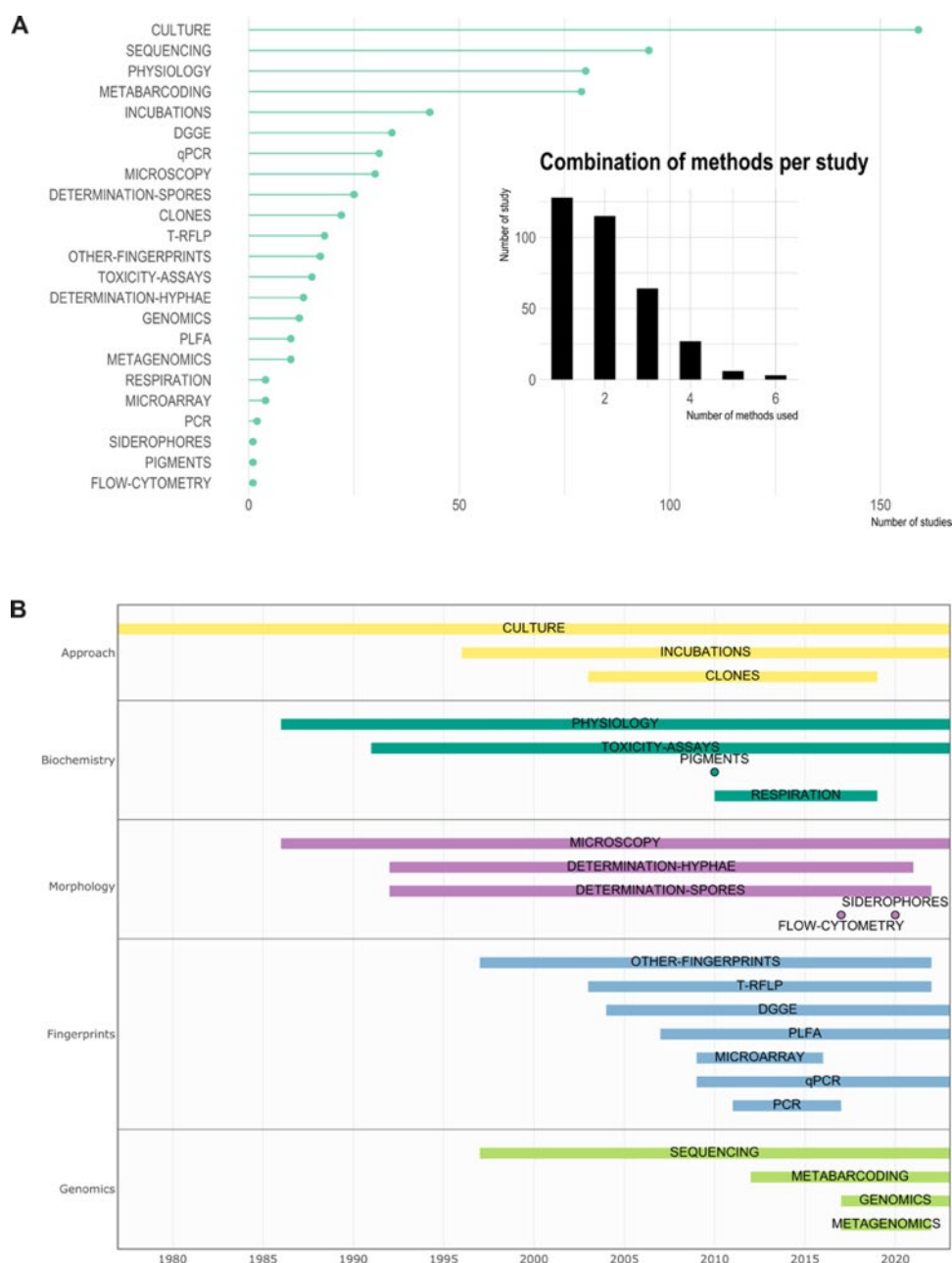


Figure III.7. Chronological and quantitative analysis of the methods used to study microbial diversity in soils.

A. Identification and frequency of methodologies used in soil microbial diversity studies. Number of studies using at least one of the listed techniques. The inserted barplot presented the number of different methods used per study. B. Timeline of the methodologies clustered in categories partly defined according to Hatzenpichler et al. (2020).

3.7. Future directions and opportunities to study soil microorganisms in

Chile

There is a widely recognized interest for microorganisms from extreme environments due to their potential biotechnological applications such as enzyme production under extreme conditions, biomass conversion, biobased products, sustainable industrial processes, or prospection of life on extraterrestrial habitats, as reviewed in different parts of the world (e.g.: Krüger et al., 2018; Kochhar et al., 2022; Schultz et al., 2023). In Chile, extremophilic microorganisms inhabiting unique environmental conditions in Chilean ecosystems have been studied, together with their potential for biotechnological applications (Azua-Bustos and González-Silva 2014; Anguita et al., 2018; Orellana et al., 2018; Leiva-Aravena et al., 2019). Indeed, Chile offers a particularly attractive natural laboratory in this perspective due to its multiple extreme ecosystems. The great range of edaphic conditions characterized by alkaline or acidic pH, high salt and metal concentrations, wide temperature gradients, water stress, and strong UV radiation of the high-altitude deserts, salt flats, and geysers in the north of Chile (Altiplano and Atacama Desert) represent a unique microbial reservoir of life of international interest. Soils influenced by high altitude glaciers, geothermal springs, and volcanic activity in the Andes mountains in Central Chile, are subjected to a wide temperature gradient and high metal concentrations. In the southern extreme of Chile microbial life thrives in extremely low temperatures associated with ice fields, cold lakes, and fjords in Patagonia and Antarctica. Therefore, beyond the clear and urgent need to increase the number of studies focusing on soil microbial diversity in the southern hemisphere and extreme ecosystems, through our survey, we identified three main directions for future research: 1) enhance multi- and interdisciplinary collaborations, 2) increase funding support for high throughput sequencing approaches to study soil microbial diversity in Chile, and, 3) perform long-term studies.

3.7.1. Collaborative multi- and interdisciplinary studies

Soil ecosystem functioning is complex and depends on the interaction of biological processes, soil physical structure, chemical reactions, and geological context, among others. Therefore, soil microbial diversity can only be fully understood through the integration with these connected disciplines. Despite some efforts to combine soil microbial diversity and geochemical data (e.g., Mandakovic et al., 2018; Aponte et al., 2022; Barret et al., 2022; Aguado-Norese et al., 2023), integrated studies are scarce. As an example, in our survey the type of soil was rarely explicitly indicated, despite the great diversity of soil orders identified in Chile (Casanova et al., 2013). In 73.8% of cases, the type of soil was not described or not identified, which hampers the possibilities of comparisons and raises the need for greater interdisciplinary collaboration among ecologists, microbiologists, and soil scientists to deeper characterize soil ecosystems as living bodies.

Even within biological sciences, interactions are rare, as shown by the low proportion of studies (16.3%) addressing biotic interactions with other components of biodiversity, despite the importance of microorganisms in soil food web both above- and below-ground feedback. Finally, social sciences and humanities are absent from our survey. As a result, the multidisciplinary wide scope journals such as *Science of the Total Environment* and *Scientific Reports* only accounted for 6 and 5 studies, respectively (Fig. II.2). This reinforced a lack of interdisciplinarity as the main journals chosen for publication are highly specialized. Yet, they need to be included in biodiversity studies to provide historical, sociological, or economical perspectives of soil use, as well as to integrate traditional knowledge. Future directions in soil microbial diversity studies should involve tight collaboration with different disciplines to provide a more global picture of ecosystem functioning from different perspectives. Therefore, it seems to us to integrate not only knowledge from natural science related fields but also social science in particular within the new generation of scientists and stakeholders is critical. We hence fully agree with what Timmis et al. (2020) called

“the need for microbial literacy” and consider that multidisciplinary teams of microbiologists, microbial ecologists and social scientist should promote, through the collaboration, the access of this knowledge to the society (Bradshaw, 2021). This is critical if complex multi-component concerns such as climate change impact are to be addressed. A possible orientation towards this direction can be encouraged by funding criteria, with the development of interdisciplinary research calls, such as the new “Exploration Call” from Chilean ANID, aiming at contributing to the development and consolidation of disruptive, novel, high-uncertainty scientific-technological research. Finally, as revealed by our survey, the use of soil as a reservoir of microbial resources for potential biotechnological applications is of strong interest in continental Chile, especially in extreme remote regions. However, these prospective studies barely involve traditional knowledge and local communities who live in these places and benefit from ecosystem services provided by uniquely adapted microbial communities. Hence, as a perspective, we consider that a compromise between resource use and conservation should be accounted for in future research, relying on more dialogue and inclusion of local communities.

3.7.2. Increase and decentralize funding for high-throughput sequencing

As shown in our survey, soil microbial diversity is spatially heterogeneous across Chile, with some highly represented regions (namely, the most extreme ones) and others under-represented, such as the insular and the Austral regions. Funding should promote the development of studies in under-represented ecosystems.

On one hand, at a global scale, south-north collaborations are a way to improve funding availability and stimulate global-impact research (Baker, 2023). However, we observed in our survey that more than 30% of the soil microbial diversity studies conducted in the northern regions of Chile did not involve any Chilean institution (Fig. S.II.2 & S.II.3), highlighting a very strong international interest in the Atacama Desert as an analog for the search for life on Mars and a lack of local

collaborations. To improve our knowledge using cutting-edge techniques and propose suitable protection measures/solutions, it is necessary to maintain and strengthen south-north collaborations even between high-income countries in science. Moreover, Chile, as most Latin American countries, is considered a high-income country by the World Bank (World Bank Group, 2020) and the Organization for Economic Co-operation and Development (OECD, 2022). However, in 2020, only 0.33% of the gross domestic product (GDP) of the country was dedicated to research and development, while in Europe, on average 2.23% of the GDP support scientific research (Eurostat, 2023), ranging from 0.46% to 3.44% depending on the country.

On the other hand, at a national scale, we consider that incrementation and decentralization of funding for sequencing is urgently needed to continue supplying the universal microbial genetic archives from Chilean terrestrial ecosystems. In Chile, the FONDEQUIP (Fund for Scientific and Technological Equipment) program alone has allowed for the acquisition and implementation of 10 DNA sequencing platforms, six of which are in Santiago. At a global scale, omic observatories are flourishing, but the global south is generally less covered, and our survey demonstrates that local efforts may be integrated into global networks. For example, shotgun environmental DNA sequencing would provide valuable data combined with culture and functional inputs. Amplicon throughput sequencing methods are now common in soil microbial studies in Chile, but our review shows that they appeared relatively late in the national context compared to worldwide studies. The same happens with metagenomics reported for the first time in 2017 in our survey, while metatranscriptomics studies are absent despite their rapid development in other parts of the world. This delay could be due to the prohibitively high costs of these techniques, resulting in the need to wait until they become more affordable as occurred previously with amplicon sequencing. This

limitation could be overpassed with enhanced specific funding encouraging the use of state-of-the-art techniques.

3.7.3. Long term studies

Another gap that has been identified during our survey is the lack of long-term studies. As pointed out by Cavicchioli et al. (2019) long-term monitoring is needed as they allow to identify patterns between biological parameters and climatic variables or gradual changes that cannot be detected with single sampling events. As an example, Hartmann et al. (2015) demonstrated the effect of conventional versus organic agriculture on soil microbial diversity (bacteria and fungi) over 20 years of monitoring in Switzerland. Also, along a 7-year survey, Wu et al. (2022) evaluated the effect of warming temperatures on bacterial, fungal and protistan diversity and interactions in an old-field tall-grass prairie in Oklahoma (USA). In our survey, we retrieved only one long-term study, reported by Aguilera et al. (2016). It conducted a 25-years study bringing new insights about the effect of precipitation regime changes and presence of small mammals on bacterial and fungal communities in a semi-arid shrubland of the Bosque Fray (Jorge National Park). One factor that limits the realization of long-term studies is the scarcity of medium- to long-term fundings almost nonexistent in Chile. The ANID BASAL and FONDAP are the two funding tools available for research centers in Chile for 5 years projects (renewable for 5 more years). Two centers with BASAL fundings (CAPES and IEB) focus on biodiversity and ecology at the time of writing and may have the capacity to produce long-term dataset, hence filling the important gap for terrestrial microbial ecology in Chile.

3.8. Conclusions

Through a comprehensive review of 343 articles studying soil microbial diversity from Chile and the Antarctic Peninsula, we revealed a strong interest in applied microbiology to improve agriculture practices and the study of extreme

environments. The deep analysis of the main fundings and the evolution of methodologies used to study microbial community diversity in this territory, provided recommendations for future research in this field. We emphasized the need for multi- and interdisciplinary efforts to increase knowledge on soil microbial diversity not only for academia but also to bring this to local communities and stakeholders. We suggested some future funding directions adapted to the use of cutting-edge techniques. Finally, we argue the urgent need to begin long-term studies, crucial in a global change context. Our work contributes both to global and local awareness on the importance of soil microbial biodiversity in Chile and the Antarctic Peninsula. Indeed, the geographic region we cover here, with its unique biodiversity and variety of biomes, might serve as a natural laboratory where for example the effect of climate anomalies on soil microbial diversity can be evaluated sooner than elsewhere.

3.9. Acknowledgments

Authors particularly acknowledge the preliminary discussions with the founding members of the first Chilean Microbial Ecology Network (Red Chilena de Ecología Microbiana, RECHEM). We are also grateful to Constanza Soto for her help in the dataset generation. CL and CR also acknowledge the support frame under the project URO RED 21992 (Plan de Fortalecimiento de Universidades del Estado (CUECH)).

3.10. Funding

C. Lavergne has been supported by ANID FONDECYT 11201072. S. Cuadros-Orellana acknowledges ANID FONDECYT 1201692, ANID FONDEQUIP EQM210185 and ANID FONDEF ID23I10049 support. C. Quinteros has been funded by ANID BECAS/DOCTORADO NACIONAL 21221130. C. Rojas acknowledges ANID FONDECYT 11180869 and ANID PIA/BASAL FB0002. L. Cabrol acknowledges support from ANID FONDECYT 1211672 and INACH

RT09-12. J. Orlando and L. Cabrol acknowledged support from ANID – Millennium Science Initiative Program – ICN2021_002.

3.11. References

- Aguado-Norese, C., Cárdenas, V., Gaete, A., Mandakovic, D., Vasquez-Dean, J., Hodar, C., ... & Gonzalez, M. (2023). Topsoil and subsoil bacterial community assemblies across different drainage conditions in a mountain environment. *Biological Research*, 56(1), 1-15. doi: 10.1186/s40659-023-00445-2.
- Aguilar-Muñoz, P., Lavergne, C., Chamy, R., & Cabrol, L. (2022). The biotechnological potential of microbial communities from Antarctic soils and sediments: Application to low temperature biogenic methane production. *Journal of Biotechnology*, 351, 38-49. doi: 10.1016/j.jbiotec.2022.04.014
- Aguilera, L.E., Armas, C., Cea, A.P., Gutiérrez, J.R., Meserve, P.L., and Kelt, D.A. (2016). Rainfall, microhabitat, and small mammals influence the abundance and distribution of soil microorganisms in a Chilean semi-arid shrubland. *J. Arid Environ.* 126, 37-46. doi: 10.1016/j.jaridenv.2015.11.013.
- Alcayaga, S. (1968). "Los mapas de suelos", in: Publicación técnica N°1. Series 1968. (Santiago de Chile: CORFO).
- Altimira, F., Yáñez, C., Bravo, G., González, M., Rojas, L.A., and Seeger, M. (2012). Characterization of copper-resistant bacteria and bacterial communities from copper-polluted agricultural soils of central Chile. *BMC Microbiol.* 12, 193. doi: 10.1186/1471-2180-12-193.
- Anguita, J. M., Rojas, C., Pastén, P. A., & Vargas, I. T. (2018). A new aerobic chemolithoautotrophic arsenic oxidizing microorganism isolated from a high Andean watershed. *Biodegradation*, 29, 59-69. doi: 10.1007/s10532-017-9813-x.
- ANID—Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (2023). Centros Basales [Online]. Available: <https://anid.cl/centros-e-investigacion-asociativa/centros-basales/> [Accessed 14 october 2023].
- Anthony, M.A., Bender, S.F., and van der Heijden, M.G.A. (2023). Enumerating soil biodiversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 120(33), e2304663120. doi: 10.1073/pnas.2304663120.
- Aponte, H., Galindo-Castañeda, T., Yáñez, C., Hartmann, M., & Rojas, C. (2022). Microbial community-level physiological profiles and genetic prokaryotic structure of burned soils under Mediterranean sclerophyll forests in central Chile. *Frontiers in microbiology*, 13, 824813. doi: 10.3389/fmicb.2022.824813.
- Averill, C., Anthony, M.A., Baldrian, P., Finkbeiner, F., van den Hoogen, J., Kiers, T., et al. (2022). Defending earth's terrestrial microbiome. *Nat. Microbiol.* 7(11), 1717-1725. doi: 10.1038/s41564-022-01228-3.
- Azua-Bustos, A., & González-Silva, C. (2014). Biotechnological applications derived from microorganisms of the Atacama Desert. *BioMed Research International*, 2014. doi: 10.1155/2014/909312.

- Azua-Bustos, A., González-Silva, C., and Fairén, A.G. (2022). The Atacama Desert in Northern Chile as an analog model of Mars. *Front. Astron. Space Sci.* 8. doi: 10.3389/fspas.2021.810426.
- Azua-Bustos, A., Urrejola, C., and Vicuña, R. (2012). Life at the dry edge: Microorganisms of the Atacama Desert. *FEBS Lett.* 586(18), 2939-2945. doi: 10.1016/j.febslet.2012.07.025.
- Baker, S. (2023). North-south publishing data show stark inequities in global research. *Nature*, 624(7991), S1. doi: 10.1038/d41586-023-03901-x.
- Bardgett, R.D., and van der Putten, W.H. (2014). Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* 515(7528), 505-511. doi: 10.1038/nature13855.
- Barret, M., Gandois, L., Thalasso, F., Martinez Cruz, K., Sepulveda Jauregui, A., Lavergne, C., et al. (2022). A combined microbial and biogeochemical dataset from high-latitude ecosystems with respect to methane cycle. *Sci. Data* 9(1), 674. doi: 10.1038/s41597-022-01759-8.
- Benavente, J.M., Crespi, G., Figal Garone, L., and Maffioli, A. (2012). The impact of national research funds: A regression discontinuity approach to the Chilean FONDECYT. *Res. Policy* 41(8), 1461-1475. doi: 10.1016/j.respol.2012.04.007.
- Bhattacharyya, P.N., and Jha, D.K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28(4), 1327-1350. doi: 10.1007/s11274-011-0979-9.
- Bradshaw, A. (2021). Microbiological literacy and the role of social science: A response to Timmis et al. *Environ. Microbiol.* 23(11), 6350-6354. doi: 10.1111/1462-2920.15808.
- Bruna, N., Galliani, E., Oyarzún, P., Bravo, D., Fuentes, F., and Pérez-Donoso, J.M. (2022). Biomineralization of lithium nanoparticles by Li-resistant *Pseudomonas rodhesiae* isolated from the Atacama salt flat. *Biol. Res.* 55(1), 12. doi: 10.1186/s40659-022-00382-6.
- Bull, A.T., Asenjo, J.A., Goodfellow, M., and Gómez-Silva, B. (2016). The Atacama Desert: Technical resources and the growing importance of novel microbial diversity. *Annu. Rev. Microbiol.* 70, 215-234. doi: 10.1146/annurev-micro-102215-095236.
- Bustamante, M., Verdejo, V., Zúñiga, C., Espinosa, F., Orlando, J., and Carú, M. (2012). Comparison of water availability effect on ammonia-oxidizing bacteria and archaea in microcosms of a Chilean semiarid soil. *Front. Microbiol.* 3, 282. doi: 10.3389/fmicb.2012.00282.
- Cabrera, M. Á., & Blamey, J. M. (2018). Biotechnological applications of archaeal enzymes from extreme environments. *Biological research*, 51. doi: 10.1186/s40659-018-0186-3
- Cameron, R.E., Gensel, D.R., and Blank, C.B. (1966). "Soil studies—desert microflora. Xii. Abundance of microflora in soil samples from the Chile Atacama Desert," in Supporting research and advanced developments, space programs summary no. 37–38, vol. Iv. (Pasadena, CA: Jet Propulsion Lab, NASA), 140–147.
- Cardenas, L.M., Hatch, D.J., Scholefield, D., Jhurreea, D., Clark, I.M., Hirsch, P.R., et al. (2013). Potential mineralization and nitrification in volcanic

- grassland soils in Chile. *Soil Sci. Plant Nutr.* 59(3), 380-391. doi: 10.1080/00380768.2013.789395.
- Caretta, G., and Piontelli, E. (1977). *Microsporum magellanicum* and *Cunninghamella antarctica*, new species isolated from Australic and Antarctic soil of Chile. *Sabouraudia* 15(1), 1-10. doi: 10.1080/00362177785190021.
- Carro, L., Razmilic, V., Nouioui, I., Richardson, L., Pan, C., Golinska, P., et al. (2018). Hunting for cultivable *Micromonospora* strains in soils of the Atacama Desert. *Antonie van Leeuwenhoek* 111(8), 1375-1387. doi: 10.1007/s10482-018-1049-1.
- Carvajal, M., Jeldres, P., Vergara, A., Lobaina, E., Olivares, M., Meza, D., et al. (2023). Bioremoval of copper by filamentous fungi isolated from contaminated soils of Puchuncaví-Ventanas Central Chile. *Environ. Geochem. Health* 45(7), 4275-4293. doi: 10.1007/s10653-023-01493-z.
- Casanova, M., Salazar, O., Seguel, O., and Luzio, W. (2013). *The soils of Chile*. Dordrecht, Netherlands: Springer.
- Cavicchioli, R., Ripple, W.J., Timmis, K.N., Azam, F., Bakken, L.R., Baylis, M., et al. (2019). Scientists' warning to humanity: Microorganisms and climate change. *Nat. Rev. Microbiol.* 17(9), 569-586. doi: 10.1038/s41579-019-0222-5.
- CEPAL—Comisión Económica para América Latina (1953). *Investigación tecnológica y formación de técnicos en América Latina. Estudio preliminar de prueba referente a Chile* preparado por la Secretaría Ejecutiva con la cooperación de un grupo de expertos. Rio de Janeiro: Naciones Unidas.
- Contador, C.A., Veas-Castillo, L., Tapia, E., Antipan, M., Miranda, N., Ruiz-Tagle, B., et al. (2020). Atacama database: A platform of the microbiome of the Atacama Desert. *Antonie van Leeuwenhoek* 113(2), 185-195. doi: 10.1007/s10482-019-01328-x.
- Delgado-Baquerizo, M., Maestre, F.T., Reich, P.B., Jeffries, T.C., Gaitan, J.J., Encinar, D., et al. (2016). Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nat. Commun.* 7, 10541. doi: 10.1038/ncomms10541.
- di Castri, F., and Mooney, H. (eds.). (1973). *Mediterranean type ecosystems, ecological studies 7*. Berlin: Springer-Verlag.
- Dinamarca, D.I., Galleguillos, M., Seguel, O., and Faúndez Urbina, C. (2023). CLSoilMaps: A national soil gridded database of physical and hydraulic soil properties for Chile. *Sci. Data* 10(1), 630. doi: 10.1038/s41597-023-02536-x.
- Dose, K., Bieger-Dose, A., Ernst, B., Feister, U., Gómez-Silva, B., Klein, A., et al. (2001). Survival of microorganisms under the extreme conditions of the Atacama Desert. *Orig. Life Evol. Biosph.* 31(3), 287-303. doi: 10.1023/a:1010788829265.
- Espina, G., Muñoz-Ibacache, S. A., Cáceres-Moreno, P., Amenabar, M. J., & Blamey, J. M. (2022). From the discovery of Extremozymes to an enzymatic product: roadmap based on their applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 752281. doi: 10.3389/fbioe.2021.752281

- Eurostat. (2023). Gross domestic expenditure on research and development 2022. Statistic Explained. [online]. Available: https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=R%26D_expenditure&oldid=551418#Gross_domestic_expenditure_on_R.26D [Accessed December 21 2023].
- Facultad de Ciencias Agronómicas Universidad de Chile. Historia (2023). Available: <https://agronomia.uchile.cl/facultad/la-facultad/historia> [Accessed October 14 2023].
- FAO, ITPS, GSBI, SCBD, and EC (2020). State of knowledge of soil biodiversity – status, challenges and potentialities, summary for policymakers. Rome: FAO.
- Fernández-Martínez, M.A., Pérez-Ortega, S., Pointing, S.B., Allan Green, T.G., Pintado, A., Rozzi, R., et al. (2017). Microbial succession dynamics along glacier forefield chronosequences in Tierra del Fuego (Chile). *Polar Biol.* 40(10), 1939-1957. doi: 10.1007/s00300-017-2110-7.
- Fierer, N. (2017). Embracing the unknown: Disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.* 15(10), 579-590. doi: 10.1038/nrmicro.2017.87.
- Fuentes, A., Herrera, H., Charles, T.C., and Arriagada, C. (2020). Fungal and bacterial microbiome associated with the rhizosphere of native plants from the Atacama Desert. *Microorganisms* 8(2). doi: 10.3390/microorganisms8020209.
- Fulthorpe, R.R., Rhodes, A.N., and Tiedje, J.M. (1996). Pristine soils mineralize 3-chlorobenzoate and 2,4-dichlorophenoxyacetate via different microbial populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 62(4), 1159-1166. doi: 10.1128/aem.62.4.1159-1166.1996.
- Gran-Scheuch, A., Ramos-Zúñiga, J., Fuentes, E., Bravo, D., and Pérez-Donoso, J.M. (2020). Effect of co-contamination by PAHs and heavy metals on bacterial communities of diesel contaminated soils of South Shetland Islands, Antarctica. *Microorganisms* 8(11). doi: 10.3390/microorganisms8111749.
- Guerra, C.A., Heintz-Buschart, A., Sikorski, J., Chatzinotas, A., Guerrero-Ramírez, N., Cesarz, S., et al. (2020). Blind spots in global soil biodiversity and ecosystem function research. *Nat. Commun.* 11(1), 3870. doi: 10.1038/s41467-020-17688-2.
- Han, J., Jung, J., Park, M., Hyun, S., and Park, W. (2013). Short-term effect of elevated temperature on the abundance and diversity of bacterial and archaeal amoA genes in Antarctic soils. *J. Microbiol. Biotechnol.* 23(9), 1187-1196. doi: 10.4014/jmb.1305.05017.
- Hartley, A.J., Chong, G., Houston, J., and Mather, A.E. (2022). 150 million years of climatic stability: Evidence from the Atacama Desert, northern Chile. *J. Geol. Soc.* 162(3), 421-424. doi: 10.1144/0016-764904-071.
- Hartmann, M., Frey, B., Mayer, J., Mader, P., and Widmer, F. (2015). Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *ISME J.* 9(5), 1177-1194. doi: 10.1038/ismej.2014.210.

- Hartmann, M., and Six, J. (2022). Soil structure and microbiome functions in agroecosystems. *Nat. Rev. Earth Environ.* 4(1), 4-18. doi: 10.1038/s43017-022-00366-w.
- Hatzenpichler, R., Krukenberg, V., Spietz, R.L., and Jay, Z.J. (2020). Next-generation physiology approaches to study microbiome function at single cell level. *Nat. Rev. Microbiol.* 18(4), 241-256. doi: 10.1038/s41579-020-0323-1.
- Hernández, M., Vera-Gargallo, B., Calabi-Floody, M., King, G.M., Conrad, R., and Tebbe, C.C. (2020). Reconstructing genomes of carbon monoxide oxidisers in volcanic deposits including members of the class Ktedonobacteria. *Microorganisms* 8(12). doi: 10.3390/microorganisms8121880.
- Hinsu, A., Dumadiya, A., Joshi, A., Kotadiya, R., Andharia, K., Koringa, P., & Kothari, R. (2021). To culture or not to culture: a snapshot of culture-dependent and culture-independent bacterial diversity from peanut rhizosphere. *PeerJ*, 9, e12035. doi: 10.7717/peerj.12035.
- Idris, H., Goodfellow, M., Sanderson, R., Asenjo, J.A., and Bull, A.T. (2017). Actinobacterial rare biospheres and dark matter revealed in habitats of the Chilean Atacama Desert. *Sci. Rep.* 7(1), 8373. doi: 10.1038/s41598-017-08937-4.
- Jansson, J.K., and Hofmockel, K.S. (2018). The soil microbiome-from metagenomics to metaphenomics. *Curr. Opin. Microbiol.* 43, 162-168. doi: 10.1016/j.mib.2018.01.013.
- Jorquera, M.A., Inostroza, N.G., Lagos, L.M., Barra, P.J., Marileo, L.G., Rilling, J.I., et al. (2014). Bacterial community structure and detection of putative plant growth-promoting rhizobacteria associated with plants grown in Chilean agro-ecosystems and undisturbed ecosystems. *Biol. Fertil. Soils* 50(7), 1141-1153. doi: 10.1007/s00374-014-0935-6.
- Jung, T., Scanu, B., Bakonyi, J., Seress, D., Kovacs, G.M., Duran, A., et al. (2017). *Nothophytophthora* gen. nov., a new sister genus of *Phytophthora* from natural and semi-natural ecosystems. *Persoonia* 39, 143-174. doi: 10.3767/persoonia.2017.39.07.
- Knief, C., Bol, R., Amelung, W., Kusch, S., Frindte, K., Eckmeier, E., et al. (2020). Tracing elevational changes in microbial life and organic carbon sources in soils of the Atacama Desert. *Global Planet. Change* 184. doi: 10.1016/j.gloplacha.2019.103078.
- Krüger, A., Schäfers, C., Schröder, C., & Antranikian, G. (2018). Towards a sustainable biobased industry—highlighting the impact of extremophiles. *New Biotechnology*, 40, 144-153. doi: 10.1016/j.nbt.2017.05.002.
- Kochhar, N., Shrivastava, S., Ghosh, A., Rawat, V. S., Sodhi, K. K., & Kumar, M. (2022). Perspectives on the microorganism of extreme environments and their applications. *Current Research in Microbial Sciences*, 3, 100134. doi: 10.1016/j.crmicr.2022.100134.
- Leiva-Aravena, E., Leiva, E., Zamorano, V., Rojas, C., Regan, J. M., & Vargas, I. T. (2019). Organotrophic acid-tolerant microorganisms enriched from an acid mine drainage affected environment as inoculum for microbial fuel cells. *Science of The Total Environment*, 678, 639-646. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.05.003.

- Luzio, W., and Alcayaga, S. (1992). Mapa de asociaciones de grandes grupos de suelos de Chile. *Agric. Téc.* 52(4), 347-353.
- Maas, B., Pakeman, R.J., Godet, L., Smith, L., Devictor, V., and Primack, R. (2021). Women and global south strikingly underrepresented among top-publishing ecologists. *Conserv. Lett.* 14(4). doi: 10.1111/conl.12797.
- Machuca, A., Pereira, G., Aguiar, A., and Milagres, A.M. (2007). Metal-chelating compounds produced by ectomycorrhizal fungi collected from pine plantations. *Lett. Appl. Microbiol.* 44(1), 7-12. doi: 10.1111/j.1472-765X.2006.02046.x.
- Mandakovic, D., Rojas, C., Maldonado, J., Latorre, M., Travisany, D., Delage, E., ... & González, M. (2018). Structure and co-occurrence patterns in microbial communities under acute environmental stress reveal ecological factors fostering resilience. *Scientific reports*, 8(1), 5875. doi: 10.1038/s41598-018-23931-0.
- Marín, C., Aguilera, P., Oehl, F., and Godoy, R. (2017). Factors affecting arbuscular mycorrhizal fungi of Chilean temperate rainforests. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 17(4), 966-984. doi: 10.4067/s0718-95162017000400010.
- Marín, C., Rubio, J., and Godoy, R. (2022). Chilean blind spots in soil biodiversity and ecosystem function research. *Austral Ecol.* 47(7), 1372-1381. doi: 10.1111/aec.13232.
- Martins, Z., Cottin, H., Kotler, J.M., Carrasco, N., Cockell, C.S., de la Torre Noetzel, R., et al. (2017). Earth as a tool for astrobiology—a European perspective. *Space Sci. Rev.* 209(1-4), 43-81. doi: 10.1007/s11214-017-0369-1.
- Maza, F., Maldonado, J., Vásquez-Dean, J., Mandakovic, D., Gaete, A., Cambiazo, V., & González, M. (2019). Soil bacterial communities from the Chilean Andean highlands: taxonomic composition and culturability. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 10. doi: 10.3389/fbioe.2019.00010.
- McKay, C.P., Friedmann, E.I., Gómez-Silva, B., Cáceres-Villanueva, L., Andersen, D.T., and Landheim, R. (2003). Temperature and moisture conditions for life in the extreme arid region of the Atacama desert: Four years of observations including the el niño of 1997-1998. *Astrobiology* 3(2), 393-406. doi: 10.1089/153110703769016460.
- Meza, C., Valenzuela, F., Echeverría-Vega, A., Gomez, A., Sarkar, S., Cabeza, R.A., et al. (2022). Plant-growth-promoting bacteria from rhizosphere of Chilean common bean ecotype (*Phaseolus vulgaris* L.) supporting seed germination and growth against salinity stress. *Front. Plant. Sci.* 13, 1052263. doi: 10.3389/fpls.2022.1052263.
- Ministerio de Ciencia Tecnología Conocimiento e Innovación (2023). Iniciativa Científica Milenio [Online]. Available: <https://www.iniciativamilenio.cl/institutos-y-nucleos-milenio> [Accessed 14 october 2023].
- Ministerio de Educación - Chile (2018). Ley 21105, de 13 de agosto de 2018. Crea el Ministerio de Ciencia, Tecnología, Conocimiento e Innovación [Online]. Available: <https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=1121682> [Accessed 5 september 2023].

- Ministerio del Medio Ambiente - Chile (2018) Biodiversidad de Chile. Patrimonio y Desafíos. 3rd edition. 430 pp, Santiago de Chile.
- Ministerio de Relaciones Exteriores - Chile (1966). Ley 16592, de 21 de diciembre de 1966. Crea Dirección de Fronteras y Límites del Estado [Online]. Available: <https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=28558> [Accessed 18 october 2023].
- Navarro-González, R., Rainey, F.A., Molina, P., Bagaley, D.R., Hollen, B.J., de la Rosa, J., et al. (2003). Mars-like soils in the Atacama Desert, Chile, and the dry limit of microbial life. *Science* 302(5647), 1018-1021. doi: 10.1126/science.1089143.
- Nazer Ahumada, R. (2016). La Corporación de Fomento a la Producción y la modernización económica de Chile. 1939-1970. *Rev. Gest. Pública* 5(2), 283-316. doi: 10.22370/rgp.2016.5.2.2223.
- Neilson, J.W., Califf, K., Cardona, C., Copeland, A., van Treuren, W., Josephson, K.L., et al. (2017). Significant impacts of increasing aridity on the arid soil microbiome. *mSystems* 2(3). doi: 10.1128/mSystems.00195-16.
- Nielsen, M.W., Alegria, S., Börjeson, L., Etzkowitz, H., Falk-Krzesinski, H.J., Joshi, A., et al. (2017). Opinion: Gender diversity leads to better science. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114(8), 1740-1742. doi: 10.1073/pnas.1700616114.
- Núñez, M.A., Barlow, J., Cadotte, M., Lucas, K., Newton, E., Pettorelli, N., et al. (2019). Assessing the uneven global distribution of readership, submissions and publications in applied ecology: Obvious problems without obvious solutions. *J. Appl. Ecol.* 56(1), 4-9. doi: 10.1111/1365-2664.13319.
- Núñez-Montero, K., Rojas-Villalta, D., Hernández-Moncada, R., Esquivel, A., and Barrientos, L. (2023). Genome sequence of *Pseudomonas* sp. strain So3.2b, isolated from a soil sample from Robert Island (Antarctic Specially Protected Area 112), Antarctic. *Microbiol. Resour. Announce.* 12(3), e0116722. doi: 10.1128/mra.01167-22.
- ODEPA—Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (2019). Panorama de la agricultura chilena. Santiago, Chile: Ministerio de Agricultura. ODEPA.
- Okoro, C.K., Brown, R., Jones, A.L., Andrews, B.A., Asenjo, J.A., Goodfellow, M., et al. (2009). Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile. *Antonie van Leeuwenhoek* 95(2), 121-133. doi: 10.1007/s10482-008-9295-2.
- OECD. (2022). OECD Economic Surveys: Chile. <https://doi.org/10.1787/19990847>
- Orellana, R., Macaya, C., Bravo, G., Dorochesi, F., Cumsille, A., Valencia, R., ... & Seeger, M. (2018). Living at the frontiers of life: extremophiles in Chile and their potential for bioremediation. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2309. doi: 10.3389/fmicb.2018.02309.
- Osorio, C. (2015). Historia de la enseñanza de la microbiología en Chile: Centros formadores. *Rev. Chil. Infectol.* 32(4), 447-452. doi: 10.4067/S0716-10182015000500012.
- Osorio, C.G. (2010). The history of microbiology in Chile: About the origin of experimental bacteriology. *Rev. Med. Chile* 138(7), 913-919. doi: 10.4067/s0034-98872010000700019.

- Parada, R.J. (1999). Variables discriminantes en fondecyt. *Estud. Soc. (Santiago)* 100, 163-173.
- Paulino-Lima, I.G., Azua-Bustos, A., Vicuña, R., González-Silva, C., Salas, L., Teixeira, L., et al. (2013). Isolation of UVC-tolerant bacteria from the hyperarid Atacama Desert, Chile. *Microb. Ecol.* 65(2), 325-335. doi: 10.1007/s00248-012-0121-z.
- Pavón, A., Corsini, G., Orellana, P., Calisto, N., Navarro, L., Wiese, G., et al. (2023). Identification of Antarctic soil bacteria exhibiting antiproliferative activity against a colon cancer cell line. *Int. J. Morphol.* 41(1), 286-296. doi: 10.4067/s0717-95022023000100286.
- Pfeiffer, M., Padarian, J., Osorio, R., Bustamante, N., Olmedo, G.F., Guevara, M., et al. (2020). CHLSOC: The Chilean soil organic carbon database, a multi-institutional collaborative effort. *Earth Syst. Sci. Data* 12(1), 457-468. doi: 10.5194/essd-12-457-2020.
- Prado, B., del Moral, A., and Campos, V. (1993). Distribution and types of heterotrophic halophilic flora from Salar de Atacama, Chile. *Toxicol. Environ. Chem.* 38(3-4), 163-166. doi: 10.1080/02772249309357887.
- Prado, B., Del Moral, A., Quesada, E., Ríos, R., Monteoliva-Sanchez, M., Campos, V., et al. (1991). Numerical taxonomy of moderately halophilic Gram-negative rods isolated from the Salar de Atacama, Chile. *Syst. Appl. Microbiol.* 14(3), 275-281. doi: 10.1016/s0723-2020(11)80381-4.
- Pulschen, A.A., Rodrigues, F., Duarte, R.T., Araujo, G.G., Santiago, I.F., Paulino-Lima, I.G., et al. (2015). UV-resistant yeasts isolated from a high-altitude volcanic area on the Atacama Desert as eukaryotic models for astrobiology. *MicrobiologyOpen* 4(4), 574-588. doi: 10.1002/mbo3.262.
- Quesada, C.F. (2016). Institucionalización científica y financiamiento filantrópico. El Convenio Universidad de Chile-Universidad de California y la Fundación Ford (1965-1975). *Fronteras* 3(1), 125-148.
- R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Ramírez, P.B., Fuentes-Alburquenque, S., Díez, B., Vargas, I., and Bonilla, C.A. (2020). Soil microbial community responses to labile organic carbon fractions in relation to soil type and land use along a climate gradient. *Soil Biol. Biochem.* 141. doi: 10.1016/j.soilbio.2019.107692.
- Renny, M., Acosta, M.C., Cofré, N., Domínguez, L.S., Bidartondo, M.I., and Sersic, A.N. (2017). Genetic diversity patterns of arbuscular mycorrhizal fungi associated with the mycoheterotroph *Arachnitis uniflora* Phil. (Corsiaceae). *Ann. Bot.* 119(8), 1279-1294. doi: 10.1093/aob/mcx023.
- Rodríguez, M. (1992). La microbiología en Chile: Su desarrollo a la luz de un siglo de existencia. *Rev. Med. Chile* 120, 463-470.
- Rodríguez-Echeverría, S., Delgado-Baquerizo, M., Morillo, J.A., Gaxiola, A., Manzano, M., Marquet, P.A., et al. (2021). Azorella cushion plants and aridity are important drivers of soil microbial communities in Andean ecosystems. *Ecosystems* 24(7), 1576-1590. doi: 10.1007/s10021-021-00603-1.
- Santos, A., Bruna, P., Martínez-Urtaza, J., Solís, F., Valenzuela, B., Zamorano, P., et al. (2021). Two archaeal metagenome-assembled genomes from El

- Tatio provide new insights into the Crenarchaeota phylum. *Genes* 12(3). doi: 10.3390/genes12030391.
- Satoh, Y., Yoshimura, K., Pokhrel, Y., Kim, H., Shiogama, H., Yokohata, T., et al. (2022). The timing of unprecedented hydrological drought under climate change. *Nat. Commun.* 13(1), 3287. doi: 10.1038/s41467-022-30729-2.
- Schaefer, P. (1973). "Microbial activity under seasonal conditions of drought in Mediterranean climates," in *Mediterranean type ecosystems, ecological studies 7*, eds. F. Di Castri & H. Mooney. (Berlin: Springer-Verlag), 191–198.
- Scherson R. A., Thornhill A. H., Urbina-Casanova R., Freyman W. A., Pliscoff P. A., Mishler B. D. (2017). Spatial phylogenetics of the vascular flora of Chile. *Mol. Phylogenet. Evol.* 112 88–95. doi: 10.1016/j.ympev.2017.04.021.
- Schultz, J., dos Santos, A., Patel, N., & Rosado, A. S. (2023). Life on the Edge: Bioprospecting Extremophiles for Astrobiology. *Journal of the Indian Institute of Science*, 1-17. doi: 10.1007/s41745-023-00382-9.
- Seeger, M., and Espinoza, F. (2008). Highlights of Latin American microbiology: The 19th ALAM Congress. *Int. Microbiol.* 11, 289-292.
- Serrano, J., and Leiva, E. (2017). Removal of arsenic using acid/metal-tolerant sulfate reducing bacteria: A new approach for bioremediation of high-arsenic acid mine waters. *Water* 9(12). doi: 10.3390/w9120994.
- Stchigel, A.M., Caldusch, M., Guarro, J., and Zaror, L. (2002). A new species of *Podospira* from soil in Chile. *Mycologia* 94(3), 554-558. doi: 10.1080/15572536.2003.11833221.
- Stefani, F. O., Bell, T. H., Marchand, C., De La Providencia, I. E., El Yassimi, A., St-Arnaud, M., & Hijri, M. (2015). Culture-dependent and-independent methods capture different microbial community fractions in hydrocarbon-contaminated soils. *PloS one*, 10(6), e0128272. doi: 10.1371/journal.pone.0128272.
- Timmis, K., Timmis, J., and Jebok, F. (2020). The urgent need for microbiology literacy in society: Children as educators. *Microb. Biotechnol.* 13(5), 1300-1303. doi: 10.1111/1751-7915.13619.
- Valenzuela-Heredia, D., Henríquez-Castillo, C., Donoso, R., Lavín, P., Pavlov, M.S., Franchi, O., et al. (2020). Complete genome sequence of *Pseudomonas chilensis* strain ABC1, isolated from soil. *Microbiol. Resour. Announce.* 9(39). doi: 10.1128/MRA.00775-20.
- Vázquez, S., Monien, P., Pepino Minetti, R., Jürgens, J., Curtosi, A., Villalba Primitz, J., et al. (2017). Bacterial communities and chemical parameters in soils and coastal sediments in response to diesel spills at Carlini Station, Antarctica. *Sci. Total Environ.* 605-606, 26-37. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.06.129.
- Villagrán C., Armesto J. J. (2005). Fitogeografía histórica de la cordillera de la costa de Chile, in *Historia, biogeografía y ecología de los bosques costeros de Chile*, eds Smith-Ramírez C., Armesto J. J., Valdovinos C. (Santiago: Editorial Universitaria), 99–115.
- Villagrán C., Hinojosa F. (1997). Historia de los bosques del sur de Sudamérica, II: análisis fitogeográfico. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 70 241–267.

- Wall, D.H., Bardgett, R.D., Behan-Pelletier, V., Herrick, J.E., Jones, T.H., Ritz, K., et al. (eds.). (2012). Soil ecology and ecosystem services. New York, United States of America: Oxford University Press.
- World Bank Group. (2020). Economy Profile of Chile. [online] Available: <https://Archive.Doingbusiness.Org/En/Data/Exploreeconomies/Chile>. [Accessed 21 December 2023].
- Wu, L., Zhang, Y., Guo, X., Ning, D., Zhou, X., Feng, J., et al. (2022). Reduction of microbial diversity in grassland soil is driven by long-term climate warming. *Nat. Microbiol.* 7(7), 1054-1062. doi: 10.1038/s41564-022-01147-3.
- Zárate, M.S., Sierra, D., and Goldflam, M. (2022). Orígenes y desarrollo de una política científica nacional en Chile: Conicyt, 1967-1981. *Hist. Cienc. Saude-Manguinhos* 29(4), 953-972. doi: 10.1590/S0104-59702022000400005.

Capítulo IV.

Microbial Diversity of Soil in a Mediterranean Biodiversity Hotspot: Parque Nacional La Campana, Chile

Carolina Quinteros-Urquieta ¹, Jean Pierre Francois ^{2,4}, Polette Aguilar-Muñoz ^{2,3,4}, Roberto Orellana ^{2,4}, Rodrigo Villaseñor ⁴, Andres Moreira-Muñoz ⁵ and Verónica Molina ^{2,3,4*}

Publicado en *Microorganisms.*, 31 July 2024, 12(8),
1569; <https://doi.org/10.3390/microorganisms12081569>
This article belongs to the Special Issue Advances in Soil Microbial Ecology

¹ Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile; carolina.quinteros@alumnos.upla.cl

² Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile; geofrancois@gmail.com (J.P.F.); polette.aguilar@upla.cl (P.A.-M.); roberto.orellana@upla.cl (R.O.)

³ Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción 4070386, Chile

⁴ HUB AMBIENTAL UPLA, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile; villasenor.castro@gmail.com

⁵ Instituto de Geografía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso 2362807, Chile; andres.moreira@pucv.cl

* Correspondence: veronica.molina@upla.cl



Article

Microbial Diversity of Soil in a Mediterranean Biodiversity Hotspot: Parque Nacional La Campana, Chile

Carolina Quinteros-Urquieta ¹, Jean-Pierre Francois ^{2,3}, Polette Aguilar-Muñoz ^{2,3,4}, Roberto Orellana ^{2,3}, Rodrigo Villaseñor ³, Andres Moreira-Muñoz ⁵ and Verónica Molina ^{2,3,4,*}

- ¹ Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile; carolina.quinteros@alumnos.upla.cl
- ² Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile; jpfrancois@upla.cl (J.-P.F.); polette.aguilar@upla.cl (P.A.-M.); roberto.orellana@upla.cl (R.O.)
- ³ HUB AMBIENTAL UPLA, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile; villaseñor.castro@gmail.com
- ⁴ Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Concepción 4070386, Chile
- ⁵ Instituto de Geografía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso 2362807, Chile; andres.moreira@pucv.cl
- * Correspondence: veronica.molina@upla.cl



Citation: Quinteros-Urquieta, C.; Francois, J.-P.; Aguilar-Muñoz, P.; Orellana, R.; Villaseñor, R.; Moreira-Muñoz, A.; Molina, V. Microbial Diversity of Soil in a Mediterranean Biodiversity Hotspot: Parque Nacional La Campana, Chile. *Microorganisms* **2024**, *12*, 1569. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12081569>

Academic Editors: Jie Wang and Yadong Xu

Received: 12 June 2024

Revised: 22 July 2024

Accepted: 25 July 2024

Published: 31 July 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Parque Nacional La Campana (PNLC) is recognized worldwide for its flora and fauna, rather than for its microbial richness. Our goal was to characterize the structure and composition of microbial communities (bacteria, archaea and fungi) and their relationship with the plant communities typical of PNLC, such as sclerophyllous forest, xerophytic shrubland, hygrophilous forest and dry sclerophyllous forest, distributed along topoclimatic variables, namely, exposure, elevation and slope. The plant ecosystems, the physical and chemical properties of organic matter and the soil microbial composition were characterized by massive sequencing (iTag-16S rRNA, V4 and ITS1-5F) from the DNA extracted from the soil surface (5 cm, $n = 16$). A contribution of environmental variables, particularly related to each location, is observed. Proteobacteria (35.43%), Actinobacteria (32.86%), Acidobacteria (10.07%), Ascomycota (76.11%) and Basidiomycota (15.62%) were the dominant phyla. The beta diversity (~80% in its axes) indicates that bacteria and archaea are linked to their plant categories, where the xerophytic shrub stands out with the most particular microbial community. More specifically, Crenarchaeote, Humicola and Mortierella were dominant in the sclerophyllous forest; Chloroflexi, Cyanobacteria and Alternaria in the xerophytic shrubland; Solicocozyma in the dry sclerophyllous forest; and Cladophialophora in the hygrophilous forest. In conclusion, the structure and composition of the microbial consortia is characteristic of PNLC's vegetation, related to its topoclimatic variables, which suggests a strong association within the soil microbiome.

Keywords: bacteria; archaea; fungi; sclerophyllous; xerophytic; semi-arid; topoclimatic

1. Introduction

There is a close relationship between vegetation landscape and soil microbiome structures [1]. The co-occurrence of changes both in the plant community and soil microbiome composition and structure, along environmental gradients, suggest common associations or mechanisms between landscape function and morphology [2]. The soil is composed of extraordinarily diverse microbial communities [3], including different domains of life, both eukaryote (i.e., algae, fungi, protozoa) as well as prokaryote (i.e., bacteria and archaea) [4], the structure of which is associated with changes in environmental properties [5]. Among these properties, abiotic factors, such as pH, nitrogen availability [6], soil organic carbon content [7], temperature [8], redox condition [9] and also the physical soil structure, stand out [10]. Conversely, interactions, competition and predation by viruses and other grazers,

4.1. Abstract

Parque Nacional La Campana (PNLC) is recognized worldwide for its flora and fauna, rather than for its microbial richness. Our goal was to characterize the structure and composition of microbial communities (bacteria, archaea and fungi) and their relationship with the plant communities typical of PNLC, such as sclerophyllous forest, xerophytic shrubland, hygrophilous forest and dry sclerophyllous forest, distributed along topoclimatic variables, namely, exposure, elevation and slope. The plant ecosystems, the physical and chemical properties of organic matter and the soil microbial composition were characterized by massive sequencing (iTag-16S rRNA, V4 and ITS1-5F) from the DNA extracted from the soil surface (5 cm, n = 16). A contribution of environmental variables, particularly related to each location, is observed. Proteobacteria (35.43%), Actinobacteria (32.86%), Acidobacteria (10.07%), Ascomycota (76.11%) and Basidiomycota (15.62%) were the dominant phyla. The beta diversity (~80% in its axes) indicates that bacteria and archaea are linked to their plant categories, where the xerophytic shrub stands out with the most particular microbial community. More specifically, Crenarchaeote, Humicola and Mortierella were dominant in the sclerophyllous forest; Chloroflexi, Cyanobacteria and Alternaria in the xerophytic shrubland; Solicoccozyma in the dry sclerophyllous forest; and Cladophialophora in the hygrophilous forest. In conclusion, the structure and composition of the microbial consortia is characteristic of PNLC's vegetation, related to its topoclimatic variables, which suggests a strong association within the soil microbiome.

Keywords: bacteria; archaea; fungi; sclerophyllous; xerophytic; semi-arid; topoclimatic

4.2. Introduction

There is a close relationship between vegetation landscape and soil microbiome structures [1]. The co-occurrence of changes both in the plant community and soil microbiome composition and structure, along environmental gradients, suggest common associations or mechanisms between landscape function and morphology [2]. The soil is composed of extraordinarily diverse microbial communities [3], including different domains of life, both eukaryote (i.e., algae, fungi, protozoa) as well as prokaryote (i.e., bacteria and archaea) [4], the structure of which is associated with changes in environmental properties [5]. Among these properties, abiotic factors, such as pH, nitrogen availability [6], soil organic carbon content [7], temperature [8], redox condition [9] and also the physical soil structure, stand out [10]. Conversely, interactions, competition and predation by viruses and other grazers, besides plant communities, are biotic factors that influence the soil microbiome [5]. Additionally, there are hotspots characterized by an increased (heterotrophic or autotrophic) metabolic activity associated with the availability of built-up particulate organic matter [11], such as animal manure [12] or the rhizosphere [13]. The integration of this information can help us better understand the ecosystem's functioning, not only regarding the soil as a natural habitat of microbial communities, but also regarding the way in which it influences the composition of the flora and fauna inhabiting such areas.

In Chile, studies on soil microorganisms provide relevant information on aspects such as vegetation productivity and fungal activity, mainly in the Crop–Livestock–Forestry area [14–16]. Other studies address prokaryote (i.e., bacteria and archaea) adaption and evolution processes in extreme environments [17,18], whether living freely [19] or associated with other organisms [20]. Research on ecosystems with different environments and climates, fluctuating between arid and temperate, represent significant changes in the soil microbiome related to environmental variables varying across the spatial scale [21,22]. Finally, changes in the microbial communities' structure involved in pedogenic processes indicate

clear upward (Proteobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Verrucomicrobia and Planctomycetes) and downward (Actinobacteria and Gemmatimonadetes) trends of complete phyla along the north–south bioclimatic gradient [23]. These variations are partly the result of the relationship between climate and environmental factors (e.g., pH, plant-available P, organic matter, apparent density and clay %) and are strongly related to vegetation structure and composition. Thus, while an increased abundance of the so-called pioneer bacteria associated with pedogenic processes was observed in arid climates, an increased abundance of bacteria specialized in recycling organic compounds as a source of plant nutrients and soil stabilization was observed in arid and humid climates, which accounts for the impact of climate and slope on the microbial communities' composition and structure [23].

The biodiversity hotspot, a term mainly used in conservation studies, is addressed from different biological criteria, such as endemism, which highlights its delimited distribution zones [24], species richness and the presence of rare species and their corresponding threat level [25], following the principles of vulnerability and irreplaceability in conservation planning. In this context, the definition based on the endemism criteria [24] for the biodiversity hotspot in Central Chile [26,27,28] is used. This region spans 40% of continental Chile, and the percentage of endemic vascular plants is similar to that of the California Floristic Province hotspot [29]. The aim of this study was to examine the composition and structure of microbial communities of diverse dominions of life (bacteria, archaea and fungi), in the soil of a representative area known as the biodiversity hotspot of Central Chile: Parque Nacional la Campana [26,27,30].

In particular, from the toposequence approach, we anticipate that the soil microbial community structure will be associated with sunlight exposure and elevation gradients with a higher diversity in the dry sclerophyllous forest and hygrophilous forest compared with xerophytic shrubland, with distinctive rare bacteria and archaea at the phyla level (<0.1%) and specific fungi. Consequently,

high biodiversity at the bulk soil scale and its potential implications for the processes and functions associated with the vegetation landscape would be evident.

4.3. Materials and Methods

4.3.1. Study Area

Parque Nacional La Campana (La Campana National Park) (PNLC), located in the Valparaíso region (32°55'–33°01' S; 71°09'–71°01' O) (Figure IV.1), was established as National Park in 1967 and as a National Biosphere Reserve in 1987 [31] as it stands out due to its good ecosystem conservation. The park, in the Coastal Cordillera of Central Chile, covers an area over 8000 ha and includes foothills, such as Cerro La Campana (1828 masl), which favors the development of topoclimatic conditions (e.g., elevation, slope, orientation, sunlight exposure, etc.) that enable the coexistence of ecosystems characteristic of the biodiversity hotspot of Central Chile [32]. Among them, the development of xerophytic and sclerophyllous shrubland and relict palm and oak forests with significant biogeographic relevance stands out [30,33].

PNLC has a Mediterranean climate with mean annual temperatures of 18 °C, and a rainy (480 mm per year) and mild winter which contrasts with a hot and dry summer [34]. Vegetation responds to the climate by developing sclerophyllous plant communities [35] and with a significant number of native and endemic species [36], subject to the particular topoclimatic and edaphic conditions [37]. Hence, hygrophilous communities are found in the valley floor forming peumo (*Cryptocaria alba*) and boldo (*Peumus boldus*) forests or swamp forests of myrtaceas (*Luma chequen*) and canelo (*Drymis winteri*). Sclerophyllous communities, which vary depending on the slope exposure and insolation, develop in average elevations (400–1100 masl). Thus, while quillay (*Quillaja*

saponaria) and litre (*Lithraea caustica*) forests grow under the conditions of the sclerophyllous forests found in the south-facing slopes, plant communities characteristic of xerophytic shrubland, such as matorral de trevo (*Retanilla trinervia*) and succulents, are found on the north-facing slopes. In addition, there is a strong presence of Chilean palm trees (*Juabea chilensis*), which are part of various plant communities [38,39] in the northern sector of the PNLC [25,34]. Finally, subalpine communities characterized by oak forests (*Nothofagus macrocarpa*) and neneo (*Mulinum spinosum*) shrublands are found in sectors at higher elevations (1100–2000 masl) [37,38,39].

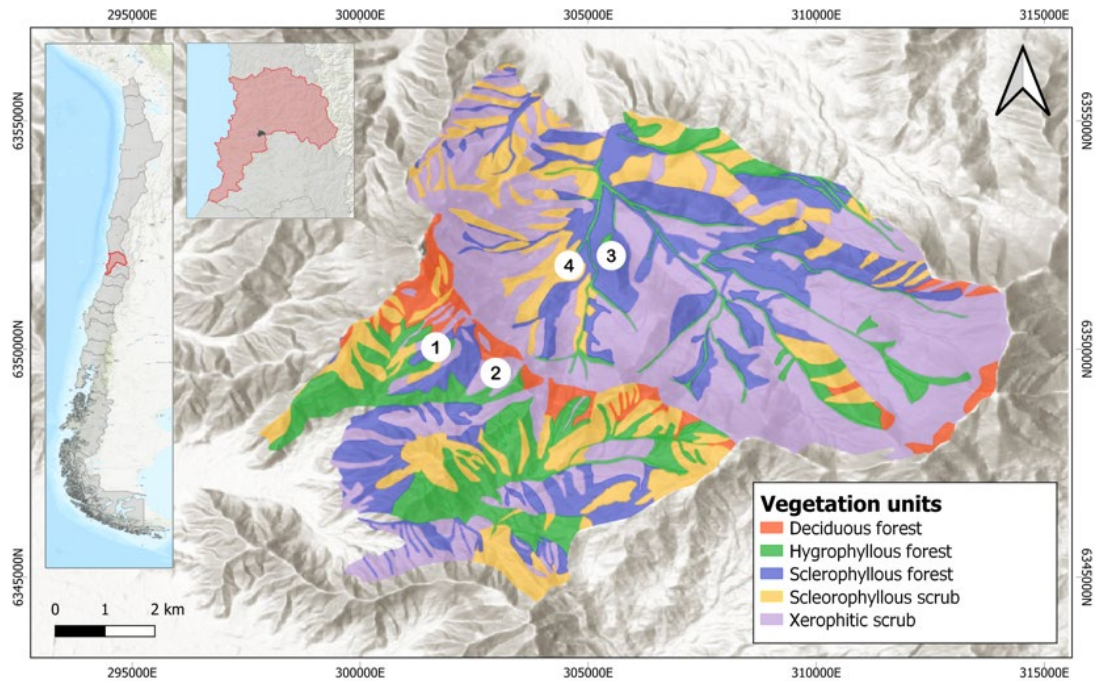


Figure IV.1. Map that shows PNLC sampling locations.
Vegetation map, adapted from Hauck et al. [38].

These plant communities present in PNLC also grow in soils with different physicochemical characteristics. For instance, the soil in the areas where xerophytic formation prevails has a pH and TOC (total organic carbon content) (6.0 and 3.1%) values different to those where the sclerophyllous forest (5.7 and 18.7%) formations develop [22]. Additionally, edaphic microbial communities, which have a fundamental role in contributing to nutrient recycling and plant

growth through a symbiotic relationship with mycorrhizal fungi, are within the least studied soil components in Cordillera de la Costa [5].

4.3.2. Study Sites and Sample Collection

The study sites (Figure IV.1) were selected on the basis of the relief and vegetation characteristics, and four sample sites, corresponding to plant communities, were established: (i) sclerophyllous forest on the southern slope, (ii) xerophytic shrubland on the north-facing slope, (iii) hygrophilous forest of *Drimys winteris* [38] and the presence of *Jubaea chilensis* at the bottom of the ravine and (iv) dry sclerophyllous forest on the west slope (Figure IV.2).

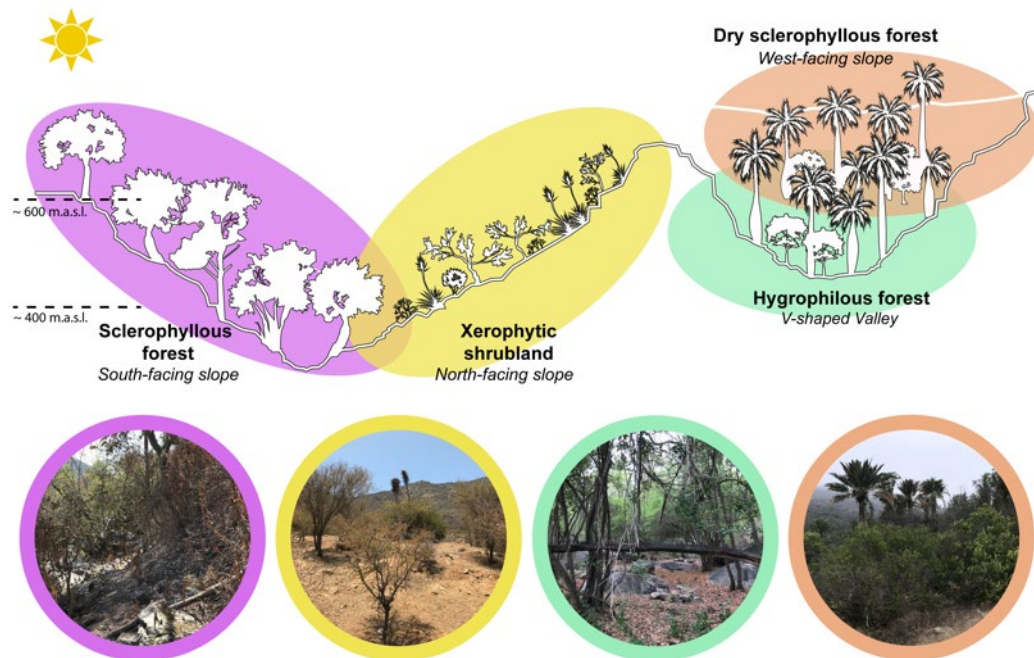


Figure IV.2. Graphical representation of the four sample sites characterized by their exposure and elevation.

The sites were visited for two consecutive years in the austral summer (January 2020, Cajón Grande sector, and February 2021, Palmas de Ocoa sector), and the geographic coordinates, altitude, slope, orientation and type of dominant plant community were registered for both of the sites (Figure IV.2, Table 1). In the latter case, an analysis of the plant species composition and cover of each sampling

site was conducted by way of the standard phytosociological methodology [40]. To do this, a plant census of each study site was carried out in 10 × 10 m plots, and a list of the species present and an estimate of the relative abundance of the number of individuals coverage per plot was recorded. For cover values of less than 1%, the signs “+” and “r” (cross and r) were used; the former when various individuals of the species in question were found, and the latter when there was just one [41,42]. The results were expressed as a percentage of the herb, shrub and tree layer cover. A census of species such as peumo (*Cryptocarya alba*), boldo (*Peumus boldus*), quillay (*Quillaja saponaria*) and palito negro (*Adiantum chilense*), among others, with closed forest aspect and the presence of litre (*Lithraea caustica*) in the surroundings, was conducted in the sclerophyllous forest. Species such as litre (*Lithraea caustica*), trevo (*Retanilla trinervia*), espino (*Acacia caven*) and puya (*Puya chilensis*), of the thorny type were observed in the xerophytic shrubland. Boldo (*Peumus boldus*), quillay (*Quillaja saponaria*) and litre (*Lithraea caustica*) were found in nearby areas. A census of canelo (*Drimys winteri*) and Chilean palm tree (*Jubaea chilensis*) forest, among others, with closed forest aspect, was conducted in the hygrophilous forest. A census of species of Chilean palm trees (*Jubaea chilensis*), litre (*Lithraea caustica*), colliguay (*Colliguaja odorifera*) and bollén (*Kageneckia oblonga*) was conducted in the dry sclerophyllous forest. The latter four species are characteristic of shrub-like dry sclerophyllous forest [37]. Palito negro (*Adiantum chilense*) growing along the censused hillside was observed.

Soil surface samples (5 cm) were collected at random within 10 × 10 m plots [2]. Sterile Falcon tubes and gloves were used to prevent the contamination of the samples. A total of 4 representative samples (i.e., plots) were taken from each site (Table 2). After the samples were collected, they were transported to the laboratory in cold gel packs, then they were homogenized and subdivided for analysis; part of the samples was stored at 4 °C for physicochemical analysis (pH, LOI) and the remaining part was stored in cryotubes, in an RNA later solution [2], at -20 °C for isotopic and molecular analysis.

Table IV.2. Sampling points.

ID	Site	Slope Facing or Aspect	Geographic Location (Latitude)	Geographic Location (Longitude)	Elevation (masl)	Collection Date
SF1	Sclerophyllous forest	South	33°0'12.13" S	71°7'24.62" O	396	January 2020
SF2	Sclerophyllous forest	South	33°0'12.28" S	71°7'25.17" O	391	January 2020
SF3	Sclerophyllous forest	South	33°0'12.34" S	71°7'26.40" O	383	January 2020
SF4	Sclerophyllous forest	South	33°0'12.39" S	71°7'25.82" O	390	January 2020
XS1	Xerophytic shrubland	North	33°0'16.82" S	71°7'28.00" O	410	January 2020
XS2	Xerophytic shrubland	North	33°0'16.65" S	71°7'27.32" O	407	January 2020
XS3	Xerophytic shrubland	North	33°0'16.40" S	71°7'27.80" O	405	January 2020
XS4	Xerophytic shrubland	North	33°0'17.19" S	71°7'27.43" O	413	January 2020
HF1	Hygrophilous forest	V-shaped valley	32°57'13.86" S	71°5'26.47" O	590	February 2021
HF2	Hygrophilous forest	V-shaped valley	32°57'14.28" S	71°5'26.84" O	587	February 2021
HF3	Hygrophilous forest	V-shaped valley	32°57'14.63" S	71°5'25.78" O	585	February 2021
HF4	Hygrophilous forest	V-shaped valley	32°57'14.95" S	71°5'26.46" O	589	February 2021
DSF1	Dry sclerophyllous forest	West	32°57'14.14" S	71°5'23.46" O	621	February 2021
DSF2	Dry sclerophyllous forest	West	32°57'13.73" S	71°5'23.92" O	618	February 2021
DSF3	Dry sclerophyllous forest	West	32°57'14.51" S	71°5'23.69" O	624	February 2021
DSF4	Dry sclerophyllous forest	West	32°57'14.38" S	71°5'23.02" O	626	February 2021

4.3.3. Climate Variables in PNLC

Climate variables (e.g., mean annual temperature, annual precipitation, etc.), associated with the sampling sites were obtained from 2 complementary databases. The first one, the WorldClim 2.1 database [43], contains average values gridded data for the period of 1970–2000 from 1 km²; the second one

corresponds to the CR2 gridded data [44], with a spatial resolution of 5 km², for the period of 1979–2016. Thus, and using the SIG ArcGis platform, version 9.3, and Global Mapper for each sampling point, an average value of the applied climate variables was obtained (Figure IV.1, Table 2). Supplementary Table S.1 shows all the measured data.

4.3.4. Soil and Organic Matter Physicochemical Analysis

In order to determine soil parameters, such as pH, dry density, organic content, C/N ratio, and $\delta^{15}\text{N}$ $\delta^{13}\text{C}$ isotope values, subsamples representative of each site were analyzed. The dry density and moisture content were determined using the LOI method, drying the samples at 105 °C for 24 h [45]. The soil pH was determined following the INIA-recommended process [46], consisting of resuspending 20 g of dry soil in 50 mL of water, using a magnetic stirrer at a controlled temperature of 23 °C for 5 min and then allowing it to settle for 3 h. The pH was measured with a Thermo Scientific Orion Star A215 X11399 multiparametric meter (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) and pH electrode Thermo Scientific, Series VZ1-15288 (Thermo Fisher Scientific). The soil organic matter composition was determined by analyzing samples of 50 mg through an Isotope Ratio Mass Spectrometer, IRMS, at the Laboratory of Biogeochemistry and Applied Stable Isotopes of the Pontificia Universidad de Chile (LABASI). The results are shown in relation to the $\delta^{15}\text{N}$ vs. air and $\delta^{13}\text{C}$ vs. VPDB value.

4.3.5. DNA Extraction and Sequencing of Prokaryote and Fungal

Phylogenetic Markers

The microbial composition was determined by first extracting the total genomic DNA from 250 mg of the soil using the MoBio PowerSoil® DNA isolation kit (MO BIO Laboratories, Inc., Carlsbad, CA, USA), following the manufacture's protocol. Subsequently, DNA quantification was performed using the Qubit fluorometer (Thermo Fisher Scientific), and its amplification was verified by conventional PCR.

The variable V4 region of the 16S rRNA gene was sequenced through high-throughput sequencing using primers 515F (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) and 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT) [47] for bacteria and archaea and with region ITS1-5F, with primers ITS5-1737F (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) and ITS2-2043R (GCTGCGTTCTTCATCGATGC) for fungi [48]. This was performed using the NovaSeq PE250 sequencing platform (Novogene Biology Information Technology Co., Ltd., Beijing, China). The sequences were entered into the ENA PRJEB56868 database.

4.3.6. Analysis of Microbial Composition and Other Statistic Data

Paired-end sequences were imported and aligned from the “manifest Fastq” format using QIIME2 2021.4 [47]. The sequences were subjected to quality filtering and chimera checking, leaving prokaryotes with a length between 206 and 312 bp and fungi with a length between 218 and 424 bp, using the QIIME2 DADA2 denoise-paired plugin [49] (see Supplementary Table S2). Then, microorganism sequences in amplicon sequence variants (ASV) [50] were classified using the Greengenes database version 13_8 at 99% [51] of the 515F/806R sequence region and the UNITE QIIME database release for fungi for ITS regions with a threshold at 99% [52,53].

The microbial community was analyzed in RStudio v4.2.2 software using a ‘phyloseq’ package [54]. First, the libraries were rarefied using the rarefy_even_depth function, and the alpha diversity indices (richness, Shannon index, Pielou’s evenness index) were determined with the estimate_richness and evenness functions. Venn diagrams were drawn using the get_vennlist function of the ‘MicrobiotaProcess’ package at the ASVs level [55] to identify the microbial community composition. Changes in the microbial community at the phylum level were analyzed using the amp_heatmap and amp_boxplot functions of the ‘ampvis2’ package [56].

In order to identify differences in the microbial community structures among the study sites, the Bray–Curtis distance was estimated, and its variation was analyzed by Principal Coordinate Analysis (PCoA) using the ordinate function of the ‘phyloseq’ package. Likewise, the level of association between environmental factors and changes in the microbial community (at the phylum level) was determined using the envfit function in the ‘vegan’ package and was graphed on the PCoA. A differential analysis using the ASV was performed with the ‘DESeq2’ package [57], from non-normalized libraries, to determine the microorganisms that varied significantly between the sites. The potential functions associated with the ASVs present in the different samples were determined by using the trans_func function of the ‘microeco’ package [58], by specifying the FAPROTAX database [59] for prokaryotes and FUNGuild [60] for fungi. The results were plotted using the plot_spe_func_perc function of the same package.

A redundancy analysis (RDA) was carried out on environmental variables, and accomplished with the rda function of the ‘vegan’ package [61]. The differences between environmental parameters and alpha diversity in the sites were analyzed using a One-Way Analysis of Variance (ANOVA) followed by a post hoc (Tukey’s HSD) test, ensuring that the ANOVA assumptions (Shapiro test of normality and Levene’s test of homoscedasticity) were complied with; otherwise, a non-parametric Kruskal–Wallis test was performed, using the functions aov and TukeyHSD included in the ‘stats’ package.

4.4. Results

4.4.1. Environmental and Soil Physicochemical Conditions

The environmental conditions in the study sites in Parque Nacional La Campana very well represent the so-called Mediterranean climate with an oceanic influence. There are slight variations in the climate parameters, precipitation and

temperature within the locations. Exposure is, perhaps, the most significant factor (as shown in Supplementary Table S1). Regarding the plant cover, significant tree cover at the hygrophilous forest (95%), sclerophyllous forest (85%), dry sclerophyllous forest (70%) and xerophytic shrubland (60%) were observed. Regarding the annual temperature range, an increased variation in temperature between the warmest and coldest day in the hygrophilous forest and dry sclerophyllous forest, which are at a highest latitude, was observed. Annual precipitation ranged from 353 to 371 mm (Supplementary Table S1). The soil physicochemical analysis reported that the average pH was lower in the dry sclerophyllous forest (5.295), while it was higher (Figure IV.3b) in the sclerophyllous forest (6.1325 g/m³). Regarding the dry density, the lowest average was recorded in the dry sclerophyllous forest (42.7 g/m³) and the highest in the xerophytic shrubland (159.2 g/m³) (Figure IV.3c). A carbon and nitrogen isotope composition showed the highest values in the xerophytic shrubland in comparison with the sclerophyllous forest, which shows the lowest values (Figure IV.3d). The sites in the hygrophilous forest and dry sclerophyllous forest had similar N values and a higher C content.

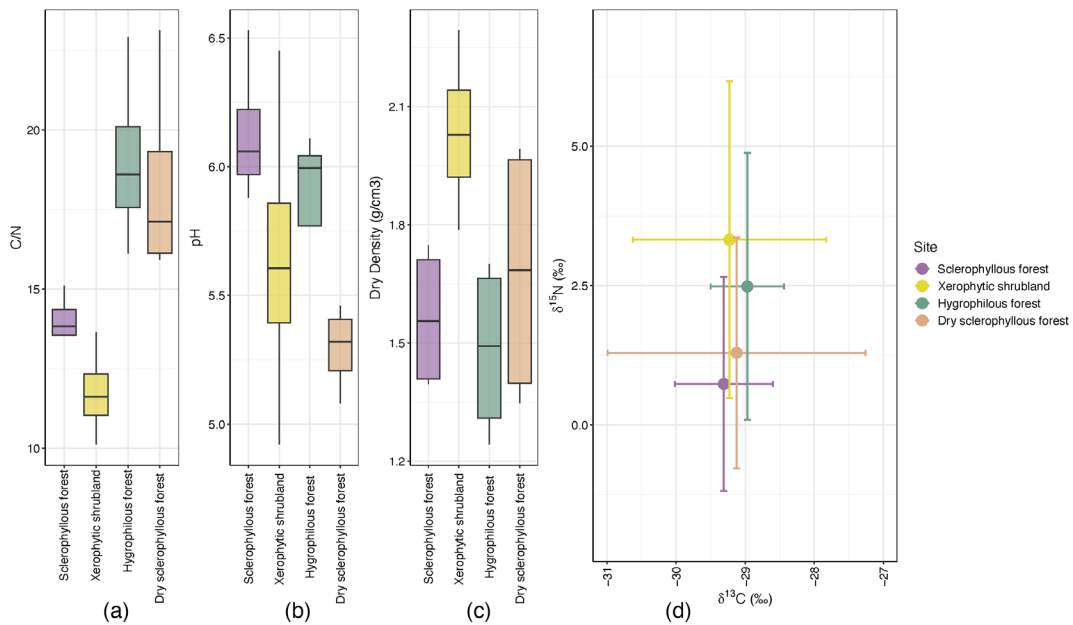


Figure IV.3. Physicochemical variables of the soil samples.

(a) C/N. Significant C/N differences were observed between the hygrophilous forest and the xerophytic shrubland, and between the dry sclerophyllous forest and the xerophytic

shrubland. (b) pH. No significant differences between locations were observed. (c) Dry density (g/cm³). Significant differences were observed between the hygrophilous forest and the xerophytic shrubland (d) d15N and d13C isotope content.

The PCA shows the environmental variability of the study sites associated with the climate conditions, the soil physicochemical characteristics and plant cover, which evidences a clear difference associated with the plant communities (Figure IV.4). The slopes were associated with different temperature and precipitation components, plant cover and soil conditions that, in total, represent >80% of the variability. For instance, the xerophytic shrubland site is associated with the mean annual temperature variation, herb cover and dry density, while the sclerophyllous forest is mainly associated with the annual precipitation, and precipitation in the driest, coldest quarter and more humid months. In the sites of the dry sclerophyllous forest and hygrophilous forest, it is associated with temperature, precipitation and soil carbon content.

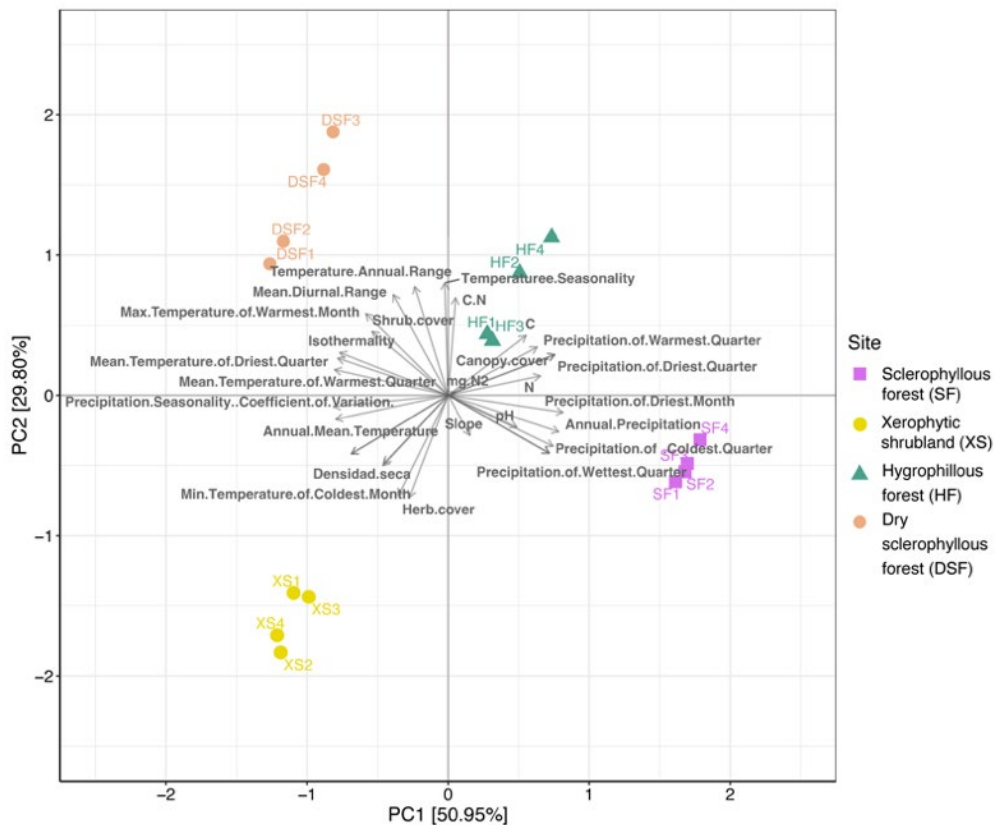
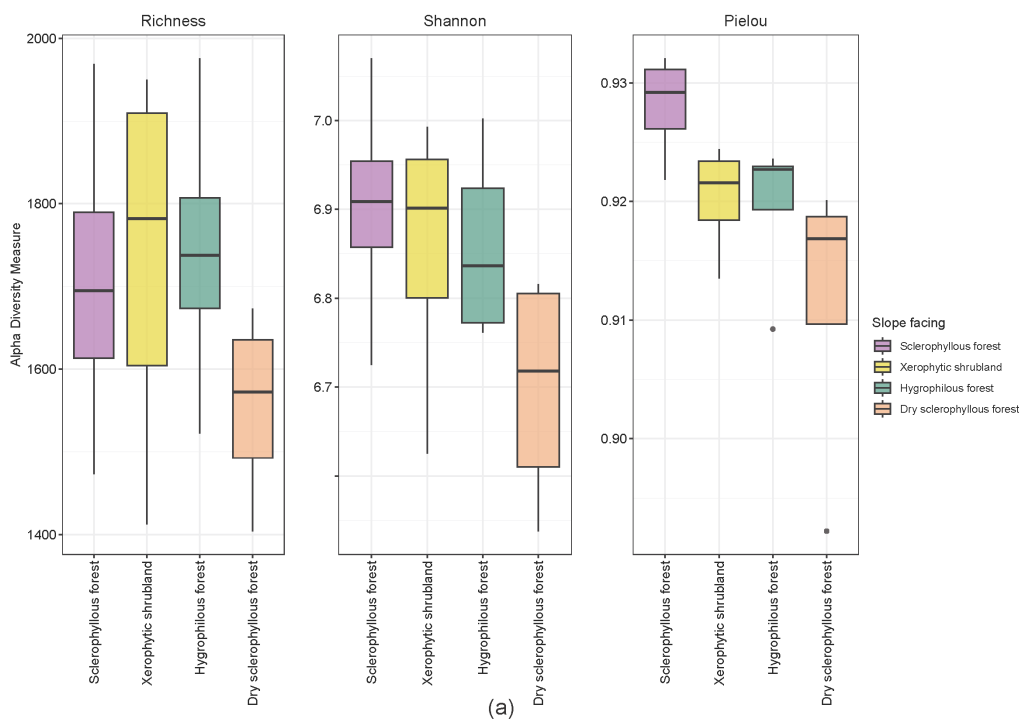


Figure IV.4. Redundancy analysis (RDA) that shows the variability of the environmental conditions associated with the plant communities.
(For further information, see Supplementary Table S3.)

4.4.2. Sequencing and Structure of the Soil Microbial Community

The number of sequences obtained from the soil microorganisms of PNLC, after the sequencing and the curing process, is summarized in Table S2. A larger number of fungal sequences was observed, with an average of 141.898 (fungi), compared to 93.706 (prokaryotes), reaching an adequate recovery of the expected microbial richness based on the rarefaction curves (Supplementary Figure S. IV.1 for fungi and Figure S.IV.2 for prokaryotes).

The estimated soil prokaryotic and fungal richness and diversity are shown in Figure 5 IV.a,b, respectively. In the case of prokaryotes, a higher richness and composition diversity in the sclerophyllous forest, xerophytic shrubland and hygrophilous forest soils was observed, where the sclerophyllous forest presented a higher evenness, reaching significant differences in comparison with the dry sclerophyllous forest (Kruskal–Wallis test, p -value < 0.05). The hygrophilous forest soils presented a higher diversity and evenness in fungi composition in comparison with other sites.



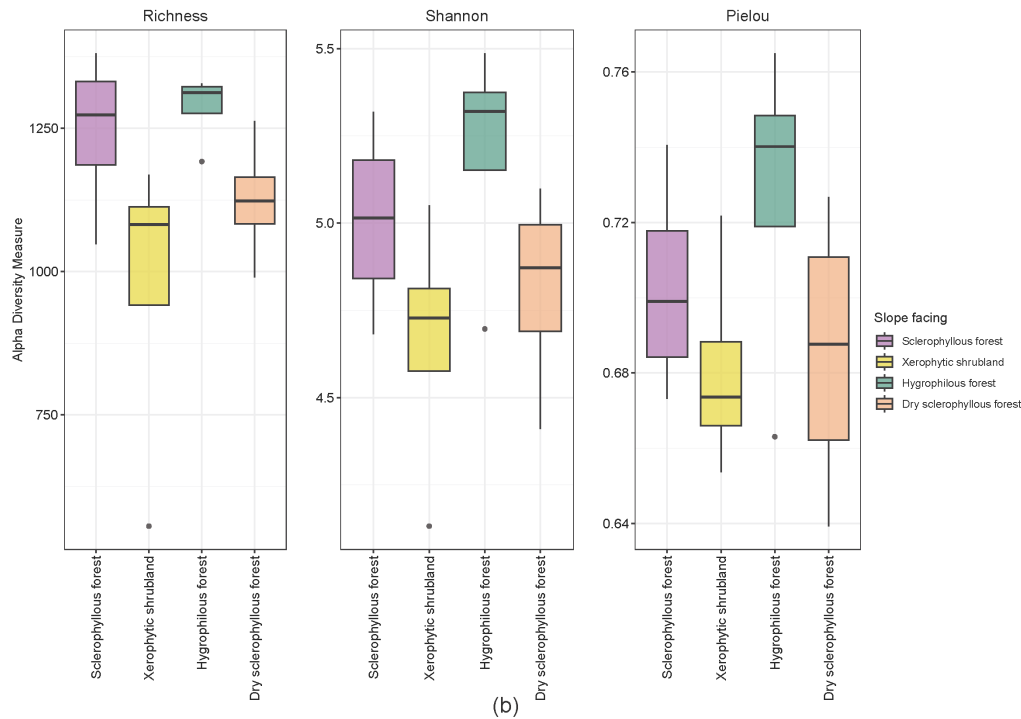
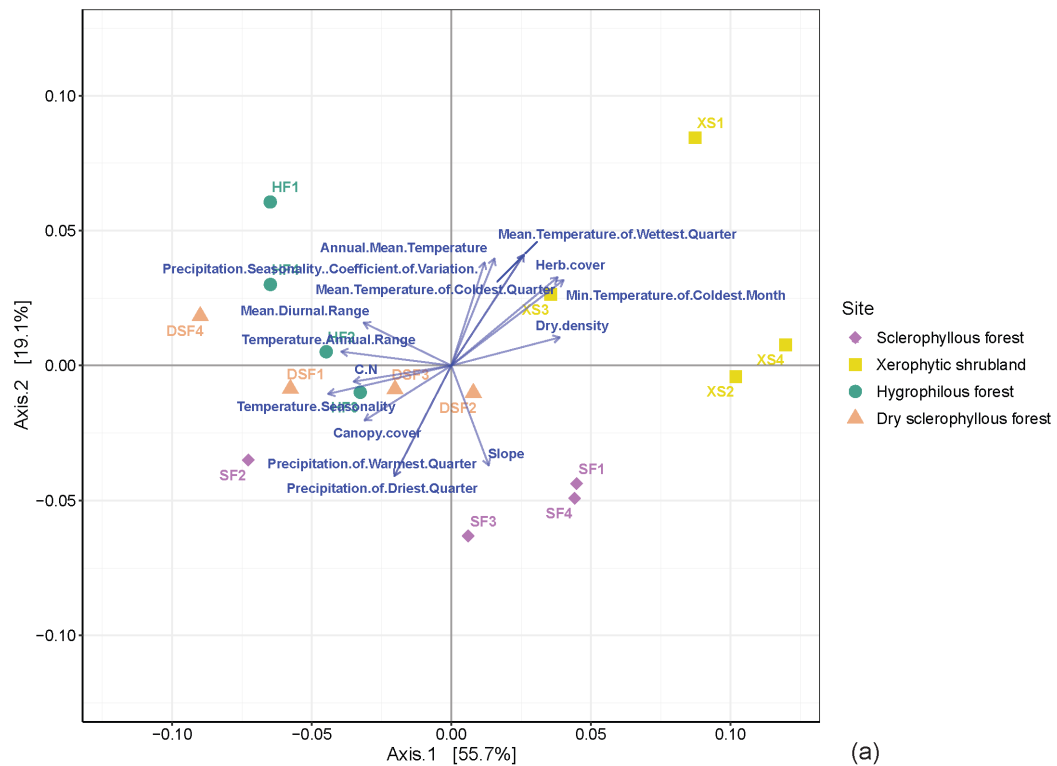


Figure IV.5. (a) Prokaryote and (b) fungi soil microorganism's alpha diversity in PNLC plant communities.

The variability of the microbial structure based on the beta-diversity analysis at the phylum level for prokaryotes and fungal communities is visualized using PCoA, which represents 74.8% and 81.4% of the variance, respectively (Figure IV.6a,b). This result reveals that there is an intra-site clusters generation both for bacteria and archaea, as well as for fungi, given that environmental variables have a similar impact in both cases (where axis 1 has a 60% range and axis 2 is close to 20%). Firstly, it was established that there are significant differences between the communities of the different plant communities for prokaryotes and fungi (PERMANOVA, p -value < 0.05). Additionally, similarities have been observed between prokaryote communities of the hygrophilous forest and dry sclerophyllous forest soils. In accordance with the PCoA of fungal communities, the xerophytic shrubland community shows a microbial community with more similarities within it in comparison with the other analyzed soils. These variabilities were associated with climatic variables and soil physicochemical characteristics. For xeric environments (p -value < 0.05), herb cover and the minimum temperature of the coldest month were significant for prokaryotes and fungi. In the case of the

bacteria–archaea communities in a sclerophyllous environment, the slope, precipitation of warmest quarter and precipitation of driest quarter were significant. Regarding the hygrophilous forest and dry sclerophyllous forest soils, the temperature annual range and temperature seasonality were significant for bacteria and archaea, as well as for fungi.



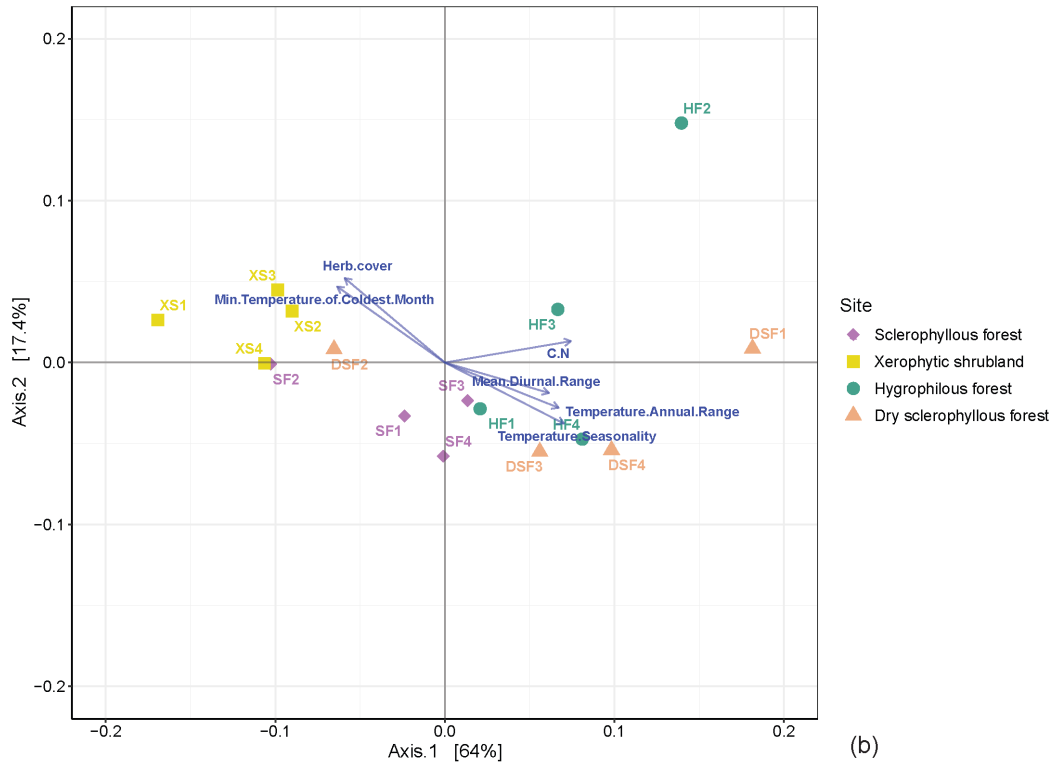


Figure IV.6. PCoA (PERMANOVA p-value < 0.05) that illustrates the microbial variability of the soil of the plant communities at the phylum level of (a) prokaryotes and (b) fungi. The blue arrows represent the environmental parameters that significantly correlate with the microbial communities (envfit, p-value < 0.05).

4.4.3. Microbial Composition in Different Types of Environments

The Venn diagram below, Figure IV.7, allows the comparison of the soil microbiome of plant communities in PNLC between prokaryotes and fungi. Soil prokaryote communities show 1000 common (core) ASVs in all of the sites, representing 10.9% (Figure IV.7a). The xerophytic shrubland soil with 1782 ASVs showed a higher number of unique prokaryotes, followed by the hygrophilous forest with 1660 ASVs, dry sclerophyllous forest with 1117 ASVs and sclerophyllous forest with 1067 ASVs (Figure IV.7a). Fungi showed a bigger number of shared ASVs in all of the sites, 436 ASVs, which represent 4.8% of the total number of sequences (Figure IV.7b) compared with each plant community, where the hygrophilous forest concentrated the largest number of unique ASVs with 2452 sequences (27.1%), followed by the sclerophyllous forest, with 1670

ASVs, the dry sclerophyllous forest with 1507 ASVs and the xerophytic shrubland with 1437 ASVs (Figure IV.7b).

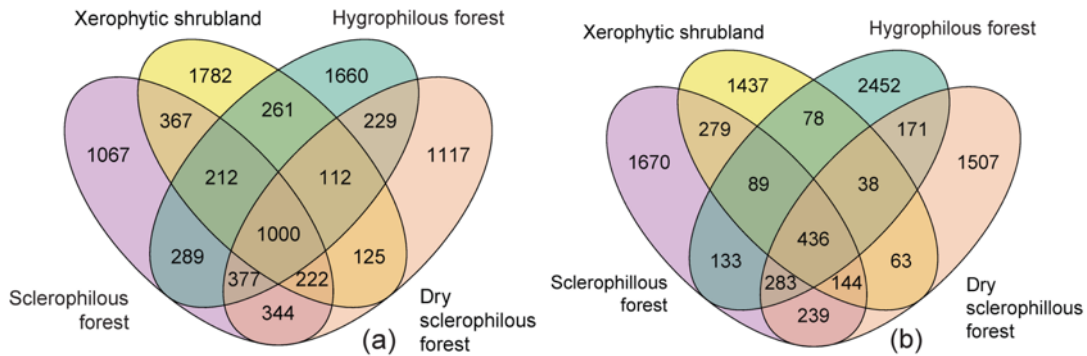


Figure IV.7. Venn diagram that shows the comparison of ASVs richness associated with (a) prokaryotes and (b) fungi, grouped on the basis of the soil of the plant communities.

For bacteria, 99.59%–98.27 of the sequences (Figure IV.8) showed a dominance of prokaryotic microbial communities' composition, particularly in the south-facing slopes (sclerophyllous forest) with a greater number of archaea (1.7%). In general, the most abundant bacterial phyla were the Proteobacteria (35.43%), Actinobacteria (32.86%), Acidobacteria (10.07%), Verrucomicrobia (4.55%), Bacteroidetes (4.24%), Gemmatimonadetes (3.75%) and Chloroflexi (3.66%), followed by Planctomycetes (1.92%), Firmicutes (0.99%) and the Crenarchaeote (0.80%) phylum of archaea. Among the low-abundance microorganisms (<0.5%), there was the presence of the bacteria Nitrospirae (0.49%), Armatimonadetes (0.43%), Cyanobacteria (0.69%), Chlorobi (0.07%), Elusimicrobia (0.07%), AD3 (0.17%), WS3 (0.06%), TM7 (0.08%) and WPS-2 (0.05%). The distribution of these phyla varied from site to site, especially for the less frequent groups < 1% and the rare biosphere < 0.1% (Figure IV.8).

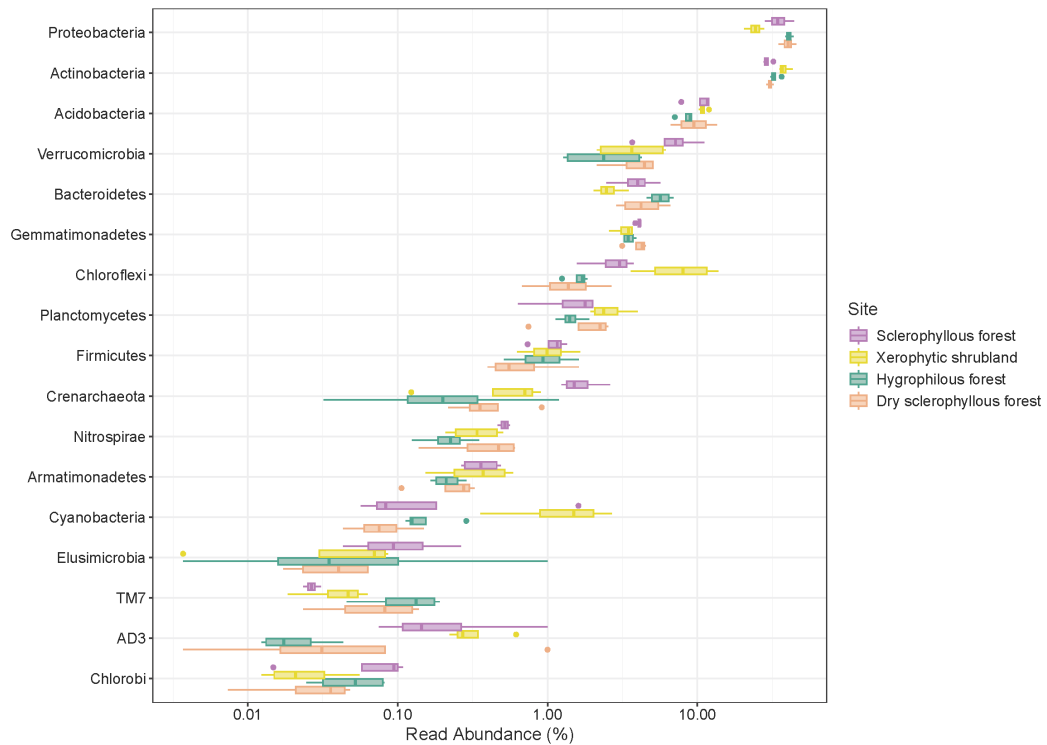


Figure IV.8. The box plot shows the relative abundance of bacterial and archaeal phyla in the PNLC soil categorized by the different plant communities.

In the xerophytic shrubland, the bacterial phyla Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria and Chloroflexi represent >10% of the total sequences, followed by Gemmatimonadetes, Bacteroidetes, Verrucomicrobia, Planctomycetes, Firmicutes and Cyanobacteria (1–10%). Crenarchaeota, Nitrospirae, Armatimonadetes and AD3 represent <1%, and at the rare biosphere level < 0.1%, the Chlorobi, Elusimicrobia and TM7 phyla are found. Proteobacteria, Actinobacteria and Acidobacteria are the most abundant bacterial phyla (>10%) in the sclerophyllous forest, followed by Gemmatimonadetes, Bacteroidetes, Verrucomicrobia, Chloroflexi, Planctomycetes, Firmicutes and Crenarchaeota (1–10%), Nitrospirae, Armatimonadetes, Cyanobacteria, Elusimicrobia and AD3 (0.1–1%). In comparison with other plant communities, there was a lower number of phyla of the rare biosphere (<0.1%) in the sclerophyllous forest (Chlorobi and TM7).

The bacterial phyla Proteobacteria and Actinobacteria (>10%) were the most abundant in the hygrophilous forest, followed by Acidobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes, Gemmatimonadetes, Chloroflexi, Planctomycetes and Firmicutes (1–10%). Crenarchaeote, Nitrospirae, Armatimonadetes, Cyanobacteria and Elusimicrobia consist of 0.1–1% of the sequences. The larger number of phyla classified as part of the rare biosphere (<0.1%), including Chlorobi, AD3 and TM7, are found in the hygrophilous forest. Additionally, there are only two abundant phyla > 10% (Proteobacteria, Actinobacteria and Acidobacteria) in the dry sclerophyllous forest. The bacterial phyla Gemmatimonadetes, Bacteroidetes, Verrucomicrobia, Chloroflexi, Planctomycetes and Firmicutes represent 1–10% of the sequences. Crenarchaeote, Nitrospirae, Armatimonadetes, Cyanobacteria and TM7 (0.1–1%) are more rarely found. The bacterial phyla Chlorobi, Elusimicrobia and AD3 (<0.1%) are found in the rare biosphere.

A smaller number of fungal phyla (Figure IV.9) were found in the PNLC soil. The phylum Ascomycota reached 76.11%, followed by Basidiomycota (15.62%), Mortierellomycota (5.63%) and Chytridiomycota (1.56%), and a new unidentified phylum was found (0.46%). There was a variability associated with less abundant and rare phyla among the different sampled sites. In the xerophytic shrubland, Ascomycota represent >10% of the microbial community while the phyla Basidiomycota and Mortierellomycota constitute <10%, and Chytridiomycota and Glomeromycota between 1% and >0.1%, respectively, of the microbial community. The phyla Mucoromycota and Olpidiomyota were found at the level of the rare biosphere (<0.1%). In the sclerophyllous forest, the most abundant fungal community (>1%) was similar to that in the xerophytic shrubland, while the less abundant fungal communities were associated with the phyla Glomeromycota and Olpidiomyota (0.1–1%). The phyla Ascomycota and Basidiomycota were more abundant (>10%) in the hygrophilous forest, followed by the phyla Mortierellomycota (1–10%), Chytridiomycota and Mucoromycota, (0.1–1%). As in the sclerophyllous forest, the rare biosphere is represented by Glomeromycota and Olpidiomyota (<0.1%). The same abundant phyla (>10%,

Ascomycota and Basidiomycota) were observed in the dry sclerophyllous forest. The phyla Mortierellomycota and Chytridiomycota represent 1–10% abundance, followed by Mucoromycota and Olpidiomyces (0.1–1%), where Glomeromycota (<0.1%), as in the other sites, constituted the rare biosphere.

An unidentified phylum (0.1–1%) is present in all the sites. In addition, it was observed that fungal groups (e.g., Chytridiomycota and Mucoromycota) are more abundant than prokaryotes. This suggests that fungi might be site-specific communities.

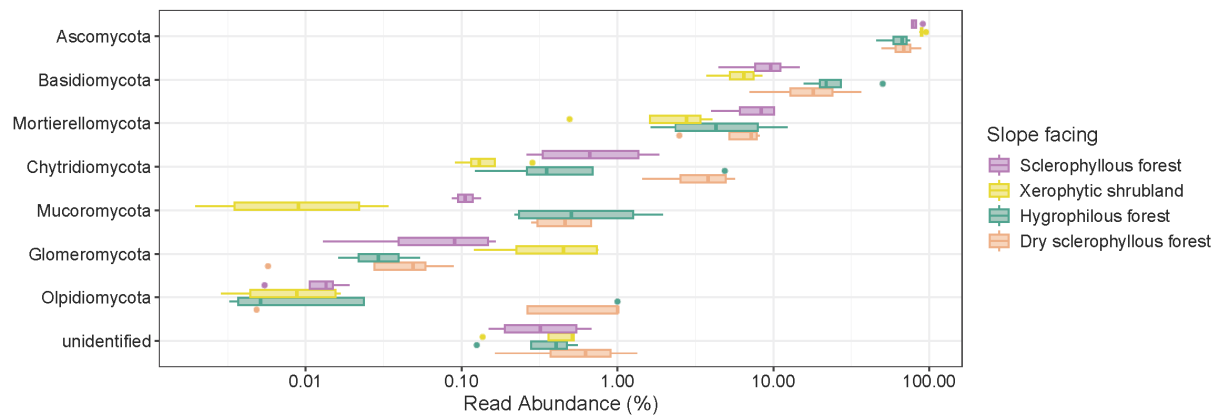


Figure IV.9. The box plots show the relative abundance of the fungal phyla in the PNLC soil categorized by different plant communities.

4.4.4. Distribution of Microbial Communities among the Different Plant Communities

The distribution of the 18 bacterial and archaeal genera that individually contribute a higher percentage to the soils is shown in Figure III.10. *DA101* is the most abundant in the sclerophyllous forest plant community, whereas the genera *Rhodoplanes* and *Candidatus Nitrososphaera* also show a higher relative contribution. In addition, a number of genera represent individually >1% in the dry sclerophyllous forest in comparison with the sclerophyllous forest and xerophytic shrubland, such as *Pseudonocardia*, *Mycobacterium*, *Actinoplanes*, *Segetibacter* and *Massilia* (Figure IV.10).

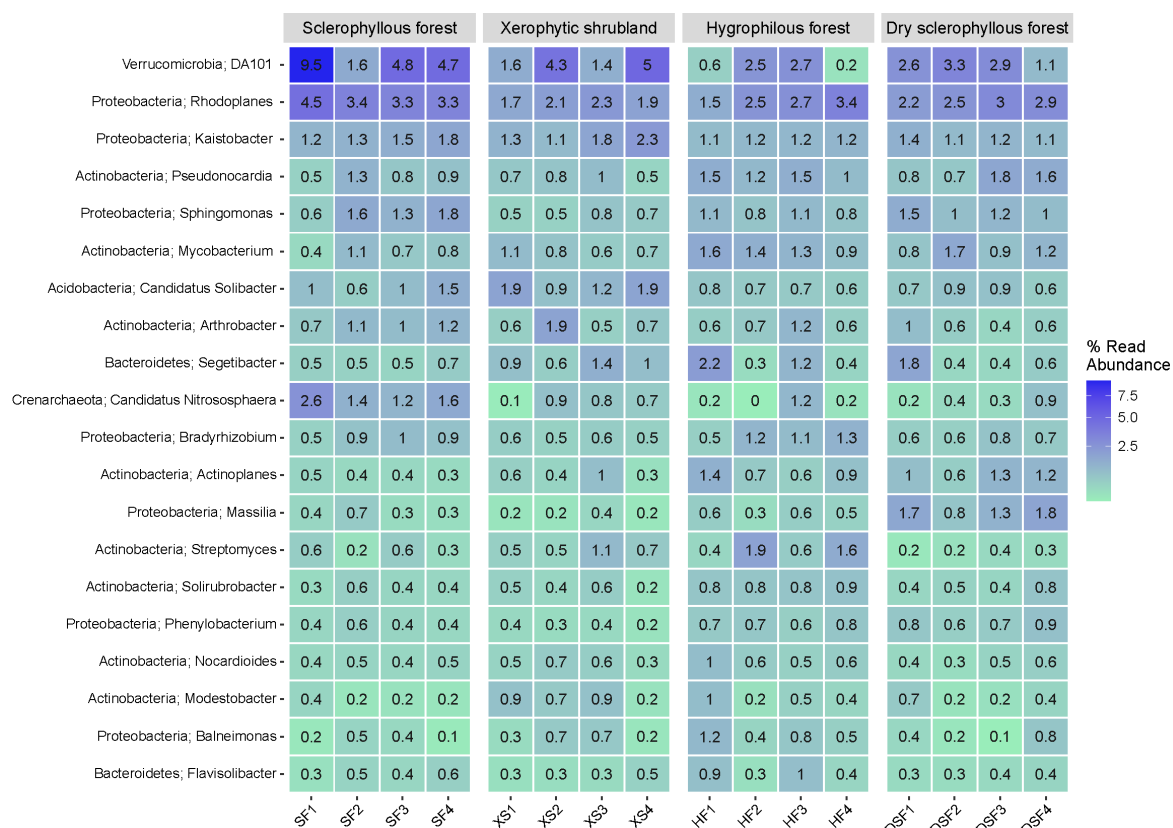


Figure IV.10. Heatmap of the 18 most abundant genera of prokaryotes in the soil ($n = 16$) analyzed in PNLC, categorized by plant communities.

Figure III.11 shows the distribution of 20 genera of fungi that individually represent the highest percentage in the soil categorized by different plant communities. The genera *Solicoccozyma*, *Humicola*, *Mortierella*, *Penicillium* and *Zopfiella*, represent up to 10% in the sclerophyllous forest. The genera *Alternaria*, *Rutstroemia*, *Cladosporium*, *Nothophoma*, *Zopfiella* and *Ascobolus* presented higher values in the xerophytic shrubland. Sharing the presence of abundant genera associated with *Solicoccozyma* (26.8%) are *Humicola*, *Mortierella* and *Cladophialophora* in the hygrophilous forest and dry sclerophyllous forest. Some samples of the hygrophilous forest show a higher individual representation of the genera *Cladophialophora*, while genera such as *Hormonema* and *Coniochaeta* were far more abundant in the dry sclerophyllous forest (Figure IV.11).

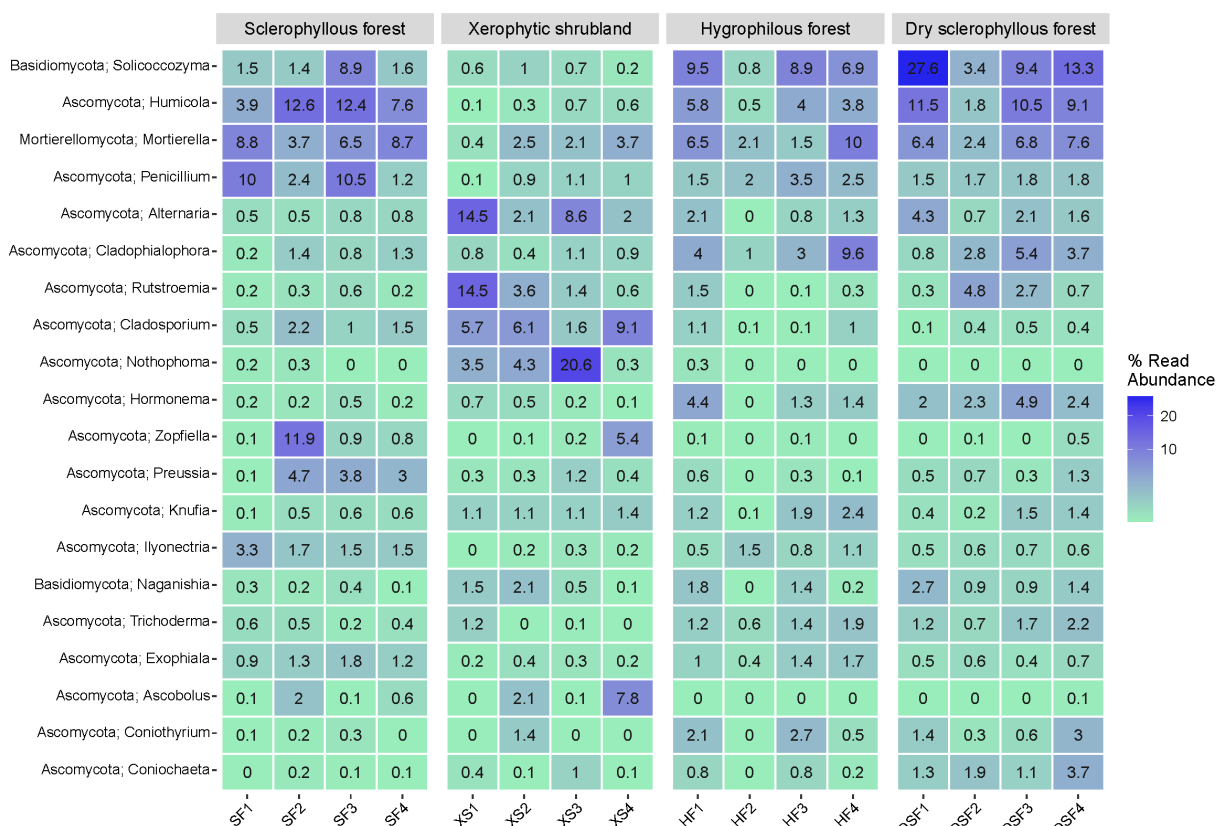


Figure IV.11. Heatmap for the 20 genera of fungi in the soil ($n = 16$) analyzed in PNLC categorized by plant communities.

4.4.5. Analysis of Differential Abundance of Microorganisms

The DeSeq analysis represented in a Volcano plot allowed the identification of differentially represented ASVs in the microbial communities in the soil of plant communities in the xerophytic shrubland versus sclerophyllous forest (Figure III.12, Supplementary Table S4). Particularly, 335 ASVs among the sites are observed; 167 ASVs in the sclerophyllous forest and 168 in xerophytic shrubland. The community is composed of 16 phyla, where Ascomycota (199 ASV), Basidiomycota (47), Actinobacteria (23ASV) and Proteobacteria (18) stand out.

Although these different taxa were found at both sites, they were distributed in a different manner; the phyla Ascomycota (107 ASV), Basidiomycota (32 ASV) and Proteobacteria (13 ASV) were more abundant in the sclerophyllous forest, while

the phyla Actinobacteria (18 ASV) and Acidobacteria (3 ASV) were more abundant in the xerophytic shrubland.

When comparing the ASVs of the microbial communities in the hygrophilous forest and the dry sclerophyllous forest based on the DeSeq analysis represented in a Volcano plot (Figure III.13), 563 ASVs were found to be significant (p -adj). The community is composed of 49 phyla, where Ascomycota (264 ASVs), Basidiomycota (100 ASVs), Proteobacteria (61 ASVs), Actinobacteria (47 ASVs), Acidobacteria (28 ASVs) and Gemmatimonadetes (11 ASVs) stand out. Regarding their distribution, the phyla Ascomycota (181 ASVs), Basidiomycota (72 ASVs), and Actinobacteria (25 ASVs) are more abundantly found in the dry sclerophyllous forest and Acidobacteria (15 ASVs), Gemmatimonadetes (9 ASVs) and Chytridiomycota (5 ASVs) in the hygrophilous forest.

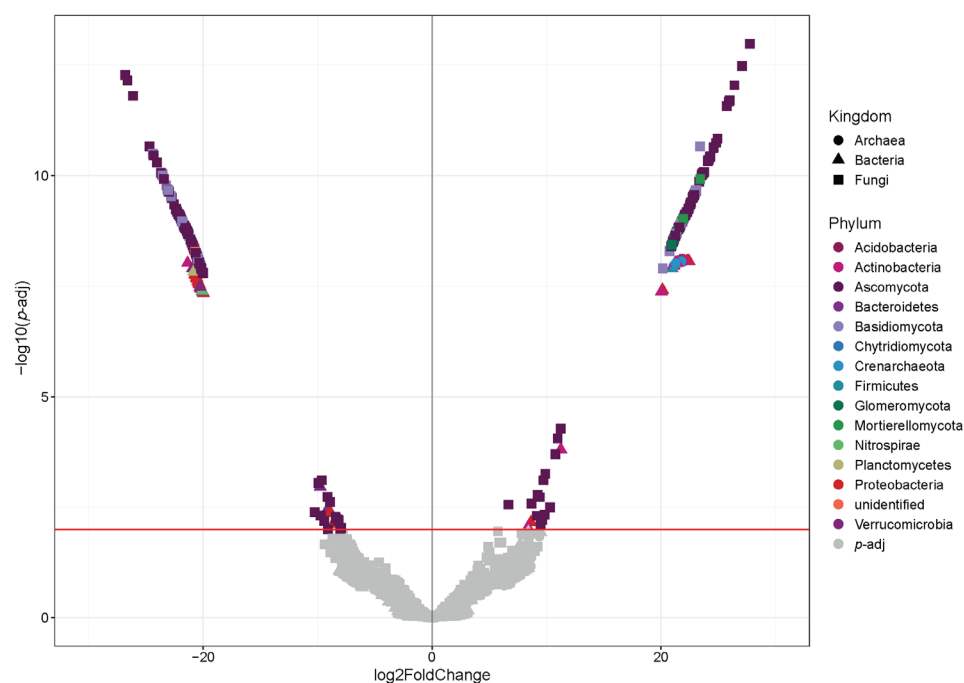


Figure IV.12. Volcano plot that shows the ASVs of microorganisms (bacteria, archaea and fungi) when comparing the xerophytic shrubland vs. sclerophyllous forest plant communities in PNLC. The red line indicates the significantly different ASVs (p -adj). Complete data in Supplementary Table S4.

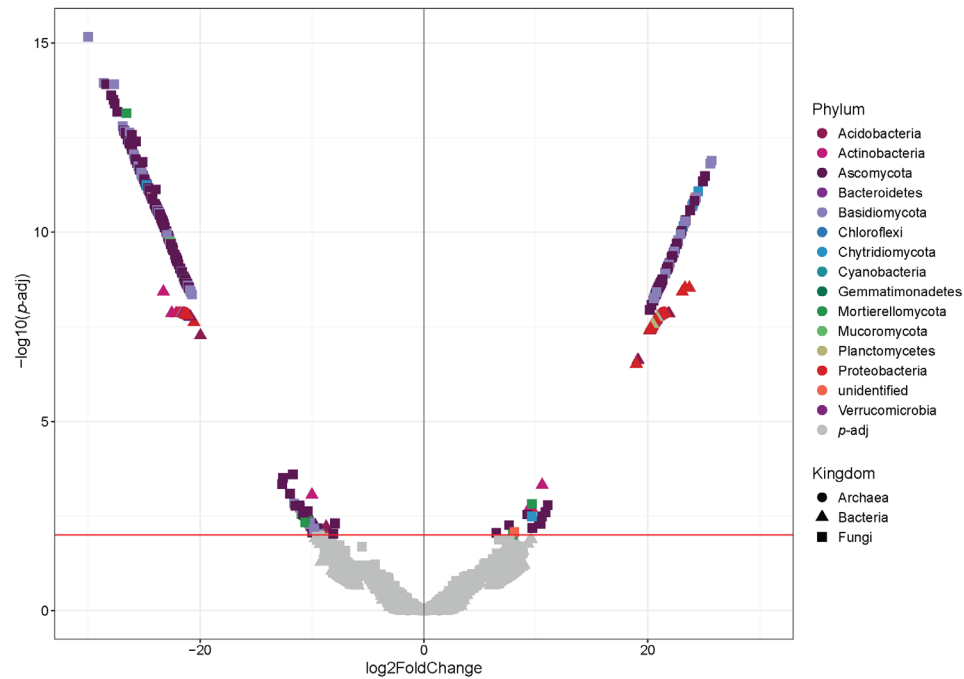


Figure IV.13. Volcano plot that shows the ASVs of microorganism when comparing the hygrophilous forest and dry sclerophyllous forest plant communities in PNLC. The red line indicates the significantly different ASVs (p-adj). Complete data in Supplementary Table S5.

4.4.6. Predicted Potential Microbial Function

It was predicted that the potential functional profile microbial function of prokaryote communities (Figure IV.14a) would be similar in each site. Aerobic chemoheterotrophs, anaerobic chemoheterotrophs, photoheterotrophy and photo-autotrophy are predominant in obtaining energy; while nitrate reduction is associated with the nitrogen cycle, the cellulolytic bacteria are associated with the carbon cycle. Regarding fungi (Figure IV.14b), at a trophic level, saprotrophic fungi, followed by pathotroph and symbiotroph, are predominant in all sites; regarding ecological guilds, the plan pathogen, endophyte, animal pathogen and wood saprotroph stand out. Regarding each plant community, a slight increase in nitrifying prokaryotes is observed in the sclerophyllous forest, hygrophilous forest and dry sclerophyllous forest in comparison with the xerophytic shrubland; and, regarding fungi, an increase in the soil saprotroph in the sclerophyllous forest, fungal parasites in the xerophytic shrubland and dung saprotroph in the

sclerophyllous forest, xerophytic shrubland and dry sclerophyllous forest is observed.

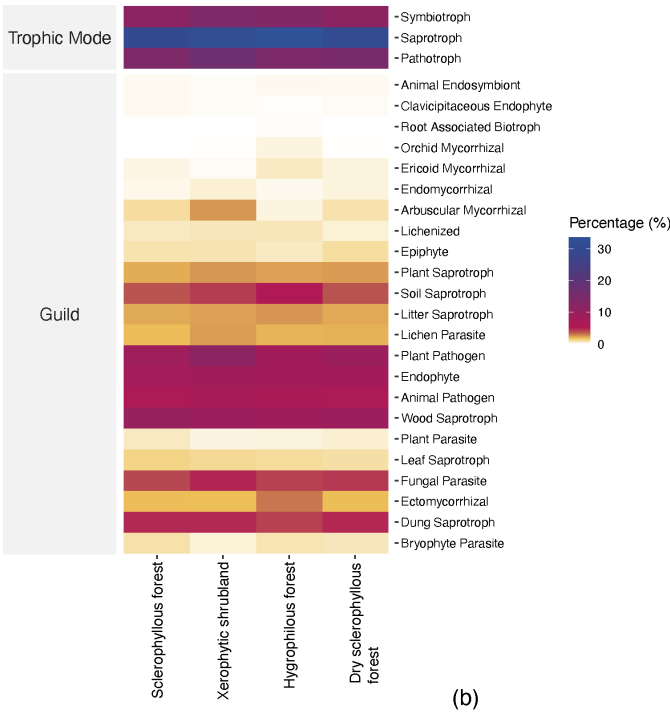
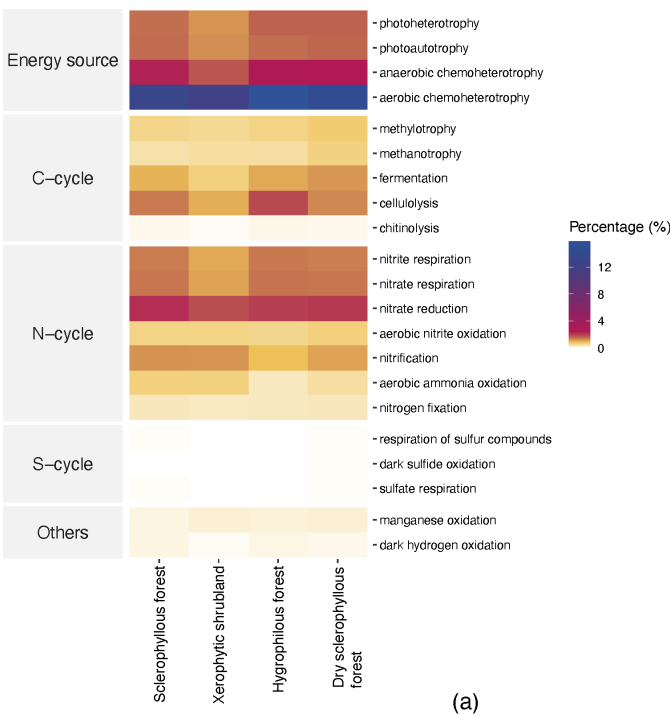


Figure IV.14. Predicted potential microbial function profile by comparison of the 4 study sites. (a) Prokaryotes, (b) fungi.

4.5. Discussion

4.5.1. Toposequence, Microbial and Plant Communities in PNLC

In a toposequence, the direction of the slope is a significant topographic factor that affects the local microclimate, influencing the solar radiation, soil temperature, water retention and availability and nutrient dynamics [62–64]. These conditions determine the plant distribution and potentially determine the soil microbial communities' composition and activity, which has been reported for the north- and south-facing slopes in Chilean national parks, such as Pan de Azúcar, Santa Gracia, La Campana and Nahuelbuta, each of them with a different type of climate [21-23], and for the north and south slopes of the Italian Alps [2,65]. These studies, focused on climosequences and toposequences, have reported differences in the soil microbial communities' [66,67] diversity, abundance and activity. In the Chilean national parks' case, there was a comparative study conducted along the north–south climatic gradient of the coast of Chile which, among other things, accounts for changes in microbial abundance and biodiversity (i.e., bacteria and archaea) in relation with the north–south arid–humid gradient [21,22]. Likewise, a study reveals the change in microalgae and cyanobacteria richness associated with the biocrusts along this gradient, where a lower species richness is observed in arid climates and a higher richness in Mediterranean climates [68].

According to our study, the spatial distribution of the microbial composition and structure and soil characteristics of the sites in PNLC was associated with sunlight exposure gradients, elevation and plant cover, specifically, on the basis of the comparison of two pairs of sites (sclerophyllous forest–xerophytic shrubland and hygrophilous forest–dry sclerophyllous forest).

Hence, the significant influence of climatic variables, such as precipitation and soil physicochemical conditions associated with the C and N composition of the

organic matter, was observed in the sclerophyllous forest in comparison with the xerophytic shrubland. This is related to higher humidity conditions and a slightly lower temperature in the south-facing sclerophyllous forest, in contrast with the xerophytic shrubland, which presents a higher sunlight exposure, less plant cover and less humidity [37]. These environmental variables were significant in accounting for the prokaryotic and fungal community structure (Figure IV.6a,b). Variables relating to organic matter composition, temperature seasonality and temperature annual range, typical environmental conditions in this type of forest, in which growth is restricted to the bottom of ravines, i.e., with more humidity and less light availability, were especially significant for hygrophilous forest soil microorganisms [38]. Consequently, a higher richness, diversity and evenness of ravine fungal species, consistent with the data on the Central Chile template and coastal forests [69,70], was observed.

Slope, temperature seasonality and C/N were some of the significant variables for prokaryotes in the dry sclerophyllous forest. C/N, temperature annual range and temperature seasonality were significant for fungi. Although Chilean palm trees (*Jubaea chilensis*) in the dry sclerophyllous forest and hygrophilous forest are not predictors of the type of plant communities, since they are found in all habitats of Valle de Ocoa [71], the results showed a large Chytridiomycota and Mucoromycota fungal relative abundance that might be related to the presence of palm trees, which is a plant species found in both sites.

4.5.2. Variation in the Microbial Community and Its Association with the Environmental Conditions of the Plant Communities

There is a relationship between the microbial community structure in PNLC and plant distribution, where a greater differentiation between the bacterial and fungal communities in soils associated with the xerophytic shrubland and the hygrophilous forest, respectively, is highlighted. The comparison at higher

taxonomical levels indicates that, in particular, soil fungi show more specificity associated with the plant communities that we have studied in PNLC.

In general, the bacterial phyla Proteobacteria, Actinobacteria and Acidobacteria comprised the most representative bacterial composition of soils, which is consistent with former studies of the Mediterranean semi-arid soils of PNLC [24]. The bacterial phyla Gemmatimonadetes, Bacteroidetes and Verrucomicrobia are frequently found in PNLC soil. The phylum Gemmatimonadetes is a cosmopolitan bacterial phylum, the distribution of which is related to the low water content of xeric soils [72]. Additionally, bacteria related with the bacterial phyla Bacteroidetes and Verrucomicrobia are commonly found in the rhizosphere, are involved in organic matter decomposition [73,74], and correlate with the soil physicochemical characteristics, such as pH and C/N ratio [75].

Certain individual microbial genera, in particular, showed a differential distribution associated with the plant communities; for instance, phylotype DA101 (Verrucomicrobia) [76] was the most abundant in the sclerophyllous forest and xerophytic shrubland, followed by the genera Rhodoplanes (Proteobacteria) in the sclerophyllous forest and dry sclerophyllous forest when comparing it with the other two sites (hygrophilous forest and xerophytic shrubland). Phylotype DA101 corresponds to *Ca. Udaeobacter copiosus* [76], a globally ubiquitous bacterium in a wide range of soils [75]. Rhodoplanes is a potentially phototrophic [77] and nitrogen-fixing bacteria [78]; Catania et al. (2022) reported that Rhodoplanes is a rare soil bacterium that has been detected in the soils of Spain, Portugal and Italy, associated with extremely dry and low-nutrient conditions [79], which are ecofunctional characteristics that allow them proliferate in Mediterranean semi-arid soils [80,81].

The phylum Ascomycota was the most abundant fungi in all of the sites, where its contribution to the total percentage of fungi in the sclerophyllous forest and dry sclerophyllous forest in PNLC stands out. In general, Ascomycota fungi play an

important role in organic matter decomposition, the formation of humus, soil nutrient recycling and, additionally, are mutualists and parasites [82]. Furthermore, the significant relative abundance of Chytridiomycota and Mucoromycota in the hygrophilous forest and dry sclerophyllous forest suggests that these might be site-specific phyla of those plant communities, at a higher altitude, potentially favoring plant development in this type of environment in PNLC. The Chytridiomycotas group of fungi inhabits semi-arid soils [83] and show extreme cold and heat tolerance [84], while the saprophytic fungi of the phylum Mucoromycota are present in the soil and compost [85]. These correspond to endophytic fungal groups at the base of the phylogenetic tree of fungi [86] that might be adapted to specific environmental conditions that favor palm tree growth in the hygrophilous forest and the dry sclerophyllous forest.

Our research is consistent with the results reported by Egidi et al. (2019), which found high-specificity fungal OTUs when comparing four grassland (mild, mountain, coastal and arid) bioregions in Australia, the community structure of which was mainly associated with edaphic variables, such as soil organic carbon, pH, phosphorous, gravel, magnesium, manganese, copper and iron, as well as the distance between sites [87].

The distribution of the edaphic fungal and bacterial communities in PNLC is related with Mediterranean environmental conditions and potential ecological interactions with the endemic vegetation of the study area. Moreover, there is a higher fungal degree of specificity and potential endemism in PNLC compared with prokaryotes, since there are more than 37% unassigned groups and 1.8% unclassified groups in the databases in the case of fungi, in comparison with 3% of unassigned prokaryotic sequences. However, a high percentage of unassigned sequences has been reported for eukaryotes using ITS amplicons [88] and for functional fungal guilds, reaching up to 38.6% [89].

4.5.3. Key Microbial Taxa, Potential Functions and Their Relation with the Different Plant Communities of PNLC

In our study, the microbial function prediction indicates the presence of functional groups of the nitrogen cycle, among other biogeochemical cycles, which has been linked to forests with high plant species richness [90]—for example, nitrate reduction communities, such as Rhodoplanes [91] and ammonia-oxidizing archaea in the sclerophyllous forest, xerophytic shrubland and dry sclerophyllous forest. In general, the Archaea domain was not abundant in the PNLC soil; however, the ammonia-oxidizing archaea were mostly found in the sclerophyllous forest soil. This might be related to N reduction in both plant communities, since it has been suggested that the soil C/N ratio was the best individual predictor of archaea relative abundance and that dominance decreases in high inorganic N availability conditions, perhaps due to competitive interactions with nitrifying bacteria [92]. The foregoing is consistent with studies where an increased presence of archaea in north-facing slopes (shade) in the southern Alps in northern Italy has been observed [2].

Furthermore, our study found a predominance of microbial groups of the soil rare biosphere, such as phylum TM7 (Saccharibacteria) with Chlorobi [93], which are specific to the hygrophilous forest microbial community in comparison with the dry sclerophyllous forest microbial community. In the xerophytic shrubland, Chloroflexi [94] and Cyanobacteria [95], photosynthetic organisms that might be related to this site due to their higher sunlight exposure, were the most abundant prokaryotic phyla. The phylum Actinobacteria, along with the genera *Pseudonocardia* and *Mycobacterium*, which are closely related taxa that have been associated with a higher nutrient absorption [96], plant growth [97] and nitrogen fixation [98], share predominance in the hygrophilous forest and dry sclerophyllous forest soils.

Regarding fungi, saprophytic fungi, decomposers associated with the carbon cycle, were predominantly found, which is consistent with the results reported by

research conducted in Norway's beech tree forests [99,100] and in Mediterranean zones [101].

In the PNLC soil, the phylum Ascomycota, with the genera *Alternaria*, *Rutstroemia*, *Cladosporium*, *Nothophoma* and *Zopfiella*, among others, was mainly found in the grasslands and shrublands of arid environments which are associated with processes related with soil stability and plant biomass decomposition in this type of ecosystem [101]. Also, in the case of decomposer fungi, it was observed that the increase in the C/N ratio was related to a higher fungal diversity than bacterial diversity [102], which accounts for the larger number of specialist fungi in the hygrophilous forest, followed by the dry sclerophyllous forest and sclerophyllous forest. The genera *Cladophialophora*, described in different geographical regions; *Hormonema*, an opportunistic plant pathogen, mainly found in the phyllosphere [103,104]; and *Coniochaeta*, described as a tree pathogenic fungus [105], were observed in the dry sclerophyllous forest [106]. In particular, a higher relative abundance of the fungal community of the genera *Solicoccozyma* [107] of the phylum Basidiomycota was found in the dry sclerophyllous forest, hygrophilous forest and in a sample spot in the sclerophyllous forest.

The study of the soil fungal community indicates potential plant–fungal associations, such as in the case of the genus *Humicola*, which has been described as ascomycetes associated with ectomycorrhizas in the Tasmanian wet sclerophyllous forests [108], or the genera *Dothideomycetes* and *Sordariomycetes*, commonly found in tropical and subtropical palm trees [109].

In addition, the genus *Mortierella* spp. saprophytic and decomposer fungi, highly valuable for agricultural soils since they promote plant growth by way of phosphorous and iron bioavailability, were found in PNLC. These are also present in hostile environments [110] such as nutrient-poor (oligotrophic) soils, bare rocks, sandstone, dunes and areas destroyed by wildfires [111,112].

4.6. Conclusions

The microbial community structure, including prokaryotes and fungi, is spatially distributed in relation with a toposequence associated with Parque Nacional La Campana (PNLC)'s orientation and vegetation. In particular, the influence of the topoclimate conditions on the microbial community structure was more evident in contrasting sites, such as the xerophytic shrubland and hygrophilous forest. Both fungi and prokaryotes are dominated by genera of the rare biosphere in the hygrophilous forest and the dry sclerophyllous forest, which supports our hypothesis on the structure and role of microbial communities in PNLC. Specifically, each site presented dominant communities, highlighting the following: Crenarchaeote, Humicola and Mortierella were dominant in the sclerophyllous forest; Chloroflexi, Cyanobacteria and Alternaria in the xeric scrubland; Solicoccozyma in the dry sclerophyllous forest; and Cladophialophora in the hygrophilous forest. A great presence of Chytridiomycota and Mucoromycota fungi in the sclerophyllous dry forest and hygrophilous forest could be related to the presence of Chilean palms (*Jubaea chilensis*).

The potential functional prediction of microbial communities indicates the presence of functional groups associated with the nitrogen cycle, particularly those involved in nitrate reduction and ammonia oxidation, with a notable prevalence in the sclerophyllous forest and xerophytic scrub. The prevalence of saprophytic and decomposer fungi indicates a pivotal function in the decomposition of organic matter and the recycling of soil nutrients, a conclusion that is consistent with studies conducted in Mediterranean regions and temperate forests.

The greater diversity and specificity of fungi in hygrophytic forests compared to other vegetation types underscores the pivotal role of edaphic and climatic conditions in structuring fungal communities. The abundance of fungal genera such as Solicoccozyma, Humicola, Mortierella and others reflects potential plant–

fungus associations and adaptations to specific environmental conditions in PNLC.

Further studies on the contribution of microorganisms are required to understand the role of diversity and microorganisms' functions on the soil, so as to develop conservation strategies and the possible restoration of edaphic ecosystems affected by human activity.

4.7. Supplementary Materials:

The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/microorganisms12081569/s1>, Figure S1: Rarefaction curves for fungi sequences and Figure S2: Rarefaction curves for fungi prokaryotes, Table S1: Environmental and soil physico chemical conditions, Table S2: Per-sample sequence counts, Table S3: Significance regarding each environmental variables from the RDA analysis, Table S4: DeSeq analysis: identification of differentially represented ASVs in the microbial communities in the soil of plant communities in the xerophytic shrubland versus sclerophyllous forest and Table S5: DeSeq analysis: identification of differentially represented ASVs in the microbial communities in the soil of plant communities in the hygrophilous forest versus dry sclerophyllous forest.

4.8. Author Contributions:

Conceptualization, C.Q.-U., J.P.F. and V.M.; methodology, C.Q.-U., J.P.F., V.M. and P.A.-M.; writing—original draft preparation, C.Q.-U., J.P.F., R.O. and V.M.; writing—review and editing, C.Q.-U., J.P.F., R.O., A.M.-M., R.V. and V.M.; funding acquisition, C.Q.-U., J.P.F. and V.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

4.9. Funding:

This research was funded by FONDECYT grants #11170566 and #1211977, Concurso Regular de Investigación 2019 UPLA (CNE 23-20). Additional funding was provided by Programa de Biodiversidad de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas and Project RED21992 “Sistema articulado de investigación en Cambio Climático y Sustentabilidad en zonas costeras de Chile”. C.Q.-U. was supported by the Scholarship Program Beca Doctorado Nacional ANID 2022 N°21221130 and “Tesis que impactan territorios” Programa NODO CIV-VAL 220002 ANID. The APC was funded by the Dirección General de Investigación UPLA.

4.10. Data Availability Statement:

The original contributions presented in the study are included in the article/Supplementary Material; further inquiries can be directed to the corresponding author/s.

4.11. Acknowledgments:

We acknowledge the Corporación Nacional Forestal (CONAF) and the Administration of Parque Nacional La Campana and their staff for field campaign support. We are grateful to Pamela Ramírez, Paulina Hernández and Yael Aguirre for their support in taking samples; to Claudia Cano, Marta Muñoz and Fabiola Moenne for their technical support; and to Katalina Salvador for map editing.

4.12. Conflicts of Interest:

The authors declare no conflicts of interest.

4.13. References

1. Vandenkoornhuyse, P.; Quaiser, A.; Duhamel, M.; Le Van, A.; Dufresne, A. The Importance of the Microbiome of the Plant Holobiont. *New Phytol.* **2015**, *206*, 1196–1206.
2. Bardelli, T.; Gómez-Brandón, M.; Ascher-Jenull, J.; Fornasier, F.; Arfaioli, P.; Francioli, D.; Egli, M.; Sartori, G.; Insam, H.; Pietramellara, G. Effects of Slope Exposure on Soil Physico-Chemical and Microbiological Properties along an Altitudinal Climosequence in the Italian Alps. *Sci. Total Environ.* **2017**, *575*, 1041–1055. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.176>.
3. Torsvik, V.; Øvreås, L. Microbial Diversity and Function in Soil: From Genes to Ecosystems. *Curr. Opin. Microbiol.* **2002**, *5*, 240–245. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(02\)00324-7](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(02)00324-7).
4. Philippot, L.; Raaijmakers, J.M.; Lemanceau, P.; van der Putten, W.H. Going Back to the Roots: The Microbial Ecology of the Rhizosphere. *Nat. Rev. Microbiol.* **2013**, *11*, 789–799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>.
5. Fierer, N. Embracing the Unknown: Disentangling the Complexities of the Soil Microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.* **2017**, *15*, 579–590.
6. Cederlund, H.; Wessén, E.; Enwall, K.; Jones, C.M.; Juhanson, J.; Pell, M.; Philippot, L.; Hallin, S. Soil Carbon Quality and Nitrogen Fertilization Structure Bacterial Communities with Predictable Responses of Major Bacterial Phyla. *Appl. Soil Ecol.* **2014**, *84*, 62–68. <https://doi.org/10.1016/J.APSOIL.2014.06.003>.
7. Sul, W.J.; Asuming-Brempong, S.; Wang, Q.; Turlousse, D.M.; Penton, C.R.; Deng, Y.; Rodrigues, J.L.M.; Adiku, S.G.K.; Jones, J.W.; Zhou, J.; et al. Tropical Agricultural Land Management Influences on Soil Microbial Communities through Its Effect on Soil Organic Carbon. *Soil Biol. Biochem.* **2013**, *65*, 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.05.007>.
8. Oliverio, A.M.; Bradford, M.A.; Fierer, N. Identifying the Microbial Taxa That Consistently Respond to Soil Warming across Time and Space. *Glob. Change Biol.* **2017**, *23*, 2117–2129. <https://doi.org/10.1111/gcb.13557>.
9. Pett-Ridge, J.; Firestone, M.K. Redox Fluctuation Structures Microbial Communities in a Wet Tropical Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* **2005**, *71*, 6998–7007. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.6998-7007.2005>.
10. Erktan, A.; Or, D.; Scheu, S. The Physical Structure of Soil: Determinant and Consequence of Trophic Interactions. *Soil Biol. Biochem.* **2020**, *148*, 107876. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107876>.
11. Parkin, T.B. Soil Microsites as a Source of Denitrification Variability. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1987**, *51*, 1194–1199. <https://doi.org/10.2136/sssaj1987.03615995005100050019x>.
12. Petersen, S.O.; Nielsen, T.H.; Frostegård, Å.; Olesen, T. O₂ Uptake, C Metabolism and Denitrification Associated with Manure Hot-Spots. *Soil Biol. Biochem.* **1996**, *28*, 341–349. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(95\)00150-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(95)00150-6).
13. Lynch, J.M.; Whipps, J.M. Substrate Flow in the Rhizosphere. *Plant Soil* **1990**, *129*, 1–10. <https://doi.org/10.1007/BF00011685>.
14. Aguilera, P.; Cornejo, P.; Borie, F.; Barea, J.M.; von Baer, E.; Oehl, F. Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Associated with *Triticum aestivum* L. Plants

- Growing in an Andosol with High Aluminum Level. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2014**, *186*, 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.01.029>.
15. Benedetti, S.; Balocchi, F.; Hormazábal, M. Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) Asociados a Poblaciones Naturales de Peumus Boldus En Chile Central Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) Linked to Peumus Boldus Natural Formation in Central. *Gayana Bot.* **2018**, *75*, 431–437.
 16. Castillo, C.G.; Borie, F.; Oehl, F.; Sieverding, E. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Biodiversity: Prospecting in Southern-Central Zone of Chile. A Review. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **2016**, *16*, 400–422. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162016005000036>.
 17. Bull, A.T.; Asenjo, J.A. Microbiology of Hyper-Arid Environments: Recent Insights from the Atacama Desert, Chile. *Antonie Van Leeuwenhoek Int. J. Gen. Mol. Microbiol.* **2013**, *103*, 1173–1179.
 18. Okoro, C.K.; Brown, R.; Jones, A.L.; Andrews, B.A.; Asenjo, J.A.; Goodfellow, M.; Bull, A.T. Diversity of Culturable Actinomycetes in Hyper-Arid Soils of the Atacama Desert, Chile. *Antonie Van Leeuwenhoek Int. J. Gen. Mol. Microbiol.* **2009**, *95*, 121–133. <https://doi.org/10.1007/s10482-008-9295-2>.
 19. Schulze-Makuch, D.; Wagner, D.; Kounaves, S.P.; Mangelsdorf, K.; Devine, K.G.; de Vera, J.-P.; Schmitt-Kopplin, P.; Grossart, H.-P.; Parro, V.; Kaupenjohann, M.; et al. Transitory Microbial Habitat in the Hyperarid Atacama Desert. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2018**, *115*, 2670–2675. <https://doi.org/10.1073/pnas.1714341115>.
 20. Zhang, Q.; Acuña, J.J.; Inostroza, N.G.; Mora, M.L.; Radic, S.; Sadowsky, M.J.; Jorquera, M.A. Endophytic Bacterial Communities Associated with Roots and Leaves of Plants Growing in Chilean Extreme Environments. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 4950. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41160-x>.
 21. Oeser, R.A.; Stroncik, N.; Moskwa, L.M.; Bernhard, N.; Schaller, M.; Canessa, R.; van den Brink, L.; Köster, M.; Brucker, E.; Stock, S.; et al. Chemistry and Microbiology of the Critical Zone along a Steep Climate and Vegetation Gradient in the Chilean Coastal Cordillera. *Catena* **2018**, *170*, 183–203. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.06.002>.
 22. Bernhard, N.; Moskwa, L.M.; Schmidt, K.; Oeser, R.A.; Aburto, F.; Bader, M.Y.; Baumann, K.; von Blanckenburg, F.; Boy, J.; van den Brink, L.; et al. Pedogenic and Microbial Interrelations to Regional Climate and Local Topography: New Insights from a Climate Gradient (Arid to Humid) along the Coastal Cordillera of Chile. *Catena* **2018**, *170*, 335–355. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.06.018>.
 23. Rodríguez, V.; Moskwa, L.M.; Oses, R.; Kühn, P.; Riveras-Muñoz, N.; Seguel, O.; Scholten, T.; Wagner, D. Impact of Climate and Slope Aspects on the Composition of Soil Bacterial Communities Involved in Pedogenetic Processes along the Chilean Coastal Cordillera. *Microorganisms* **2022**, *10*, 847. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050847>.
 24. Vanderplank, S.E.; Moreira-Muñoz, A.A.; Hobohm, C.; Pils, G.; Noroozi, J.; Clark, V.R. *Endemism in Vascular Plants*; Hobohm, C., Ed.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2014; Volume 9; ISBN 978-94-007-6912-0.

25. Mittermeier, R.A.; Turner, W.R.; Larsen, F.W.; Brooks, T.M.; Gascon, C. Global biodiversity conservation: The critical role of hotspots. In *Biodiversity Hotspots*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2011; pp. 3–22.
26. Manríquez, H.; Mansilla, P.; Figueroa-Sterquel, R.; Moreira-Muñoz, A. Geodiversity Meets Biodiversity: A Landscape Approach for Biogeocultural Conservation and Governance in Mediterranean Central Chile. *J. Prot. Mt. Areas Res.* **2019**, *11*, 43–48. <https://doi.org/10.1553/eco.mont-11-1s43>.
27. Leguia-Cruz, M.; Tejer-Nos, C.; Cubillos, N.O.; Mansilla-Quiñones, P.; Moreira-Muñoz, A. Biocultural Resistance and Re-Existence through a Dialogue of Knowledges and Citizen Art in a Threatened Biosphere Reserve. *J. Prot. Mt. Areas Res.* **2021**, *13*, 102–107. <https://doi.org/10.1553/eco.mont-13-sis102>.
28. Moreira-Muñoz, A.; del Río, C.; Leguia-Cruz, M.; Mansilla-Quiñones, P. Spatial Dynamics in the Urban-Rural-Natural Interface within a Social-Ecological Hotspot. *Appl. Geogr.* **2023**, *159*, 103060. <https://doi.org/10.1016/j.apgeog.2023.103060>.
29. Mittermeier, R.; Myers, N.; Gill, P.; Mittermeier, C. Hotspots: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions. *J. Mammal.* **2002**, *83*, 630–633. [https://doi.org/10.1644/1545-1542\(2002\)083<0630:>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1644/1545-1542(2002)083<0630:>2.0.CO;2).
30. Elórtogui, S.; Moreira-Muñoz, A. (Eds.) *El Paisaje: Formas, Texturas y Colores. Parque Nacional La Campana: Origen de Una Reserva de La Biósfera En Chile Central*, 2nd ed.; Taller la Era: Viña del Mar, Chile, 2009.
31. Casale, J.-F.; Borsdorf, A.; Moreira-Muñoz, Á. Reservas de la biosfera como laboratorios para la sustentabilidad: Paisajes de conservación y ordenamiento territorial. In *Reservas de la Biosfera de Chile: Laboratorios Para la Sustentabilidad*; Serie Geolibros; Academia de Ciencias Austriaca-Pontificia Universidad Católica de Chile-Instituto de Geografía: Santiago, Chile, 2014; Volume 17, pp. 272–293.
32. Myers, N.; Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Da Fonseca, G.A.B.; Kent, J. Biodiversity Hotspots for Conservation Priorities. *Nature* **2000**, *403*, 853–858.
33. Quintanilla, V.G.; Cadiñanos, J.A.; Latasa, I.; Lozano, P.J. Aproximación Biogeográfica a Los Bosques de La Zona Mediterránea de Chile: Caracterización e Inventario. *Boletín Asoc. Geógrafos Españoles* **2012**, December 2012. DOI:[10.21138/bage.1500](https://doi.org/10.21138/bage.1500)
34. Quintanilla, V. Situación Postincendio En Ecosistemas de Un Macizo Montañoso de Gran Valor Geobotánico, En La Cordillera Meditarránea de Chile. *Cad. Geografia. Coimbra FLUC* **2009**, *28*, 149–150.
35. Gajardo, R. *La Vegetación Natural de Chile: Clasificación y Distribución Geográfica*; Universitaria; Santiago, Chile, 1995.
36. Villaseñor, R. *Guía Para El Reconocimiento de Las Especies Arbóreas y Arbustivas Del Parque Nacional La Campana*; CONAF V Región: Valparaíso, Chile, 1998.
37. Hauck, L.; Moreira-Muñoz, A.; Nezádal, W. La Flora Exótica Ruderal Del Parque Nacional La Campana, Región de Valparaíso, Chile Central. *Gayana Bot.* **2016**, *73*, 206–219. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432016000200206>.

38. Luebert, F.; Muñoz Schick, M.; Moreira-Muñoz, A. Vegetación y flora. In *Parque Nacional La Campana: Origen de una Reserva de la Biósfera en Chile Central*; Elórtogui, S., Moreira-Muñoz, A., Eds.; Taller La Era: Viña del Mar, Chile, 2009.
39. Luebert, F.; Plischoff, P. *Sinopsis Bioclimática y Vegetacional de Chile*; Editorial Universitaria: Santiago, Chile, 2006.
40. Dierschke, H. *Pflanzensoziologie: Grundlagen und Methoden*; E. Ulmer: 1994.
41. Knapp, R. *Sampling Methods and Taxon Analysis in Vegetation Science*; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 1984; Volume 4.
42. San Martín, C.; Ramírez, C.; San Martín, J.; Villaseñor, R. Flora Y Vegetación Del Estero Reñaca (V Region, Chile). *Gayana Bot.* **2001**, *58*, 31–46. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432001000100004>.
43. Fick, S.E.; Hijmans, R.J. WorldClim 2: New 1-km Spatial Resolution Climate Surfaces for Global Land Areas. *Int. J. Climatol.* **2017**, *37*, 4302–4315. <https://doi.org/10.1002/joc.5086>.
44. Boisier, J.P. CR2MET: A High-Resolution Precipitation and Temperature Dataset for the Period 1960–2021 in Continental Chile. (v2.5) [Data Set]; Zenodo: **Genève, Switzerland, 2023**.
45. Ball, D.F. Loss-on-Ignition as an Estimate of Organic Matter and Organic Carbon in Non-Calcareous Soils. *J. Soil Sci.* **1964**, *15*, 84–92. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1964.tb00247.x>.
46. Sadzawka, R.A.; Carrasco, R., M.A.; Grez, Z., R.; Mora, G., M. de la L.; Flores, P., H.; Neaman, A. PH. *Métodos*
47. *de Análisis Recomendados Para Los Suelos de Chile. Revisión 2006*; Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Santiago, Chile: 2006; Volume 34.
48. Caporaso, J.G.; Lauber, C.L.; Costello, E.K.; Berg-Lyons, D.; Gonzalez, A.; Stombaugh, J.; Knights, D.; Gajer, P.; Ravel, J.; Fierer, N.; et al. Moving Pictures of the Human Microbiome. *Genome Biol.* **2011**, *12*, R50. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-5-r50>.
49. Degnan, P.H.; Ochman, H. Illumina-Based Analysis of Microbial Community Diversity. *ISME J.* **2012**, *6*, 183–194. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.74>.
50. Callahan, B.J.; McMurdie, P.J.; Rosen, M.J.; Han, A.W.; Johnson, A.J.A.; Holmes, S.P. DADA2: High-Resolution Sample Inference from Illumina Amplicon Data. *Nat. Methods* **2016**, *13*, 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.
51. Eren, A.M.; Maignien, L.; Sul, W.J.; Murphy, L.G.; Grim, S.L.; Morrison, H.G.; Sogin, M.L. Oligotyping: Differentiating between Closely Related Microbial Taxa Using 16S rRNA Gene Data. *Methods Ecol. Evol.* **2013**, *4*, 1111–1119. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12114>.
52. DeSantis, T.Z.; Hugenholtz, P.; Larsen, N.; Rojas, M.; Brodie, E.L.; Keller, K.; Huber, T.; Dalevi, D.; Hu, P.; Andersen, G.L. Greengenes, a Chimera-Checked 16S rRNA Gene Database and Workbench Compatible with ARB. *Appl. Environ. Microbiol.* **2006**, *72*, 5069–5072. <https://doi.org/10.1128/AEM.03006-05>.
53. Abarenkov, K.; Nilsson, R.H.; Larsson, K.H.; Alexander, I.J.; Eberhardt, U.; Erland, S.; Høiland, K.; Kjølner, R.; Larsson, E.; Pennanen, T.; et al. The UNITE

- Database for Molecular Identification of Fungi—Recent Updates and Future Perspectives. *New Phytol.* **2010**, *186*, 281–285.
54. Abarenkov, K.; Zirk, A.; Piirmann, T.; Pöhönen, R.; Ivanov, F.; Nilsson, R.H.; Kõljalg, U. *UNITE QIIME Release for Fungi 2*, Version 10.05.2021; UNITE Community: Greenville, SC, USA, 2021.
 55. McMurdie, P.J.; Holmes, S. Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>.
 56. Xu, S.; Zhan, L.; Tang, W.; Wang, Q.; Dai, Z.; Zhou, L.; Feng, T.; Chen, M.; Wu, T.; Hu, E.; et al. MicrobiotaProcess: A Comprehensive R Package for Deep Mining Microbiome. *Innovation* **2023**, *4*, 100388. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2023.100388>.
 57. Andersen, K.S.; Kirkegaard, R.H.; Karst, S.M.; Albertsen, M. Ampvis2: An R Package to Analyse and Visualise 16S rRNA Amplicon Data. *bioRxiv* **2018**, 299537. <https://doi.org/10.1101/299537>.
 58. Love, M.I.; Huber, W.; Anders, S. Moderated Estimation of Fold Change and Dispersion for RNA-Seq Data with DESeq2. *Genome Biol.* **2014**, *15*, 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>.
 59. Liu, C.; Cui, Y.; Li, X.; Yao, M. Microeco: An R Package for Data Mining in Microbial Community Ecology. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2021**, *97*, fiae255. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiae255>.
 60. Louca, S.; Parfrey, L.W.; Doebeli, M. Decoupling Function and Taxonomy in the Global Ocean Microbiome. *Science* **2016**, *353*, 1272–1277. <https://doi.org/10.1126/science.aaf4507>.
 61. Nguyen, N.H.; Song, Z.; Bates, S.T.; Branco, S.; Tedersoo, L.; Menke, J.; Schilling, J.S.; Kennedy, P.G. FUNGuild: An Open Annotation Tool for Parsing Fungal Community Datasets by Ecological Guild. *Fungal Ecol.* **2016**, *20*, 241–248. <https://doi.org/10.1016/J.FUNECO.2015.06.006>.
 62. Oksanen, J. *Design Decisions and Implementation Details in Vegan*; Vignette of the Package Vegan. R Package Version 2016; 2016; pp. 2–4.
 63. Egli, M.; Sartori, G.; Mirabella, A.; Favilli, F.; Giaccai, D.; Delbos, E. Effect of North and South Exposure on Organic Matter in High Alpine Soils. *Geoderma* **2009**, *149*, 124–136. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2008.11.027>.
 64. Carletti, P.; Vendramin, E.; Pizzeghello, D.; Concheri, G.; Zanella, A.; Nardi, S.; Squartini, A. Soil Humic Compounds and Microbial Communities in Six Spruce Forests as Function of Parent Material, Slope Aspect and Stand Age. *Plant Soil* **2009**, *315*, 47–65. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9732-z>.
 65. Barbosa, W.R.; Romero, R.E.; Júnior, V.S.d.S.; Cooper, M.; Sartor, L.R.; Partiti, C.S.d.M.; Jorge, F.d.O.; Cohen, R.; de Jesus, S.L.; Ferreira, T.O. Effects of Slope Orientation on Pedogenesis of Altimontane Soils from the Brazilian Semi-Arid Region (Baturité Massif, Ceará). *Environ. Earth Sci.* **2015**, *73*, 3731–3743. <https://doi.org/10.1007/s12665-014-3660-4>.
 66. Egli, M.; Mirabella, A.; Sartori, G.; Zanelli, R.; Bischof, S. Effect of North and South Exposure on Weathering Rates and Clay Mineral Formation in Alpine Soils. *Catena* **2006**, *67*, 155–174. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2006.02.010>.

67. Zhang, B.; Liang, C.; He, H.; Zhang, X. Variations in Soil Microbial Communities and Residues Along an Altitude Gradient on the Northern Slope of Changbai Mountain, China. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e66184. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066184>.
68. Djukic, I.; Zehetner, F.; Tatzber, M.; Gerzabek, M.H. Soil Organic-matter Stocks and Characteristics along an Alpine Elevation Gradient. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **2010**, *173*, 30–38. <https://doi.org/10.1002/jpln.200900027>.
69. Samolov, E.; Baumann, K.; Büdel, B.; Jung, P.; Leinweber, P.; Mikhailyuk, T.; Karsten, U.; Glaser, K. Biodiversity of Algae and Cyanobacteria in Biological Soil Crusts Collected along a Climatic Gradient in Chile Using an Integrative Approach. *Microorganisms* **2020**, *8*, 1–28, doi:10.3390/microorganisms8071047.
70. Rivas, Y.; Aponte, H.; Rivera-Salazar, D.; Matus, F.; Martínez, O.; Encina, C.; Retamal-Salgado, J. Microbial Community and Enzyme Activity of Forest Plantation, Natural Forests, and Agricultural Land in Chilean Coastal Cordillera Soils. *Forests* **2023**, *14*, 938. <https://doi.org/10.3390/f14050938>.
71. Almonacid-Muñoz, L.; Herrera, H.; Fuentes-Ramírez, A.; Vargas-Gaete, R.; Larama, G.; Jara, R.; Fernández-Urrutia, C.; da Silva Valadares, R.B. Tree Cover Species Modify the Diversity of Rhizosphere-Associated Microorganisms in Nothofagus Obliqua (Mirb.) Oerst Temperate Forests in South-Central Chile. *Forests* **2022**, *13*, 756. <https://doi.org/10.3390/f13050756>.
72. Villaseñor, R. Unidades Fisionómicas y Florísticas Del Parque Nacional La Campana. *Chloris Chil. Rev. Chil. Flora Veg.* **2021**, *24*, 128–134.
73. Siles, J.A.; Rachid, C.T.C.C.; Sampedro, I.; García-Romera, I.; Tiedje, J.M. Microbial Diversity of a Mediterranean Soil and Its Changes after Biotransformed Dry Olive Residue Amendment. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e103035. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103035>.
74. Frenk, S.; Hadar, Y.; Minz, D. Resilience of Soil Bacterial Community to Irrigation with Water of Different Qualities under Mediterranean Climate. *Environ. Microbiol.* **2014**, *16*, 559–569. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12183>.
75. Pii, Y.; Borruso, L.; Brusetti, L.; Crecchio, C.; Cesco, S.; Mimmo, T. The Interaction between Iron Nutrition, Plant Species and Soil Type Shapes the Rhizosphere Microbiome. *Plant Physiol. Biochem.* **2016**, *99*, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.12.002>.
76. Shen, C.; Ge, Y.; Yang, T.; Chu, H. Verrucomicrobial Elevational Distribution Was Strongly Influenced by Soil PH and Carbon/Nitrogen Ratio. *J. Soils Sediments* **2017**, *17*, 2449–2456. <https://doi.org/10.1007/s11368-017-1680-x>.
77. Brewer, T.E.; Handley, K.M.; Carini, P.; Gilbert, J.A.; Fierer, N. Genome Reduction in an Abundant and Ubiquitous Soil Bacterium ‘Candidatus Udaeobacter Copiosus’. *Nat. Microbiol.* **2016**, *2*, 16198. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.198>.
78. Khan, M.A.; Khan, S.T. Microbial Communities and Their Predictive Functional Profiles in the Arid Soil of Saudi Arabia. *Soil* **2020**, *6*, 513–521. <https://doi.org/10.5194/soil-6-513-2020>.

79. Buckley, D.H.; Huangyutitham, V.; Hsu, S.-F.; Nelson, T.A. Stable Isotope Probing with $^{15}\text{N}_2$ Reveals Novel Noncultivated Diazotrophs in Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* **2007**, *73*, 3196–3204. <https://doi.org/10.1128/AEM.02610-06>.
80. Catania, V.; Bueno, R.S.; Alduina, R.; Grilli, E.; La Mantia, T.; Castaldi, S.; Quatrini, P. Soil Microbial Biomass and Bacterial Diversity in Southern European Regions Vulnerable to Desertification. *Ecol. Indic.* **2022**, *145*, 109725. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109725>.
81. Vohník, M.; Mrnka, L.; Lukešová, T.; Bruzone, M.C.; Kohout, P.; Fehrer, J. The Cultivable Endophytic Community of Norway Spruce Ectomycorrhizas from Microhabitats Lacking Ericaceous Hosts Is Dominated by Ericoid Mycorrhizal Meliniomyces Variabilis. *Fungal Ecol.* **2013**, *6*, 281–292. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2013.03.006>.
82. Bickel, S.; Or, D. The Chosen Few—Variations in Common and Rare Soil Bacteria across Biomes. *ISME J.* **2021**, *15*, 3315–3325. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00981-3>.
83. Egidi, E.; Delgado-Baquerizo, M.; Plett, J.M.; Wang, J.; Eldridge, D.J.; Bardgett, R.D.; Maestre, F.T.; Singh, B.K. A Few Ascomycota Taxa Dominate Soil Fungal Communities Worldwide. *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 2369. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10373-z>.
84. Gleason, F.H.; Letcher, P.M.; Commandeur, Z.; Jeong, C.E.; McGee, P.A. The Growth Response of Some Chytridiomycota to Temperatures Commonly Observed in the Soil. *Mycol. Res.* **2005**, *109*, 717–722. <https://doi.org/10.1017/S0953756204002163>.
85. Hanrahan-Tan, D.G.; Lilje, O.; Henderson, L. Chytrids in Soil Environments: Unique Adaptations and Distributions. *Encyclopedia* **2023**, *3*, 642–664. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia3020046>.
86. Vega, F.E.; Meyling, N.V.; Luangsa-ard, J.J.; Blackwell, M. Fungal entomopathogens. In *Insect Pathology*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2012; pp. 171–220.
87. Rungjindamai, N.; Jones, E.B.G. Why Are There So Few Basidiomycota and Basal Fungi as Endophytes? A Review. *J. Fungi* **2024**, *10*, 67. <https://doi.org/10.3390/jof10010067>.
88. Egidi, E.; Wood, J.L.; Celestina, C.; May, T.W.; Mele, P.; Edwards, J.; Powell, J.; Bissett, A.; Franks, A.E. Delving into the Dark Ecology: A Continent-Wide Assessment of Patterns of Composition in Soil Fungal Communities from Australian Tussock Grasslands. *Fungal Ecol.* **2019**, *39*, 356–370. <https://doi.org/10.1016/J.FUNECO.2019.03.001>.
89. Tedersoo, L.; Tooming-Klunderud, A.; Anslan, S. PacBio Metabarcoding of Fungi and Other Eukaryotes: Errors, Biases and Perspectives. *New Phytol.* **2018**, *217*, 1370–1385. <https://doi.org/10.1111/nph.14776>.
90. Tedersoo, L.; Mikryukov, V.; Anslan, S.; Bahram, M.; Khalid, A.N.; Corrales, A.; Agan, A.; Vasco-Palacios, A.-M.; Saitta, A.; Antonelli, A.; et al. The Global Soil Mycobiome Consortium Dataset for Boosting Fungal Diversity Research. *Fungal Divers.* **2021**, *111*, 573–588. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00493-7>.

91. Pereira, A.P.A.; Durrer, A.; Gumiere, T.; Gonçalves, J.L.M.; Robin, A.; Bouillet, J.-P.; Wang, J.; Verma, J.P.; Singh, B.K.; Cardoso, E.J.B.N. Mixed Eucalyptus Plantations Induce Changes in Microbial Communities and Increase Biological Functions in the Soil and Litter Layers. *For. Ecol. Manag.* **2019**, *433*, 332–342. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.11.018>.
92. Zhang, H.; Shi, Y.; Dong, Y.; Lapen, D.R.; Liu, J.; Chen, W. Subsoiling and Conversion to Conservation Tillage Enriched Nitrogen Cycling Bacterial Communities in Sandy Soils under Long-Term Maize Monoculture. *Soil Tillage Res.* **2022**, *215*, 105197. <https://doi.org/10.1016/j.still.2021.105197>.
93. Bates, S.T.; Berg-Lyons, D.; Caporaso, J.G.; Walters, W.A.; Knight, R.; Fierer, N. Examining the Global Distribution of Dominant Archaeal Populations in Soil. *ISME J.* **2011**, *5*, 908–917. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.171>.
94. Nicolas, A.M.; Jaffe, A.L.; Nuccio, E.E.; Taga, M.E.; Firestone, M.K.; Banfield, J.F. Soil Candidate Phyla Radiation Bacteria Encode Components of Aerobic Metabolism and Co-Occur with Nanoarchaea in the Rare Biosphere of Rhizosphere Grassland Communities. *mSystems* **2021**, *6*, e0120520. <https://doi.org/10.1128/mSystems.01205-20>.
95. Ward, L.M.; Hemp, J.; Shih, P.M.; McGlynn, S.E.; Fischer, W.W. Evolution of Phototrophy in the Chloroflexi Phylum Driven by Horizontal Gene Transfer. *Front. Microbiol.* **2018**, *9*, 260. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00260>.
96. Sánchez-Baracaldo, P.; Cardona, T. On the Origin of Oxygenic Photosynthesis and Cyanobacteria. *New Phytol.* **2020**, *225*, 1440–1446. <https://doi.org/10.1111/nph.16249>.
97. Genitsaris, S.; Stefanidou, N.; Leontidou, K.; Matsi, T.; Karamanoli, K.; Mellidou, I. Bacterial Communities in the Rhizosphere and Phyllosphere of Halophytes and Drought-Tolerant Plants in Mediterranean Ecosystems. *Microorganisms* **2020**, *8*, 1708. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111708>.
98. Velázquez-Becerra, C.; Macías-Rodríguez, L.I.; López-Bucio, J.; Altamirano-Hernández, J.; Flores-Cortez, I.; Valencia-Cantero, E. A Volatile Organic Compound Analysis from *Arthrobacter Agilis* Identifies Dimethylhexadecylamine, an Amino-Containing Lipid Modulating Bacterial Growth and *Medicago Sativa* Morphogenesis in Vitro. *Plant Soil* **2011**, *339*, 329–340. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0583-z>.
99. Requena, N.; Jimenez, I.; Toro, M.; Barea, J.M. Interactions between Plant-growth-promoting Rhizobacteria (PGPR), Arbuscular Mycorrhizal Fungi and *Rhizobium* spp. in the Rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a Model Legume for Revegetation in Mediterranean Semi-arid Ecosystems. *New Phytol.* **1997**, *136*, 667–677. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00786.x>.
100. Asplund, J.; Kauserud, H.; Bokhorst, S.; Lie, M.H.; Ohlson, M.; Nybakken, L. Fungal Communities Influence Decomposition Rates of Plant Litter from Two Dominant Tree Species. *Fungal Ecol.* **2018**, *32*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2017.11.003>.
101. Asplund, J.; Kauserud, H.; Ohlson, M.; Nybakken, L. Spruce and Beech as Local Determinants of Forest Fungal Community Structure in Litter, Humus and Mineral Soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2019**, *95*, fiy232. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy232>.

102. Challacombe, J.F.; Hesse, C.N.; Bramer, L.M.; McCue, L.A.; Lipton, M.; Purvine, S.; Nicora, C.; Gallegos-Graves, L.V.; Porras-Alfaro, A.; Kuske, C.R. Genomes and Secretomes of Ascomycota Fungi Reveal Diverse Functions in Plant Biomass Decomposition and Pathogenesis. *BMC Genom.* **2019**, *20*, 976. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6358-x>.
103. Santonja, M.; Foucault, Q.; Rancon, A.; Gauquelin, T.; Fernandez, C.; Baldy, V.; Mirleau, P. Contrasting Responses of Bacterial and Fungal Communities to Plant Litter Diversity in a Mediterranean Oak Forest. *Soil Biol. Biochem.* **2018**, *125*, 27–36. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2018.06.020>.
104. Funk, A. *Foliar Fungi of Western Trees*; Canadian Forest Service Publications: A. Agriculture Canada, Ministry of State for Forestry, Pacific Forest Research Centre: Victoria, BC, USA, 1985.
105. Selbmann, L.; de Hoog, G.S.; Mazzaglia, A.; Friedmann, E.I.; Onofri, S. Fungi at the Edge of Life: Cryptoendolithic Black Fungi from Antarctic Desert. *Stud. Mycol.* **2005**, *51*, 1–32.
106. Hart, M.; Gorzelak, M.A.; McAmmond, B.M.; Van Hamme, J.D.; Stevens, J.; Abbott, L.; Whiteley, A.S.; Nevill, P. Fungal Communities Resist Recovery in Sand Mine Restoration. *Front. For. Glob. Chang.* **2019**, *2*, 78. <https://doi.org/10.3389/ffgc.2019.00078>.
107. Das, K.; Lee, S.-Y.; Jung, H.-Y. Cladophialophora Lanosa Sp. Nov., a New Species Isolated from Soil. *Mycobiology* **2019**, *47*, 173–179. <https://doi.org/10.1080/12298093.2019.1611242>.
108. Liu, X.-Z.; Wang, Q.-M.; Göker, M.; Groenewald, M.; Kachalkin, A.V.; Lumbsch, H.T.; Millanes, A.M.; Wedin, M.; Yurkov, A.M.; Boekhout, T.; et al. Towards an Integrated Phylogenetic Classification of the *Tremellomycetes*. *Stud. Mycol.* **2015**, *81*, 85–147. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.12.001>.
109. Tedersoo, L.; Pärtel, K.; Jairus, T.; Gates, G.; Pöldmaa, K.; Tamm, H. Ascomycetes Associated with Ectomycorrhizas: Molecular Diversity and Ecology with Particular Reference to the Helotiales. *Environ. Microbiol.* **2009**, *11*, 3166–3178. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02020.x>.
110. Pereira, D.S.; Phillips, A.J.L. Palm Fungi and Their Key Role in Biodiversity Surveys: A Review. *J. Fungi* **2023**, *9*, 1121. <https://doi.org/10.3390/jof9111121>.
111. Ozimek, E.; Hanaka, A. Mortierella Species as the Plant Growth-Promoting Fungi Present in the Agricultural Soils. *Agriculture* **2020**, *11*, 7. <https://doi.org/10.3390/agriculture11010007>.
112. Daghino, S.; Murat, C.; Sizzano, E.; Girlanda, M.; Perotto, S. Fungal Diversity Is Not Determined by Mineral and Chemical Differences in Serpentine Substrates. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e44233. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044233>.
113. van Schöll, L.; Kuyper, T.W.; Smits, M.M.; Landeweert, R.; Hoffland, E.; Breemen, N. van Rock-Eating Mycorrhizas: Their Role in Plant Nutrition and Biogeochemical Cycles. *Plant Soil* **2008**, *303*, 35–47. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9513-0>.



Article

Soil Microbial Communities Changes Along Depth and Contrasting Facing Slopes at the Parque Nacional La Campana, Chile

Carolina Quinteros-Urquieta ¹, Jean Pierre Francois ^{2,3} , Polette Aguilar-Muñoz ^{2,3,4} and Verónica Molina ^{2,3,4,*}

¹ Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile; carolina.quinteros@alumnos.upla.cl

² Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile; geofrancois@gmail.com (J.P.F.); polette.aguilar@upla.cl (P.A.-M.)

³ HUB Ambiental UPLA, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile

⁴ Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Concepción 3349001, Chile

* Correspondence: veronica.molina@upla.cl



Citation: Quinteros-Urquieta, C.; Francois, J.P.; Aguilar-Muñoz, P.; Molina, V. Soil Microbial Communities Changes Along Depth and Contrasting Facing Slopes at the Parque Nacional La Campana, Chile. *Microorganisms* **2024**, *12*, 2487. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12122487>

Academic Editors: Lucia Santorufo and Giorgia Santini

Received: 24 September 2024

Revised: 22 November 2024

Accepted: 25 November 2024

Published: 3 December 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: The Parque Nacional La Campana (PNI.C) was recently recognized for its high soil surface microbial richness. Here, we explored the microbial community structure in soil profiles from contrasting facing slopes where sclerophyllous forest (SF) and xerophytic shrubland (XS) develop. Soil physicochemical conditions (dry density, pH, and organic matter C and N isotopic soil signatures) were determined at three depths (5, 10, and 15 cm depths). Amplicon sequencing (16S rRNA and ITS1-5F) and specific quantification (qPCR bacteria, archaea and ammonia-oxidizing archaea, fungi) were used to profile the microbial community. Our results indicate that opposite slopes, with different vegetation types and soil conditions studied potentially explained the spatial variability of the microbial community composition, especially between sites than through soil depth. Discriminative taxa were observed to vary between sites, such as, *C. nitrososphaera* (ammonia-oxidizing archaea) and *Sphingomonas*, and bacteria associated with Actinobacteria and Bacteroidetes were predominant in SF and XS, respectively. Fungi affiliated with *Humicola* and *Preussia* were more abundant in SF, while *Cladosporium* and *Alternaria* were in XS. Higher ASV richness was observed in SF compared to XS, for both prokaryotes and fungi. Furthermore, SF showed a higher number of shared ASVs, while XS showed a decrease in unique ASVs in deeper soil layers. In XS, the genus DA101 (*Verrucomicrobia*) increases with soil depth, reaching higher levels in SF, while *Kaistobacter* shows the opposite trend. PNLC soils were a reservoir of redundant microbial functions related to biogeochemical cycles, including symbiotic and phytopathogenic fungi. In conclusion, as with the predominant vegetation, the structure and potential function of microbial life in soil profiles were associated with the contrasting the effect of facing slopes as toposequence effects.

Keywords: bacteria; archaea; fungi; abundance; ammonia-oxidizing archaea

1. Introduction

Soil microorganisms are essential for biogeochemical cycles due to the decomposition of organic matter and the regulation of greenhouse gases [1]. Changes in environmental conditions by natural and anthropogenic sources, such as land use and management practices can significantly alter the microbial community structure of the soil, rhizosphere, and plant [2]. Soil microbial communities are highly diverse, consisting of both eukaryotes (algae, fungi, and protozoa) and prokaryotes (bacteria and archaea) [3]. Fungi and bacteria are typically studied separately due to their different metabolic capabilities involved in degrading organic matter and other key ecosystem and ecological functions. For example,

Capítulo V.

Soil microbial communities changes along depth and contrasting facing slopes at the Parque Nacional La Campana, Chile

Carolina Quinteros-Urquieta ¹, Jean Pierre Francois ², Polette Aguilar-Muñoz ³ and Verónica Molina *

1 Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile;
carolina.quinteros@alumnos.upla.cl

2 Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile;
HUB AMBIENTAL UPLA, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile;
geofrancois@gmail.com

3 Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
HUB AMBIENTAL UPLA, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Chile;
polette.aguilar@upla.cl

* Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
HUB AMBIENTAL UPLA, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
Universidad de Playa Ancha, Plan de Fortalecimiento Universidades Estatales – Ministerio de Educación, Convenio UPA 1999.
Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Chile;
veronica.molina@upla.cl

5.1. Abstract

The Parque Nacional La Campana (PNLC) was recently recognized for its high soil surface microbial richness. Here, we explored the microbial community structure in soil profiles from contrasting facing slopes where sclerophyllous forest (SF) and xerophytic shrubland (XS) develop. Soil physicochemical conditions (dry density, pH and C and N isotopic soil signatures) were determined at three depths (5, 10 and 15 cm depths). Amplicon sequencing (16S rRNA and ITS1-5F) and the specific quantification (qPCR bacteria, archaea and ammonia oxidizing archaea, fungi) were used to profile the microbial community. Our results indicate that opposite slopes, with different vegetation types and soil conditions studied potentially explained the spatial variability of the microbial community composition, especially between sites than through soil depth. Discriminative taxa were observed to vary between sites, such as, *C. nitrososphaera* (ammonia-oxidizing archaea) and *Sphingomonas*, and bacteria associated with Actinobacteria and Bacteroidetes were predominant in SF and XS, respectively. Fungi affiliated with *Humicola* and *Preussia* were more abundant in SF, while *Cladosporium* and *Alternaria* were in XS. Higher ASV richness was observed in SF compared to XS, for both prokaryotes and fungi. Furthermore, SF showed a higher number of shared ASVs, while XS showed a decrease in unique ASVs in deeper soil layers. In XS, the genus DA101 (Verrucomicrobia) increases with soil depth, reaching higher levels in SF, while *Kaistobacter* shows the opposite trend. PNLC soils were a reservoir of redundant microbial functions related to biogeochemical cycles, including symbiotic and phytopathogenic fungi. In conclusion, as with the predominant vegetation, the structure and potential function of microbial life in soil profiles were associated with the contrasting effect of facing slopes as toposequence effects.

Keywords: Bacteria; Archaea; Fungi; Abundance; Ammonia-oxidizing archaea

5.2. Introduction

Soil microorganisms are essential for biogeochemical cycles due to the decomposition of organic matter and the regulation of greenhouse gases [1]. Changes in environmental conditions by natural and anthropogenic sources, such as, land use and management practices can significantly alter the microbial community structure of the soil, rhizosphere and plant [2]. Soil microbial communities are highly diverse, consisting of both eukaryotes (algae, fungi, and protozoa) and prokaryotes (bacteria and archaea) [3]. Fungi and bacteria are typically studied separately due to their different metabolic capabilities involved in degrading organic matter and other key ecosystem and ecological functions. For example, fungi have a favorable growth in low pH conditions [4,5] and have a greater capacity to degrade recalcitrant organic compounds compared with bacteria [6]. Besides pH, other environmental conditions, such as, texture, porosity and humidity, as well as vegetation cover influence soil microbial structure [6,7] and may have a differential effect on soil fungal and bacterial communities [8,9]. On the other hand, disturbances such as fires have the capacity to affect the composition and functions of the soil microbiome, observing in general a decrease in biodiversity [10] and plant-microbiome interactions [11]. Physicochemical conditions in the soil are differentially distributed through depth influencing water retention and availability [12], and in turn, changing the composition and activity of microbial communities [13]. In fact, soil water content from rainy areas has been reported to promote a high bacterial abundance, but low bacterial diversity compared to soils of dry areas [14]. Organic matter distribution and its turnover by microbial community activities are also influenced by sediment depth in temperate zones [15]. Previous studies reported that soils at temperate forests are characterized by the presence of ectomycorrhizal fungal mycelia, which can represent up to one-third of the microbial biomass and produce 50% of the dissolved organic carbon [16]. On the other hand, in dry areas, low microbial abundance has been reported to decrease with depth [17]. Several examples of microbial trait changes through soil depth have been

reported, such as bacterial diversity that could reach higher values in the top 10 cm of the profile and typically decreased by 20% to 40% towards deeper horizons, and composition associated with a decrease in relative abundance of Bacteroidetes and Verrucomicrobia between 10 and 50 cm [18]. Microbial community composition in the nine pits was more variable in the surface horizons; however, at greater soil depths, communities were relatively similar regardless of landscape position [18].

The soil microbial community structure, including the abundance of bacteria and archaea were reported to change in response to environmental heterogeneous conditions across different spatial scales from arid to temperate climates of Chile [19,20]. In addition, these reports showed a decrease in the relative microbial abundance of bacteria and archaea with soil depth (0 cm to 40 cm) gradients, which was associated with total organic carbon (TOC) availability [19,20]. Furthermore, a recent report in the north, center and south of Chilean Cordillera de la Costa observed changes in the structure of microbial communities involved in pedogenesis along a bioclimatic gradient from north to south [21]. These changes were partly related to climate and environmental factors, such as soil pH, phosphorus availability to plants, organic matter, bulk density, and clay percentage, and were closely linked to the structure and composition of the surrounding vegetation. Moreover, microbial community richness was found to decrease with depth at all southern facing slope sites and in arid ecosystems in northern facing slopes.

The relief and Mediterranean climate of central Chile turns this in an ideal area to determine the influence of environmental gradients related to biotic (i.e. vegetation) and abiotic (i.e. facing slope orientation) as determinant factors of the landscape potentially shaping the soil microbial diversity [22]. In terms of vegetation, the PNLC shows that its slopes differ according to their slope orientation. The north-facing slopes receive more sunlight and are therefore warmer and drier, favoring the growth of xerophytic shrubland and the Chilean

palm. On the other hand, south-facing slopes receive less sunlight, so they maintain cooler and wetter conditions, allowing the development of sclerophyllous forest, and in more humid and elevated areas, vegetation such as deciduous forest [23].

We hypothesize that soil microbial communities and their traits such as abundance and functional potential will vary according to soil depth and sun exposure, reaching low diversity, abundance and restricted functionality at north-facing slopes of the park. Therefore, the objective of this study was to determine soil microbial community structure and specific abundance spatial variability associated to soil depth I (at 5, 10, and 15 cm) at contrasting slope aspect associated with sclerophyllous forest (south-facing slope) and xerophytic shrubland (north-facing slope).

5.3. Materials and Methods

5.3.1. Study area and sampling collection

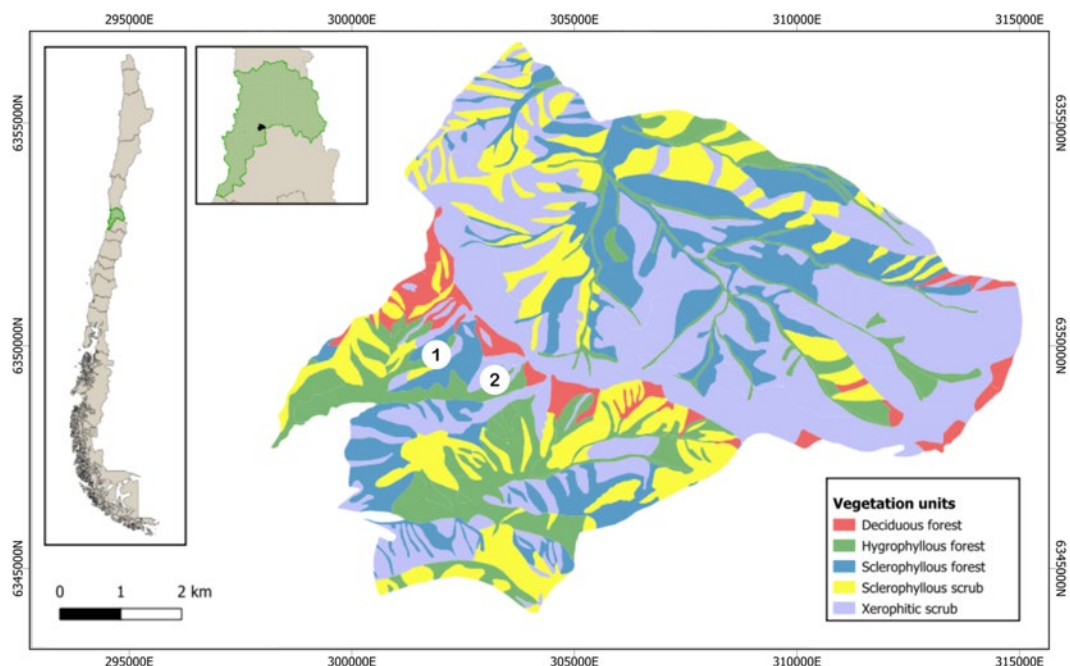


Figure V.1. Map that shows PNLC sampling locations (1 = Sclerophyllous Forest, 2 = Xerophytic shrubland) in three depths (5, 10, 15 cm).
Vegetation map, adapted from Hauck et al. 2016 (Hauck et al., 2016)

The study was conducted in the Parque Nacional La Campana (PNLC), an 8,000-hectare National Park (1967) and a Biosphere Reserve (1987) area located in the Valparaíso region (32°55'-33°01'S; 71°09'-71°01'W, Figure 1 and 2). This area also serves as a crucial reservoir of biodiversity within the Central Chile hotspot [24–26]. The landscape is characterized by a relief disrupted by multiple mountains and valleys that are part of the coastal mountain range, and the climate is Mediterranean, with contrasting seasons: hot and dry summers vs. cold and wet winters [27]. This unique combination of topographic and climatic conditions [23] fosters diverse vegetation including sclerophyllous communities at mid-elevation zones (400-1100 meters above sea level). Firstly, Sclerophyllous forests including Quillay and Litre forests dominated by *Quillaja saponaria* and *Lithraea caustica*, respectively, and secondly, Xerophytic shrublands, constituted by the Matorral de Tebo (*Retanilla trinervia*). These communities are found on both shady (south-facing) and sunny (north-facing) slopes. Valley floors support hygrophilous communities like the Peumo and Boldo Forest (*Cryptocaria alba* and *Peumus boldus*). Additionally, the park's northern region harbors palm forests (*Jubaea chilensis*) [28,29]. Higher elevations (1,100-2,000 m. a. s. l.) are characterized by a vegetation transition to subalpine communities characterized by Roble Forests and Neneo Shrubland (*Nothofagus macrocarpa* and *Mulinum spinosum*) [23,30]

5.3.2. Soil sampling

The soil sampling was conducted in January 2020 during the austral summer in the Cajón Grande area of the PNLC (Figure 2, Table S1). A total of 20 soil samples were randomly collected from 10x10m plots from 5 cm, 10 cm, and 15 cm depth at an elevation of approximately 400 m.a.s.l. Eight samples were taken from northern facing slopes, with two sites at only 5 cm depth (because rock was

encountered below 5 cm), and 12 from southern facing slopes, characterized by sclerophyllous forest and xerophytic shrubland, respectively.

Soil samples were collected using sterile 50 mL Falcon tubes, sterile 100 g zip-lock bags, and personal protective equipment, including gloves, to prevent contamination. A clean shovel was also used to collect the samples., and a ruler was employed to ascertain the depth. Then the samples were transported to the laboratory under dark and cold conditions using gel packs. At the laboratory the samples were divided into 3 fractions for the different analyses. The sample from the falcon tubes was analyzed for DNA, while the samples from the bags were analyzed for physical and chemical properties. To determine physicochemical soil conditions 200 grams were kept refrigerated at 4°C for pH and dry density. To determine C and N isotopic analysis, a sub-sample of 50 mg was stored frozen in cryotubes (-20°C). For molecular analyses, 250 mg was subsampled and preserved in cryotubes with RNAlater and stored frozen at -80°C.

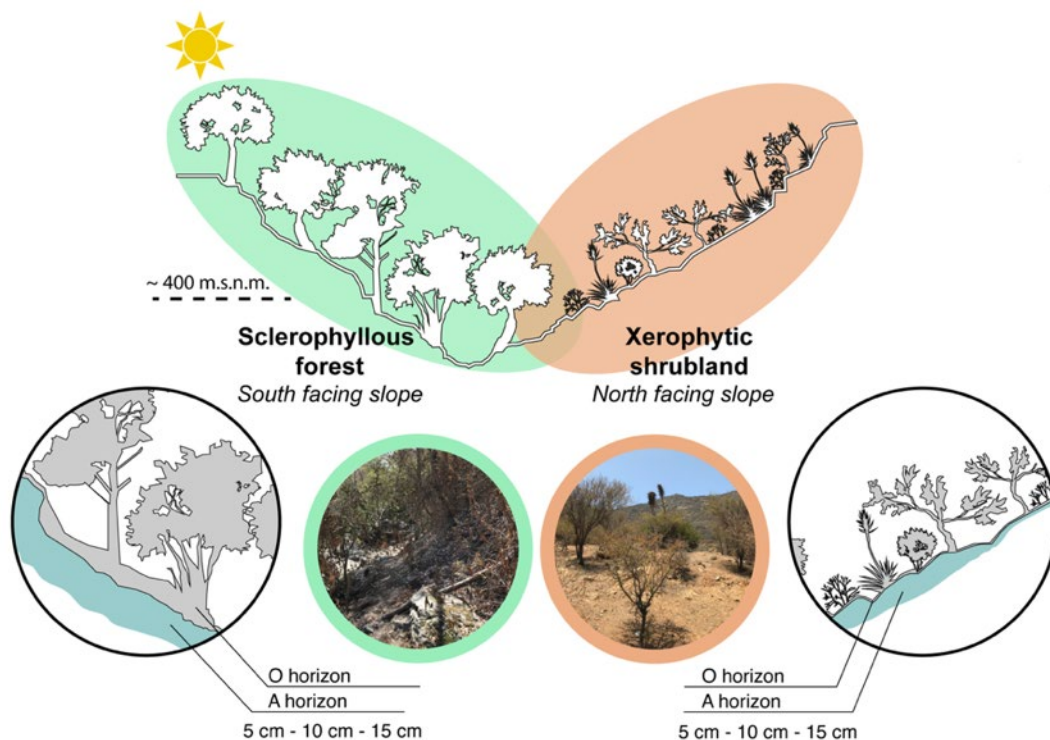


Figure V.2. Sampling sites and soil layers

5.3.3. Vegetation coverage and environmental conditions in PNLC

The plant species composition and cover were assessed at the sampling sites by evaluating 10x10m plots. The phytosociological methodology [31] was used to conduct a census in each selected area. A list of the species present in each plot was recorded, and their abundance was estimated in terms of the coverage of individuals of each species, expressed as a percentage. The symbol '+' denotes multiple individuals of the same species, while the letter 'r' indicates a single individual when abundance was less than 1% [32,33].

The environmental conditions of the sampling sites were obtained from the WorldClim 2.1 database [34]. This included mean annual temperature, maximum temperature of the warmest month, minimum temperature of the coldest month, annual precipitation, precipitation of the wettest month, and precipitation of the driest month. A polygon was defined in the PNLC based on the georeferencing of the sampling points using ArcGis version 9.3 and Global Mapper (see Figure 1 and Table S2).

5.3.4. Soil physicochemical analysis

To determine the pH of the soil, 20 g of the dry sample was used in duplicate and resuspended in 50 mL of water. The mixture was stirred with a magnetic stirrer at a controlled temperature of 23 °C for 5 minutes and allowed to stand for 3 hours. The pH was measured using the Thermo Scientific Orion Star A215 X11399 Multiparameter Instrument and Thermo Scientific pH Electrode (Series VZ1-15288), following the Recommended Methods of Analysis for Chilean Soils [33]. The dry bulk density was estimated using the excavation method [35]. We choose this method, because the alternative ones (e.g. core sampling and clod) cannot be applied to the studied soils by its coarse characteristics with relatively high stone and gravel content [36]. The soil samples were obtained at different depths

(5, 10 and 15 cm) and its volume was measured in-situ. Later, the samples were weighed and dried at 105 °C for 24 h to remove the water, and the dry-bulk density estimated as the division by the dry weight (quotient) by the in-situ measured volume (dividend).

The composition of soil organic matter was analyzed using an Isotope Ratio Mass Spectrometer (IRMS) Thermo Delta Advantage coupled to a Flash EA2000 elemental analyzer at the Applied Biogeochemistry and Stable Isotope Laboratory of the Pontificia Universidad de Chile (LABASI), based on $\delta^{15}\text{N}$ vs. air and $\delta^{13}\text{C}$ vs. VPDB values.

5.3.5. DNA extraction and sequencing of phylogenetic markers of prokaryotes and fungi.

To analyze the soil microbial community structure, nucleic acids were extracted from 250 mg of soil using the MoBio PowerSoil® kit (MO BIO Laboratories, Inc., Carlsbad, CA, USA). The DNA was quantified using Qubit fluorometer (Thermo Fisher Scientific) and spectrophotometrically (Cytation) (BioTek Epoch 2 Microplate Spectrophotometer). For bacteria and archaea, primers 515F (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) and 806R (GGACTACHVGGGGTWTCTAAT) were used to sequence the V4 region of the 16S rRNA gene [37]. For fungi, the ITS1-5F region was sequenced with primers ITS5-1737F (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) and ITS2-2043R (GCTGCGTTCTTCATTCATCGATGC) [38]. Hiseq2500 Illumina sequencing platform (Novogene Biology Information Technology Co., Ltd., Beijing, China) was used for high-throughput sequencing. The resulting sequences were deposited in the ENA PRJEB56868 and PRJEB73862 database. In the ENA PRJEB56868 database the sequences associated with the project are A1 = XS1_5, A2 = XS2_5, A5 = XS3_5, A6 = XS4_5, A9 = SF1_5, A12 = SF2_5, A15 = SF3_5 and A18 = SF4_5.

The gene copy number by quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR) of the main domains studied, such as bacteria, archaea and fungi were determined. Moreover, the specific quantification of the functional gene of ammonia monooxygenase (amoA) as marker of ammonia oxidizing archaea (AOA) was also analyzed since was a discriminant taxa with a well-known function associated with nitrification in topsoil sequencing surveys at PNLC [22]. The qPCR mixture was carried out in a total volume of 20 μ l and contained 4.5 μ l H₂O, 10 μ l q-PCR master mix and 0.3 μ l ROX (Brilliant II qPCR Master Mix, Agilent Technologies, Santa Clara, CA) the volume of each primer is detailed in Table S3. The thermal program consisted of initial denaturation at 95 °C for 10 min, followed by 40 cycles of denaturation at 95 °C for 30 sec, hybridization for 1 min (at a specific temperature for each gene, as indicated in Table S3) and extension at 72 °C for 30 sec. Each qPCR run included blanks, calibration standards and samples in triplicate. Standard curves were prepared between 10² -10⁷ copies μ L⁻¹, efficiency values are reported in Table S3.

5.3.6. Analysis of microbial composition and statistical analyses

QIIME2 version 2021.4 [37] was used to import and align paired-end Illumina sequencing data from 'manifest Fastq' format. The sequences were subjected to quality filtering and chimera checking using the DADA2 denoise-paired plugin in QIIME2, resulting in prokaryotes with lengths ranging from 206 to 312 bp and fungi with lengths ranging from 218 to 424 bp. Details of these curation procedure are shown in Table S4.

Sequences were taxonomically classified into Amplicon Sequence Variant (ASV) using the 13_8 weighted Greengenes database with a 99% similarity level for the 515F/806R sequence region [39]. The UNITE QIIME release for Fungi database was used to classify fungi based on ITS regions, also with a 99% threshold [40].

The microbial community was analyzed using R v4.3.1 in RStudio v4.2.2 [41]. First, the libraries were rarefied using the `rarefy_even_depth` function and the alpha diversity was estimated using `estimate_richness` and `evenness` functions in 'phyloseq' [42] and 'microbiome' package [43]. Venn diagrams were drawn using the `get_vennlist` function of the 'MicrobiotaProcess' package [44] at the ASVs level. The changes in the microbial community at the phylum level were analyzed using the `amp_heatmap` and `amp_boxplot` functions of the 'ampvis2' package [45]. The prokaryote community structure at phyla level was analyzed using non-metric multidimensional scaling (NMDS) using `ordinate` function in the 'phyloseq' package and environmental factors were plotted using the `envfit` function of the 'vegan' package [46]. A differential ASV analysis was performed using the 'DESeq2' package [47] ($P_{adj} < 0.01$) to identify microorganisms that varied significantly across depth levels. Paired comparison was conducted within different soil depths (i.e., 5 vs 10 cm, 10 vs 15 cm and 5 vs 15 cm). The selected ASVs were filtered, and those whose combined total abundance (across all samples) represented more than 3% of the total ASVs were displayed in a heatmap, using the `heatmap.2` functions from the `gplots` package.

Differences in alpha diversity and qPCR between sites were assessed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey HSD. Normality and homoscedasticity tests were performed to ensure that the ANOVA assumptions were in place. using the 'stats' package's `aov` and `TukeyHSD` functions. PERMANOVA was used to compare microbial community spatial differences between sites and soil depths, using the `adonis2` function of the 'vegan' package. The potential functions associated with ASVs in the different samples were inferred using the `trans_func` function in the 'microeco' package [48] package, using the FAPROTAX [49] database prokaryotes and FUNGuild [50] for fungi. The results were visualized with the `plot_spe_func_perc` function from the same package.

5.4. Results

5.4.1. Environmental and soil physicochemical *conditions*

As expected, the study sites are characterized by contrasting environmental conditions, leading the development of different plant communities. In specific, south-facing slopes with sclerophyll forest (SF) growing, present higher plant cover (85%) than north-facing slopes (60%) where xerophytic scrub (XS) occurs. Also, the more continuous canopies in the SF provide enough shadow that allow to lower the soil temperature in comparison to areas where XS are present (Table 1). The slope gradient was steep in both study sites, with values of 25% for XS and 37% for SF.

Table V.3. Specific location, site characteristics, predominant plant community and other topographic features such as elevation and orientation.

Site	Species	Coverage	Site	Species	Coverage
SF	<i>Peumus boldus</i>	70%	XS	<i>Vachellia caven</i>	60%
SF	<i>Cryptocarya alba</i>	45%	XS	<i>Conyza bonariensis</i>	30%
SF	<i>Citronella mucronata</i>	35%	XS	<i>Retanilla trinervia</i>	30%
SF	<i>Quillaja saponaria</i>	30%	XS	<i>Lithraea caustica</i>	15%
SF	<i>Adiantum chilense</i>	15%	XS	<i>Puya chilensis</i>	15%
SF	<i>Adenopeltis serrata</i>	10%	XS	<i>Trichocereus chiloensis</i>	5%
SF	<i>Chusquea cumingii</i>	+	XS	<i>Senna stipulacea</i>	2%
			XS	<i>Asteraceae indet</i>	+

The soils in the study area resemble to the Lo Vásquez soil series (Ultic Haploxeralf), characterized to develop on igneous (granitic) materials, with a pH

slightly acid (between 6.0 and 6.6) and low organic carbon content (mean 1.5%) [51]. Specifically, pH average values of 5.8 and 6.1 and organic carbon of 1.3% and 5.3% were recorded for soils present in the XS and SF, respectively. The physicochemical conditions of the studied soils differed slightly between the areas where xerophytic shrubland and the sclerophyllous forest occurs (Figure S1). The soils from both sites presented a slightly higher C/N ratio and a lower dry density with depth increment. Surface soil from the SF was more acidic than xerophytic shrubland, and the pH recorded at 10-15 cm were similar (Table S5). The isotopic composition of soil organic matter, based on the $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values, also varies towards depth and between the two study sites (Figure S1d). SF soils presented a higher variability at 5 – 10 cm in the organic matter composition in both C and N fractionation compared with the XS soils but reaching a similar $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ at 15 cm depth.

5.4.2. Microbial community alpha and beta diversity spatial changes (site and depth)

A summary of the number of sequences obtained for the microorganisms present in the soil of PNLC after carrying out the sequencing and curation process is listed at Table S4). In general, it is observed that a higher number of sequences was obtained for fungi, with an average of 141,104 per sample, compared to the 92,778 for bacteria and archaea. Rarefaction curves analyses indicate an adequate recovery of the expected richness (see Supplementary table S2, Supplementary figures S2 for prokaryotes and S3 for fungi).

Alpha diversity analysis of prokaryotes indicates that the highest Shannon is observed in SF (Figure 3a), but only evenness was significantly different at topsoil (5 cm, Pielou index ANOVA $p < 0.05$). Richness and diversity increase with depth in SF, while evenness decreases with depth. The opposite was observed at XS soils, showing a significant increment of evenness with depth (5 cm vs 15 cm,

Pielou index, ANOVA $p = 0.034$). For fungi (Figure 3b), SF soils showed higher, but not statistically significant differences in alpha diversity indexes compared with XS (ANOVA, $p > 0.05$) at the three depths evaluated (5, 10 and 15 cm).

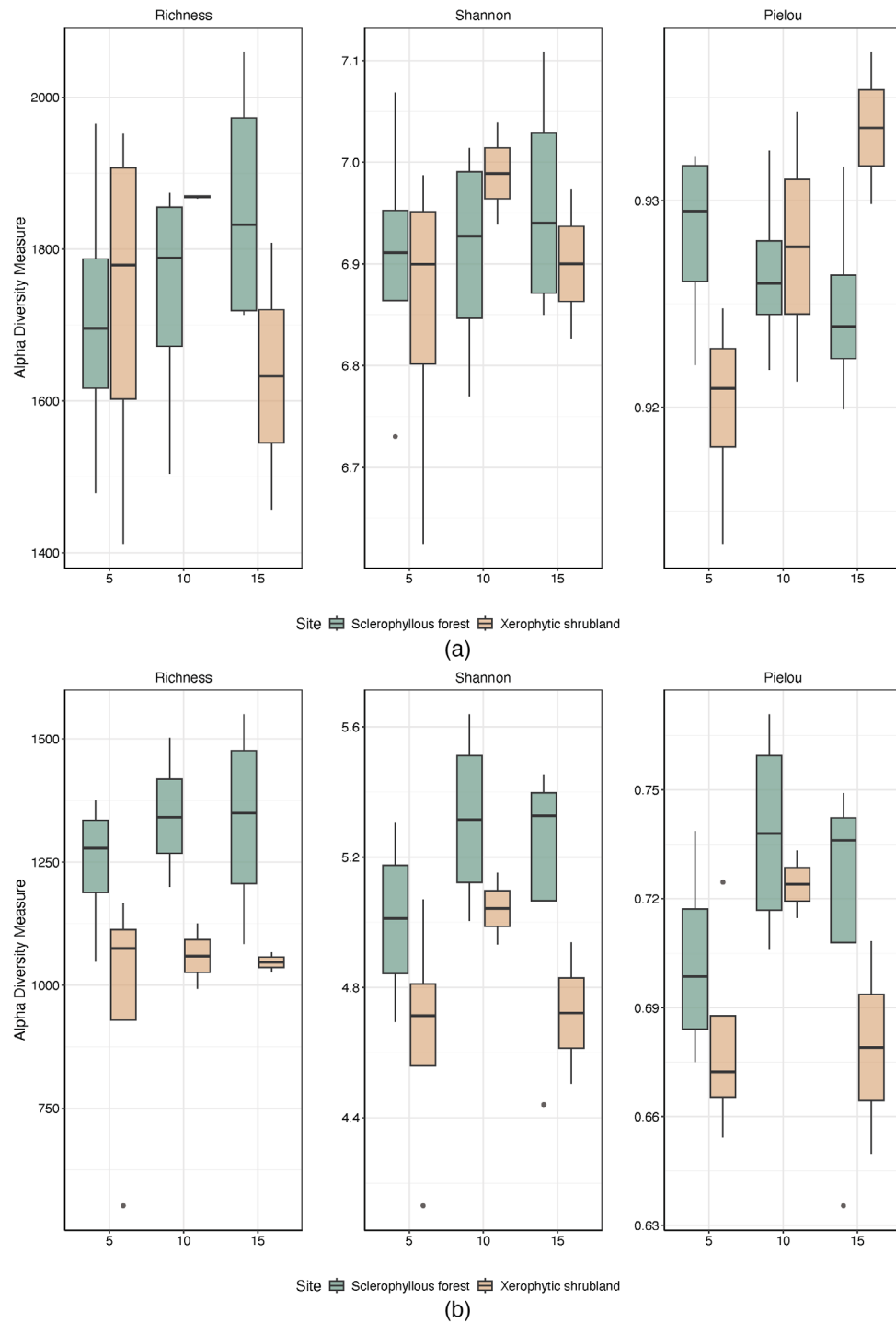
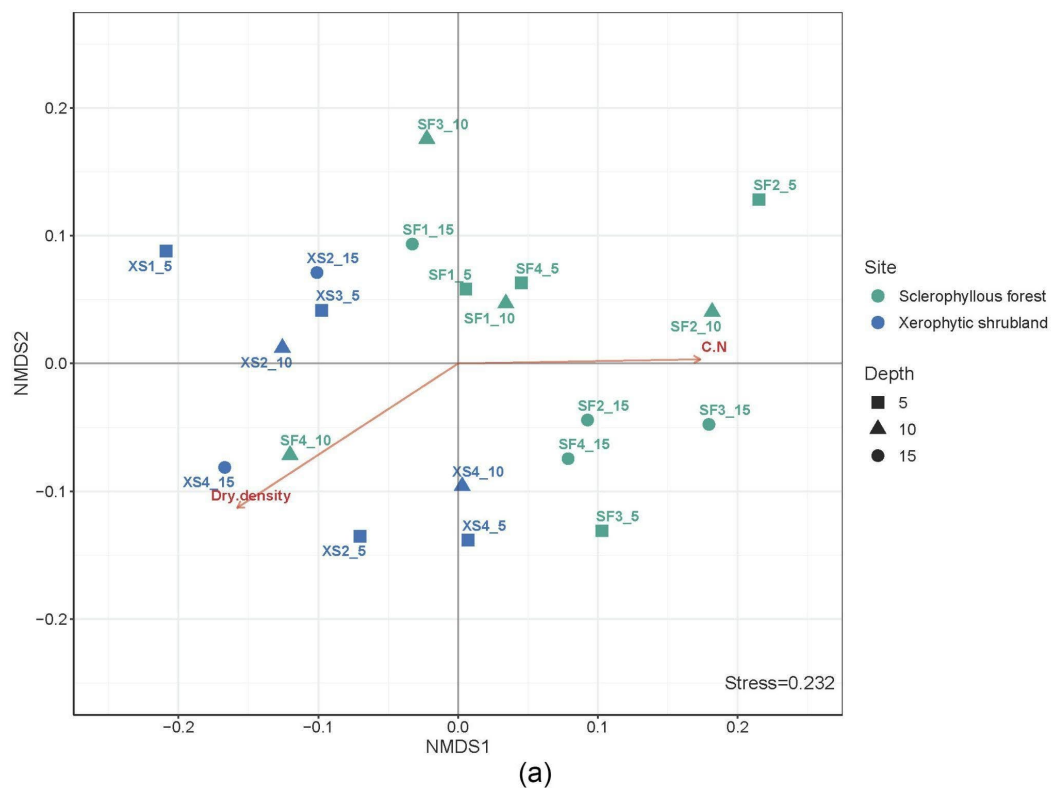


Figure V.3: Alpha diversity of soil microorganisms of the sclerophyllous forest and xerophytic shrubland northern and southern slope face of the PNLC at three depths (5-10-15 cm) for (a) prokaryotes and (b) fungi.

Microbial community soil profiles comparison between SF and XS were significantly different at ASV level considering prokaryotes and fungi (PERMANOVA $p = 0.0001$). In addition, the comparison of prokaryotes and fungi communities at the ASV level in SF and XS between the different soil layers showed no significant differences (PERMANOVA, $p > 0.05$). In fact, the beta diversity analysis at the phyla level for prokaryotes and fungi are shown by the NMDS (Figure 4 a and b). The result of this analysis indicates that the microbial community was more differentiated at the different sites – slopes than at the soil depth layers. Dry density and C:N was associated with the microbial community structure variability.



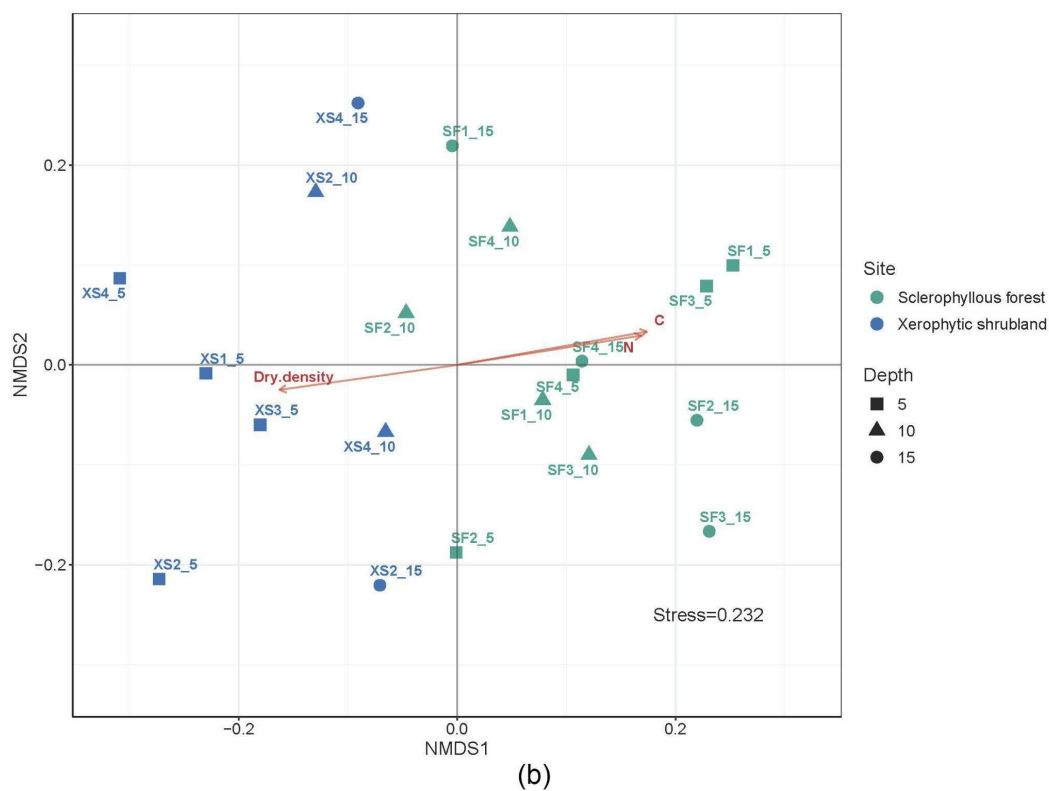
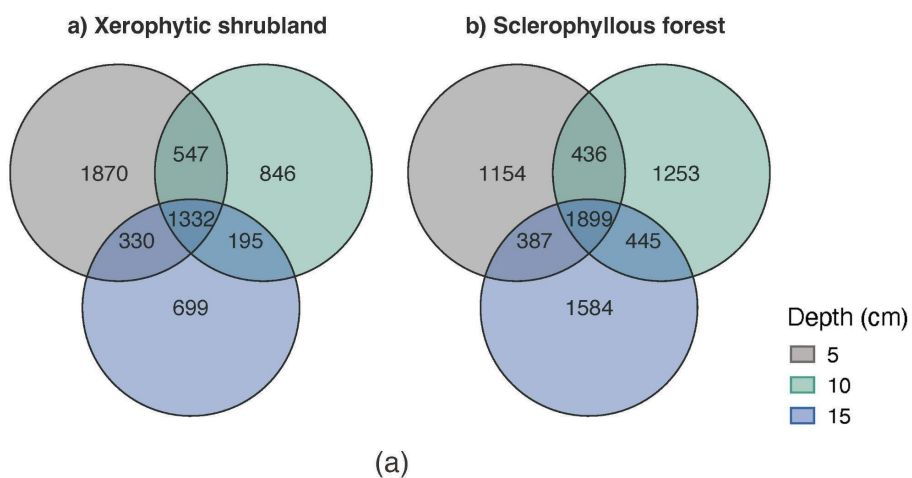
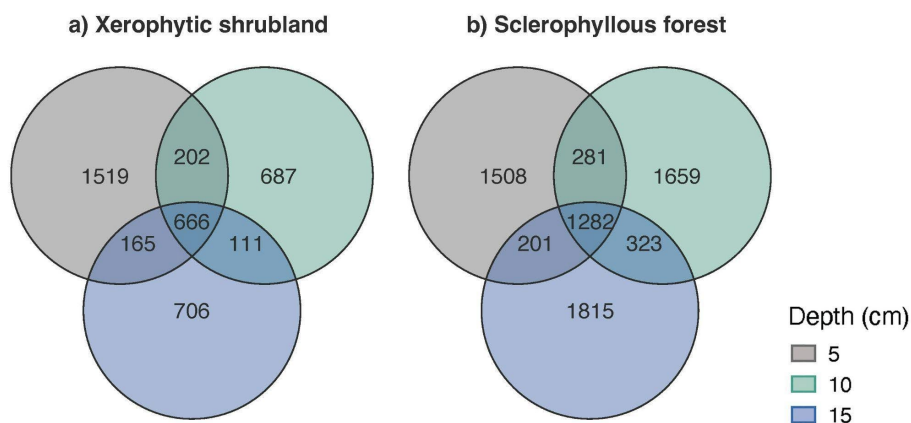


Figure V.4: Non-metric multidimensional scaling (NMDS) showing the microbial community structure variability of different soil layers determined at the sclerophyllous forest and xerophytic shrubland of (a) prokaryotes and (b) fungi.

5.4.4 Microbial community composition spatial changes (depth and sites)





(b)

Figure V.5. Venn diagram showing the shared and exclusive ASV associated with (a) prokaryotes and (b) fungi, grouped according to the soils depth layers determined at the sclerophyllous forest and xerophytic shrubland.

In general, a higher ASV richness was observed at the SF than XS, both for prokaryotes (7,158 v/s 5,819) and fungi (7,069 v/s 4,056). Venn diagram comparing the microbiome richness of prokaryotes (Figure 5) indicates that the SF soil depths shared a higher number of ASVs compared with the XS, representing 26.52% (1,899 ASVs) and 22.89% (1,332 ASVs) of the total ASVs (in the three depths), respectively. Compared to prokaryotes, fungi shared a lower number of ASVs in both, the XS (666 ASVs) and the SF (1,282 ASVs), accounting for 16.4% and 18.13% of the total, respectively (Figure 5b). Furthermore, the number of exclusive ASVs of prokaryotes demonstrated a decline in deeper soil depth layers at the XS, while the opposite trend was observed at SF for prokaryotes and fungi.

5.3.3. Microbial community composition spatial changes (depth and sites)

The prokaryote community in the SF soil (Figure S4a) was primarily composed of Proteobacteria, Actinobacteria, and Acidobacteria, which accounted for over 10% of the community, followed by smaller contributions from Verrucomicrobia, Gemmatimonadetes, and other phyla. Actinobacteria, Acidobacteria, and Crenarchaeota were more abundant in the deeper soil layers, while Proteobacteria and Gemmatimonadetes decreased with soil depth. In contrast,

the XS soil community (Figure S4b) was similarly dominated by Actinobacteria, Proteobacteria, and Acidobacteria, but with a higher proportion of Chloroflexi and Verrucomicrobia. Deeper layers of the XS soil showed an increase in Actinobacteria, Verrucomicrobia, and AD3, while Proteobacteria and Acidobacteria decreased. Regarding fungi (Figure S5a, S5b), Ascomycota was the most abundant phylum in the SF soil, followed by Basidiomycota and Mortierellomycota, which were enriched in deeper samples. Chytridiomycota and Glomeromycota were less abundant. In XS, the fungal community showed similar dominance of Ascomycota, Basidiomycota, and Mortierellomycota, though Mucoromycota was rare, and Olpidiomycomycota appeared as a rare taxon.

The heatmap in Figure 6 illustrates specific genera that varied within the different soil layers for prokaryotes. For example, in XS, the genus DA101 (Verrucomicrobia phylum) was characterized by its abundance increment with soil depth. An opposite tendency was observed for the genera Kaistobacter for SF (Figure 6). Microbial communities were predominant in one of the sites compared with the other, for example, *C. nitrososphaera* (ammonia oxidizing archaea) and *Sphingomonas* were potentially enriched in SF compared with XS, whereas other genera from Actinobacteria and Bacteroidetes phyla were predominantly enriched in XS soil.

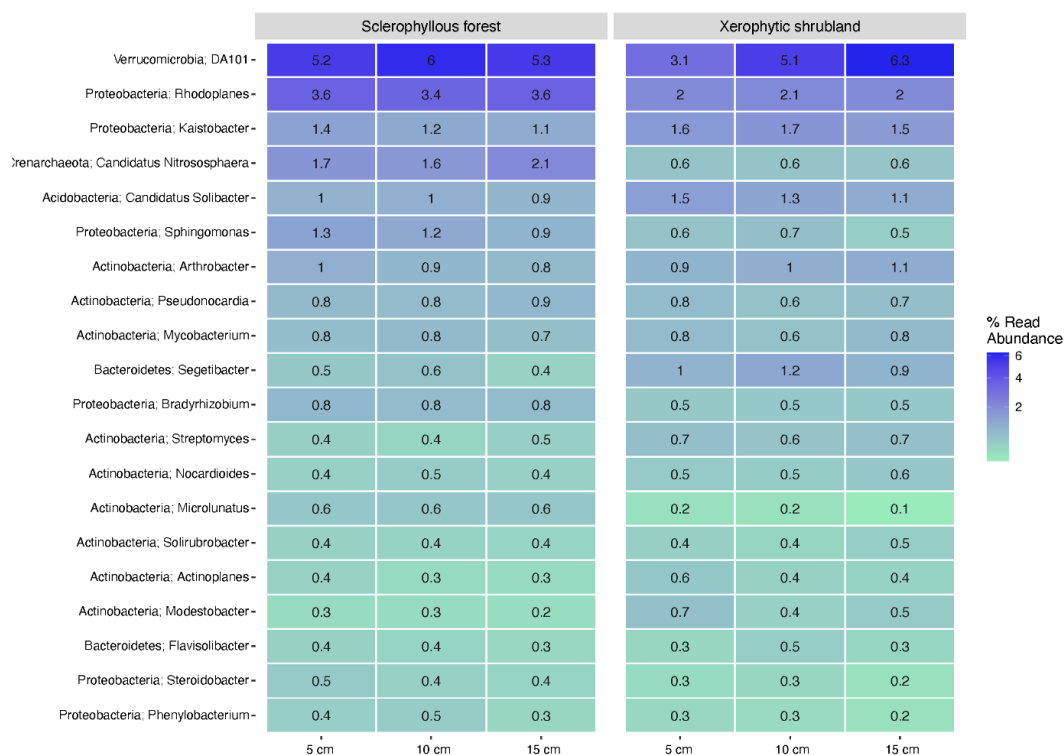


Figure V.6: Heatmap of the 20 most abundant prokaryotes genera distribution in three soil depths layers (5 cm, 10 cm, 15 cm) determined at the sclerophyllous forest and xerophytic shrubland.

The heatmap in Figure 7 illustrates the fungal community in the SF and XS soil. In SF, an unidentified genus of the Ascomycota, followed by *Mortierella* was predominantly present showing a decreasing and increasing contribution at deeper portions of the soil, respectively. A differential contribution towards the soil depth studied or a high contribution at the soil surface (5 cm) was observed for many genera, like *Humicola*, *Preussia* and *Zopfiella* at SF and of *Cladosporium*, *Alternaria*, *Rutstroemia*, *Nothophoma*, *Zopfiella*, *Stagonosporopsis* and *Ascobolus* at XS (Figure 7). The opposite trend, enrichment of specific genera was also determined for a few genera, like *Leucoagaricus* at both soils SF and XS, and *Arxotrichum* at XS (Figure 7).

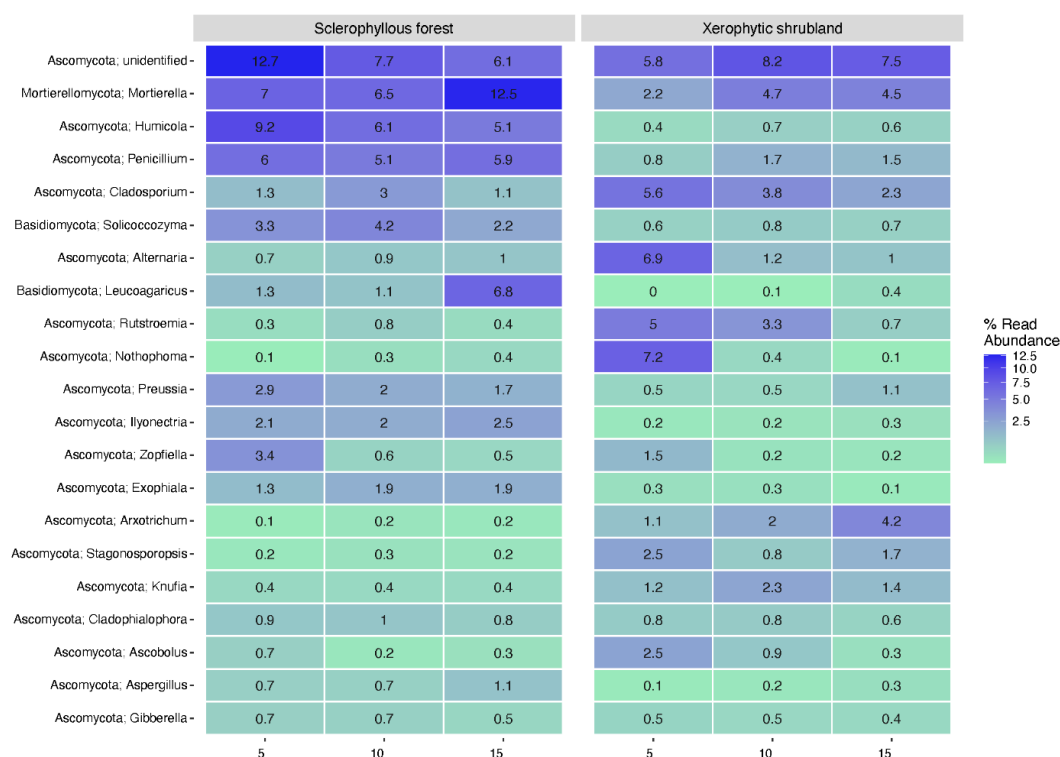


Figure V.7: Heatmap of the 20 most abundant fungi genera distribution in three soil depths layers (5 cm, 10 cm, 15 cm) determined at the sclerophyllous forest and xerophytic

Indicative analyzed taxa were carried out to identify specific discriminant ASV of the soil microbial community comparing northern and southern slopes profiles (Supplementary Figure S6 and S7, prokaryote and fungi, respectively). Prokaryotes exhibit a clustering of more than 50 ASV distributed in distinct groups separating XS and SF soil microbial communities. Most of the discriminant ASV were associated with abundant phyla, mainly affiliated with Actinobacteria (49%). Fungi presented a low number of differentially distributed ASV per contrasting slopes at XS compared with SF (Supplementary Figure S7) and sub clustering was mainly associated with soil deeper samples at SF and surface groups at XS.

5.3.4. Microbial community abundance and functional potential traits with depth

The abundance of specific microbial groups analyzed through qPCR indicates a high variability among the replicates of XS compared with SF, but a similar tendency towards soil depth layers. Bacteria and fungi copies of 16S rRNA genes and ITS, respectively per DNA ng, presented a tendency to decrease towards depth (Figure 8a and 8b). Archaea were present at similar levels at all depths, with a potentially higher abundance towards deeper layers at the SF compared with XS (Figure 8c). These values were comparable with functional gene quantification associated with archaea ammonia oxidizers (AOA) encoding for ammonia monooxygenase A subunit (Fig 8d). These tendencies were not statistically significant (ANOVA $p > 0.05$).

The prokaryote communities exhibit a similar potential functional profile at each site and depth determined through phylogenetic prediction (Figure S8 and S9). As expected for soil high organic matter content, energy was mainly associated with aerobic chemoheterotrophy, but also via anaerobic processes that predominate in SF compared with XS including nitrate reduction and fermentation. Nitrification and specific processes such as aerobic ammonia and nitrite oxidation were also predicted (Figure S8). Regarding the fungi saprotrophic fungi especially wood saprotrophs were predominant (Figure S9), followed by ecological guilds associated with symbionts such as endophytes, plant and animal pathogens.

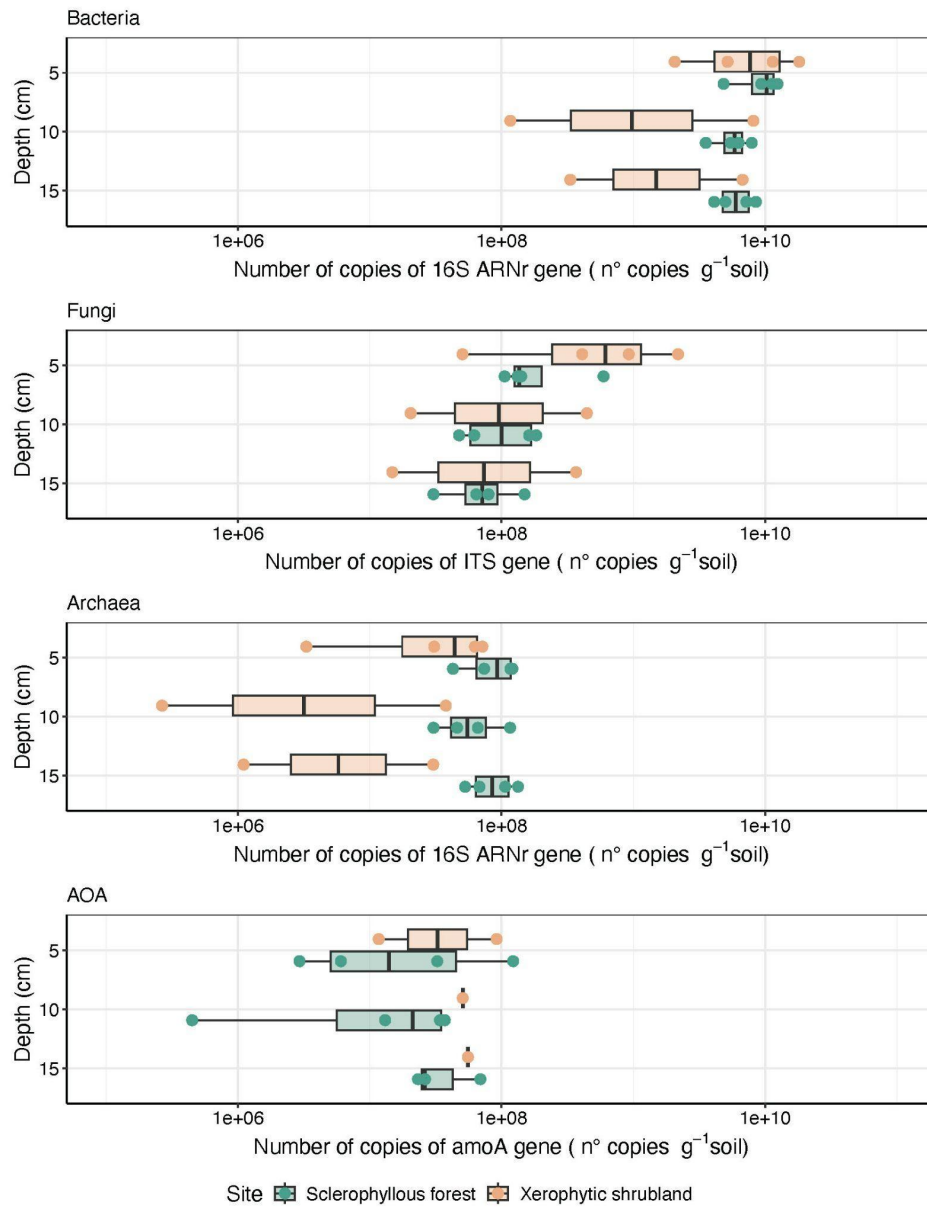


Figure V.8: Specific quantification via qPCR of a) bacteria, b) fungi, c) archaea, d) AOA in soil profiles (5 cm, 10 cm, 15 cm depth) determined at the sclerophyllous forest and xerophytic shrubland.

5.4. Discussion

5.4.1. Spatial changes of the microbial community composition

The PNLC landscapes were characterized by vegetation known to be adapted to sunlight and water availability, which vary depending on the orientation of the slopes. As previously reported, sclerophyllous forest (SF) and xerophytic shrubland (XS) plant communities were distributed on northern and southern slopes, respectively [23,30]. Besides vegetation, edaphic properties like, physicochemical conditions, such as temperature, water availability, nutrient dynamics, and microbial activity, have been reported to be influenced by the exposure to solar radiation [52–54].

Our study supports previous reports on the composition of soil microbial community at the PNLC, characterized by dominant bacterial phyla, such as Proteobacteria, Actinobacteria, and Acidobacteria, as well as the phylum Ascomycota for fungi [21,22]. However, changes in the spatial distribution of microbial community composition associated with dominant prokaryotes, like the prevalence of Actinobacteria over Proteobacteria was observed at XS compared to SF. These changes agreed with studies showing the predominance of Actinobacteria in less fertile soils [55]. A comparison of prokaryotic phyla determined here with other microbial community surveys using similar amplicon sequencing approaches in soil profiles from the PNLC, was included in Table S6. This comparison indicates that although similar core microbial communities were observed, shifts associated with a lower and higher contribution of Planctomycetes and Actinobacteria, respectively, were evidenced in our study compared with a previous [19,21]. In addition, our results agreed with increasing trends of Acidobacteria, Actinobacteria and Proteobacteria with sediment depth only at northern slopes, whereas contrasting results were observed for southern slopes.

In addition, also less abundant and rare taxa at phyla level was also preferentially observed at some sites, for example, Crenarchaeota at SF, possibly associated with higher humidity [56] and Chloroflexi at XS, a photosynthetic phyla that could be favored by greater sunlight [57]. In addition, Bacteroidetes and

Verrucomicrobia were also observed in both sites but showing slightly higher contribution at SF. These taxa have been reported to be common in the rhizosphere and associated with decomposing organic matter [58,59] and were correlated with soil physicochemical properties such as pH and carbon/nitrogen ratio [60]. Additionally, the phylum Gemmatimonadetes, which was more abundant at XS, has been reported in xeric soils with low water content [61].

Fungal community structure was comparable at SF and XS with the dominance of Ascomycota and Basidiomycota in the soils of PNLC. Ascomycota has been reported to include a plethora of essential functional contributions to the soil, including organic matter decomposition, humus formation, and nutrient recycling, besides ecological role associated with mutualistic and parasitic relationships [62,63]. Basidiomycota, on the other hand, can act as saprophytes in grass/forest litter, as wood and yeast decomposers, as ectomycorrhizal fungi, and as plant parasites [64]. Fungi like Glomeromycota, was slightly more abundant at XS compared with SF, these fungi correspond to a cosmopolitan arbuscular mycorrhizal fungus playing an important role in the ecology and physiology of terrestrial plants [65]. The phylum Chytridiomycota that was predominant in XS soils have been found in semiarid soils, potentially tolerant to extreme temperatures [66,67]. On the other hand, Mucoromycota, a saprophytic fungus that inhabits soil and manure [68], was enriched at SF compared to XS soils.

5.4.2. Soil conditions and vegetation as drivers of microbial community spatial changes traits in the soils of PNLC

The selected soil sites (SF and XS) presented slightly different conditions associated with the soil isotopic composition (C and N), pH and dry bulk density. Soils were less acidic compared to a previous study conducted at the PNLC (Table S7). In general, the northern slopes (XS) have a slightly higher pH compared to the southern slopes (SF) and higher nitrogen content based on C/N

ratios (Table S7), possibly attributed to the greater vegetation cover at SF than XS, which in turn enhance organic matter inputs. The microbial community structure was potentially associated with the changes in C and N in the soils of SF and XS, based on our ordination analysis (Figure 4). These results support previous reports focused on environmental conditions as drivers of microbial composition including soil temperature and organic inputs, such as higher carbon concentrations on shady slopes [56,69].

In general, previous research has shown that there is a decrease in microbial biomass and C/N, C/P, and N/P ratios were associated with reduced moisture as soil depth increases [18,70]. Previous reports have indicated that microbial enzymatic activity related to the phosphorus, carbon, and nitrogen cycles was more intense in the leaf litter than in the soil surface [71]. During our study, slight nitrogen enrichment was observed towards depth. Also, different traits of the microbial community were observed to vary with soil depth, for instance, the abundance of bacteria and archaea were characterized by a decrease (qPCR) in soil depth at the northern and southern slopes, a trend that was reported in a previous study (Table S8), potentially related to differences in soil characteristics, nutrient availability, and environmental conditions at the time of sampling. In addition, the specificity of the microbial community based on Venn Diagram analyses indicated a reduction of exclusive prokaryote ASVs towards deeper soil layers at XS, whereas the opposite trend was found at SF. These observations were supported by alpha diversity indexes at both sites, which showed slight changes towards depth, more clearly observed at SF for fungi, which were enriched in the upper soil layer. Moreover, the abundance of bacteria and fungi was higher on the surface. These results align with previous studies demonstrating changes in bacterial and fungal communities with soil depth [72,73]. High fungal abundance and diversity have been reported in organic matter-rich soils, with 60% of taxa concentrated in the top ten centimeters of the soil profile [78]. Most fungal activity is typically found within the upper 20 cm, where nutrient availability and root interactions are higher [79]. Interestingly, our

results also showed an increase in Fungi ASVs with depth in both SF and XS soils, suggesting that specific fungal groups may thrive in deeper soil layers, potentially benefiting from unique physicochemical conditions or organic matter inputs at these depths. This depth-dependent fungal distribution highlights the importance of both surface and subsurface layers in supporting diverse microbial communities, likely shaped by a combination of plant inputs and soil structure. However, other factors could influence the distribution of microbial community traits, such as moisture [74] and its combination with top-down control such as predation whose activity and mobility are reduced by soil dryness [75]. Moreover, the vegetation canopy, the amount and quality of leaf litter deposited at topsoil [76] and roots could be significant factors influencing soil microbial processes [77]. Additional studies should be carried out to identify the relevance of the above-mentioned drivers of microbial traits.

5.4.4. Funcional and ecological microbial community potential in PNLC

The observed patterns in the prediction of microbial metabolic potential and diversity in PNLC soils appear to be influenced by both soil depth and vegetation cover. This is supported by ecological traits like plant-microbe interaction, including symbionts and phytopathogens. For example, *Actinoallomurus*, *Conexibacteraceae* and *Gaiellaceae* (Actinobacteria) at XS, has been described mainly in tropical areas [74], which are composed by mesophilic bacteria [80] potentially strict aerobes and that have been proposed to be associated with plants [81]. In fact, at XS the abundant genera *Nothophoma* at topsoil encompasses a variety of plant pathogens [82]. Potentially metabolically diverse fungi were detected at SF at all depths but with a higher contribution at different depth layers, for example *Neonectria* and *Ilyonectria*, including several pathogens that are important to both plants and humans, as well as several species that are widely used as biodegraders and biocontrol agents in industrial and commercial applications [83]. The *Didymellaceae* family was also found as relevant at 10 cm depth characterized by the cosmopolitan order *Pleosporales*, hosting a wide

range of species with diverse functions, including plant pathogens, saprophytes, and endophytes [84]. In fact, Didymellaceae is one of the most diverse families in the fungal kingdom, with a wide range of species found in diverse ecosystems [83,84], consisting of up to 31 genera and more than 5,400 recorded species [85]. They cause various diseases on fruits, leaves, stems and roots of different hosts. In addition, some species act as endophytes or saprophytes, often forming associations with both host and non-host organisms [86–88]. The families Nectriaceae and Didymellaceae are closely related as plant pathogens [89]. Didymellaceae is a fungal family that includes phytopathogenic members that primarily affect leaves and stems; common genera in this family include *Didymella* [90]. These fungi are known to be causal agents of leaf spot diseases and can affect soil structure during litter decomposition [91].

In general, the soil of the PNLC included a rich and diverse microbial community found associated with different metabolic potential and redundancy at different depths. The prokaryotic communities predominantly utilize aerobic chemoheterotrophy for energy production, nitrate reduction related to the nitrogen cycle, and cellulolytic and fermentation related to the carbon cycle according to our phylogenetic metabolic prediction analyses (Figure S4). The detection of ammonia oxidizing archaea in our sequences associated with *C. nitrososphaera* and other Crenarchaea were corroborated by the functional prediction in deeper portions of the soil at XS and SF (Figure 8). Aerobic ammonia oxidation was mainly associated with archaea and was supported by the specific detection of AOA via *amoA* gene-qPCR approach, which was highly variable at surface but more consistent at deeper soils at both sites. These results were supported by previous studies showing an increased diversity and abundance of archaea at deep layers [92]. The community structure of AOA and their bacterial counterparts have been closely related to factors such as plant species, temperature, water content, C:N ratio, and total soil nitrogen [93,94]. Studies conducted in arid and semi-arid regions of Israel have shown that the community structures of ammonia oxidizers, including archaea and bacteria, were tolerant to the extreme climatic

conditions of desert ecosystems, especially AOA as predominant in drier periods and higher temperatures [95].

5.5. Conclusions

The heterogeneity of topographic conditions in the PNLC, associated with elevation and slope exposure, influenced the development of vegetation (i.e., XS and SF plant communities) and the physicochemical conditions in soils. Vegetation was found to be associated with soil physicochemical conditions and microbial community structure, predominantly for prokaryotes, which varied in association with dry density and C and N availability in the PNLC soil. Bacteria associated with Actinobacteria were found to be the predominant discriminating taxa when comparing XS and SF, while structural changes in the fungal community were more distinctive at deeper soil depths (10 and 15 cm). Soil profiles at the scale studied (5-15 cm) evidenced changes in microbial community traits; a higher number of ASVs exclusive to deeper soil layers for SF fungi were detected, and a lower number for XS. The surface soil layer (5 cm) of the PNLC was enriched with an abundant community of bacteria and fungi, but was less diverse compared to the deeper layers, which were characterized by more diverse communities in SF, including the presence of functional groups such as ammonia-oxidizing archaea.

However, not all the variability observed in the vegetation landscape should have been attributed solely to the type of vegetation cover; other subsoil characteristics, such as soil depth, also played an important role and could have been the underlying reason for the variation in vegetation types. This suggested that both physical and biological soil properties should have been considered to fully understand the factors influencing microbial community structure in these ecosystems.

Furthermore, other studies conducted at the PNLC showed variations at the phylum level, as well as pH and C/N values at both depth and site, which could have been associated with nutrient availability or vegetation cover. These observations highlighted the importance of considering both depth and site characteristics when assessing microbial communities in different environmental contexts. The soil of the PNLC showed high metabolic redundancy associated with organic matter and nutrient recycling, including aerobic and anaerobic metabolisms of bacteria and archaea. In addition, ecological traits linked to plant-microbe interactions, such as symbiotic and phytopathogenic interactions, were also detected. Future research should prioritize the investigation of the specific functions of discriminating taxa and the activity of various microorganisms in the soil of the PNLC, including their specific role in the biogeochemical cycles of key ecosystems and the ecological interaction of plants, as well as their possible adaptation to climate change.

5.6. Supplementary Materials

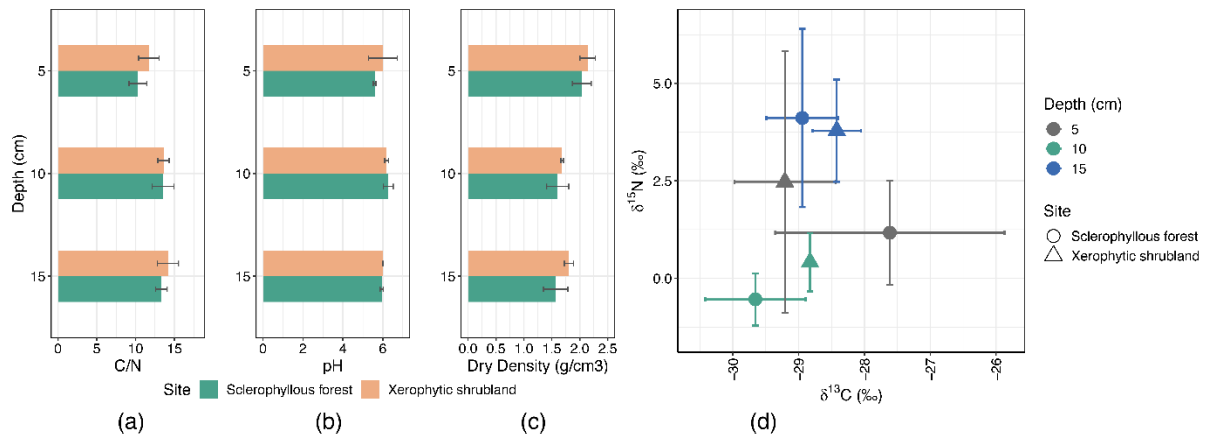


Figure S V.1: Distribution of physicochemical conditions in the soil profiles: a) C/N ratios, b) pH c) dry density and d) isotopic signature variability (δ¹⁵N y δ¹³C) determined for SF and XS.

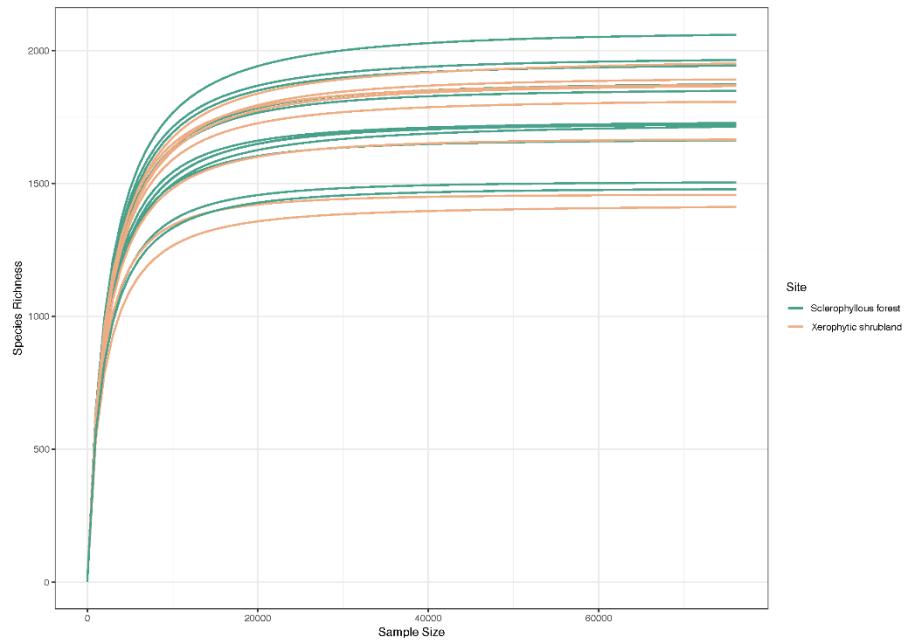


Figure S V.2.: Rarefaction curves for prokaryotes.

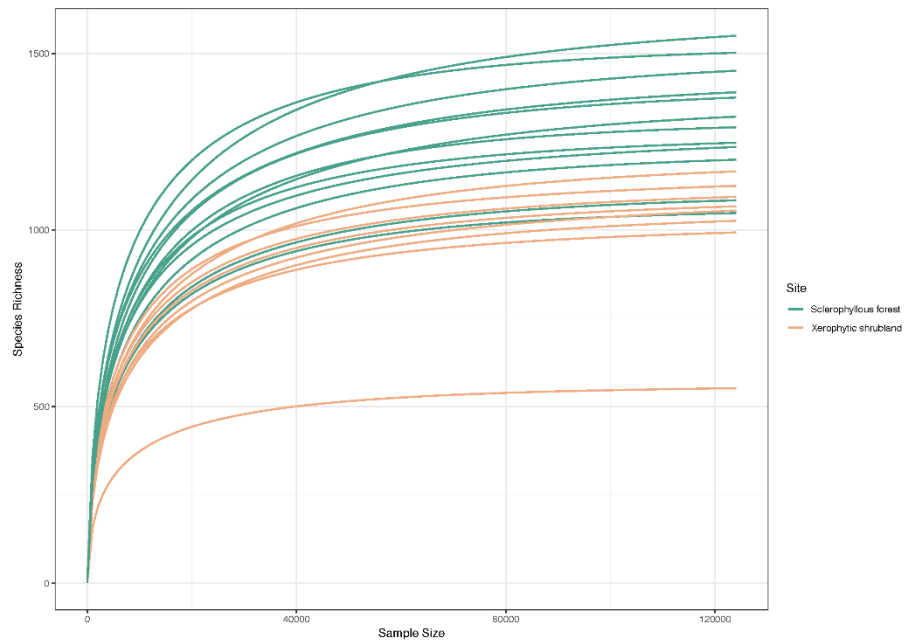


Figure S V.3.: Rarefaction curves for fungi.

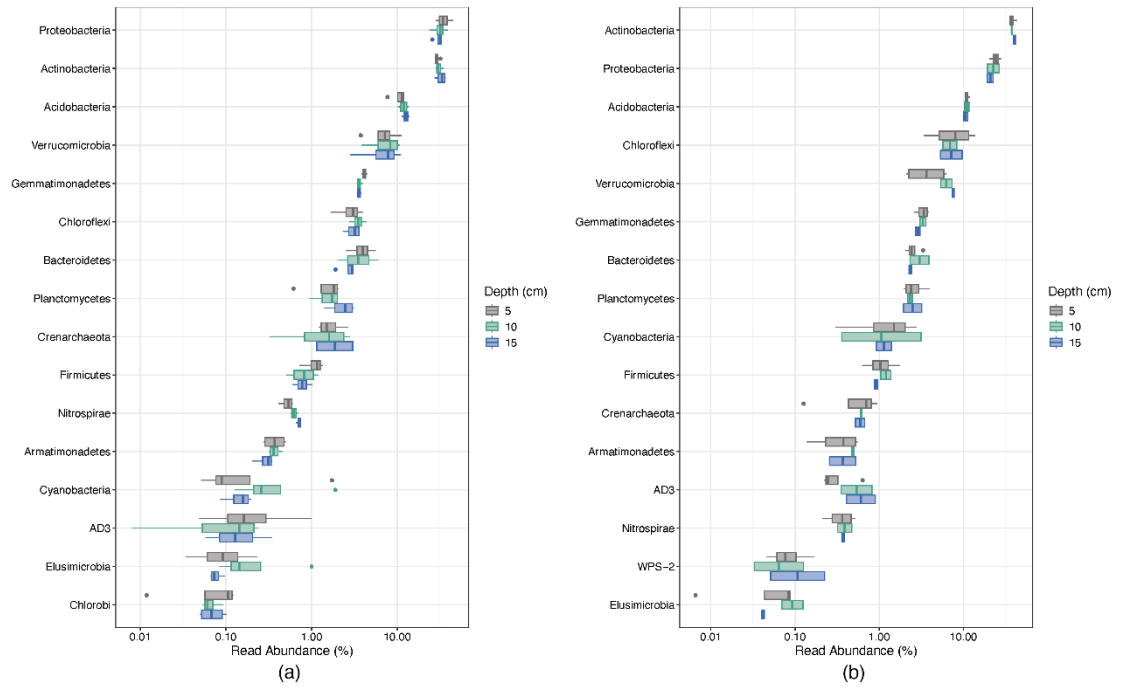


Figure S V.4.: (a) Box plot of prokaryotes phyla relative abundances determined at sclerophyllous forest, (b) Box plot of prokaryotes phyla relative abundances determined at xerophytic shrubland of the PNLC.

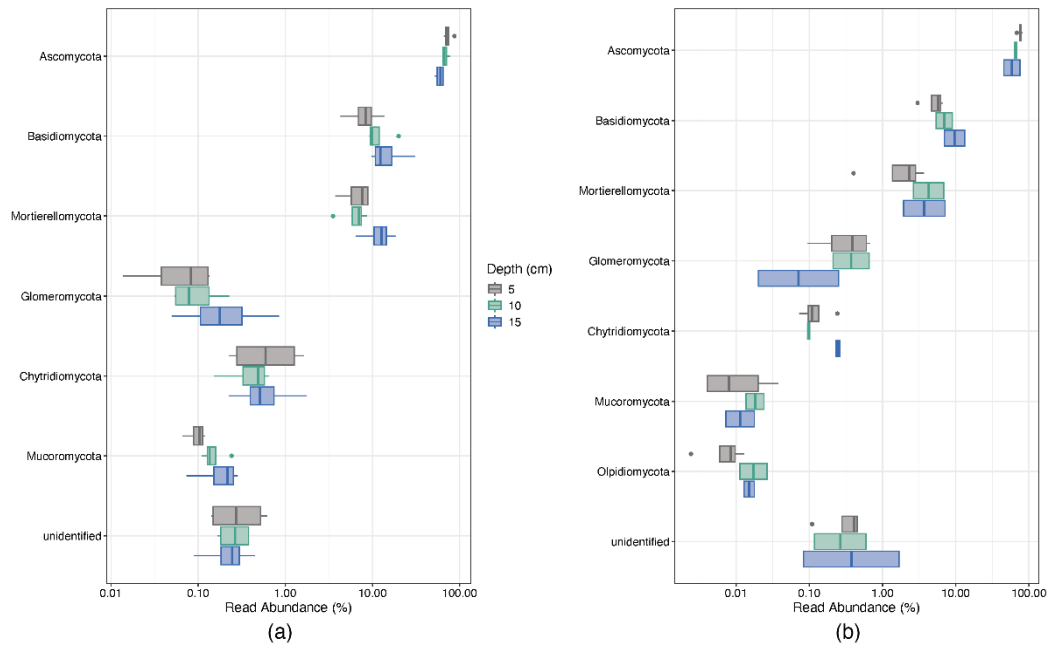


Figure S V.5.: (a) Box plot of prokaryotes phyla relative abundances determined at sclerophyllous forest; (b) Box plot of prokaryotes phyla relative abundances determined at xerophytic shrubland of the PNLC.

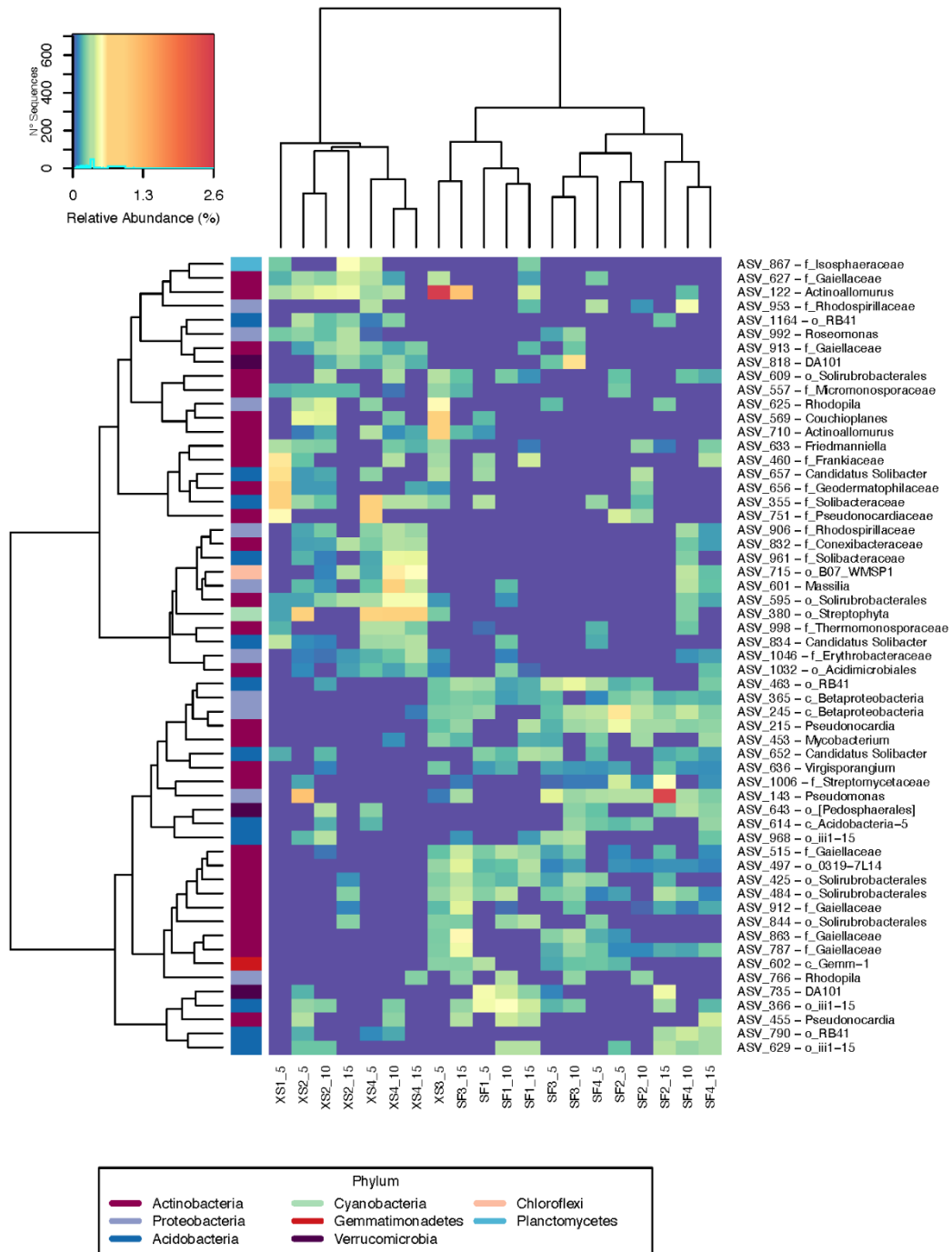


Figure S V.6.: Heatmap of potentially discriminative prokaryote ASVs having a significant differentiation comparing north and south slope faces at three depth levels (5 cm, 10 cm, 15 cm).

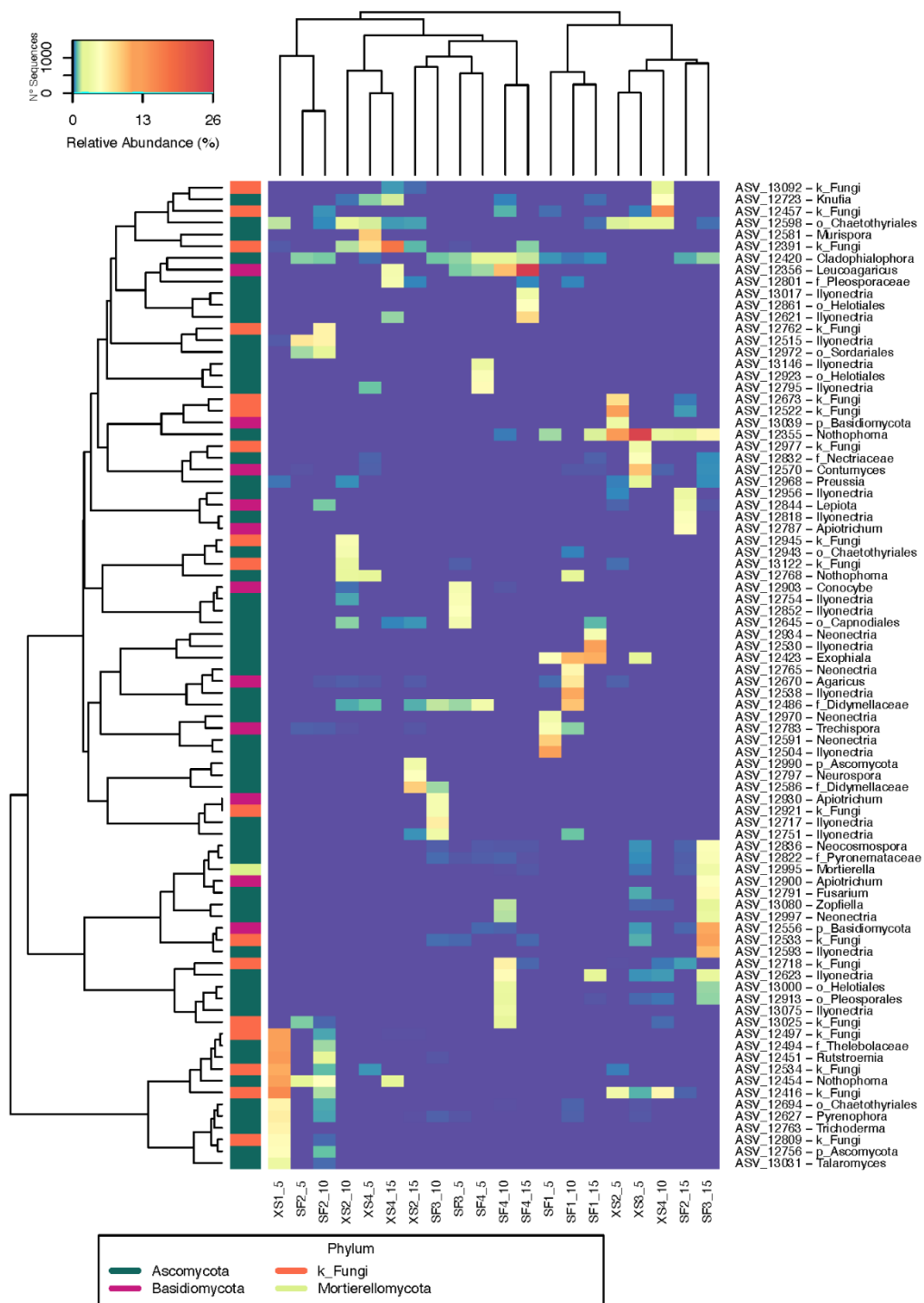


Figure S V.7: Heatmap of potentially discriminative fungi ASVs having a significant differentiation comparing north and south slope faces at three depth levels (5 cm, 10 cm, 15 cm).

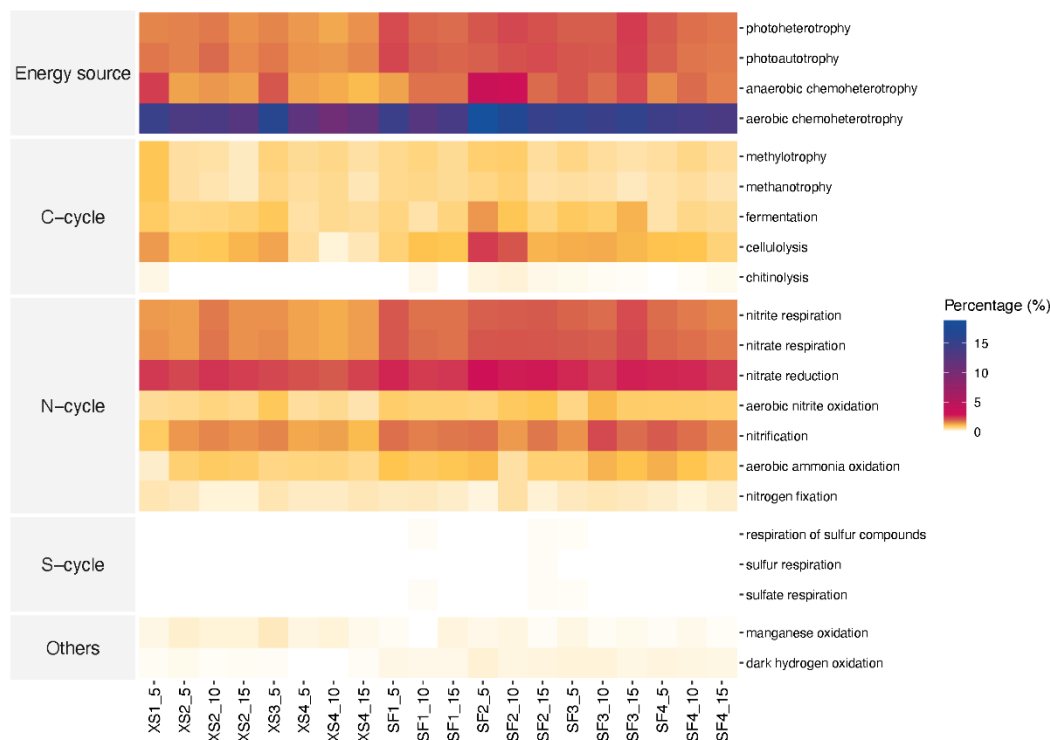


Figure S V.8: Predicted potential microbial function profile by comparison of XS and SF at three depth levels (5 cm, 10 cm, 15 cm) for prokaryotes.

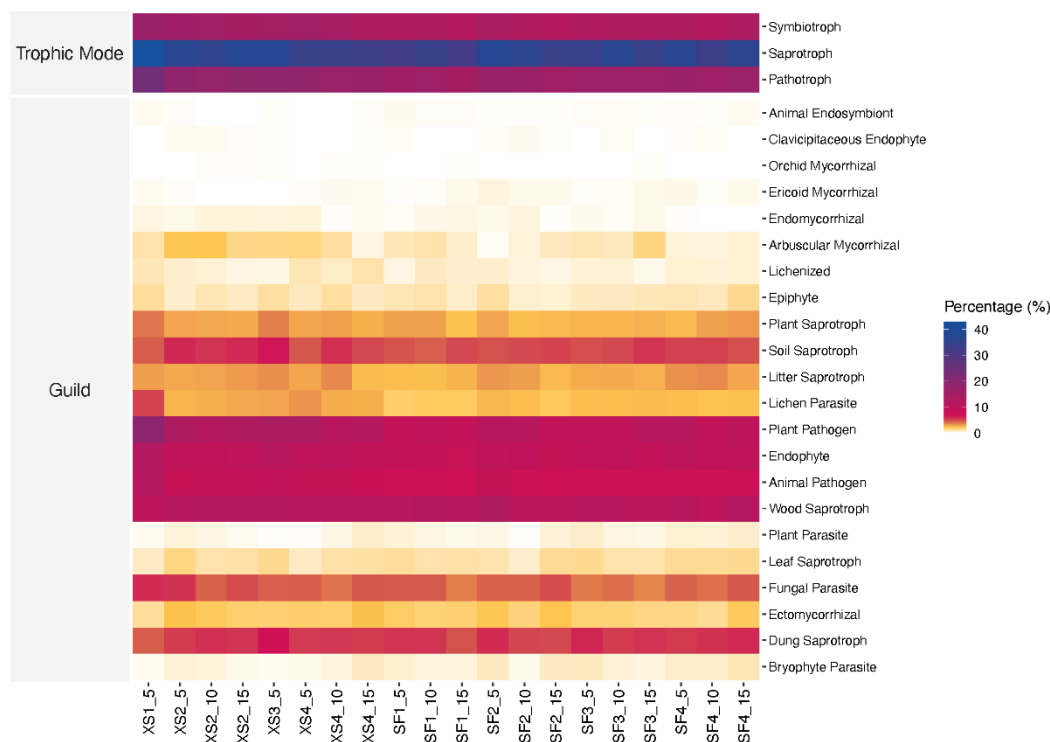


Figure S V.9: Predicted potential microbial function profile by comparison of XS and SF at three depth levels (5 cm, 10 cm, 15 cm) for fungi.

Table S V.1: Specific location, site characteristics, predominant plant community and other topographic features such as elevation and orientation.

ID	Depth (cm)	Site	Slope facing or aspect	Geographic location (latitude)	Geographic location (longitude)		Elevation (m.a.s.l.)
SF1_5	5	Sclerophyllous forest	South	33° 0'12.13"S	71° 7'24.62"	W	396
SF1_10	10	Sclerophyllous forest	South	33° 0'12.13"S	71° 7'24.62"	W	396
SF1_15	15	Sclerophyllous forest	South	33° 0'12.13"S	71° 7'24.62"	W	396
SF2_5	5	Sclerophyllous forest	South	33° 0'12.28"S	71° 7'25.17"	W	391
SF2_10	10	Sclerophyllous forest	South	33° 0'12.28"S	71° 7'25.17"	W	391
SF2_15	15	Sclerophyllous forest	South	33° 0'12.28"S	71° 7'25.17"	W	391
SF3_5	5	Sclerophyllous forest	South	33° 0'12.34"S	71° 7'26.40"	W	383
SF3_10	10	Sclerophyllous forest	South	33° 0'12.34"S	71° 7'26.40"	W	383
SF3_15	15	Sclerophyllous forest	South	33° 0'12.34"S	71° 7'26.40"	W	383
SF4_5	5	Sclerophyllous forest	South	33° 0'12.39"S	71° 7'25.82"	W	390
SF4_10	10	Sclerophyllous forest	South	33° 0'12.39"S	71° 7'25.82"	W	390
SF4_15	15	Sclerophyllous forest	South	33° 0'12.39"S	71° 7'25.82"	W	390
XS1_5	5	Xerophytic shrubland	North	33° 0'16.82"S	71° 7'28.00"	W	410
XS2_5	5	Xerophytic shrubland	North	33° 0'16.65"S	71° 7'27.32"	W	407
XS2_10	10	Xerophytic shrubland	North	33° 0'16.65"S	71° 7'27.32"	W	407
XS2_15	15	Xerophytic shrubland	North	33° 0'16.65"S	71° 7'27.32"	W	407
XS3_5	5	Xerophytic shrubland	North	33° 0'16.40"S	71° 7'27.80"	W	405

XS4_5	5	Xerophytic shrubland	North	33° 0'17.19"S	71° 7'27.43"	W	413
XS4_10	10	Xerophytic shrubland	North	33° 0'17.19"S	71° 7'27.43"	W	413
XS4_15	15	Xerophytic shrubland	North	33° 0'17.19"S	71° 7'27.43"	W	413

Table S V.2: Environmental conditions of the sampling sites.

Sample ID	Depth (cm)	Annual Mean Temperature	Mean Diurnal Range	Isothermality	Temperature Seasonality	Max Temperature of Warmest Month
XS1_5	5	14,394	11,876	57,074	346.61	25,873
XS2_5	5	14,394	11,876	57,074	346.61	25,873
XS2_10	10	14,394	11,876	57,074	346.61	25,873
XS2_15	15	14,394	11,876	57,074	346.61	25,873
XS3_5	5	14,394	11,876	57,074	346.61	25,873
XS4_5	5	14,394	11,876	57,074	346.61	25,873
XS4_10	10	14,394	11,876	57,074	346.61	25,873
XS4_15	15	14,394	11,876	57,074	346.61	25,873
SF1_5	5	13,944	11,826	56,414	352,602	25,588
SF1_10	10	13,944	11,826	56,414	352,602	25,588
SF1_15	15	13,944	11,826	56,414	352,602	25,588
SF2_5	5	13,944	11,826	56,414	352,602	25,588
SF2_10	10	13,944	11,826	56,414	352,602	25,588
SF2_15	15	13,944	11,826	56,414	352,602	25,588
SF3_5	5	13,944	11,826	56,414	352,602	25,588
SF3_10	10	13,944	11,826	56,414	352,602	25,588
SF3_15	15	13,944	11,826	56,414	352,602	25,588
SF4_5	5	13,944	11,826	56,414	352,602	25,588
SF4_10	10	13,944	11,826	56,414	352,602	25,588
SF4_15	15	13,944	11,826	56,414	352,602	25,588

Sample ID	Depth (cm)	Min Temperature of Coldest Month	Temperature Annual Range	Mean Temperature of Wettest Quarter	Mean Temperature of Driest Quarter
XS1_5	5	5,071	20,808	10,049	18,353
XS2_5	5	5,071	20,808	10,049	18,353
XS2_10	10	5,071	20,808	10,049	18,353
XS2_15	15	5,071	20,808	10,049	18,353
XS3_5	5	5,071	20,808	10,049	18,353

XS4_5	5	5,071	20,808	10,049	18,353
XS4_10	10	5,071	20,808	10,049	18,353
XS4_15	15	5,071	20,808	10,049	18,353
SF1_5	5	4,624	20,964	9,572	18,125
SF1_10	10	4,624	20,964	9,572	18,125
SF1_15	15	4,624	20,964	9,572	18,125
SF2_5	5	4,624	20,964	9,572	18,125
SF2_10	10	4,624	20,964	9,572	18,125
SF2_15	15	4,624	20,964	9,572	18,125
SF3_5	5	4,624	20,964	9,572	18,125
SF3_10	10	4,624	20,964	9,572	18,125
SF3_15	15	4,624	20,964	9,572	18,125
SF4_5	5	4,624	20,964	9,572	18,125
SF4_10	10	4,624	20,964	9,572	18,125
SF4_15	15	4,624	20,964	9,572	18,125

Sample ID	Depth (cm)	Mean Temperature of Warmest Quarter	Mean Temperature of Coldest Quarter	Annual Precipitation	Precipitation of Wettest Month	Precipitation of Driest Month
XS1_5	5	18,632	10,049	358,301	95,833	1,275
XS2_5	5	18,632	10,049	358,301	95,833	1,275
XS2_10	10	18,632	10,049	358,301	95,833	1,275
XS2_15	15	18,632	10,049	358,301	95,833	1,275
XS3_5	5	18,632	10,049	358,301	95,833	1,275
XS4_5	5	18,632	10,049	358,301	95,833	1,275
XS4_10	10	18,632	10,049	358,301	95,833	1,275
XS4_15	15	18,632	10,049	358,301	95,833	1,275
SF1_5	5	18,273	9,572	371,333	96,752	1,545
SF1_10	10	18,273	9,572	371,333	96,752	1,545
SF1_15	15	18,273	9,572	371,333	96,752	1,545
SF2_5	5	18,273	9,572	371,333	96,752	1,545
SF2_10	10	18,273	9,572	371,333	96,752	1,545
SF2_15	15	18,273	9,572	371,333	96,752	1,545
SF3_5	5	18,273	9,572	371,333	96,752	1,545
SF3_10	10	18,273	9,572	371,333	96,752	1,545
SF3_15	15	18,273	9,572	371,333	96,752	1,545
SF4_5	5	18,273	9,572	371,333	96,752	1,545
SF4_10	10	18,273	9,572	371,333	96,752	1,545
SF4_15	15	18,273	9,572	371,333	96,752	1,545

Sample ID	Depth (cm)	Precipitation Seasonality (Coefficient of Variation)	Precipitation of Wettest Quarter	Precipitation of Driest Quarter	Precipitation of Warmest Quarter	Precipitation of Coldest Quarter
XS1_5	5	115,243	247,795	3,901	3,901	247,795
XS2_5	5	115,243	247,795	3,901	3,901	247,795
XS2_10	10	115,243	247,795	3,901	3,901	247,795
XS2_15	15	115,243	247,795	3,901	3,901	247,795
XS3_5	5	115,243	247,795	3,901	3,901	247,795
XS4_5	5	115,243	247,795	3,901	3,901	247,795
XS4_10	10	115,243	247,795	3,901	3,901	247,795
XS4_15	15	115,243	247,795	3,901	3,901	247,795
SF1_5	5	112,813	252.29	5,677	5,677	252.29
SF1_10	10	112,813	252.29	5,677	5,677	252.29
SF1_15	15	112,813	252.29	5,677	5,677	252.29
SF2_5	5	112,813	252.29	5,677	5,677	252.29
SF2_10	10	112,813	252.29	5,677	5,677	252.29
SF2_15	15	112,813	252.29	5,677	5,677	252.29
SF3_5	5	112,813	252.29	5,677	5,677	252.29
SF3_10	10	112,813	252.29	5,677	5,677	252.29
SF3_15	15	112,813	252.29	5,677	5,677	252.29
SF4_5	5	112,813	252.29	5,677	5,677	252.29
SF4_10	10	112,813	252.29	5,677	5,677	252.29
SF4_15	15	112,813	252.29	5,677	5,677	252.29

Table S V.3: Primers for quantifying bacteria, archaea, and fungi, and specific amplification conditions for each group.

Group	Primer sequence	Fragment size (pb)	Hybridization temperature (°C)	Primer volume (μL)	Efficiency (%)	r2	Reference
Archaea (16S rRNA gene)	Arc 913F: AGGAATTGGCGGGGAGCA	169	55	1.6	87.84	0.997	[1]
	M1100R: BTGGGTCTCGCTCGTTRCC						[2]
Bacteria (16S rRNA gene)	DGGE300F: GCCTACGGGAGGCAGCAG [3]	172	62	1.6	86.01	0.99	[3]
	Univ516: GTDTTACGCGGCKGCTGRCA [4]						[4]
Fungi (ITS gene)	fITS7: GTGAATCATCATCGAATCTTTTG	292	53	1.5	86.7	0.995	[5]
	ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATATGC						[6]
Ammonia-oxidizing	Arch-amoA: 5'- STAATGGTCTGGCTTAGACG-3'	635	53	1.6	80.43	0.992	[7]

archaea
(AOA) **Arch-amoAR: 5'-
GCGGCCATCCCATCTGTATGT-
3'**

1. Jackson, C.R.; Langner, H.W.; Donahoe-Christiansen, J.; Inskeep, W.P.; McDermott, T.R. Molecular Analysis of Microbial Community Structure in an Arsenite-oxidizing Acidic Thermal Spring. *Environ Microbiol* 2001, 3, 532–57, doi:10.1046/j.1462-2920.2001.00221.x.
2. Einen, J.; Thorseth, I.H.; Øvreås, L. Enumeration of Archaea and Bacteria in Seafloor Basalt Using Real-Time Quantitative PCR and Fluorescence Microscopy. *FEMS Microbiol Lett* 2008, 282, 182–187, doi:10.1111/j.1574-6968.2008.01119.x.
3. Muyzer, G.; de Waal, E.C.; Uitterlinden, A.G. Profiling of Complex Microbial Populations by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Analysis of Polymerase Chain Reaction-Amplified Genes Coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 1993, 59, 695–700, doi:10.1128/aem.59.3.695-700.1993.
4. Takai, K.; Horikoshi, K. Rapid Detection and Quantification of Members of the Archaeal Community by Quantitative PCR Using Fluorogenic Probes. *Appl Environ Microbiol* 2000, 66, 5066–5072, doi:10.1128/AEM.66.11.5066-5072.2000.
5. Ihrmark, K.; Bödeker, I.T.M.; Cruz-Martinez, K.; Friberg, H.; Kubartova, A.; Schenck, J.; Strid, Y.; Stenlid, J.; Brandström-Durling, M.; Clemmensen, K.E.; et al. New Primers to Amplify the Fungal ITS2 Region - Evaluation by 454-Sequencing of Artificial and Natural Communities. *FEMS Microbiol Ecol* 2012, 82, 666–677, doi:10.1111/j.1574-6968.2012.017.x.
6. White, T.J.; Bruns, T.; Lee, S.; Taylor, J. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications* 1990, 18, 315–322.
7. Francis, C.A.; Roberts, K.J.; Beman, J.M.; Santoro, A.E.; Oakley, B.B. Ubiquity and Diversity of Ammonia-Oxidizing Archaea in Water Columns and Sediments of the Ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2005, 102, 14683–14688, doi:10.1073/pnas.0506625102.

Table S V.4: Per-sample sequence counts

Prokaryotes								
sample-id	input	filtered	percentage of input passed filter	denoised	merged	percentage of input merged	non- chimeric	percentage of input non- chimeric
#q2:types	numeric	numeric	numeric	numeric	numeric	numeric	numeric	numeric
XS1_5	136154	120798	88.72	114776	87928	64.58	86108	63.24
XS2_5	162559	144430	88.85	136918	104085	64.03	101213	62.26
XS2_10	155816	137242	88.08	129021	94770	60.82	93285	59.87
XS2_15	131299	112654	85.8	106459	77445	58.98	76124	57.98
XS3_5	151674	134189	88.47	127166	94238	62.13	91647	60.42
XS4_5	159232	141217	88.69	134826	105988	66.56	102729	64.52
XS4_10	151466	134711	88.94	128487	101372	66.93	98212	64.84
XS4_15	144003	128156	89	121928	94865	65.88	92595	64.3
SF1_5	140519	124561	88.64	117951	90390	64.33	88348	62.87
SF1_10	159563	140731	88.2	133432	101253	63.46	98194	61.54
SF1_15	148264	131762	88.87	125232	96535	65.11	93860	63.31
SF2_5	154502	136238	88.18	128373	94007	60.85	91947	59.51
SF2_10	157070	137360	87.45	130314	97866	62.31	96019	61.13
SF2_15	140654	123886	88.08	116682	87167	61.97	84918	60.37
SF3_5	165700	145100	87.57	136911	101783	61.43	99277	59.91
SF3_10	150798	127869	84.79	120789	87274	57.87	85330	56.59

SF3_15	169989	149620	88.02	142390	109005	64.12	105190	61.88
SF4_5	131670	115733	87.9	109805	82857	62.93	81200	61.67
SF4_10	149614	131902	88.16	124174	92917	62.1	90807	60.69
SF4_15	160825	142172	88.4	134089	100650	62.58	98571	61.29

Fungi								
sample-id	input	filtered	percentage of input passed filter	denoised	merged	percentage of input merged	non- chimeric	percentage of input non- chimeric
#q2:types	numeric	numeric	numeric	numeric	numeric	numeric	numeric	numeric
A1	161642	142365	88.07	141667	138332	85.58	137567	85.11
A2	173771	146051	84.05	144064	140660	80.95	139486	80.27
A3	154578	136341	88.2	134145	131217	84.89	130772	84.6
A4	177047	155172	87.64	152959	146939	82.99	146061	82.5
A5	185815	153981	82.87	151817	148295	79.81	147878	79.58
A6	183994	162702	88.43	160663	156295	84.95	155752	84.65
A7	150302	131921	87.77	130131	125134	83.26	124003	82.5
A8	178842	152351	85.19	150465	142160	79.49	141827	79.3
A9	185107	164707	88.98	162394	157068	84.85	155372	83.94
A10	172610	155901	90.32	153570	149959	86.88	148224	85.87
A11	167043	148197	88.72	Su	141748	84.86	140185	83.92
A12	157346	141699	90.06	139585	135663	86.22	134233	85.31
A13	160849	144284	89.7	141567	136517	84.87	135563	84.28
A14	188593	170151	90.22	167232	162760	86.3	161956	85.88
A15	176785	157818	89.27	155056	150406	85.08	149645	84.65
A16	172394	153615	89.11	151141	147553	85.59	146640	85.06
A17	150437	133235	88.57	130513	126769	84.27	126182	83.88
A18	150240	135492	90.18	133271	129827	86.41	129371	86.11
A19	157767	141266	89.54	138729	135520	85.9	134870	85.49
A20	158384	142288	89.84	140167	136990	86.49	136509	86.19

Table S V.5: Physicochemical conditions of XS and SF soils.

Sample ID	Depth (cm)	N	C	C/N	pH
XS1_5	5	0.2288590396	2,596288877	11.344	4.92
XS2_5	5	0.1201134882	1,639640367	13.651	6.45
XS2_10	10	0.08347889346	0.906438294	10.858	6.36

XS2_15	15	0.06160781831	0.67190112	10.906	6.27
XS3_5	5	0.2120562677	2.143810762	10.11	5.66
XS4_5	5	0.1022342073	1.21569231	11.891	5.55
XS4_10	10	0.05452682004	0.501309772	9.1938	5.64
XS4_15	15	0.05538026453	0.548256933	9.8999	5.51
SF1_5	5	0.3884244586	5.477284227	14.101	6.12
SF1_10	10	0.3647118451	4.76725014	13.071	6.26
SF1_15	15	0.3208521622	3.741358373	11.661	6.34
SF2_5	5	0.2987123205	4.050376155	13.559	6.53
SF2_10	10	0.3818199147	5.763737323	15.095	6.28
SF2_15	15	0.0003267681797	0.004495404	13.757	5.95
SF3_5	5	0.5006040541	7.564065557	15.11	6
SF3_10	10	0.4667848093	6.156755747	13.19	6.01
SF3_15	15	0.4405073062	5.370950555	12.193	6.06
SF4_5	5	0.4753393414	6.433489223	13.535	5.88
SF4_10	10	0.5580300865	7.679040693	13.761	5.91
SF4_15	15	0.5081085973	6.984407996	13.746	5.91

Table S V.6: Comparison of dominant phyla between studies of northern and southern slopes of the PNLC.

Reference	Site	Slope	Depth	<i>Acidobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Chloroflexi</i>	<i>Gemmatimonadetes</i>	<i>Planctomycetes</i>	<i>Proteobacteria</i>	<i>Verrucomicrobia</i>
S1	N5	N	5	16.0	23.8	5.1	1.8	6.3	33.9	5.2
S1	N10	N	10	13.8	27.1	6.8	3.5	5.2	29.0	5.4
S1	N20	N	20	18.4	23.9	9.1	3.3	8.4	20.4	7.8
S2	XS5	N	5	10.6	29.3	3.0	4.0	0.4	35.4	7.3
S2	XS10	N	10	12.0	30.9	3.6	3.8	0.4	31.8	7.9
S2	XS15	N	15	12.7	32.7	3.1	2.7	0.3	30.8	7.4
S1	S5	S	5	23.4	20.8	5.2	2.6	12.0	19.2	9.7
S1	S10	S	10	18.0	28.9	5.9	1.7	5.3	23.5	8.0
S1	S20	S	20	14.7	25.1	10.2	4.8	4.5	21.5	11.3
S2	SF5	S	5	11.1	38.3	8.6	3.3	2.7	24.5	4.1

S2	SF 10	S	10	11.1	38.1	7.1	3.3	2.3	23.2	6.4
S2	SF 15	S	15	10.7	40.8	7.5	2.9	2.6	21.1	7.6

S1: Study carried out at the PNLC by other researchers with sampling done in 2017 [1].

S2: Study presented in the manuscript, with sampling carried out in 2020

1. Rodriguez, V.; Moskwa, L.M.; Oses, R.; Kühn, P.; Riveras-Muñoz, N.; Seguel, O.; Scholten, T.; Wagner, D. Impact of Climate and Slope Aspects on the Composition of Soil Bacterial Communities Involved in Pedogenetic Processes along the Chilean Coastal Cordillera. *Microorganisms* 2022, 10, doi:10.3390/microorganisms10050847.

Table S V.7: Comparison of physicochemical conditions between studies of northern and southern slopes of the PNLC.

Group	Slope	Depth [cm]	Site	pH	C/N	Sampling year
S1	N	5	N5	5.74	11.00	2016
S1	N	10	N10	5.37	10.20	2016
S1	N	20	N20	5.06	15.20	2016
S2	N	5	XS5	6.13	14.08	2020
S2	N	10	XS10	6.12	13.78	2020
S2	N	15	XS15	6.07	12.84	2020
S1	S	5	S5	5.55	5.00	2016
S1	S	10	S10	5.34	12.10	2016
S1	S	20	S20	5.31	9.80	2016
S2	S	5	SF5	5.65	11.75	2020
S2	S	10	SF10	6.00	10.03	2020
S2	S	15	SF15	5.89	10.40	2020

S1: Study carried out at the PNLC by other researchers with sampling done in 2017 [1].

S2: Study presented in the manuscript, with sampling carried out in 2020

1. Bernhard, N.; Moskwa, L.M.; Schmidt, K.; Oeser, R.A.; Aburto, F.; Bader, M.Y.; Baumann, K.; von Blanckenburg, F.; Boy, J.; van den Brink, L.; et al. Pedogenic and Microbial Interrelations to Regional Climate and Local Topography: New Insights from a Climate Gradient (Arid to Humid) along the Coastal Cordillera of Chile. *Catena* (Amst) 2018, 170, 335–355, doi:10.1016/j.catena.2018.06.018.

Table S V.8.: Comparison of Bacterial and Archaeal Gene Copy Numbers (g⁻¹ soil) between studies of northern and southern slopes of the PNLC.

Group	Site	depht	Bacterial Gene Copy Numbers (g ⁻¹ soil)	Archaeal Gene Copy Numbers (g ⁻¹ soil)
S1	LC NMS5	5	5.98E+08 ± 6.68E+07	2.47E+07 ± 7.55E+06
S1	LC NMS10	10	1.31E+08 ± 6.24E+07	4.71E+06 ± 1.78E+06
S1	LC NMS20	20	9.18E+07 ± 2.25E+07	3.92E+06 ± 8.04E+05

S1	LC SMS5	5	6.86E+08 ± 2.87E+08	5.73E+07 ± 5.75E+07
S1	LC SMS10	10	4.69E+08 ± 1.38E+08	2.08E+07 ± 1.72E+07
S1	LC SMS20	20	3.34E+08 ± 1.36E+08	2.00E+07 ± 1.33E+07
S2	XS5	5	9.21E+09	4.21E+07
S2	XS10	10	4.14E+09	1.90E+07
S2	XS15	15	3.54E+09	1.57E+07
S2	SF5	5	9.49E+09	8.86E+07
S2	SF10	10	5.81E+09	6.47E+07
S2	SF15	15	6.38E+09	9.01E+07

S1: Study carried out at the PNLC by other researchers with sampling done in 2017 [1].

S2: Study presented in the manuscript, with sampling carried out in 2020

1. Bernhard, N.; Moskwa, L.M.; Schmidt, K.; Oeser, R.A.; Aburto, F.; Bader, M.Y.; Baumann, K.; von Blanckenburg, F.; Boy, J.; van den Brink, L.; et al. Pedogenic and Microbial Interrelations to Regional Climate and Local Topography: New Insights from a Climate Gradient (Arid to Humid) along the Coastal Cordillera of Chile. *Catena* (Amst) 2018, 170, 335–355, doi:10.1016/j.catena.2018.06.018.

5.7. Author Contributions

Conceptualization, C.Q-U, J.P.F and V.M.; methodology, C.Q-U, J.P.F, V.M. and P.A-M; writing—original draft preparation, C.Q-U. and V.M.; writing—review and editing, C.Q-U, P.A-M and V.M; funding acquisition, C.Q-U, J.P.F and V.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.”.

5.8. Funding

This research was funded by FONDECYT grants #11170566 and #1211977, Concurso Regular de Investigación 2019 UPLA (CNE 23-20). Additional funding was provided by Programa de Biodiversidad de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas and Project RED21992 “Sistema articulado de investigación en Cambio Climático y Sustentabilidad en zonas costeras de Chile”. C.Q-U was supported by the Scholarship Program Beca Doctorado Nacional ANID 2022 N°21221130 and "Tesis que impactan territorios" Programa NODO CIV-VAL 220002 ANID.

5.9. Data Availability Statement

The original contributions presented in the study are included in the article/supplementary material, further inquiries can be directed to the corresponding author/s.

5.10. Acknowledgments

We acknowledge the Corporación Nacional Forestal (CONAF), a la Administración del Parque Nacional La Campana and their staff for field campaigns support. We are grateful to Pamela Ramírez, Paulina Hernández and Yael Aguirre for their support in taking samples, to Claudia Cano, Marta Muñoz and Fabiola Moenne for their technical support and to Katalina Salvador for map editing.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

5.11. References

1. Lopez-Sangil, L.; Rousk, J.; Wallander, H.; Casals, P. Microbial Growth Rate Measurements Reveal That Land-Use Abandonment Promotes a Fungal Dominance of SOM Decomposition in Grazed Mediterranean Ecosystems. *Biol Fertil Soils* 2011, *47*, 129–138, doi:10.1007/s00374-010-0510-8.
2. Maharning, A.R.; Mills, A.A.S.; Adl, S.M. Soil Community Changes during Secondary Succession to Naturalized Grasslands. *Applied Soil Ecology* 2009, *41*, 137–147, doi:10.1016/J.APSOIL.2008.11.003.
3. Philippot, L.; Raaijmakers, J.M.; Lemanceau, P.; van der Putten, W.H. Going Back to the Roots: The Microbial Ecology of the Rhizosphere. *Nat Rev Microbiol* 2013, *11*, 789–799, doi:10.1038/nrmicro3109.
4. Rousk, J.; Bååth, E. Growth of Saprotrophic Fungi and Bacteria in Soil. *FEMS Microbiol Ecol* 2011, *78*, 17–30, doi:10.1111/j.1574-6941.2011.01106.x.
5. Zornoza, R.; Guerrero, C.; Mataix-Solera, J.; Scow, K.M.; Arcenegui, V.; Mataix-Beneyto, J. Changes in Soil Microbial Community Structure Following the Abandonment of Agricultural Terraces in Mountainous Areas

- of Eastern Spain. *Applied Soil Ecology* 2009, 42, 315–323, doi:10.1016/J.APSOIL.2009.05.011.
6. Custódio, V.; Gonin, M.; Stabl, G.; Bakhoum, N.; Oliveira, M.M.; Gutjahr, C.; Castrillo, G. Sculpting the Soil Microbiota. *The Plant Journal* 2022, 109, 508–522, doi:10.1111/tpj.15568.
 7. Fierer, N. Embracing the Unknown: Disentangling the Complexities of the Soil Microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2017, 15, 579–590.
 8. Macdonald, C.A.; Thomas, N.; Robinson, L.; Tate, K.R.; Ross, D.J.; Dando, J.; Singh, B.K. Physiological, Biochemical and Molecular Responses of the Soil Microbial Community after Afforestation of Pastures with *Pinus Radiata*. *Soil Biol Biochem* 2009, 41, 1642–1651, doi:10.1016/J.SOILBIO.2009.05.003.
 9. Zornoza, R.; Acosta, J.A.; Faz, A.; Bååth, E. Microbial Growth and Community Structure in Acid Mine Soils after Addition of Different Amendments for Soil Reclamation. *Geoderma* 2016, 272, 64–72, doi:10.1016/J.GEODERMA.2016.03.007.
 10. Aponte, H.; Galindo-Castañeda, T.; Yáñez, C.; Hartmann, M.; Rojas, C. Microbial Community-Level Physiological Profiles and Genetic Prokaryotic Structure of Burned Soils Under Mediterranean Sclerophyll Forests in Central Chile. *Front Microbiol* 2022, 13, doi:10.3389/fmicb.2022.824813.
 11. Escobedo, V.M.; Acuña-Rodríguez, I.S.; García, L.Y.; Torres-Díaz, C.; Atala, C.; Suazo, M.J.; Gómez-González, S.; Newsham, K.K.; Molina-Montenegro, M.A. Native Woody Species Depend on the Soil Microbiome to Establish on Burned Soils, While Non-native Do Not. *Journal of Applied Ecology* 2024, doi:10.1111/1365-2664.14809.
 12. Egli, M.; Sartori, G.; Mirabella, A.; Favilli, F.; Giaccai, D.; Delbos, E. Effect of North and South Exposure on Organic Matter in High Alpine Soils. *Geoderma* 2009, 149, 124–136, doi:10.1016/j.geoderma.2008.11.027.
 13. Ascher, J.; Sartori, G.; Graefe, U.; Thornton, B.; Ceccherini, M.T.; Pietramellara, G.; Egli, M. Are Humus Forms, Mesofauna and Microflora in Subalpine Forest Soils Sensitive to Thermal Conditions? *Biol Fertil Soils* 2012, 48, 709–725, doi:10.1007/s00374-012-0670-9.
 14. Baldrian, P. Forest Microbiome: Diversity, Complexity and Dynamics. *FEMS Microbiol Rev* 2016, fuw040, doi:10.1093/femsre/fuw040.
 15. López-Mondéjar, R.; Voříšková, J.; Větrovský, T.; Baldrian, P. The Bacterial Community Inhabiting Temperate Deciduous Forests Is Vertically Stratified and Undergoes Seasonal Dynamics. *Soil Biol Biochem* 2015, 87, 43–50.
 16. Ekblad, A.; Wallander, H.; Godbold, D.L.; Cruz, C.; Johnson, D.; Baldrian, P.; Björk, R.G.; Epron, D.; Kieliszewska-Rokicka, B.; Kjoller, R.; et al. The Production and Turnover of Extramatrical Mycelium of Ectomycorrhizal Fungi in Forest Soils: Role in Carbon Cycling. *Plant Soil* 2013, 366, 1–27, doi:10.1007/s11104-013-1630-3.
 17. Schulze-Makuch, D.; Wagner, D.; Kounaves, S.P.; Mangelsdorf, K.; Devine, K.G.; de Vera, J.-P.; Schmitt-Kopplin, P.; Grossart, H.-P.; Parro, V.; Kaupenjohann, M.; et al. Transitory Microbial Habitat in the Hyperarid Atacama Desert. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2018, 115, 2670–2675, doi:10.1073/pnas.1714341115.

18. Eilers, K.G.; Debenport, S.; Anderson, S.; Fierer, N. Digging Deeper to Find Unique Microbial Communities: The Strong Effect of Depth on the Structure of Bacterial and Archaeal Communities in Soil. *Soil Biol Biochem* 2012, *50*, 58–65, doi:10.1016/j.soilbio.2012.03.011.
19. Bernhard, N.; Moskwa, L.M.; Schmidt, K.; Oeser, R.A.; Aburto, F.; Bader, M.Y.; Baumann, K.; von Blanckenburg, F.; Boy, J.; van den Brink, L.; et al. Pedogenic and Microbial Interrelations to Regional Climate and Local Topography: New Insights from a Climate Gradient (Arid to Humid) along the Coastal Cordillera of Chile. *Catena (Amst)* 2018, *170*, 335–355, doi:10.1016/j.catena.2018.06.018.
20. Oeser, R.A.; Stroncik, N.; Moskwa, L.M.; Bernhard, N.; Schaller, M.; Canessa, R.; van den Brink, L.; Köster, M.; Brucker, E.; Stock, S.; et al. Chemistry and Microbiology of the Critical Zone along a Steep Climate and Vegetation Gradient in the Chilean Coastal Cordillera. *Catena (Amst)* 2018, *170*, 183–203, doi:10.1016/j.catena.2018.06.002.
21. Rodríguez, V.; Moskwa, L.M.; Oses, R.; Kühn, P.; Riveras-Muñoz, N.; Seguel, O.; Scholten, T.; Wagner, D. Impact of Climate and Slope Aspects on the Composition of Soil Bacterial Communities Involved in Pedogenetic Processes along the Chilean Coastal Cordillera. *Microorganisms* 2022, *10*, doi:10.3390/microorganisms10050847.
22. Quinteros-Urquieta, C.; Francois, J.-P.; Aguilar-Muñoz, P.; Orellana, R.; Villaseñor, R.; Moreira-Muñoz, A.; Molina, V. Microbial Diversity of Soil in a Mediterranean Biodiversity Hotspot: Parque Nacional La Campana, Chile. *Microorganisms* 2024, *12*, 1569, doi:10.3390/microorganisms12081569.
23. Hauck, L.; Moreira-Muñoz, A.; Nezádal, W. La Flora Exótica Ruderal Del Parque Nacional La Campana, Región de Valparaíso, Chile Central. *Gayana Bot* 2016, *73*, 206–219, doi:10.4067/S0717-66432016000200206.
24. Myers Norman Biodiversity Hotspots Revisited. *Bioscience* 2003, *53*, 916–917.
25. Mittermeier, R.; Myers, N.; Gill, P.; Mittermeier, C. Hotspots: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions. *J Mammal* 2002, *83*, 630–633, doi:10.1644/1545-1542(2002)083<0630>2.0.CO;2.
26. Myers, N.; Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Da Fonseca, G.A.B.; Kent, J. *Biodiversity Hotspots for Conservation Priorities*; 2000; Vol. 403;.
27. Quintanilla, V. Situación Postincendio En Ecosistemas de Un Macizo Montañoso de Gran Valor Geobotánico, En La Cordillera Meditarránea de Chile. *Cadernos de Geografía. Coimbra, FLUC* 2009, *28/29*, 149–150.
28. Elórtogui, S.; Moreira-Muñoz, A. *Parque Nacional La Campana: Origen de Una Reserva de La Biósfera En Chile Central*; Elórtogui, S., Moreira-Muñoz, A., Eds.; Segunda edición.; Taller la Era, 2009;
29. Quintanilla, V.G.; Cadiñanos, J.A.; Latasa, I.; Lozano, P.J. Aproximación Biogeográfica a Los Bosques de La Zona Mediterránea de Chile: Caracterización e Inventario. *Boletín de la Asociación de Geógrafos Españoles* 0212-9426 2012.
30. Luebert, F.; Pliscoff, P. *Sinopsis Bioclimática y Vegetacional de Chile.*; Editorial Universitaria, 2006;

31. Dierschke, H. *Pflanzensoziologie: Grundlagen Und Methoden*; 1994;
32. Knapp, R. *Sampling Methods and Taxon Analysis in Vegetation Science*; Springer Dordrecht, 1984; Vol. 4;.
33. San Martín, C.; Ramírez, C.; San Martín, J.; Villaseñor, R. FLORA Y VEGETACION DEL ESTERO REÑACA (V REGION, CHILE). *Gayana Bot* 2001, 58, doi:10.4067/S0717-66432001000100004.
34. Fick, S.E.; Hijmans, R.J. WorldClim 2: New 1-km Spatial Resolution Climate Surfaces for Global Land Areas. *International Journal of Climatology* 2017, 37, 4302–4315, doi:10.1002/joc.5086.
35. U.S. Department of Agriculture (USDA) *Soil Survey Laboratory Methods Manual. Soil Survey Investigations Report No 42.*; Washington DC, 2004;
36. Al-Shammary, A.A.G.; Kouzani, A.Z.; Kaynak, A.; Khoo, S.Y.; Norton, M.; Gates, W. Soil Bulk Density Estimation Methods: A Review. *Pedosphere* 2018, 28, 581–596, doi:10.1016/S1002-0160(18)60034-7.
37. Caporaso, J.G.; Lauber, C.L.; Costello, E.K.; Berg-Lyons, D.; Gonzalez, A.; Stombaugh, J.; Knights, D.; Gajer, P.; Ravel, J.; Fierer, N.; et al. Moving Pictures of the Human Microbiome. *Genome Biol* 2011, 12, R50, doi:10.1186/gb-2011-12-5-r50.
38. Degnan, P.H.; Ochman, H. Illumina-Based Analysis of Microbial Community Diversity. *ISME J* 2012, 6, 183–194, doi:10.1038/ismej.2011.74.
39. DeSantis, T.Z.; Hugenholtz, P.; Larsen, N.; Rojas, M.; Brodie, E.L.; Keller, K.; Huber, T.; Dalevi, D.; Hu, P.; Andersen, G.L. Greengenes, a Chimera-Checked 16S RRNA Gene Database and Workbench Compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol* 2006, 72, 5069–5072, doi:10.1128/AEM.03006-05.
40. Abarenkov, K.; Zirk, A.; Piirmann, T.; Pöhönen, R.; Ivanov, F.; Nilsson, R.H.; Kõljalg, U. UNITE QIIME Release for Fungi 2. Version 10.05.2021. UNITE Community. 2021.
41. Team, R.C. A Language and Environment for Statistical Computing. (No Title) 2023.
42. McMurdie, P.J.; Holmes, S. Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS One* 2013, 8, e61217, doi:10.1371/journal.pone.0061217.
43. Lahti, L.; Shetty, S. Introduction to the Microbiome R Package. *Preprint at https://microbiome.github.io/tutorials* 2018.
44. Xu, S.; Zhan, L.; Tang, W.; Wang, Q.; Dai, Z.; Zhou, L.; Feng, T.; Chen, M.; Wu, T.; Hu, E.; et al. MicrobiotaProcess: A Comprehensive R Package for Deep Mining Microbiome. *The Innovation* 2023, 4, 100388, doi:10.1016/j.xinn.2023.100388.
45. Andersen, K.S.; Kirkegaard, R.H.; Karst, S.M.; Albertsen, M. Ampvis2: An R Package to Analyse and Visualise 16S RRNA Amplicon Data. *bioRxiv* 2018, 299537, doi:10.1101/299537.
46. Oksanen, J. Design Decisions and Implementation Details in Vegan. *Vignette of the package vegan. R package version* 2016, 2016, 2–4.
47. Love, M.I.; Huber, W.; Anders, S. Moderated Estimation of Fold Change and Dispersion for RNA-Seq Data with DESeq2. *Genome Biol* 2014, 15, 550, doi:10.1186/s13059-014-0550-8.

48. Liu, C.; Cui, Y.; Li, X.; Yao, M. Microeco: An R Package for Data Mining in Microbial Community Ecology. *FEMS Microbiol Ecol* 2021, 97, doi:10.1093/femsec/fiaa255.
49. Louca, S.; Parfrey, L.W.; Doebeli, M. Decoupling Function and Taxonomy in the Global Ocean Microbiome. *Science (1979)* 2016, 353, 1272–1277, doi:10.1126/science.aaf4507.
50. Nguyen, N.H.; Song, Z.; Bates, S.T.; Branco, S.; Tedersoo, L.; Menke, J.; Schilling, J.S.; Kennedy, P.G. FUNGuild: An Open Annotation Tool for Parsing Fungal Community Datasets by Ecological Guild. *Fungal Ecol* 2016, 20, 241–248, doi:10.1016/J.FUNECO.2015.06.006.
51. Casanova, M.; Salazar, O.; Seguel, O.; Luzio, W. *The Soils of Chile*; Springer Netherlands: Dordrecht, 2013; ISBN 978-94-007-5948-0.
52. Carletti, P.; Vendramin, E.; Pizzeghello, D.; Concheri, G.; Zanella, A.; Nardi, S.; Squartini, A. Soil Humic Compounds and Microbial Communities in Six Spruce Forests as Function of Parent Material, Slope Aspect and Stand Age. *Plant Soil* 2009, 315, 47–65, doi:10.1007/s11104-008-9732-z.
53. Graham, R.C.; Buol, S.W. Soil-Geomorphic Relations on the Blue Ridge Front: II. Soil Characteristics and Pedogenesis. *Soil Science Society of America Journal* 1990, 54, 1367–1377, doi:10.2136/sssaj1990.03615995005400050028x.
54. Barbosa, W.R.; Romero, R.E.; de Souza Júnior, V.S.; Cooper, M.; Sartor, L.R.; de Moya Partiti, C.S.; Jorge, F. de O.; Cohen, R.; de Jesus, S.L.; Ferreira, T.O. Effects of Slope Orientation on Pedogenesis of Altimontane Soils from the Brazilian Semi-Arid Region (Baturité Massif, Ceará). *Environ Earth Sci* 2015, 73, 3731–3743, doi:10.1007/s12665-014-3660-4.
55. Bao, Y.; Dolfing, J.; Guo, Z.; Chen, R.; Wu, M.; Li, Z.; Lin, X.; Feng, Y. Important Ecophysiological Roles of Non-Dominant Actinobacteria in Plant Residue Decomposition, Especially in Less Fertile Soils. *Microbiome* 2021, 9, 84, doi:10.1186/s40168-021-01032-x.
56. Bardelli, T.; Gómez-Brandón, M.; Ascher-Jenull, J.; Fornasier, F.; Arfaioli, P.; Francioli, D.; Egli, M.; Sartori, G.; Insam, H.; Pietramellara, G. Effects of Slope Exposure on Soil Physico-Chemical and Microbiological Properties along an Altitudinal Climosequence in the Italian Alps. *Science of the Total Environment* 2017, 575, 1041–1055, doi:10.1016/j.scitotenv.2016.09.176.
57. Ward, L.M.; Hemp, J.; Shih, P.M.; McGlynn, S.E.; Fischer, W.W. Evolution of Phototrophy in the Chloroflexi Phylum Driven by Horizontal Gene Transfer. *Front Microbiol* 2018, 9, doi:10.3389/fmicb.2018.00260.
58. Frenk, S.; Hadar, Y.; Minz, D. Resilience of Soil Bacterial Community to Irrigation with Water of Different Qualities under <scp>M</Scp> Editerranean Climate. *Environ Microbiol* 2014, 16, 559–569, doi:10.1111/1462-2920.12183.
59. Pii, Y.; Borruso, L.; Brusetti, L.; Crecchio, C.; Cesco, S.; Mimmo, T. The Interaction between Iron Nutrition, Plant Species and Soil Type Shapes the Rhizosphere Microbiome. *Plant Physiology and Biochemistry* 2016, 99, 39–48, doi:10.1016/j.plaphy.2015.12.002.

60. Shen, C.; Ge, Y.; Yang, T.; Chu, H. Verrucomicrobial Elevational Distribution Was Strongly Influenced by Soil PH and Carbon/Nitrogen Ratio. *J Soils Sediments* 2017, *17*, 2449–2456, doi:10.1007/s11368-017-1680-x.
61. Siles, J.A.; Rachid, C.T.C.C.; Sampedro, I.; García-Romera, I.; Tiedje, J.M. Microbial Diversity of a Mediterranean Soil and Its Changes after Biotransformed Dry Olive Residue Amendment. *PLoS One* 2014, *9*, e103035, doi:10.1371/journal.pone.0103035.
62. Egidi, E.; Wood, J.L.; Celestina, C.; May, T.W.; Mele, P.; Edwards, J.; Powell, J.; Bissett, A.; Franks, A.E. Delving into the Dark Ecology: A Continent-Wide Assessment of Patterns of Composition in Soil Fungal Communities from Australian Tussock Grasslands. *Fungal Ecol* 2019, *39*, 356–370, doi:10.1016/J.FUNECO.2019.03.001.
63. Egidi, E.; Delgado-Baquerizo, M.; Plett, J.M.; Wang, J.; Eldridge, D.J.; Bardgett, R.D.; Maestre, F.T.; Singh, B.K. A Few Ascomycota Taxa Dominate Soil Fungal Communities Worldwide. *Nat Commun* 2019, *10*, 2369, doi:10.1038/s41467-019-10373-z.
64. He, M.-Q.; Zhao, R.-L.; Liu, D.-M.; Denchev, T.T.; Begerow, D.; Yurkov, A.; Kemler, M.; Millanes, A.M.; Wedin, M.; McTaggart, A.R.; et al. Species Diversity of Basidiomycota. *Fungal Divers* 2022, *114*, 281–325, doi:10.1007/s13225-021-00497-3.
65. Schüßler, A.; Schwarzott, D.; Walker, C. A New Fungal Phylum, the Glomeromycota: Phylogeny and Evolution. *Mycol Res* 2001, *105*, 1413–1421, doi:10.1017/S0953756201005196.
66. Gleason, F.H.; Letcher, P.M.; Commandeur, Z.; Jeong, C.E.; McGee, P.A. The Growth Response of Some Chytridiomycota to Temperatures Commonly Observed in the Soil. *Mycol Res* 2005, *109*, 717–722, doi:10.1017/S0953756204002163.
67. Hanrahan-Tan, D.G.; Lilje, O.; Henderson, L. Chytrids in Soil Environments: Unique Adaptations and Distributions. *Encyclopedia* 2023, *3*, 642–664, doi:10.3390/encyclopedia3020046.
68. Vega, F.E.; Meyling, N. V.; Luangsa-ard, J.J.; Blackwell, M. Fungal Entomopathogens. In *Insect Pathology*; Elsevier, 2012; pp. 171–220.
69. Nahidan, S.; Nourbakhsh, F.; Mosaddeghi, M.R. Variation of Soil Microbial Biomass C and Hydrolytic Enzyme Activities in a Rangeland Ecosystem: Are Slope Aspect and Position Effective? *Arch Agron Soil Sci* 2015, *61*, 797–811, doi:10.1080/03650340.2014.958819.
70. Aponte, C.; Marañón, T.; García, L. V. Microbial C, N and P in Soils of Mediterranean Oak Forests: Influence of Season, Canopy Cover and Soil Depth. *Biogeochemistry* 2010, *101*, 77–92, doi:10.1007/s10533-010-9418-5.
71. Lucas-Borja, M.E.; Hedo de Santiago, J.; Yang, Y.; Shen, Y.; Candel-Pérez, D. Nutrient, Metal Contents and Microbiological Properties of Litter and Soil along a Tree Age Gradient in Mediterranean Forest Ecosystems. *Science of The Total Environment* 2019, *650*, 749–758, doi:10.1016/j.scitotenv.2018.09.079.
72. Šnajdr, J.; Valášková, V.; Merhautová, V.; Herinková, J.; Cajthaml, T.; Baldrian, P. Spatial Variability of Enzyme Activities and Microbial Biomass

- in the Upper Layers of *Quercus Petraea* Forest Soil. *Soil Biol Biochem* 2008, 40, 2068–2075, doi:10.1016/j.soilbio.2008.01.015.
73. Rosling, A.; Landeweert, R.; Lindahl, B.D.; Larsson, K. -H.; Kuyper, T.W.; Taylor, A.F.S.; Finlay, R.D. Vertical Distribution of Ectomycorrhizal Fungal Taxa in a Podzol Soil Profile. *New Phytologist* 2003, 159, 775–783, doi:10.1046/j.1469-8137.2003.00829.x.
 74. Xiang, S.-R.; Doyle, A.; Holden, P.A.; Schimel, J.P. Drying and Rewetting Effects on C and N Mineralization and Microbial Activity in Surface and Subsurface California Grassland Soils. *Soil Biol Biochem* 2008, 40, 2281–2289, doi:10.1016/j.soilbio.2008.05.004.
 75. Kuikman, P.J.; Van Vuure, M.M.I.; Van Veen, J.A. Effect of Soil Moisture Regime on Predation by Protozoa of Bacterial Biomass and the Release of Bacterial Nitrogen. *Agric Ecosyst Environ* 1989, 27, 271–279, doi:10.1016/0167-8809(89)90091-1.
 76. Augusto, L.; Ranger, J.; Binkley, D.; Rothe, A. Impact of Several Common Tree Species of European Temperate Forests on Soil Fertility. *Ann For Sci* 2002, 59, 233–253, doi:10.1051/forest:2002020.
 77. Billore, S.K.; Ohsawa, M.; Numata, M.; Okano, S. Microbial Biomass Nitrogen Pool in Soils from a Warm Temperate Grassland, and from Deciduous and Evergreen Forests in Chiba, Central Japan. *Biol Fertil Soils* 1995, 19, 124–128, doi:10.1007/BF00336147.
 78. Shahin, O.; Paul, N.M.-S.; Rambal, S.; Joffre, R.; Richard, F. Ectomycorrhizal Fungal Diversity in *Quercus Ilex* Mediterranean Woodlands: Variation among Sites and over Soil Depth Profiles in Hyphal Exploration Types, Species Richness and Community Composition. *Symbiosis* 2013, 61, 1–12, doi:10.1007/s13199-013-0252-0.
 79. O'Brien, H.E.; Parrent, J.L.; Jackson, J.A.; Moncalvo, J.-M.; Vilgalys, R. Fungal Community Analysis by Large-Scale Sequencing of Environmental Samples. *Appl Environ Microbiol* 2005, 71, 5544–5550, doi:10.1128/AEM.71.9.5544-5550.2005.
 80. Schumann, P. Conexibacteraceae. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*; Wiley, 2015; pp. 1–3.
 81. Eo, J.; Park, K.-C.; Kim, M.-H. Plant-Specific Effects of Sunn Hemp (*Crotalaria Juncea*) and Sudex (*Sorghum Bicolor* × *Sorghum Bicolor* Var. *Sudanense*) on the Abundance and Composition of Soil Microbial Community. *Agric Ecosyst Environ* 2015, 213, 86–93, doi:10.1016/j.agee.2015.07.025.
 82. Zou, J.; Dong, Y.; Wang, H.; Liang, W.; Li, D. Identification and Characterization of *Nothophoma Quercina* Causing Bud Blight on *Photinia* × *Fraseri* in China. *Plant Dis* 2021, 105, 1356–1364, doi:10.1094/PDIS-06-20-1218-RE.
 83. Lombard, L.; van der Merwe, N.A.; Groenewald, J.Z.; Crous, P.W. Generic Concepts in *Nectriaceae*. *Stud Mycol* 2015, 80, 189–245, doi:10.1016/j.simyco.2014.12.002.
 84. Ahmadpour, S.A.; Mehrabi-Koushki, M.; Farokhinejad, R.; Asgari, B. New Species of the Family Didymellaceae in Iran. *Mycol Prog* 2022, 21, 28, doi:10.1007/s11557-022-01800-5.

85. Hongsanan, S.; Hyde, K.D.; Phookamsak, R.; Wanasinghe, D.N.; McKenzie, E.H.C.; Sarma, V.V.; Lücking, R.; Boonmee, S.; Bhat, J.D.; Liu, N.-G.; et al. Refined Families of Dothideomycetes: Orders and Families Incertae Sedis in Dothideomycetes. *Fungal Divers* 2020, *105*, 17–318, doi:10.1007/s13225-020-00462-6.
86. Tahtamouni, M.E.; Khresat, S.; Lucero, M.; Sigala, J.; Unc, A. Diversity of Endophytes across the Soil-Plant Continuum for Atriplex Spp. in Arid Environments. *J Arid Land* 2016, *8*, 241–253, doi:10.1007/s40333-015-0061-9.
87. Schulz, B.; Boyle, C. The Endophytic Continuum. *Mycol Res* 2005, *109*, 661–686, doi:10.1017/S095375620500273X.
88. Hou, L.W.; Groenewald, J.Z.; Pfenning, L.H.; Yarden, O.; Crous, P.W.; Cai, L. The Phoma-like Dilemma. *Stud Mycol* 2020, *96*, 309–396, doi:10.1016/j.simyco.2020.05.001.
89. Chen, Q.; Jiang, J.R.; Zhang, G.Z.; Cai, L.; Crous, P.W. Resolving the *Phoma* Enigma. *Stud Mycol* 2015, *82*, 137–217, doi:10.1016/j.simyco.2015.10.003.
90. Fang, K.; Zhou, J.; Chen, L.; Li, Y.-X.; Yang, A.-L.; Dong, X.-F.; Zhang, H.-B. Virulence and Community Dynamics of Fungal Species with Vertical and Horizontal Transmission on a Plant with Multiple Infections. *PLoS Pathog* 2021, *17*, e1009769, doi:10.1371/journal.ppat.1009769.
91. Li, K.; Xu, L.; Bai, X.; Zhang, G.; Zhang, M.; Huang, Y. Differential Fungal Assemblages and Functions between the Plastisphere of Biodegradable and Conventional Microplastics in Farmland. *Science of The Total Environment* 2024, *906*, 167478, doi:10.1016/j.scitotenv.2023.167478.
92. Hartmann, M.; Lee, S.; Hallam, S.J.; Mohn, W.W. Bacterial, Archaeal and Eukaryal Community Structures throughout Soil Horizons of Harvested and Naturally Disturbed Forest Stands. *Environ Microbiol* 2009, *11*, 3045–3062, doi:10.1111/j.1462-2920.2009.02008.x.
93. Zeglin, L.H.; Taylor, A.E.; Myrold, D.D.; Bottomley, P.J. Bacterial and Archaeal AmoA Gene Distribution Covaries with Soil Nitrification Properties across a Range of Land Uses. *Environ Microbiol Rep* 2011, *3*, 717–726, doi:10.1111/j.1758-2229.2011.00290.x.
94. Szukics, U.; Hackl, E.; Zechmeister-Boltenstern, S.; Sessitsch, A. Rapid and Dissimilar Response of Ammonia Oxidizing Archaea and Bacteria to Nitrogen and Water Amendment in Two Temperate Forest Soils. *Microbiol Res* 2012, *167*, 103–109, doi:10.1016/j.micres.2011.04.002.
95. Sher, Y.; Zaady, E.; Nejdat, A. Spatial and Temporal Diversity and Abundance of Ammonia Oxidizers in Semi-Arid and Arid Soils: Indications for a Differential Seasonal Effect on Archaeal and Bacterial Ammonia Oxidizers. *FEMS Microbiol Ecol* 2013, *86*, 544–556, doi:10.1111/1574-6941.12180.

Capítulo VI. Discusión final

6.1. Discusión final

Esta tesis doctoral aborda una pregunta básica relacionada con examinar cómo la composición y estructura de las comunidades microbianas presentes en suelos, varía en relación con los factores bióticos (e.g. tipo de asociación vegetal) y abióticos (e.g. características topográficas y geoquímicas del suelo). Esto con el objetivo de determinar, entre otras cosas, como factores bióticos y abióticos influyen en los patrones de biodiversidad observados en el microbioma del suelo, y sus potenciales funciones en el ecosistema. En este contexto, la presente tesis se divide en 3 capítulos: El primero realiza un estado-del-arte en relación con el conocimiento a nivel país de la diversidad microbiana del suelo, identificando brechas, sesgos, avances y las potenciales soluciones o direcciones en el estudio de la biodiversidad microbiana del suelo en Chile y la Península Antártica. Este es complementado con material asociado a un capítulo de libro en la sección anexos (anexo 1). El segundo y tercer capítulos abordan mediante una suerte de estudio de caso, tópicos relacionados con la biodiversidad microbiana y los servicios ecosistémicos que estos prestan, como lo son ciclos biogeoquímicos, en un área icónica y representativa para Chile Central, como lo es el Parque Nacional La Campana (PNLC). De este modo, en la siguiente discusión se abordarán a modo de resumen las principales discusiones abordados en los capítulos ya antes mencionados a fin de dar respuesta a las preguntas de investigación, objetivos e hipótesis de trabajo enunciadas en las secciones iniciales de esta tesis.

6.1.1. El microbioma del suelo como objeto de estudio. Un estado-del-arte.

El suelo es uno de los ecosistemas más diversos del planeta, albergando una gran biodiversidad microbiana que es crucial para el funcionamiento de servicios ecosistémicos, como los ciclos biogeoquímicos. Esto se torna especialmente relevante ante la crisis de biodiversidad y cambio climático a escala global, siendo fundamental reconocer el rol de los ecosistemas en el mantenimiento de su salud,

el apoyo al bienestar humano y la mejora de la resiliencia frente a los cambios ambientales (Marselle et al., 2019; Wang et al., 2024). El artículo asociado al capítulo 3 titulado "Rising awareness to improve conservation of microorganisms in terrestrial ecosystems: advances and future directions in soil microbial diversity from Chile and the Antarctic Peninsula", así como también el capítulo de libro titulado "Diversidad microbiana de suelos y su estudio en Chile", disponible como material anexo de esta tesis, aborda este y otros temas en relación a la conservación de los microorganismos en los ecosistemas terrestres, y centrándose en los avances y las direcciones futuras en la biodiversidad microbiana del suelo en Chile y la Península Antártica.

Estos estudios resaltan la necesidad urgente de fomentar colaboraciones interdisciplinarias que integren ecología, microbiología y geociencia para mejorar nuestra comprensión de los ecosistemas del suelo. Este enfoque integral permite una visión más completa del problema, promueve soluciones innovadoras, mejora la relevancia de las políticas, transforma la educación y aborda las complejas interconexiones necesarias para enfrentar los diversos desafíos globales (Marselle et al., 2019; Schipper et al., 2021). Destaca además la relevancia de los microorganismos extremófilos encontrados en Chile para aplicaciones biotecnológicas, como la producción de alimentos o productos farmacéuticos y la biorremediación, ya que cuentan con adaptaciones a condiciones extremas, como alta salinidad, temperatura, acidez y radiación, y con capacidades enzimáticas que pueden aprovecharse para la biorremediación (G.-Q. Chen & Jiang, 2018; Orellana et al., 2018). Sin embargo, estos trabajos también resaltan la sub-representación de estudios de diversidad microbiana del suelo en Chile y la Península Antártica, denotando una importante brecha de conocimiento que puede comprometer las soluciones globales a la crisis de biodiversidad y cambio climático. En particular, los resultados basados en una exhaustiva revisión de literatura publicada entre 1975 y 2023, y que recopiló información de 343 artículos representando 1,335 puntos de muestreo, indican un esfuerzo de muestreo principalmente en áreas extremas de Chile (Lavergne

et al., 2024). Por lo tanto, queda en evidencia la existencia de una clara sub-representación de estudios del microbioma del suelo para gran parte de los ecosistemas del país, y especialmente para las zonas insulares. Este escenario de sesgos en el conocimiento y en la toma de datos, es compartido por gran parte de los países latinoamericanos que tienden a centralizar sus investigaciones en ciertas temáticas y áreas espaciales, y siendo por lo tanto un desafío que común entre estos (Nickson, 2023).

6.1.2. Sesgos metodológicos y perspectivas de futuras investigaciones

El muestreo de suelo en ecología microbiana está sujeto a diversos sesgos que pueden afectar la precisión y fiabilidad de los datos obtenidos. Uno de los problemas más comunes es la falta de uniformidad en los diseños de muestreo, donde a menudo se priorizan áreas más accesibles o densamente pobladas, lo que puede llevar a la sub-representación de la diversidad microbiana en regiones menos accesibles (Hermans et al., 2019). Además, el tamaño de las muestras influye en la diversidad detectada: las muestras pequeñas pueden no capturar la gama completa de taxones, especialmente aquellos raros, mientras que muestras más grandes ofrecen una visión más amplia, pero pueden enmascarar la diversidad local (Hermans et al., 2019; Penton et al., 2016). Además, como el muestreo de suelo es inherentemente destructivo; la misma ubicación exacta nunca puede ser muestreada repetidamente. Muestrear en una zona adyacente, dada la heterogeneidad espacial potencialmente grande de las comunidades microbianas del suelo, podría producir resultados confusos y/o sesgados (O'Brien et al., 2016).

Otro factor clave es el momento del muestreo, ya que las comunidades microbianas cambian con el tiempo debido a variaciones ambientales como la temperatura, humedad y disponibilidad de nutrientes. Ignorar estas variaciones temporales puede llevar a conclusiones erróneas sobre la composición y funciones de las comunidades microbianas (Hermans et al., 2019). Asimismo, muchos estudios se concentran en capas superficiales del suelo, dejando de lado

las capas profundas, donde se pueden encontrar comunidades microbianas distintas debido a la disponibilidad de nutrientes y las condiciones físicas (Naylor et al., 2022).

El procesamiento de muestras también introduce sesgos. Diferentes protocolos de extracción pueden favorecer la recuperación de ciertos taxones, lo que lleva a una representación desigual de las comunidades microbianas. Por ejemplo, algunos métodos pueden producir más ADN de ciertos grupos bacterianos, mientras que subrepresentan otros (Penton et al., 2016). Además, la elección de cebadores para la amplificación por PCR también afecta los resultados, ya que algunos cebadores favorecen la amplificación de taxones específicos, alterando la abundancia y diversidad percibidas (Penton et al., 2016). En el caso de esta tesis, para bacterias y arqueas se utilizó la región variable V4 del gen ARNr 16S con los cebadores 515F (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) y 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT) (Caporaso et al., 2011) para la secuenciación de alto rendimiento y para hongos la región ITS1-5F, con los cebadores ITS5-1737F (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) e ITS2-2043R (GCTGCGTTCTTCATCGATGC) (Degnan & Ochman, 2012). Al respecto el uso de ITS, se puede mencionar que ya que los distintos cebadores tienen diferentes eficacias para amplificar grupos específicos de hongos, esto podría potencialmente generar un tipo de sesgo. Por ejemplo, los cebadores ITS1-F favorecen a los Basidiomycetes, mientras que ITS2 y ITS3 tienden hacia los Ascomycetes, lo que puede sub-representar ciertos taxones en las muestras ambientales (Bellemain et al., 2010; Usyk et al., 2017). Además, los cebadores ITS tienen dificultades para distinguir ciertos grupos de hongos, como los Glomeromycetes, que son clave para entender las relaciones micorrícicas (George et al., 2019). Para el caso de los análisis realizados en esta tesis, los resultados muestran proporciones a nivel de phyla similares a los obtenidos por estudios previos (Bernhard et al., 2018; Rodríguez et al., 2022), sugiriendo por lo tanto que estos serían menores.

Finalmente, en cuanto al análisis de secuencias y el uso de bases de datos, estas varían de caso a caso, y en función de sus capacidades. Por ejemplo, Silva es una base de datos para procariontes que contiene alrededor de 190,000 secuencias, lo que le otorga una mayor capacidad para asignaciones taxonómicas en comparación con Greengenes, que contiene 99,000 secuencias (Balvočiūtė & Huson, 2017). Sin embargo, Greengenes permite un procesamiento bioinformático más rápido debido a su menor tamaño (Park & Won, 2018). Silva ha mostrado mejor rendimiento a nivel de género, pero tiene dificultades a nivel de especie debido a la falta de información taxonómica completa (Park & Won, 2018). Para hongos, la base de datos UNITE está diseñada para la identificación molecular utilizando la región ITS del ADN ribosomal, con cerca de 1 millón de secuencias fúngicas públicas, organizadas en 459,000 de especies (SHs) (Abarenkov et al., 2024). Esta base de datos es útil para estudios ecológicos amplios, ya que incluye una gran cantidad de organismos eucariotas más allá de los hongos, lo que permite explorar asociaciones biológicas entre diferentes reinos (Abarenkov et al., 2024; Balvočiūtė & Huson, 2017). Para el análisis de los datos del PNLC, en los procariontes se utilizó la base de datos Greengenes, y solo se reportó un 3% de secuencias procariotas no asignadas a la base de datos.

Diferente es el caso de los hongos, donde la base de datos UNITE del 2017 con solo secuencias fúngicas reportó un 37% de secuencias no asignadas y un 1,8% de secuencias no clasificadas. Otros estudios, ya reportan un alto porcentaje de secuencias no asignadas para eucariotas utilizando amplicones ITS (Tedersoo et al., 2018) y para gremios fúngicos funcionales, llegando hasta el 38,6% (Tedersoo et al., 2009). Para este caso se realizó una prueba con la base de datos fúngicas UNITE del 2021, la cual presentó un porcentaje menor de secuencias no asignadas, pero superior al 30%. Cuando se analizó la base de datos UNITE del 2021 para eucariotas las secuencias no asignadas llegaron a ~10%, dando cuenta de que existe un potencial de identificación de otras especies del microbioma del suelo, distintas a los hongos.

6.1.3. Reservorios microbianos del suelo, funciones e interacciones ecológicas en un contexto espacio-temporal amplio

En los últimos años, se ha avanzado en la comprensión de las propiedades del suelo que afectan la estructura del microbioma. A pesar de esto, los efectos de los microorganismos en su hábitat han recibido menos atención, con la mayoría de los estudios centrados en su papel en la dinámica del carbono y el nitrógeno (Philippot et al., 2013). El enriquecimiento de nutrientes, un componente crítico del cambio global, altera la relación entre la biodiversidad aérea y las funciones del ecosistema, promoviendo el dominio de especies y reduciendo la biodiversidad del suelo, aunque los mecanismos detrás de esto aún no están claros (Hu et al., 2024).

Los reservorios microbianos del suelo en los ecosistemas Mediterráneos desempeñan un papel vital en el ciclo de nutrientes y la salud del ecosistema. Están involucrados en la renovación del carbono y el nitrógeno, lo que influye en la disponibilidad de nutrientes esenciales para las plantas. Estudios recientes han demostrado que las comunidades microbianas en estos ecosistemas muestran una diversidad metabólica significativa, y muchos microorganismos permanecen poco caracterizados (Diamond et al., 2019). Las actividades microbianas, como la mineralización y la solubilización de nutrientes, mejoran la fertilidad del suelo al convertir los compuestos orgánicos en formas accesibles para las plantas (Camacho et al., 2022). Además, los cambios en el clima y el uso de la tierra pueden alterar las estructuras de las comunidades microbianas, lo que afecta su funcionalidad y la dinámica general de los nutrientes en el suelo (Camacho et al., 2022).

Otras investigaciones indican que las variaciones estacionales de la humedad influyen significativamente en la composición y la actividad de la comunidad microbiana, afectando a sus funciones metabólicas relacionadas con la renovación del carbono y el nitrógeno (Diamond et al., 2019; Pérez & Armesto,

2018). Además, los factores antropogénicos, como los cambios en el uso del suelo, pueden alterar la diversidad microbiana, lo que podría afectar a los procesos biogeoquímicos esenciales para la sostenibilidad de los bosques (Camacho et al., 2022). De este modo, los factores que parecieran determinar cambios en la composición y diversidad de la comunidad microbiana están bien establecidos, pero su relación con el funcionamiento microbiano no se comprende completamente, especialmente a gran escala (Delgado-Baquerizo et al., 2020; Labouyrie et al., 2023). A pesar de la importancia de los suelos como base de todos los ecosistemas terrestres, aún falta una evaluación global de los puntos críticos para la conservación de la biodiversidad del suelo (Guerra et al., 2022). Lo anterior limita nuestra capacidad para predecir cómo la pérdida de biodiversidad del suelo podría afectar el bienestar humano y la sostenibilidad de los ecosistemas (Delgado-Baquerizo et al., 2020), dado que la biodiversidad está cambiando a un ritmo sin precedentes debido a factores de cambio global, afectando particularmente a las especies microbianas raras, que son más sensibles a estos cambios (Zhou et al., 2020). Por lo tanto, comprender estas dinámicas es vital para una gestión eficaz de los ecosistemas, dejando entrever la importancia de utilizar un enfoque espacio-temporal amplio, al margen que el objeto de estudio sea de carácter micro. Esto, ya que la riqueza microbiana exhibe patrones de distribución espacial distintivos, influenciados por interacciones ecológicas y factores ambientales. Entre los impulsores clave se encuentran la disponibilidad de sustrato, la concentración de nutrientes en el suelo, la elevación y las características topográficas. Por ejemplo, las interacciones como la competencia y el comensalismo moldean la estructura de la comunidad microbiana, mientras que factores edáficos, como el pH y el carbono orgánico, tienen un impacto significativo en la diversidad de los ecosistemas forestales (Martinez-Rabert et al., 2022; Peng et al., 2019; Zhao et al., 2022). Además, la distancia geográfica se ha identificado como un factor que influye en la similitud de la comunidad, con procesos estocásticos que desempeñan un papel fundamental en las distribuciones bacterianas (Du et al.,

2023; Li et al., 2023). Comprender estas dinámicas es esencial para predecir el comportamiento microbiano en diversos ecosistemas.

Los organismos en nuestro planeta forman comunidades a través de biomas, que son fundamentales para el uso sostenible y la protección de la biodiversidad. Las clasificaciones actuales de biomas terrestres se basan principalmente en características climáticas y aspectos funcionales de las comunidades vegetales, dejando de lado a los organismos del suelo, incluidos los grupos microbianos diversos y funcionalmente importantes (Vasar et al., 2022). Junto con lo anterior, se ha observado, que las plantas perennes crean islas fértiles debajo de sus copas, que son zonas productivas y biodiversas. Estos puntos críticos determinan en gran medida la estructura y funcionamiento del paisaje, sin embargo, deja entrever una vez la importancia de considerar un enfoque espacio-temporal amplio a fin de establecer adecuadamente como la distribución de los microorganismos del suelo participa en la funcionalidad de los ecosistemas (Eldridge et al., 2024). Es por eso que la cartografía de la distribución global de microorganismos ha emergido como un área crucial en la investigación biológica contemporánea. Diversos proyectos han sido desarrollados con el objetivo de mapear la diversidad microbiana en diferentes entornos, proporcionando una visión más completa de la vida en nuestro planeta. Uno de los proyectos más destacados es el Earth Microbiome Project, respaldado por la National Science Foundation (NSF) de EE. UU., que ha estado mapeando la diversidad microbiana a nivel global desde 2010, facilitando la identificación de nuevos grupos de microorganismos y funciones, así como el desarrollo de modelos predictivos para la distribución del microbioma del suelo (Gilbert et al., 2010, 2014, 2018). Otro proyecto relevante es el TerraGenome Project, respaldado por los National Institutes of Health (NIH) de EE. UU., que se desde 2018 ha secuenciado los genomas de más de 1000 microorganismos de diversos ambientes, lo que ha permitido identificar nuevos grupos y funciones microbianas (Vogel et al., 2009).

El estudio de la diversidad microbiana en suelos asociados a áreas de conservación como lo son los Parques Nacionales ha sido objeto de interés en diversas iniciativas científicas. Un ejemplo notable es el Proyecto de Diversidad Microbiana del Suelo del Parque Nacional de Yellowstone (YNP Metagenome Project), respaldado por el National Park Service (NPS) de EE. UU. que desde 2010 se ha dedicado a caracterizar el microbioma del suelo en distintos ambientes dentro del parque, permitiendo identificar nuevos grupos de microorganismos y funciones microbianas relevantes (Inskeep, 2013; Stoner et al., 2014). A nivel latinoamericano, destaca el Proyecto Microbioma Ecuatoriano (EcuMP) como una iniciativa integradora destinada a cerrar la brecha de investigación en el microbioma para Ecuador (Díaz et al., 2021). En este contexto, la distribución del microbioma del suelo del PNLC, presenta particularidades. Las comunidades procariotas del suelo, cuando se estudian en cuatro sitios, revelan la existencia de 1000 ASVs comunes en todos los sitios muestreados, lo que representa el 10,9% del total. En particular, el matorral xerófito exhibió el mayor número de ASVs únicos, alcanzando un total de 1782, seguido del bosque higrófilo con 1660 ASVs, el bosque esclerófilo seco con 1117 ASVs y el bosque esclerófilo con 1067 ASVs. Por su parte los hongos presentaron un menor número de ASVs compartidos entre los distintos sitios, con un total de 436 ASVs que representan el 4,8% del total de secuencias. El bosque higrófilo concentró la mayor diversidad de ASVs únicos, con 2452 secuencias (27,1%), seguido por el bosque esclerófilo con 1670 ASVs, el bosque esclerófilo seco con 1507 ASVs y el matorral xerófilo con 1437 ASVs. Lo anterior daría cuenta que la distribución de secuencias es mayormente particular para cada uno de los ambientes estudiados. Además, los hongos presentarían una mayor especificidad intra sitio que los procariontes.

6.1.4. Características y funciones del microbioma del suelo en un Hotspot de biodiversidad para Chile Central

Los capítulos cuatro y cinco de la presente tesis, utilizan el área del Parque Nacional La Campana (PNLC) como caso de estudio a fin de poner a prueba las hipótesis de trabajo planteadas en esta tesis. La elección de este sitio radica principalmente en sus características como representante de la vegetación natural de Chile Central, y en particular con aquellas que evolucionaron en función del desarrollo de un clima tipo Mediterráneo. A nivel mundial, los biomas forestales cubren aproximadamente 38 millones de km² (Peh et al., 2015), de los cuales cerca de 85 millones de hectáreas corresponden solo a la región mediterránea (Ridder, 2007). Estos ecosistemas se destacan, además, por presentar áreas con una notable biodiversidad y alto nivel de endemismo o hotspots (Mittermeier et al., 2002; Myers et al., 2000; Myers Norman, 2003). Así, y utilizando un enfoque integrador y biogeográfico (Cox et al., 2016; Moreira-Muñoz, 2011; Nelson, 1978), se examinó la composición y estructura de las comunidades microbianas del suelo presentes en diferentes asociaciones vegetales que se desarrollan bajo particulares condiciones ambientales.

En el capítulo “Microbial Diversity of Soil in a Mediterranean Biodiversity Hotspot: Parque Nacional La Campana, Chile” se aborda la primera hipótesis de trabajo, relacionada con determinar si la composición y estructura de las comunidades microbianas del suelo, y su relación a gradientes ambientales como la exposición solar, elevación y cobertura vegetal. En particular, y desde el enfoque de la toposecuencia, se planteó que la estructura de la comunidad microbiana del suelo variaría entre las diferentes asociaciones vegetales y que se desarrollan bajo particulares condiciones ambientales, su biotopo. De este modo, se observó una la mayor abundancia y diversidad de bacterias y arqueas en que las laderas de umbría, donde se encuentra el bosque esclerófilo, que en las de solana que es en donde se desarrolla el matorral xerófito. Esto, pareciera responder a las diferencias en la temperatura y la materia orgánica presentes en el suelo de ambos sitios. Esta última, se encuentra íntimamente relacionada con la producción de hojarasca, la cual actúa como fuente de materia orgánica. Diferentes estudios han mostrado que características de la hojarasca, y que

varían según las especies arbóreas, genera diferencias en las comunidades microbianas del suelo ((Aponte et al., 2010; Schweitzer et al., 2011; Thoms et al., 2010). Para el caso de este estudio, se observa que las comunidades microbianas del suelo del bosque esclerófilo y del bosque higrófilo mostraron una asociación con la composición isotópica de la materia orgánica y a las condiciones fisicoquímicas del suelo, como el pH y la densidad aparente. Otros estudios con resultados similares interpretan este resultado como evidencia en pos de la hipótesis del rol crucial del microbioma del suelo en el ciclo del carbono (Bardelli et al., 2017; Nahidan et al., 2015), a la vez que da cuenta de su papel como reservorio de este (Lucas-Borja et al., 2019). En conjunto, estos hallazgos resaltan el papel fundamental del microbioma del suelo en los ciclos biogeoquímicos y otros procesos esenciales para el mantenimiento de la salud del suelo (Eviner & Chapin III, 2003).

Estudios realizados en otros ecosistemas de tipo Mediterráneo, dan cuenta de la notable heterogeneidad espacial que afecta tanto a la estructura como a la composición de las comunidades microbianas en el suelo (Baldrian, 2016b). En esta tesis, al analizar cada comunidad vegetal, se observa un ligero aumento de procariotas nitrificantes en el bosque esclerófilo, el bosque higrófilo y el bosque esclerófilo seco, en comparación con el matorral xerófilo. El dominio archaea no mostró una alta abundancia en los suelos del (PNLC); sin embargo, las arqueas AOA fueron detectadas predominantemente en los suelos del bosque esclerófilo. Este patrón podría estar vinculado con la reducción de nitrógeno en ambas comunidades vegetales, dado que se ha propuesto que la relación C/N del suelo es el mejor predictor de la abundancia relativa de arqueas. Se ha observado que su presencia disminuye en condiciones de alta disponibilidad de nitrógeno inorgánico, probablemente como resultado de interacciones competitivas con bacterias nitrificantes (Bates et al., 2011). En cuanto a los hongos, se detecta un incremento del saprótrofo del suelo en el bosque esclerófilo, un aumento de parásitos fúngicos en el matorral xerófilo, y una mayor presencia de saprótrofos del estiércol en el bosque esclerófilo, el matorral xerófilo y el bosque esclerófilo

seco. Finalmente, y a nivel trófico, los hongos saprotróficos son los más abundantes, seguidos de los patótrofos y simbiótrofos en todos los sitios. En términos de gremios ecológicos, destacan el patógeno de plantas, el endófito, el patógeno animal y el saprótrofo de madera.

En el capítulo, “Soil microbial communities changes along depth and contrasting facing slopes at the Parque Nacional La Campana, Chile”, se buscó comprobar que la composición y estructura de la comunidad microbiana en el Parque Nacional La Campana (PNLC) está influenciada por la topografía y la profundidad del suelo. En este caso, se pudo probar que, así como las comunidades vegetales del matorral xerófito y del bosque esclerófilo se distribuyen en laderas con orientación norte y sur, respectivamente, se ven afectadas las condiciones microclimáticas y edáficas (Hauck et al., 2016; Luebert & Plissock, 2006). Dado lo anterior, en el matorral xerófito, se observó una mayor prevalencia taxones asociados con suelos menos fértiles (Bao et al., 2021), mientras que en bosque esclerófilo predominaron arqueas vinculadas a mayor humedad (Bardelli et al., 2017). Respecto a la profundidad, y contrario a lo planteado, la diversidad microbiana disminuyó con la profundidad, con cambios en bacterias y hongos hacia capas más profundas (Rosling et al., 2003; Šnajdr et al., 2008). A pesar de que no hubo diferencias significativas en la estructura de la comunidad microbiana a distintas profundidades (5-15 cm), se observaron cambios específicos en función de la profundidad, como la reducción de ASVs exclusivas en matorral xerófito y el enriquecimiento de hongos en la capa superficial de bosque esclerófilo.

En este último capítulo, se corroboran hallazgos ya identificados en el capítulo anterior, y que guarda relación con la segunda hipótesis de trabajo de esta tesis. En específico, se comprobó que los ecosistemas esclerófilos (bosque esclerófilo y matorral xerófito) presentan micorrizas y filos comunes, mientras que el bosque esclerófilo seco y el bosque higrófilo muestran agrupaciones micorrícicas específicas y filos microbianos distintivos a nivel de la biósfera rara (<0,1%),

asociados a la presencia de palmas. La presencia de la palma chilena (*Jubaea chilensis*), que no es indicativa ni exclusiva de una comunidad vegetal (Villaseñor, 1998, 2021), se asoció con una alta abundancia de hongos Chytridiomycota y Mucoromycota en ambos tipos de bosque, lo que sugirió una relación entre estas especies y la presencia de palmas. Esto último fue comprobado en el capítulo cuatro del presente documento.

En resumen, las preguntas e hipótesis de trabajo abordadas por esta tesis, lograron ser comprobadas dando cuenta de la existencia de patrones comunes para múltiples ecosistemas en relación a características del microbioma del suelo y variables ambientales. Sin embargo, es crucial considerar los posibles sesgos metodológicos en la investigación de ecología microbiana para mejorar la precisión en la detección y representación de la diversidad microbiana. Así también lo es el abordar las brechas en el conocimiento de la diversidad microbiana en regiones sub-representadas, siendo necesario aumentar la colaboración internacional y local. Esto facilitará el intercambio de datos, experiencias y metodologías, proporcionando una visión más integral del microbioma del suelo. Además, el uso de tecnologías avanzadas, como la secuenciación de alto rendimiento, permitirá estudios más profundos y precisos, revelando la diversidad oculta y mejorando nuestra comprensión de las interacciones microbianas en este ecosistema único.

Finalmente, se recomienda establecer estudios a largo plazo que evalúen los efectos del cambio climático y otras alteraciones ambientales sobre la diversidad microbiana del suelo. Así también lo es el identificar con mayor detalle su participación en procesos macroecológicos a escala de paisaje, a fin de poder ser modelados en pos de gestionar sus potenciales servicios ecosistémicas. Estos esfuerzos contribuirán no solo al conocimiento científico global, sino también al desarrollo de estrategias locales de conservación y manejo sustentable del suelo y su microbioma, en el contexto de la crisis climática y medioambiental actual.

Capítulo VII. Conclusión general

Los resultados de esta tesis revelan el interés creciente de las ciencias ambientales en el estudio de los suelos, destacándose aproximaciones desde la genómica como las utilizadas por la microbiología ambiental. En este contexto, el enfoque interdisciplinario utilizado en este trabajo da cuenta de su potencial heurístico, al poder concluir con nuevas preguntas e interrogantes. Así mismo, se abre la puerta al desarrollo de nuevas líneas de investigación con el potencial de realizar estudios a largo plazo que aborden por ejemplo los efectos del cambio climático en la biodiversidad microbiana del suelo. En resumen, el estudio de un objeto tan intangible como lo es el microbioma y su rol en el funcionamiento de los ecosistemas es un nuevo desafío. La idea de establecer laboratorios naturales que permitan evaluar las respuestas a largo plazo de las comunidades microbianas del suelo ante factores del medioambientales, es todo un desafío. Esto ya que requiere involucrar tanto a la academia como a las comunidades locales y otros actores interesados. Por lo tanto, nuevas iniciativas orientadas a acciones en pos del desarrollo de una ciencia más transdisciplinaria son necesarias y urgentes.

El Parque Nacional La Campana (PNLC), resultó ser un lugar ideal para el desarrollo de este trabajo, gracias a las características biofísicas de sus paisajes. Esto permitió abordar hipótesis relacionadas con la estructura de la comunidad microbiana del suelo en función a factores relacionados con elementos abióticos (e.g. relieve) y bióticos (e.g. vegetación) del paisaje. Los resultados de esta tesis demuestran como variables ambientales que son parte del geosistema o paisaje, pero que operan a diferentes escalas (e.g. exposición solar y relación C/N) juegan un papel determinante en la distribución de hongos y procariotas, con géneros específicos dominando en distintos tipos de vegetación, como el bosque esclerófilo, el matorral xerófito, bosque esclerófilo seco y el bosque higrófilo. Las comunidades microbianas, con su capacidad de adaptación a condiciones edáficas particulares, destacan la complejidad de las interacciones biológicas en estos ecosistemas y sugieren la presencia de asociaciones planta-hongo adaptadas. De este modo, se devela una potencial la funcionalidad del

microbioma del suelo en relación con el ciclo del nitrógeno y la descomposición de materia orgánica, lo que subraya su rol crucial en el mantenimiento de la salud del suelo y la resiliencia del ecosistema.

Finalmente, es importante recalcar que, para desarrollar estrategias efectivas de conservación y restauración de ecosistemas PNLC y otras áreas, es fundamental profundizar en el conocimiento de la diversidad microbiana y sus funciones. Esta tesis enfatiza la necesidad de continuar con investigaciones orientadas a entender cómo las actividades humanas impactan estas comunidades microbianas y cómo el microbioma del suelo puede contribuir a la restauración ecológica. La integración de enfoques interdisciplinarios y la implementación de tecnologías de vanguardia deberían ser puntos claves a la hora de enfrentar los nuevos desafíos ambientales asociados a garantizar la preservación del suelo y su microbioma.

Capítulo VIII. Referencias

- Acuña, J. J., Durán, P., Lagos, L. M., Ogram, A., de la Luz Mora, M., & Jorquera, M. A. (2016). Bacterial alkaline phosphomonoesterase in the rhizospheres of plants grown in Chilean extreme environments. *Biology and Fertility of Soils*, 52(6), 763–773. <https://doi.org/10.1007/s00374-016-1113-9>
- Aguilera, P., Cornejo, P., Borie, F., Barea, J. M., von Baer, E., & Oehl, F. (2014). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Triticum aestivum* L. plants growing in an Andosol with high aluminum level. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 186, 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.01.029>
- Alcolombri, U., Pioli, R., Stocker, R., & Berry, D. (2022). Single-cell stable isotope probing in microbial ecology. *ISME Communications*, 2(1). <https://doi.org/10.1038/s43705-022-00142-3>
- Aponte, C., Marañón, T., & García, L. V. (2010). Microbial C, N and P in soils of Mediterranean oak forests: influence of season, canopy cover and soil depth. *Biogeochemistry*, 101(1–3), 77–92. <https://doi.org/10.1007/s10533-010-9418-5>
- Bachar, A., Al-Ashhab, A., Soares, M. I. M., Sklarz, M. Y., Angel, R., Ungar, E. D., & Gillor, O. (2010). Soil Microbial Abundance and Diversity Along a Low Precipitation Gradient. *Microbial Ecology*, 60(2), 453–461. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9727-1>
- Baldrian, P. (2016). Forest microbiome: diversity, complexity and dynamics. *FEMS Microbiology Reviews*, fuw040. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw040>
- Bao, Y., Dolfing, J., Guo, Z., Chen, R., Wu, M., Li, Z., Lin, X., & Feng, Y. (2021). Important ecophysiological roles of non-dominant Actinobacteria in plant residue decomposition, especially in less fertile soils. *Microbiome*, 9(1), 84. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01032-x>
- Bardelli, T., Gómez-Brandón, M., Ascher-Jenuell, J., Fornasier, F., Arfaioli, P., Francioli, D., Egli, M., Sartori, G., Insam, H., & Pietramellara, G. (2017). Effects of slope exposure on soil physico-chemical and microbiological properties along an altitudinal climosequence in the Italian Alps. *Science of the Total Environment*, 575, 1041–1055. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.176>
- Bates, S. T., Berg-Lyons, D., Caporaso, J. G., Walters, W. A., Knight, R., & Fierer, N. (2011). Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil. *The ISME Journal*, 5(5), 908–917. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.171>
- Bellemain, E., Carlsen, T., Brochmann, C., Coissac, E., Taberlet, P., & Kauserud, H. (2010). ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. *BMC Microbiology*, 10(1), 189. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-189>
- Benedetti, S., Balocchi, F., & Hormazábal, M. (2018). Hongos micorrícicos arbusculares (HMA) asociados a poblaciones naturales de *Peumus boldus* en Chile Central. *Gayana. Botánica*, 75(1), 431–437.
- Bernhard, N., Moskwa, L. M., Schmidt, K., Oeser, R. A., Aburto, F., Bader, M. Y., Baumann, K., von Blanckenburg, F., Boy, J., van den Brink, L., Brucker, E., Büdel, B., Canessa, R., Dippold, M. A., Ehlers, T. A., Fuentes, J. P., Godoy, R., Jung, P., Karsten, U., ... Kühn, P. (2018). Pedogenic and microbial interrelations to regional climate and local topography: New insights from a climate gradient (arid to humid) along the Coastal Cordillera of Chile. *Catena*, 170, 335–355. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.06.018>

- Berry, D., & Loy, A. (2018). Stable-Isotope Probing of Human and Animal Microbiome Function. *Trends in Microbiology*, 26(12), 999–1007. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.06.004>
- Bidegain, I., Cerda, C., Catalán, E., Tironi, A., & López-Santiago, C. (2019a). Social preferences for ecosystem services in a biodiversity hotspot in South America. *PLOS ONE*, 14(4), e0215715. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215715>
- Bidegain, I., Cerda, C., Catalán, E., Tironi, A., & López-Santiago, C. (2019b). Social preferences for ecosystem services in a biodiversity hotspot in South America. *PLOS ONE*, 14(4), e0215715. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215715>
- Blagodatskaya, E., & Kuzyakov, Y. (2013). Active microorganisms in soil: Critical review of estimation criteria and approaches. *Soil Biology and Biochemistry*, 67, 192–211. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.08.024>
- Bull, A. T., & Asenjo, J. A. (2013). Microbiology of hyper-arid environments: recent insights from the Atacama Desert, Chile. *Antonie van Leeuwenhoek*, 103(6), 1173–1179. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-9911-7>
- Cáceres-Ruz, P., Cordero, C., González-Silva, G., Quiroz, K., Bobadilla, J., Bravo-Castillo, C., Caligari, P. D. S., Carrasco, B., & García-González, R. (2012). *Efficient protocols for the extraction of microbial DNA from the rhizosphere of hydrophilic forests in Chile.*
- Camacho, A., Mora, C., Picazo, A., Rochera, C., Camacho-Santamans, A., Morant, D., Roca-Pérez, L., Ramos-Miras, J. J., Rodríguez-Martín, J. A., & Boluda, R. (2022). Effects of Soil Quality on the Microbial Community Structure of Poorly Evolved Mediterranean Soils. *Toxics*, 10(1), 14. <https://doi.org/10.3390/toxics10010014>
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Costello, E. K., Berg-Lyons, D., Gonzalez, A., Stombaugh, J., Knights, D., Gajer, P., Ravel, J., Fierer, N., Gordon, J. I., & Knight, R. (2011). Moving pictures of the human microbiome. *Genome Biology*, 12(5), R50. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-5-r50>
- Carrillo, R., Godoy, R., & Peredo, H. (1992). Simbiosis micorrícica en comunidades boscosas del Valle Central en el sur de Chile. *Bosque*, 13(2), 57–67. <https://doi.org/10.4206/bosque.1992.v13n2-08>
- Cederlund, H., Wessén, E., Enwall, K., Jones, C. M., Juhanson, J., Pell, M., Philippot, L., & Hallin, S. (2014). Soil carbon quality and nitrogen fertilization structure bacterial communities with predictable responses of major bacterial phyla. *Applied Soil Ecology*, 84, 62–68. <https://doi.org/10.1016/J.APSOIL.2014.06.003>
- Chen, G.-Q., & Jiang, X.-R. (2018). Next generation industrial biotechnology based on extremophilic bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, 50, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.11.016>
- Coban, O., De Deyn, G. B., & van der Ploeg, M. (2022). Soil microbiota as game-changers in restoration of degraded lands. *Science*, 375(6584). <https://doi.org/10.1126/science.abe0725>
- Corporación Nacional Forestal (CONAF). (2016). *Plan de Manejo Parque Nacional La Campana.*
- Degnan, P. H., & Ochman, H. (2012). Illumina-based analysis of microbial community diversity. *The ISME Journal*, 6(1), 183–194. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.74>
- Delgado-Baquerizo, M., Reich, P. B., Trivedi, C., Eldridge, D. J., Abades, S., Alfaro, F. D., Bastida, F., Berhe, A. A., Cutler, N. A., Gallardo, A., García-Velázquez, L.,

- Hart, S. C., Hayes, P. E., He, J.-Z., Hseu, Z.-Y., Hu, H.-W., Kirchmair, M., Neuhauser, S., Pérez, C. A., ... Singh, B. K. (2020). Multiple elements of soil biodiversity drive ecosystem functions across biomes. *Nature Ecology & Evolution*, 4(2), 210–220. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-1084-y>
- Demenois, J., Merino-Martín, L., Fernandez Nuñez, N., Stokes, A., & Carriconde, F. (2020). Do diversity of plants, soil fungi and bacteria influence aggregate stability on ultramafic Ferralsols? A metagenomic approach in a tropical hotspot of biodiversity. *Plant and Soil*, 448(1–2), 213–229. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04364-8>
- Diamond, S., Andeer, P. F., Li, Z., Crits-Christoph, A., Burstein, D., Anantharaman, K., Lane, K. R., Thomas, B. C., Pan, C., Northen, T. R., & Banfield, J. F. (2019). Mediterranean grassland soil C–N compound turnover is dependent on rainfall and depth, and is mediated by genomically divergent microorganisms. *Nature Microbiology*, 4(8), 1356–1367. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0449-y>
- Díaz, M., Jarrín-V, P., Simarro, R., Castillejo, P., Tenea, G. N., & Molina, C. A. (2021). The Ecuadorian Microbiome Project: a plea to strengthen microbial genomic research. *Neotropical Biodiversity*, 7(1), 223–237. <https://doi.org/10.1080/23766808.2021.1938900>
- Dorador, C., Vila, I., Imhoff, J. F., & Witzel, K.-P. (2008). Cyanobacterial diversity in Salar de Huasco, a high altitude saline wetland in northern Chile: an example of geographical dispersion? *FEMS Microbiology Ecology*, 64(3), 419–432. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00483.x>
- Du, X., Gu, S., Zhang, Z., Li, S., Zhou, Y., Zhang, Z., Zhang, Q., Wang, L., Ju, Z., Yan, C., Li, T., Wang, D., Yang, X., Peng, X., & Deng, Y. (2023). Spatial distribution patterns across multiple microbial taxonomic groups. *Environmental Research*, 223, 115470. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115470>
- Dukunde, A., Schneider, D., Schmidt, M., Veldkamp, E., & Daniel, R. (2019). Tree Species Shape Soil Bacterial Community Structure and Function in Temperate Deciduous Forests. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01519>
- Elórtegui, S., & Moreira-Muñoz, A. (2009). *Parque Nacional La Campana: origen de una reserva de la biósfera en Chile central* (S. Elórtegui & A. Moreira-Muñoz, Eds.; Segunda edición). Taller la Era.
- Ettema, C. (2002). Spatial soil ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(4), 177–183. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)02496-5](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02496-5)
- Eviner, V. T., & Chapin III, F. S. (2003). Functional Matrix: A Conceptual Framework for Predicting Multiple Plant Effects on Ecosystem Processes. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 34(1), 455–485. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132342>
- Falkowski, P. G., Fenchel, T., & Delong, E. F. (2008). The Microbial Engines That Drive Earth's Biogeochemical Cycles. *Science*, 320(5879), 1034–1039. <https://doi.org/10.1126/science.1153213>
- Fierer, N. (2017). Embracing the unknown: Disentangling the complexities of the soil microbiome. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 15, Issue 10, pp. 579–590). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.87>

- Fierer, N., & Jackson, R. B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(3), 626–631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>
- Gałązka, A., Grządziel, J., Gałązka, R., Ukalska-Jaruga, A., Strzelecka, J., & Smreczak, B. (2018). Genetic and Functional Diversity of Bacterial Microbiome in Soils With Long Term Impacts of Petroleum Hydrocarbons. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01923>
- Gardi, C., Montanarella, L., Arrouays, D., Bispo, A., Lemanceau, P., Jolivet, C., Mulder, C., Ranjard, L., Römbke, J., Rutgers, M., & Menta, C. (2009). Soil biodiversity monitoring in Europe: Ongoing activities and challenges. *European Journal of Soil Science*, 60(5), 807–819. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2009.01177.x>
- Gilbert, J. A., Jansson, J. K., & Knight, R. (2014). The Earth Microbiome project: successes and aspirations. *BMC Biology*, 12(1), 69. <https://doi.org/10.1186/s12915-014-0069-1>
- Gilbert, J. A., Jansson, J. K., & Knight, R. (2018). Earth Microbiome Project and Global Systems Biology. *MSystems*, 3(3). <https://doi.org/10.1128/mSystems.00217-17>
- Gilbert, J. A., Meyer, F., Antonopoulos, D., Balaji, P., Brown, C. T., Brown, C. T., Desai, N., Eisen, J. A., Evers, D., Field, D., Feng, W., Huson, D., Jansson, J., Knight, R., Knight, J., Kolker, E., Konstantindis, K., Kostka, J., Kyrpides, N., ... Stevens, R. (2010). Meeting Report: The Terabase Metagenomics Workshop and the Vision of an Earth Microbiome Project. *Standards in Genomic Sciences*, 3(3), 243–248. <https://doi.org/10.4056/sigs.1433550>
- Guerra, C. A., Berdugo, M., Eldridge, D. J., Eisenhauer, N., Singh, B. K., Cui, H., Abades, S., Alfaro, F. D., Bamigboye, A. R., Bastida, F., Blanco-Pastor, J. L., de los Ríos, A., Durán, J., Grebenc, T., Illán, J. G., Liu, Y.-R., Makhalanyane, T. P., Mamet, S., Molina-Montenegro, M. A., ... Delgado-Baquerizo, M. (2022). Global hotspots for soil nature conservation. *Nature*, 610(7933), 693–698. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05292-x>
- Guerra, C. A., Heintz-Buschart, A., Sikorski, J., Chatzinotas, A., Guerrero-Ramírez, N., Cesarz, S., Beaumelle, L., Rillig, M. C., Maestre, F. T., Delgado-Baquerizo, M., Buscot, F., Overmann, J., Patoine, G., Phillips, H. R. P., Winter, M., Wubet, T., Küsel, K., Bardgett, R. D., Cameron, E. K., ... Eisenhauer, N. (2020). Blind spots in global soil biodiversity and ecosystem function research. *Nature Communications*, 11(1), 3870. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17688-2>
- Hauck, L., Moreira-Muñoz, A., & Nezádal, W. (2016). La flora exótica ruderal del Parque Nacional La Campana, Región de Valparaíso, Chile central. *Gayana. Botánica*, 73(2), 206–219. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432016000200206>
- Hermans, S. M., Buckley, H. L., & Lear, G. (2019). Perspectives on the Impact of Sampling Design and Intensity on Soil Microbial Diversity Estimates. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01820>
- Inskeep, W. (2013). The YNP metagenome project: environmental parameters responsible for microbial distribution in the Yellowstone geothermal ecosystem. *Frontiers in Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00067>
- Iorio, M., Tocchetti, A., Cruz, J. C. S., Del Gatto, G., Brunati, C., Maffioli, S. I., Sosio, M., & Donadio, S. (2018). Novel Polyethers from Screening Actinobacteria spp. *Antibiotics*, 7(2), 47. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7020047>

- Iqbal, J., Thomasson, J. A., Jenkins, J. N., Owens, P. R., & Whisler, F. D. (2005). Spatial Variability Analysis of Soil Physical Properties of Alluvial Soils. *Soil Science Society of America Journal*, 69(4), 1338–1350. <https://doi.org/10.2136/sssaj2004.0154>
- Jobbágy, E. G., & Jackson, R. B. (2001). The Distribution of Soil Nutrients with Depth: Global Patterns and the Imprint of Plants. *Biogeochemistry*, 53(1), 51–77. <https://doi.org/10.1023/A:1010760720215>
- Jorquera, M. A., Inostroza, N. G., Lagos, L. M., Barra, P. J., Marileo, L. G., Rilling, J. I., Campos, D. C., Crowley, D. E., Richardson, A. E., & Mora, M. L. (2014). Bacterial community structure and detection of putative plant growth-promoting rhizobacteria associated with plants grown in Chilean agro-ecosystems and undisturbed ecosystems. *Biology and Fertility of Soils*, 50(7), 1141–1153. <https://doi.org/10.1007/s00374-014-0935-6>
- Kleiner, M., Kouris, A., Violette, M., D'Angelo, G., Liu, Y., Korenek, A., Tolić, N., Sachsenberg, T., McCalder, J., Lipton, M. S., & Strous, M. (2023). Ultra-sensitive isotope probing to quantify activity and substrate assimilation in microbiomes. *Microbiome*, 11(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01454-1>
- Kuzyakov, Y., & Blagodatskaya, E. (2015). Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biology and Biochemistry*, 83, 184–199. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.01.025>
- Labouyrie, M., Ballabio, C., Romero, F., Panagos, P., Jones, A., Schmid, M. W., Mikryukov, V., Dulya, O., Tedersoo, L., Bahram, M., Lugato, E., van der Heijden, M. G. A., & Orgiazzi, A. (2023). Patterns in soil microbial diversity across Europe. *Nature Communications*, 14(1), 3311. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37937-4>
- Lavergne, C., Cabrol, L., Cuadros-Orellana, S., Quinteros-Urquieta, C., Stoll, A., Yáñez, C., Tapia, J., Orlando, J., & Rojas, C. (2024). Rising awareness to improve conservation of microorganisms in terrestrial ecosystems: advances and future directions in soil microbial diversity from Chile and the Antarctic Peninsula. *Frontiers in Environmental Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2024.1326158>
- Li, C., Liu, J., Bao, J., Wu, T., & Chai, B. (2023). Effect of Light Heterogeneity Caused by Photovoltaic Panels on the Plant–Soil–Microbial System in Solar Park. *Land*, 12(2), 367. <https://doi.org/10.3390/land12020367>
- Li, P., Xu, T., Hu, Q., Gu, S., Yang, Y., Wang, Z., Deng, X., Wang, B., Li, W., & Zhu, Y. (2023). Spatial distribution pattern across multiple microbial groups along an environmental stress gradient in tobacco soil. *Annals of Microbiology*, 73(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s13213-023-01717-8>
- Lucas-Borja, M. E., Hedo de Santiago, J., Yang, Y., Shen, Y., & Candel-Pérez, D. (2019). Nutrient, metal contents and microbiological properties of litter and soil along a tree age gradient in Mediterranean forest ecosystems. *Science of The Total Environment*, 650, 749–758. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.079>
- Luebert, F., & Plischoff, P. (2006). *Sinopsis bioclimática y vegetal de Chile*. Editorial Universitaria.
- Lynch, J. M., & de Leij, F. (2012). Rhizosphere. In *Encyclopedia of Life Sciences*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0000403.pub2>

- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., & Clark, D. P. (2008). Brock biology of microorganisms 12th edn. *Int. Microbiol*, 11(1).
- Mapelli, F., Riva, V., Vergani, L., Choukrallah, R., & Borin, S. (2020). Unveiling the Microbiota Diversity of the Xerophyte *Argania spinosa* L. Skeels Root System and Residuesphere. *Microbial Ecology*, 80(4), 822–836. <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01543-4>
- Marselle, M. R., Stadler, J., Korn, H., Irvine, K. N., & Bonn, A. (2019). Biodiversity and Health in the Face of Climate Change: Challenges, Opportunities and Evidence Gaps. In *Biodiversity and Health in the Face of Climate Change* (pp. 1–13). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-02318-8_1
- Martinez-Rabert, E., van Amstel, C., Smith, C., Sloan, W. T., & Gonzalez-Cabaleiro, R. (2022). Environmental and ecological controls of the spatial distribution of microbial populations in aggregates. *PLOS Computational Biology*, 18(12), e1010807. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1010807>
- Montanarella, L., Badraoui, M., Chude, V., Costa, I., Mamo, T., Yemefack, M., Aulang, M. S., Yagi, K., Hong, S. Y., & Vijarnsorn, P. (2015). *Status of the world's soil resources: main report*.
- Morrissey, E. M., Mau, R. L., Schwartz, E., Caporaso, J. G., Dijkstra, P., van Gestel, N., Koch, B. J., Liu, C. M., Hayer, M., McHugh, T. A., Marks, J. C., Price, L. B., & Hungate, B. A. (2016). Phylogenetic organization of bacterial activity. *The ISME Journal*, 10(9), 2336–2340. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.28>
- Nahidan, S., Nourbakhsh, F., & Mosaddeghi, M. R. (2015). Variation of soil microbial biomass C and hydrolytic enzyme activities in a rangeland ecosystem: are slope aspect and position effective? *Archives of Agronomy and Soil Science*, 61(6), 797–811. <https://doi.org/10.1080/03650340.2014.958819>
- Nair, G. R., & Raja, S. S. (2017). Decoding Complex Soil Microbial Communities through New Age “Omics.” *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 09(06). <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000382>
- Naylor, D., McClure, R., & Jansson, J. (2022). Trends in Microbial Community Composition and Function by Soil Depth. *Microorganisms*, 10(3), 540. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030540>
- Nickson, A. (2023). Decentralization in Latin America After 40 Years: Work in Progress; A Commentary Essay. *Public Organization Review*, 23(3), 1017–1034. <https://doi.org/10.1007/s11115-023-00739-9>
- Oeser, R. A., Stroncik, N., Moskwa, L. M., Bernhard, N., Schaller, M., Canessa, R., van den Brink, L., Köster, M., Brucker, E., Stock, S., Fuentes, J. P., Godoy, R., Matus, F. J., Osés Pedraza, R., Osses McIntyre, P., Paulino, L., Seguel, O., Bader, M. Y., Boy, J., ... von Blanckenburg, F. (2018). Chemistry and microbiology of the Critical Zone along a steep climate and vegetation gradient in the Chilean Coastal Cordillera. *Catena*, 170, 183–203. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.06.002>
- Okoro, C. K., Brown, R., Jones, A. L., Andrews, B. A., Asenjo, J. A., Goodfellow, M., & Bull, A. T. (2009). Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 95(2), 121–133. <https://doi.org/10.1007/s10482-008-9295-2>

- Oliverio, A. M., Bradford, M. A., & Fierer, N. (2017). Identifying the microbial taxa that consistently respond to soil warming across time and space. *Global Change Biology*, 23(5), 2117–2129. <https://doi.org/10.1111/gcb.13557>
- Orellana, R., Macaya, C., Bravo, G., Dorochesi, F., Cumsille, A., Valencia, R., Rojas, C., & Seeger, M. (2018). Living at the Frontiers of Life: Extremophiles in Chile and Their Potential for Bioremediation. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02309>
- Osburn, E. D., McBride, S. G., Aylward, F. O., Badgley, B. D., Strahm, B. D., Knoepp, J. D., & Barrett, J. E. (2019). Soil Bacterial and Fungal Communities Exhibit Distinct Long-Term Responses to Disturbance in Temperate Forests. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02872>
- Peddle, S. D., Cando-Dumancela, C., Krauss, S. L., Liddicoat, C., Sanders, A., & Breed, M. F. (2024). Agricultural land-use legacies affect soil bacterial communities following restoration in a global biodiversity hotspot. *Biological Conservation*, 290, 110437. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2023.110437>
- Pedrós-Alió, C. (2007). Dipping into the Rare Biosphere. *Science*, 315(5809), 192–193. <https://doi.org/10.1126/science.1135933>
- Peng, W., Zhu, Y., Song, M., Du, H., Song, T., Zeng, F., Zhang, F., Wang, K., Luo, Y., Lan, X., & Zhang, J. (2019). The spatial distribution and drivers of soil microbial richness and diversity in a karst broadleaf forest. *Forest Ecology and Management*, 449, 117241. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.03.033>
- Penton, C. R., Gupta, V. V. S. R., Yu, J., & Tiedje, J. M. (2016). Size Matters: Assessing Optimum Soil Sample Size for Fungal and Bacterial Community Structure Analyses Using High Throughput Sequencing of rRNA Gene Amplicons. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00824>
- Pérez, C. A., & Armesto, J. J. (2018). Coupling of microbial nitrogen transformations and climate in sclerophyll forest soils from the Mediterranean Region of central Chile. *Science of the Total Environment*, 625, 394–402. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.306>
- Pérez-Valera, E., Goberna, M., & Verdú, M. (2019). Fire modulates ecosystem functioning through the phylogenetic structure of soil bacterial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 129, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.11.007>
- Petersen, S. O., Nielsen, T. H., Frostegård, Å., & Olesen, T. (1996). O₂ uptake, C metabolism and denitrification associated with manure hot-spots. *Soil Biology and Biochemistry*, 28(3), 341–349. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(95\)00150-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(95)00150-6)
- Philippot, L., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P., & van der Putten, W. H. (2013). Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 11(11), 789–799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>
- Pinton, R., Varanini, Z., & Nannipieri, P. (2007). *The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. CRC press.
- Placella, S. A., Brodie, E. L., & Firestone, M. K. (2012). Rainfall-induced carbon dioxide pulses result from sequential resuscitation of phylogenetically clustered microbial groups. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(27), 10931–10936. <https://doi.org/10.1073/pnas.1204306109>
- Qiu, L., Zhang, Q., Zhu, H., Reich, P. B., Banerjee, S., van der Heijden, M. G. A., Sadowsky, M. J., Ishii, S., Jia, X., Shao, M., Liu, B., Jiao, H., Li, H., & Wei, X.

- (2021). Erosion reduces soil microbial diversity, network complexity and multifunctionality. *The ISME Journal*, 15(8), 2474–2489. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00913-1>
- Quintanilla, V. (2014). Os impactes dos incêndios florestais nos bosques esclerófilos costeiros mediterrâneos do Chile. O caso da região de Valparaíso. *Territorium*, 21, 125–134. https://doi.org/10.14195/1647-7723_21_10
- Ridder, R. M. (2007). Global forest resources assessment 2010: options and recommendations for a global remote sensing survey of forests. *FAO For. Resour. Assess. Programme Work. Pap*, 141.
- Rodríguez, J., González-Pérez, J. A., Turmero, A., Hernández, M., Ball, A. S., González-Vila, F. J., & Arias, M. E. (2018). Physico-chemical and microbial perturbations of Andalusian pine forest soils following a wildfire. *Science of The Total Environment*, 634, 650–660. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.028>
- Rodriguez, V., Moskwa, L. M., Oses, R., Kühn, P., Riveras-Muñoz, N., Seguel, O., Scholten, T., & Wagner, D. (2022a). Impact of Climate and Slope Aspects on the Composition of Soil Bacterial Communities Involved in Pedogenetic Processes along the Chilean Coastal Cordillera. *Microorganisms*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050847>
- Rodriguez, V., Moskwa, L.-M., Oses, R., Kühn, P., Riveras-Muñoz, N., Seguel, O., Scholten, T., & Wagner, D. (2022b). Impact of Climate and Slope Aspects on the Composition of Soil Bacterial Communities Involved in Pedogenetic Processes along the Chilean Coastal Cordillera. *Microorganisms*, 10(5), 847. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050847>
- Rosling, A., Landeweert, R., Lindahl, B. D., Larsson, K. -H., Kuyper, T. W., Taylor, A. F. S., & Finlay, R. D. (2003). Vertical distribution of ectomycorrhizal fungal taxa in a podzol soil profile. *New Phytologist*, 159(3), 775–783. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00829.x>
- Schipper, E. L. F., Dubash, N. K., & Mulugetta, Y. (2021). Climate change research and the search for solutions: rethinking interdisciplinarity. *Climatic Change*, 168(3–4), 18. <https://doi.org/10.1007/s10584-021-03237-3>
- Schweitzer, J. A., Fischer, D. G., Rehill, B. J., Wooley, S. C., Woolbright, S. A., Lindroth, R. L., Whitham, T. G., Zak, D. R., & Hart, S. C. (2011). Forest gene diversity is correlated with the composition and function of soil microbial communities. *Population Ecology*, 53(1), 35–46. <https://doi.org/10.1007/s10144-010-0252-3>
- Šnajdr, J., Valášková, V., Merhautová, V., Herinková, J., Cajthaml, T., & Baldrian, P. (2008). Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9), 2068–2075. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.01.015>
- Stockmann, U., Minasny, B., & McBratney, A. B. (2014). How fast does soil grow? *Geoderma*, 216, 48–61. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.10.007>
- Stoner, D. L., Lee, R., White, L., & Rope, R. (2014). Mapping Microbial Biodiversity Case Study: The Yellowstone National Park Microbial Database and Map Server. In *Microbial Diversity and Bioprospecting* (pp. 232–236). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555817770.ch23>
- Sul, W. J., Asuming-Brempong, S., Wang, Q., Turlousse, D. M., Penton, C. R., Deng, Y., Rodrigues, J. L. M., Adiku, S. G. K., Jones, J. W., Zhou, J., Cole, J. R., &

- Tiedje, J. M. (2013). Tropical agricultural land management influences on soil microbial communities through its effect on soil organic carbon. *Soil Biology and Biochemistry*, 65, 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.05.007>
- Tedersoo, L., Pärtel, K., Jairus, T., Gates, G., Põldmaa, K., & Tamm, H. (2009). Ascomycetes associated with ectomycorrhizas: Molecular diversity and ecology with particular reference to the Helotiales. *Environmental Microbiology*, 11(12), 3166–3178. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02020.x>
- Tedersoo, L., Tooming-Klunderud, A., & Anslan, S. (2018). PacBio metabarcoding of Fungi and other eukaryotes: errors, biases and perspectives. *New Phytologist*, 217(3), 1370–1385. <https://doi.org/10.1111/nph.14776>
- Thoms, C., Gättinger, A., Jacob, M., Thomas, F. M., & Gleixner, G. (2010). Direct and indirect effects of tree diversity drive soil microbial diversity in temperate deciduous forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(9), 1558–1565. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.05.030>
- Usyk, M., Zolnik, C. P., Patel, H., Levi, M. H., & Burk, R. D. (2017). Novel ITS1 Fungal Primers for Characterization of the Mycobiome. *MSphere*, 2(6). <https://doi.org/10.1128/mSphere.00488-17>
- Veresoglou, S. D., Halley, J. M., & Rillig, M. C. (2015). Extinction risk of soil biota. In *Nature Communications* (Vol. 6). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/ncomms9862>
- Viles, H. A. (2012). Microbial geomorphology: A neglected link between life and landscape. *Geomorphology*, 157–158, 6–16. <https://doi.org/10.1016/j.geomorph.2011.03.021>
- Vilkiene, M., Mockeviciene, I., Kadziene, G., Karcauskiene, D., Repsiene, R., & Auskalniene, O. (2023). Bacterial Communities: Interaction to Abiotic Conditions under Effect of Anthropogenic Pressure. *Sustainability*, 15(14), 11366. <https://doi.org/10.3390/su151411366>
- Villaseñor, R. (1998). *Guía para el reconocimiento de las especies arbóreas y arbustivas del Parque Nacional La Campana*. CONAF V Región.
- Villaseñor, R. (2021). Unidades fisionómicas y florísticas del Parque Nacional La Campana. *Chloris Chilensis Revista Chilena de Flora y Vegetación*, 24(2), 128–134.
- Vogel, T. M., Simonet, P., Jansson, J. K., Hirsch, P. R., Tiedje, J. M., van Elsas, J. D., Bailey, M. J., Nalin, R., & Philippot, L. (2009). TerraGenome: a consortium for the sequencing of a soil metagenome. *Nature Reviews Microbiology*, 7(4), 252–252. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2119>
- Wang, Z., Wang, T., Zhang, X., Wang, J., Yang, Y., Sun, Y., Guo, X., Wu, Q., Nepovimova, E., Watson, A. E., & Kuca, K. (2024). Biodiversity conservation in the context of climate change: Facing challenges and management strategies. *Science of The Total Environment*, 937, 173377. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173377>
- Zhao, Y., Luo, M., Zhou, Y., Jia, X., Kang, S., Yang, S., & Mu, Q. (2022). Spatial patterns of dominant bacterial community components and their influential factors in the southern Qinling Mountains, China. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1024236>

Zhou, Z., Wang, C., & Luo, Y. (2020). Meta-analysis of the impacts of global change factors on soil microbial diversity and functionality. *Nature Communications*, 11(1), 3072. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16881-7>

Capítulo IX

Anexo 1

CAPÍTULO 3

DIVERSIDAD MICROBIANA DE SUELOS Y SU ESTUDIO EN CHILE

Claudia Rojas Alvarado^{1,2}, Carolina Quinteros Urquieta³, Carolina Merino⁴, Alexandra Stoll^{5,6,7}, Sara Cuadros-Orellana⁸, Carolina Yáñez⁹

Disponible en libro: Metodologías aplicadas para la conservación de la biodiversidad en Chile, a cargo de los editores Jorge Pérez y Nélida Villaseñor.

¹ Laboratorio de Ecología Microbiana y Biogeoquímica de Suelos, Instituto de Ciencias Agroalimentarias, Animales y Ambientales, Universidad de O'Higgins.

² Center of Applied Ecology and Sustainability (CAPES).

³ Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha.

⁴ Laboratory of Geomicrobiology, Department of Chemical Sciences and Natural Resources, Universidad de La Frontera.

⁵ Laboratory of Geomicrobiology, Department of Chemical Sciences and Natural Resources, Universidad de La Frontera.

⁶ Universidad de La Serena.

⁷ Instituto de Investigación Multidisciplinario en Ciencia y Tecnología, Universidad La Serena.

⁸ Laboratorio de Genómica y Ecología Microbiana Aplicada, Centro de Biotecnología de los Recursos Naturales, Universidad Católica del Maule.

⁹ Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

CAPÍTULO 3 DIVERSIDAD MICROBIANA DE SUELOS Y SU ESTUDIO EN CHILE

Claudia Rojas Alvarado^{1,2}, Carolina Quinteros Urquieta³,
Carolina Merino⁴, Alexandra Stoll^{5,6,7}, Sara Cuadros-Orellana⁸,
Carolina Yáñez⁹

1. RESUMEN

Los suelos son el hábitat más diverso de nuestro planeta, donde viven más de la mitad de las especies de la Tierra, pudiendo incluso llegar a una riqueza biológica por unidad de área superior a la observada en los ecosistemas sobre los suelos. La biodiversidad edáfica se entiende como la variedad de formas de vida, desde genes y especies, hasta las comunidades que éstos forman, además de las relaciones ecológicas a las cuales los organismos contribuyen, desde un nivel de microhábitat hasta uno de paisaje. La biodiversidad de suelo considera tanto aquellos organismos que viven sobre y en este ecosistema, aquellos que cumplen al menos una etapa de su ciclo de vida en éste, así como también los que se encuentran en los tejidos de simbiontes que habitan los suelos. Dentro de los organismos edáficos,

se encuentran los seres microscópicos que conforman la microbiota. A pesar de su tamaño, los microorganismos del suelo son los responsables de llevar a cabo importantes funciones ecosistémicas, como por ejemplo conducir ciclos biogeoquímicos, por lo que son fundamentales para la salud y funcionamiento de estos ecosistemas. Estos organismos microscópicos representan una biomasa microbiana que puede constituir entre 0,6 y 1,1% del carbono orgánico del suelo, donde bacterias y hongos conforman la mayor proporción de la biomasa microbiana, con aproximadamente 10^2 a $10^3 \mu\text{g C microbiano g}^{-1}$ de suelo, de hecho, se estima que aproximadamente un 50% de las bacterias y un 90% de los hongos que habitan nuestro planeta están en el suelo.

¹ Laboratorio de Ecología Microbiana y Biogeoquímica de Suelos, Instituto de Ciencias Agroalimentarias, Animales y Ambientales, Universidad de O'Higgins.

² Center of Applied Ecology and Sustainability (CAPEs).

³ Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha.

⁴ Laboratory of Geomicrobiology, Department of Chemical Sciences and Natural Resources, Universidad de La Frontera.

⁵ Laboratorio de Microbiología Aplicada, Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas (CEAZA);

⁶ Universidad de La Serena.

⁷ Instituto de Investigación Multidisciplinario en Ciencia y Tecnología, Universidad La Serena.

⁸ Laboratorio de Genómica y Ecología Microbiana Aplicada, Centro de Biotecnología de los Recursos Naturales, Universidad Católica del Maule.

⁹ Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

9.1. Resumen

Los suelos son el hábitat más diverso de nuestro planeta, donde viven más de la mitad de las especies de la Tierra, pudiendo incluso llegar a una riqueza biológica por unidad de área superior a la observada en los ecosistemas sobre los suelos. La biodiversidad edáfica se entiende como la variedad de formas de vida, desde genes y especies, hasta las comunidades que éstos forman, además de las relaciones ecológicas a las cuales los organismos contribuyen, desde un nivel de microhábitat hasta uno de paisaje. La biodiversidad de suelo considera tanto aquellos organismos que viven sobre y en este ecosistema, aquellos que cumplen al menos una etapa de su ciclo de vida en éste, así como también los que se encuentran en los tejidos de simbioses que habitan los suelos. Dentro de los organismos edáficos, se encuentran los seres microscópicos que conforman la microbiota. A pesar de su tamaño, los microorganismos del suelo son los responsables de llevar a cabo importantes funciones ecosistémicas, como por ejemplo conducir ciclos biogeoquímicos, por lo que son fundamentales para la salud y funcionamiento de estos ecosistemas. Estos organismos microscópicos representan una biomasa microbiana que puede constituir entre 0,6 y 1,1% del carbono orgánico del suelo, donde bacterias y hongos conforman la mayor proporción de la biomasa microbiana, con aproximadamente 10^2 a 10^3 $\mu\text{g C}$ microbiano g^{-1} de suelo, de hecho, se estima que aproximadamente un 50% de las bacterias y un 90% de los hongos que habitan nuestro planeta están en el suelo.

En las últimas décadas, los avances en técnicas moleculares y bioinformática han ampliado enormemente nuestra comprensión y valoración de la estructura de las comunidades microbianas. En cuanto a los procariontes (bacterias y arqueas), en los suelos se han descrito aproximadamente 25 filos, de los cuales Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes son los más abundantes. Por otro lado, en las arqueas se han descrito los filos Crenarchaeota, Euryarchaeota, Parvarchaeota como las más abundantes. En

cuanto a los eucariontes, específicamente hongos microscópicos, los filos mayormente descritos en suelos incluyen Basidiomycota, Ascomycota, Zygomycota, Ascomycota y Glomeromycota. A pesar de los importantes avances en el conocimiento de microbiota de suelos que se han desprendido de técnicas de estudio basadas en material genético, muchos de estos organismos microscópicos aún no pueden ser aislados y cultivados, por lo que su funcionamiento en los ecosistemas es ampliamente desconocido. Tanto es así que, del total de células que pueden ser observadas en una muestra de suelo bajo el microscopio, solo entre el 1 y 10% puede cultivarse en el laboratorio, lo que reafirma la enorme brecha de conocimiento que aún tenemos sobre la vida que ocurre en los suelos y el consiguiente desconocimiento de sus potencialidades. Esto es de especial relevancia en contextos actuales de extremos climáticos, enfermedades emergentes, seguridad alimentaria, y contaminación, entre otros, puesto que los microorganismos edáficos son fundamentales en la contribución de los suelos a enfrentar estos desafíos globales.

Las funciones desempeñadas por los microorganismos del suelo dan paso a diversos servicios ecosistémicos (contribuciones de la naturaleza al bienestar humano). A pesar de la amplia variedad de beneficios ecosistémicos proporcionados por los microorganismos del suelo, pocos estudios en Chile se han centrado específicamente en este tema. En el presente capítulo, buscamos relevar la importancia de los suelos, particularmente de la biodiversidad microbiana de estos ecosistemas, y su contribución a diversos servicios ecosistémicos, así como también destacar estudios de la biodiversidad microbiana de suelos a nivel nacional. Los apartados del capítulo otorgan una mirada sobre lo que se entiende y conoce en la actualidad de la diversidad microbiana edáfica, otorga alguno de los principales ejemplos de servicios ecosistémicos relacionados con la microbiota edáfica, elabora al respecto de los principales métodos de estudio de la biodiversidad microbiana de suelos, y presenta estudios de casos en el territorio nacional. Finalmente, se consideran

algunas recomendaciones que buscan relevar la importancia de ampliar el ámbito de estudio de la biodiversidad de microorganismos en los suelos de Chile, así como la necesidad urgente de contar con un marco legislativo robusto que permita proteger los suelos a nivel nacional.

9.2. BIODIVERSIDAD EDÁFICA Y SU CONTRIBUCIÓN A LOS SERVICIOS ECOSISTÉMICOS DE SUELO

9.2.1 Suelos, dentro de los ecosistemas más diversos de nuestro planeta

Los suelos son ecosistemas vivos, heterogéneos y dinámicos que varían en sus condiciones ambientales desde una escala de micrómetros a escalas globales, lo que da paso a la vasta biodiversidad característica de estos ecosistemas (Fierer 2017). Tanto es así, que los suelos son considerados dentro de los hábitats más diversos de la Tierra, pudiendo incluso llegar a una riqueza biológica por unidad de área superior a la observada sobre estos (Nielsen et al. 2015). Esta biodiversidad edáfica es fundamental para apoyar las funciones y servicios ecosistémicos provistos por los suelos. Se ha estimado que los suelos albergan aproximadamente el 25% de las especies animales descritas en ecosistemas terrestres, considerando principalmente artrópodos, anélidos y microinvertebrados (Decaëns et al. 2006). Sin embargo, estimaciones más recientes, y que involucran especies que van desde microorganismos a mamíferos, indican que el suelo alberga cerca del 59% de las especies que habitan nuestro planeta (Anthony et al. 2023). Sin embargo, y a pesar de la gran diversidad biológica que ocurre en los suelos, la mayor parte de esta y su funcionalidad aún sigue siendo desconocida (Wurst et al. 2012).

La biodiversidad edáfica se entiende como la variedad de formas de vida, desde genes y especies, hasta las comunidades que estos forman, además de las relaciones ecológicas a las cuales los organismos contribuyen, desde un nivel de microhábitat hasta uno de paisaje (FAO et al. 2020). La biodiversidad de suelo considera aquellos organismos que viven sobre y en este ecosistema (como por

ejemplo insectos que se alimentan de los restos orgánicos acumulados sobre el suelo), aquellos que cumplen al menos una etapa de su ciclo de vida en este (incluyendo las semillas que germinan en el suelo), así como también los que se encuentran en los tejidos de simbioses que habitan el suelo (Anthony et al. 2023). La variedad de formas de vida en los suelos puede ser clasificada según el tamaño de los organismos, que es la forma clásica de estudio, principalmente debido a que esta característica tiene directa relación con cómo los organismos perciben los cambios abióticos del hábitat donde se encuentran (Wurst et al. 2012). Sin embargo, la biodiversidad de suelos también puede aplicar a la variedad genética, fenotípica, funcional, estructural, y diversidad trófica (Paul 2015). En cuanto a su tamaño, los organismos del suelo varían desde una dimensión (considerando el ancho del individuo) de nm hasta cm, pasando por los microorganismos del suelo o microbiota edáfica (20 nm - 10 μ m), que incluyen virus, arqueas, bacterias y hongos; la microfauna (10 μ m - 0.1 mm), donde se encuentran protozoos y nemátodos; la mesofauna (0.1 mm - 2 mm), que considera microartrópodos como ácaros, colémbolos y pequeñas larvas de insectos; la macrofauna (2 mm - 20 mm), con grandes invertebrados del suelo como lombrices, chanchitos de tierra, hormigas, termitas, escarabajos, arácnidos, miriápodos y larvas de insectos; y finalmente la megafauna (sobre los 20 mm), que son vertebrados como por ejemplo anfibios y roedores (Wurst et al. 2012; FAO et al. 2020).

Los microorganismos representan una proporción destacable en el suelo, donde del total de bacterias y hongos que se encuentran en la Tierra, se estima que aproximadamente un 50% y un 90% habitan en este ecosistema, respectivamente (Anthony et al. 2023). Estos organismos microscópicos representan una biomasa microbiana que puede conformar entre 0,6 y 1,1% del carbono orgánico del suelo (Fierer et al. 2009), donde justamente bacterias y hongos conforman la mayor proporción de la biomasa microbiana con aproximadamente 102 a 103 μ g C microbiano g⁻¹ de suelo (Fierer 2017). Nada más en un gramo de suelo, se estima que se pueden encontrar del orden de 1 a

10 billones de células vivas, distribuidas en billones de células de bacterias que comprenden decenas de miles de diferentes taxas, y en una extensión de hifas fúngicas que pueden alcanzar los 200 m (Torsvik y Øvreås 2002; FAO et al. 2020). En las últimas décadas los avances de técnicas moleculares y bioinformática han ampliado enormemente nuestra comprensión y valoración de la diversidad filogenética y estructura taxonómicas de las comunidades microbianas de suelos (Fierer 2017). En cuanto a los procariontes (que comprenden bacterias y arqueas), en los suelos se han descrito aproximadamente 25 filos o divisiones de bacterias, de los cuales Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes son los más abundantes; sin embargo, la mayor parte de los filos ocurren en baja frecuencia (filos denominados raros) (Lauber et al. 2009), por otro lado, en las arqueas se han descrito los filos Crenarchaeota, Euryarchaeota, Parvarchaeota (Fierer 2017). En cuanto a eucariontes, específicamente hongos microscópicos, los filos mayormente descritos en suelos incluyen Basidiomycota, Ascomycota, Zygomycota y Glomeromycota (Wurst et al. 2012; Fierer 2017). A pesar de los importantes avances en el conocimiento de la biodiversidad de suelos que se han desprendido con las técnicas basadas en el estudio del material genético de los microorganismos, muchos de estos aún no pueden ser aislados con técnicas de cultivos tradicionales, por lo que su funcionamiento en los ecosistemas es largamente desconocido (Jansson y Hofmockel 2020). De hecho, del total de células que pueden ser observadas en una muestra de suelo bajo el microscopio, solo entre el 1 y 10 % puede cultivarse en el laboratorio (Zuberer 1994; Torsvik y Øvreås 2002; FAO et al. 2020), lo que reafirma la enorme brecha de conocimiento que aún tenemos sobre la vida que ocurre en los suelos y el consiguiente desconocimiento de sus potencialidades.

La microbiota edáfica es responsable de llevar a cabo un número importante de funciones ecosistémicas (entendidas como los procesos naturales que ocurren en estos), las que finalmente derivan en los servicios ecosistémicos o beneficios resultantes de los suelos (Brussaard 2012). Las funciones ecosistémicas

desempeñadas por los organismos del suelo dependen íntimamente de la estructura de los ecosistemas, es decir de los constituyentes bióticos y abióticos de estos (Brussaard 2012). Dentro de las condiciones abióticas de los suelos, el pH (Lauber et al. 2009), la disponibilidad de nitrógeno (Cederlund et al. 2014), el contenido de carbono orgánico (Sul et al. 2013), la temperatura (Oliverio et al. 2017) y el estado redox del suelo (Pett-Ridge y Firestone 2005), han sido señalados como las propiedades químicas que mejor explican la estructura de las comunidades bacterianas. Por otro lado, la estructura física de los suelos, referida a la forma en que se ordenan las partículas orgánicas e inorgánicas en unidades definidas, otorga espacio poroso y área superficial que sirve como hábitat para los organismos del suelo, esta también define la capacidad de adaptación de los organismos del suelo (Wurst et al. 2012). Los agregados de suelo, al estar muchas veces aislados unos de otros, y por ende proporcionar diversos microhábitats no conectados, pueden permitir la evolución paralela de distintos grupos microbianos, por lo que se ha sugerido que este aislamiento espacial, sería uno de los factores que explicarían la alta biodiversidad característica de los suelos (Jansson y Hofmockel 2020). La diversidad y actividad microbiana también responde a los usos de suelo y a los manejos que se le den a este (Alvear et al. 2005; Núñez Ramos et al. 2012; Castañeda et al. 2015). Por lo tanto el manejo y uso sostenible de los suelos es fundamental a la hora de reducir la pérdida de biodiversidad edáfica y proteger procesos ecológicos relacionados con la actividad microbiana.

Es así entonces, que este capítulo pretende contribuir a una mejor comprensión de la relevancia de la biodiversidad edáfica para el funcionamiento de estos ecosistemas y la provisión de servicios ecosistémicos a partir de estos. Los apartados del capítulo otorgan una mirada sobre lo que se entiende y conoce en la actualidad de la diversidad microbiana edáfica, otorga alguno de los principales ejemplos de servicios ecosistémicos relacionados con la microbiota edáfica, elabora al respecto de los principales métodos de estudio de la biodiversidad microbiana de suelos, y presenta estudios de casos en el territorio nacional.

9.2.2 Servicios ecosistémicos derivados de la microbiota edáfica

Entre los servicios ecosistémicos de suelos derivados directamente de la microbiota edáfica se encuentra su rol en ciclos biogeoquímicos (muchos de los cuales son fundamentales para la nutrición de las plantas y el secuestro de carbono en los suelos), su contribución a la salud humana, el interés científico, y biotecnológico que estos representan, entre otros (Brussaard 2012). Estos servicios se explicarán en detalle en el presente apartado.

En cuanto a la contribución al crecimiento de las plantas, los microorganismos del suelo promueven el crecimiento de estas, favoreciendo su estado nutricional, resistencia a estreses abióticos y resistencia a enfermedades, entre otros. Por ejemplo, esto ocurre en la zona de la rizósfera del suelo (porción de suelo de un espesor de pocos milímetros, con directa influencia y adherido a las raíces de las plantas), donde bacterias y hongos pueden interactuar sinérgicamente para estimular el crecimiento de las plantas. Esta es la razón por la cual estos grupos microbianos son de alto interés para el desarrollo de sistemas de cultivo agrícola sostenibles (Jansson y Hofmockel 2020). Un ejemplo es por medio de asociaciones de tipo mutualista que ayudan a la nutrición de la planta, como es el caso de los microorganismos fijadores de nitrógeno o diazótrofos en asociación con leguminosas. El ciclo del N es uno de los procesos biogeoquímicos más complejos e importantes en la naturaleza a nivel global, ya que este elemento es un nutriente esencial para la vida y normalmente el elemento más limitante para las plantas. En la naturaleza, más del 99% del N se presenta como gas dinitrógeno (N_2) y los diazótrofos son los únicos organismos en nuestro planeta con la capacidad metabólica para utilizar esta fuente de nitrógeno y transformarla a una forma biodisponible, lo que los convierte en los especialistas microbianos responsables de la incorporación biológica del N atmosférico a la biosfera (Paul 2015). Los diazótrofos se encuentran presentes en los dominios Bacteria y Archaea, aquellos que coexisten en asociaciones mutualistas dentro de las raíces de las plantas son los principales contribuyentes al N total que ingresa a través

de la fijación biológica de nitrógeno a los ecosistemas terrestres naturales (Cleveland et al. 1999). En este ámbito, las bacterias denominadas colectivamente como rizobios (Frank 1889), al presentar asociación simbiótica mutualista con cultivos de leguminosas, son de alto interés agrícola. Por otro lado, los fijadores de N de vida libre (es decir, los fijadores de N no mutualistas) juegan un papel clave por ejemplo en los ecosistemas terrestres, durante las etapas iniciales del desarrollo y la sucesión de los ecosistemas (Reed et al. 2011).

Las bacterias que promueven el crecimiento vegetal son conocidas colectivamente como bacterias promotoras de crecimiento, además de las bacterias capaces de fijar N, también se pueden encontrar otras como es el caso de la bacteria Gram negativa *Methylobacterium symbioticum* (Pascual et al. 2020), que ha sido usada para el desarrollo de un primer biofertilizante de nitrógeno industrial. En Chile, por ejemplo, particularmente en la zona central, donde los suelos son fundamentales para la provisión de alimentos, microorganismos que presentan rasgos que promueven el crecimiento de las plantas han sido estudiados en cereales (Jorquera et al. 2014; Inostroza et al. 2017; Mutumba et al. 2018), legumbres (Sepúlveda-Caamaño et al. 2017; Cedeño-García et al. 2018) y tomates (Reyes-Castillo et al. 2019), entre otros. Las micorrizas arbusculares también han sido reconocidas como promotoras del crecimiento vegetal bajo condiciones de estrés hídrico (Santander et al. 2017). En cuanto a control de patógenos, el género de hongos *Trichoderma* (Ruppel et al. 1983; Kredics et al. 2018) ha sido usada como control biológico, ya que tiene la capacidad de producir compuestos que inhiben el crecimiento y desarrollo de microorganismos causantes de enfermedades en las plantas. En cuanto a la resistencia a estrés abióticos, se ha demostrado que micorrizas arbusculares pueden disminuir la concentración de Cu en las plantas que crecen en relaves mineros, al favorecer la estabilización de estos metales través de diferentes mecanismos como la producción de glomalina, inmovilización en la pared fúngica de las hifas y esporas, y el almacenamiento de Cu en vacuolas (Pérez et al. 2021). Sin embargo, otros estudios han demostrado que la inoculación de hongos

micorrízicos arbusculares, en experimentos de maceta con suelo contaminado con Cu, reduce la biomasa vegetal y aumenta la translocación de Cu a los tejidos aéreos (Meier et al. 2021).

Por otro lado, la microbiota edáfica contribuye a la degradación de la materia orgánica y a la dinámica del carbono en los suelos. La biota del suelo regula la degradación de la materia orgánica, proceso relacionado con la liberación de CO₂ y reciclaje de fuentes de C y nutrientes. En el suelo, usualmente las bacterias utilizan fuentes más lábiles (biodisponibles), mientras que restos vegetales más recalcitrantes son degradados por hongos (Six et al. 2006). La biota del suelo tiene una relación estrecha con la regulación del clima a través de los impactos de esta en la emisión de CO₂ y otros gases de efecto invernadero. Sin embargo, las respuestas de la dinámica del C en el suelo conducidas por la microbiota edáfica aún representan una fuente importante de incertidumbre al momento de predecir la variación del C en el espacio y en el tiempo (García-Palacios and Cheng, 2022). Esto es especialmente crítico, si se considera que el aumento en la frecuencia de extremos climáticos, a causa del cambio climático, se espera tenga efectos disímiles a nivel de ecosistemas y componentes de éstos, incluyendo la biota edáfica (Nielsen et al. 2015). En Chile, las mayores reservas de C se encuentran principalmente en la Patagonia (Pfeiffer et al. 2020), donde se ha registrado que la capacidad de secuestro de C en suelos Andisoles típicos de la zona es significativamente más alta que la de otros tipos de suelo (Dube et al. 2009; Dube y Stolpe 2016). En la actualidad, estudios en la materia son aún reducidos, y los resultados que se conocen en el tema (e.g. ver Merino et al. 2021 en el apartado de Estudio de Casos en Chile) permiten anticipar una importante contribución de los microorganismos del suelo en la dinámica de C en distintos ecosistemas de Chile, contribuyendo así a reducir la brecha de conocimiento necesaria de abordar en contexto de cambio climático.

La microbiota edáfica también tiene una estrecha relación con la salud humana, de las plantas y animales, por diversas vías. Recientemente, avances en técnicas

moleculares y análisis de datos masivos han demostrado que las asociaciones de microbiomas tienen implicancias importantes para la salud humana (Berg et al. 2020). Las comunidades asociadas a plantas, animales y humanos funcionan como un “segundo genoma”, un “genoma extendido” o un “eco-holobionte” que condiciona su estado y rendimiento (Banerjee y van der Heijden 2022). Por otro lado, se ha evidenciado que la exposición de los seres humanos a la biodiversidad edáfica en ambientes naturales contribuye al robustecimiento del sistema inmune y reducción de la ansiedad, así como también a la mantención de un sistema metabólico saludable, por medio de un funcionamiento equilibrado de la microbiota intestinal que se relaciona con la microbiota edáfica (Wall et al. 2015; Sun et al. 2023). A pesar de estos beneficios, los suelos también pueden ser fuentes de patógenos bacterianos causantes de enfermedades como el Ántrax y Listeriosis u hongos patógenos causantes de histoplasmosis o aspergilosis (Lerner 1996; Wall et al. 2015).

La biodiversidad de microorganismos en el suelo también es de alta relevancia científica y biotecnológica. En este sentido la microbiota edáfica ha sido históricamente fundamental en la provisión de antibióticos, tal es el caso de los *Streptomyces*, pertenecientes al grupo de actinobacterias, desde los cuales se han obtenido cerca de 500 antibióticos (Madigan et al. 2018). También se encuentran los antibióticos denominados betalactámicos para el tratamiento de infecciones, a partir del hongo *Penicillium notatum* (Fleming 1929). Otro ejemplo es la lovastatina, obtenida desde el hongo saprófito *Aspergillus terreus*, que se encuentra en suelos con materia orgánica en descomposición. Este medicamento se usa para disminuir los niveles de colesterol en sangre y para reducir el riesgo de sufrir un ataque al corazón (Buckland et al. 1989; Szakács et al. 1998). En Chile, los suelos del Desierto de Atacama, por sus condiciones particulares y extremas, representan un reservorio único de microbiota edáfica con alto potencial en la industria farmacéutica (Santhanam et al. 2012a; Santhanam et al. 2012b; Wichner et al. 2017). Lo que destaca el alto valor patrimonial y de conservación de estos ecosistemas (Contador et al. 2020).

Por último, dentro de los servicios ecosistémicos fundamentales de la biota edáfica está la propia contribución a la formación de su hábitat, es decir, a la formación de suelos, además de la recuperación de estos luego de un disturbio. Los microorganismos son considerados como parte de uno de los cinco factores de formación de suelos por su relevancia en los procesos de meteorización biogeoquímica, la formación de agregados de suelos, la acumulación y degradación de materia orgánica y la liberación de nutrientes, entre otros (Weil y Brady 2017). Se ha demostrado que las bacterias y los hongos pueden contribuir sustancialmente a la degradación de las superficies minerales a través de procesos biogeoquímicos que catalizan la desintegración de minerales y la liberación de nutrientes, tales como reacciones enzimáticas, cambios en el pH y la generación de agentes quelantes como los sideróforos (Mavris et al. 2010; Štyriaková et al. 2012). Por ejemplo, en contextos naturales, como es el caso de ecosistemas de alta montaña asociados a glaciares en retroceso, estos mecanismos son fundamentales en procesos de formación de suelos y de sucesión ecológica a partir de materiales rocosos heterogéneos expuestos (Schulz et al. 2013). Por otro lado, prácticas de recuperación de suelos contaminados en base a enmiendas orgánicas, como por ejemplo aquellos afectados por el drenaje ácido de minas y la acumulación de óxidos de hierro, han demostrado la proliferación de grupos microbianos tales como Proteobacterias y Basidiomycota, y la presencia exclusiva de Glomeromycota en suelos de incipiente formación, todos grupos microbianos que han sido asociados con la facilitación del crecimiento y la sucesión de especies vegetales y la acumulación de materia orgánica en los suelos (Rojas et al. 2016). En este sentido, es destacable mencionar que las prácticas de restauración ecológica que busquen fomentar una mayor biodiversidad edáfica, pueden generar efectos de cascada positivos al restablecer funciones en los suelos que son fundamentales para la recuperación de los ecosistemas degradados en su conjunto (Nielsen et al. 2015). Justamente, la restauración exitosa de los ecosistemas terrestres puede depender en parte importante de la recuperación o restablecimiento de microorganismos edáficos, donde rizobacterias promotoras del crecimiento

vegetal, fijadores de nitrógeno y micorrizas arbusculares, junto con ectomicorrizas y cianobacterias en costras biológicas del suelo han sido destacados por su rol en el crecimiento de las plantas, el ciclo de nutrientes y estructura del suelo (Coban et al. 2022).

9.3. MÉTODOS DE ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD DE SUELOS

La inmensa diversidad de formas de vida edáfica y los procesos que estos conducen, además de la naturaleza heterogénea y dinámica de los suelos, hacen del diseño del estudio de la microbiota edáfica y su entorno un aspecto fundamental a la hora de entender el rol de los microorganismos en los ecosistemas. Es por esta razón que los estudios científicos de la ecología microbiana del suelo requieren tener en cuenta la naturaleza de estos ecosistemas en el tiempo y en el espacio, así como también claridad sobre qué organismos se pretenden estudiar y para qué propósitos. Esto ya que estos aspectos determinarán desde el diseño de muestreo, hasta el método empleado para el estudio, además de la correcta interpretación ecológica de los resultados. En la siguiente sección, se exponen algunas de las principales consideraciones y métodos de estudio de microorganismos en el suelo. Para mayor información de las consideraciones planteadas a continuación y métodos no mencionados en este apartado, recomendamos visitar la siguiente literatura Maier et al. 2008; Burlage et al. 1998; Weaver et al. 1994.

9.3.1 Obtención y almacenamiento de muestras de suelo para estudios biológicos

Como se mencionó anteriormente, a la hora de tomar una muestra para el estudio de la biota edáfica, es importante tener en cuenta la heterogeneidad de los suelos y recordar que estos ecosistemas son muy dinámicos, desde escalas micrométricas a escalas de paisaje, es por esta razón que las técnicas de toma de muestra en campo deben considerar la variación espacial y temporal característica de los suelos.

En cuanto al diseño de muestreo, tanto antes como durante, este debe tener en cuenta la pregunta de investigación y el tipo de muestra de suelo, que se requiere para poder responder la pregunta respectiva. Es así entonces que la profundidad, el número de réplicas biológicas obtenidas en campo y la necesidad de obtener muestras individuales o compuestas (pool de muestras) deben ser consideradas en el diseño. Por ejemplo, si se busca estudiar la microbiota de suelo asociada a raíces de especies herbáceas versus arbustivas, la profundidad de muestreo dependerá de la profundidad de raíces, pudiendo variar de cm a m. El tipo de muestra que se puede obtener de dichos estudios puede ser de rizósfera (recordar que esta refiere a la zona de suelo adherida a las raíces y directamente influenciado por éstas), zona de raíces (suelo ubicado en la zona de raíces), suelo sin influencia de raíces (bulk soil en inglés, es una zona de suelo por lo general desprovista de vegetación o distante a estas, donde la influencia de las raíces es despreciable). Las muestras de suelo también pueden ser obtenidas según la ocurrencia de horizontes genéticos de los suelos.

Una vez claro el diseño de muestreo según los objetivos del estudio, se debe decidir sobre el punto de muestreo. Los ecosistemas microbianos son muy sensibles a cambios. Por ello es importante seleccionar un punto de muestreo sin perturbación evidente (que no sea parte del diseño de muestreo), e.g. pisadas de animales, humanos, vehículos, u otro disturbio de la superficie y/o estructura del suelo o de sus propiedades (e.g. manchas húmedas u hoyos).

En estudios de la biota del suelo todo material de muestreo, como barrenos, palas, tubos, pinzas, frascos etc. debe estar limpio y esterilizado (e.g. por autoclave, radiación UV o con etanol al 70%), para evitar contaminaciones de las muestras de suelo con otros microorganismos externos a éste. Entre puntos de muestreo (y sitios), todo material se debe volver a limpiar (e.g. con agua) y esterilizar e.g. con etanol (70%), antes de tomar muestras nuevamente. En el mismo sentido de evitar contaminaciones de las muestras de suelo con otros microorganismos, se requiere usar implementos de protección personal como

guantes e idealmente mascarillas al momento de realizar un muestreo en terreno. Al igual que los materiales de muestreo, también los guantes deben estar limpios y esterilizados (e.g. con etanol al 70%). Durante el proceso de toma de muestra, se recomienda idealmente no respirar ni hablar directamente sobre el punto de muestreo (e.g. al estar agachado sobre el punto de muestreo), para evitar contaminaciones con microorganismos propios del humano. Entre puntos de muestreo (y sitios) se deben cambiar los guantes y mascarillas.

Las muestras de suelo para estudios microbianos se suelen guardar en bolsas, frascos o tubos de centrifuga herméticamente cerrados y rotulados. Dependiendo del muestreo y hábitat, estas muestras se pueden guardar a temperatura ambiente, en frío (e.g. Cooler o nitrógeno criogénico) o con alguna solución buffer, que estabiliza la comunidad microbiana y evita su alteración hasta el momento de procesamiento en laboratorio (Figura 1). Generalmente, al llegar al laboratorio las muestras se guardan en frío (e.g. refrigerador o cuarto frío, congelador) hasta su procesamiento. En cada sección de los distintos métodos de estudio a continuación, se presentarán algunas especificaciones al respecto.

9.3.2 Métodos dependientes de cultivo

Los métodos dependientes de cultivo pueden ser utilizados para determinar la diversidad microbiana existente en los suelos, así como también para el estudio de microorganismos especialistas. Estos métodos convencionales se basan en procedimientos de recuento de células viables por lo tanto se requieren muestras de suelo fresco (Zuberer 1994; Alef 1995; Alef y Nannipieri 1995; Dobereiner 1995, Lorch et al. 1995). Como se mencionó anteriormente, los suelos pueden llegar a contener entre 1 a 10 billones de células vivas, de las cuales solo cerca del 1-10% puede cultivarse en el laboratorio con las técnicas empleadas actualmente (Zuberer 1994; Torsvik y Øvreås 2002; FAO et al. 2020). Parte de estos microorganismos no cultivables pueden ser potencialmente cultivables si se proporcionan las condiciones nutricionales adecuadas para su crecimiento. Aun así, muchos siguen siendo no cultivables porque están inactivos y requieren

reanimación especial antes de recuperar la capacidad de crecer (Madsen 1996). En general, es importante procesar las muestras frescas lo antes posible luego de tomar la muestras, si estas no pueden ser procesadas de inmediato, deben mantenerse refrigeradas (4°C) idealmente por un periodo inferior a 21 días, algunos estudios utilizan un período de tres meses como estándar; sin embargo, el número total de células puede disminuir y la composición de la comunidad puede verse alterada durante este periodo extenso de almacenamiento (Wollum II 1994) (Figura 1).

El empleo de técnicas dependientes de cultivo para el estudio de los microorganismos en el ambiente, incluyendo los suelos, requiere de un conocimiento previo del tipo de organismo a estudiar, ya que esta información es fundamental para determinar el medio de cultivo adecuado (general o selectivos) a emplear para el recuento y/o aislamiento de células vivas (Maier et al. 2008). Los medios de cultivo generales son aquellos que fomentan el crecimiento de variados grupos de microorganismos y permiten la enumeración de las poblaciones totales (cultivables) en el suelo. Dentro de los medios de cultivo utilizados, se encuentran los medios nutritivos como TSA (Martin 1975) (muchas veces diluidos 1/10 o 1/100 de su concentración normal), R2A (Reasoner y Geldreich 1985) o agar con extracto de suelo (James 1958). Por otro lado, los medios de cultivo selectivos permiten determinar grupos funcionales específicos de microorganismos, por ejemplo, aquellos capaces de reducir sulfato, fijar nitrógeno atmosférico, oxidar hierro, entre otros. Los medios de cultivo para estudiar bacterias, hongos y otros organismos microscópicos pueden ser muy diversos entre sí, incluso para estudiar grupos particulares dentro de las bacterias y hongos se requieren medios de cultivo muy especializados. No obstante, se debe tener en cuenta que incluso con medios de cultivo generales, el número de células viables suele ser al menos uno o dos órdenes de magnitud inferior a los obtenidos por microscopía directa.

Recuento en placas:

La técnica microbiológica más ampliamente aceptada para enumerar los microorganismos del suelo es el recuento en placa, utilizando una variedad de medios de cultivo. En esta técnica se requiere: dispersión de la muestra, distribución de una alícuota en el medio de cultivo seleccionado, incubación en condiciones óptimas para el grupo de organismos a cultivar (ejemplo temperatura) y, por último, recuento de las colonias desarrolladas. La elección del disolvente para la dispersión de los agregados de suelo es prerrogativa del investigador. Algunos de éstos incluyen solución salina fisiológica, solución de Ringer, agua peptonada, o solución salina tamponada con fosfato. La liberación de células desde las partículas y agregados del suelo es quizás el paso más relevante en la enumeración de microorganismos vivos presentes en el suelo y es aquí donde puede ocurrir la mayor parte de la variación en la recuperación de células viables. Las técnicas para la liberación de microorganismos incluyen agitación manual simple (con o sin perlas de vidrio), trituración con un mortero, agitación mecánica o sonicación, entre otras. Independientemente de la técnica que se utilice para la recuperación de células viables del suelo, es de suma importancia que el método escogido se aplique uniformemente a todas las muestras.



Figura 1. Esquema de manejo de muestras de suelo desde su obtención en campo hasta estudio de la microbiota edáfica.

Para la preparación de la suspensión del suelo, se toman 10 g de suelo fresco, se agregan a una botella tipo Schott que contenga perlas vidrio estériles y se adicionan 95 ml del diluyente a elección. A saber, 10 g de un suelo mineral típico ocupan aproximadamente 5 cm³ y cuando se colocan en 95 mL de diluyente, resultando una dilución de 10 g de suelo en 100 cm³ de volumen (Robert 1990; Zuberer 1994). Esto constituye la dilución 10-1, la que será tratada para liberar a los microorganismos desde los agregados de suelo. Lo usual es agitar vigorosamente la botella durante 30 a 60 s y luego colocarla en un agitador orbital durante 20 min (150 a 200 rpm). Posteriormente, se deja reposar la botella por 30 s y se toma 1 ml de la solución de suelo desde el centro de la botella y se agrega a un tubo con 9 ml de diluyente (dilución 10⁻²). Se mezcla bien y se continua con las diluciones seriadas hasta 10⁻⁷ -10⁻⁸, cuidando en cada paso de que las partículas de suelo se mantengan en suspensión. Luego, un volumen de cada dilución (0,1 mL a 1 mL) se distribuye homogéneamente sobre placas Petri con medio de cultivo (se deben utilizar al menos 3 placas por cada dilución). Luego de la incubación a temperatura apropiada y por hasta 7 días (dependiendo de la tasa de crecimiento de los microorganismos de estudio), se escoge la dilución que presente entre 30 y 300 colonias.

Cada una de estas colonias se conoce como Unidades Formadoras de Colonias (UFCs o CFUs por sus siglas en inglés), y se asume que cada una de estas se generó de una célula individual proveniente de la muestra de suelo en este caso. El número de UFCs se calcula promediando el número de colonias que aparecen en las placas replicadas y multiplicando el promedio de colonias por el factor de dilución (FD) (Ecuación 1). Este factor se calcula multiplicando el inverso de la dilución escogida por el inverso de lo inoculado en la placa Petri, lo que permite expresar el número de UFC por ml (Robert 1990) (Ecuación 2).

Ecuación 1

$$\text{UFC (por gramo suelo seco)} = \text{promedio de colonias} \times \text{FD} \times \frac{1}{\text{gramos suelo seco}}$$

Ecuación 2

$$\text{Factor de dilución (FD)} = \frac{1}{\text{dilución}} \times \frac{1}{\text{volumen inoculado en la placa Petri}}$$

Es importante considerar que los recuentos se expresan como el número de UFC por gramo de suelo seco, por lo tanto se debe conocer el contenido gravimétrico de agua del suelo de la muestra fresca que se utilizó para preparar la suspensión. Entonces, para corregir el número de UFC por gramo de suelo seco, en paralelo a realizar la dilución seriada, se debe tomar una alícuota de la misma muestra de suelo de estudio para determinar el contenido gravimétrico de agua (Ecuación 3). Esto se realiza tomando 10 g de suelo fresco (se deben utilizar al menos 3 réplicas técnicas) los que se disponen en un horno de secado a 105°C por 24h o hasta alcanzar un masa constante. Se registra el valor del suelo seco y se realizan los cálculos que se muestran a continuación.

Ecuación 3

$$\text{Contenido gravimétrico de agua} = \frac{\text{masa suelo fresco} - \text{masa suelo seco}}{\text{masa de suelo seco}}$$

La masa seca contenida en la muestra fresca de suelo utilizada para preparar la suspensión, se calcula conociendo los gramos de suelo fresco utilizado (en este caso 10 g) multiplicado por el inverso del contenido de agua (Ecuación 4).

Ecuación 4

$$\text{Masa de suelo seco de la muestra para suspensión} = \frac{\text{masa de suelo fresco}}{1 + \text{contenido gravimétrico de agua}}$$

Desde las placas en que se observen colonias aisladas, se podrá describir la diversidad microbiana sobre la base de las características de las colonias (forma, color, tamaño, textura, etc.). Generalmente se utilizan las placas de las diluciones más altas, ya que tienden a tener colonias puras bien separadas de las colonias vecinas. En este punto, se escogen las colonias que se vean morfológicamente

distintas entre sí. Para lograr un cultivo axénico (es decir una colonia pura), se usa un asa de inoculación estéril para recoger la colonia de la placa de agar original y se vuelve a sembrar en una nueva placa de medio de cultivo. Este proceso debe repetirse hasta obtener colonias lo suficientemente homogéneas, que denotan el aislamiento satisfactorio de una especie o cepa determinada. Es importante mantener en todo momento condiciones asépticas para evitar la contaminación durante la manipulación de los cultivos.

9.3.3 Métodos fisiológicos

Estos métodos dan cuenta de la actividad microbiana, lo que se relaciona con las funciones que están ocurriendo en el suelo al momento del muestreo, por ejemplo, la contribución microbiana a los ciclos biogeoquímicos (Maier et al. 2008). La actividad microbiana permite evaluar los impactos de algún proceso de degradación o de recuperación de suelos, por lo tanto, entregar una indicación del estado de la salud del suelo. Los métodos fisiológicos requieren que la muestra se mantenga en terreno y se transporte al laboratorio de manera refrigerada, para disminuir el crecimiento y actividad microbiana, así como también la pérdida de agua, todos factores que pueden alterar la interpretación de resultados (Figura 1). Las mismas precauciones de almacenamiento de muestras frescas para los métodos dependientes de cultivo son requeridas para los métodos fisiológicos, con algunas excepciones dependientes del método en particular.

Ensayos de respiración:

Los ensayos de respiración miden la tasa de producción de dióxido de carbono (CO₂) por los microorganismos del suelo, y generalmente se emplean para la determinación de la mineralización en condiciones aeróbicas; sin embargo, estos métodos se pueden adaptar a condiciones anaeróbicas (Maier et al. 2008). La actividad de organismos heterótrofos puede ser determinada a través de estos ensayos, puesto que estos organismos utilizan fuentes orgánicas como fuente de carbono y de energía, donde se libera parcialmente CO₂ al medio. Estos ensayos

utilizan una cantidad conocida de suelo fresco, generalmente en un rango de 2 a 10 gramos. Es importante conocer el contenido gravimétrico de agua del suelo, para luego ajustar dicho contenido de agua a un valor determinado, que usualmente es de 60% de capacidad de retención. La muestra de suelo se debe colocar en un recipiente cerrado, como un frasco de vidrio o un recipiente de plástico con tapa hermética que idealmente contenga válvulas para extracción de gases. Esto permite extraer muestras mediante la utilización de jeringas para medir la producción de CO₂ a lo largo del tiempo determinado según el estudio. Otra alternativa es la utilización de trampas alcalinas dispuestas en un vial de vidrio, al interior de los recipientes de con tapa hermética, junto con el suelo de estudio.

En el caso de las técnicas donde se colecta el CO₂ liberado por medio de jeringas, la producción de gas puede medirse utilizando diferentes técnicas, como la espectrofotometría o la cromatografía de gases. Los resultados se pueden utilizar para determinar la tasa de producción de CO₂ y la actividad metabólica microbiana del suelo. La tasa de producción de CO₂ puede revelar la actividad metabólica de los microorganismos del suelo y su capacidad para descomponer materia orgánica. Es importante tener en cuenta que los ensayos de respiración pueden verse afectados por temperatura, contenido de agua y disponibilidad de nutrientes. Por lo tanto, es crucial controlar estos factores e implementar los controles apropiados para garantizar que los resultados sean precisos y representen la actividad metabólica microbiana del suelo (Cao et al. 2020; Wu et al. 2020; Liu et al. 2022).

Perfiles fisiológicos a nivel comunitario:

Este método permite estudiar la capacidad metabólica de organismos heterótrofos, donde la utilización de sustratos se basa en distintas fuentes de carbono relevantes ecológicamente. Las técnicas más utilizadas son el análisis de perfiles fisiológicos a nivel comunitario (CLPPs por sus siglas en inglés) basados en el uso de las placas EcoPlates™ de Biolog™ (Biolog Inc., Hayward,

CA, United States) o bien CLPPs utilizando el sistema de respiración del suelo MicroResp™ (Macaulay Scientific Consulting Ltd., Aberdeen, Reino Unido). En el primer caso, se trabaja con una dilución de suelo que se inocula en una microplaca que contiene 31 fuentes de carbono en triplicado, mientras que en el segundo se utiliza una microplaca donde se incorpora el suelo directamente y se dispensan distintas fuentes de carbono según su relevancia para el estudio (Campbell et al. 2003). Una vez que las fuentes de carbono se ponen en contacto con el suelo, se evalúa la capacidad de utilización de estas fuentes a través la oxidación de los compuestos (Biolog™) o de la liberación de CO₂ (MicroResp™), permitiendo de esa manera revelar la diversidad metabólica y funcionalidad de los microorganismos del suelo.

Para la técnica MicroResp™, las soluciones de fuentes de carbono, como por ejemplo celulosa, sacarosa, fructosa y glucosa, se aplican directamente al suelo, y estas se deben utilizar en concentraciones adecuadas, cuidando de que no impidan el crecimiento de ciertos microorganismos o distorsione los resultados del análisis metabólico. En cambio, en el caso de las placas EcoPlates™, se deben preparar varias diluciones de la muestra de suelo. Una alternativa es la inoculación de las EcoPlates™ con 150 µl de una alícuota de una dilución de suelo, que generalmente corresponde a la dilución 10⁻³ (para preparación de diluciones ver sección Métodos dependiente de cultivo); sin embargo, la selección de esta dilución depende del contenido inicial de células vivas de la muestra de suelo. Luego, las microplacas se incuban a una temperatura apropiada para el crecimiento microbiano, generalmente entre 20°C a 37°C. La oxidación de los sustratos y la emisión de CO₂ de los suelos incubados con las distintas fuentes de carbono se pueden estimar con métodos colorimétricos antes y después de un tiempo determinado de incubación utilizando lectores de microplacas. Los resultados obtenidos con estas metodologías permiten determinar la actividad catabólica microbiana de los microorganismos presentes en el suelo. Por ejemplo, si se detecta un aumento en la utilización de una fuente de carbono específica, significa que existen microorganismos en el suelo

capaces de utilizar esa fuente de carbono para su crecimiento y metabolismo, lo que se puede relacionar con un proceso particular que esté ocurriendo en el suelo (Lladó y Baldrian 2017; Aponte et al. 2022).

Ensayos de actividad enzimática:

Las enzimas son proteínas especializadas que operan en la catálisis de una reacción determinada. La actividad enzimática puede ser directamente asociada con la actividad de organismos en crecimiento. Estas enzimas pueden encontrarse al interior de las células, usualmente en la membrana celular, o pueden ser liberadas fuera de las células, en este caso son conocidas como enzimas extracelulares (Maier et al. 2008). Las enzimas intracelulares también pueden encontrarse fuera de las células luego de la desintegración de estas, y al igual que las enzimas extracelulares, pueden estabilizarse y mantenerse viables debido a la protección física de los coloides del suelo, por lo tanto, la determinación de la actividad enzimática de los suelos será un reflejo de todas estas fuentes enzimáticas, dando así una indicación del potencial total enzimático en la muestra de suelo (Tabatabai 1994).

Existen distintos ensayos enzimáticos para la determinación de la actividad microbiana específica o general en los suelos. Estos requieren de la utilización de muestras de suelo frescas o la obtención de diluciones de suelo a partir de estas. El monitoreo de la reacción enzimática se puede hacer midiendo la conversión de un sustrato específico en un producto determinado. Por ejemplo, si se desea medir la actividad de la enzima fosfatasa, se puede preparar una solución que contenga p-nitrofenilfosfato como sustrato y el producto a medir será p-nitrofenol y fosfato. En el caso de los ensayos que utilizan diluciones de suelo, se deben preparar diferentes diluciones de la muestra para obtener diferentes concentraciones de microorganismos. A continuación, se debe preparar una solución de sustrato que contenga el sustrato específico para la enzima que se desea medir. La concentración de la solución de sustrato puede variar según el tipo de enzima y el objetivo del estudio. En general, la concentración de sustrato

utilizada en los ensayos de actividad enzimática puede variar desde micromoles a milimoles de sustrato por litro de solución. Por ejemplo, para la enzima fosfatasa, se pueden utilizar concentraciones de sustrato de p-nitrofenilfosfato que van desde 1 mM a 10 mM. Para la enzima celulasa, se pueden utilizar concentraciones de sustrato de carboximetilcelulosa que van desde 1% a 2% (p/v) en base a la masa de suelo seco. Es importante tener en cuenta que la preparación de la solución de sustrato debe ser realizada en condiciones estériles y se deben tomar medidas adecuadas para evitar la contaminación microbiana. Además, es importante seleccionar el sustrato adecuado y ajustar el pH óptimo para la enzima que se desea medir (Tabatabai 1994). Luego de la preparación del sustrato esta debe ser agregada a las diferentes diluciones de la muestra de suelo. Luego, se incuba la muestra a una temperatura adecuada para la actividad enzimática. Después de un tiempo de incubación adecuado, se debe detener la reacción agregando una solución de parada. La solución de parada puede variar según el tipo de ensayo, pero generalmente se utiliza una solución que detiene la actividad enzimática. Las soluciones para detener la actividad enzimática más comunes son: a) solución de ácido clorhídrico (HCl) al 1%, para ensayos de actividad enzimática que miden la liberación de un producto ácido (e.g. enzima fosfatasa); b) solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 1%, para ensayos de actividad enzimática que miden la liberación de un producto básico (e.g. enzima ureasa); c) solución de etanol al 95%, para ensayos de actividad enzimática que miden la liberación de un producto soluble en etanol (e.g. enzima celulasa); d) solución de cloruro de mercurio (HgCl_2) al 0.1%, para ensayos de actividad enzimática que miden la liberación de un producto inestable (e.g. enzima invertasa). Luego de incorporar la solución de parada la actividad enzimática se puede medir utilizando diferentes técnicas, como la espectrofotometría. En general, se mide la cantidad de producto generado por la enzima en un tiempo determinado. La cantidad de producto generado es proporcional a la actividad enzimática. Es importante siempre incorporar controles adecuados para asegurar que cualquier cambio observado en la actividad enzimática sea atribuible a la enzima que se está midiendo y no a otros factores, como contaminación o

variaciones en la composición del suelo (Gong et al. 2015; Chen et al. 2020; Liu et al. 2021; Wang et al. 2022).

Marcado isotópico estable:

Esta técnica implica agregar sustratos isotópicamente etiquetados a muestras de suelo y rastrear su incorporación en la biomasa microbiana. Esto puede proporcionar información sobre los microorganismos específicos que están utilizando ciertos nutrientes en el suelo. Lo primero es seleccionar el isótopo estable adecuado para el tipo de sustrato que se está utilizando. Los isótopos estables comúnmente utilizados en el marcado isotópico estable incluyen el carbono-13 (^{13}C) y el nitrógeno-15 (^{15}N). El sustrato marcado se prepara con el isótopo estable seleccionado; por ejemplo, se puede preparar una solución de glucosa ^{13}C para evaluar la actividad metabólica de los microorganismos que utilizan glucosa como fuente carbonada. La muestra de suelo se debe incubar con el sustrato marcado durante un tiempo adecuado para permitir la incorporación del isótopo estable en los productos metabólicos. El tiempo de incubación puede variar de 24 horas a meses dependiendo del sustrato. Por ejemplo para la glucosa, un sustrato carbonado simple, la incubación suele variar desde 24 horas a unos días; para la celulosa, un polímero más complejo de glucosa, el período de incubación más prolongado, el que puede extenderse desde varios días hasta semanas o meses; por otro lado, la lignina, siendo uno de los biopolímeros más complejos y recalcitrantes, puede necesitar meses e incluso más de un año para su descomposición en estos experimentos. Luego de la incubación se deben extraer los productos metabólicos de la muestra de suelo y purificarlos para su análisis. Para la extracción se debe utilizar un solvente, el cual puede variar según el tipo de sustrato y el objetivo del estudio. Por ejemplo, se puede utilizar una solución de cloruro de sodio (NaCl) para extraer los productos metabólicos de una muestra de suelo incubada con glucosa marcada con ^{13}C . La purificación de la muestra se realiza mediante diferentes técnicas, como la cromatografía líquida o la extracción en fase sólida. El análisis de los productos metabólicos se puede realizar utilizando diferentes técnicas,

como la espectrometría de masas o la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) (Kuz'yakov and Cheng 2004). La presencia del isótopo estable en los productos metabólicos indica la incorporación del sustrato marcado en la actividad metabólica de los microorganismos del suelo. Durante la incubación es importante tener en cuenta factores que pueden afectar la incorporación del isótopo estable en los productos metabólicos, como la concentración del sustrato marcado, el tiempo de incubación y la temperatura (Cheng 1999; Adam and Duncan 2001).

9.3.4 Métodos moleculares

Hoy en día, existen muchas herramientas metodológicas basadas en ADN y/o ARN de microorganismos, algunas requieren de aislamientos de microorganismos específicos, mientras otras permiten el estudio de ellos y su interacción en muestras ambientales sin la necesidad de aislamiento previo. En esta sección nos centraremos en métodos basados en la secuenciación masiva de ADN ambiental, estos métodos permiten estudiar la diversidad, composición y funcionalidad de la comunidad microbiana en diversos ambientes sin su aislamiento, así como la presencia de genes en ciertas vías metabólicas. Con los avances tecnológicos y la reducción del costo de generación de datos genómicos, estos métodos se convirtieron en una de las estrategias más utilizadas para el estudio de la diversidad microbiana en suelos a partir del año 2006. Junto con lo anterior, se desarrollaron herramientas computacionales para el análisis de los grandes volúmenes de datos genómicos generados, que permitan generar millones de lecturas de secuencias de ADN que representen de buena manera la diversidad microbiana presente en la muestra de suelo. Los dos métodos de secuenciación masiva de ADN, utilizando técnicas de secuenciación de próxima generación (*next generation sequencing*, NGS), más utilizados actualmente son: 1) la secuenciación basada en amplicones (también conocida como metataxonomía o *metabarcoding*) y 2) la secuenciación de escopeta del genoma completo (o *shotgun metagenomics*).

Preparación de las muestras y obtención de ADN de suelos:

Para este tipo de análisis, se debe obtener una muestra representativa de suelo que contenga suficiente material genético microbiano. Las muestras de suelo deben ser homogeneizadas, idealmente tamizadas a 2 mm, estas pueden mantenerse congeladas a -20°C o -80°C (según tiempo de almacenamiento) hasta la extracción de ADN (Fierer et al. 2007) (Figura 1). El ADN de la muestra de suelo debe extraerse utilizando una técnica de extracción de ADN que permita obtener una cantidad adecuada de ADN de alta calidad para esta muestra. Las técnicas utilizadas para extraer ADN varían según el tipo de suelo y los microorganismos presentes en la muestra. Por lo general, se utiliza un agente lítico, como el SDS (dodecil sulfato sódico), que rompe las membranas celulares. Los contaminantes de la muestra de suelo se eliminan precipitando con cloruro de sodio (NaCl) y etanol. Después de esto, el ADN se purifica mediante la cromatografía de intercambio iónico o la extracción con fenol-cloroformo. Finalmente, es necesario evaluar la calidad e integridad del ADN obtenido mediante métodos diversos, como la espectrofotometría y la electroforesis en gel de agarosa. La calidad del ADN es crucial para garantizar que se obtenga suficiente ADN de alta calidad para su análisis posterior.

Secuenciación masiva de amplicones o metabarcoding:

En el *metabarcoding* el ADN extraído del suelo se usa como plantilla para la amplificación simultánea, por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés), de regiones específicas de los genomas presentes en la muestra. Estas regiones pueden ser, por ejemplo, el gen codificante del ARN 16S (para procariontes) y la región ITS (para hongos). Este proceso se conoce como preparación de bibliotecas de ADN. Dependiendo del objetivo del estudio, se pueden considerar marcadores para genes específicos, tanto para permitir una identificación taxonómica de los miembros de la comunidad, como para caracterizar su potencial funcional. La biblioteca de ADN debe contener fragmentos de ADN de diversos tamaños para representar la diversidad

microbiana presente en la muestra de suelo. En el estudio de la biodiversidad de procariontes en suelo se suelen utilizar regiones hipervariables del gen 16S rRNA (e.g. V3-V4), mientras que para hongos (eucariontes) generalmente se usan los espaciadores intergénicos ITS1 o ITS2. La región 18S permite ampliar el análisis a otros grupos de eucariontes del suelo, e.g. algas (Cortés-López et al. 2020). Los productos de esta reacción de PCR luego se secuencian en plataformas NGS, tales como Illumina o PacBio. Los datos de secuenciación se pueden analizar utilizando diferentes herramientas bioinformáticas que permiten filtrar las secuencias por calidad e identificar y clasificar los microorganismos presentes en la muestra de suelo, así como determinar la diversidad de la comunidad microbiana (Fierer et al. 2012; Delgado-Baquerizo et al. 2018; Nwachukwu y Babalola 2022). Entre los diversos programas y algoritmos establecidos para el procesamiento de datos de metabarcoding, las más comunes son Qiime (<https://qiime2.org/>), diferentes paquetes en R y la plataforma analítica de PaqBio (específica para el análisis de datos originados en su plataforma de secuenciación). La cobertura o cantidad total de secuencias necesarias en estudios como este dependerá de la complejidad de la muestra. Se suelen considerar al menos 20 mil lecturas por muestra como una cobertura mínima de secuenciación de amplicones. En general, cuánto mayor es la cobertura, mejor será la representación de la diversidad presente en una muestra.

Una vez que las secuencias pasan los filtros de calidad del análisis bioinformático, estas son sometidas a una clasificación taxonómica, que permite establecer la estructura o un perfil taxonómico de la comunidad microbiana de la muestra en estudio. Luego las secuencias son agrupadas en entidades biológicamente similares, ya sea en Unidades Taxonómicas Operacionales (en inglés, OTUs) o Variantes Únicas de Amplicón (ASVs por sus siglas en inglés) para determinar la diversidad microbiana. Para determinar el grado de cobertura de la secuenciación, se utiliza el punto de saturación que es la cantidad de secuencias sobre la cual ya no se refleja en aumento en entidades biológicamente similares (OTUs o ASVs) y esto se puede observar a través de una curva de rarefacción, en la que el eje x es el número de OTUs o ASVs

observados y el eje y es la cantidad de secuencias generadas y analizadas. La saturación ocurre cuando la curva deja de crecer o entra a un *plateau*. Es útil establecer el punto de saturación de una muestra para la secuenciación de amplicones, y usar esta información como referencia para todas las muestras de un mismo proyecto. También es importante comparar la diversidad microbiana en conjuntos de datos cuya cobertura sea comparable, debido a que una mayor cobertura representa mejor los taxones raros y afecta positivamente el parámetro de riqueza, el cual afecta los índices de diversidad, mientras que una menor cobertura podría representar solamente los taxones más abundantes, afectando negativamente la estimación de la riqueza de especies.

Si bien la técnica de *metabarcoding* es un método popular, no está libre de sesgos y limitaciones que surgen en diferentes etapas del procesamiento técnico de muestras, amplificación de genes marcadores, generación de secuencias y análisis computacional. Por ejemplo, una limitación importante del *metabarcoding* es el sesgo de amplificación, que consiste en que los partidores usados en la PCR, aunque sean muy eficientes y se hibriden con la mayor parte de los blancos existentes, no son realmente universales, de forma que algunas secuencias quedan sin amplificar y no son representadas en el conjunto de datos. El *Earth Microbiome Project* es una iniciativa que busca estandarizar los partidores y protocolos usados en estudios de diversidad microbiana, con el objetivo de hacer más comparables los datos generados por investigadores de todo el mundo (<https://earthmicrobiome.org/protocols-and-standards/>).

Pese a ello, la sensibilidad del *metabarcoding* para detección de taxones raros (< 0,1% de abundancia relativa) es superior a la del acercamiento que se discutirá a continuación.

Metagenómica o shotgun:

El segundo acercamiento basado en secuenciación masiva de ADN para estudio de la diversidad microbiana en suelos es la metagenómica o *shotgun* (de

escopeta), que corresponde a la secuenciación directa del ADN ambiental, sin el uso de plantillas o de amplificación por PCR. Se trata de una estrategia más cara y computacionalmente exigente (se requiere un clúster computacional), y la cantidad de datos a generar es de al menos 6 Gb por muestra, para poder caracterizar de forma general los principales procesos biogeoquímicos. Un procedimiento fundamental en la metagenómica de escopeta es el ensamble, que permite generar contigs o secuencias contiguas de ADN a partir de lecturas cortas. Los algoritmos más eficientes en la actualidad son los que usan métodos basados en la teoría de grafos, como los grafos de Bruijn. También importante es la anotación de los contigs, que corresponde a la predicción de genes y asignación de funciones. El proteoma predicho de un metagenoma puede ser analizado de diferentes formas, en general se compara con bases de datos específicas, para asignar ontologías génicas de interés. El Cuadro 1 contiene una selección de diferentes recursos de interés para anotación de genes en microbiomas de suelos.

Cuadro 1. Recursos de interés para anotación de genes en microbiomas de suelos

BASE DE DATOS	DESCRIPCIÓN	
RefSoil+	Base de datos de referencia para genes y rasgos de plásmidos del suelo.	
	Fuente	https://github.com/ShadeLab/RefSoil_plasmids
	Cita	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6392096/
PlaBase	Herramienta web para analizar el potencial promotor del crecimiento vegetal de las bacterias asociadas a las plantas	
	Fuente	https://plabase.cs.uni-tuebingen.de/pb/plabase.php
	Cita	https://hdl.handle.net/21.11116/0000-000A-6211-4
MEGARes	Base de datos para la clasificación de determinantes de resistencia a fármacos antimicrobianos, biocidas y metales	
	Fuente	https://megares.meglab.org/
	Cita	https://academic.oup.com/nar/article/48/D1/D561/5624973
BacMet	Base de datos de genes de resistencia a metales y biocidas antibacterianos	
	Fuente	http://bacmet.biomedicine.gu.se/
	Cita	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3965030/
GFOBAP	Repositorio de determinantes genómicos de la adaptación bacteriana a las plantas	
	Fuente	http://labs.bio.unc.edu/Dangl/Resources/gfobap_website/s41588-017-0012-9.pdf
	Cita	https://www.nature.com/articles/s41588-017-0012-9

9.4. ESTUDIOS DE CASO SOBRE LA DIVERSIDAD MICROBIANA EN SUELOS DE CHILE

En Chile, los estudios de biodiversidad se han centrado principalmente en organismos superiores, especialmente en torno a pisos vegetacionales (Luebert y Plischoff 2018) y son pocos los estudios específicos sobre diversidad microbiana de suelos (Marín et al. 2022). En estos pisos se presenta un elevado grado de endemismo asociado al clima y paisaje, extraordinariamente dinámico, con una geomorfología compleja, dominada por terrazas, serranías, valles y montañas (MMA 2018), como ocurre por ejemplo, en ecosistemas de las regiones de clima mediterráneo (Cagri y Mooney 1973). Debido a las adaptaciones de las especies endémicas a las diversas condiciones de vida características del territorio nacional, estas presentan un nivel de adaptación potencialmente valiosos frente al cambio climático (Ormazábal 1993), los cuales tienen relación con la microbiota del suelo.

Globalmente, las mayores amenazas a la biota del suelo incluyen la pérdida de la cubierta vegetal, la introducción de especies invasoras, lluvia ácida, contaminación, prácticas agrícolas, incendios forestales, desertificación y erosión del suelo, todo esto sumado al cambio climático global (Orgiazzi et al. 2016; FAO et al. 2020). En Chile, a pesar de la falta de estudios en el tema, a partir de la información recopilada en los documentos Biodiversidad y Cambio Climático en Chile: evidencia científica para la toma de decisiones (Marquet et al. 2019) y el Capítulo de Suelos del Informe del Estado del Medio Ambiente en Chile (Pfeiffer et al. 2019), se puede anticipar que la biota del suelo se ve afectada por procesos de degradación, incluida la erosión del suelo, otros procesos de deterioro físico, además de la degradación química (Rojas et al. 2022). Por otro lado, la biodiversidad de suelos y funciones asociadas también se pueden ver afectados por la deforestación, la urbanización y sellado del suelo, y los efectos del cambio climático, que agudizan los procesos de desertificación, ocurrencia de incendios y sequías (CONAF 2016; Emanuelli et al. 2016; Pfeiffer et al. 2019, Marquet et al. 2019, Rojas et al. 2022). Por lo tanto, la conservación de la biodiversidad del

suelo es crucial para la mantención de ciclo biogeoquímicos asociados al funcionamiento de los ecosistemas y al soporte de la vida que ocurre sobre los suelos, condiciones que actualmente en riesgo de perturbación debido al cambio climático (Jansson y Hofmockel 2020). A continuación, se presentan estudios de caso llevados a cabo en el territorio nacional, que nos acercan a una mejor comprensión de las respuestas de diversidad edáfica a amenazas como los incendios forestales, su estado de conservación en ecosistemas naturales y su relación con el cambio climático. Este conocimiento permite dirigir de mejor manera los esfuerzos de conservación, protección de los diversos microbiomas de suelo en el territorio y la provisión de servicios ecosistémicos derivados de estos.

Incendios forestales:

Históricamente, los incendios han jugado un papel importante en la composición y distribución de los ecosistemas terrestres (Pausas y Keeley 2009). Sin embargo, estos también han representado una importante presión, resultando en la degradación acelerada de los territorios (D'Ascoli et al. 2005; Esteves et al. 2012). En ecosistemas de bosque, los incendios no solo afectan de forma individual a la flora, la fauna y los componentes físicos de que lo conforman, sino que también la relación entre estos elementos, lo que finalmente compromete el funcionamiento y la resiliencia del ecosistema en su conjunto y la provisión de servicios ecosistémicos a partir de estos (Brown y Smith 2000; Falk et al. 2022). Los incendios forestales pueden llegar a perturbar las condiciones y funcionalidades de los suelos de bosque, dañando aspectos edáficos fundamentales para la recuperación de la cubierta vegetal afectada (Certini 2005; Berdugo et al. 2020; Remke et al. 2020). El efecto negativo de los incendios en propiedades abióticas edáficas es bastante reconocido a nivel global, y también es sabido que las propiedades bióticas de los suelos tienen una mayor sensibilidad a la ocurrencia de incendios, incluso a aquellos de baja intensidad (Hart et al. 2005; Mataix-Solera et al. 2009). Si bien se sabe que los procesos

biológicos que ocurren en los suelos son fundamentales para promover la recuperación de los ecosistemas quemados, las consecuencias de estos fenómenos en la biota del suelo, especialmente en los microorganismos edáficos y funciones relacionadas son poco conocidas (Yeager et al. 2005; Moya et al. 2021; Aponte et al. 2022). A continuación, se presentan dos estudios de casos llevados a cabo en Chile, que permiten comprender de mejor manera los efectos de los incendios forestales en la biodiversidad de suelo, y la relación de esta con los cambios en las propiedades abiótica de los suelos y algunos procesos edáficos de interés global.

Caso 1:

Estudio de los efectos de incendios en las comunidades de procariontes y perfiles fisiológicos comunitarios (Aponte et al. 2022). El estudio tuvo como objetivo evaluar el estado de los perfiles fisiológicos a nivel comunitario (CLPP por sus siglas en inglés) y la estructura de la comunidad de procariontes en suelos rizosféricos y no rizosféricos en dos bosques de composición vegetal similar y afectados por incendios en distintos períodos. Los sitios de estudio se encuentran en la región de O'Higgins, uno de ellos se ubica específicamente en la comuna de Pumanque (34°35'S; 71°42' O) en el secano interior de la Cordillera de la Costa a 100 m s.n.m. cuya precipitación media mensual registrada para el período 2000-2017 fue de 36.7 mm, el segundo sitio se localiza en la comuna de Requínoa (34°14' S; 70°41' O) en los faldeos de la pre Cordillera de los Andes a 1.000 m s.n.m donde se registró una precipitación media mensual de 25 mm durante el período 2000-2017 (Figura 2a). El sitio de Pumanque fue afectado en enero del 2017 por los megaincendios ocurridos ese año, mientras que el sitio de Requínoa fue afectado el año 2018, ambos eventos a nivel de sitio fueron de baja severidad. La vegetación leñosa de ambos lugares consistía principalmente en especies típicas del bosque esclerófilo como Boldo (*Peumus boldus*), Litre (*Lithraea caustica*), Quillay (*Quillaja saponaria*) y Trebo (*Trevoa trinervis*). Por otro lado, la vegetación herbácea del sitio afectado en el 2017 se conformaba por 30 especies y la del sitio afectado en el 2018 por 18 especies, de las cuales seis

se compartían en ambos lugares. Los suelos del sitio afectado en el 2017 corresponden al orden Inceptisol, son de pH ligeramente ácidos y de textura franco-arenosa, mientras que los suelos del sitio afectado el 2018 pertenecen al orden Alfisol, también tienen pH ligeramente ácidos y son de textura franco-arcillosa.

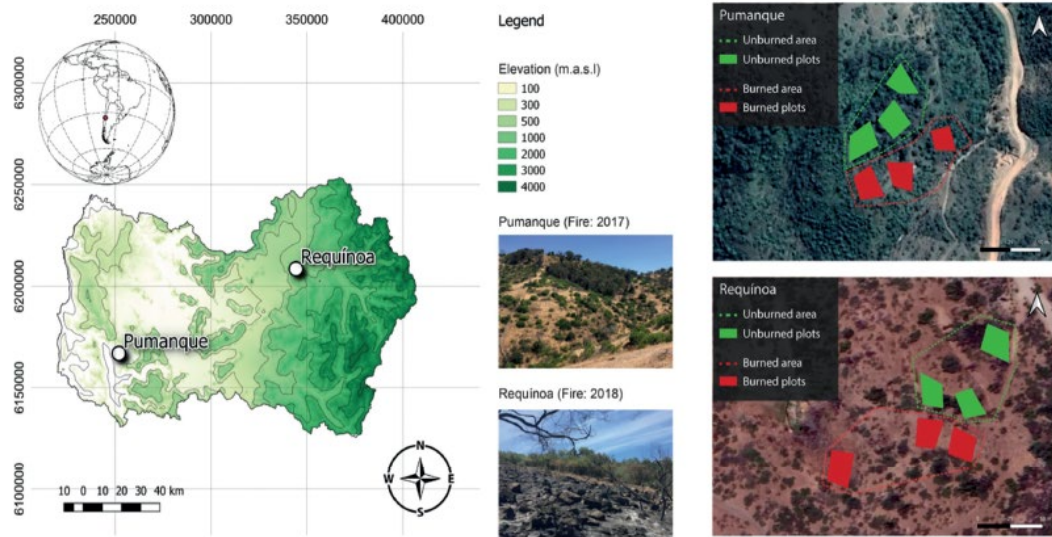


Figura 2. Sitios de muestreo consistentes en bosques esclerófilos ubicados dentro de la zona de clima Mediterráneo de Chile Central, en la región administrativa de O'Higgins. Los puntos blancos representan las localidades de estudio, las cuales fueron afectadas por incendios forestales en enero de 2017 (Pumanque) y mayo de 2018 (Requinoa) (Aponte et al. 2022).

En octubre del 2019, se tomaron muestras en ambos sitios en áreas del terreno afectadas por los incendios y en zonas contiguas de bosque no afectado por incendio, que sirvieron como control (Figura 2b), específicamente de la rizósfera asociada a la vegetación herbácea (Figura 3a) y muestras de suelo no rizosférico (10 cm superficiales). Debido a que este trabajo tuvo el propósito de estudiar la biota del suelo, el proceso de muestreo se llevó a cabo en condiciones asépticas y las muestras se mantuvieron refrigeradas desde la colecta en terreno hasta el laboratorio, donde se procesaron para los análisis realizados. Los perfiles fisiológicos a nivel comunitario fueron determinados con la técnica Biolog EcoPlates (Biolog Inc., Hayward, CA, United States), que utiliza distintas fuentes de carbono desde más lábiles a más recalcitrantes, con el objetivo de determinar

la capacidad metabólica de los organismos del suelo, mientras que la estructura de la comunidad de procariontes se determinó a través de la secuenciación masiva de amplicones utilizando la plataforma Illumina MiSeq PE300 platform (Illumina, San Diego, CA, United States) y PCR cuantitativo, específicamente apuntando al gen que codifica para el 16S rARN y posterior análisis bioinformático de los datos moleculares obtenidos. Por otro lado, se realizó una caracterización de las propiedades físicas y químicas de los suelos bajo estudio. Dentro de los principales resultados obtenidos, se observó que las diferencias más notorias en las condiciones bióticas de los suelos se registraron entre los suelos quemados vs no quemados, y no necesariamente entre suelos rizosféricos vs suelos no rizosféricos. Particularmente, el legado de la ocurrencia de incendios se registró de forma muy notoria en la diversidad y composición taxonómica de las comunidades de procariontes estudiadas con técnicas moleculares. Se observó una disminución de la diversidad alfa, con la ocurrencia de incendios de baja intensidad, particularmente en el sitio más recientemente afectado, los análisis de la diversidad beta evidenciaron comunidades disímiles entre condiciones con y sin incendio, donde el contenido de nitrato (NO_3^-) fue la propiedad abiótica edáfica que mejor explicó estas diferencias (Figura 3b). En cuanto a la composición de la comunidad, los filos Acidobacteria and Rokubacteria fueron los que disminuyeron de manera significativa en el suelos afectados por incendios en ambos sitios, mientras que Firmicutes y Actinobacteria aumentaron su abundancia relativa. Los cambios en la composición y diversidad microbiana no necesariamente se vieron reflejados en la capacidad metabólica de las comunidades microbianas, particularmente en el sitio afectado por incendio el 2017. Esta observación puede deberse principalmente al potencial restablecimiento de la redundancia funcional de los suelos, durante el proceso de recuperación natural en dicho sitio. En cambio, en el sitio afectado el 2018, aún se siguieron registrando alteraciones asociadas a la presencia del fuego, puesto se registraron actividades catabólicas significativamente más altas en suelos afectados por incendios, lo que puede indicar un estado de perturbación en los procesos microbianos aún presente

luego de cerca de un año de ocurrido el incendio. En general, se observó que la ocurrencia de incendios afectó la utilización de fuentes de carbono más recalcitrantes en comparación con fuentes más lábiles, y que activó fuentes relacionadas con la liberación de amoníaco a raíz de la actividad microbiana. Estos hallazgos proporcionaron una mejor comprensión sobre grupos específicos de procariontes afectadas por incendios, las propiedades abióticas que mejor explican los cambios en las comunidades a raíz de estos fenómenos y otorgó algunas luces sobre ciclos biogeoquímicos que estarían respondiendo a la ocurrencia de estos, lo que permite avanzar en el conocimiento de las condiciones edáficas que probablemente influyan en los procesos ecológicos durante la recuperación de los ecosistemas incendiados.

Caso 2:

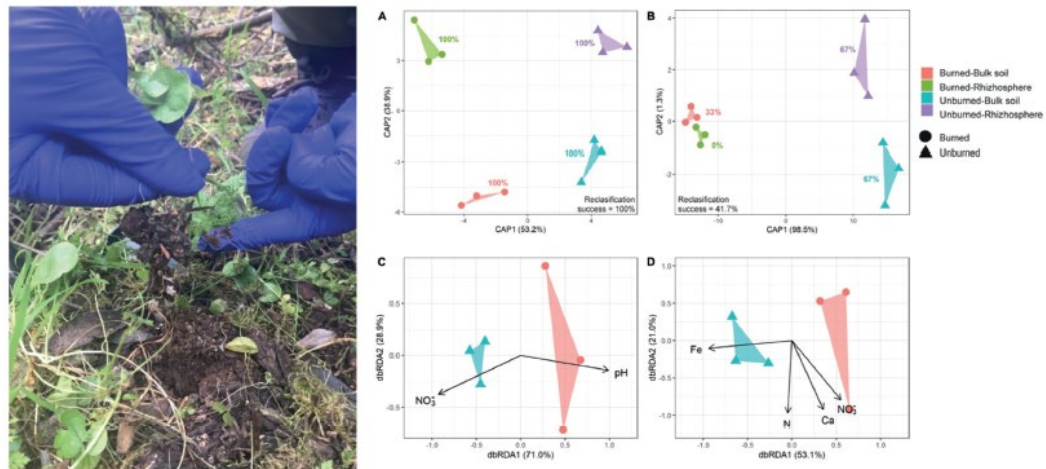


Figura 3. Izquierda, muestra la rizósfera asociada a la vegetación herbácea. Derecha, diversidad beta determinada a través de Análisis canónico de coordenadas principales (CAP) basado en las disimilitudes de Bray-Curtis restringidas por suelos quemados y no quemados, y suelos rizosféricos y no rizosféricos de Pumanque (A) y Requinoa (B). La reclasificación CAP (en porcentaje) se muestra a un costado de cada grupo. Análisis de redundancia basado en la distancia (dbRDA) basado en las diferencias de Bray-Curtis limitado por las propiedades fisicoquímicas del suelo (pH, NO_3 y contenido total de Fe, N y Ca) de Pumanque (C) y Requinoa (D). Las propiedades fisicoquímicas del suelo (variables explicativas) se muestran mediante vectores. PERMANOVA fue realizado por cada sitio de forma independiente (Aponte et al. 2022).

Respuestas de propiedades bióticas y abióticas de suelos quemados a la incorporación de enmiendas orgánicas contrastantes (García-Carmona et al. 2021). Los procesos biogeoquímicos llevados a cabo por la biota edáfica son

fundamentales para la recuperación de la vegetación afectada por incendios, por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo evaluar enmiendas orgánicas de distinto origen y nivel de madurez como estrategia para promover la recuperación de las propiedades biológicas y abióticas clave para el restablecimiento de las funciones ecosistémicas del suelo afectado por los megaincendios del verano 2016-2017. El sitio de trabajo fue el mismo lugar comprometido por los megaincendios del 2017 presentado en el estudio de caso anterior, donde en zonas afectadas por los incendios se instalaron parcelas experimentales al azar para distribuir los 5 tratamientos a evaluar en el estudio: T1) control, suelo quemado; T2) suelo quemado + mulch; T3) suelo quemado + mulch + compost; T4) suelo quemado + mulch + estiércol de ave; T5) suelo quemado + mulch + estiércol de cerdo. El mulch utilizado en el experimento correspondió a paja de cereal. Además de los tratamientos, se incluyó un T0 que correspondió a un suelo de referencia no incendiado. Los tratamientos fueron establecidos a comienzos de junio del 2018 y las muestras de suelo fueron tomadas 8 meses después, es decir en enero del 2019. Los parámetros microbiológicos evaluados fueron respiración basal ($\text{mg CO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg suelo}^{-1}$), biomasa microbiana ($\text{mg C kg suelo}^{-1}$) y además del coeficiente de mineralización del carbono y el cociente metabólico microbiano (qCO_2). El primer coeficiente de mineralización del carbono es calculado a partir del valor de la respiración basal dividido por el contenido de carbono orgánico total, permitiendo así evaluar la capacidad de mineralización de los suelos en presencia de las distintas enmiendas, mientras que el qCO_2 es calculado a partir del valor de la respiración basal dividido por la biomasa microbiana, lo que permite estimar la eficiencia de descomposición del carbono por los microorganismos del suelo. Además, se realizó una caracterización de las propiedades físicas y químicas de los suelos bajo estudio.

Los resultados desprendidos de este estudio indicaron que todas las enmiendas orgánicas (incluyendo el mulch) aumentaron la fertilidad de los suelos tratados y también la actividad microbiana (Figura 4). Ocho meses después del establecimiento de los tratamientos, los suelos que recibieron compost mostraron

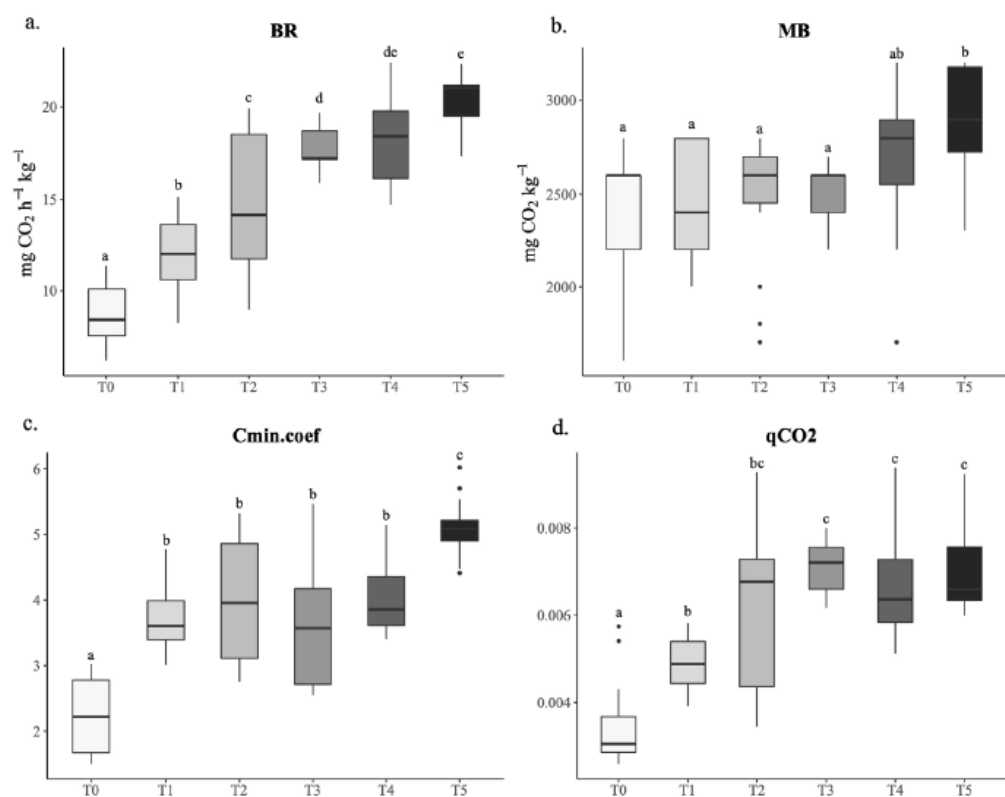
los valores más altos de carbono orgánico, seguidos por los suelos con estiércol de ave y luego aquellos con estiércol de cerdo. El mismo patrón se observó para los contenidos de N, donde los suelos tratados con compost tuvieron valores significativamente más altos que aquellos que recibieron enmiendas frescas en forma de estiércol de aves y estiércol de cerdo. Por lo tanto, un material más estable como el compost, aunque tenga un contenido menor de carbono orgánico y nitrógeno que enmiendas frescas en forma de estiércol, resulta en mayores cantidades de estos elementos en suelos tratados con dicho material. Por lo tanto, las enmiendas basadas en compost podrían asegurar la liberación de nutrientes a largo plazo y, por lo tanto, la recuperación de la función del suelo en periodos de tiempo mayores.

Por otro lado, las enmiendas frescas tipo estiércol, especialmente el estiércol de cerdo promovieron una recuperación rápida de las propiedades biológicas evaluadas. La respiración basal respondió particularmente a las enmiendas orgánicas, mostrando valores más altos en suelos que recibieron estiércol de porcino y de aves que en suelos tratados con compost. Contrario a lo observado para la respiración basal, la biomasa microbiana mostró pocas diferencias entre tratamientos; sin embargo, los mayores valores se observaron en suelos que recibieron enmiendas frescas en forma de estiércol porcino y de ave, aunque este último no mostró un aumento significativo al compararlo con el resto de los tratamientos. La similitud observada entre el suelo quemado (T0) y no quemado (T1) puede deberse posiblemente a la baja intensidad del incendio, lo que resulta en un aumento de los compuestos fácilmente mineralizables que pueden promover la actividad microbiana y el crecimiento de biomasa inmediatamente después de una quema (Goberna et al. 2012). En cuanto a los índices microbianos, el coeficiente de mineralización de carbono mostró un aumento en todos los suelos afectados por el fuego, incluido el control. De manera similar, el cociente metabólico (qCO_2) también aumentó en todos los suelos tratados afectados por el incendio y el control con valores significativamente más altos en suelos modificados con abono y estiércol.

Este estudio permitió comprender de mejor manera las implicancias inmediatas y futuras de la utilización de enmiendas orgánicas de distintas características, en las propiedades y dinámica de nutrientes en el suelo, permitiendo enfatizar el uso de estas como parte de las estrategias para la recuperación del ecosistema suelo y resiliencia de estos en contextos de bosques afectados por incendios.

Caso 3:

El efecto de la domesticación sobre el microbioma rizósferico de tomate (Araya et al. 2021). El efecto de la domesticación sobre el microbioma vegetal ha sido investigado en algunos cultivos, como trigo, legumbres, maíz y cebada, encontrándose una menor diversidad taxonómica y funcional en plantas domesticadas comparada a sus ancestros silvestres. En este estudio de caso se evaluó el efecto de la domesticación sobre el microbioma rizósferico de tomate (*Solanum lycopersicum*). Se compararon cuatro cultivares de tomate: ancestro silvestre (*Solanum chilense*), tomate Cherry (*S. lycopersicon* var. *cerasiforme*, estado intermedio), Poncho Negro (*S. lycopersicon*, variedad local) y Cal Ace (*S. lycopersicon*, variedad comercial) y dos suelos diferentes (natural, agrícola) (Figura 5). De las muestras rizosféricas se extrajo ADN ambiental. Mediante secuenciación masiva de fragmentos del gen 16S rRNA (bacteria) e ITS2 (hongos) en plataforma de Illumina se obtuvieron librerías de amplicons. Para el análisis de datos se utilizó la plataforma de Qiime 2 y Cytoscape (red de co-ocurrencia).



	T0	T1	T2	T3	T4	T5
OC (%)	3.99±0.58 bc	3.27±0.52 a	3.66±0.38 ab	5.19±1.22 d	4.73±0.57 cd	4.14±0.51 bc
N (%)	0.31±0.03 ab	0.27±0.04 a	0.26±0.03 a	0.54±0.12 d	0.47±0.07 c	0.36±0.04 b
P (mg kg ⁻¹)	22.03±8.08 a	8.08±3.88 a	20.78±10.19 a	169.14±38.90 b	625.79±151.68 d	302.42±138.80 c

Figura 4. Panel superior, diagrama de cajas que muestra respiración basal (mg CO₂ h⁻¹ kg suelo⁻¹), biomasa microbiana (mg C kg suelo⁻¹), coeficiente de mineralización del carbono y el cociente metabólico microbiano (qCO₂) para T1) control, suelo quemado; T2) suelo quemado + mulch; T3) suelo quemado + mulch + compost; T4) suelo quemado + mulch + estiércol de ave; T5) suelo quemado + mulch + estiércol de cerdo. Panel inferior, tabla con los contenidos de carbono orgánico (%), nitrógeno (%) y P (mg kg⁻¹) para los mismos tratamientos (García-Carmona et al. 2021).

Los resultados del estudio indicaron que el tipo de suelo es muy determinante para la composición, estructura y función del microbioma rizosférico. En bacterias, la diversidad aumenta en el suelo agrícola, mientras que los hongos son más diversos en el suelo natural. Al comparar los cuatro cultivares de tomate, los dos cultivares más domesticadas (Poncho Negro y Cal Ace) presentan una mayor diversidad de la comunidad bacteriana en suelo agrícola, lo cual contrasta con reportes de otros cultivos. La comunidad fúngica es más estable, tanto en

composición como abundancia de los grupos taxonómicos. La estructura de la comunidad microbiana (tanto bacterias como hongos) principalmente varía en función del suelo (Figura 5B). La red de coocurrencia demuestra dos agrupaciones clara: 1) un grupo de microorganismos (principalmente bacterias) asociado a la rizósfera de tomate independiente del cultivar de tomate y del suelo; 2) un grupo de bacterias del suelo agrícola, que presenta una correlación fuertemente negativa con un grupo de hongos del suelo natural, independiente del cultivar de tomate.

Posterior a caracterizar la comunidad bacteriana en su composición taxonómica (quienes están presentes y su abundancia), también se analizaron sus funciones potenciales. Al comparar estas predicciones funcionales entre los cuatro cultivares y dos suelos, las mayores diferencias se registraron entre la variedad Cal Ace y el ancestro silvestre (*S. chilense*) (Figura 5C, foco en Nodo 3 del análisis). En suelo natural, el ‘metabolismo microbiano en diversos ambientes’ aumenta significativamente en el cultivar Cal Ace. En suelo agrícola los grupos funcionales asociados a rutas metabólicas, biosíntesis de aminoácidos, Glicolisis-Gluconeogénesis y sistema de fosfotransferasas (PTS) incrementan en *S. chilense*. Interpretamos que estos ajustes funcionales en la comunidad microbiana responden a una selección ejercida por las plantas, según su necesidad específica al crecer en suelos “opuestos” a su suelo “habitual”. Finalmente, independiente del suelo y de los cultivares, se identificó un grupo de microorganismos “permanentes” en la rizósfera de tomate, cuyo perfil funcional varía entre los cultivares en respuesta al tipo de suelo. Destacamos la importancia de incluir un suelo natural (similar al de origen del ancestro silvestre) en este tipo de análisis, para poder detectar los cambios en el ensamble de la comunidad microbiana producto de la domesticación.

Caso 4:

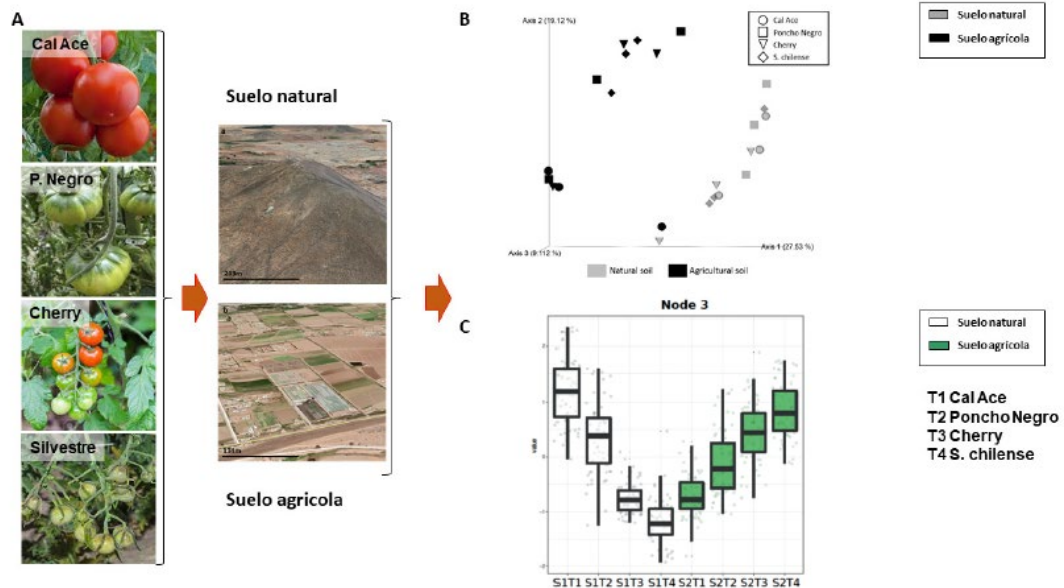


Figura 5. Estudio de la comunidad microbiana asociada a la rizósfera de *Solanum lycopersicon*, en distintas etapas de domesticación. A- Diseño experimental con 4 variedad de tomate y 2 suelos; B- Beta diversidad de la comunidad bacteriana de la rizósfera de *S. lycopersicon*; C- Comparación de las predicciones funcionales para las comunidades bacterianas entre las 4 variedades de tomate y los 2 suelos (realizado mediante mapas auto-organizados; detalle en el texto) (Araya et al. 2021).

Dinámica microbiana asociada al desierto florido (Desierto de Atacama) (Araya et al. 2019). En un desierto, las plantas como holobiontes responden rápidamente a los pulsos de recursos como la precipitación. Sin embargo, poco se sabe sobre cómo el ambiente y las plantas modulan el microbioma asociado a la rizósfera (Figura 6). En este estudio de caso se examinó la estructura de la comunidad, la diversidad y las interacciones de los hongos y procariotas asociados con *Cistanthe longiscapa*, una planta anual característica de la floración del Desierto de Atacama. En un año lluvioso, se seleccionaron sitios dentro de su hábitat natural, en un gradiente de precipitación Norte-Sur (Quebrada seca, El Algarrobo y Pajonales). Además en Quebrada seca se realizó un segundo muestreo en un año seco (año siguiente al lluvioso). Los suelos recolectados en cada sitio fueron caracterizados por sus propiedades físico-químicas (e.g. contenido de nutrientes (N-P-K), contenido de materia orgánica, pH, conductividad eléctrica, etc.). Se extrajo ADN ambiental de las muestras de rizósfera (R), Bulk soil (B) y Bare soil

(BS). Mediante secuenciación masiva de fragmentos del gen 16S rRNA (bacteria, archaea) e ITS2 (hongos) en plataforma de Illumina se obtuvieron librerías de amplicons. Para el análisis de datos se utilizó la plataforma de Qiime 1.9 y CoNet. A lo largo del gradiente, la microbiota de la rizósfera de *C. longiscapa* difiere claramente en composición y estructura del *bulk soil* circundante. Las comunidades de hongos y bacterias responden de manera diferente a las condiciones ambientales. La diversidad y riqueza de OTU fúngicas se correlacionan negativamente con la aridez. La estructura de la comunidad está predominantemente influenciada por otras características del suelo (pH, contenido de materia orgánica) pero no por la aridez. En contraste, la diversidad, composición y estructura de la comunidad bacteriana no varía con la aridez o cualquier otro parámetro del suelo evaluado. Estos hallazgos coinciden con la identificación de comunidades microbianas principalmente específicas del sitio, no compartidas a lo largo de los sitios. Estas comunidades locales contienen un grupo de OTU, que son exclusivas de la rizósfera de cada sitio y presumiblemente se heredan verticalmente como semillas endófitas. Sus funciones ecológicas y mecanismos de dispersión siguen sin estar claros. El análisis de los patrones de co-ocurrencia destaca el fuerte efecto del hábitat del desierto sobre el microbioma del suelo y la rizósfera. El enriquecimiento independiente del sitio de solo un pequeño grupo bacteriano consistentemente asociado con la rizósfera de *C. longiscapa* respalda aún más esta conclusión.

Respecto a la comparación de año lluvioso vs seco, la comunidad microbiana de rizósfera activa (año lluvioso) cambia drásticamente comparado a la rizósfera “latente” del año seco (Figura 6C). La rizósfera activa muestra una baja diversidad de hongos y procariotas y su estructura difiere significativamente de Bulk y del Bare soil. En cambio, en un año seco, la estructura de la comunidad de la rizósfera “latente” se aproxima a la que se encuentra en el Bulk. Derivamos la siguiente dinámica: durante un evento de desierto florido, *C. longiscapa* recluta una comunidad rizosférica específica, desde la comunidad microbiana presente en el Bulk. Al desvanecer la planta al final de su ciclo de vida, la comunidad

rizosférica se asimila nuevamente con el Bulk (Figura 6C). En el contexto de las interacciones planta-microorganismo en ambientes desérticos, este estudio aporta nuevos conocimientos sobre la importancia de la aridez en la estructura y composición de la comunidad microbiana, descubriendo la influencia de otros parámetros del suelo en esta compleja red dinámica, que necesita más investigación.

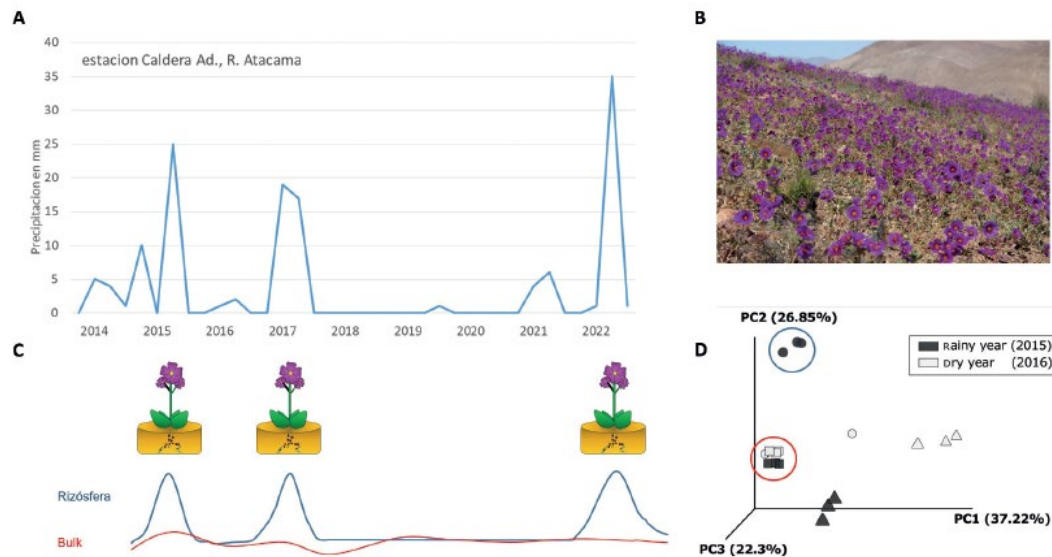


Figura 6. Dinámica de la comunidad microbiana asociada a la rizósfera de *Cistanthe longiscapa*. A- Registro de precipitación de la estación meteorológica de Caldera (región de Atacama); B- fotografía de *C. longiscapa* en flor, área de Pajonales (región de Atacama); C- esquema de la dinámica temporal de la formación de la comunidad microbiana asociado a la rizósfera de *C. longiscapa*; D- Beta diversidad de la comunidad procariota de la rizósfera de *C. longiscapa* en Quebrada seca (región de Atacama), comparación de un año lluvioso y un año seco (círculos: rizósfera, cuadrados: Bulk, triángulos: Bare soil) (Araya et al. 2019).

Caso 5:

Biodiversidad microbiana de suelos en una toposecuencia del Parque Nacional La Campana (Quinteros-Urquieta 2020). Este estudio se centra en la biodiversidad del microbioma del suelo en una toposecuencia del Parque Nacional La Campana, extremo norte de ecosistemas de tipo Mediterráneo (Figura 7). El Parque Nacional La Campana (PNLC) es reconocido mundialmente por constituir un hábitat muy rico en diversidad de flora y fauna, pero poco se conoce acerca de su diversidad microbiana. El PNLC establecido desde 1967 y Reserva Nacional de la Biósfera desde 1987 (Quintanilla 2009), se encuentra

emplazado en la región de Valparaíso y cuenta con más de 8.000 ha de superficie, donde se integra parte de la Cordillera de la Costa de Chile central. Esta cordillera incluye estribaciones como el cerro La Campana (1828 m s.n.m.) que propician las condiciones topoclimáticas (i.e. elevación, pendiente, orientación, exposición solar, etc.) que permiten la coexistencia de ecosistemas representativos del hotspot de biodiversidad de Chile Central (Myers et al. 2000). Entre estos se destacan las formaciones vegetacionales del bosque esclerófilo, orientados al sur, con predominancia de Bosques Quillay y Litre (*Quillaja saponaria* y *Lithraea caustica*); matorral esclerófilo en las laderas solana, orientadas al norte, donde se emplazan comunidades del Matorral de Tebo (*Treboa trinervis* y *Retanilla trinervia*) y suculentas; comunidades higrófilas en los fondos de valle formando Bosques de Peumo y Boldo (*Cryptocaria alba* y *Peumus boldus*), o bien bosques pantanosos de Myrtaceas y Canelo (*Luma chequen* y *Drymis winteri*); la presencia de bosques de palmas chilena (*Jubaea chilensis*) (Elórtogui y Moreira 2009; Quintanilla et al. 2012); y comunidades subalpinas relictas caracterizadas por Bosques de Roble (*Nothofagus macrocarpa*) y Matorrales de Neneo (*Mulinum spinosum*) ubicadas en sectores de mayor elevación (1100-2000 m s.n.m.) (Hauck et al. 2016; Luebert y Plischoff 2018).

Este estudio tuvo por objetivo caracterizar la estructura y composición de las comunidades microbianas (Bacterias, Arqueas y Hongos) y su relación con las comunidades vegetacionales características del PNLC en dos pares de sitios (Figura 7): i) Bosque esclerófilo de laderas de orientación sur (A), ii) Matorral xerófito de orientación norte a ~400 m s.n.m. (B), iii) Bosque higrófilo en fondo de quebrada (C) y iv) Bosque de Palmas en laderas de orientación oeste a ~600 m s.n.m. (D). Se realizó una caracterización de los ecosistemas vegetacionales, características fisicoquímicas de la materia orgánica y la composición microbiana del suelo, utilizando secuenciación masiva (iTag-16S rRNA, V4 e ITS1-5F) a partir del ADN extraído de 16 muestras de suelo superficial (5 cm).

En términos ambientales, se observó una mayor contribución de las precipitaciones en el bosque esclerófilo; de la cobertura de hierba y la densidad seca en el matorral xerófito; del C y C/N en el bosque higrófilo y de la cobertura de matorral y el rango anual de temperatura en el bosque de palmas. En relación a las variables fisicoquímicas, se encontraron diferencias significativas del C/N entre los sitios de bosque y matorral xerófito, con respecto al bosque de palmas y bosque higrófilo.

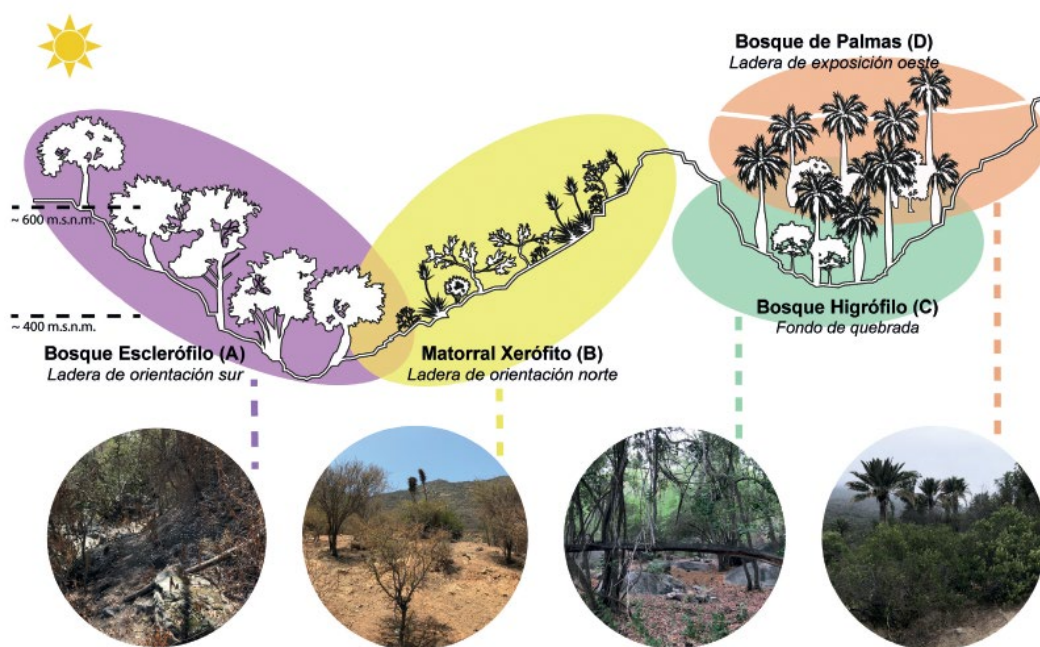


Figura 7. Comunidades vegetacionales características del PNLC donde se realizaron muestreos de suelos (Quinteros-Urquieta 2020).

Los resultados revelan, además, que en el caso de los procariotas, existe una mayor abundancia en los suelos de áreas con bosque esclerófilo y matorral xerófito. Específicamente, el bosque esclerófilo exhibe una diversidad y equidad superior en su composición, manifestando diferencias significativas ($p\text{-value} < 0,05$) en comparación con el bosque de palmas. A diferencia de los procariontes, los suelos de bosque higrófilo presentaron la mayor riqueza, diversidad y equidad en la composición de hongos en comparación a los otros sitios. Junto con lo anterior, en el caso de las bacterias los *phyla* más representativos en todas las muestras de suelos estudiados fueron: las Proteobacteria (34,26%), Actinobacteria (30,94%), Acidobacteria (10,65%), Gemmatimonadetes (4,46%),

Bacteroidetes (4,46%), Verrucomicrobia (4,12%), Chloroflexi (4,20%). En el caso de los hongos, el *phylum* Ascomycota alcanzó un 68,52% seguido por Basidiomycota (13,25%). En particular, el suelo del bosque esclerófilo (sur) presentó una predominancia del *phylum* de la arquea Crenarchaeota; el matorral esclerófilo (norte) una predominancia de bacterias fotosintéticas como Cyanobacteria y Chloroflexi; y en el bosque de Palma (oeste) y bosque higrófilo (fondo de quebrada) se observa una predominancia similar de Bacteroidetes y Mortierellomycota. Además, los procariontes de los distintos sitios tienen un core común de 3415 ASVs (31,2%) que resulta ser mayor que los ASVs exclusivos para cada sitio, en contraste con los hongos, que presentaron una distribución inversa, con un core de 508 ASVs (4,9%) y mayores porcentajes de ASVs exclusivos por sitio. La variabilidad de la estructura microbiana basada en análisis de beta-diversidad (~80% en sus ejes), dio cuenta que tanto para bacterias y arqueas como para hongos hay una generación de clusters intra-sitios. Los procariontes presentaron una similitud entre las comunidades del bosque higrófilo y bosque de palmas, y en el caso de los hongos la comunidad del suelo de laderas de exposición norte (matorral esclerófilo) presentaron una comunidad microbiana más semejante entre sí en comparación al resto de los suelos analizados. La información presentada anteriormente demuestra que la variabilidad en la composición de los microorganismos está directamente influenciada por la distribución espacial. Los consorcios microbianos analizados muestran una estructura y composición que reflejan las comunidades vegetales presentes en el PNLC. Esta relación está vinculada con factores como la orientación, la pendiente, la cobertura vegetal, la disponibilidad de humedad y la exposición solar. Estos hallazgos sugieren una estrecha conexión entre el microbioma del suelo y las variables topoclimáticas circundantes.

Caso 6:

Enzimas del suelo y actividad biológica en diferentes niveles de estabilidad de la materia orgánica (Merino et al. 2016). En este estudio, los autores examinaron cómo el suelo reacciona ante cambios ambientales para anticipar su respuesta

en la captura de carbono bajo escenarios de 2009). Esto incluye el efecto de la incorporación de carbono lábil que acelera el ciclaje de la materia orgánica del suelo (MOS) y podría incrementar la mineralización del carbono. Además, la composición mineral y la disponibilidad de carbono influyen en el hábitat de los microorganismos del suelo, que dependen de compuestos simples y disueltos para su crecimiento (Almendros et al. 2005). Estos microorganismos producen enzimas extracelulares, como la β -glucosidasa, deshidrogenasa o fosfatasa que descomponen compuestos orgánicos en sustancias solubles. Si se considera que la falta de nitrógeno disponible limita la actividad microbiana, llevando a la producción de enzimas oxidativas para descomponer la MOS resistente y liberar nitrógeno (Chen et al. 2014). Existe una correlación positiva entre el contenido de nitrógeno en los residuos vegetales y la actividad de las enzimas de la familia de la β -glucosidasa (Miralles et al. 2012). Por lo tanto, comprender la respuesta enzimática a la calidad y cantidad de la MOS en diferentes tipos de suelos es crucial.

El estudio de la estabilidad y complejidad de la MOS se ha realizado mediante diferentes métodos de fraccionamiento, especialmente usando líquidos de diferentes densidades (Christensen 2001). En suelos volcánicos, donde esta técnica se aplica menos, se utiliza más el tamizado en húmedo. Este estudio se llevó a cabo en bosques antiguos de *Nothofagus* spp. en la Cordillera de los Andes en un suelo alofánico derivados de cenizas volcánicas y en la cordillera de Costa en un suelo kaolinitico derivado de esquistos metamórficos. Estos sitios ofrecen una oportunidad ideal para investigar la influencia de la mineralogía del suelo en la estabilización del carbono en diferentes fracciones físicas aisladas de horizontes minerales Ah de suelos con mineralogía y capacidad de estabilización contrastantes de la MOS. La actividad biológica en respuesta a la composición mineral del suelo a diferentes niveles de estabilidad de la MOS puede proporcionar información valiosa para estudiar la dinámica de conservación de nutrientes en ecosistemas prístinos. La metodología incluyó la recolección de muestras de la capa mineral superior del suelo, las que fueron transportadas al

laboratorio en condiciones frías y analizadas para determinar pH, carbono orgánico, nitrógeno total, fósforo inorgánico y otros macronutrientes. Se aplicó un método de fraccionamiento físico para separar la materia orgánica del suelo en tres fracciones: fracción ligera (LF), intermedia (IF) y mineral (MF), utilizando tamices y sonicación (Jones and Singh 2014). Las muestras de suelo completo y fracciones se incubaron con sustratos de celulosa, y se midió la mineralización del carbono (CO₂). También se extrajo el nitrógeno mineral y el fósforo inorgánico para su análisis. En cuanto al análisis biológico y bioquímico, se determinó la biomasa microbiana carbonada y el coeficiente metabólico del suelo. Se midió la actividad de cuatro enzimas: β -glucosidasa, deshidrogenasa, ureasa y fosfatasa ácida. Además, se analizaron los carbohidratos totales y el ATP extraído del suelo.

Los resultados del estudio revelaron aspectos clave sobre las propiedades del suelo, la actividad enzimática y la estabilización del carbono. La recuperación total del suelo desde las fracciones ligera (LF), intermedia (IF) y mineral (MF) fue cercana al 100%. La proporción de MF fue mayor en suelos del Parque Nacional Alerce Costero (PAC) comparado con el Parque Nacional Puyehue (PNP). Ambos suelos presentaron características físicas y químicas distintas debido a su origen volcánico y metamórfico. El carbono orgánico del suelo (SOC) fue similar en ambos suelos, aunque la fracción mineral en suelos PAC mostró una menor cantidad de SOC.

Durante la incubación, se observó que la mineralización del carbono en todas las fracciones y suelos estuvo entre 162 y 1000 mg C-CO₂ por kg de suelo después de 30 días, siendo siempre menor en suelos PAC. La mineralización disminuyó en el orden LF > IF > MF en ambos suelos. La actividad de las enzimas β -glucosidasa, deshidrogenasa, fosfatasa y ureasa, así como los niveles de carbohidratos (totales, solubles y reductores), nitrógeno inorgánico (amonio y nitrato) y fósforo inorgánico, mostraron diferencias significativas entre los suelos y fracciones (Figura 8). En suelos PNP, las enzimas β -glucosidasa y deshidrogenasa fueron más altas en comparación con suelos PAC,

especialmente en la fracción mineral. Las enzimas β -glucosidasa y deshidrogenasa mostraron una alta correlación entre sí y con carbohidratos solubles y azúcares reductoras. La respiración del suelo estuvo positivamente correlacionada con estas enzimas y azúcares reductoras.

La eficiencia metabólica del carbono para microorganismos se evaluó a través del cociente metabólico del suelo (qCO_2) (Figura 9). Hubo una correlación significativa entre qCO_2 y ATP, siendo ATP altamente correlacionado con la mineralización acumulativa de C- CO_2 . La estabilización de carbono se evaluó mediante la relación entre el aluminio ligado a la materia orgánica (Alp) y la mineralización de C- CO_2 , mostrando una relación inversa significativa en suelos PNP, pero no en suelos PAC.

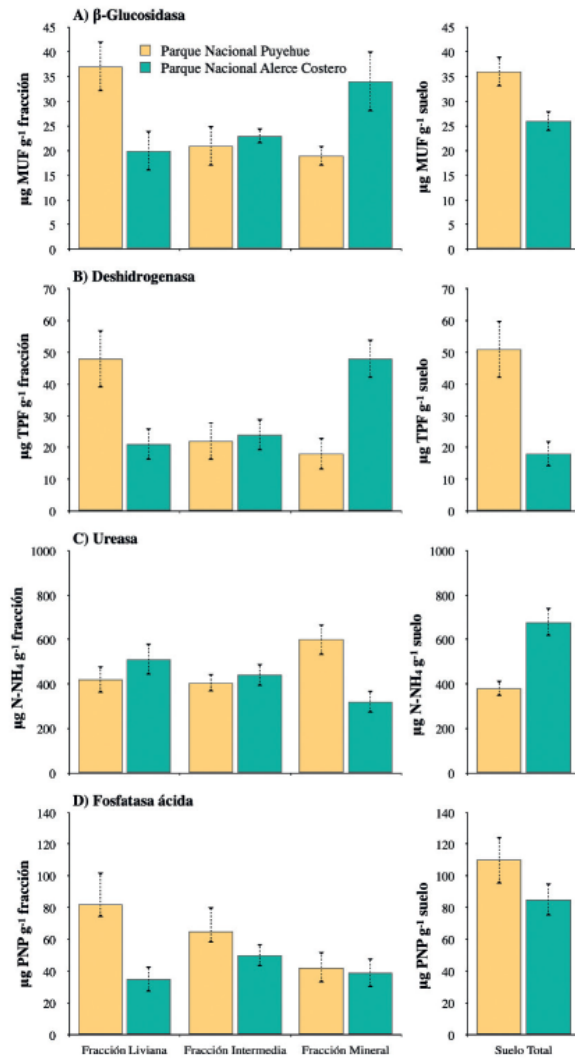


Figura 8. Promedio de actividad enzimática después de 30 días de incubación. (A) β -glucosidasa (βG), (B) deshidrogenasa (DH), (C) ureasa y (D) fosfatasa, en suelo completo de bosque lluvioso templado en el Parque Nacional Puyehue (PNP) y el Parque Nacional Alerce Costero (PAC) (Merino et al. 2016).

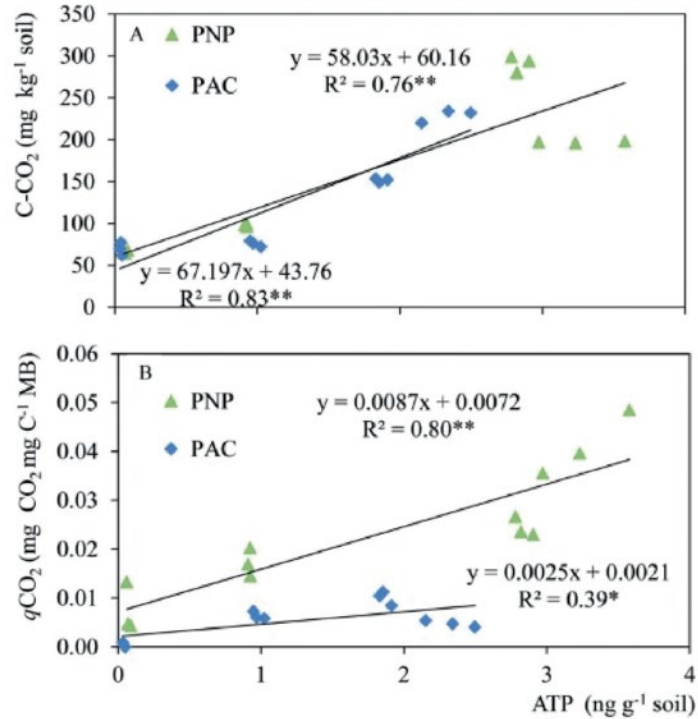


Figura 9. Relación entre ATP y (A) C-CO₂, (B) qCO₂ en 15-30 días de incubación del suelo completo y las fracciones físicas aisladas del Parque Nacional Puyehue (PNP) y el Parque Nacional Alerce Costero (PAC). * $p < 0.05$ y ** $P < 0.01$ (Merino et al. 2016).

En la discusión del estudio, se abordó el control de la mineralogía sobre la actividad biológica y la estabilización del carbono, así como la relación entre el cociente metabólico y la estabilización del carbono en las diferentes fracciones físicas. La actividad de las enzimas β -glucosidasa y deshidrogenasa mostró una fuerte correlación con la liberación de C-CO₂, indicando la importancia de estas enzimas en la degradación de compuestos orgánicos lábiles (Bore et al. 2019). La materia orgánica del suelo en la fracción mineral de los suelos alofánicos está complejada con óxidos de aluminio y minerales de ordenamiento corto, lo que representa un mecanismo importante de estabilización del carbono. En contraste, los suelos kaoliniticos mostraron una menor capacidad de estabilización. El cociente metabólico qCO₂, mostró una correlación positiva y alta con el ATP en el suelo total y en las fracciones físicas. La estructura de la comunidad microbiana, afectada por el tamaño de partícula, desempeña un papel importante en la mineralización del carbono (Chenu et al. 2019). Se observó una relación inversa significativa del suelo, la actividad enzimática y la estabilización del

carbono. La recuperación total del suelo desde las fracciones ligera (LF), intermedia (IF) y mineral (MF) fue cercana al 100%. La proporción de MF fue mayor en suelos del Parque Nacional Alerce Costero (PAC) comparado con el Parque Nacional Puyehue (PNP). Ambos suelos presentaron características físicas y químicas distintas debido a su origen volcánico y metamórfico. El carbono orgánico del suelo (SOC) fue similar en ambos suelos, aunque la fracción mineral en suelos PAC mostró una menor cantidad de SOC.

Durante la incubación, se observó que la mineralización del carbono en todas las fracciones y suelos estuvo entre 162 y 1000 mg C-CO₂ por kg de suelo después de 30 días, siendo siempre menor en suelos PAC. La mineralización disminuyó en el orden LF > IF > MF en ambos suelos. La actividad de las enzimas β -glucosidasa, deshidrogenasa, fosfatasa y ureasa, así como los niveles de carbohidratos (totales, solubles y reductores), nitrógeno inorgánico (amonio y nitrato) y fósforo inorgánico, mostraron diferencias significativas entre los suelos y fracciones (Figura 8). En suelos PNP, las enzimas β -glucosidasa y deshidrogenasa fueron más altas en comparación con suelos PAC, especialmente en la fracción mineral. Las enzimas β -glucosidasa y deshidrogenasa mostraron una alta correlación entre sí y con carbohidratos solubles y azúcares reductoras. La respiración del suelo estuvo positivamente correlacionada con estas enzimas y azúcares reductoras.

La eficiencia metabólica del carbono para microorganismos se evaluó a través del cociente metabólico del suelo (qCO₂) (Figura 9). Hubo una correlación significativa entre qCO₂ y ATP, siendo ATP altamente correlacionado con la mineralización acumulativa de C-CO₂. La estabilización de carbono se evaluó mediante la relación entre el aluminio ligado a la materia orgánica (Alp) y la mineralización de C-CO₂, mostrando una relación inversa significativa en suelos PNP, pero no en suelos PAC.

En la discusión del estudio, se abordó el control de la mineralogía sobre la actividad biológica y la estabilización del carbono, así como la relación entre el cociente metabólico y la estabilización del carbono en las diferentes fracciones físicas. La actividad de las enzimas β -glucosidasa y deshidrogenasa mostró una fuerte correlación con la liberación de C-CO₂, indicando la importancia de estas enzimas en la degradación de compuestos orgánicos lábiles (Bore et al. 2019). La materia orgánica del suelo en la fracción mineral de los suelos alofánicos está complejada con óxidos de aluminio y minerales de ordenamiento corto, lo que representa un mecanismo importante de estabilización del carbono. En contraste, los suelos kaoliniticos mostraron una menor capacidad de estabilización. El cociente metabólico qCO₂, mostró una correlación positiva y alta con el ATP en el suelo total y en las fracciones físicas. La estructura de la comunidad microbiana, afectada por el tamaño de partícula, desempeña un papel importante en la mineralización del carbono (Chenu et al. 2019). Se observó una relación inversa significativa.

entre el aluminio ligado a la materia orgánica (Alp) y la mineralización de C-CO₂ en suelos volcánicos, pero no en suelos Kaoliniticos. Esto sugiere que los complejos de Al-SOM y la formación de alofan son procesos regulados principalmente por el pH del suelo. Además, se encontró que la mineralización del carbono disminuye cuando se agregan materiales alofánicos a suelos no volcánicos, debido a que el enlace químico entre la MOS y las superficies minerales reduce la disponibilidad de carbono para los microorganismos. En conclusión, el estudio destaca la importancia de la mineralogía del suelo en la actividad biológica y la estabilización del carbono, y cómo estos procesos están influenciados por factores como el tipo de mineral, el tamaño de partícula y el pH del suelo.

Caso 7.

El cambio en el potencial redox del suelo controla el flujo de CO₂, CH₄ y N₂O producido por los Hongos de podredumbre blanca en ecosistemas de bosques templados (Merino et al. 2021). El óxido nitroso (N₂O) es un potente gas de efecto invernadero, alrededor de 300 veces más potente que el dióxido de carbono (CO₂) y 23 veces más que el metano (CH₄) (Yusof et al. 2021; Hu et al. 2022). Este estudio explora cómo diversas condiciones, tanto óxicas como anóxicas, afectan la producción de N₂O en los suelos forestales ricos en materia orgánica, poniendo de relieve el papel significativo de los hongos, en particular los saprófitos y los hongos de la podredumbre blanca, en este proceso (Dashtban et al. 2010). Estos organismos se han adaptado a niveles bajos de oxígeno, utilizando enzimas y reacciones abióticas para descomponer la lignocelulosa. La investigación también cuestiona la hipótesis de que solo las bacterias median la generación de N₂O y CH₄, sugiriendo que los hongos podrían desempeñar un papel más relevante de lo que se pensaba anteriormente. El estudio apunta a una mayor comprensión de la ecología de la comunidad de la desnitrificación fúngica y su contribución a las emisiones de gases de efecto invernadero en condiciones de redox fluctuantes.

La metodología adoptada en el estudio abarcó cinco tipos de suelos de bosques templados, con precipitaciones anuales que varían entre 1500 y más de 5000 mm. Se seleccionaron suelos de distintos parques nacionales en Chile, cada uno con características geológicas particulares, desde granodioritas hasta cenizas volcánicas. Los muestreos se centraron en la capa mineral superior del suelo, tras lo cual las muestras se dividieron en porciones para análisis microbiológicos, enzimáticos, químicos y físicos (Arantes and Ferreira 2007). Para determinar la pH y otros parámetros como carbono orgánico y nitrógeno total, se emplearon técnicas estándares, incluyendo la espectroscopía de absorción atómica. La saturación de aluminio y la textura del suelo se evaluaron según métodos reconocidos. La esterilización del suelo se realizó mediante autoclave y fumigación con cloroformo, buscando eliminar microorganismos resistentes sin

alterar significativamente la materia orgánica del suelo. En el cultivo, se aislaron hongos de pudrición blanca de troncos de madera, identificándolos mediante secuenciación del ADN ribosomal. Se diseñaron experimentos de microcosmos para examinar los efectos del redox del suelo en las emisiones de N₂O por hongos, utilizando jarras ámbar y manipulando las condiciones de oxígeno. Además, se cuantificó la abundancia fúngica por el método de extracción de ergosterol y se evaluó la actividad enzimática potencial de desnitrificación mediante el ensayo de reducción de acetileno.

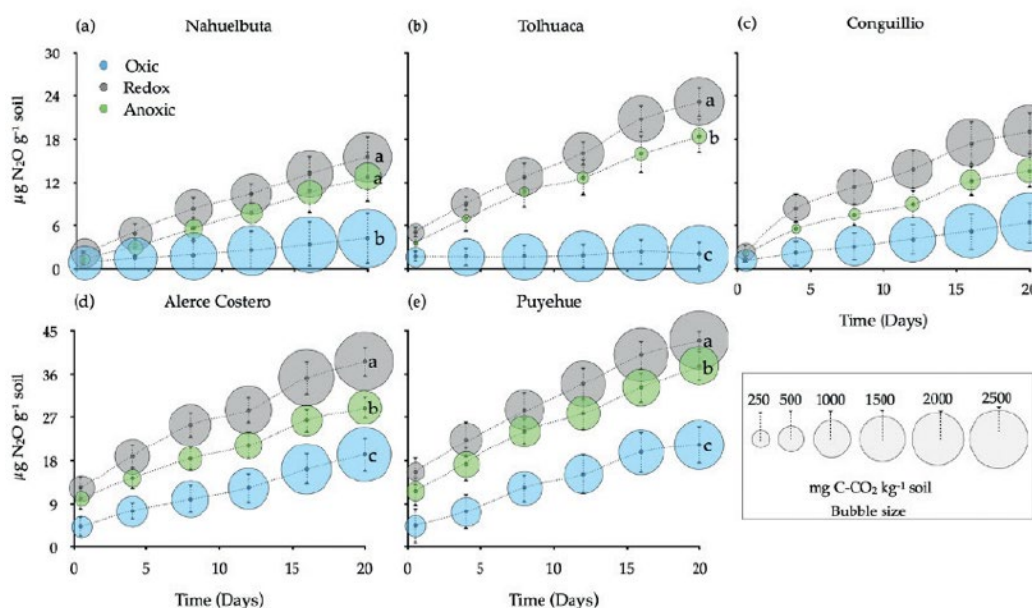


Figura 10. N₂O acumulativo de suelos de bosques templados inoculados con hongos de pudrición blanca e incubados durante 20 días bajo condiciones redox óxicas, anóxicas y fluctuantes. El tamaño de la burbuja representa la tasa respiratoria (mg C-CO₂ kg⁻¹ de suelo). La letra de referencia en cada panel (a–e) representa los cinco sitios de suelos de bosques templados. Letras diferentes en cada panel indican diferencias significativas (n = 80, p < 0.05) (Merino et al. 2016).

Los suelos evaluados en este estudio, desarrollados a partir de diversos materiales parentales bajo un clima templado, mostraron una variación en la precipitación anual recibida de 1491 a más de 5000 mm. Descubrimos que la producción de N₂O por hongos de pudrición blanca y bacterias alcanzó el 62% de las emisiones totales de gases de efecto invernadero bajo concentraciones variables de oxígeno, con los hongos contribuyendo un 70% frente al 54% de las bacterias (Figura 10, Figura 11). Estos hallazgos cuestionan la idea establecida

de que solo las bacterias median la emisión de N_2O , sugiriendo un papel sustancial de los hongos en la producción de este gas en los suelos forestales templados (Li and Zhou 2020).

Las emisiones de N_2O mediadas por bacterias, que reflejan el equilibrio neto entre la producción y el consumo de N_2O , contribuyeron con hasta un 56% de las emisiones de CH_4 durante la incubación anóxica (Figura 11). De manera similar, la producción de N_2O en el suelo estaba compuesta en un 70% por la actividad de los hongos del suelo bajo condiciones redox. Aunque este porcentaje fue similar al reportado en ecosistemas forestales tropicales, el aporte fúngico en la producción de N_2O en el suelo fue comparable o mayor que el aporte bacteriano en los cinco ecosistemas estudiados, respaldando la importancia de los hongos como agentes biológicos clave en la producción de N_2O en el suelo. Generalmente, los hongos carecen de la reductasa de N_2O ; por lo tanto, las emisiones de N_2O mediadas por hongos dependen exclusivamente de la producción de N_2O . Pequeñas cantidades de O_2 son necesarias para la desnitrificación fúngica debido a la coexistencia del sistema de respiración de O_2 . Nuestro experimento indicó que los hongos prefieren las condiciones redox fluctuantes para la emisión máxima de N_2O , lo cual se correlacionó bien con las emisiones de CO_2 y CH_4 .

La abundancia de hongos, estimada por el ergosterol, aumentó hacia latitudes más australes con mayor precipitación. Diferencias en el contenido de ergosterol entre los sitios estudiados podrían deberse a divergencias en la composición de la comunidad microbiana, ya que se encontraron diferentes especies de hongos de pudrición blanca. Además, en el suelo de Puyehue, los hongos generaron una gran cantidad de N_2O y actividad de enzimas de desnitrificación, mientras que en el suelo de Tolhuaca, la producción de N_2O disminuyó y las enzimas se produjeron bajo condiciones redox fluctuantes. Con respecto a las propiedades del suelo examinadas en este estudio, el pH del suelo tuvo la mayor diferencia

entre los cinco ecosistemas. Esto podría explicar parcialmente las diferencias en la contribución relativa de hongos y bacterias a la tasa de emisión de N₂O del suelo, posiblemente debido al impacto del pH del suelo en la abundancia y actividad relativas de hongos y bacterias. Los hongos han demostrado crecer en un rango más amplio de pH del suelo en comparación con las bacterias (Carney et al. 2007). Así, un pH ácido (<5.0) puede tener poca influencia en la biomasa fúngica. Sin embargo, un pH ácido puede cambiar adversamente la comunidad bacteriana. La relación biomasa fúngica-bacteriana tiende a aumentar con la reducción del pH del suelo. En nuestro estudio, un pH ácido en el suelo forestal templado podría cambiar la microbiota del suelo. La actividad enzimática de desnitrificación diferencial en el bosque dependía presumiblemente de los cambios en la abundancia de hongos de pudrición blanca (ergosterol) identificados y las variaciones en el SOC del suelo, debido a la falta de C disponible como fuente de energía para que los denitrificadores expresen la actividad enzimática de desnitrificación.

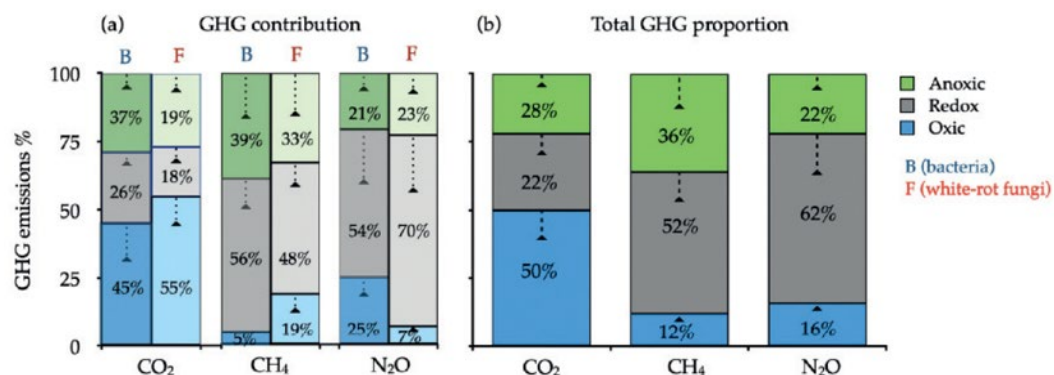


Figura 11. (a) Contribución promedio de bacterias y hongos de pudrición blanca a las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) de suelos esterilizados e inoculados con hongos de pudrición blanca (Las letras representan la contribución de GEI de bacterias (B) y hongos de pudrición blanca (F)) y (b) promedio del impacto microbiano (hongos y bacterias) a los GEI en suelos de bosques lluviosos templados incubados durante 20 días bajo condiciones redox óxicas, anóxicas y fluctuantes (Merino et al. 2016).

En conclusión este estudio proporciona evaluaciones más detalladas de las contribuciones fúngicas a las emisiones de N₂O y otros gases de efecto invernadero como el CO₂ y el CH₄, en un experimento de microcosmos bajo condiciones redox fluctuantes, dada la limitada cantidad de estudios,

particularmente en suelos de bosques húmedos templados. En promedio, los hongos de pudrición blanca aislados de cinco suelos forestales (Andisoles, Inceptisol y Ultisol), la mayoría de bosques de *Nothofagus* spp. y Araucaria araucana, contribuyeron significativamente a la emisión de N₂O bajo condiciones anóxicas y fluctuantes de oxígeno, representando más del 62% del total de gases de efecto invernadero. Los hongos fueron responsables del 70% de las emisiones de N₂O, mientras que las bacterias contribuyeron con el 54%. En comparación, estos valores fueron del 7% y 25% respectivamente, en incubación óxica.

7.5. RECOMENDACIONES

Chile es un país con importantes gradientes latitudinales y altitudinales, lo que se traduce en una gran diversidad de climas, ecosistemas y suelos. La diversidad edáfica distribuida en territorio nacional representa un importante reservorio de distintas formas de vida microbiana, las que son fundamentales de estudiar, documentar y conservar. Los ejemplos presentados en este capítulo sobre el estudio de la biodiversidad de la microbiota edáfica, sus amenazas y la brecha de conocimiento que aún existe en la materia, proporcionan argumentos relevantes que invitan a profundizar en el conocimiento y protección de estos organismos microscópicos y el rol fundamental que pueden jugar en los ecosistemas y en el bienestar humano. La falta de conocimiento sobre la biodiversidad edáfica es precisamente una de sus principales amenazas, puesto que esto dificulta las acciones que propendan a su protección, preservación y recuperación en los ecosistemas. Este aspecto es especialmente crítico considerando que el planeta pasa por una nueva ola de extinción masiva, principalmente debido a la acción humana (Anthony et al. 2023).

La biodiversidad edáfica representa un valor intrínseco, además de su valor funcional, siendo ambos atributos fundamentales de conservar frente a escenarios ambientales impredecibles, y en muchos casos extremos, ya que su detrimento puede perjudicar el funcionamiento de los ecosistemas en el futuro

(Bengtsson et al. 1997). Este aspecto es fundamental si se considera que la resiliencia de los ecosistemas terrestres se relaciona con el estado de los suelos, que también responde a condiciones climáticas extremas (Falk et al. 2022). En este contexto, estudios sugieren que la degradación del suelo y la biota asociada genera un efecto cascada sobre la biodiversidad y funcionamiento de los ecosistemas, lo que perjudica su capacidad de mantener servicios ecosistémicos (Lavelle y Spain 2001; Wall et al. 2001). En el ámbito internacional existen programas de conservación como la Ley de Especies en Peligro de Extinción (Endangered Species Act—ESA) y la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), que cuentan con la fuente de información detallada sobre el estado de conservación de las especies; sin embargo, estos esfuerzos excluyen largamente especies que habitan en el suelo (Anthony et al. 2023). Por otro lado, a nivel global existen áreas geográficas subrepresentadas en esfuerzos internacionales de muestreos de suelo para el estudio de la diversidad biológica (Anthony et al. 2023), donde Chile es parte de los territorios poco explorados (Guerra et al. 2020; Aponte 2022). En el contexto nacional, es necesario, por ejemplo, ampliar el conocimiento de la biodiversidad de suelos en 1) territorios geográficos que van más allá de los suelos productivos, 2) tomar en cuenta la biodiversidad edáfica en la priorización e identificación de áreas de conservación, 3) considerar profundidades mayores de muestreo de suelos, que vayan más allá de las que usualmente se estudian asociadas a la extensión de raíces, 4) e identificar especies o grupo de microorganismos clave a nivel local para su conservación. Estas y otras iniciativas pueden permitir proteger y evaluar el potencial de la contribución de los microorganismos del suelo a servicios ecosistémicos que actualmente han sido poco explorados en el contexto nacional.

En el ámbito de la enseñanza y divulgación del conocimiento de la biodiversidad microbiana de suelos, una de las motivaciones de este capítulo, en la literatura se señala que la falta de aproximaciones que apunten a la conservación de la biodiversidad edáfica es uno de los aspectos que requiere grandes avances en

la ciencia del suelo (Decaëns et al. 2006). En Chile, la ciencia del suelo impartida como edafología en distintas carreras a nivel universitario, tales como Agronomía, Ingeniería Forestal e Ingeniería en Recursos Naturales, debiera abordar como un componente fundamental de enseñanza, el rol de la biota edáfica, particularmente organismos microscópicos desde la formación al funcionamiento de los suelos, y lo relevante de estos componentes bióticos en la salud de estos ecosistemas. Es evidente que los alcances del estudio de la biodiversidad de suelos y sus aplicaciones ambientales trascienden a los programas de formación mencionados anteriormente. Esto representa una oportunidad de robustecer estudios interdisciplinarios a nivel nacional e internacional junto con otras disciplinas que incluyen la Ecología, Geología, Biotecnología, e Ingeniería Ambiental, por nombrar algunas. A nivel de formación escolar, el aspecto biológico de los suelos puede sin duda ser incluido en el currículum de formación de educación básica y media. En este sentido, esfuerzos como la co-creación de materiales de enseñanza entre científicos del suelo y comunidades escolares, contribuyen de buena manera a reducir la brecha de conocimiento sobre los suelos y la biodiversidad que allí ocurre (Brito et al. 2019). Evitar la pérdida de la biodiversidad edáfica y fomentar su conocimiento y protección requiere no solo esfuerzos de la academia y la ciencia, sino que también de una comunicación efectiva y fructífera entre estas, las políticas públicas y el mundo privado. En el contexto internacional, la iniciativa Global sobre Biodiversidad del Suelo (Global Soil Biodiversity Initiative, GSBI, <https://globalsoilbiodiversity.org/>) fue justamente creada en el año 2011 por investigadores ligados a la ciencia del suelo, debido a la baja atención que recibe la biodiversidad del suelo en la toma de decisiones en políticas públicas y en el manejo de los recursos naturales. Los proyectos derivados de la GSBI incluyen publicaciones actualizadas sobre la biodiversidad de suelos, tales como el Atlas Global de la Biodiversidad de Suelos (<https://esdac.jrc.ec.europa.eu/content/global-soil-biodiversity-atlas>), participación trabajos para la armonización de métodos de estudios de suelo, creación de la Plataforma de Base de Datos sobre la Biodiversidad del Suelo,

educación para el público sobre los beneficios de la biodiversidad del suelo, y conducción de investigación a nivel global (Nielsen et al. 2015). Dentro de las iniciativas a nivel internacional por la armonización de métodos de estudio de suelo se encuentra la Global Soil Laboratory Network (GLOSOLAN) de la FAO, de la cual Chile es parte a través de la Latin American Soil Laboratory Network (LATSOLAN) y específicamente Red Nacional de Laboratorios de Suelos de Chile (RENALASCH).

En términos legislativos, actualmente Chile es uno de los pocos países de la OCDE que adolece de una legislación robusta que proteja los suelos del territorio nacional y la biodiversidad y servicios ecosistémicos asociados a estos. Frente a esta situación durante los años 2019 y 2020 cerca de 50 científicos y profesionales de la ciencia del suelo trabajaron en la propuesta de un Proyecto de Ley Marco de Suelos, la cual fue ajustada para admisibilidad e ingresada al Congreso Nacional, donde fue declarada admisible y aprobada en general por unanimidad por la Comisión de Agricultura el 24 de noviembre de 2021. El 12 de enero de 2022 fue aprobada en la Sala del Senado. El proyecto se encuentra actualmente (diciembre 2023) en primer trámite legislativo en la Comisión de Agricultura del Senado, y luego de cerca de dos años de su fecha de ingreso lamentablemente su tramitación ha tenido escasos avances (Boletín N° 14714-01). Es así entonces que en el contexto actual de seguridad alimentaria y crisis climática es fundamental un compromiso del Poder Ejecutivo y Legislativo para sacar esta iniciativa adelante.

Chile tiene una inmensa oportunidad para preservar la biodiversidad del suelo y asegurar sus servicios ecosistémicos, particularmente bajo los desafíos actuales y futuros impuestos por el cambio climático. Sin embargo, es imperativo que en el país se amplíe el conocimiento sobre la biodiversidad edáfica en contexto no solo académico sino en un contexto más amplio; es también necesario incentivar el estudio interdisciplinario de la biodiversidad de organismos en el suelo, para

así acortar las brechas de conocimiento en la materia, y contar con información de libre acceso basada en evidencia científica para la toma de decisiones informadas en el ámbito de las políticas públicas. Estas iniciativas solo pueden contribuir al avance de la protección de la biodiversidad de organismos en los suelos si el país cuenta definitivamente con un marco regulatorio robusto sobre la protección de suelos.

7.6 AGRADECIMIENTOS

CR agradece al Centro de Ecología Aplicada y Sustentabilidad (CAPES)—PIA/BASAL FB00002, al proyecto Fondecyt de Inicio 11180869, proyecto FPA 6-RE-002-2018, proyecto ANILLO ACT210060, Red Chilena de Ecología Microbiana (RECHEM). CQ agradece a los FONDECYT 11170566 y FONDECYT 1211977, al Fondo UPLA: CNE 23-20, la Beca Doctorado Nacional 2022 N°21221130, al NODO 220002 de ANID, a CONAF, a la Administración del Parque Nacional La Campana y a sus guardaparques. SC agradece los proyectos Fondecyt 1201692, Fondecyt EQM210185 y Fondef ID23I10049. AS agradece a Fondecyt 1131089, FIC-R Coquimbo 30403034-0, ANID R16A10003, M. Cardinale, M. Gonzalez, W. Arancibia, R. Salvatierra y JP. Araya. CM agradece al proyecto FONDECYT Regular 1220786.

7.7 BIBLIOGRAFÍA

- Adam G y H Duncan (2001) Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33(7-8): 943-951.
- Alef K (1995) Nutrient sterilization, aerobic and anaerobic culture technique. En: Alef K y P Nannipieri (eds) *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, New York: 124-129.
- Alef K y P Nannipieri (eds) (1995) *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, New York.
- Almendros G, M Zancada y M Pardo (2005) Land use and soil carbon accumulation patterns in South African savanna ecosystems. *Biology and Fertility of Soils* 41: 173-181

- Alvear M, A Rosas, J Rouanet y F Borie (2005) Effects of three soil tillage systems on some biological activities in an ultisol from southern Chile. *Soil and Tillage Research* 82(2): 195-202.
- Anthony Ma, Sf Bender, y M Van Der Heijden (2023) Enumerating soil biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 120(33): e2304663120.
- Aponte H, T Galindo-Castañeda, C Yáñez, M Hartmann y C Rojas (2022) Microbial community-level physiological profiles and genetic prokaryotic structure of burned soils under Mediterranean sclerophyll forests in Central Chile. *Frontiers in Microbiology* 13: 824813.
- Arantes V y A Ferreira (2007) The synergistic action of ligninolytic enzymes (MnP and Laccase) and Fe³⁺-reducing activity from white-rot fungi for degradation of Azure B. *Enzyme and Microbial Technology* 42(1): 17-22.
- Araya J, M González, M Cardinale y A Stoll (2021) The effect of domestication on the tomato rhizosphere. Invited talk, ISME-LAT 2021, Bogotá, Colombia.
- Araya J, M Gonzalez, M Cardinale, S Schnell y A Stoll (2019) Microbiome dynamics associated with the Atacama flowering desert. *Frontiers in Microbiology* 10: 3160.
- Banerjee A y M Van Der Heijden (2022) Soil microbiomes and one health. *Nature Reviews Microbiology* 21(1): 6-20.
- Bengtsson J, H Jones y H Setälä (1997) The value of biodiversity, *Trends in Ecology and Evolution* 12(9): 334-336.
- Berdugo M, M Delgado-Baquerizo, S Soliveres, R Hernandez-Clemente, Y Zhao, J Gaitan, N Gross, H Saiz, V Maire, A Lehmann, Mc Rillig, R Sole y F Maestre (2020) Global ecosystem thresholds driven by aridity. *Science* 367(6479): 787-790.
- Berg G, D Rybakova, D Fischer, T Cernava, M Champomier, T Charles, X Chen, L Cocolin, K Eversole, G Herrero, M Kazou, L Kinkel, L Lange, N Lima, A Loy, J Macklin, E Maguin, T Mauchline, R McClure,... y M Schlöter (2020) Microbiome definition re-visited: Old concepts and new challenges. *Microbiome* 8(1): 103.
- Bore E, Y Kuzyakov y M Dippold (2019) Glucose and ribose stabilization in soil: Convergence and divergence of carbon pathways assessed by position-specific labeling. *Soil Biology and Biochemistry* 131: 54-61
- Borken W y E Matzner (2009) Reappraisal of drying and wetting effects on C and N mineralization and fluxes in soils. *Global Change Biology* 15(4): 808-824.
- Brito B, C Pinochet, J Santana y C Rojas (2019) Manual de apoyo docente, recuperación de la salud de suelos y su implicancia en el restablecimiento del bosque nativo incendiado en la zona del secano de la VI región. Instituto de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Universidad de O'Higgins. Proyecto FPA 6RE0022018.
- Brown Jk y Jk Smith (eds) (2000) Wildland fire in ecosystems: Effects of fire on flora. RMRS-GTR-42-vol. 2. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Fort Collins.
- Brussaard L (2012) Ecosystem services provided by the soil biota. En: Wall D, R Bardgett, V Behan-Pelletier, J Herrick, T Jones, K Ritz, J Six, D Strong y W

- van der Putten (eds) Soil ecology and ecosystem services. Oxford University Press, Oxford: 45-58.
- Buckland B, K Gbewonyo, T Hallada, L Kaplan y P Masurekar (1989) Production of lovastatin, an inhibitor of cholesterol accumulation in humans. En: Demain A, G Somkuti, J Hunter-Cevera y H Rossmore (eds) Novel microbial products for medicine and agriculture. Elsevier, Amsterdam: 161-169.
- Burlage R, R Atlas, D Stahl, G Geesey y G Sayler (eds) (1998) Techniques in microbiology ecology. Oxford University Press. New York.
- Campbell C, S Chapman, C Cameron, M Davidson y J Potts (2003) A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. Applied and Environmental Microbiology 69(6): 3.593-3.599.
- Cao M, Y Jiang, Y Chen, J Fan y Q He (2020) Variations of soil CO₂ concentration and pCO₂ in a cave stream on different time scales in subtropical climatic regime. Catena 185: 104280.
- Carney K, B Hungate, B Drake y J Megonigal (2007) Altered soil microbial community at elevated CO₂ leads to loss of soil carbón. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 104(12): 4.990-4.995
- Castañeda L, K Godoy, M Manzano, P Marquet y O Barbosa (2015) Comparison of soil microbial communities inhabiting vineyards and native sclerophyllous forests in central Chile. Ecology and Evolution 5(18): 3.857-3.868.
- Castri F y H Mooney (eds) (1973) Mediterranean type ecosystems: Origin and structure. Springer Berlin, Heidelberg.
- Cedeño-García G, M Gerding, G Moraga, L Inostroza, S Fischer, M Sepúlveda-Caamaño y P Oyarzúa (2018) Plant growth promoting rhizobacteria with ACC deaminase activity isolated from Mediterranean dryland areas in Chile: Effects on early nodulation in alfalfa. Chilean Journal of Agricultural Research 78(3): 360-369.
- Cederlund H, E Wessén, K Enwall, C Jones, J Juhanson, M Pell, L Philippot y S Hallin (2014) Soil carbon quality and nitrogen fertilization structure bacterial communities with predictable responses of major bacterial phyla. Applied Soil Ecology 84: 62-68.
- Certini G (2005) Effects of fire on properties of forest soils: A review. Oecologia 143(1): 1-10.
- Chen B, E Liu, Q Tian, C Yan E y Zhang (2014) Soil nitrogen dynamics and crop residues. A review. Agronomy for Sustainable Development 34: 429-442.
- Chen J, L Elsgaard, K Van Groenigen, J Olesen, Z Liang, Y Jiang, P Laerke, Y Zhang, Y Luo, B Hungate, R Sinsabaugh y U Jørgensen (2020) Soil carbon loss with warming: New evidence from carbon-degrading enzymes. Global Change Biology 26(4): 1.944-1.952.
- Cheng W (1999) Rhizosphere feedbacks in elevated CO₂. Tree Physiology 19(4-5): 313 -320.
- Chenu C, D Angers, P Barré, D Derrien, D Arrouays y J Balesdent (2019) Increasing organic stocks in agricultural soils: Knowledge gaps and potential innovations. Soil and Tillage Research 188: 41-52.

- Christensen B (2001) Physical fractionation of soil and structural and functional complexity in organic matter turnover. *European Journal of Soil Science* 52(3): 345-353.
- Cleveland C, A Townsend, D Schimel, H Fisher, R Howarth, L Hedin, S Perakis, E Latty, J Von Fischer, A Elseroad y M Wasson (1999) Global patterns of terrestrial biological nitrogen (N₂) fixation in natural ecosystems. *Global Biogeochemical Cycles* 13(2): 623-645.
- Coban O, G De Deyn y M Van Der Ploeg (2022) Soil microbiota as game-changers in restoration of degraded lands. *Science* 375(6584): abe0725.
- CONAF (Corporación Nacional Forestal) (2016) Programa de acción nacional de lucha contra la desertificación, la degradación de las tierras y la sequía PANCD-Chile 2016-2030. Ministerio de Agricultura, Santiago.
- Contador C, L Veas-Castillo, E Tapia, M Antipan, N Miranda, B Ruiz-Tagle, J García-Araya, B Andrews, M Marin, C Dorador y J Asenjo (2020) Atacama database: A platform of the microbiome of the Atacama Desert. *Antonie van Leeuwenhoek* 113(2): 185-195.
- Cortés-López N, P Ordóñez-Baquera y J Domínguez-Viveros (2020) Molecular tools used for metagenomic analysis: Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 11(4): 1.150-1.173.
- D'ascoli R, F Rutigliano, R De Pascale, A Gentile y A Virzo (2005) Functional diversity of the microbial community in Mediterranean maquis soils as affected by fires. *International Journal of Wildland Fire* 14(4): 355-363.
- Dashtban M, H Schraft, T Syed y W Qin (2010) Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 1(1): 36-50.
- Decaëns T, J Jiménez, C Gioia, G Measey y P Lavelle (2006) The values of soil animals for conservation biology. *European Journal of Soil Biology* 42(1): S23-S38.
- Delgado-Baquerizo M, A Oliverio, T Brewer, A Benavent-González, D Eldridge, R Bardgett, F Maestre, B Singh y N Fierer (2018) A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science* 359(6367): 320-325.
- Döbereiner J (1995) Isolation and identification of nitrogen fixing bacteria from soil and plants. En: Alef K y P Nannipieri (eds) *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, New York: 134-141.
- Dube F y N Stolpe (2016) SOM and biomass C stocks in degraded and undisturbed Andean and coastal Nothofagus forests of southwestern South America. *Forests* 7(12): 320.
- Dube F, E Zagal, N Stolpe y M Espinosa (2009) The influence of land-use change on the organic carbon distribution and microbial respiration in a volcanic soil of the Chilean patagonia. *Forest Ecology and Management* 257(8): 1.695-1.704.
- Elórtegui S y A Moreira (eds) (2009) *Parque Nacional La Campana: Origen de una reserva de la biosfera en Chile central*. 2da edición. Ediciones Taller La Era, Viña del Mar.
- Emanuelli P, F Milla, E Duarte, C Garrido, O Orellana y S López (2016) Actualización de cifras y mapas de desertificación, degradación de la tierra

- y sequía en Chile a nivel de comunas PANCD-Chile 2016-2030. Sud-Austral Consulting, Santiago.
- Esteves T, M Kirkby, R Shakesby, A Ferreira, J Soares, B Irvine, C Ferreira, C Coelho, C Bento y M Carreiras (2012) Mitigating land degradation caused by wildfire: Application of the PESERA model to fire-affected sites in central Portugal. *Geoderma* 191: 40-50.
- Falk D, P Van Mantgem, J Keeley, R Gregg, C Guiterman, A Tepley, D Jn Young y L Marshall (2022) Mechanisms of forest resilience. *Forest Ecology and Management* 512: 120129.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), ITPS (Intergovernmental Technical Panel on Soils), GSBI (Global Soil Biodiversity Initiative), SCBD (Secretariat of the Convention of Biological), y EC (European Commission) (2020) State of knowledge of soil biodiversity – status, challenges and potentialities, summary for policymakers. FAO, Rome.
- Fierer N (2017) Embracing the unknown: Disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology* 15(10): 579-590.
- Fierer N, C Lauber, K Ramirez, J Zaneveld, M Bradford y R Knight (2012) Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. *The ISME Journal* 6: 1.007-1.017.
- Fierer N, M Breitbart, J Nulton, P Salamon, C Lozupone, R Jones, M Robeson, R Edwards, B Felts, S Rayhawk, R Knight, F Rohwer y R Jackson (2007) Metagenomic and small-subunit rRNA analyses reveal the genetic diversity of bacteria, archaea, fungi, and viruses in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 73(21): 7.059-7.066.
- Fierer N, M Strickland, D Liptzin, M Bradford y C Cleveland (2009) Global patterns in belowground communities. *Ecology Letters* 12(11): 1.238-1.249.
- Fleming A (1929) On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of b. Influenzae. *British Journal of Experimental Pathology* 10(3): 226–236.
- Frank B (1889) Über die pilzsymbiose der leguminosen. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 7: 332-346.
- García-Carmona M, C Marín, F García-Orenes y C Rojas (2021) Contrasting organic amendments induce different short-term responses in soil abiotic and biotic properties in a fire-affected native Mediterranean forest in Chile. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 21: 2.105-2.114.
- García-Palacios P y J Cheng (2022) Emerging relationship among soil microbes, carbon dynamics and climate change. *Functional ecology* 36(6): 1.332-1.337.
- Goberna M, C García, H Insam, M Hernández y M Verdú (2012) Burning fire-prone Mediterranean shrublands: immediate changes in soil microbial community structure and ecosystem functions. *Microbial ecology* 64(1): 242-255.
- Gong S, T Zhang, R Guo, H Cao, L Shi, J Guo y W Sun (2015) Response of soil enzyme activity to warming and nitrogen addition in a meadow steppe. *Soil Research* 53(3): 242-252.

- Guerra C, A Heintz-Buschart, J Sikorski, A Chatzinotas, N Guerrero-Ramírez, S Cesarz, L Beaumelle, M Rillig, F Maestre, M Delgado-Baquerizo, F Buscot, J Overmann, G Patoine, H Phillips, M Winter, T Wubet, K Küsel, R Bardgett, E Cameron,... y N Eisenhauer (2020) Blind spots in global soil biodiversity and ecosystem function research. *Nature Communications* 11: 3870.
- Hart S, T Deluca, G Newman, M Mackenzie y S Boyle (2005) Post-fire vegetative dynamics as drivers of microbial community structure and function in forest soils. *Forest Ecology and Management* 220(1-3): 166-184.
- Hauck L, A Moreira-Muñoz y W Nezádal (2016) La flora exótica ruderal del Parque Nacional La Campana, región de Valparaíso, Chile central. *Gayana Botanica* 73(2): 206-219.
- Hu A, M Choi, A Tanentzap, J Liu, Ks Jang, J Lennon, Y Liu, J Soininen, X Lu, Y Zhang, J Shen y J Wang (2022) Ecological networks of dissolved organic matter and microorganisms under global change. *Nature Communications* 13(1): 3600.
- Inostroza N, P Barra, L Wick, M Mora y M Jorquera (2017). Effect of rhizobacterial consortia from undisturbed arid- and agro-ecosystems on wheat growth under different conditions. *Letters in Applied Microbiology* 64(2): 158-163.
- James N (1958) Soil extract in soil microbiology. *Canadian Journal of Microbiology* 4(4): 363-370.
- Jansson J y K Hofmockel (2020) Soil microbiomes and climate change. *Nature Reviews Microbiology* 18(1): 35-46.
- Jones E y B Singh (2014) Organo-mineral interactions in contrasting soils under natural vegetation. *Frontiers in Environmental Science* 2: 2.
- Jorquera M, N Inostroza, L Lagos, P Barra, L Marileo, J Rilling, D Campos, D Crowley, A Richardson y M Mora (2014) Bacterial community structure and detection of putative plant growth-promoting rhizobacteria associated with plants grown in Chilean agro-ecosystems and undisturbed ecosystems. *Biology and Fertility of Soils* 50 (7): 1.141-1.153.
- Kredics L, L Chen, O Kedves, R Büchner, L Hatvani, H Allaga, V Nagy, J Khaled, N
- Alharbi y C Vágvolgyi (2018) Molecular tools for monitoring *Trichoderma* in agricultural environments. *Frontiers in Microbiology* 9: 1599.
- Kuzyakov Y y W Cheng (2004) Photosynthesis controls of CO₂ efflux from maize rhizosphere. *Plant and Soil* 263: 85-99.
- Lauber C, M Hamady, R Knight y N Fierer (2009) Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology* 75(15): 5.111-5.120.
- Lavelle P y A Spain (2001) *Soil Ecology*, Kluwer Academic, Dordrecht.
- Lerner P (1996) Nocardiosis. *Clinical Infectious Diseases* 22(6): 891-903.
- Li T y Q Zhou (2020) The key role of *Geobacter* in regulating emissions and biogeochemical cycling of soil-derived greenhouse gases. *Environmental Pollution* 266(3): 115135
- Liu C, Y Song, X Dong, X Wang, X Ma, G Zhao y S Zang (2021) Soil enzyme activities and their relationships with soil C, N, and P in peatlands from

- different types of permafrost regions, northeast China. *Frontiers in Environmental Science* 9: 143.
- Liu Z, Z Shi, H Wei y J Zhang (2022) Acid rain reduces soil CO₂ emission and promotes soil organic carbon accumulation in association with decreasing the biomass and biological activity of ecosystems: A meta-analysis. *Catena* 208: 105714.
- Lladó S y P Baldrian (2017) Community-level physiological profiling analyses show potential to identify the copiotrophic bacteria present in soil environments. *PLoS One* 12(2): e0171638.
- Lorch H, G Benckieser y J Ottow (1995) Basic methods for counting microorganisms in soil and water. En: Alef K y P Nannipieri (eds) *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, New York: 146-161.
- Luebert F y P Plischoff (2018) *Sinopsis bioclimática y vegetacional de Chile*. 2da edición. Editorial Universitaria, Santiago.
- Madigan M, K Bender, D Buckley, W Sattley y D Stahl (2018) *Brock biology of microorganisms* 15th edition. Pearson, New York.
- Madsen EL (1996) A critical analysis of methods for determining the composition and biogeochemical activities of soil microbial communities in situ. En: Stotzky G y J Bollag (eds) *Soil biochemistry volume 9*. Marcel Dekker Inc., New York: 287-370
- Maier R, I Pepper y C Gerba (2008) *Environmental microbiology*. 2nd edition. Academic Press
- Marín C, J Rubio y R Godoy (2022) Chilean blind spots in soil biodiversity and ecosystem function research. *Austral Ecology* 47(7): 1.372-1.381.
- Marquet P, A Altamirano, M Arroyo, M Fernández, S Gelcich, K Górski, E Habit, A Lara, A Maass, A Pauchard, P Plischoff, H Samaniego y C Smith-Ramírez (eds) (2019) *Biodiversidad y cambio climático en Chile: Evidencia científica para la toma de decisiones*. Informe de la mesa de biodiversidad. Comité Científico COP25 y Ministerio de Ciencia, Tecnología, Conocimiento e Innovación, Santiago.
- Martin Jk (1975) Comparison of agar media for counts of viable soil bacteria. *Soil Biology & Biochemistry* 7(6): 401-402.
- Mataix-Solera J, C Guerrero, F García-Orenes, G Bárcenas y M Torres (2009) Forest fire effects on soil microbiology. En: Cerdà A y P Robichaud (eds) *Fire effects on soils and restoration strategies*. CRC Press, Boca Raton: 149-192.
- Mavris C, M Egli, M Plötze, J Blum, A Mirabella, D Giaccari y W Haeberli (2010) Initial stages of weathering and soil formation in the Morteratsch proglacial area (Upper Engadine, Switzerland). *Geoderma* 155(3-4): 359-371.
- Meier S, F Moore, N Khan, M González, J Medina, J Cumming, A Morales, P Durán, A Seguel y H Aponte (2021) Effect of Poultry Manure Compost and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Cu Immobilization and Soil Microbial Communities in a Cu-Contaminated Soil Using the Metallophyte *Oenothera Picensis*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 21: 1.957-1.967

- Merino C, I Jofré y F Matus (2021) Soil redox controls CO₂, CH₄ and N₂O efflux from white-rot fungi in temperate forest ecosystems. *Journal of Fungi* 7(8): 621.
- Merino C, R Godoy y F Matus (2016) Soil enzymes and biological activity at different levels of organic matter stability. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 16(1): 14-30.
- Miralles I, F Domingo, Y Cantón, C Trasar-Cepeda, M Leirós y F Gil-Sotres (2012) Hydrolase enzyme activities in a successional gradient of biological soil crusts in arid and semi-arid zones. *Soil Biology and Biochemistry* 53: 124-132.
- MMA (Ministerio del Medio Ambiente) (2018) Biodiversidad de Chile: Patrimonio y Desafíos. 3ra edición, Tomo I. Ministerio del Medio Ambiente, Santiago.
- Moya D, M Fonturbel, M Lucas-Borja, E Peña, R Alfaro-Sanchez, P Plaza-Álvarez, J González-Romero y J De Las Heras (2021) Burning season and vegetation coverage influenced the community-level physiological profile of Mediterranean mixed-mesogean pine forest soils. *Journal of Environmental Management* 277: 111405.
- Mutumba F, E Zagal, M Gerding, D Castillo-Rosales, L Paulino y M Schoebitz (2018) Plant growth promoting rhizobacteria for improved water stress tolerance in wheat genotypes. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 18(4): 1.080-1.096.
- Myers N, R Mittermeier, C Mittermeier, G da Fonseca y J Kent (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403(6772): 853-858.
- Nielsen U, D Wall y J Six (2015) Soil biodiversity and the environment. *Annual Review of Environment and Resources* 40: 63-90.
- Núñez Ramos P, A Jara, Y Sandoval, R Demanet y M Mora (2012) Biomasa microbiana y actividad ureasa del suelo en una pradera permanente pastoreada de Chile. *Ciencia del suelo* 30(2): 187-199.
- Nwachukwu B y O Babalola (2022) Metagenomics: A tool for exploring key microbiome with the potentials for improving sustainable agriculture. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 6: 886987.
- Oliverio A, M Bradford y N Fierer (2017) Identifying the microbial taxa that consistently respond to soil warming across time and space. *Global Change Biology* 23(5): 2.117-2.129.
- Orgiazzi A, R Bardgett, E Barrios, V Behan-Pelletier, M Briones, J Chotte, G De Deyn, P
- Eggleton, N Fierer, T Fraser, K Hedlund, S Jeffery, N Johnson, A Jones, E Kandeler, N Kaneko, P Lavelle, P Lemanceau, L Miko,... y D Wall (eds) (2016) Global soil biodiversity atlas. European Commission, Publications Office of the European Union, Luxembourg.
- Ormazábal C (1993) The conservation of biodiversity in Chile. *Revista Chilena De Historia Natural* 66: 383-402.
- Pascual J, M Ros, J Martinez, F Carmona, A Bernabé, R Torres, T Lucena, R Aznar, D Arahá y F Fernández (2020) *Methylobacterium symbioticum* sp. nov., a new species isolated from spores of *Glomus iranicum* var. *tenuihypharum*. *Current Microbiology* 77(9): 2.031-2.041.
- Paul E (ed) (2015) Soil microbiology, ecology and biochemistry. 4th edition. Academic Press, San Diego.

- Pausas J y J Keeley (2009) A burning story: The role of fire in the history of life. *BioScience* 59(7): 593-601.
- Pérez R, Y Tapia, M Antilén, M Casanova, C Vidal, C Santander, H Aponte y P Cornejo (2021) Interactive effect of compost application and inoculation with the fungus *Claroideoglomus claroideum* in *Oenothera picensis* plants growing in mine tailings. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 208: 111495.
- Pett-Ridge J y M Firestone (2005) Redox fluctuation structures microbial communities in a wet tropical soil. *Applied and Environmental Microbiology* 71(11): 6.998-7.007.
- Pfeiffer M, J Padarian, R Osorio, N Bustamante, Olmedo Gf, M Guevara, F Aburto, Fm Albornoz, M Antilén, E Araya, E Arellano, M Barret, J Barrera, P Boeckx, M Briceño, S Bunning, L Cabrol, M Casanova, P Cornejo,... y E Zagal (2020) CHLSOC: The Chilean Soil Organic Carbon database, a multi-institutional collaborative effort. *Earth System Science Data* 12(1): 457-468.
- Pfeiffer M, J Pérez-Quezada y M González (2019) Capítulo 5: SUELOS En: Centro de Análisis de Políticas Públicas (ed) Informe País: Estado del medio ambiente en Chile 2018. Universidad de Chile, Santiago.
- Quintanilla V (2009) Situación postincendio en ecosistemas de un macizo montañoso de gran valor geobotánico, en la cordillera mediterránea de Chile. *Cadernos de Geografía* 28-29: 141-150.
- Quintanilla V, J Cadiñanos, I Latasa y P Lozano (2012) Aproximación biogeográfica a los bosques de la zona mediterránea de Chile: Caracterización e inventario. *Boletín de la Asociación de Geógrafos Españoles* 60: 91-114.
- Quinteros-Urqueta C. (2020) Microbioma del suelo en el Parque Nacional La Campana desde una perspectiva biogeográfica. Tesis Doctoral (no publicada). Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso.
- Reasoner D y E Geldreich (1985) A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Applied and Environmental Microbiology* 49(1): 1-7.
- Reed S, C Cleveland y A Townsend (2011) Functional ecology of free-living nitrogen fixation: A contemporary perspective. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 42: 489-512.
- Remke M, T Hoang, T Kolb, C Gehring, N Johnson y M Bowker (2020) Familiar soil conditions help *Pinus ponderosa* seedlings cope with warming and drying climate. *Restoration Ecology* 28(S4): S344-S354.
- Reyes-Castillo A, M Gerding, P Oyarzúa, E Zagal, J Gerding y S Fischer (2019) Plant growth-promoting rhizobacteria able to improve NPK availability: Selection, identification and effects on tomato growth. *Chilean Journal of Agricultural Research* 79 (3): 473-485.
- Robert F (1990) Impact of environmental factors on populations of soil microorganisms. *The American Biology Teacher* 52(6): 364-369.
- Rojas C, C Merino, H Aponte y C Yáñez (2022) Soil biodiversity in Chile: Current scenario and future challenges. En: Reyes-Sánchez L, R Horn y E Costantini (eds) Sustainable soil management as a key to preserving soil biodiversity

- and stopping its degradation. IUSS (International Union of Soil Sciences), Vienna: 65-75.
- Rojas C, R Gutierrez y M Bruns (2016) Bacterial and eukaryal diversity in soils forming from acid mine drainage precipitates under reclaimed vegetation and biological crusts. *Applied Soil Ecology* 105: 57-66.
- Ruppel E, R Baker, G Harman, J Hubbard, R Hecker e I Chet (1983) Field tests of *Trichoderma harzianum* Rifai aggr. as a biocontrol agent of seedling disease in several crops and *Rhizoctonia* root rot of sugar beet. *Crop Protection* 2(4): 399-408.
- Santander C, R Aroca, J Ruiz-Lozano, J Olave, P Cartes, F Borie y P Cornejo (2017) Arbuscular mycorrhiza effects on plant performance under osmotic stress. *Mycorrhiza* 27: 639-657.
- Santhanam R, C Okoro, X Rong, Y Huang, A Bull, B Andrews, J Asenjo, H Weon y M Goodfellow (2012a) *Streptomyces deserti* sp. nov., isolated from hyper-arid Atacama Desert soil. *Antonie van Leeuwenhoek* 101(3): 575-581.
- Santhanam R, C Okoro, X Rong, Y Huang, A Bull, H Weon, B Andrews, J Asenjo y M Goodfellow (2012b) *Streptomyces atacamensis* sp. nov., isolated from an extreme hyper-arid soil of the Atacama Desert, Chile. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 62(11): 2.680-2.684.
- Schulz S, R Brankatschk, A Dümig, I Kögel-Knabner, M Schlöter y J Zeyer (2013) The role of microorganisms at different stages of ecosystem development for soil formation. *Biogeosciences* 10: 3.983-3.996.
- Sepúlveda-Caamaño M, M Gerding, M Vargas, E Moya-Elizondo, P Oyarzúa y J Campos (2017) Lentil (*Lens culinaris* L.) growth promoting rhizobacteria and their effect on nodulation in coinoculation with rhizobia. *Archives of Agronomy and Soil Science* 64(2): 244-256.
- Six J, S Frey, R Thiet y K Batten (2006) Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal* 70(2): 555-569.
- Štyriaková I, I Štyriak y H Oberhänsli (2012) Rock weathering by indigenous heterotrophic bacteria of *Bacillus* spp. at different temperature: A laboratory experiment. *Mineralogy and Petrology* 105: 135-144.
- Sul W, S Asuming-Brempong, Q Wang, D Turlousse, C Penton, Y Deng, J Rodrigues, S Adiku, J Jones, J Zhou, J Cole y J Tiedje (2013) Tropical agricultural land management influences on soil microbial communities through its effect on soil organic carbon. *Soil Biology & Biochemistry* 65: 33-38.
- Sun X, C Liddicoat, A Tiunov, B Wang, Y Zhang, C Lu C, Z Li, S Scheu, M Breed, S Geisen e Y Zhu (2023) Harnessing soil biodiversity to promote human health in cities. *Npj Urban Sustain* 3: 5.
- Szakács G, G Morovján y R Tengerdy (1998) Production of lovastatin by a wild strain of *Aspergillus terreus*. *Biotechnology Letters* 20: 411-415.
- Tabatabai M (1994) Soil enzymes. En: Weaver R, S Angle, P Bottomley, D Bezdicsek, S Smith, A Tabatabai y A Wollum (eds) *Methods of soil analysis: Part 2 Microbiological and biochemical properties*. Soil Science Society of America, Madison: 775-833.

- Torsvik V y L Øvreås (2002) Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology* 5(3): 240-245.
- Wall D, G Adams y A Parsons (2001) Soil Biodiversity, En: Chapin F, O Sala y E Huber-
- Sannwald (eds) *Global Biodiversity in A Changing Environment: Scenarios for the 21st Century*. Springer, New York: 47-82.
- Wall D, U Nielsen y J Six (2015) Soil biodiversity and human health. *Nature* 528(7580): 69-76.
- Wang G, Q Gao, Y Yang, S Hobbie, P Reich y J Zhou (2022) Soil enzymes as indicators of soil function: A step toward greater realism in microbial ecological modeling. *Global Change Biology* 28(5): 1.935-1.950.
- Weaver R, S Angle, P Bottomley, D Bezdicsek, S Smith, A Tabatabai y A Wollum (ed) (1994) *Methods of soil analysis: Part 2 Microbiological and biochemical properties*. Soil Science Society of America, Madison.
- Weil R y N Brady (2017) *The nature and properties of soils*. 15th edition. Pearson Education, New York.
- Wichner D, H Idris, W Houssen, A Mcewan, A Bull, J Asenjo, M Goodfellow , M Jaspars, R Ebel y M Rateb (2017). Isolation and anti-HIV-1 integrase activity of lentzeosides A-F from extremotolerant *Lentzea* sp. H45, a strain isolated from a high-altitude Atacama desert soil. *Journal of Antibiotics* 70(4): 448-453.
- Wollum li A (1994) Soil sampling for microbiological analysis. En: Weaver R, S Angle, P Bottomley, D Bezdicsek, S Smith, A Tabatabai y A Wollum (eds) *Methods of soil analysis: Part 2 Microbiological and biochemical properties*. Soil Science Society of America, Madison: 1-14.
- Wu X, T Li, D Wang, F Wang, B Fu, G Liu e Y Lv (2020) Soil properties mediate the freeze-thaw-related soil N₂O and CO₂ emissions from temperate grasslands. *Catena* 195: 104797.
- Wurst S, G De Deyn y K Orwin (2012) Soil biodiversity and functions. En: Wall D, R Bardgett, V Behan-Pelletier, J Herrick, T Jones, K Ritz, J Six, D Strong y W van der Putten (eds) *Soil ecology and ecosystem services*. Oxford University Press, Oxford: 28-44.
- Yeager C, D Northup, C Grow, S Barns y C Kuske (2005) Changes in nitrogen-fixing and ammonia-oxidizing bacterial communities in soil of a mixed conifer forest after wildfire. *Applied and Environmental Microbiology* 71(5): 2.713-2.722.
- Yusof N, N Hashim e I Bharudin (2021) Cold Adaptation Strategies and the Potential of Psychrophilic Enzymes from the Antarctic Yeast, *Glaciozyma antarctica* PI12. *Journal of Fungi* 7(7): 528.
- Zuberer D (1994) Recovery and enumeration of viable bacteria. En: Weaver R, S Angle, P Bottomley, D Bezdicsek, S Smith, A Tabatabai y A Wollum (eds) *Methods of soil analysis: Part 2 Microbiological and biochemical properties*. Soil Science Society of America, Madison: 119-144.

Capítulo X.

Anexo 2

Productividad científica y difusión realizada de la tesis

2021. Pasantía virtual en el curso Sociologia dos Desastres, pertenciente al Programa de Pós-Graduação em Desastres Naturais. Instituto de Ciência e Tecnologia - Câmpus de São José dos Campos, Universidad Estatal Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Brasil. Programa de movilidad internacional en el marco de colaboración con la Asociación de Universidades del Grupo Montevideo (AUGM).



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de São José dos Campos

A T E S T A D O

Atestamos que CAROLINA QUINTEROS URQUIETA, RG nº null, na qualidade de Aluna Especial cursou a(s) disciplina(s) de Programa(s) de Pós-Graduação desta Unidade Universitária, conforme segue:

Programa: Desastres Naturais						
Disciplinas	Ano	Período letivo	Créditos	Carga Horária	Freq	Conceito
PDN - Sociologia dos desastres	2021	2º Semestre	8	120	100	A

1 crédito correspondente a 12 horas de atividades programadas até 13/9/99 (Res. UNESP 46, DE 18/6/91)

1 crédito correspondente a 15 horas de atividades programadas a partir de 14/9/99 (Res. UNESP 45, DE 14/9/99)

CONCEITOS:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito;
D/R - Reprovado; I - Incompleto; T - Transferência; J - Cancelamento.

Documento emitido às 00:07 do dia 14/01/2022
Código de autenticidade: 827D-C973-9214-6185-F1F7-77D7-81DE-B849
Documento válido até às 00:07 do dia 15/03/2022

ATENÇÃO: Este é um documento oficial da Pós-graduação da UNESP, com autenticação eletrônica através da página <https://sistemas.unesp.br/academico/publico/documento.action>, que dispensa carimbo e assinatura.

Instituto de Ciência e Tecnologia - Câmpus de São José dos Campos -
Eng. Francisco José Longo, 777, 12245-000, São José dos Campos - São Paulo

2021. Participación en “Palyno. Una aproximación a los micro-paisajes y micro-territorios”. Jean-Pierre Francois, Paulina Hernández y Carolina Quinteros., (UPLA), en Congreso de Geografía SOCHIGEO – PUCV. GEOGRAFÍAS CREATIVAS.



2021. Participación con ponencia en el XLIII Congreso Chileno de Microbiología 2021, CHILE, Santiago.

Microbioma del suelo y su asociación con las comunidades vegetales del ecosistema mediterráneo de Chile Central. El caso de estudio del Parque Nacional La Campana.

Carolina Quinteros^{1,3,4}, Jean Pierre Francois^{2,3}, Roberto Orellana^{2,3}, Freddy Saavedra^{2, 3}, Dr. Andrés Moreira⁴, Polette Aguilar³, Yael Aguirre^{2, 3}, Paulina Hernández², Pamela Ramírez^{2, 5}, Verónica Molina^{2,3}

¹ Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.

² Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.

³ HUB Ambiental UPLA, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.

⁴ Instituto de Geografía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

⁵ Herbario VALPL, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.

La biodiversidad, parte fundamental de la historia natural de los paisajes, es reflejo de la trayectoria ecológica de los ecosistemas aportando su resiliencia ante perturbaciones. Un “hotspot” de biodiversidad en Chile Central es el Parque Nacional La Campana (PNLC), reconocido mundialmente por su flora y fauna. Sin embargo, la riqueza y biodiversidad de las comunidades microbianas asociadas al suelo han permanecido, hasta ahora, sin investigar. Este estudio tuvo por objetivo caracterizar la estructura y composición de las comunidades microbianas asociadas a distintivos ecosistemas vegetacionales presentes en el PNLC, i.e. matorral esclerófilo (laderas de orientación sur), xerófito (orientación norte) y bosque de palmas (con orientación oeste y fondo de quebrada), distribuidos en función de variables topoclimáticas como la exposición, elevación y pendiente. Para esto, se realizó una caracterización de los ecosistemas vegetales y la composición microbiana del suelo, utilizando secuenciación masiva (iTag-16S rRNA, V4) a partir del ADN extraído desde suelos (n=28). Los análisis de estructura de las comunidades microbianas se realizaron en la plataforma QIIME2. Los resultados de alpha diversidad, basados en la distancia filogenética (faith_pd), indica diferencias significativas entre las comunidades microbianas de suelos noroeste con suelos norte ($p=0.007$), suelos del palmar en fondo de quebrada con suelos sur ($p=0.004$), y suelos sur con suelos del palmar con orientación oeste ($p=0.008$). En general, los phylum más representativos encontrados fueron: Proteobacteria (32,18 %), Actinobacteria (29,3%) y Acidobacteria (11,12%). Además, se encontró una predominancia de

Crenarchaeota en los suelos del matorral esclerófilo (orientación sur) en comparación al resto de los sitios, una alta representación de Cloroflexi y Cyanobacteria en suelos de matorral xerófito y de Proteobacterias en los suelos dominados por Palma. La beta-diversidad estimada mediante la distancia Unifrac ponderada (70,87% en sus ejes) indica que los microorganismos se asocian a sus categorías vegetacionales, siendo el matorral xerófito la formación vegetal que presenta una comunidad mas particular. En conclusión, este estudio indica que los consorcios microbianos exhiben una estructura y composición representativa de las comunidades vegetacionales presentes en los ecosistemas Mediterráneos de Chile Central, según su orientación y exposición solar, sugiriendo la estrecha relación entre y el microbioma circundante del suelo, así como a variables topoclimaticas.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 11170566, Proyecto FONDECYT 1211977 y Fondo interno de desarrollo regional UPLA: CNE 23-20 “Fijadores de nitrógeno en costras biológicas bio-enriquecedores del suelo de la región”.

Agradecimientos: a la Corporación Nacional Forestal (CONAF), a la Administración del Parque Nacional La Campana y a sus guardaparques.



2022. Participación con ponencia en el V Simposio de Valoración y Conservación de los Recursos Microbianos.

Microbioma del suelo y su asociación con las comunidades vegetales del ecosistema mediterráneo de Chile Central en el Parque Nacional La Campana.

Soil microbiome and its association with the plant communities of the Mediterranean ecosystem of Central Chile in La Campana National Park.

Quinteros-Urquieta. C.^{1,3}, Pierre Francois, J.P.^{2,3}, Orellana, R.^{2,3}, Saavedra, F.^{2,3}, Aguilar, P.³, Aguirre, Y.^{2,3}, Hernández, P.², Ramírez, P.^{2,4}, Molina, V.^{2,3}

¹ Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.

² Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.

³ HUB Ambiental UPLA, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.

⁴ Herbario VALPL, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.

La biodiversidad es reflejo de la trayectoria ecológica de los ecosistemas aportando resiliencia ante perturbaciones. Al centro del “hotspot” de biodiversidad en Chile Central se ubica el Parque Nacional La Campana (PNLC), globalmente reconocido por su flora y fauna, y menormente por su riqueza microbiana. El objetivo de esta investigación fue caracterizar la estructura microbiana y su relación con comunidades vegetacionales presentes en el PNLC: matorral esclerófilo, xerófito y bosque de palmas de orientación sur, norte y oeste-fondo de quebrada, respectivamente, distribuidos en función de variables topoclimáticas como la exposición, elevación y pendiente. Para esto, se realizó una caracterización de los ecosistemas vegetacionales y la composición microbiana del suelo, utilizando secuenciación masiva (iTag-16S rRNA, V4 e ITS1-5F) a partir del ADN extraído desde suelos (n=16). Los análisis de estructura de las comunidades microbianas se realizaron en la plataforma QIIME2. En general, los filos más representativos encontrados fueron: para bacterias Proteobacteria (34,26%), Actinobacteria (30,94%), Acidobacteria (10,65%), en hongos Ascomycota (68,52%) y Basidiomycota (13,25%). Además, se encontró una predominancia de Crenarchaeota, Mortierella y Humicola en suelos del matorral esclerófilo (sur) en comparación al resto de los sitios. Una alta representación de Chloroflexi, Cyanobacteria y Alternaria en suelos de matorral xerófito, y de Proteobacterias y Solicoccozyma Terrea en los suelos dominados por Palma. La beta-diversidad estimada mediante la distancia Unifrac ponderada (63,4% en sus ejes) indica que bacterias y arqueas se asocian a sus categorías vegetacionales, siendo el matorral xerófito la formación vegetal que presenta una comunidad microbiana más particular, lo que se repite en hongos pero solo con 40,1% en sus ejes. En conclusión, los consorcios microbianos exhiben una estructura y composición representativa de la vegetación presente en el PNLC, relacionadas con sus variables topoclimáticas, sugiriendo la estrecha relación entre el microbioma circundante del suelo.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 11170566, Proyecto FONDECYT 1211977, Fondo interno de desarrollo regional UPLA: CNE 23-20 “Fijadores de nitrógeno en costras biológicas bio-enriquecedores del suelo de la región” y ANID BECA DOCTORADO NACIONAL 2022, Folio N°21221130.

Agradecimientos: a la Corporación Nacional Forestal (CONAF), a la Administración del Parque Nacional La Campana y a sus guardaparques.



2022. XLIV Congreso Chileno de Microbiología 2021, CHILE, La Serena.

Microorganismos del suelo y sus interacciones asociadas a la toposecuencia del Parque Nacional La Campana.

Soil microorganisms and their interactions associated with the toposequence of La Campana National Park.

Quinteros-Urquieta. C.1,3, Francois, J.P.2,3, Aguilar, P.3, Orellana, R.2,3, Saavedra, F.2,3, Aguirre, Y.2, 3, Hernández, P.2, Ramírez, P.2,4, Molina, V.2,3,5

- 1 Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
- 2 Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
- 3 HUB Ambiental UPLA, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
- 4 Herbario VALPL, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
- 5 Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Chile.

El Parque Nacional La Campana (PNLC) es globalmente reconocido por albergar una gran diversidad vegetal del clima mediterráneo distribuida en función de variables como la exposición, elevación y pendiente. Este estudio consideró el enfoque de la toposecuencia para identificar la variabilidad espacial de la estructura y composición de comunidades de bacterias, arqueas y hongos mediante iTag-16S rRNA, V4 e ITS1-5F, a partir del ADN extraído desde suelos (n=16) asociados a 4 sitios de los siguientes pisos vegetacionales: matorral esclerófilo, xerófito y bosque de palmas de orientación sur, norte y oeste-fondo de quebrada, respectivamente. Los análisis de la secuenciación se realizaron en QIIME2 y la caracterización alfa-beta de las comunidades y sus interacciones en R-Studio y Gephi. Los resultados muestran que las bacterias fueron más dominantes destacándose las Proteobacteria (34,26%), Actinobacteria (30,94%), Acidobacteria (10,65%), mientras que las arqueas representaron un 0,85%. Por otra parte, los hongos más representativos fueron Ascomycota (68,52%) y Basidiomycota (13,25%). La estructura microbiana (distancia Unifrac ponderada) indica una distribución asociada a sus categorías vegetacionales, explicando hasta un 63,4% para bacterias y arqueas, y en un 39,5% para hongos, siendo el matorral xerófito donde más se diferencian. Se observa además una alta representación de Chloroflexi, Cyanobacteria y Alternaria en suelos de matorral xerófito; de Proteobacterias y Solicoccozyma Terrea en los suelos del Palmar; y

predominancia de Crenarchaeota, Mortierella y Humicola en suelos del matorral esclerófilo. Las variables climáticas (temperatura media anual, precipitación anual) y del suelo (pH) fueron las que más explican esta diferenciación. Una red de coocurrencia basada en todos los sitios muestra una modularidad (0.804) de 46 módulos donde interactúan un 60,13% de hongos, 39,28% de bacterias y 0,59% de arqueas, siendo los módulos (M1 y M2) los que reúnen a > 50% de las interacciones positivas. En estos destacan los phylum Ascomycota, y Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Chytridiomycota, Gemmatimonadetes, Mortierellomycota y Mucoromycota. En conclusión, las variables climáticas tienen una alta contribución respecto a los sitios, por lo que las comunidades microbianas exhiben una estructura y composición representativa de los pisos vegetacionales presentes en el PNLC.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 11170566, Proyecto FONDECYT 1211977, Fondo interno de desarrollo regional UPLA: CNE 23-20 “Fijadores de nitrógeno en costras biológicas bio-enriquecedores del suelo de la región” y ANID BECA DOCTORADO NACIONAL 2022, Folio N°21221130.

Agradecimientos: a la Corporación Nacional Forestal (CONAF), a la Administración del Parque Nacional La Campana y a sus guardaparques.



La Sociedad de Microbiología de Chile otorga el presente certificado a:

Carolina Quinteros Urquieta, Jean Pierre Francois, Polette Aguilar, Roberto Orellana, Freddy Saavedra, Yael Aguirre, Paulina Hernandez, Pamela Ramirez, Claudia Cano, Veronica Molina

Por haber participado con una **Comunicación Libre** en el **XLIV Congreso Chileno de Microbiología**, realizado desde el 29 de noviembre al 02 de diciembre, 2022, La Serena, Chile. Titulada:

Soil microorganisms and their interactions associated with the toposequence of La Campana National Park.

Microorganismos del suelo y sus interacciones asociadas a la toposecuencia del Parque Nacional La Campana.

Dr. Fernando Vallente-Echeverría
Presidente de la Sociedad de Microbiología de Chile

Dr. Carlos Blondel.
Secretario de la Sociedad de Microbiología de Chile

2022. Participación en Congreso Regional Explora de Investigación e Innovación Escolar como parte del Comité Revisor Externo.



CERTIFICADO DE PARTICIPACIÓN

Se confiere el presente certificado a Carolina Quinteros Urquieta RUT 15.087.822-5 de la Universidad de Playa Ancha, por su participación en el Comité Revisor Externo del Congreso Regional Explora de Investigación e Innovación Escolar 2022, Región de Valparaíso.

Mabel Keller Mena

Directora Proyecto Explora Valparaíso del Ministerio de Ciencia, Tecnología, Conocimiento e Innovación

Valparaíso, octubre de 2022



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA

2023. PALYNO. Co autora en exposición fotográfica disponible en el Museo de Historia Natural de Valparaíso desde 05 de Abril de 2023 hasta el 05 de Julio de 2023. La muestra fue desarrollada en el Laboratorio de Geografía Ambiental y Palinología, del Departamento Disciplinario de Ciencias Geográficas perteneciente a la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Playa Ancha.

Invitación

El Museo de Historia Natural de Valparaíso junto con la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Playa Ancha invitan este **miércoles 5 de abril a las 11:00 horas**, a la inauguración de la exposición **"PALYNO"**, obra artístico-científica a cargo de los académicos Jean Pierre Francois y Carolina Quinteros.

En esta exhibición que presentan 36 fotografías dispuestas en 15 cuadros que capturan las maravillosas formas y texturas presentes en granos de polen pertenecientes a especies nativas y exóticas de la región de Valparaíso.

La ceremonia se realizará en el auditorio "Ana Ávalos Valenzuela" ubicado en calle Condell 1546, Valparaíso.

Confirmación
mhny@museoschile.gob.cl
 +56 32 217 5380



PALYNO

"¿Qué es el hombre en la naturaleza? Una nada frente al infinito, un todo frente a la nada, un medio entre nada y todo. Infortunadamente aljibe de comprender los extremos, el fin de las cosas y su principio le están inevitablemente ocultos en un secreto impenetrable, igualmente incapaz de ver la nada de donde ha sido sacado y el infinito en que se halla sumido" (Pascal, 1654).

La naturaleza es y será fuente inagotable de creación e inspiración artística. Este es el leitmotiv y la fundamentación principal de esta exposición que pretende dialogar con una suerte de dialéctica esbozada por el célebre filósofo y matemático Blaise Pascal. Su reflexión sobre la *doble infinitud de la naturaleza* no aborda solo la infinitud de la grandeza, también de la pequeñez, para evidenciar así la *desproporción del hombre*. En otras palabras, la humanidad cohabita entre el macrocosmos, universo interminable de dimensiones incommensurables, y el microcosmos, que representa el alismo de lo diminuto. Ambos se pueden observar parcialmente mediante el telescopio y el microscopio respectivamente.

En el siglo XXI, gracias a las nuevas tecnologías, la humanidad cuenta con nuevos ojos para indagar tanto el macro como el microcosmos. En esta muestra utilizamos como ejemplo del microcosmos la estructura que resguarda el germoplasma o material genético involucrado en la reproducción de las plantas: el polen.

Polvo, palabra que significa polvo en griego, es una obra de creación artístico-científica que busca romper la desproporción del ser humano ante la naturaleza, propone un acercamiento a ella y devela ese hermoso y desconocido mundo microscópico, oculto a la humanidad, con el que cohabitamos diariamente.

Autores: Jean Pierre Francois Sepúlveda & Carolina Quinteros Urquieta
Fotografías: Jean Pierre Francois & María Villanov-Montes
Preparación de muestras: Paulina Hernández & Isadora Schneider
Diseño y diagramación: Carolina Quinteros Urquieta



Laboratorio de Geografía Ambiental y Paisajismo
 Departamento de Ciencias y Geografía
 Facultad de Ciencias Naturales y Exactas
 Universidad de Playa Ancha

Proyecto financiado por ANID Fondecyt N°11170666



<https://www.upla.cl/noticias/2023/04/10/exposicion-palyno-una-invitation-a-descubrir-el-interior-de-los-granos-de-polen/>

Enero de 2023. Presentación de avances de tesis en Segundo encuentro de estudiantes del Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales.

20 ENCUENTRO DE ESTUDIANTES DEL DOCTORADO INTERDISCIPLINARIO EN CIENCIAS AMBIENTALES

5 de diciembre de las 14:30 a las 17:00
9 de enero de las 14:30 a las 17:00

Auditorio Edificio de Ciencias e Ingeniería

Enero de 2023. Capítulo 3: Diversidad microbiana de suelos, contexto de estudio en Chile, autoras: Claudia Rojas, Alexandra Stoll, Carolina Merino, Sara Cuadros Orellana y Carolina Quinteros, del libro Metodologías aplicadas para la conservación de la biodiversidad en Chile, a cargo de los editores Jorge Pérez y Nélida Villaseñor.

Presentación del capítulo

Los suelos son el hábitat más diverso de nuestro planeta, donde viven más de la mitad de las especies de la Tierra, pudiendo incluso llegar a una riqueza biológica por unidad de área superior a la observada en los ecosistemas sobre los suelos. La biodiversidad edáfica se entiende como la variedad de formas de vida, desde genes y especies, hasta las comunidades que estos forman, además de las relaciones ecológicas a las cuales los organismos contribuyen, desde un nivel de microhábitat hasta uno de paisaje. La biodiversidad de suelo considera tanto aquellos organismos que viven sobre este ecosistema, aquellos que cumplen al menos una etapa de su ciclo de vida en este, así como también los que se encuentran en los tejidos de simbioses que habitan los suelos. Dentro de los organismos edáficos, se encuentran los seres microscópicos que conforman la microbiota, a pesar de su tamaño, los microorganismos del suelo son los responsables de llevar a cabo importantes funciones ecosistémicas, como por ejemplo conducir ciclos biogeoquímicos, por lo que son fundamentales para la salud y funcionamiento de estos ecosistemas. Estos organismos microscópicos representan una biomasa microbiana que puede constituir entre 0,6 y 1,1% del carbono orgánico del suelo, donde bacterias y hongos conforman la mayor proporción de la biomasa microbiana, con aproximadamente 10^2 a 10^3 $\mu\text{g C microbiano} \cdot \text{g}^{-1}$ de suelo, de hecho, se estima que aproximadamente un 50% y un 90% de las bacterias y hongos que habitan nuestro planeta, respectivamente, habitan en el suelo.

En las últimas décadas los avances de técnicas moleculares y bioinformática han ampliado enormemente nuestra comprensión y valoración de la estructura de las

comunidades microbianas. En cuanto a los procariontes (bacterias y arqueas), en los suelos se han descrito aproximadamente 25 filos, de los cuales Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes son los más abundantes, por otro lado, en las arqueas se han descrito los filos Crenarchaeota, Euryarchaeota, Parvarchaeota como las más abundantes. En cuanto a los eucariontes, específicamente hongos microscópicos, los filos mayormente descritos en suelos incluyen Basidiomycota, Ascomycota, Zygomycota, Ascomycota y Glomeromycota. A pesar de los importantes avances en el conocimiento de microbiota de suelos que se han desprendido de técnicas de estudio independientes de cultivo, muchos de estos organismos microscópicos aún no pueden ser aislados con técnicas de cultivos tradicionales, por lo que su funcionamiento en los ecosistemas es largamente desconocido. Tanto es así que, del total de células que pueden ser observadas en una muestra de suelo bajo el microscopio, solo entre el 1 y 10 % puede cultivarse en el laboratorio, lo que reafirma la enorme brecha de conocimiento que aún tenemos sobre la vida que ocurre en los suelos y el consiguiente desconocimiento de sus potencialidades. Esto es de especial relevancia en contextos actuales de extremos climáticos, enfermedades emergentes, seguridad alimentaria, y contaminación, entre otros, puesto que los microorganismos edáficos son fundamentales en la contribución de los suelos a estos desafíos globales.

Las funciones desempeñadas por los microorganismos del suelo dan paso a diversos servicios ecosistémicos (contribuciones de la naturaleza al bienestar humano). Entre los servicios ecosistémicos de suelos derivados directamente de la microbiota edáfica se encuentran su rol en ciclos biogeoquímicos, muchos de los cuales son fundamentales para la nutrición de las plantas y el secuestro de carbono en el suelo, otros beneficios tienen relación con la salud humana, puesto los suelos también son un reservorio de muchos productos farmacéuticos. La diversidad edáfica distribuida en el territorio chileno constituye un gran reservorio de servicios ecosistémicos del suelo. Por ejemplo, los suelos del Desierto de Atacama, por sus condiciones únicas y extremas, son una fuente de una

microbiota edáfica particular de alta relevancia científica, tecnológica y de conservación. En cuanto a los suelos de la zona central de Chile, fundamentales para la provisión de alimentos, microorganismos que presentan rasgos que promueven el crecimiento de las plantas representan un alto interés biotecnológico para prácticas agrícolas sostenibles. En tanto en el sur del territorio, particularmente en la Patagonia chilena, donde los suelos de la zona representan el mayor reservorio de carbono en el suelo a nivel nacional, la contribución de la microbiota de suelo a la dinámica del carbono en la actualidad ha sido poco explorada no obstante su relevancia. A pesar de la amplia variedad de beneficios ecosistémicos proporcionados por los microorganismos del suelo, pocos estudios en Chile se han centrado específicamente en este tema.

En el presente capítulo, buscamos relevar la importancia de los suelos, particularmente de la biodiversidad microbiana de estos ecosistemas, y su contribución a diversos servicios ecosistémicos, así como también destacar estudios de la biodiversidad microbiana de suelos a nivel nacional. Los apartados del capítulo otorgan una mirada sobre lo que se entiende y conoce en la actualidad de la diversidad microbiana edáfica, otorga alguno de los principales ejemplos de servicios ecosistémicos relacionados con la microbiota edáfica, elabora al respecto de los principales métodos de estudio de la biodiversidad microbiana de suelos, y presenta estudio de casos en el territorio nacional. Dentro de estos, destacan estudios de amenazas a la biodiversidad de suelos en el contexto nacional, incluyendo incendios forestales, agricultura intensiva, sobrepastoreo y cambio de uso de suelo y estudios de caso sobre biodiversidad de suelos en ecosistemas naturales y productivos de Chile, donde se incluyen estudios en viñedos, ecosistemas de bosque, domesticación de microbiomas nativos, relación de la microbiota edáfica con la dinámica de la materia orgánica y diversidad microbiana asociada al desierto florido. Finalmente, se consideran algunas recomendaciones que buscar relevar la importancia de ampliar el ámbito de estudio de la biodiversidad de microorganismos en los suelos de Chile, así

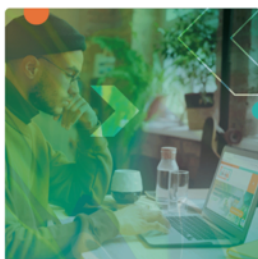
como la necesidad urgente de contar con un marco legislativo robusto que permita proteger los suelos a nivel nacional.

Junio - Agosto de 2023. Programa Tesis para impactar el territorio | Nodo CIV-VAL

NOTICIAS

Estudiante de pre y postgrado: Participa de la Convocatoria 2023 Programa “Tesis para impactar el territorio” promovida por el Nodo CIV-VAL

14 Junio, 2023



Postulaciones abiertas entre el 15 de junio y el 17 de julio. Los Participantes deben cargar los archivos solicitados en las bases al formulario de postulación indicado al final de noticia.

El Nodo CIV-VAL invita a estudiantes de Instituciones de Educación Superior (IES) universidades, Institutos Profesionales y Centros de Formación Técnica de Pregrado y Posgrado de todas las disciplinas, a participar de la convocatoria “Tesis para impactar el territorio”, instancia que cuenta con apoyo financiero de la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID).

El concurso busca identificar, promover y visibilizar, la articulación de proyectos de titulación de pre y postgrado enfocados en resolver necesidades, problemas o desafíos de la Macrozona Centro en las áreas de: Alimentos, Biodiversidad y Recursos Hídricos.

Septiembre de 2023. Entrega de resultados en Programa Tesis para impactar el territorio | Nodo CIV-VAL

Informa Resultados Convocatoria Tesis para Impactar el Territorio 2023



Recibidos x

DOCTORADO x



consultas@nodociv-val.cl

para mí ▼

jue, 14 sept, 12:32

Estimada Carolina Quinteros Urquieta

Junto con saludar y desearle un buen día. Nos ponemos en contacto con Ud. con motivo de informar que el proceso de selección de la convocatoria "Tesis para impactar el territorio 2023", realizado por el Nodo CIV VAL, ha concluido.

Es de nuestro placer, informarle que su trabajo "Microbioma del suelo en el Parque Nacional la Campana desde una perspectiva biogeográfica" ha sido seleccionado para poder continuar la etapa de seguimiento y preparación de difusión para seminario a realizarse a final de año.

Dentro de la semana del 25 de septiembre, entraremos en contacto con Ud. nuevamente para gestionar una reunión informativa.

Desde ya felicitarle por su trabajo y agradecer su participación en esta iniciativa.

Un cordial saludo

Nodo CIV VAL

2023. PALYNO. Co autora en exposición fotográfica disponible en el Museo Arqueológico de Los Andes, inaugurada el 05 de diciembre de 2023. La muestra fue desarrollada en el Laboratorio de Geografía Ambiental y Palinología, del Departamento Disciplinario de Ciencias Geográficas perteneciente a la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Playa Ancha.



2023. XLV Congreso Chileno de Microbiología 2023, CHILE, Pucón.

Presentación de poster: Microbioma del suelo superficial en un gradiente de tres profundidades en las laderas norte y sur del Parque Nacional La Campana

Surface soil microbiome in a three-depth gradient on the northern and southern slopes of La Campana National Park.

Quinteros-Urquieta. C.1,3, Francois, J.P.2,3, Aguilar, P.3, Orellana, R.2,3, Saavedra, F.2,3, Aguirre, Y.2, 3, Hernández, P.2, Ramírez, P.2,4, Molina, V.2,3,5

- 1 Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
- 2 Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
- 3 HUB Ambiental UPLA, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
- 4 Herbario VALPL, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.
- 5 Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Chile.

El Parque Nacional La Campana (PNLC), “hotspot” de biodiversidad, es reconocido mundialmente por su flora y fauna, pero en menor medida por su riqueza microbiana. Este estudio tuvo por objetivo caracterizar la estructura y composición de las comunidades microbianas (Bacterias, Arqueas y Hongos) y su relación con las comunidades vegetacionales características de dos laderas del PNLC de exposición solar opuesta: i) Bosque esclerófilo (sur), y ii) Matorral esclerófilo (norte), distribuidos en función de variables como la profundidad, elevación y la pendiente. Se realizó una caracterización de los ecosistemas vegetacionales, características fisicoquímicas de la materia orgánica y composición microbiana del suelo, utilizando secuenciación masiva (iTag-16S rRNA, V4 e ITS1-5F) a partir del ADN extraído desde la superficie del suelo en tres profundidades (5 cm; 10 cm; 15 cm). La alfa diversidad muestra mayor diversidad, riqueza y uniformidad en el bosque esclerófilo (5 cm) para procariontes. Los hongos mostraron una mayor riqueza, diversidad y equidad en el bosque esclerófilo en las tres profundidades. La beta-diversidad (70% en sus ejes) indica que las bacterias y arqueas se asocian a sus categorías vegetacionales, lo que no se repite en el caso de los hongos. Los resultados indican que las Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, los hongos Ascomycota y Basidiomycota fueron los phylum más abundantes. La familia Gaiellaceae (Actinobacteria), aumenta con la profundidad en el bosque y

matorral, lo que se repite con la familia Chthoniobacteraceae (Verrucomicrobia) en el matorral; la familia Chaetomiaceae (Ascomycota) presenta un gradiente disminuyendo (de 5 a 15 cm) en el bosque, y una distribución inversa en el matorral esclerófilo. En conclusión, los consorcios microbianos presentes en el PNLC muestran una estructura y composición que están influenciadas por la profundidad del suelo y condiciones fisicoquímicas. Esto sugiere una fuerte conexión entre el microbioma del suelo y las características ambientales/sitios circundantes en el PNLC.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 11170566, Proyecto FONDECYT 1211977, Fondo interno de desarrollo regional UPLA: CNE 23-20 “Fijadores de nitrógeno en costras biológicas bio-enriquecedores del suelo de la región” y ANID BECA DOCTORADO NACIONAL 2022, Folio N°21221130.

Agradecimientos: a la Corporación Nacional Forestal (CONAF), a la Administración del Parque Nacional La Campana y a sus guardaparques.



La Sociedad de Microbiología de Chile otorga el presente certificado a:

Carolina Quinteros-Urquieta, Jean Pierre Francois, Polette Aguilar-Muñoz, Roberto Orellana, Freddy Saavedra, Yael Aguirre, Paulina Hernández, Pamela Ramírez, Verónica Molina

Por haber participado con un POSTER en el **XLV Congreso Chileno de Microbiología**,
realizado desde el 4 al 7 de diciembre, 2023, Pucón, Chile. Titulado:

Surface soil microbiome in a three-depth gradient on the northern and southern slopes of La Campana National Park

Microbioma del suelo superficial en un gradiente de tres profundidades en las laderas norte y sur del Parque Nacional La Campana

Dr. Fernando Valiente-Echeverría
Presidente de la Sociedad de Microbiología de Chile

Dr. Jorge Olivares Pacheco
Presidente del Comité científico SOMICH



2023. Congreso Tesis para Impactar el Territorio. Jueves 07 de septiembre de 2023. Presentación de poster.

MICROBIOMA DEL SUELO EN EL PARQUE NACIONAL LA CAMPANA DESDE UNA PERSPECTIVA BIOGEOGRÁFICA

Carolina Quinteros-Urqueta ^{1,2}, Jean Pierre Francois ^{2,3}, Polette Aguilar-Muñoz ², Roberto Orellana ^{2,3}, Freddy Saavedra ^{2,3}, Yael Aguirre ^{2,3}, Paulina Hernández ², Pamela Ramírez ^{2,4} and Verónica Molina ^{2,3}

¹ Programa de Doctorado Interdisciplinario en Ciencias Ambientales, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile;

² Departamento de Ciencias y Geografía, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 270, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.

³ HUB AMBIENTAL UPLA, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.

⁴ Herbario VALPL, Universidad de Playa Ancha, Avenida Leopoldo Carvallo 207, Playa Ancha, Valparaíso 2340000, Chile.

⁵ Centro de Investigación Oceanográfica COPAS COASTAL, Universidad de Concepción, Chile.

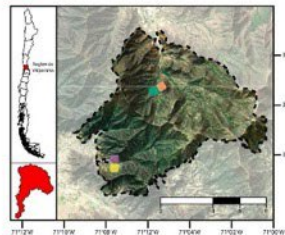


Introducción

Al centro del "hotspot" de biodiversidad en Chile Central se ubica el Parque Nacional La Campana (PNLC), globalmente reconocido por su flora y fauna, y menormente por su riqueza microbiana.

Objetivo

Determinar la relación entre la composición y estructura de las comunidades microbianas del suelo y factores bióticos y abióticos del paisaje presente al interior del PNLC.



Metodología



Financiamiento

FONDECYT 11170566 / FONDECYT 1211977 / Fondo UPLA: CNE 23-20 / BECA DOC. NACIONAL 2022 N°21221130

La presente iniciativa, se ejecuta con el apoyo financiero del programa NODO 220002 de la Agencia Nacional de Investigación y desarrollo - ANID del Ministerio de Ciencia, tecnología, Conocimiento e Innovación

Agradecimientos

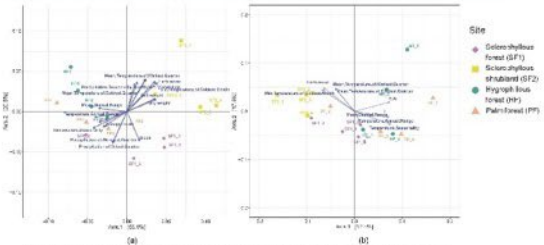
A CONAF, a la Administración del Parque Nacional La Campana y a sus guardaparques.

Conclusiones

Las variables climáticas tienen una alta contribución respecto a los ambientes (sitios), por lo que las comunidades microbianas exhiben una estructura y composición representativa de los pisos vegetacionales presentes en el PNLC.

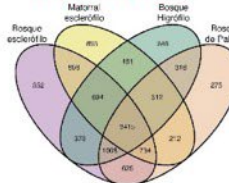
Resultados

R1. 4 PISOS VEGETACIONALES A 5 CM DE PROFUNDIDAD

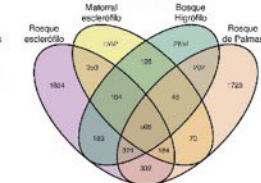


PCoA que muestra la variabilidad microbiana en los pisos vegetacionales a nivel de phylum de (a) procariontes y (b) hongos.

ASV Bacterias y arqueas



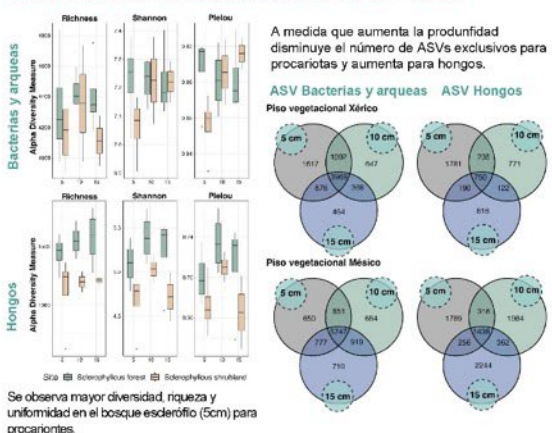
ASV Hongos



Phyla más representativos:

Proteobacteria (34,26%), Actinobacteria (30,94%), Acidobacteria (10,65%), Gemmatimonadetes (4,46%), Bacteroidetes (4,46%), Verrucomicrobia (4,12%), Chloroflexi (4,20%), Ascomycota (68,52%) y Basidiomycota (13,25%), Phylum no clasificado (11,77%)

R2. 2 PISOS VEGETACIONALES: 5 CM - 10 CM - 15 CM



Se observa mayor diversidad, riqueza y uniformidad en el bosque esclerófilo (5cm) para procariontes.

Las particularidades de las comunidades del PNLC dan cuenta de la importancia de la biodiversidad de los microorganismos para climas mediterráneos.



2023. “Plan maestro para el Parque Urbano” en Villa Olímpica, comuna de Olmué, Programa de Recuperación de Barrios “Quiero mi Barrio” y su intervención en el barrio “Las Rosas - Santa Regina”, comuna de Olmué. Se presenta avance de tesis doctoral del PNLC a autoridades del MINVU y Municipio de Olmué. 09 de noviembre de 2023 a partir de las 10:00hrs en el auditorio del Palacio Baburizza, Paseo Yugoslavo, cerro Alegre, Valparaíso.



2024. “Jornada de Participación Ciudadana y presentación del Plan maestro para el Parque Urbano” en Villa Olímpica, comuna de Olmué, Programa de Recuperación de Barrios “Quiero mi Barrio” y su intervención en el barrio

“Las Rosas - Santa Regina”, comuna de Olmué. Se presenta avance de tesis doctoral del PNLC a autoridades y vecinos Municipio de Olmué.

