

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE

Centro Regional Universitario Bariloche

Trabajo final para optar al grado de Licenciada en Ciencias  
Biológicas



**Efecto de los incendios sobre las  
comunidades fúngicas a distintas  
profundidades del suelo en dos  
ecosistemas forestales nativos**

**Tesista:** Astrid Luciana Ebrecht

**Directora:** Dra. Natalia V. Fernández

**Codirectora:** Dra. Verónica A. El Mujtar

*Dedicado a mi familia.*

## **Agradecimientos**

Al Centro Regional Universitario Bariloche (UNCo) por ofrecerme de estudiar la carrera que tanto quería estudiar desde pequeña.

A todas las personas en el Laboratorio de Microbiología Aplicada y Biotecnología del Centro Regional Universitario Bariloche, quienes han sido super amables y me han ayudado durante el proceso resolviendo dudas y explicándome el funcionamiento del laboratorio; además de haberme proporcionado del espacio y materiales necesarios para la realización de la tesis.

Al IFAB INTA Bariloche y sus integrantes por proporcionarme del espacio y materiales necesarios para la realización de la tesis y darme una cálida bienvenida a su hermoso lugar de trabajo.

A los miembros integrantes del jurado de esta tesis por su arduo trabajo leyendo y aportando los mejores comentarios para que la tesis llegue a su máximo potencial.

Algunos agradecimientos personales:

A Nati, mi directora, por sus palabras de aliento y siempre su buena predisposición a resolver dudas. Gracias por tu ardua paciencia (no sé cuántas veces te habré llamado para preguntarte dudas en la lupa y el microscopio jaja). Agradezco que me haya tocado una directora tan profesional y comprometida con su labor, siempre buscando nuevas oportunidades y opciones para hacer de esta tesis un trabajo mejor. Gracias por todas las enseñanzas y momentos compartidos durante este tiempo. Ciertamente, Nati es un ejemplo a seguir y no tengo más que agradecimiento.

A Vero, mi co-directora, quién siempre ha estado al pendiente y ayudándome a resolver dudas. Agradezco mucho todo lo que aprendí y sigo aprendiendo de Vero. Su predisposición y sus comentarios bien acertados han hecho de este trabajo una oportunidad inmensa de aprendizaje en todas sus aristas. Sus ganas de trabajar y su pasión serán una motivación más a seguir por este camino. Ciertamente, es otro super ejemplo a seguir y no tengo más que agradecimiento.

Agradezco a mi mamá y a mi papá por el enorme esfuerzo que han hecho al apoyarme todos estos años. Agradezco que siempre supieron estar para mí, aunque estemos un poco distanciados físicamente. Agradezco que nunca me apuraron y respetaron mis tiempos y por su cariño en los altibajos de este camino, que ayudó a que sea uno un poco más ameno. Y también un gran gracias a Purr, que a su manera hizo mi vida un poco mejor en este último tiempo.

A Santiago quien ha estado en mi etapa final de la carrera y que con incansable paciencia me ha ayudado en todo lo que pudo y con la mejor predisposición con palabras de aliento, a entender cosas matemáticas de manera más fácil y en su *expertise*: hacer gráficos lindos.

También gracias al equipo de trabajo que conocí un poco más durante la realización de la tesis. En especial, un gran gracias a Facu, quién con incansable paciencia también siempre me ha ayudado de muy buena manera con cuestiones estadísticas. Estoy contenta de que me haya tocado trabajar con gente tan amable y espero poder retribuir la ayuda que recibí prontamente.

Gracias también a los amigos y amigas (Meli, Li, Dani, Mauro, Caro, Eze) que hice en este camino, con quienes cursé tantas horas y estudié hasta tarde, con quienes celebré las victorias y las caídas. Deseo el mayor de los éxitos para ustedes en todos los ámbitos de sus vidas.

## **Índice**

<i>Resumen</i> .....	5
<i>Abstract</i> .....	7
<b>Introducción</b> .....	8
<i>El suelo y sus comunidades fúngicas</i> .....	9
<i>Los incendios y sus efectos sobre el suelo y las comunidades fúngicas</i> .....	12
<i>Objetivo general e hipótesis de trabajo</i> .....	16
<i>Objetivos específicos (OE)</i> .....	17
<i>Predicciones</i> .....	17
<b>Materiales y métodos</b> .....	18
<i>Formaciones forestales</i> .....	19
<i>Sitio de muestreo</i> .....	20
<i>Diseño experimental, mediciones a campo y toma de muestras de suelo</i> .....	21
<i>Actividades de laboratorio</i> .....	22
<u>Procesamiento y análisis de las muestras de suelo</u> .....	22
<u>Procesamiento de las raíces del cipresal y cuantificación de MA</u> .....	22
<u>Procesamiento de las raíces de ñirantal y cuantificación de EcM</u> .....	24
<i>Identificación molecular y análisis de diversidad de hongos ectomicorrícicos (HEcM)</i> .....	25
<i>Análisis de la diversidad de las comunidades fúngicas del suelo mediante T-RFLP</i> .....	26
<u>Extracción de ADN</u> .....	26
<u>Análisis de T-RFLP en la región ITS</u> .....	27
<i>Análisis estadísticos</i> .....	28
<b>Resultados</b> .....	32
<i>Actividad biológica, humedad relativa y temperatura del suelo</i> .....	33
<i>pH y Conductividad eléctrica</i> .....	33
<i>Peso húmedo de raíces</i> .....	35
<i>Colonización micorrícica</i> .....	36
<i>Identificación molecular de HEcM</i> .....	37
<i>Hongos totales del suelo</i> .....	41
<i>Cuestiones estadísticas</i> .....	45
<b>Discusión</b> .....	46
<i>Conclusión</i> .....	54
<b>Bibliografía</b> .....	56
<i>Anexo</i> .....	65

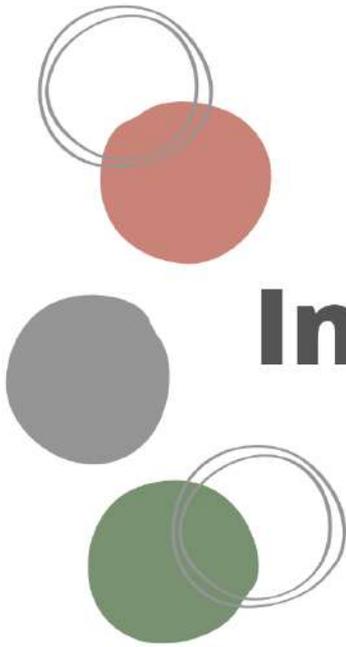
## Resumen

El suelo supone una parte fundamental de cualquier ecosistema terrestre, proporcionando nutrientes, agua, gases y una base estructural sobre la cual se desarrolla la vida de múltiples seres vivos. Entre estos organismos se encuentran los hongos, quienes son capaces de formar asociaciones simbióticas mutualistas con la vegetación establecida, las micorrizas. Los suelos y, por lo tanto, los organismos que lo habitan sufren disturbios de manera cada vez más recurrente y con más intensidad, como los incendios. Estos disturbios afectan las propiedades físico-químicas del suelo y la composición y estructuración de las comunidades de hongos y otros seres vivos, resultando en cambios en las funciones del ecosistema en general. En este trabajo se estudió el efecto que tuvo el incendio en Cuesta del Ternero (enero 2021) sobre múltiples variables físico-químicas y biológicas del suelo, haciendo énfasis sobre las comunidades fúngicas (micorrizas arbusculares, ectomicorrizas y fúngicas totales). El estudio se realizó en dos formaciones forestales nativas, una dominada por ciprés (cipresal, *Austrocedrus chilensis*) y otra por ñire (ñirantal, *Nothofagus antarctica*), y en dos condiciones post-fuego: quemado y no quemado. Además, también se evaluó si estos efectos variaban con la profundidad, teniendo así dos profundidades de análisis (profundo = 10-20 cm y superficial = 0-5 cm). Se analizaron la actividad biológica, la humedad relativa y la temperatura del suelo en el campo a una sola profundidad y teniendo en cuenta la condición de quemado. Además, en el laboratorio se midieron el pH y la conductividad eléctrica del suelo, el peso de las raíces obtenidas en ambas formaciones forestales y su colonización micorrícica, así como la diversidad alfa y beta de las comunidades de hongos ectomicorrícicos y de hongos totales del suelo de ambas formaciones forestales, teniendo en cuenta ambos factores de análisis. La condición de quemado tuvo un efecto significativo en casi todas las variables analizadas (excepto en el porcentaje de colonización por micorrizas arbusculares y la riqueza de comunidades fúngicas de los suelos asociadas a cipresal), mientras que la profundidad sólo tuvo efecto significativo en el peso húmedo de raíces de ñire colonizadas por ectomicorrizas. Se halló una interacción significativa entre ambos factores de análisis para el pH y la conductividad eléctrica asociadas a ñire, además de la colonización por ectomicorrizas en esta misma especie. Este trabajo aporta información novedosa respecto del efecto del fuego sobre las propiedades físico-químicas y las comunidades fúngicas del suelo en el norte de la Patagonia y sobre cómo estos efectos pueden ser modulados por la profundidad del suelo. También abre la puerta para futuros estudios sobre las diferentes estrategias que presentan distintas formaciones forestales nativas del norte de la Patagonia

luego de un incendio. Este trabajo cobra particular importancia debido al aumento de la incidencia de incendios en la zona de estudio proyectada para los próximos años.

## *Abstract*

The soil is a fundamental part of any terrestrial ecosystem, providing nutrients, water, gases and a structural base on which multiple living beings develop. Among these organisms are the fungi, which are capable of forming mutualistic symbiotic associations with most plant species, named mycorrhizae. Soils and, therefore, the organisms that inhabit them, suffer increasingly recurrent and intense disturbances, such as fires. These disturbances affect the physical and chemical properties of the soil as well as the structure and composition of fungal communities and other living beings, resulting in changes in the functions of the ecosystem in general. In this work we studied the effect of the fire in Cuesta del Ternero (January 2021) on multiple physicochemical and biological variables, with emphasis on fungal communities (arbuscular mycorrhizae, ectomycorrhizae and total fungal communities). The study was performed in two native forest formations, one dominated by cypress (cypress forest, *Austrocedrus chilensis*), and the other by ñire (ñire shrubland, *Nothofagus antarctica*), and in post-fire conditions: burned and unburned. In addition, it was also evaluated whether these effects varied with soil depth, thus having two different depths of analysis (deep = 10-20 cm and shallow = 0-5 cm). Biological activity, relative humidity and soil temperature were analyzed in the field at a single depth and taking into account the burned condition. In addition, soil pH and electrical conductivity, the weight of roots obtained in both forest formations and their mycorrhizal colonization, as well as the alpha and beta diversity of ectomycorrhizal fungi and total fungi communities in the soil of both forest formations were measured in the laboratory, taking into account both analysis factors. The burned condition had a significant effect on almost all the variables analyzed (except the percentage of colonization by arbuscular mycorrhizae and the richness of fungal communities in the cypress-associated soils), while depth only had an effect on the wet weight of ectomycorrhizal roots. A significant interaction between both analysis factors was found for pH and electrical conductivity associated with ñire, in addition to colonization by ectomycorrhizae in this forestry species. This work provides novel information on the effect of fire on the physicochemical properties and fungal communities of the soil in northern Patagonia and on how these effects can be modulated by soil depth. It also provides knowledge and opens the door for future studies on the different strategies of different native forest formations in northern Patagonia after fire. This work is particularly important due to the increase in the incidence of fire in the study area projected for the coming years.



# Introducción



## Introducción

### *El suelo y sus comunidades fúngicas*

El suelo es un sustrato compuesto por tres fases: sólida, líquida y gaseosa (Figura 1). La fase sólida está constituida por partículas inorgánicas (minerales tales como aluminio, calcio, magnesio y hierro) y materiales orgánicos que contienen nitrógeno, fósforo, azufre y carbono. Estas partículas sólidas dejan entre sí una serie de espacios (poros, cámaras, galerías), donde se hallan las fases líquida y gaseosa. La fase líquida constituye la solución del suelo, que contiene iones minerales disueltos y sirve como medio para el movimiento de éstos hacia las raíces de las plantas. Por último, la fase gaseosa se encuentra también entre los poros del suelo y contiene gases como oxígeno, dióxido de carbono y nitrógeno, que pueden intercambiarse entre las raíces y el suelo, así como entre este último y la atmósfera (Taiz & Zeiger, 2006; FAO, 2020). El suelo es un sistema vivo que alberga numerosos organismos que contribuyen con su funcionamiento (El Mujtar *et al.*, 2019). Entre ellos se encuentran los microorganismos, que forman un complejo microbioma. Gran parte de las interacciones entre microorganismos, y entre éstos y las plantas (p. ej.: competencia, parasitismo, simbiosis), se dan particularmente en la rizósfera, que es la delgada zona del suelo que rodea a las raíces (Buée *et al.*, 2009).

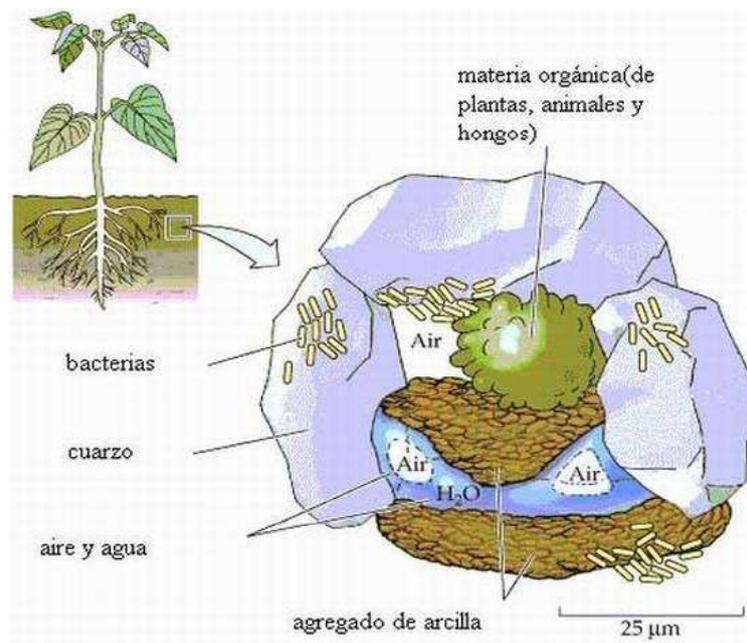


Figura 1. Estructura y fases del suelo (modificada de <http://elsuelocontaminado.blogspot.com/2018/07/componentes-del-suelo.html>).

Entre los microorganismos del suelo se encuentran los hongos. Este es un grupo muy abundante y diverso en el que se encuentran organismos que poseen diferentes formas de vida (p. ej.: unicelular, multicelular, simbiosis, de vida libre) (FAO, 2020). Los hongos ocupan nichos importantes en la naturaleza (Peay *et al.*, 2016) y proporcionan diversas funciones vitales en

## Introducción

todos los hábitats, ecosistemas, biomas y en la biósfera en su conjunto (FAO, 2020). En el suelo, los hongos tienen roles ecológicos fundamentales ya que median los procesos de descomposición de materia orgánica, la mineralización y el ciclado de nutrientes (Peay *et al.*, 2016; Mundra *et al.*, 2021). También contribuyen significativamente a la formación y estructura del suelo, y a la regulación biológica de las redes tróficas (FAO, 2020). Los hongos se relacionan directamente con otros organismos, por ejemplo, pudiendo ser patógenos vegetales y animales, o bien estableciendo simbiosis mutualistas con las plantas y siendo una herramienta fundamental en la adquisición de recursos por parte de las mismas. En particular, las micorrizas son asociaciones simbióticas generalmente mutualistas<sup>1</sup> que se establecen entre diferentes hongos del suelo y las raíces (u otros órganos vegetales en contacto con el sustrato) de la mayoría de las plantas, incluyendo angiospermas, gimnospermas, helechos e incluso algunas briofitas (Smith & Read, 2008; Brundrett & Tedersoo, 2018). Los hongos micorrícicos benefician a las plantas porque aumentan su acceso a nutrientes y su tolerancia a diferentes tipos de estrés (Smith & Read, 2008; Tedersoo *et al.*, 2020). Los hongos micorrícicos también median las interacciones de las plantas con otros microorganismos del suelo, como patógenos y otros mutualistas (Tedersoo *et al.*, 2020). En esta simbiosis, las plantas proveen a los hongos micorrícicos fuentes de carbono (fotosintatos) y nichos apropiados para su crecimiento y reproducción (Smith & Read, 2008; Buée *et al.*, 2009; Tedersoo *et al.*, 2020). Existen cuatro tipos principales de micorrizas basados en los taxones fúngicos que las forman, las estructuras que se desarrollan en las raíces y los linajes de las plantas hospedadoras: ectomicorrizas (EcM), micorrizas arbusculares (MA), micorrizas ericoides y micorrizas orquidioides. Las dos primeras son las más importantes (Figura 2) y ampliamente distribuidas a nivel mundial (Smith & Read, 2008; Brundrett & Tedersoo, 2018), y dado que son las que se considerarán en este trabajo de tesina, se describen a continuación:

*Ectomicorrizas (EcM)*: se caracterizan por la presencia de tres componentes principales: un manto de tejido fúngico que rodea los ápices de la raíz, la red de Hartig (hifas que se desarrollan entre las células epidérmicas y corticales de la raíz) y el micelio extrarradical que se extiende en el suelo desde el manto. Estas estructuras fúngicas modifican la morfología de los ápices radicales, dando origen a una nueva estructura denominada “ectomorfortipo”. Otra característica distintiva de las EcM es la ausencia de penetración intracelular en la raíz por parte de las hifas (Smith & Read, 2008). Los hongos que pueden formar esta simbiosis son principalmente basidiomicetes y ascomicetes (Smith & Read, 2008). Si bien este tipo de

---

<sup>1</sup> Las asociaciones simbióticas mutualistas son aquellas que se dan entre organismos de diferentes especies y generan beneficios a todos sus participantes (Bronstein, 2009).

## Introducción

micorrizas se halla principalmente en un número relativamente reducido de especies vegetales (2% de las especies de plantas vasculares), éstas corresponden a especies forestales que ocupan grandes extensiones de bosques a nivel mundial, incluyendo aquellas de las familias Betulaceae, Fagaceae, Nothofagaceae y Pinaceae (Brundrett & Tedersoo, 2018). Se estima que cerca del 60% de los árboles que hay en la tierra son ectomicorrícicos (Steidinger *et al.*, 2019).

*Micorrizas arbusculares (MA)*: los hongos formadores de MA pertenecen al Phylum Glomeromycota y son simbioses obligados de una gran variedad de especies vegetales (Smith & Read, 2008). La mayoría de las plantas vasculares (75%) forman esta asociación simbiótica (Brundrett & Tedersoo, 2018; Tedersoo *et al.*, 2020). Hay tres componentes importantes en una asociación MA: la raíz de la planta, el micelio en el apoplasto de la raíz y el micelio que se desarrolla en el suelo. El micelio en el apoplasto se encarga del intercambio de nutrientes entre la planta y el hongo, mientras que el micelio en el suelo es el encargado de buscar y adquirir los nutrientes minerales. A diferencia de las EcM, el micelio intrarradical de las MA no forma una red de Hartig y el micelio extrarradical de las MA es menos denso que el manto formado por las EcM (Smith & Read, 2008). Las MA se diferencian del resto de las micorrizas porque forman unas modificaciones hifales diagnósticas dentro de las células corticales de las raíces de las plantas que colonizan, los arbuscúlos. Éstos corresponden a hifas muy ramificadas dentro de las células vegetales y están encargados del intercambio de nutrientes entre los organismos constituyentes de la simbiosis. Además, algunas MA también pueden formar vesículas de almacenamiento de lípidos dentro o entre las células de la raíz (Smith & Read, 2008).

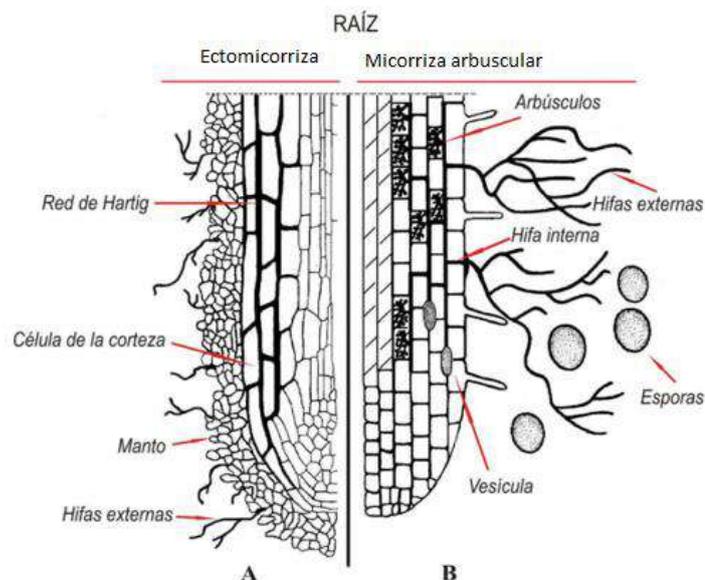


Figura 2. Corte longitudinal de raíz con A) Ectomicorrizas y B) Micorrizas arbusculares (modificada de Albornoz y Catania, 2021).

## Introducción

Dado que los hongos del suelo en general y los micorrícicos en particular son constituyentes integrales del suelo y median procesos fundamentales, con impacto directo en las comunidades vegetales y en diversos procesos ecosistémicos (Stendell *et al.*, 1999; Smith & Read, 2008; Brundrett & Tedersoo, 2018; FAO, 2020), es importante conocer el estado de estas comunidades fúngicas luego de disturbios frecuentes en sistemas ecológicos naturales, particularmente de aquellos de gran magnitud, como los incendios. Además, los microorganismos edáficos responden rápidamente a los cambios medioambientales, por lo tanto, las comunidades fúngicas del suelo pueden funcionar como bioindicadores de cambios en la salud del suelo a corto plazo (Nielsen & Winding, 2002; Bhaduri *et al.*, 2022).

### *Los incendios y sus efectos sobre el suelo y las comunidades fúngicas*

Los incendios naturales son un tipo de disturbio del planeta Tierra que ha operado por millones de años, por lo tanto, se los considera fundamentales para la dinámica de muchos ecosistemas terrestres (He & Lamont, 2018). En aquellos ecosistemas donde los incendios naturales son recurrentes, éstos tienen efectos ecológicos directos y actúan como una fuerza selectiva moldeando los rasgos de las especies que lo habitan (He *et al.*, 2019). Además, los incendios son importantes en múltiples niveles de organización biológica, influyendo así en la estructura y dinámica de poblaciones, comunidades y ecosistemas en general (McLauchlan *et al.*, 2020). Es importante diferenciar, sin embargo, entre incendios naturales y antrópicos, ya que tienen orígenes y efectos distintos. Los primeros se originan por causas naturales tales como la caída de rayos, la combinación de acumulación de combustible, altas temperaturas y baja humedad, entre otras (McLauchlan *et al.*, 2020). Los incendios antrópicos pueden ser, por su parte, de dos tipos: prescritos o intencionales. Los incendios prescritos se utilizan como estrategia de manejo de riesgo de incendios, es decir, son incendios controlados que pretenden reducir el número y severidad de los incendios naturales (Stendell *et al.*, 1999; Taudière *et al.*, 2017; Rasmussen *et al.*, 2018). Por otro lado, los incendios intencionales o por negligencia son producto de la realización de actividades humanas inadecuadas, sin autorización o control (McLauchlan *et al.*, 2020).

La severidad de un incendio está determinada por su duración y por el pico de temperatura alcanzado (Certini, 2005). También está condicionada por factores diversos tales como el tipo y estado del material combustible (vivo o muerto), la humedad y textura del suelo, el tiempo desde el último incendio, el clima, el tipo de combustión, inclinación y topografía del terreno, entre otros (Neary *et al.*, 1999). En general, los incendios naturales e intencionales suelen ser más severos que los prescritos, ya que la carga de combustible suele ser mucho

## Introducción

mayor y no se toman precauciones desde su inicio para su control (Rasmussen *et al.*, 2018; McLaughlan *et al.*, 2020). Así, se alcanzan mayores temperaturas y se produce mayor daño sobre el suelo y su biota, incluyendo las raíces de las plantas y los hongos (Neary *et al.*, 1999; Rasmussen *et al.*, 2018).

Los incendios tienen diversos efectos sobre el suelo (Adkins *et al.*, 2020; Chávez *et al.*, 2020) (Tabla 1). Muchos de estos efectos son directos, tales como pérdida de masa vegetal tanto aérea como subterránea y de organismos del suelo, combustión del horizonte orgánico, calentamiento del suelo, y deposición de carbón vegetal y cenizas. Por otra parte, al disminuir la cobertura vegetal por el incendio (efecto directo) aumenta la insolación del suelo y también disminuye el albedo, aumentando así la radiación que es absorbida por el mismo y cambiando el régimen térmico del suelo (efectos indirectos). La formación de una capa impermeable de cenizas sobre la superficie del suelo luego del incendio también produce efectos indirectos en el mismo, como cambios en las propiedades hidrológicas (p. ej.: falta de infiltración de agua), en el pH y la conductividad eléctrica (CE) (Certini, 2005).

Por su parte, los organismos del suelo también se ven afectados por estos efectos directos e indirectos de los incendios (Adkins *et al.*, 2020). Las alteraciones biológicas del suelo comienzan en el rango de temperatura entre los 40-70 °C, al producirse la degradación de las proteínas y, en consecuencia, la muerte celular y de tejidos vegetales y animales. En particular, para las comunidades micorrícicas y fúngicas del suelo el calentamiento del suelo es el principal factor directo que, generalmente, provoca una disminución de su biomasa (Stendell *et al.*, 1999; Vásquez-Gassibe *et al.*, 2016) y cambios significativos en la estructura de sus comunidades (Cairney & Bastias, 2007; Dove & Hart, 2017). Esto se debe a que los hongos no son termorresistentes, a excepción de aquellos capaces de formar esporas que toleren estas condiciones (Neary *et al.*, 1999; Cairney & Bastias 2007; Dove & Hart, 2017; Adkins *et al.*, 2020). Los efectos indirectos de los incendios sobre los regímenes térmico e hídrico del suelo también pueden provocar grandes cambios sobre las comunidades micorrícicas y fúngicas del suelo. Por ejemplo, se puede ver afectada la fenología de fructificación y la actividad biológica general de los hongos, así como la colonización de las raíces por parte de los hongos micorrícicos (Dove & Hart, 2017). Del mismo modo, la abundancia de hongos en el suelo suele disminuir luego de un incendio debido a que éstos no toleran el aumento del pH provocado por el disturbio (Adkins *et al.*, 2020).

## Introducción

Tabla 1. Resumen de las propiedades del suelo que son modificadas por el fuego (modificado de Certini, 2005 y Santín & Doerr, 2016).

Efectos del fuego (directos e indirectos)	T° de ocurrencia
<i>Propiedades físicas</i>	~ 50-800 °C
Repelencia del agua	~ 100-300 °C
Estabilidad estructural	~ 75-200 °C
Evaporación del agua	~ 50-100 °C
Composición mineralógica	~ 350-1000 °C
<i>Propiedades químicas</i>	~50-1000 °C
pH	~ 400-1000 °C
Cantidad y calidad de la materia orgánica	~ 300-700 °C
Disponibilidad de nutrientes	~ 300-700 °C
<i>Propiedades biológicas</i>	~ 40-200 °C
Biomasa de raíces	~ 40-100 °C
Pérdida del banco de semillas	~ 100-150 °C
Biomasa microbiana	~ 75-150 °C
Composición de las comunidades de microorganismos	~ 75-150 °C
Biomasa de invertebrados del suelo	~ 50-100 °C
Composición de las comunidades de invertebrados del suelo	~ 50-100 °C

Un factor importante a considerar cuando se estudian comunidades fúngicas del suelo, particularmente en relación con los incendios, es la profundidad, ya que diferentes propiedades físico-químicas dependen de la misma (p. ej.: pH, disponibilidad de nutrientes, cantidad y calidad de materia orgánica). En general, existe una estratificación natural de las comunidades fúngicas totales del suelo, con mayor diversidad, abundancia y actividad en la fracción superficial, lo que se asocia con la mayor disponibilidad de recursos ( Hashimoto & Hyakumachi, 1998; Rosling *et al.*, 2003; Oehl *et al.*, 2005; Schlatter *et al.*, 2018; Mundra *et al.*, 2021). Los efectos directos e indirectos de los incendios sobre el suelo y sus comunidades fúngicas también varían con la profundidad, siendo significativamente mayores en la superficie (Cairney & Bastias, 2007; Vásquez-Gassibe *et al.*, 2016; Dove & Hart, 2017; Yang *et al.*, 2020), donde el horizonte orgánico y la hojarasca suelen ser completamente consumidos y la temperatura alcanzada es mayor, afectando así la fracción del suelo donde se encuentra la mayor biomasa y actividad biológica. Dado que el suelo es un mal conductor de calor y presenta una gran capacidad *buffer*, existe un marcado gradiente de temperatura con la profundidad durante los incendios (Badía *et al.*, 2017; Barreiro *et al.*, 2020). Es por esto que los horizontes minerales más profundos se ven

## Introducción

significativamente menos afectados por las altas temperaturas alcanzadas en la superficie y contribuyen posteriormente a la recuperación natural del ecosistema (Pattinson *et al.*, 1999; Badía *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2020). Por ejemplo, las capas más profundas del suelo pueden actuar como banco de esporas para permitir la sucesión fúngica luego del incendio (Yang *et al.*, 2020). Por tanto, en los estudios sobre los efectos de los incendios en las comunidades fúngicas del suelo, es clave considerar los cambios en profundidad a fin de contribuir a una caracterización más completa de su diversidad (Hashimoto & Hyakumachi, 1998; Rosling *et al.*, 2003; Oehl *et al.*, 2005).

La ocurrencia de incendios en el norte de la Patagonia tiene más de una causa. Entre ellas se encuentran la actividad humana, los regímenes de temperatura y precipitación y la influencia de eventos climáticos como El Niño-Oscilación Sur (ENOS) (Veblen *et al.*, 1999). A mediados del siglo XIX, los grandes incendios se atribuían al uso del hábitat por parte de los nativos americanos, como los Tehuelches, que habitaban la estepa en el norte de la Patagonia y utilizaban el fuego como herramienta para cazar grandes herbívoros, para la guerra y la comunicación. Con la llegada de los europeos, hacia mitad y finales de 1800s, comenzó a hacerse notar el cambio en la frecuencia de incendios. En ese período su frecuencia en los pastizales y la estepa fue menor debido a la disminución de las comunidades aborígenes. En tanto que su frecuencia aumentó en los bosques. Este aumento se debió a que los incendios se utilizaron nuevamente como herramienta, pero esta vez por parte de los europeos, para limpiar la zona de bosque y convertirla en áreas aptas para pastoreo del ganado y la agricultura (Veblen *et al.*, 1999; Kitzberger *et al.*, 2016). Algunos de estos incendios se salieron de control y condujeron a la quema de grandes extensiones de bosques de *Nothofagus* (Kitzberger *et al.*, 2016). Durante el siglo XX, se observó una baja frecuencia de incendios ya que disminuyó la quema intencional y, en 1930, se tomaron medidas de exclusión del fuego (Veblen *et al.*, 1999). En la actualidad, la acción humana sigue siendo de gran influencia para la ocurrencia de estos eventos. En este sentido, los movimientos migratorios hacia la interfase urbano-rural<sup>2</sup> aumentan el riesgo de incendios (Defossé & Godoy, 2021), a lo que se suma el impacto del cambio climático. Las condiciones climáticas que conducen a incendios generalizados en la región patagónica están estrechamente relacionadas con los eventos ENOS, la posición del anticiclón subtropical del pacífico y eventos de bloqueo atmosférico alrededor de los 50°- 60° S. Sin embargo, ha habido variaciones importantes en escalas de tiempo decenales a centenarias en las principales características de circulación mencionadas y, también, en las relaciones del clima en el norte de

---

<sup>2</sup> El área donde las viviendas y las actividades humanas se entremezclan y/o limitan con áreas de vegetación natural propensas a quemarse (Defossé & Godoy, 2021).

## Introducción

la Patagonia con estas características de circulación (Veblen *et al.*, 1999). La temporada de incendios en el norte de la Patagonia coincide con el periodo de mayor déficit hídrico (octubre-abril), y los incendios de mayor magnitud se concentran en los meses de verano (entre enero y marzo) (Kitzberger & Veblen, 2003). Por ejemplo, el incendio ocurrido en enero de 2021 en Cuesta del Ternero arrasó con 6.660 ha de bosque, afectando tanto bosque nativo como plantaciones forestales (Mohr Bell, 2021). Este incendio fue provocado por la acción humana y las condiciones climáticas presentes en ese momento promovieron su propagación.

Trabajos actuales con simulaciones han demostrado que para la región del norte de la Patagonia se espera una mayor frecuencia de incendios debido a las condiciones actuales y proyectadas de cambio climático (Kitzberger *et al.*, 2022). Estas predicciones y la escasa información sobre cómo afectan los incendios a las comunidades fúngicas nativas de los diferentes ecosistemas forestales del norte de la Patagonia, motivaron a la realización de este trabajo de tesina.

### *Objetivo general e hipótesis de trabajo*

Considerando la importancia de los hongos del suelo para el correcto funcionamiento de los ecosistemas, así como las predicciones climáticas para la zona, se hace particularmente valioso el estudio de los efectos de los incendios sobre las características físico-químicas y biológicas del suelo en ecosistemas dominantes de la región. Además, dado que los hongos micorrícicos son importantes en la rehabilitación de ecosistemas disturbados, ya sea natural o asistida, es importante saber qué efectos provocan los incendios sobre estas comunidades fúngicas y utilizar esta información para predecir patrones de sucesión ecológica y plantear estrategias de manejo y restauración adecuadas. En este contexto, se plantea como objetivo general de este trabajo: ***evaluar cómo varían las comunidades fúngicas del suelo a diferentes profundidades en dos formaciones forestales nativas afectadas por un incendio forestal de gran magnitud.*** Siendo la hipótesis general del trabajo que ***en ambos tipos forestales el incendio afecta las propiedades físico-químicas y biológicas del suelo, y que estos efectos varían con la profundidad.***

## Introducción

### *Objetivos específicos (OE)*

1. Identificar cambios en las propiedades físico-químicas (temperatura, humedad, pH, y conductividad eléctrica) y biológicas (actividad biológica) de los suelos de dos formaciones forestales (cipresal y matorral de ñire) como consecuencia del incendio en Cuesta del Ternero y su variación con la profundidad.
2. Evaluar el efecto del incendio sobre la biomasa de raíces en el suelo, su colonización micorrícica y su variación con la profundidad del suelo en torno a individuos de *Nothofagus antarctica* y *Austrocedrus chilensis*.
3. Identificar cambios en la diversidad de las comunidades fúngicas del suelo asociado a *N. antarctica* y *A. chilensis* determinados por el incendio y su variación con la profundidad del suelo.

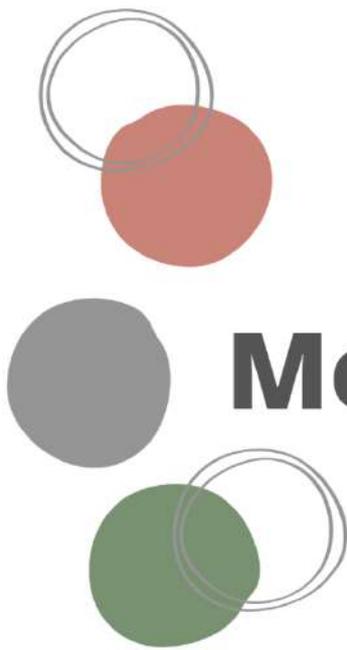
### *Predicciones asociadas a estos objetivos específicos*

**Predicción 1 (OE1):** en ambas formaciones forestales la temperatura, el pH y la conductividad eléctrica aumentarán y la humedad y la actividad biológica disminuirán en los suelos quemados respecto a los no quemados.

**Predicción 2 (OE2):** en ambas formaciones forestales la cantidad de raíces y su colonización micorrícica serán mayores en los sitios no quemados, respecto a los quemados.

**Predicción 3 (OE3):** en ambas formaciones forestales la diversidad de las comunidades fúngicas del suelo será mayor y la estructura variará en los sitios no quemados respecto a los sitios quemados.

**Predicción 4 (OE1, OE2, OE3):** en ambas formaciones forestales los efectos del incendio serán mayores en la superficie del suelo (0-5 cm) que a mayor profundidad (10-20 cm).



# Metodología



## Metodología

### *Formaciones forestales de estudio*

Los bosques Andino-Patagónicos en Argentina se hallan en un gradiente de precipitación ascendente este-oeste. En las zonas más húmedas del oeste dominan las especies de *Nothofagus*, mientras que hacia el este son reemplazadas por bosques de *Austrocedrus chilensis* (ciprés de la cordillera) (Dezzotti & Sancholuz, 1991).

Para la realización de este proyecto se seleccionaron dos formaciones forestales nativas características de la región Andino-Patagónica: matorral de ñire y bosque de ciprés de la cordillera (cipresal). La especie característica del primero, el ñire (*N. antarctica*, Nothofagaceae), es caducifolia y se encuentra ampliamente distribuida en la región patagónica de Argentina y Chile (Gargaglione *et al.*, 2013), extendiéndose latitudinalmente desde los 36° 30' hasta los 56° 00' S y altitudinalmente desde el nivel del mar hasta los 2.000 m s.n.m (Bahamonde *et al.*, 2011). La gran plasticidad característica de esta especie hace que en Argentina se desarrolle desde el norte de Neuquén hasta Tierra del Fuego (Peri & Ormaechea, 2013). El ñire presenta una gran plasticidad morfológica intra-específica debido a las diversas y extremas condiciones ambientales en las que crece, pudiendo observarse como árbol o arbusto de crecimiento lento, dando origen así a ñirantales altos o bajos, respectivamente (Premoli, 1991). Dentro de las especies del género *Nothofagus* que habitan en América del Sur, el ñire es la que más depende de la reproducción vegetativa, produce rebrotes de raíz y raíces adventicias desde ramas parcialmente enterradas (Veblen *et al.*, 1996). Esta estrategia le permite regenerarse con relativa rapidez luego de los incendios que ocurren en la región, incluso hasta llegar a ser la especie dominante luego del mismo (Veblen *et al.*, 1996). Un aspecto relevante de esta especie es que presenta asociación con hongos ectomicorrícicos, en tanto que hasta el momento no se ha encontrado que forme MA (Carron, 2021; Mestre & Fontenla, 2021; Fernández *et al.*, 2022; Soto-Mancilla, 2022).

Por otro lado, la especie arbórea dominante en los cipresales, *A. chilensis* (Cupressaceae), es una gimnosperma arbórea endémica de la región Andino-Patagónica que se encuentra en Argentina y Chile (Vázquez, 2017). El ciprés de la cordillera es la conífera de mayor rango geográfico de Argentina, y sus bosques se ubican en una franja de aproximadamente 60 km de ancho que se extiende paralela a la Cordillera de los Andes, desde los 37° 07' S hasta los 43° 44' S (Aparicio & Pastorino, 2021), dentro de la zona climática mediterránea de la Patagonia Norte. En el límite altitudinal se encuentra entre los 1.000-1.100 m s.n.m. (Dezzotti & Sancholuz, 1991). El ciprés puede formar desde bosques densos y compactos hasta parches con árboles dispersos y aislados, los cuales pueden ser puros o mixtos con especies de *Nothofagus* (Aparicio & Pastorino, 2021). El ciprés es un árbol longevo, resistente al frío y a la sequía (dentro de ciertos

## Metodología

rangos) y está asociado a condiciones edáficas extremas; por ejemplo, se los ha encontrado en suelos delgados, rocosos o infértiles (Vázquez, 2017). Su reproducción es sexual y depende exclusivamente de sus semillas (Mermoz *et al.*, 2005). Esto hace que su recuperación luego de un incendio sea sumamente lenta (Mermoz *et al.*, 2005). El ciprés sólo presenta asociación con hongos MA (Fontenla *et al.*, 1998; Fontenla *et al.*, 2001).

### *Sitio de muestreo*

El presente trabajo se llevó a cabo en la región del Noroeste patagónico, específicamente en Cuesta del Ternero. En este sitio, el día 24 de enero del 2021 se inició, como consecuencia de una actividad antrópica (fogata no apagada apropiadamente), un incendio a 2 km al sur del paraje Los Repollos, en cercanías de la localidad de El Bolsón (Río Negro). Luego, el incendio se extendió hacia el Este de la Ruta Nacional 40, a lo largo del valle, siguiendo la Ruta Provincial 6, que une la Ruta Nacional 40 con la localidad de El Maitén (Chubut). Las condiciones que favorecieron la rápida expansión del incendio fueron, principalmente, el temporal de viento, el bajo contenido de humedad ambiente y las altas temperaturas. Además, las piñas (conos de coníferas) que se esparcían encendidas provocaron cientos de focos secundarios que dificultaron aún más su control (Lopez & Madariaga, 2021). El incendio prosiguió hasta su extinción el 24 de febrero de 2021 (Mohr Bell, 2021). El incendio afectó diferentes tipos de ecosistemas nativos (bosque, matorral, estepa) y también áreas donde se habían establecido diversas plantaciones de pino. Aproximadamente 6.300 ha fueron afectadas, siendo 3.900 ha de bosque nativo y 570 ha de plantaciones de pino. De las hectáreas de bosque nativo quemadas, 700 ha correspondían a Categoría I de conservación según el Ordenamiento Territorial de Bosques Nativos (OTBN), 2.250 ha a Categoría II y 970 ha a Categoría III. Un 15 % del área total incendiada fue afectada por fuego severo, 68 % por fuego moderado y 15 % por fuego leve. Las áreas donde el fuego fue severo o moderado estaban cubiertas principalmente por bosques de ñire y de ciprés de la cordillera. En términos de superficie total afectada, los ñirantales y cipresales también correspondieron a los tipos de ecosistemas más afectados (793 y 1.282 ha, respectivamente) (Mohr Bell, 2021). Es por ello que para llevar a cabo este trabajo de tesis se seleccionaron estos dos tipos de formaciones forestales, cuyas especies dominantes (ñire y ciprés) se ven afectadas de manera diferencial por los incendios y están asociadas a diferentes tipos micorrícicos.

## Metodología

### *Diseño experimental, mediciones a campo y toma de muestras de suelo*

En diciembre de 2021, diez meses luego del incendio, se definieron en Cuesta del Ternerero cuatro sitios de muestreo en función de la formación forestal presente (ñirantal -sitio dominado por ñire- o cipresal -sitio dominado por ciprés-) y su estado luego del incendio (quemado o no quemado). Es decir, que para cada formación forestal se seleccionó un sitio quemado y un sitio no quemado, siendo la distancia entre ellos menor a 70 metros (Figura 3). En cada sitio de muestreo se eligieron al azar cinco individuos de la especie vegetal representativa de la formación forestal (ñire o ciprés). En tres puntos alrededor de cada individuo y a no más de 50 cm del tronco se midió la actividad biológica, la humedad relativa y la temperatura del suelo utilizando un PPSsystem (Portable Photosynthesis System, Environmental Gas Monitor For CO<sub>2</sub> [EGM-4]). El EGM-4 es un instrumento de alta precisión para uso en aplicaciones de monitoreo de CO<sub>2</sub> basado en espectroscopía de infrarrojo. Por tanto, puede ser utilizado para la determinación de actividad biológica a campo, mediante la determinación de la concentración de CO<sub>2</sub> liberada por el suelo. El equipo incorpora además sensores que permiten determinar la humedad relativa y la temperatura del suelo.

Luego, en cada lugar donde se realizaron estas mediciones se tomaron tres submuestras de suelo y raíces con un sacabocado y a dos profundidades diferentes: 0-5 cm (superficial) y 10-20 cm (profundidad). Para cada nivel de profundidad, las tres submuestras tomadas alrededor de cada individuo fueron combinadas, homogeneizadas y reservadas en bolsas plásticas debidamente rotuladas hasta su procesamiento en laboratorio. Por lo tanto, el diseño de muestreo resultó en un total de 40 muestras compuestas de suelo y raíces (2 profundidades × 5 individuos/especie × 2 formaciones forestales × 2 condiciones de quemado).

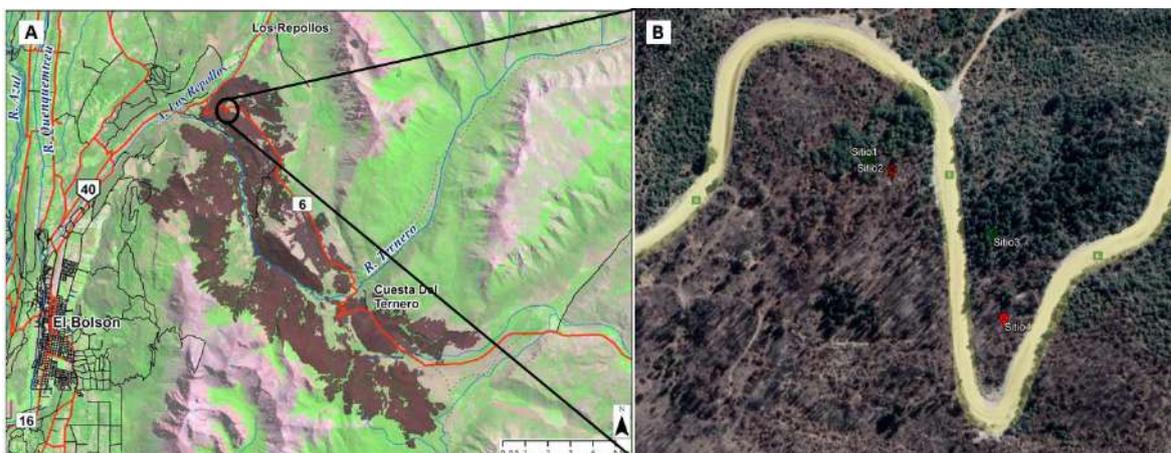


Figura 3. Zona de estudio. A) Ubicación del área afectada por el incendio en Cuesta del Ternerero, indicada en color marrón. Fuente: imagen satelital Sentinel 2, Misión Copérnico, ESA (Mohr Bell, 2021). B) Detalle de los sitios de muestreo (Sitio 1= ñirantal no quemado; Sitio 2= ñirantal quemado; Sitio 3= cipresal no quemado; Sitio 4= cipresal quemado). Imagen obtenida de Google Earth (2021).

## Metodología

### *Actividades de laboratorio*

#### Procesamiento y análisis de las muestras de suelo

Las muestras compuestas de suelo fueron cernidas en un tamiz de 2 mm de poro para separar las raíces. Éstas fueron lavadas con agua corriente, secadas con servilletas y conservadas en bolsas plásticas que se reservaron en congelador a -10 °C. Del suelo tamizado se separó una pequeña fracción (aproximadamente 10 gr) que se conservó en freezer a -80 °C para la realización de análisis moleculares. El resto del suelo se secó al aire para la realización de análisis químicos, tal como se describe a continuación.

Para la medición del pH se utilizaron 8 gr de cada muestra de suelo tamizada (2 mm), los cuales se colocaron en un tubo falcon con 20 mL de agua destilada. Los tubos se llevaron al agitador durante 10 minutos. Los tubos se retiraron del agitador y se dejaron en reposo durante 10 minutos para luego medir y registrar el pH de cada muestra con un pHmetro. Finalizado este paso, se agregaron 20 mL de agua destilada a cada tubo y se llevaron los mismos nuevamente al agitador durante 20 minutos. Se retiraron los tubos y se dejaron reposar durante media hora para medir y registrar la conductividad eléctrica de cada muestra utilizando un conductímetro.

#### Procesamiento de las raíces del cipresal y cuantificación de MA

Todas las muestras de raíces provenientes del cipresal se limpiaron cuidadosamente con agua corriente para eliminar las partículas de suelo y se observaron a la lupa, asegurándose que no hubiera raíces con estructuras correspondientes a EcM. Luego se secaron con papel absorbente y se pesaron en balanza analítica como medida de la estimación de biomasa radical en el suelo colectado. Posteriormente, se fraccionaron las raíces en porciones más pequeñas (~4-5 cm), se homogeneizó cada una de las muestras y se conservaron aproximadamente 50 cm<sup>3</sup> (correspondiente al volumen del frasco de vidrio) de raíces en frascos de vidrio con alcohol al 70 % para su posterior tinción y visualización de MA. El resto de las raíces se conservó nuevamente a -10 °C. Si bien se puede realizar la identificación molecular de las MA (Xiang *et al.*, 2015), en este trabajo no se realizó debido a que la técnica no está puesta a punto en el laboratorio.

Para la tinción y visualización de MA en las raíces colectadas en cada muestra se siguió el protocolo descrito por Phillips y Hayman (1970) con las modificaciones de Fernández *et al.* (2008). Este protocolo consta de cuatro etapas (Figura 4):

1- *Clarificación*: durante este proceso se elimina el contenido de las células radicales, por lo que las mismas pierden el citoplasma, los taninos y otros compuestos celulares. Esto permite la

## Metodología

apropiada observación de las estructuras fúngicas en el interior de las raíces. Para ello, las raíces fueron completamente sumergidas en una solución de KOH 10 % p/v. Los envases de vidrio donde se las había conservado previamente se colocaron en baño de agua hirviendo durante 1 hora, y se agitaron periódicamente las raíces en su interior para asegurar el contacto con la solución. Luego de transcurrido el tiempo, se descartó el KOH en un recipiente destinado a tal fin y se enjuagaron las muestras con agua corriente.

2- *Decoloración*: durante esta etapa se finaliza la extracción del contenido celular y de los compuestos fenólicos presentes en las raíces. Para ello se sumergen las muestras en un decolorante que consiste en una solución de NaClO (lavandina) 10 % v/v durante 10 minutos. Luego de este procedimiento de decoloración, cada muestra fue lavada con agua corriente.

3- *Acidificación*: las raíces fueron sumergidas en una solución de HCl 1 % v/v durante cinco minutos. Transcurrido el tiempo, se descartó el HCl en un recipiente destinado a tal fin y, sin enjuagar, se agregó el colorante. Este paso es necesario ya que la acidificación permite que el colorante se adhiera correctamente a las estructuras fúngicas.

4- *Tinción*: las raíces se cubrieron completamente con una solución de Trypan-Blue 0.05 % (Trypan-Blue 0.05 % p/v, glicerol 31 % v/v, ácido láctico 31 % v/v) y se colocaron en baño de agua hirviendo durante 15 minutos. Este colorante tiñe las estructuras fúngicas presentes en las raíces. Finalizado el tiempo, el colorante fue descartado y las raíces se enjuagaron con agua corriente. Las muestras teñidas se conservaron en sus envases originales con agua para su posterior visualización en el microscopio.

Finalmente, para la cuantificación de colonización por MA se utilizó el método de intersección de McGonigle *et al.* (1990) modificado. Se realizaron dos preparados con diez porciones de raíces de 2-2,5 cm de largo para cada muestra (80 preparados en total). Estos preparados fueron observados en un microscopio óptico (Olympus BX40) con un aumento de 200X (aproximadamente 150 campos por preparado). Un campo visual fue cuantificado como positivo para la colonización por MA si en el mismo era observable alguna estructura fúngica típica de este tipo de simbiosis (arbúsculos, hifas intra e intercelulares y/o vesículas). Un campo visual fue cuantificado como negativo si en el mismo no se observó ninguna estructura fúngica característica de las MA. El porcentaje de raíz colonizada por MA se estimó en cada preparado relacionando el número de campos en los que se observaron estructuras correspondientes a MA respecto del total de campos cuantificados. Para cada muestra se promediaron los porcentajes de colonización de ambos preparados.

## Metodología

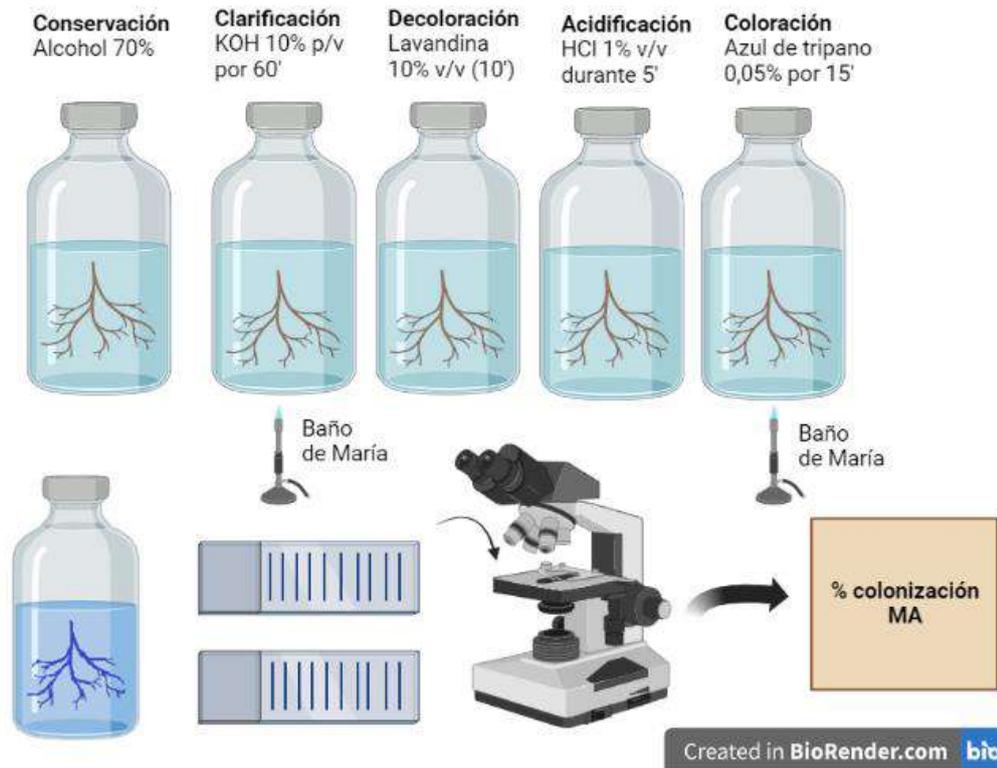


Figura 4. Esquemización del procedimiento de tinción para la observación y cuantificación de estructuras de micorrizas arbusculares en las raíces (creado con BioRender.com).

### Procesamiento de las raíces de ñirantal y cuantificación de EcM

Las raíces colectadas en el ñirantal se observaron a la lupa (Olympus SZ30) con el fin de separarlas en dos grupos: 1) raíces de ñire y 2) otras raíces correspondientes a las plantas del sotobosque asociadas a la especie forestal (potencialmente colonizadas por MA o no micorrícicas). Se pesaron las raíces que no eran de ñire por un lado y las de ñire por otro para evaluar la biomasa radical de cada grupo de plantas en el suelo de los sitios estudiados. Para las raíces que no eran de ñire se usó el mismo procedimiento de conservación, tinción y cuantificación de colonización por MA descrito anteriormente.

Para la cuantificación de los porcentajes de colonización por EcM se procedió a observar en lupa, describir y fotografiar los ectomorfortipos de las raíces finas de ñire (<2 mm de diámetro). Previamente a la cuantificación, se utilizaron microscopio estereoscópico y óptico para observar las características morfológicas propias de los diferentes ectomorfortipos presentes en cada muestra (ej. ramificación, forma, color, tamaño y disposición de las hifas del manto, presencia y tipo de micelio extrarradical; Agerer, 1987-2006). En base a ellas se construyeron grupos de similitud morfológica, entre los que se clasificaron los ápices

## Metodología

colonizados cuantificados en cada muestra, a fin de poder calcular para cada individuo y profundidad el porcentaje relativo de cada ectomorfotipo.

El porcentaje de colonización total y relativo de los ectomorfotipos en las raíces de ñire se cuantificó según el método descrito por Grand & Harvey (1982). Para ello se colocaron las raíces finas de ñire distribuidas aleatoriamente en una placa de Petri de 90 mm con una gradilla cuadrículada de 1×1 cm en la base. Entre todos los ápices radicales que se encontraban sobre las líneas de la grilla se cuantificaron como positivos aquellos que correspondían a ectomorfotipos, mientras que los ápices sin colonizar se registraron como negativos. Los ápices radicales que caían fuera de las líneas no fueron cuantificados. En el caso de encontrar ápices colonizados y no poder asignarle una categoría morfológica, se contabilizaron en la categoría “otros”. En cada placa de conteo se utilizó la cantidad de raíces necesaria para cuantificar aproximadamente 300 ápices radicales, los cuales fueron clasificados entre los grupos de ectomorfotipos definidos con anterioridad. El porcentaje total de colonización por EcM se estimó en cada muestra relacionando el número de ápices radicales con EcM respecto del total cuantificados. Además, para cada individuo se dividió esta cantidad de ápices correspondiente a los ectomorfotipos definidos por el total de ápices colonizados, y se expresó este valor en porcentaje obteniéndose así el porcentaje relativo de colonización de cada ectomorfotipo (Rincón *et al.*, 2007; Soto-Mansilla, 2022). Luego, representantes de todos los grupos de ectomorfotipos identificados fueron colocados en tubos Eppendorf rotulados, los cuales fueron conservados en el freezer a -20 °C para posteriores análisis moleculares (identificación de los hongos formadores de EcM).

### *Identificación molecular y análisis de diversidad de hongos ectomicorrícicos (HEcM)*

Se realizaron extracciones de ADN de todos los ectomorfotipos presentes en las muestras de ñire. Para ello, en tubos Eppendorf estériles se colocaron 20 µL de una solución de extracción (10 mL de Tris 1 M a pH=8; 1,86 g de KCl; 0,37 g de EDTA; 80 mL de H<sub>2</sub>O MiliQ; llevando a pH= 9,5 – 10,0 con NaOH). A estos tubos se les agregaron 2-3 ápices colonizados por los HEcM que se deseaban identificar, procurando que correspondieran todos al mismo ectomofotipo. Los ápices se aplastaron contra las paredes del tubo con una aguja de disección esterilizada para romper el tejido. Luego, los tubos se incubaron por 10 minutos a temperatura ambiente y por otros 10 minutos a 95 °C. Finalmente, se agregaron 20 µL de una solución de BSA 3 % (3 g de BSA en 100 mL de H<sub>2</sub>O MiliQ) a cada tubo. El ADN obtenido se amplificó por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa).

## Metodología

Para la PCR se utilizaron *primers* específicos para hongos: ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'; Gardes & Bruns, 1993) e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'; White *et al.*, 1990) (ITS: espaciador transcrito interno, en español). La PCR se realizó en 25  $\mu$ L de volumen final siguiendo el protocolo descrito a continuación (Soto-Mansilla, 2022): se preparó una solución MIX que contenía 16  $\mu$ L de agua mili-Q; 2,5  $\mu$ L de 10X *buffer* de reacción; 1,25  $\mu$ L de ITS1F [5 mM]; 1,25  $\mu$ L de ITS4 [5 mM]; 1  $\mu$ L de dNTPs [5mM]; 1,5  $\mu$ L de MgCl<sub>2</sub> [25 mM] y 0,5  $\mu$ L de Taq T-Plus polimerasa [5 U/ $\mu$ L] (Highway). Luego, en un microtubo para PCR debidamente rotulado se agregaron 24  $\mu$ L de esta solución MIX y 1  $\mu$ L de la extracción de ADN sin diluir o bien diluido a 1/50, 1/20 o 1/10 dependiendo de la muestra. Los microtubos fueron llevados al termociclador, en el que se realizó la amplificación utilizando el siguiente protocolo: un ciclo de desnaturalización de 4 minutos a 94 °C, 35 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 45 segundos a 50 °C y 70 segundos a 72 °C, y 10 minutos finales a 72 °C. Los fragmentos de ADN amplificados fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1,5 % (p/v) incluyendo el intercalante Gel Stain (Biotium) para revelado de ADN mediante transiluminador con luz UV. Los productos de PCR que presentaron una única banda fueron enviados a secuenciar a la empresa MACROGEN (Seúl, Corea) utilizando el primer ITS4 provisto por la misma. Los cromatogramas de las secuencias obtenidas fueron revisados y editados (p. ej.: se cortaron los extremos que contenían los *primers* y las partes con secuencia de baja calidad) utilizando el programa Chromas (versión 2.6.6). Luego, las secuencias se compararon con la base de datos pública GenBank del NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>), utilizando la función BLASTn según los parámetros preestablecidos por la página para identificar el taxón al que corresponde cada una. Se consideró como mínimo que las secuencias subidas y las obtenidas por BLASTn tengan 98 % de homología. Con esta información se asignó, según el caso, la identidad de familia, género o incluso especie a las secuencias de HEcM.

### *Análisis de la diversidad de las comunidades fúngicas del suelo mediante T-RFLP*

#### Extracción de ADN

La extracción de ADN de las muestras de suelo se llevó a cabo en el laboratorio del grupo de Genética Ecológica y Mejoramiento Forestal del Instituto de Investigaciones Forestales y Agropecuarias Bariloche (IFAB, INTA-CONICET). La extracción se realizó siguiendo el protocolo del kit comercial ADN PuriPrep-SUELO kit (INBIO HIGHWAY), el cual se detalla a continuación. Para cada muestra, se agregaron 150 mg de suelo (previamente tamizado y conservado a -80 °C) a un vial de 2 mL conteniendo *buffer* y perlas para posterior ruptura física de los agregados de suelo. Los viales se colocaron 30 segundos en el *vortex* para asegurar la mezcla del suelo con

## Metodología

el resto de los componentes. Luego, a cada vial se adicionaron 220  $\mu\text{L}$  del *buffer* de lisis (previamente calentado a 70 °C en baño termostatzado), se colocaron horizontalmente en un *vortex* y se agitaron a máxima velocidad durante 10 minutos. Este proceso asegura la ruptura de la estructura del suelo y la lisis celular, por lo tanto, la liberación de los componentes celulares como el ADN. A continuación, los viales se centrifugaron durante 2 minutos a 10.000 x g, y transfiriéndose el sobrenadante a un tubo Eppendorf de 1,5 mL y se enfriaron en hielo por 2 minutos. Luego, se agregaron 270  $\mu\text{L}$  del *buffer* de floculación a los tubos, se mezcló por inversión y se repitió el enfriamiento. Se centrifugaron los tubos por 2 minutos a 10.000 x g y se transfirió el sobrenadante a nuevos tubos Eppendorf. Se agregaron 240  $\mu\text{L}$  del *buffer* de *binding* (unión) y se mezcló por inversión. Nuevamente se centrifugó a 10.000 x g durante 5 minutos y se transfirió el sobrenadante resultante a un nuevo Eppendorf. A continuación, se agregaron 420  $\mu\text{L}$  de etanol al 96 % y se agitó por inversión. Seguidamente, se traspasaron 650  $\mu\text{L}$  del sobrenadante a una minicolumna colocada sobre un tubo colector de 2 mL y se centrifugó a 12.000 x g durante 1 minuto. Se descartó el filtrado y se volvió a colocar la minicolumna en el tubo colector. Se repitieron estos últimos pasos hasta que todo el sobrenadante pasó por la minicolumna. Este paso se realiza porque la minicolumna cuenta con una membrana a la que se fija el ADN. Luego se agregaron 500  $\mu\text{L}$  del primer *buffer* de lavado sobre las paredes de la minicolumna y se centrifugó 1 minuto a 12.000 x g. Se descartó el filtrado resultante y se volvió a colocar la minicolumna en el tubo colector. Luego se pusieron 500  $\mu\text{L}$  del segundo *buffer* de lavado sobre las paredes de la minicolumna de cada tubo y se centrifugó 3 minutos a 12.000 x g. Se descartó el sobrenadante y se repitió la centrifugación a fin de descartar todo rastro del segundo *buffer* de lavado, ya que el mismo puede actuar como inhibidor en varias técnicas a realizar con el ADN extraído. Se descartó el tubo colector y se colocó la minicolumna en un tubo Eppendorf de 1,5 mL. Se agregaron 100  $\mu\text{L}$  del *buffer* de elusión (pH= 9,0, a 70 °C) a las minicolumnas y se dejaron incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente. Seguido a la incubación, se centrifugó por 2 minutos a 12.000 x g para que el ADN eluya al tubo Eppendorf. Se descartó la minicolumna y se guardaron los tubos con el ADN en solución en un freezer a -20 °C.

### Análisis de T-RFLP en la región ITS

Con el ADN extraído de las muestras de suelo se realizó el análisis de polimorfismo de longitud de fragmentos terminales de restricción (T-RFLP, por sus siglas en inglés). El ADN de cada muestra se usó como molde para la amplificación por PCR de la región intergénica ribosomal ITS. Esta PCR se realizó en un volumen final de 25  $\mu\text{L}$ , siendo las concentraciones iniciales y el volumen de los reactivos las siguientes: 10,25  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}$ ; 5  $\mu\text{L}$  de *buffer* GoTaq[5 X];

## Metodología

1  $\mu\text{L}$  de dNTPs [5 mM]; 0,25  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  [50 mM]; 3,13  $\mu\text{L}$  de ITS1F [2  $\mu\text{M}$ ]; 3,13  $\mu\text{L}$  ITS4 [2  $\mu\text{M}$ ]; 0,10  $\mu\text{L}$  BSA [20 mg/mL]; 0,15  $\mu\text{L}$  GoTaq [5 U/ $\mu\text{L}$ ] y 2  $\mu\text{L}$  ADN [7,6 ng/ $\mu\text{L}$ ]. El par de *primers* TS1F (con marca de tinción fluorescente HEX, 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'; Gardes & Bruns, 1993) y el ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'; White *et al.*, 1990) fueron utilizados para realizar esta PCR, utilizando las siguientes condiciones de amplificación: una desnaturalización inicial durante 5 minutos a 95 °C, seguido de 39 ciclos de 95 °C durante 30 segundos, 54 °C por 30 segundos, 72 °C durante un minuto, seguido de una elongación final a 72 °C durante 15 minutos. Los productos de PCR fueron digeridos con la enzima de restricción HaeIII a 37 °C durante 4 horas, seguido de su inactivación a 80 °C durante 20 minutos. Los fragmentos terminales de restricción (FTRs) obtenidos fueron separados mediante un Analizador Genético 3130XL (Applied Biosystems), usando GS1200LIZ como el estándar interno, en la Unidad de Genómica del Instituto de Biotecnología (UGB) de INTA Castelar. Los datos obtenidos fueron analizados para identificar los FTRs con el software PeakScanner en la plataforma online de Thermofisher (<https://www.thermofisher.com/ar/es/home.html>). Para ello, se definió un umbral de 50 unidades de fluorescencia para la asignación de un FTR, que para esta metodología corresponde a la mínima unidad taxonómica de análisis (=OTU del inglés *Operational Taxonomic Unit*). Además, cada FTR se verificó manualmente para cada una de las muestras. Luego se calculó la abundancia relativa de cada FTR (OTU) en cada muestra como la fluorescencia de cada FTR sobre la suma de la fluorescencia de todos los FTRs identificados en la muestra.

## Análisis estadísticos

El análisis de los datos se realizó con R (versión 4.2.1) utilizando el software R Studio (R Core Team, 2022). En la Tabla 2 se presenta un resumen de las variables analizadas y el tipo de análisis estadístico que se utilizó para cada una. El valor de significancia utilizado en las pruebas estadísticas fue  $p < 0,05$ . Todos los resultados fueron graficados con la función *ggplot* del paquete *ggplot2* (versión 3.3.6) de R (Wickham, 2016). Para evaluar los efectos de los factores de condición de quema (NQ: no quemado y Q: quemado) y la profundidad (S: superficial = 0-5 cm y P: profundo = 10-20 cm) se realizaron diferentes tipos de modelos lineales y no paramétricos según la variable. Para los análisis de la actividad biológica, humedad relativa y temperatura del suelo, peso húmedo de las raíces, pH, CE (sólo para las muestras de cipresal), riqueza, índice de Shannon y el índice inverso de Simpson se realizaron modelos lineales simples con la función *lm* del paquete *stats* (versión 4.2.1) (R Core Team, 2022). Para los análisis de CE (para las muestras de ñirantal) y colonización por EcM se realizaron modelos lineales generalizados utilizando en ambos casos la familia Gamma como función de enlace; resultando

## Metodología

así en el cumplimiento de los supuestos de los modelos (normalidad y varianzas homogéneas de los residuales del modelo). Estos modelos se realizaron con la función *glm* del paquete *stats*. Por último, para los análisis de colonización por MA en cipresal y ñirantal se realizaron modelos lineales mixtos, teniendo la identificación de cada individuo (árbol) como factor aleatorio; resultando así en el cumplimiento de los supuestos de los modelos. Esto se realizó con la función *glmer* del paquete *lme4* (versión 1.1-30) (Bates *et al.*, 2015). La significancia de los factores de estudio en los modelos construidos se determinó utilizando la función *Anova* del paquete *car* (versión 3.1-1) (Fox & Weisberg, 2019), utilizando la suma de cuadrados tipo II predeterminada. La interacción entre los factores de estudio fue contemplada en todos los casos (menos para actividad biológica, humedad relativa y temperatura del suelo en las que sólo se estudió el factor condición de quemado, ya que las medidas fueron únicamente superficiales). En todos los casos se verificó el cumplimiento de los supuestos utilizando la función *simulateResiduals* del paquete *DHARMA* (versión 0.4.6) (Harting, 2022). Se realizó la transformación (raíz cuadrada) de una única variable (Peso húmedo de las raíces de EcM de ñirantal) para lograr el cumplimiento de los supuestos del modelo. Para los análisis de colonización por MA y EcM se asumió una distribución binomial. Para ello la variable respuesta fue considerada como el éxito o fracaso de la colonización (campos positivos o negativos para MA y puntas colonizadas o no colonizadas para EcM). Esto es así debido a que los porcentajes de colonización difícilmente se pueden ajustar a los modelos y lograr el cumplimiento de los supuestos de los mismos. Sin embargo, la variable respuesta utilizada es un estimador del porcentaje de colonización micorrícica, ya que la proporción de éxitos de colonización calculada por R es igual que el porcentaje de colonización calculado manualmente. Se realizaron contrastes *post-hoc* con el test de Tukey utilizando la función *contrast* del paquete *emmeans* (versión 1.8.1-1) (Lenth, 2022). En este caso, debido a que el poder estadístico de los contrastes es menor al del Anova y a que ambos procedimientos responden a preguntas diferentes, se aceptaron como significativos valores de significancia de  $p$  hasta 0,08.

Los análisis de diversidad de HEcM y comunidades fúngicas del suelo se basaron en las abundancias relativas de los taxones o los OTUs para cada muestra. Respecto a la diversidad  $\alpha$ , se calculó la riqueza (número de taxones o OTUs por muestra) y los índices de diversidad de Shannon ( $H'$ ) y el inverso de Simpson (*InvSimpson*) con los datos obtenidos de la secuenciación de HEcM y del análisis de T-RFLP para cada muestra utilizando la función *diversity* del paquete *vegan* (versión 2.6-2) (Oksanen *et al.*, 2022), considerando las siguientes definiciones para cada variable:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i \quad (1)$$

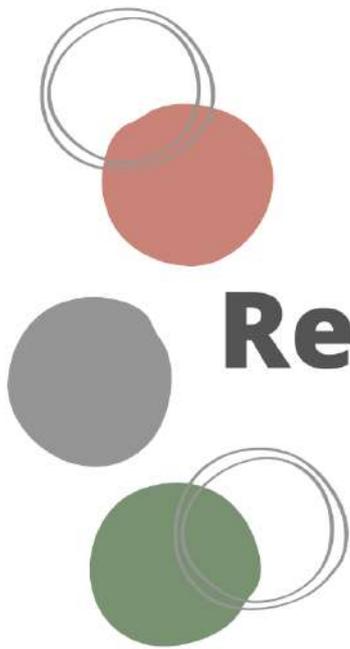
Donde  $S$  es la riqueza de taxones,  $p_i$  es la abundancia proporcional de la especie  $i$ , es decir, su abundancia relativa. Mientras que el índice inverso de Simpson se calcula como  $1/D$  (2), siendo  $D = \sum p_i^2$  (siendo  $p_i$  el mismo que para la ecuación 1). El índice de Shannon es una medida del grado de incertidumbre asociada a la selección aleatoria de un individuo en la comunidad. Es decir, si en una comunidad de  $S$  especies existe una que es dominante y  $S-1$  especies raras, el grado de incertidumbre será más bajo que si las  $S$  especies fueran igualmente abundantes (Shannon & Weaver, 1949). El índice inverso de Simpson es  $1/D$  (siendo  $D$  el índice de dominancia). El índice inverso de Simpson tiene como valor mínimo 1 (es decir, una comunidad con una sola especie) y como valor máximo el número de especies total cuantificada para cierta área. En este caso, mientras más grande sea el índice inverso de Simpson, mayor será la diversidad de la comunidad estudiada.

Respecto a la diversidad  $\beta$  se realizaron análisis de escalamiento multidimensional no paramétrico (NMDS en inglés) basados en matrices de distancia de Bray-Curtis calculadas en función de las abundancias relativas de las especies de HEcM ó los OTUs presentes en cada muestra. Las tablas utilizadas fueron construidas de forma tal que las muestras se encontraban en cada fila y las abundancias relativas de especies de HEcM ó OTUs en las columnas. Para el NMDS se emplearon las funciones *metaMDS*, *goodness* y *stressplot* del paquete *vegan* (versión 2.6-2) (Oksanen *et al.*, 2022). Para evaluar el efecto de la condición de quemado y la profundidad sobre las comunidades de HEcM y las comunidades fúngicas del suelo se realizó un análisis multivariado permutado de la varianza (PERMANOVA, en inglés) utilizando la función *adonis2* del paquete *vegan* (versión 2.6-2). El análisis de PERMANOVA se realizó también en base a la matriz de distancia de Bray-Curtis. La función *simper* del paquete *vegan* (versión 2.6-2) se utilizó para identificar las especies o los OTUs de mayor peso en la diferenciación de grupos.

## Metodología

Tabla 2. Factores y análisis realizados para las variables de estudio.

<b>Variable</b>	<b>Metodología de análisis estadístico</b>	<b>Factor analizado</b>
<i>Actividad biológica del suelo</i>	Modelo lineal	Condición de quemado
<i>Humedad relativa del suelo</i>	Modelo lineal	Condición de quemado
<i>Temperatura del suelo</i>	Modelo lineal	Condición de quemado
<i>Peso húmedo de las raíces de cipresal y ñirantal.</i>	Modelo lineal	Condición de quemado y Profundidad.
<i>pH</i>	Modelo lineal	Condición de quemado y Profundidad
<i>Conductividad eléctrica</i>	Modelo lineal (para cipresal) y modelo lineal generalizado con familia gamma (para ñirantal)	Condición de quemado y Profundidad
<i>Colonización por MA</i>	Modelo lineal generalizado con efectos mixtos (familia binomial)	Factores fijos: Condición de quemado y Profundidad. Factor aleatorio: ID de la muestra.
<i>Colonización por EcM</i>	Modelo lineal generalizado (familia binomial)	Condición de quemado y Profundidad
<i>Diversidad de HEcM</i>	Diversidad- $\alpha$ = modelo lineal. Diversidad- $\beta$ = NMDS, PERMANOVA.	Condición de quemado y Profundidad
<i>Diversidad de comunidades fúngicas del suelo</i>	Diversidad- $\alpha$ = modelo lineal. Diversidad- $\beta$ = NMDS, PERMANOVA.	Condición de quemado y Profundidad



# Resultados



## Resultados

### Actividad biológica, humedad relativa y temperatura del suelo

En el cipresal y el ñirantal la actividad biológica y la humedad relativa del suelo fueron significativamente menores ( $p < 0,05$ ) en el suelo quemado respecto del no quemado (Figura 5A y B). Por otro lado, la temperatura del suelo en el momento de la medición fue significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en los sitios quemados que en los no quemados en ambas formaciones forestales (Figura 5C).

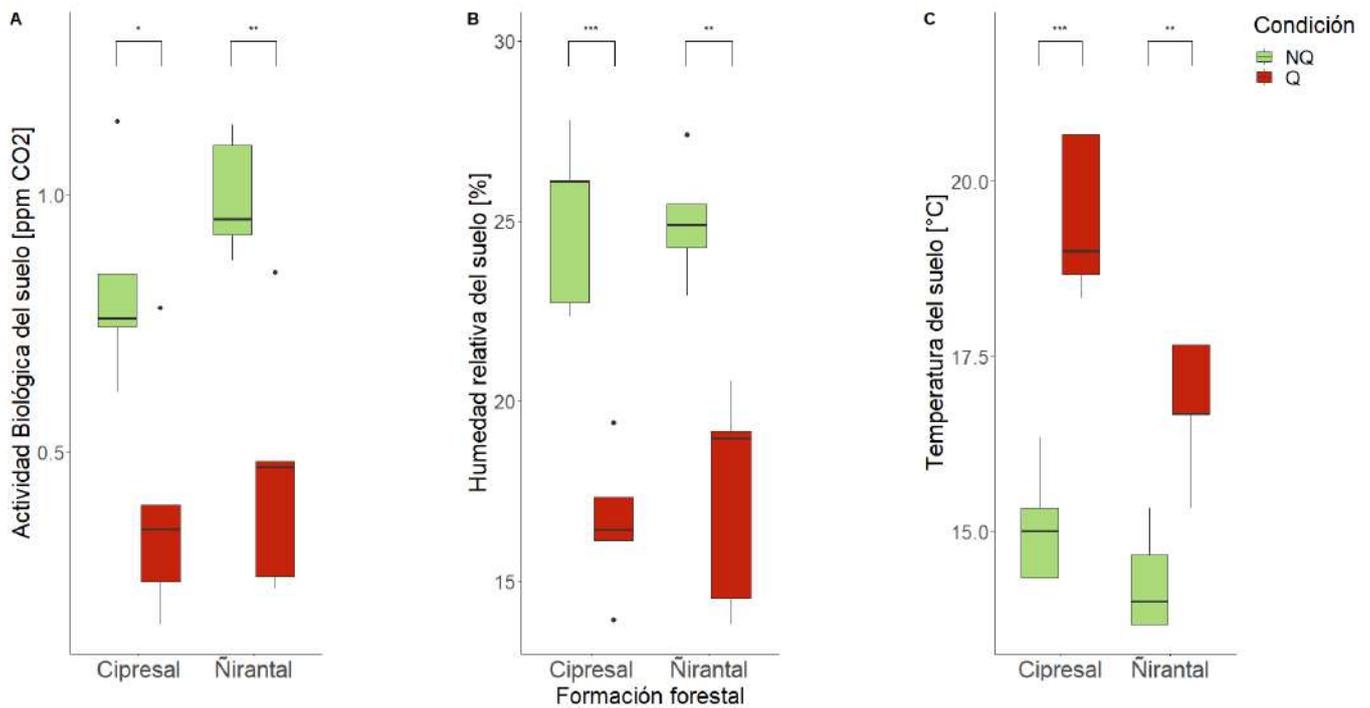


Figura 5. Actividad biológica (A), humedad relativa (B) y temperatura (C) de los suelos no quemados (NQ) y quemados (Q) en el cipresal y ñirantal.

### pH y conductividad eléctrica

En los sitios dominados por ciprés ambos factores de estudio resultaron ser significativos ( $p < 0,05$ ) para pH y CE, pero no así la interacción entre ellos (Figura 6). Es decir, tanto el pH como la CE fueron mayores en los sitios quemados que en los no quemados, en ambas profundidades. A su vez, en la Figura 6 se observa que los valores de ambas variables fueron mayores en superficie respecto a profundidad, tanto en sitios quemados como no quemados, aunque los contrastes *post-hoc* no indican que esas diferencias sean significativas en el sitio no quemado para ambas variables y en el quemado sólo indican diferencias para CE.

## Resultados

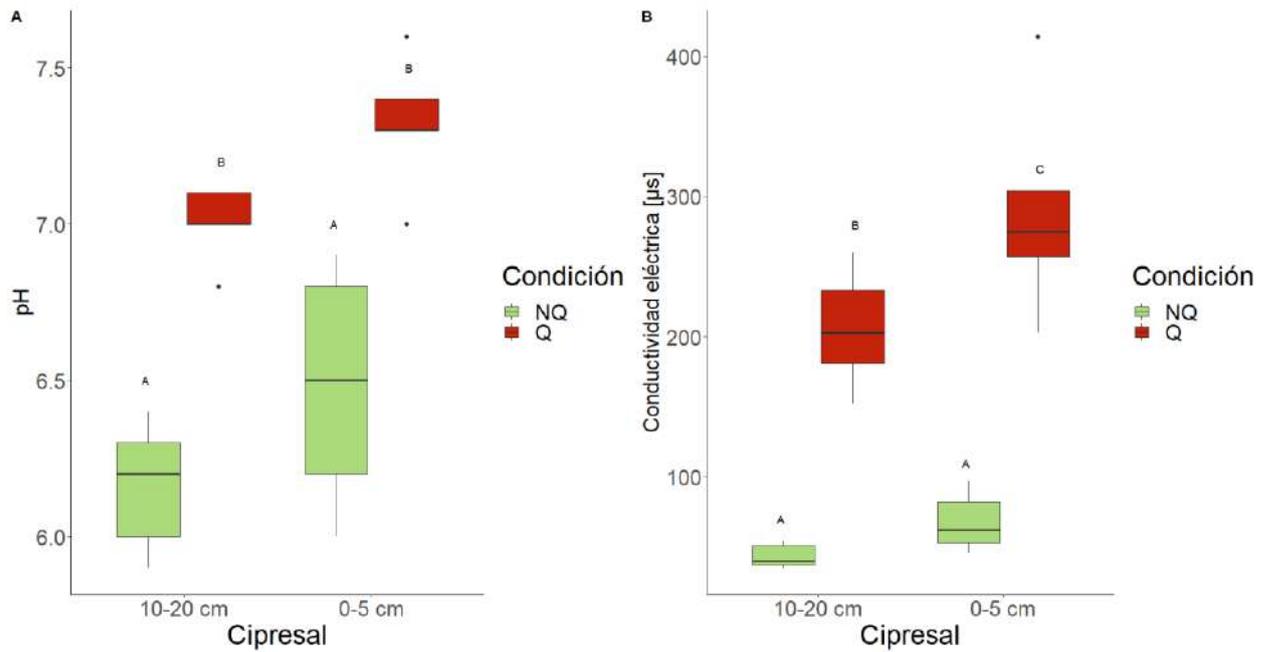


Figura 6. Valores de pH (A) y conductividad eléctrica (B) de los suelos de bosque de ciprés presentados según nivel de profundidad y condición ante el incendio (NQ: no quemado, Q: quemado). Diferentes letras significan diferencias significativas.

En los ñirantales, tanto los factores por separado como la interacción entre ellos resultó significativa ( $p < 0,05$ ) para pH y CE (Figura 7). En la figura 7A se puede observar que en profundidad el pH es similar en ambas condiciones luego del incendio, mientras que en superficie el pH es significativamente mayor en el sitio quemado que en el no quemado. En la figura 7B se observa que la CE es menor en ambas profundidades en el sitio no quemado respecto al quemado; en tanto que el efecto de profundidad es significativo sólo en suelo no quemado, siendo la CE mayor en superficie que en profundidad.

## Resultados

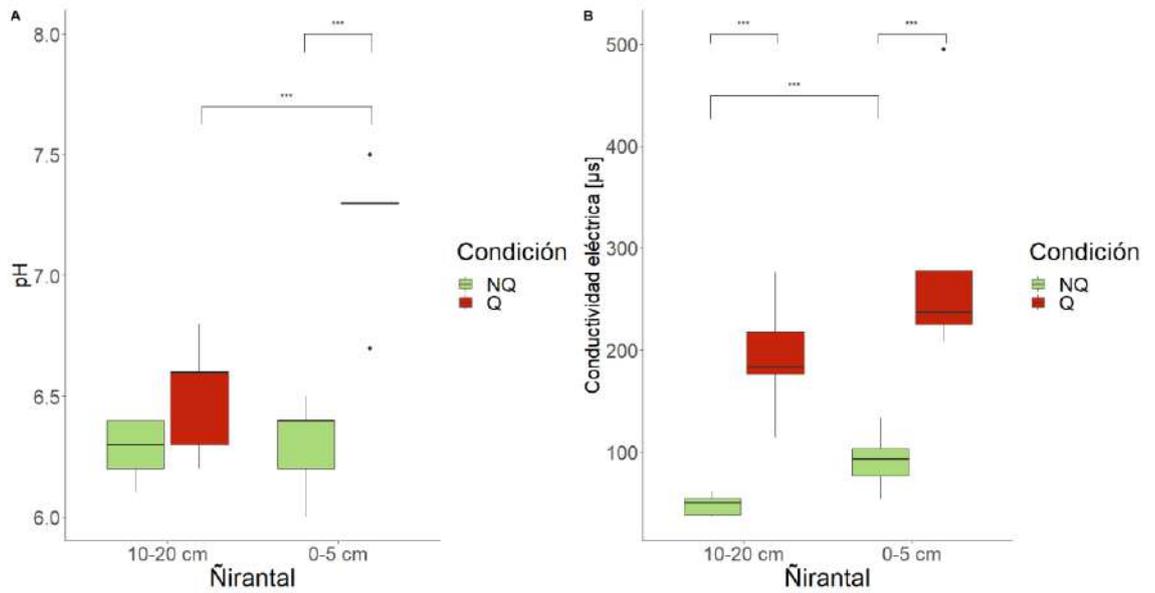
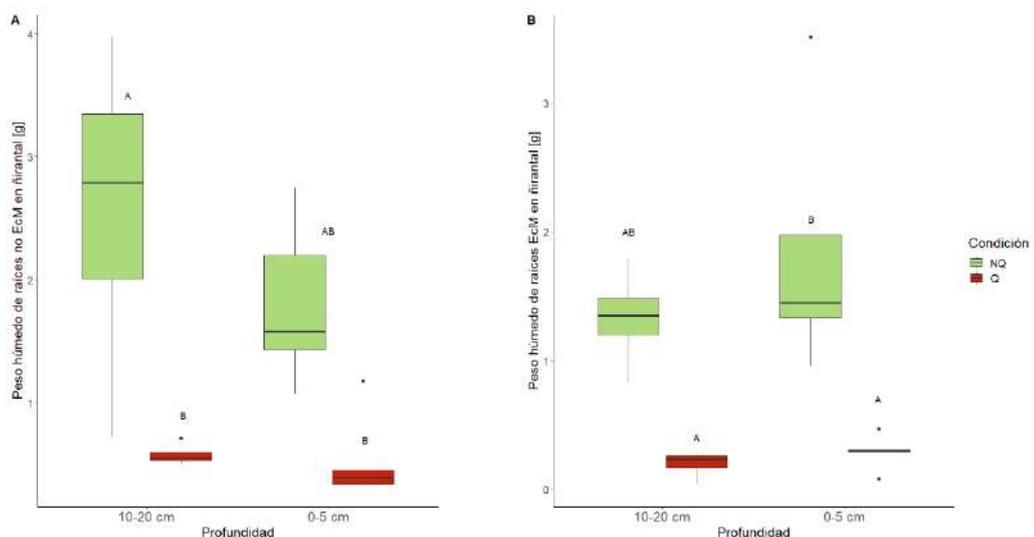


Figura 7. Valores de pH (A) y conductividad eléctrica (B) de los suelos de matorral de ñire presentados según nivel de profundidad y condición ante el incendio (NQ: no quemado, Q: quemado). Nivel de significancia \*\*\*= <math><0,001</math>; \*\*= 0,001; \*= 0,05; . = 0.1.

### Peso húmedo de raíces

Se detectó un mayor peso húmedo de raíces en los sitios no quemados respecto de los quemados en ambas formaciones forestales (Figuras 8.1 y 8.2) ( $p < 0,05$ ), siendo en cipresal marginal esta diferencia y por ello no se detectaron diferencias en los contrastes *post-hoc* dado su menor poder estadístico (Figura 8.2). En tanto que la profundidad fue marginalmente significativa sólo para el peso húmedo de las raíces con EcM de ñirantal, es decir para las raíces de ñire, siendo mayor en superficie que en profundidad (Figura 8.1 B).



## Resultados

Figura 8.1. Peso húmedo de raíces obtenidas de los ñirantales no quemados (NQ) y quemados (Q) a distintas profundidades. A) raíces sin ectomicorrizas. B) raíces con ectomicorrizas (= de ñire). Diferentes letras significan diferencias significativas.

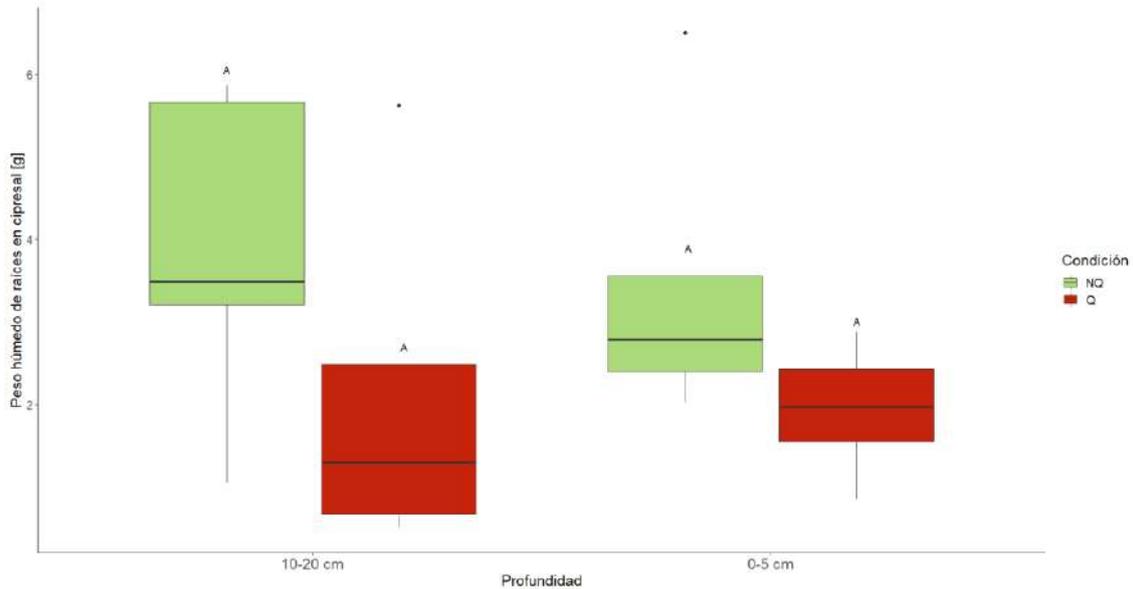


Figura 8.2. Peso húmedo de raíces obtenidas en los cipresales no quemados (NQ) y quemados (Q) y según la profundidad. Diferentes letras significan diferencias significativas.

### *Colonización micorrícica*

El porcentaje de colonización por EcM en ñire siempre fue mayor a 80 %. Para esta variable ambos factores de análisis (condición de quemado y profundidad) y su interacción resultaron significativos estadísticamente (Figura 9), siendo los valores registrados menores para las muestras de raíces provenientes del sitio no quemado en profundidad respecto del mismo sitio en superficie y del sitio quemado a ambas profundidades.

## Resultados

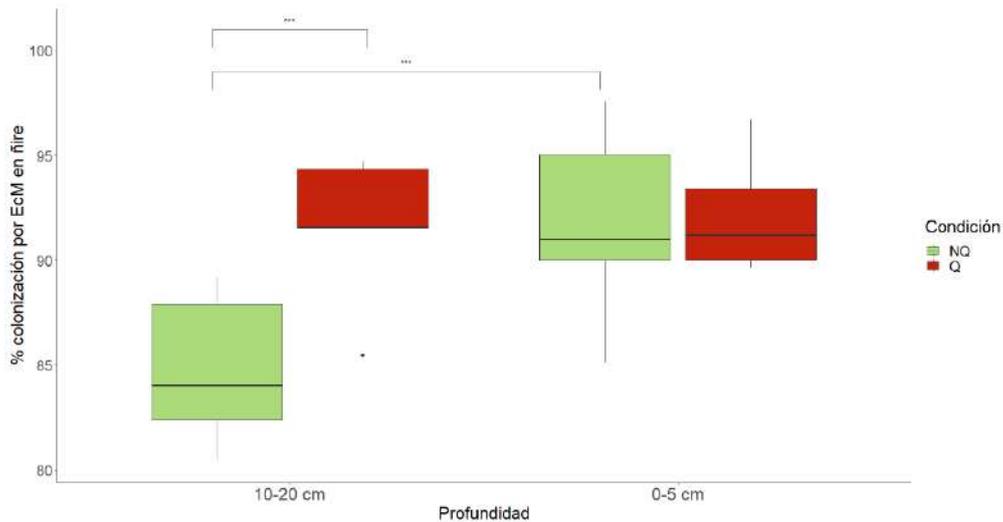


Figura 9. Porcentaje de colonización por ectomicorizas en las raíces de ñire según la profundidad y la condición luego del incendio. Nivel de significancia \*\*\*= <0,001; \*\*= 0,001; \*= 0,05; . = 0.1.

Por otro lado, los análisis estadísticos realizados indican para ambas formaciones forestales que no hay diferencias en el porcentaje de colonización MA en las distintas profundidades y entre sitios quemados y no quemados (Figura 10). La interacción entre los factores de estudio tampoco resultó ser significativa estadísticamente.

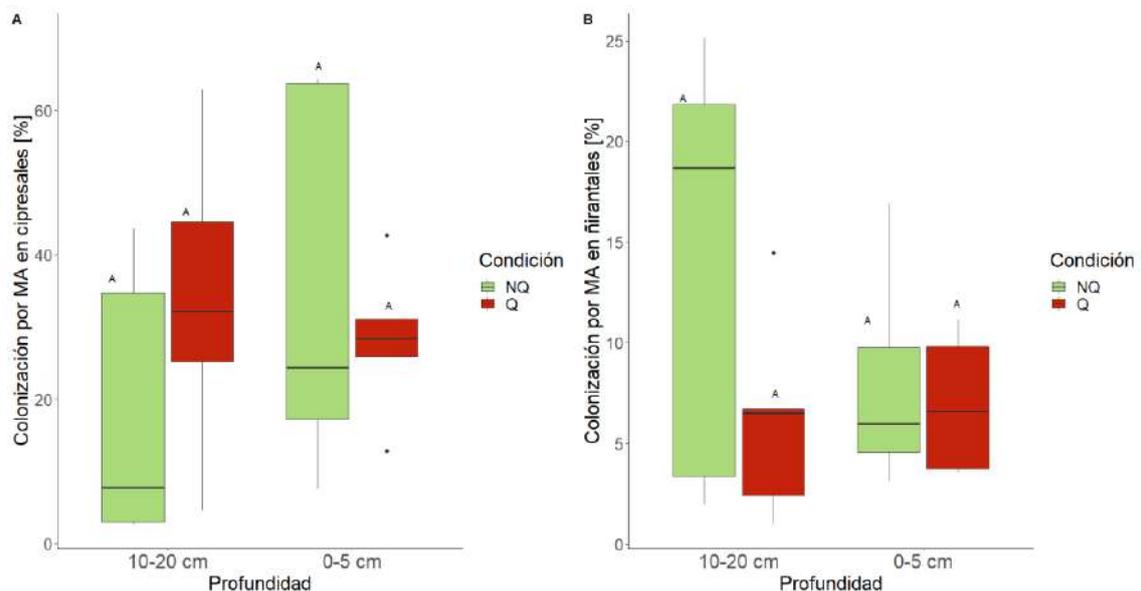


Figura 10. Porcentaje de colonización por micorrizas arbusculares en las raíces asociadas a ñire (A) y ciprés (B) según la profundidad y la condición luego del incendio. Diferentes letras significan diferencias significativas.

### Identificación molecular de HEcM

En las raíces de ñire se encontraron en total 23 ectomorfortipos (grupos basados en macro- y micro-morfología) (Tabla suplementaria 1). Para tres de ellos no fue posible obtener

## Resultados

amplificación de ADN (MT23, Tabla suplementaria 1) o secuencias apropiadas para su identificación (MT21 y MT22, Tabla suplementaria 1), pero en base a características morfológicas pudo determinarse que eran ectomorfitipos claramente diferentes entre sí y al resto de los ectomorfitipos identificados. Luego de los análisis moleculares se detectó que algunos de los grupos de ectomorfitipos definidos estaban formados por el mismo taxón de HEcM, por lo que en total se identificaron diez taxones de hongos formadores de EcM (Tabla 3 y Tabla suplementaria 1). Por lo tanto, tras los análisis moleculares realizados se evidenció que las plantas de ñire fueron colonizadas por 13 HEcM, siendo 3 ascomicetes (23,1 %), siete basidiomicetes (53,8 %) y tres (23,1 %) que no pudieron ser asignados a ninguna categoría taxonómica debido a lo explicado previamente (ectomorfitipos no identificados molecularmente). Los 13 HEcM se encontraron en el sitio no quemado, de los cuales siete (53,8 %) se encontraron en ambas profundidades, tres (23,1 %) sólo se encontraron en la capa superficial del suelo y las restantes tres (23,1 %) se encontraron sólo en la capa profunda. Sólo tres de los 13 taxones se encontraron también en el sitio quemado, de las cuales dos se hallaron en ambas profundidades (66,6 %) y una (33,3 %) sólo en la fracción superficial; mientras que ningún HEcM se halló sólo en profundidad (Tabla 3). En la Figura 11 se muestran algunos de los taxones de HEcM encontradas en las raíces de ñire.

En las muestras correspondientes al sitio quemado hubo gran cantidad de ápices radicales colonizados por EcM a los que no se les pudo asignar un grupo morfológico debido a que era imposible reconocer características diagnósticas que permitieran su diferenciación y clasificación, posiblemente debido a los efectos del incendio y su impacto sobre las condiciones del suelo. Por lo tanto, hubo cuatro muestras de raíces de ñire provenientes del sitio quemado en las que pudo cuantificarse el porcentaje de colonización por EcM, pero cuyos ectomorfitipos no pudieron asignarse a ninguno de los grupos morfológicos definidos, por lo que no pudieron ser incorporadas a los análisis posteriores de diversidad  $\alpha$  y  $\beta$ .

## Resultados

Tabla 3. Presencia de hongos formadores de ectomicorizas en las muestras de ñire según los diferentes factores de estudio (Q=quemado, NQ=no quemado).

Taxones	NQ		Q	
	0-5 cm	10-20 cm	0-5 cm	10-20 cm
<b>Ascomycota</b>				
<i>Cenococcum geophilum</i> Fr.	X	X		
Pyronemataceae 1	X	X	X	
Sordariomycete 1	X	X		
<b>Basidiomycota</b>				
<i>Cortinarius</i> sp. 1	X			
<i>Cortinarius</i> sp. 2	X	X	X	X
<i>Cortinarius</i> sp. 3		X		
<i>Hysterangium</i> 1	X			
Inocybaceae 1	X	X		
<i>Tomentella patagonica</i> Kuhar & Rajchenb.	X	X	X	X
<i>Tomentella</i> sp. 1	X	X		
<b>Sin amplificación positiva o secuencia de mala calidad</b>				
MT 21		X		
MT 22		X		
MT 23	X			



Figura 11. Algunos ectomorfitipos encontrados en raíces de ñire. A) *Tomentella patagonica*, B) Pyronemataceae 1, C) *Tomentella patagonica*, D) Inocybaceae 1, E) Pyronemataceae 1, F) Pyronemataceae 1, G) Inocybaceae 1, H) *Tomentella patagonica*, I) *Cortinarius* sp. 2.

## Resultados

Los riqueza y diversidad (índices de Shannon y el inverso de Simpson) variaron únicamente con la condición de quemado ( $p < 0,05$ ). Las tres variables fueron mayores en los sitios no quemados, respecto de los quemados (Figura 12). En la Figura 13 se presentan las abundancias relativas de las especies de HEcM según profundidad y condición de quemado. Entre éstas *T. patagonica*, *Cortinarius* sp. 2, *Inocybaceae* 1 e *Hysterangium* sp. 1, son las especies más influyentes, explicando un 75 % de la variación observada entre la condición quemado y no quemado.

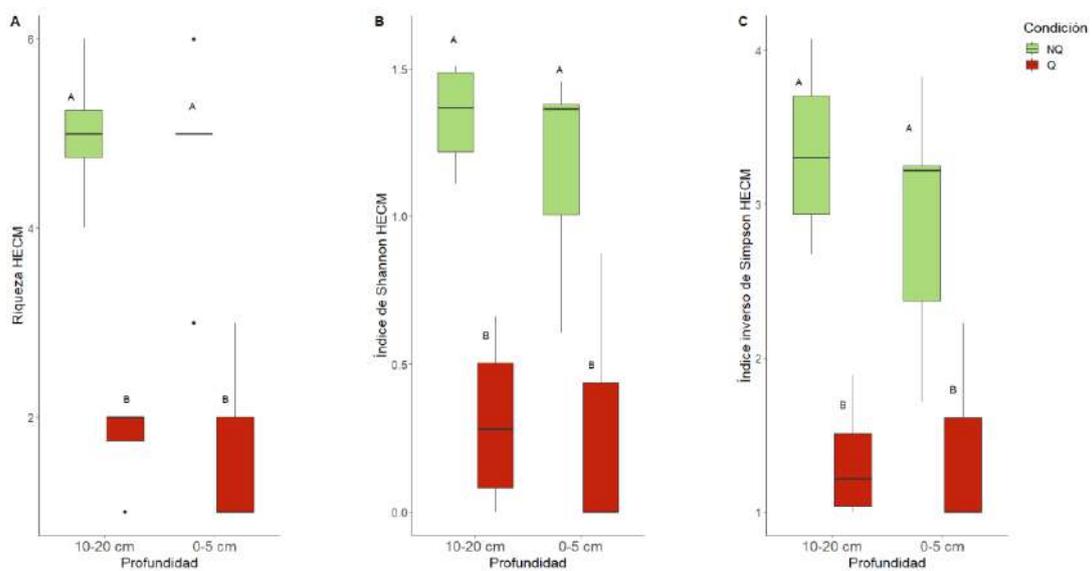
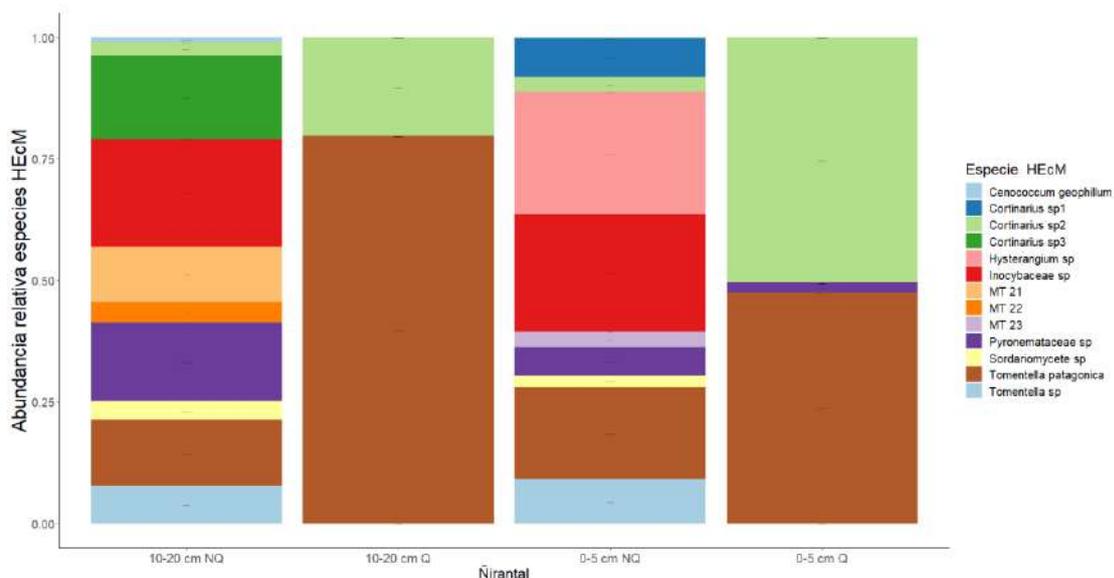


Figura 12. Riqueza, índice de Shannon e índice inverso de Simpson para los hongos ectomicorrícicos de fiñe. Diferentes letras significan diferencias significativas.



## Resultados

Figura 13. Abundancia relativa apilada de los taxones de hongos ectomicorrícicos en el ñirantal, según profundidad (profundo: 10-20 cm; superficial: 0-5 cm) y condición de quemado (NQ: no quemado; Q: quemado). Cada color representa un HEcM diferente (la leyenda y el gráfico se leen de abajo hacia arriba).

Respecto a la diversidad  $\beta$ , el análisis de NMDS de las comunidades de HEcM arrojó un valor de estrés de 0,058 (Figura 14 y Figura suplementaria 1), mostrando estructuración con la condición de quemado. Esto fue confirmado con el PERMANOVA ( $p < 0,05$ ).

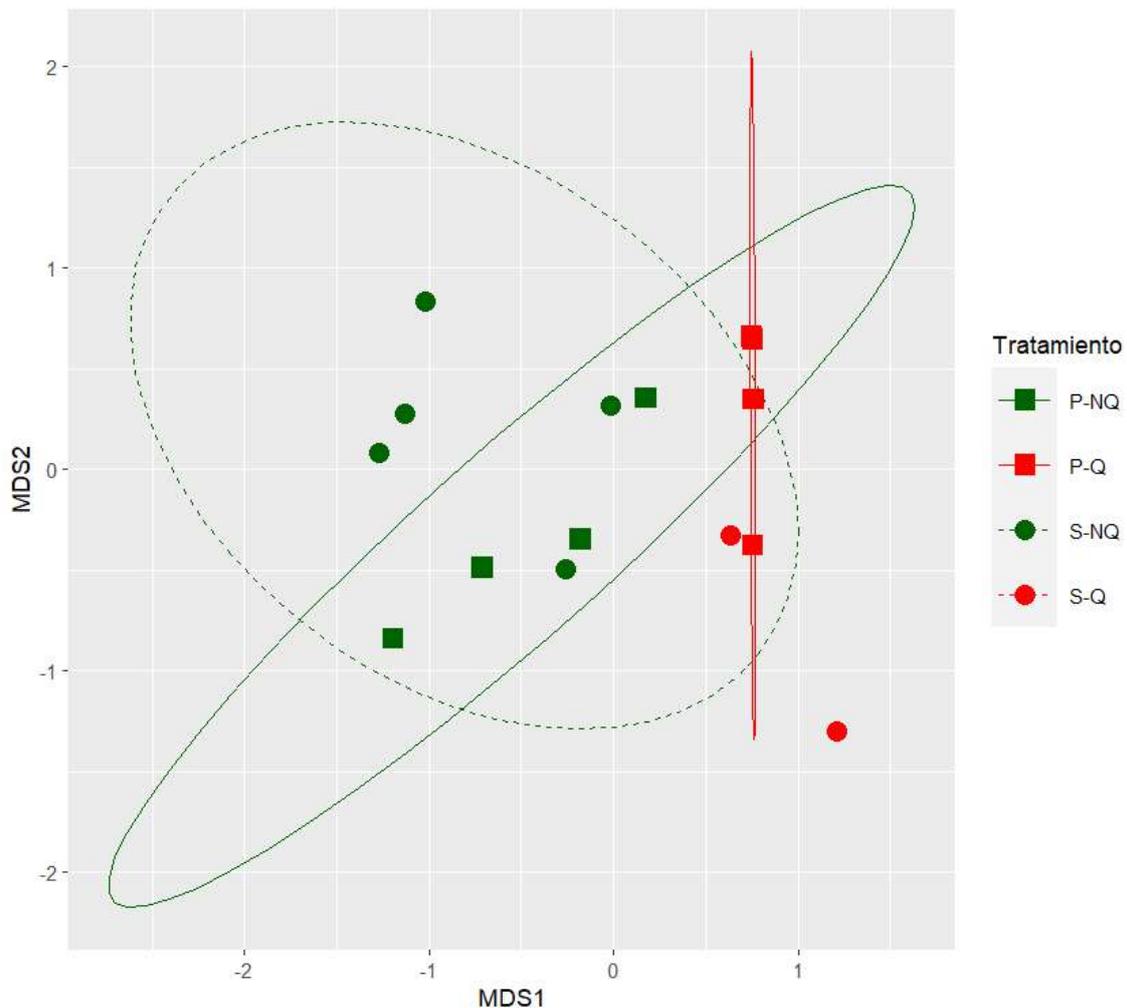


Figura 14. Análisis NMDS para estudiar la estructura de las comunidades de hongos ectomicorrícicos de ñire según la profundidad (S = superficial (0-5 cm); P = Profundo (10-20 cm)) y la condición de quemado (NQ = no quemado; Q = quemado). Las elipses representan el error estándar del promedio ponderado de las puntuaciones de las muestras, por lo que el grado de solapamiento es indicativo de la similitud o diferenciación de las comunidades.

### *Hongos totales del suelo*

Se obtuvieron un total de 243 OTUs fúngicos para las muestras de suelo provenientes de ambas formaciones forestales. De esta cantidad, 55 (22,6 %) solo se encontraron en muestras de cipresal, 86 (35,4 %) sólo se encontraron en muestras de ñirantal y 102 (42 %) se encontraron

## Resultados

en ambas formaciones forestales. De los 157 OTUs encontrados en los cipresales 46 (29,3 %) estaban presentes sólo en el sitio no quemado, mientras que 45 (35,1 %) estaban exclusivamente en el sitio quemado y los restantes 56 (35,6 %) se encontraron en ambas condiciones de quemado. Por otro lado, de 188 OTUs que se encontraron en el ñirantal, 90 OTUs (47,9 %) sólo se encontraron en el sitio no quemado, 41 se encontraron exclusivamente en el sitio quemado (21,8 %) y 57 se encontraron en ambas condiciones de quemado (30,3 %).

Los análisis de riqueza para bosques de ciprés indican que la misma no varió significativamente según la condición de quemado o la profundidad ( $p > 0,05$ ) (Figura 15 A). Por otro lado, en esta formación forestal tanto para el índice de Shannon como el índice inverso de Simpson se observaron diferencias significativas sólo para el factor condición de quemado, siendo los valores significativamente menores en el sitio no quemado respecto del quemado (Figura 15 B y C). Sin embargo, los contrastes *post-hoc* no señalan el efecto de la condición de quemado para el índice de Shannon, y sólo lo hacen para el índice inverso de Simpson en profundidad. Para los cipresales, son 15 los OTUs (223, 632, 214, 105, 48, 224, 631, 88, 132, 215, 164, 163, 81, 85 y 156) que contribuyeron más fuertemente a la diferenciación entre la condición quemado y no quemado, explicando el 69 % de esta variación (Figura 16).

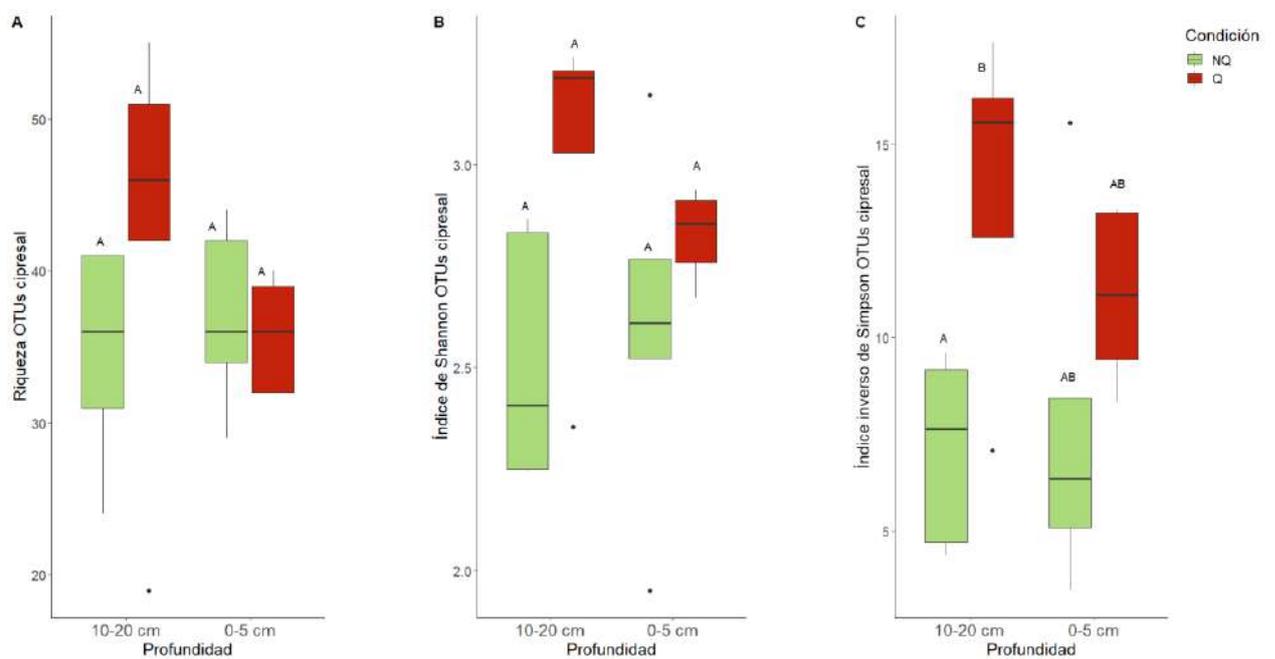


Figura 15. Riqueza, índice de Shannon y el inverso de Simpson para los OTUs encontrados en el cipresal. Diferentes letras significan diferencias significativas.

## Resultados

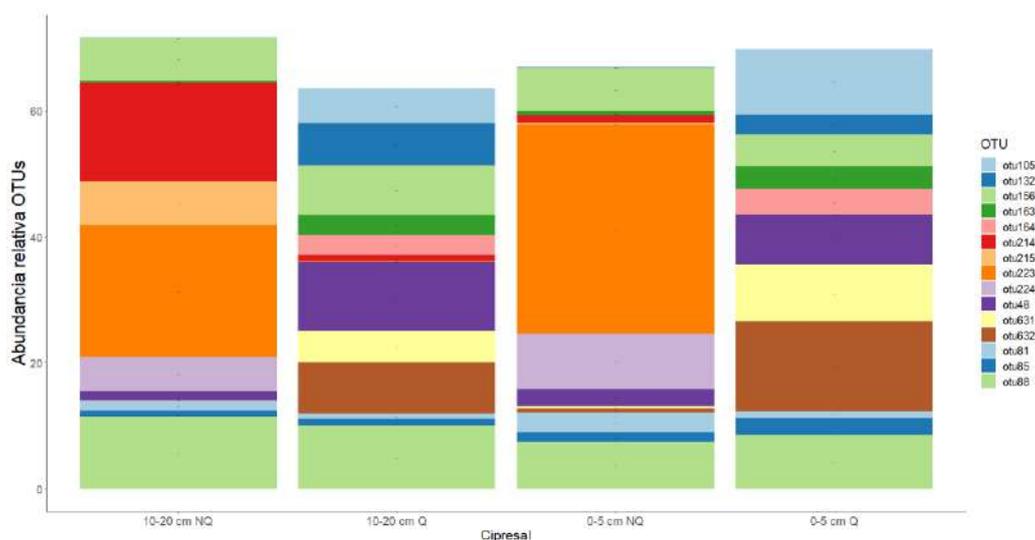


Figura 16. Abundancia relativa apilada de los OTUs de cipresal que más explican la variación (*simper*), según profundidad (profundo: 10-20 cm; superficial: 0-5 cm) y según condición de quemado (NQ: no quemado; Q: quemado). Cada color representa a un OTU diferente (la leyenda y el gráfico se leen de abajo hacia arriba).

En el caso de las muestras de suelo correspondientes al matorral de ñire, se determinó que tanto los valores de riqueza como los índices de Shannon e inverso de Simpson fueron significativamente menores ( $p < 0,05$ ) en el sitio quemado respecto del no quemado; sin efecto de la profundidad o interacción (Figura 17). Sin embargo, nuevamente los análisis de contrastes post-hoc no demuestran la existencia de estas diferencias. Para los ñirantales, 25 OTUs (88, 196, 132, 48, 30, 223, 163, 444, 118, 33, 157, 439, 119, 92, 156, 81, 434, 25, 197, 80, 170, 31, 134, 126, 595) explican el 70 % de la variación entre quemado y no quemado (Figura 18).

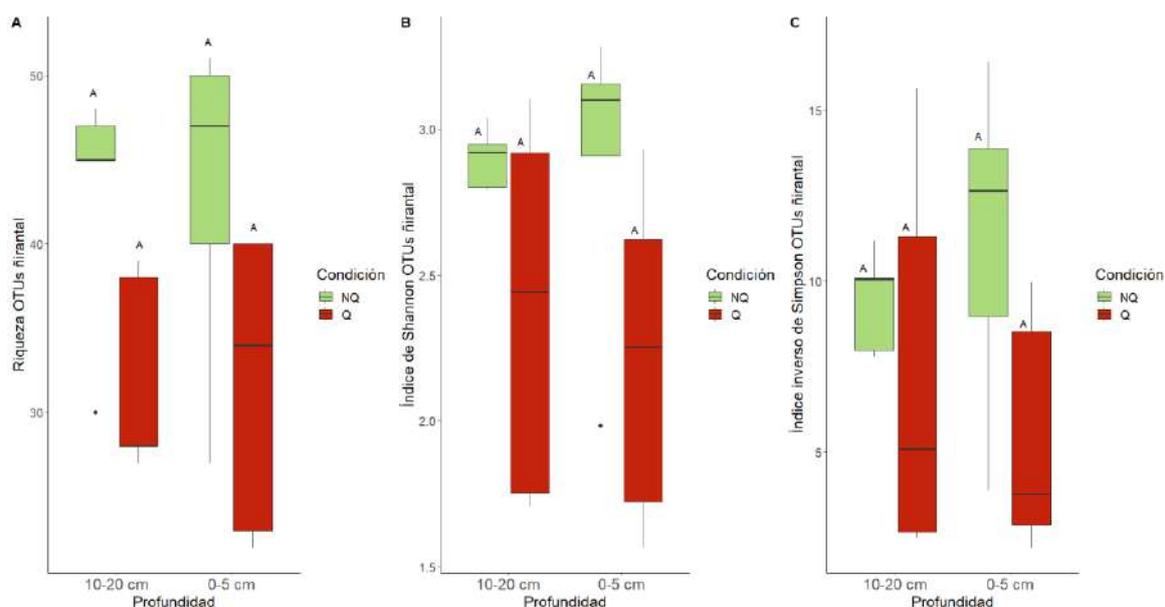


Figura 17. Riqueza, índice de Shannon y el inverso de Simpson para los OTUs encontrados en el ñirantal. Diferentes letras significan diferencias significativas.

## Resultados

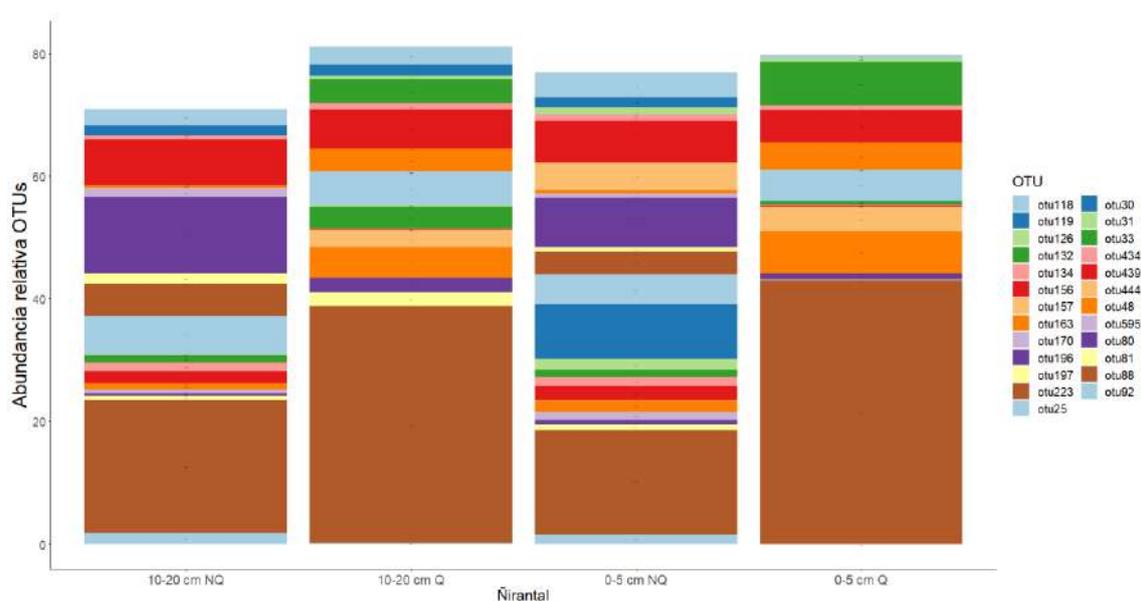


Figura 18. Abundancia relativa apilada de los OTUs de ñirantal que más explican la variación (*simper*), según profundidad (profundo: 10-20 cm; superficial: 0-5 cm) y según condición de quemado (NQ: no quemado; Q: quemado). Cada color representa a un OTU diferente (la leyenda y el grafico se lee de abajo hacia arriba, y en este caso la columna derecha de la leyenda se lee primero y la izquierda después).

El análisis de NMDS para el estudio de las comunidades fúngicas totales del suelo arrojó un nivel de stress de 0,076 para las muestras asociadas a ciprés (Figura suplementaria 2) y 0,087 para las asociadas a ñire (Figura suplementaria 3). Para ambas formaciones forestales hay una clara separación de las comunidades fúngicas dependiendo si las mismas provenían de suelo quemado o no quemados (Figura 19 A y B). No se observaron diferencias entre estas comunidades fúngicas respecto de la profundidad para ninguna de las formaciones forestales. Sin embargo, en el caso de los cipresales, se puede notar que en superficie y para ambas condiciones de quemado hay menor dispersión de las muestras que en profundidad, indicando mayor similitud entre las muestras de estas comunidades. En el caso de las muestras de los ñirantales, la dispersión es similar para ambas profundidades. El análisis de PERMANOVA indica que el factor condición de quemado es significativo tanto para las muestras de suelo provenientes de ciprés como para ñire; mientras que la profundidad y la interacción entre los factores no resultaron estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

## Resultados

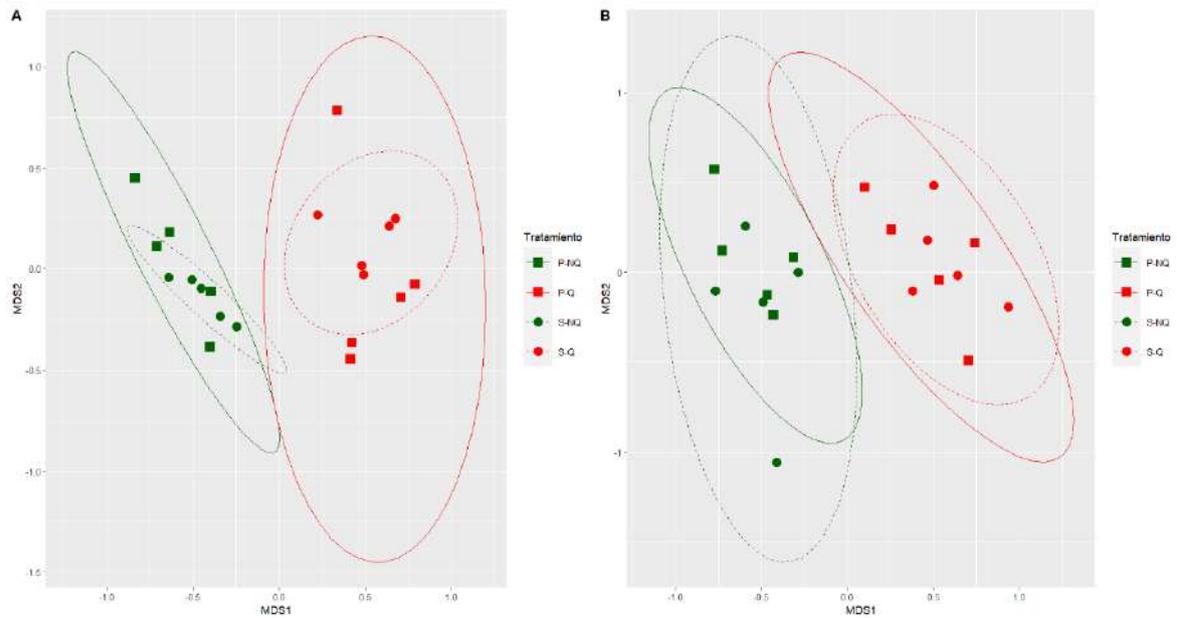
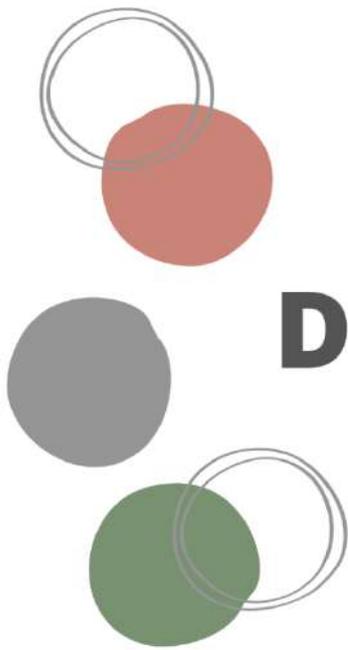


Figura 19. Análisis NMDS para estudiar las comunidades fúngicas totales del suelo en muestras de cipresales (A) y ñirantales (B) en las distintas profundidades (P: profundo (10-20 cm), S: superficial (0-5 cm)) y condiciones de quemado luego del incendio (NQ: no quemado, Q: quemado). Las elipses representan el error estándar, por lo que el grado de solapamiento es indicativo de la similitud o diferenciación de las comunidades.

### *Comentario sobre cuestiones estadísticas*

Es posible tener efectos principales en los ANOVA y aun así no observar esas diferencias reflejadas en los contrastes post-hoc. Esto puede suceder si los efectos principales están dados por uno o más grupos específicos de análisis en el estudio, pero las diferencias entre esos grupos no son lo suficientemente grandes como para obtener significancia en las pruebas post-hoc. Una explicación plausible es que los test post-hoc tienen menor poder estadístico para detectar las diferencias significativas entre grupos, comparado al general del ANOVA, como ya se ha comentado. Es decir, ambos tipos de test responden a diferentes preguntas, así que pueden dar diferentes respuestas. Esto puede suceder y, se cree que sucedió en este caso, porque el tamaño de las muestras es pequeño y también porque se observó que la variabilidad entre los grupos es alta (entre otras posibles causas).



# Discusión



## Discusión

En el presente trabajo de tesis se evaluaron los cambios en las comunidades fúngicas del suelo (micorrizas y hongos totales) de dos formaciones forestales (bosque de ciprés y matorral de ñire) luego de un incendio. En términos generales, el trabajo realizado indica que el incendio afecta las comunidades fúngicas del suelo en ambas formaciones, que estos cambios son acompañados por modificaciones en las propiedades físico-químicas del suelo, y que en general no se observa un efecto de la profundidad. A continuación, se discuten en detalle los resultados del trabajo, considerando tanto las determinaciones a campo (actividad biológica, humedad relativa y temperatura del suelo) como en laboratorio (pH, CE, abundancia de raíces, porcentaje de colonización micorrícica, diversidad de micorrizas y hongos totales del suelo).

### *Impacto del incendio sobre las propiedades del suelo*

La menor actividad biológica reportada en el sitio quemado respecto al no quemado en ambas formaciones forestales coincide con lo reportado en la revisión bibliográfica de Barreiro & Díaz-Raviña (2021), donde se contemplan estudios en diferentes ecosistemas y mediante la evaluación de respiración o actividades enzimáticas. Este efecto negativo es modulado por la intensidad del incendio y ha sido también validado en ensayos manipulativos (Barreiro & Díaz-Raviña, 2021). La menor actividad biológica del suelo puede deberse a la mortalidad de organismos (p. ej.: plantas y microbios) durante el incendio, ya sea por las altas temperaturas alcanzadas y/o por la producción de contaminantes tóxicos en el proceso de combustión de la materia orgánica (Certini, 2005). La actividad biológica también puede ser menor en los suelos quemados debido a los efectos indirectos del incendio sobre la supervivencia y recolonización de los microorganismos del suelo, por ejemplo, por la reducción y cambio de los sustratos orgánicos presentes luego del incendio y cualquier otro cambio eventual en las propiedades del suelo (Certini, 2005).

La menor humedad relativa de los suelos quemados determinada en este trabajo de tesis concuerda con lo reportado por Xiang *et al.* (2015) en bosques templados de coníferas ubicados al norte de China y por Muqaddas *et al.* (2015) en bosque esclerófilo húmedo al sudeste de Australia (una región con clima subtropical húmedo) en base a determinaciones gravimétricas. La disminución de la humedad relativa del suelo detectada en cipresales y ñirantales en esta tesina es posiblemente consecuencia indirecta de las mayores temperaturas determinadas para el suelo actualmente (Figura 5B y 5C), lo que contribuiría a una mayor evaporación. También podría ser determinada por otros efectos indirectos, como cambios en la infiltración del agua en el suelo, la formación de una capa impermeable de cenizas en la superficie quemada, o incluso por la disminución del albedo como consecuencia del

## Discusión

oscurecimiento de la superficie del suelo, lo que provoca que éste retenga mayor radiación solar y por tanto mayor temperatura, lo que también reduce la humedad (Certini, 2005). El resultado encontrado es, sin embargo, contrario a lo reportado por Urretavizcaya *et al.* (2006); quienes determinaron mayor humedad relativa (medida a campo con TDR) en suelos quemados respecto a no quemados en formaciones forestales de ciprés en dos localizaciones diferentes (Trevelín y El Bolsón). En este último caso, el aumento se atribuyó a la reducción en la vegetación debido al incendio, lo que se correspondería a menores tasas de evapotranspiración (Urretavizcaya *et al.*, 2006). Por su parte, las mayores temperaturas del suelo detectadas en este trabajo de tesis coinciden también con lo detectado por Urretavizcaya *et al.* (2006) en el sitio Trevelin. Sin embargo, estos mismos autores reportaron que en los sitios ubicados en El Bolsón la temperatura de suelos quemados y no quemados fue similar, destacando la posibilidad de que en ocasiones los efectos de los incendios sobre estas características del suelo pueden ser contexto-específicas. En general, la información presentada indica que las mayores temperaturas en suelos quemados estarían asociadas a la disminución de la cubierta vegetal, quedando el suelo más expuesto a la radiación directa del sol y disminución del albedo, aunque esta tendencia podría ser modulada por otros factores específicos del sitio de estudio (Certini, 2005; Urretavizcaya *et al.*, 2006).

En general, lo reportado para la actividad biológica, la humedad relativa y la temperatura del suelo cumplen con la predicción 1, dando así apoyo a la hipótesis del trabajo.

En cuando al aumento superficial de pH y CE en suelos quemados asociados a ñire (Figura 7), concuerda con los resultados obtenidos por La Manna *et al.* (2011) quienes estudiaron estas variables en los primeros 5 cm de suelo asociado a parches quemados y no quemados. En tanto que el aumento de pH y CE en suelos asociados a ciprés (Figura 6) es consistente con lo reportado por La Manna *et al.* (2011) y Urretavizcaya (2010) en comparaciones de suelo de ciprés quemado y no quemado realizadas en los primeros 5 y 10 cm, respectivamente. Otros autores en sistemas de estudio diferentes también han encontrado aumento del pH del suelo en condiciones post fuego (Norouzi & Ramezanzpour, 2013; Vásquez-Gassibe *et al.*, 2016; Muqaddas *et al.*, 2015; Xiang *et al.*, 2015; Onet *et al.*, 2019). Por ejemplo, Norouzi & Ramezanzpour (2013) detectaron en suelos dominados por *Pinus taeda*, mayor pH en las capas superficiales del suelo quemado (0-3 cm y 3-6 cm) respecto de aquellas a mayor profundidad (6-9 cm), mostrando así que el pH fue mayor en superficie en los sitios quemados y que el mismo disminuía con la profundidad de manera significativa (Norouzi & Ramezanzpour, 2013). Otros autores, por otra parte, han reportado que, en algunos ecosistemas, el pH no cambia luego de un incendio (Hernández *et al.*, 1997; Fernández-García *et al.*, 2019; Chávez *et*

*al.*, 2020), aunque estos resultados podrían estar modulados también por el tiempo transcurrido desde el incendio y la forma en la que se realizó la evaluación.

El aumento del pH en los suelos luego de un incendio puede deberse a que la combustión de los materiales orgánicos en la capa superficial produce cenizas con alto contenido de nutrientes (cationes base) que se depositan luego sobre la superficie del suelo quemado (Certini, 2005; Norouzi & Ramezanzpour, 2013). Además, las altas temperaturas alcanzadas producen la desnaturalización de los ácidos orgánicos en la materia orgánica, lo que también genera un aumento del pH (Certini, 2005; Agbeshie *et al.*, 2022). Es importante destacar que estos efectos de los incendios sobre el pH del suelo pueden ser modulados por la profundidad y las características propias del ecosistema. Por ejemplo, en esta tesis el aumento del pH fue en similar proporción para ambas profundidades en el cipresal, en tanto que en el matorral de ñire fue mayor en superficie que en profundidad. El aumento de la CE en ambas formaciones forestales y profundidades en los suelos quemados respecto a los no quemados (Figuras 6B y 7B), puede deberse a que el aumento de la temperatura durante el incendio produce la liberación de iones inorgánicos solubles y la creación de carbono negro, lo que provoca que la capacidad de conducción de la electricidad del suelo aumente (Hernández *et al.*, 1997; Certini, 2005; Agbeshie *et al.*, 2022). Otros trabajos en sistemas de estudio diferentes también han reportado un aumento en la CE luego de un incendio (Certini, 2005). Por ejemplo, Hernández *et al.* (1997) reportaron un aumento de la CE luego de un incendio en la región de Murcia (España), un sitio mediterráneo dominado por bosques de pino (*P. halepensis* y *P. pinaster*). A su vez, Badía *et al.* (2014) reportaron un aumento de la CE luego de un incendio ocurrido en Montes de Zuera (Central-Ebro Basin, NE-España), un sitio con clima semiárido mediterráneo ocupado por un bosque mixto. Norouzi y Ramezanzpour encontraron para la CE el mismo patrón reportado con anterioridad para pH (Norouzi & Ramezanzpour, 2013). Mientras que otros estudios en ecosistemas dominados por pino en la Península Ibérica (*P. pinaster* y *P. halepensis*) luego de tres años de un incendio (Fernández-García *et al.*, 2019) y en araucaria (*Araucaria araucana*) en los Andes y la costa sur de Chile (Chávez *et al.*, 2020) se contraponen a este resultado, no habiéndose encontrado cambios en la CE del suelo. Cabe destacar que los cambios producidos en el pH y la CE no son persistentes en el tiempo (Certini, 2005; Fernández-García *et al.*, 2019), por lo que el tiempo transcurrido entre el incendio y la toma de muestras podría explicar estas diferencias, tal como se mencionó para el pH.

En general, lo reportado para pH y CE de ambas formaciones forestales cumplen la predicción 1, apoyando a la hipótesis de trabajo.

### *Impacto del incendio sobre las comunidades fúngicas del suelo*

La ausencia de un efecto del incendio en el porcentaje de colonización por MA concuerda con lo reportado por Bellgard (1994) en raíces de *Acacia linifolia*, quien realizó un ensayo comparativo de crecimiento de plántulas en suelo proveniente de sitio quemado y no quemado. Pattinson *et al.* (1999) tampoco encontraron diferencias en el porcentaje de colonización por MA en plantas de trébol crecidas en suelo proveniente de los 10-15 cm de profundidad de macetas con y sin tratamiento térmico. Sin embargo, en dicho estudio el porcentaje de colonización por MA fue menor en plantas de trébol que crecieron en suelo proveniente de las fracciones superficiales (0-5 cm y 5-10 cm) de las mismas macetas sujetas a tratamiento térmico respecto de aquellas que no lo recibieron, sugiriendo un efecto modulador de la profundidad. Uno de los factores que podría explicar no haber visualizado efectos del incendio en la colonización de raíces por MA podría ser la capacidad de estos hongos de producir esporas resistentes al evento de fuego. En este sentido, en un estudio realizado por Rashid *et al.* (1997) no se encontraron diferencias en el número de esporas de MA en muestras de suelo quemadas y no quemadas. Por otro lado, la ausencia de diferencias en el porcentaje de colonización por MA, en ambas formaciones forestales y profundidades, también podría deberse a la gran variabilidad detectada entre las muestras (Figura 10). Esto estaría asociado al hecho de que, si bien las muestras de suelo fueron obtenidas alrededor de individuos de ñire y ciprés y a poca distancia de su eje central, es posible que hayan contenido raíces de otras especies presentes en el sotobosque, entre las que se incluyen algunas no micorrícicas (p. ej.: especies de Proteáceas como radial *-Lomatia hirsuta-* y notro *-Embothrium coccineum-*, entre otras). Lo cierto es que, en términos generales, no hay un consenso sobre los efectos que tiene el fuego sobre la colonización de raíces por MA. En algunos estudios se ha descrito una disminución en la colonización (Dhillion *et al.*, 1988; Vilarino & Arines, 1991; Allsopp & Stock, 1994) y en el número de propágulos viables en áreas afectadas por incendios (Vilarino & Arines, 1991), en tanto que otros no han detectado una disminución en la colonización por MA frente a eventos de fuego (Bellgard *et al.*, 1994; Pattinson *et al.*, 1999). Estos resultados contradictorios podrían ser explicados por otras variables del sistema de estudio, como la intensidad de los incendios, el tiempo transcurrido desde el incendio, las especies vegetales y fúngicas involucradas, e incluso las metodologías de estudio aplicadas, entre otros. Los resultados obtenidos para la colonización por MA no concuerdan con la predicción 2, ya que no se vio ninguna diferencia de la colonización en los sitios según la condición de quemado ni un efecto de la profundidad. Por lo tanto, lo reportado no apoya a la hipótesis de trabajo.

Con respecto a las EcM, en condiciones naturales (no quemado) la profundidad tuvo un efecto en el porcentaje de colonización, siendo mayor en superficie que en profundidad, tal

## Discusión

como se ha observado para otras especies de *Nothofagus* (Palfner *et al.*, 2008). Sin embargo, luego del incendio este efecto no es visible, debido a que el porcentaje de colonización en profundidad es equivalente al de superficie. Este aumento podría deberse a una respuesta a la situación de estrés, lo cual podría también explicar la ausencia de efecto negativo del incendio en superficie. Los resultados reportados por Soto-Mancilla (2022) sostienen esta hipótesis, ya que en un ensayo *ex situ* llevado a cabo en ñire, se observó un aumento en el porcentaje de colonización con la intensidad del fuego. En conjunto, estos trabajos indicarían que en ñire el aumento de la colonización por EcM sería un mecanismo de respuesta al estrés generado luego de un evento de fuego. La fuente de HEcM en los sitios quemados podría ser el suelo en profundidad en donde la temperatura alcanzada durante el incendio habría sido menor por un efecto modulador propio del suelo. El estudio de Palfner *et al.* (2008) sustenta esta idea, ya que en profundidad (> 10 cm) se reportó en la regeneración natural de *N. alpina* (raulí) un mayor número de ápices de raíces colonizadas por EcM en sitios quemados respecto de los no quemados, no existiendo estas diferencias en las raíces de superficie (< 10 cm). En contraposición a nuestros resultados, Longo *et al.* (2011) reportaron menor colonización EcM en bosques de *N. pumilio* (lenga) más recientemente quemados (cinco años), mientras que en incendios más antiguos los valores fueron similares entre sitios quemados y no quemados. En este caso, la diferencia en la tendencia observada podría ser especie-específica, ya que la lenga, a diferencia del ñire, no es una especie rebrotante, por lo que podría tardar más en restablecer las comunidades de HEcM asociadas a sus raíces. A futuro sería interesante comparar la variación en el porcentaje de micorrización entre incendios de diferente intensidad y a lo largo del tiempo, a fin de contribuir al conocimiento sobre el rol de los HEcM en la respuesta de ñire y otras especies de *Nothofagus* a los incendios, y la dinámica de la colonización EcM en la especie. Los resultados obtenidos para la colonización por EcM tampoco apoyan a la hipótesis de trabajo, ya que no se cumplió la predicción 2.

Algunos de los taxones de HEcM asociados a raíces de ñire hallados en este trabajo han sido reportados también en otras especies de *Nothofagus* (*Cortinarius* spp., *Pyronemataceae* 1, *Inocybaceae* 1, *Tomentella* sp. 1, *Cenococcum geophilum*, *Hysterangium* sp. 1) (Fernández *et al.*, 2013; Nouhra *et al.*, 2013; Kuhar *et al.*, 2016; Salgado Solomón *et al.*, 2017; Fernández, 2017; Mestre & Fontenla, 2021; Soto-Mancilla, 2022). Por lo que lo reportado en este trabajo concuerda con lo hallado en la literatura respecto a la identidad de los hongos capaces de formar EcM en diferentes especies de *Nothofagus*. La presencia del *Sordariomycete* 1, sin embargo, no ha sido reportada previamente en especies de *Nothofagus*, destacando así la gran diversidad de hongos EcM asociados a estas plantas y que aún quedan por describir.

## Discusión

De los 13 taxones de HEcM hallados en este trabajo, sólo tres se encontraron en el sitio quemado, Pyronemataceae 1, *Cortinarius* sp. 2 y *Tomentella patagonica*, siendo estos últimos las más frecuentes en los sitios quemados (*T. patagonica* más frecuente en profundidad y *Cortinarius* sp. 2 en superficie, aunque las diferencias no llegaron a ser significativas; Figura 13). La presencia de estos HEcM en el sitio quemado indicaría que presentan adaptaciones particulares para resistir estas condiciones. Se ha clasificado a diferentes especies de la familia Pyronemataceae como pirófilas, ya que se han detectado cuerpos fructíferos rápidamente en sitios que han sufrido un incendio reciente (Enright *et al.*, 2022) y cuentan con adaptaciones al fuego. Por ejemplo, algunas especies del género *Pyronema* (familia Pyronemataceae) son capaces de formar esclerocios (estructuras de resistencia) que podrían ser termotolerantes (Smith *et al.*, 2015; Enright *et al.*, 2022), lo que podría explicar su tolerancia a este disturbio. Hasta el momento no se habían realizado reportes sobre la presencia de especies de Pyronemataceae en ejemplares de *Nothofagus* post-fuego. Algunas especies de *Cortinarius* también pueden formar esclerocios (Smith *et al.*, 2015), lo que podría brindarles ventajas en las condiciones post-fuego. Respecto a *T. patagonica*, no se han encontrado reportes sobre la formación de estructuras de resistencia o sobre su presencia en alguna especie de *Nothofagus* post-fuego. Sin embargo, hay registros de especies del género *Tomentella* en condiciones post-incendios en otros ecosistemas, como en los bosques de *P. pinaster* del centro de Portugal (zona con clima mediterráneo con veranos calurosos y secos e inviernos húmedos; Buscardo *et al.*, 2010). Conocer esta información es relevante porque los cambios tan marcados en la riqueza y diversidad de HEcM a causa de los incendios pueden durar varios años. Por ejemplo, Castaño *et al.* (2020) reportaron la disminución de la abundancia relativa de HEcM cuatro años después de un incendio prescripto de intensidad media en Zamora (España), una zona de ecosistema mediterráneo dominado por matorrales de lédano (*Cistus ladanifer*). Esto tiene particular importancia, ya que la presencia y diversidad de HEcM es fundamental para la recuperación de los suelos (Barreiro & Díaz-Raviña, 2021). Por lo tanto, contar con esta información en sitios de Patagonia recientemente quemados es sumamente relevante.

Entre los HEcM hallados únicamente en el sitio no quemado, es de destacar que algunas están comprendidas en grupos que incluyen taxones hallados frecuentemente en sitios post-fuego, como el representante de la clase Sordariomycete (Egidi *et al.*, 2016; Hewitt *et al.*, 2013) y de la familia Inocybaceae (Buscardo *et al.*, 2010). En particular, se conoce que *Cenococcum geophilum* puede formar esclerocios de resistencia (Smith *et al.*, 2015) que le aportan una ventaja en ambientes con altos niveles de estrés por calor, sequía y frío (Massicotte *et al.*, 1992) y, además, se lo ha reportado asociado a suelos de *Nothofagus* post-fuego. Por ejemplo, se ha identificado este HEcM en plántulas de raulí provenientes de sitios quemados (Palfner *et al.*,

## Discusión

2008) y en asociación a la especie de estudio, ñire, luego de quemas experimentales de suelo (Soto-Mancilla, 2022). Por lo que, la ausencia de *C. geophillum* en el sitio quemado en este trabajo resulta llamativa y requiere de mayores estudios.

Los valores mayores de la riqueza e índices de diversidad alfa de HEcM detectados en el sitio no quemado respecto del quemado en este trabajo contrastan con lo reportado por Soto-Mancilla (2022) en ñire y Longo *et al.* (2011) en lenga, quienes no encontraron diferencias significativas. Sin embargo, los resultados obtenidos en esta tesis acuerdan con lo reportado en el meta-análisis de Dove & Hart (2017), en el que se reporta una disminución significativa de la riqueza de HEcM a causa del fuego. El estudio de Dove & Hart (2017) también revela que los resultados varían según grupos de hongos, biomas y metodologías empleadas en la evaluación de la riqueza.

En los que respecta a las comunidades fúngicas totales de los suelos en cipresales y ñirantales, se ha detectado en este trabajo que tienen comportamientos diferentes. En el cipresal, la riqueza no se vio afectada por ninguno de los factores de análisis, en tanto que los índices de diversidad alfa fueron mayores en el sitio quemado que en el no quemado. Esto indicaría que, aunque la riqueza no cambia por el incendio, sí se afecta la composición de las comunidades fúngicas del suelo, siendo las comunidades de hongos post-incendio más diversas, o dicho en otros términos más equitativas o menos dominantes. Este aumento en los índices de diversidad alfa de los suelos de cipresal, sugieren que el efecto del incendio fue mayor sobre los OTUs más abundantes (Figura 16). Esta tendencia ha sido reportada también para la diversidad alfa de hongos y bacterias en un estudio comparativo de cronosecuencias de sitios quemados y no quemados, aunque en este caso se acompañó de una disminución de la riqueza (Pérez-Valera *et al.* 2018). Este comportamiento en el corto plazo, fue decreciendo en el tiempo, necesitándose más de dos décadas para volver a los valores pre-disturbio, y se asoció a un aumento de ascomicetes (Pérez-Valera *et al.*, 2018). En nuestro caso, sería importante analizar a futuro cuáles son los principales grupos fúngicos responsables de estos cambios.

En el ñirantal, en tanto, la riqueza y los índices de diversidad fueron menores en el sitio quemado que en el no quemado. Esto sugiere no sólo que hay una caída en la riqueza, sino que además cambia la composición de las comunidades, y que dicho cambio se da con un aumento de la dominancia de ciertos OTUs en las comunidades de los sitios quemados (Figura 18). En otras palabras, los resultados obtenidos para ciprés van en contra de lo planteado en la hipótesis de trabajo, mientras que lo observado para ñire va parcialmente en favor de la hipótesis (ya que no se detectó efecto de la profundidad). Es de destacar que en los ñirantales la diversidad tanto de las comunidades fúngicas del suelo como de los HEcM tuvieron el mismo comportamiento. Este resultado es apoyado por el trabajo de Day *et al.* (2019), quienes reportaron una

## Discusión

disminución de la riqueza tanto de las comunidades fúngicas totales de los suelos, como de las micorrizas, al aumentar la severidad de los incendios. Del mismo modo, el resultado es apoyado por el meta-análisis de Dove & Hart (2017) que indica que el efecto general de los incendios es producir una disminución de la riqueza de especies fúngicas. Esto se debe a que distintas especies fúngicas son capaces de sobrevivir al incendio gracias a ciertas estructuras de resistencia (como clamidosporas y esclerocios) mientras que otras, carentes de dichas estructuras, no serán capaces de tolerar estas condiciones. Además, las condiciones post-incendio (características físico-químicas del suelo y cambios de la vegetación) pueden impactar directamente en la selección de ciertas especies que son mejores competidoras que otras en dichas circunstancias (Cairney & Bastias, 2007; Dove & Hart 2017), resultando en un aumento en la abundancia de las especies más tolerantes y/o más competitivas y en una disminución de la diversidad global. En cierta forma, la concordancia entre las tendencias registradas para HEcM y comunidades totales del suelo, sugieren una contribución importante de estos hongos simbioses a la respuesta de los suelos del matorral de ñire, y posiblemente de otros ecosistemas dominados por especies de *Nothofagus*, al incendio.

Las diferencias encontradas entre ambas formaciones forestales indican claras diferencias en la composición de las comunidades fúngicas del suelo antes del incendio, existiendo más dispersión en las comunidades de ñire que en las de ciprés (Figura suplementaria 4). Luego del incendio, se observa mayor dispersión y menor diferenciación de comunidades entre especies (Figura Suplementaria 4). Esto destaca la importancia de estudiar diferentes formaciones forestales de manera conjunta. En este caso, por ejemplo, sugiere un efecto de selección por la especie forestal que se pierde luego del incendio.

## Conclusión

En este trabajo se evaluó si el incendio ocurrido en Cuesta del Ternerero en enero de 2021 tuvo algún efecto sobre múltiples variables físico-químicas y biológicas del suelo a dos profundidades diferentes y en dos formaciones forestales nativas características de la región norpatagónica y del sitio de estudio. Con lo reportado aquí se puede concluir que:

1) la condición de quemado tuvo un efecto significativo para todas las variables físico-químicas y para casi todas las variables biológicas (excepto el porcentaje de colonización por MA) estudiadas en ambas formaciones forestales;

2) los efectos del incendio pueden ser modulados por la profundidad para algunas de las variables; por ejemplo, en el cipresal el pH y la CE fueron mayores en superficie (quemado) y menores en profundidad, mientras que en el ñirantal el peso húmedo de las raíces de EcM fue mayor en la capa superficial y no quemada (cumplimiento parcial de la predicción 4);

## Discusión

3) que las formaciones forestales estudiadas tuvieron diferentes respuestas en lo que se refiere a diversidad alfa de sus comunidades fúngicas;

4) las comunidades fúngicas asociadas a los ñirantales (HEcM y las fúngicas totales del suelo) tuvieron un comportamiento similar en cuanto a la diversidad alfa;

5) sin embargo, en lo que respecta a la diversidad beta, todas las comunidades fúngicas estudiadas respondieron de manera equivalente: se estructuraron según la condición de quemado y sin efecto de la profundidad.

Los diferentes comportamientos reportados respecto a la diversidad alfa en ambas formaciones forestales indicarían que cada una tiene su propia manera de responder al incendio, por lo que también atravesarán diferentes procesos de recuperación post disturbio. La información presentada en este trabajo es de fundamental importancia, ya que los efectos del incendio pueden tener implicancias a futuro en los ecosistemas estudiados y en sus procesos. Por ejemplo, un mayor pH y CE del suelo podría implicar la selección diferencial de diferentes OTUs o taxones de MA u HEcM. Es decir, ciertos organismos podrían verse perjudicados o beneficiados por las condiciones post-incendio; y este efecto podría verse potenciado por el efecto de la profundidad. Ciertos organismos fúngicos podrían ser más proliferativos y desarrollar hifas más extensas que otros, por lo que podrían llegar a mayores profundidades y actuar como reserva para inocular la superficie luego de un incendio. Algo similar podría verse si se tiene en cuenta la menor humedad relativa y mayor temperatura de los suelos quemados. Algunos organismos serán capaces de tolerar mejor que otros estas nuevas condiciones ambientales. El cambio en las condiciones abióticas del ambiente podría ser el causante de cambios en la estructura y la composición de las comunidades de estos ecosistemas, y podría tener serias implicancias en su recuperación y funcionamiento a futuro. Por lo cual, es de particular interés continuar con este tipo de estudios en el tiempo y evaluar el estado de estos ecosistemas forestales nativos en el futuro.

Los estudios de los incendios y sus consecuencias son particularmente importantes para esta región, considerando que se espera un aumento en la frecuencia de incendios debido al cambio climático global. Por tanto, los resultados de este trabajo ayudan a comprender mejor los efectos del fuego en ecosistemas de la región y contribuirán junto a estudios futuros a definir estrategias de mitigación y proyectar planes de restauración de los ecosistemas afectados.



# **Bibliografía**



## Bibliografía

- Adkins, J., Docherty, K. M., Gutknecht, J. L., & Miesel, J. R. (2020). How do soil microbial communities respond to fire in the intermediate term? Investigating direct and indirect effects associated with fire occurrence and burn severity. *Science of the Total Environment*, 745, 140957.
- Agbeshie, A. A., Abugre, S., Atta-Darkwa, T., & Awuah, R. (2022). A review of the effects of forest fire on soil properties. *Journal of Forestry Research*, 33(5), 1419-1441.
- Agerer, R. (1987-2006). *Colour atlas of ectomycorrhizae*. Einhorn-Verlag, Munich, Alemania.
- Albornoz, P. & Catania, M. (2021) Micorrizas relación entre hongos y raíces de plantas. *Universo Tucumano*. Ed 75. ISSN 2618-3161.
- Allsopp, N. & Stock, D. (1994). VA mycorrhizal infection in relation to edaphic characteristics and disturbance regime in three lowland plant communities in the south-western Cape, South Africa. *Journal of Ecology* 82, 271–279.
- Aparicio, A. G., & Pastorino, M. J. (2021). Patagonian Cypress (*Austrocedrus chilensis*): the cedarwood of the emblematic architecture of North Patagonia. *Low Intensity Breeding of Native Forest Trees in Argentina: Genetic Basis for their Domestication and Conservation*, 149-174.
- Badía, D., López-García, S., Martí, C., Ortiz-Perpiñá, O., Girona-García, A., & CasanovaGascón, J. (2017). Burn effects on soil properties associated to heat transfer under contrasting moisture content. *Science of the Total Environment*, 601, 1119-1128.
- Bahamonde, H. A., Peri, P. L., Monelos, L. H., & Martínez Pastur, G. (2011). Aspectos ecológicos de la regeneración por semillas en bosques nativos de *Nothofagus antarctica* en Patagonia Sur, Argentina. *Bosque (Valdivia)*, 32(1), 20-29.
- Barreiro, A., & Díaz-Raviña, M. (2021). Fire impacts on soil microorganisms: Mass, activity, and diversity. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 22, 100264.
- Barreiro, A., Lombao, A., Martín, A., Cancelo-González, J., Carballas, T., & Díaz-Raviña, M. (2020). Soil heating at high temperatures and different water content: effects on the soil microorganisms. *Geosciences*, 10(9), 355.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 201–210. doi: 10.18637/jss.v067.i01
- Bellgard, S. E., Whelan, R. J., & Muston, R. M. (1994). The impact of wildfire on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and their potential to influence the re-establishment of post-fire plant communities. *Mycorrhiza*, 4(4), 139-146.
- Bhaduri, D., Sihi, D., Bhowmik, A., Verma, B. C., Munda, S., & Dari, B. (2022). A review on effective soil health bio-indicators for ecosystem restoration and sustainability. *Frontiers in Microbiology*, 13, 938481-938481.
- Brundrett, M. C., & Tedersoo, L. (2018). Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, 220(4), 1108-1115.
- Buée, M., De Boer, W., Martin, F., van Overbeek, L., & Jurkevitch, E. (2009). The rhizosphere zoo: An overview of plant-associated communities of microorganisms, including phages, bacteria, archaea, and fungi, and of some of their structuring factors. *Plant and Soil*, 321(1-2), 189–212. doi:10.1007/s11104-009-9991-3.

## Bibliografía

- Bronstein, J. L. (2009). The evolution of facilitation and mutualism. *Journal of Ecology*, 97(6), 1160-1170.
- Buscardo, E., Rodríguez-Echeverría, S., Martín, M. P., De Angelis, P., Pereira, J. S., & Freitas, H. (2010). Impact of wildfire return interval on the ectomycorrhizal resistant propagules communities of a Mediterranean open forest. *Fungal Biology*, 114(8), 628-636.
- Cairney, J. W., & Bastias, B. A. (2007). Influences of fire on forest soil fungal communities. *Canadian Journal of Forest Research*, 37(2), 207-215.
- Carron, A. (2021). Impacto del manejo forestal del matorral nativo en el NO patagónico sobre las comunidades microbianas del suelo y los simbiontes radicales. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional del Comahue.
- Castaño, C., Hernández-Rodríguez, M., Geml, J., Eberhart, J., Olaizola, J., Oria-de-Rueda, J. A., & Martín-Pinto, P. (2020). Resistance of the soil fungal communities to medium-intensity fire prevention treatments in a Mediterranean scrubland. *Forest Ecology and Management*, 472, 118217. doi:10.1016/j.foreco.2020.118217.
- Certini, G. (2005). Effects of fire on properties of forest soils: a review. *Oecologia*, 143(1), 1-10.
- Chávez, D., Machuca, Á., Fuentes-Ramirez, A., Fernandez, N., & Cornejo, P. (2020). Shifts in soil traits and arbuscular mycorrhizal symbiosis represent the conservation status of *Araucaria araucana* forests and the effects after fire events. *Forest Ecology and Management*, 458, 117806.
- Day, N. J., Dunfield, K. E., Johnstone, J. F., Mack, M. C., Turetsky, M. R., Walker, X. J., ... & Baltzer, J. L. (2019). Wildfire severity reduces richness and alters composition of soil fungal communities in boreal forests of western Canada. *Global change biology*, 25(7), 2310-2324.
- Defossé, G. E., & Godoy, M. M. (2021). Los incendios de vegetación en el centro-oeste de la Patagonia Argentina: estado del conocimiento y propuestas para su mitigación.
- Dezzotti, A. & Sancholuz, L. (1991). Bariloche, C. R. U. (1991). Los bosques de *Austrocedrus chilensis* en Argentina: ubicación, estructura y crecimiento. *Bosque*, 12(2), 43-52.
- Dhillon, S. S., Anderson, R. C., & Liberta, A. E. (1988). Effect of fire on the mycorrhizal ecology of little bluestem (*Schizachyrium scoparium*). *Canadian Journal Botany* 66, 706-713.
- Dove, N. C., & Hart, S. C. (2017). Fire reduces fungal species richness and in situ mycorrhizal colonization: a meta-analysis. *Fire Ecology*, 13, 37-65.
- Egidi, E., McMullan-Fisher, S., Morgan, J. W., May, T., Zeeman, B., & Franks, A. E. (2016). Fire regime, not time-since-fire, affects soil fungal community diversity and composition in temperate grasslands. *FEMS Microbiology Letters*, 363(17).
- El Mujtar, V., Muñoz, N., Mc Cormick, B. P., Pulleman, M., & Tittonell, P. (2019). Role and management of soil biodiversity for food security and nutrition; where do we stand? *Global Food Security*, 20, 132-144.
- Enright, D. J., Frangioso, K. M., Isobe, K., Rizzo, D. M., & Glassman, S. I. (2022). Mega-fire in redwood tanoak forest reduces bacterial and fungal richness and selects for pyrophilous taxa that are phylogenetically conserved. *Molecular Ecology*, 31(8), 2475-2493.

## Bibliografía

FAO, ITPS, GSBI, CBD and EC. 2020. State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities, Report 2020. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cb1928en>

Fernández N, Fontenla S, Fioroni F, Soto-Mancilla M, Carron A, Moguilevsky D, Marchelli P, Marin C, Mestre MA (2022) Mycorrhizae in *Nothofagus* from South America: what do we know from nursery and field experiences? En: Mycorrhizal Fungi in South America - Biodiversity, Conservation, and Sustainable Food Production. Lugo M y Pagano M (Eds). *Springer International Publishing*: 281-304

Fernández N., Marchelli P. y S. Fontenla. (2013) Ectomycorrhizas naturally established in *Nothofagus nervosa* seedlings under different cultivation practices in a forest nursery. *Microbial Ecology* 66: 581–592. ISSN 0095-3628.

Fernández, L. (2017). Colonización y composición de morfotipos ectomicorríticos en especies de la familia Nothofagaceae (Bachelor's thesis).

Fernández, N., Messuti, M. I., & Fontenla, S. (2008). Arbuscular mycorrhizas and dark septate fungi in *Lycopodium paniculatum* (Lycopodiaceae) and *Equisetum bogotense* (Equisetaceae) in a Valdivian temperate forest of Patagonia, Argentina. *American Fern Journal*, 98(3), 117-127.

Fernández-García, V., Miesel, J., Baeza, M. J., Marcos, E., & Calvo, L. (2019). Wildfire effects on soil properties in fire-prone pine ecosystems: Indicators of burn severity legacy over the medium term after fire. *Applied Soil Ecology*, 135, 147-156.

Fontenla, S., Baccalá, N., & HAVRYLENKO, Y. M. (2001). Dinámica de las micorrizas arbusculares en dos bosques de *Austrocedrus chilensis*. *Ecología*, (15), 37-44.

Fontenla, S., Godoy, R., Rosso, P., & Havrylenko, M. (1998). Root associations in *Austrocedrus* forests and seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizas. *Mycorrhiza*, 8(1), 29-33.

Fox J, Weisberg S (2019). An R Companion to Applied Regression, Third edition. Sage, Thousand Oaks CA. <<https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>>.

Gardes M. & Bruns T.D. (1993). ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes — application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.* 2(2): 113–118.

Gargaglione, V., Peri, P. L., & Rubioc, G. (2013). Partición diferencial de nutrientes en árboles de *Nothofagus antarctica* creciendo en un gradiente de calidades de sitio en Patagonia Sur. *Bosque* (Valdivia), 34(3), 291-302.

Grand, L.F. & Harvey, A.E. (1982) Quantitative measurement of ectomycorrhizae on plant roots. En: Methods and Principles of Mycorrhizal Research. Shenck NC (Ed.). *American Phytopathological Society, Saint Paul*: 157-164.

Hartig, F. (2022). DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. R package version 0.4.6. <http://florianhartig.github.io/DHARMA/>.

Hashimoto, Y., & Hyakumachi, M. (1998). Distribution of ectomycorrhizas and ectomycorrhizal fungal inoculum with soil depth in a birch forest. *Journal of Forest Research*, 3(4), 243-245.

He, T., & Lamont, B. B. (2018). Baptism by fire: the pivotal role of ancient conflagrations in evolution of the Earth's flora. *National Science Review*, 5(2), 237-254.

## Bibliografía

- He, T., Lamont, B. B., & Pausas, J. G. (2019). Fire as a key driver of Earth's biodiversity. *Biological Reviews*, 94(6), 1983-2010.
- Hernández, T., Garcia, C., & Reinhardt, I. (1997). Short-term effect of wildfire on the chemical, biochemical and microbiological properties of Mediterranean pine forest soils. *Biology and fertility of soils*, 25, 109-116.
- Hewitt, R. E., Bent, E., Hollingsworth, T. N., Chapin III, F. S., & Taylor, D. L. (2013). Resilience of Arctic mycorrhizal fungal communities after wildfire facilitated by resprouting shrubs. *Ecoscience*, 20(3), 296-310.
- Kitzberger, T., & Veblen, T. T. (2003). Influences of climate on fire in northern Patagonia, Argentina. *Fire and climatic change in temperate ecosystems of the western Americas*, 296-321.
- Kitzberger, T., Perry, G. L. W., Paritsis, J., Gowda, J. H., Tepley, A. J., Holz, A., & Veblen, T. T. (2016). Fire–vegetation feedbacks and alternative states: common mechanisms of temperate forest vulnerability to fire in southern South America and New Zealand. *New Zealand Journal of Botany*, 54(2), 247-272.
- Kitzberger, T., Tiribelli, F., Barberá, I., Gowda, J. H., Morales, J. M., Zalazar, L., & Paritsis, J. (2022). Projections of fire probability and ecosystem vulnerability under 21st century climate across a trans-Andean productivity gradient in Patagonia. *Science of the total environment*, 839, 156303.
- Kuhar, F., Barroetaveña, C., & Rajchenberg, M. (2016). New species of *Tomentella* (Thelephorales) from the Patagonian Andes forests. *Mycologia*, 108(4), 780-790.
- La Manna, L., & Barroetaveña, C. (2011). Propiedades químicas del suelo en bosques de *Nothofagus antarctica* y *Austrocedrus chilensis* afectados por fuego. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 43(1), 41-55.
- Lenth R (2022). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.8.1-1, <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>.
- Longo, M. S., Urcelay, C., & Nouhra, E. (2011). Long term effects of fire on ectomycorrhizas and soil properties in *Nothofagus pumilio* forests in Argentina. *Forest ecology and management*, 262(3), 348-354.
- Lopez, S., & Madariaga, M. C. (2021). Dinámica poblacional y la incidencia de incendios en la Comarca Andina del paralelo 42°. EEA Bariloche, INTA.
- Massicotte, H. B., Trappe, J. M., Peterson, R. L., & Melville, L. H. (1992). Studies on *Cenococcum geophilum*. II. Sclerotium morphology, germination, and formation in pure culture and growth pouches. *Canadian Journal of Botany*, 70(1), 125-132.
- McGonigle TP, Miller MH, Evans DG, Fairchild GL & JA Swan (1990) A new method which gives and objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115: 495-501.
- McLauchlan, K. K., Higuera, P. E., Miesel, J., Rogers, B. M., Schweitzer, J., Shuman, J. K., ... & Watts, A. C. (2020). Fire as a fundamental ecological process: Research advances and frontiers. *Journal of Ecology*, 108(5), 2047-2069.
- Mermoz, M., Kitzberger, T., & Veblen, T. T. (2005). Landscape influences on occurrence and spread of wildfires in Patagonian forests and shrublands. *Ecology*, 86(10), 2705-2715.

## Bibliografía

- Mestre, M.C., & Fontenla, S. (2021). Yeast communities associated with ectomycorrhizal fungi in different *Nothofagus* forests of northwestern Patagonia. *Symbiosis* 84:179–193
- Mohr Bell, D. (2021). Informe de superficie afectada por el Incendio de Paraje Los Repollos - Cuesta del Ternero, El Bolsón, provincia de Río Negro. CIFAB (9).
- Mundra, S., Kjønaas, O. J., Morgado, L. N., Krabberød, A. K., Ransedokken, Y., & Kauserud, H. (2021). Soil depth matters: shift in composition and inter-kingdom co-occurrence patterns of microorganisms in forest soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 97(3), fiab022.
- Muqaddas, B., Zhou, X., Lewis, T., Wild, C., & Chen, C. (2015). Long-term frequent prescribed fire decreases surface soil carbon and nitrogen pools in a wet sclerophyll forest of Southeast Queensland, Australia. *Science of the Total Environment*, 536, 39-47.
- Neary, D. G., Klopatek, C. C., DeBano, L. F., & Ffolliott, P. F. (1999). Fire effects on belowground sustainability: a review and synthesis. *Forest ecology and management*, 122(1-2), 51-71.
- Nielsen, M. N., Winding, A., Binnerup, S., & Hansen, B. M. (2002) Microorganisms as indicators of soil health. NERI Technical Report No. 388, Environmental Research Institute, Ministry of the Environment. Dinamarca.
- Norouzi, M., & Ramezanzpour, H. (2013). Effect of fire on chemical forms of iron and manganese in forest soils of Iran. *Environmental Forensics*, 14(2), 169-177.
- Nouhra, E., Urcelay, C., Longo, S., & Tedersoo, L. (2013). Ectomycorrhizal fungal communities associated to *Nothofagus* species in Northern Patagonia. *Mycorrhiza*, 23(6), 487-496.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Ris, E. A., Boller, T., & Wiemken, A. (2005). Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi at different soil depths in extensively and intensively managed agroecosystems. *New Phytologist*, 165(1), 273-283.
- Oksanen, J., Simpson, G., Blanchet, F., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P., O'Hara, R., Solymos, P., Stevens, M., Szoecs, E., Wagner, H., Barbour, M., Bedward, M., Bolker, B., Borcard, D., Carvalho, G., Chirico, M., De Caceres, M., Durand, S., Evangelista, H., FitzJohn, R., Friendly, M., Furneaux, B., Hannigan, G., Hill, M., Lahti, L., McGlenn, D., Ouellette, M., Ribeiro Cunha, E., Smith, T., Stier, A., Ter Braak, C., Weedon, J. (2022). *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.6-2, <<https://CRAN.R-project.org/package=vegan>>.vegan
- Oneț, A., Dincă, L., Teușdea, A., Crișan, V., Bragă, C., Enescu, R., & Oneț, C. (2019). The influence of fires on the biological activity of forest soils in Vrancea, Romania. *Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ)*, 18(12).
- Palfner, G., Canseco, M. I., & Casanova-Katny, A. (2008). Post-fire seedlings of *Nothofagus alpina* in Southern Chile show strong dominance of a single ectomycorrhizal fungus and a vertical shift in root architecture. *Plant and Soil*, 313, 237-250.
- Pattinson, G. S., Hammill, K. A., Sutton, B. G., & McGee, P. A. (1999). Simulated fire reduces the density of arbuscular mycorrhizal fungi at the soil surface. *Mycological Research*, 103(4), 491-496.
- Peay, K. G., Kennedy, P. G., & Talbot, J. M. (2016). Dimensions of biodiversity in the Earth microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 14(7), 434-447.
- Pérez-Valera, E., Verdu, M., Navarro-Cano, J. A., & Goberna, M. (2018). Resilience to fire of phylogenetic diversity across biological domains. *Molecular Ecology*, 27(13), 2896-2908.

## Bibliografía

- Peri, P. L., & Ormaechea, S. G. (2013). Relevamiento de los bosques nativos de ñire (*Nothofagus antarctica*) en Santa Cruz: base para su conservación y manejo. *Ediciones INTA*.
- Phillips, J. M., & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British mycological Society*, 55(1), 158-161.
- Premoli, A. (1991). Morfología y capacidad germinativa en poblaciones de *Nothofagus antarctica* (Forster). *Bosque*, 12(2), 53-59.
- R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rashid, A., Ahmed, T., Ayub, N., & Khan, A. G. (1997). Effect of forest fire on number, viability and post-fire re-establishment of arbuscular mycorrhizae. *Mycorrhiza*, 7(4), 217-220.
- Rasmussen, A. L., Brewer, J. S., Jackson, C. R., & Hoeksema, J. D. (2018). Tree thinning and fire affect ectomycorrhizal fungal communities and enzyme activities. *Ecosphere*, 9(10), e02471.
- Rincón, A., de Felipe, M. R. & Fernández-Pascual, M. (2007) Inoculation of *Pinus halepensis* Mill. with selected ectomycorrhizal fungi improves seedling establishment 2 years after planting in a degraded gypsum soil. *Mycorrhiza* 18: 23–32.
- 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.
- Salgado Salomón, M. E., Barroetaveña, C., Pildaín, M. B., Kuhar, F. & Rajchenberg, M. (2017). Tomentella (Thelephorales, Basidiomycota) en bosques de Nothofagaceae de Patagonia, Argentina: micorrizas de nuevas especies. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*. 53: 423-434pp.
- Santín, C., & Doerr, S. H. (2016). Fire effects on soils: the human dimension. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1696), 20150171.
- Schlatter, D. C., Kahl, K., Carlson, B., Huggins, D. R., & Paulitz, T. (2018). Fungal community composition and diversity vary with soil depth and landscape position in a no-till wheat-based cropping system. *FEMS microbiology ecology*, 94(7), fiy098.
- Shannon, C. E., & Weaver, W. (1949). The mathematical theory of communication. University of Illinois Press. Urbana, IL, EEUU.
- Smith, M. E., Henkel, T. W., & Rollins, J. A. (2015). How many fungi make sclerotia?. *Fungal Ecology*, 13, 211-220.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis* (3<sup>rd</sup> edition). Academic press.
- Soto-Mancilla, M. (2022). Impacto de diferentes intensidades de fuego sobre el comportamiento micorrízico y desarrollo vegetal de una especie forestal nativa (*Nothofagus antarctica*) y una exótica invasora (*Pinus contorta*). Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Comahue
- Steidinger, B. S., Crowther, T. W., Liang, J., Van Nuland, M. E., Werner, G. D., Reich, P. B., ... & Hauralt, B. (2019). Climatic controls of decomposition drive the global biogeography of forest-tree symbioses. *Nature*, 569(7756), 404-408.

## Bibliografía

- Stendell, E. R., Horton, T. R., & Bruns, T. D. (1999). Early effects of prescribed fire on the structure of the ectomycorrhizal fungus community in a Sierra Nevada ponderosa pine forest. *Mycological Research*, 103(10), 1353-1359.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Fisiología vegetal* (Vol. 10). Universitat Jaume I.
- Taudière, A., Richard, F., & Carcaillet, C. (2017). Review on fire effects on ectomycorrhizal symbiosis, an unachieved work for a scalding topic. *Forest Ecology and Management*, 391, 446-457.
- Tedersoo, L., Bahram, M., & Zobel, M. (2020). How mycorrhizal associations drive plant population and community biology. *Science*, 367(6480), eaba1223.
- Urretavizcaya, M. F. (2010). Propiedades del suelo en bosques quemados de *Austrocedrus chilensis* en Patagonia, Argentina. *Bosque (Valdivia)*, 31(2), 140-149.
- Urretavizcaya, M. F., Defossé, G. E., & Gonda, H. E. (2006). Short-term effects of fire on plant cover and soil conditions in two *Austrocedrus chilensis* (cypress) forests in Patagonia, Argentina. *Annals of forest science*, 63(1), 63-71.
- Vásquez-Gassibe, P., Oria-de-Rueda, J. A., Santos-del-Blanco, L., & Martín-Pinto, P. (2016). The effects of fire severity on ectomycorrhizal colonization and morphometric features in *Pinus pinaster* Ait. seedlings. *Forest Systems*, 25(1), e050-e050.
- Vázquez, J. A. (2017). *Los bosques de Ciprés de la Cordillera de Chile y Argentina: Estudio geobotánico* (Vol. 1). Jolube Consultor Botánico y Editor.
- Veblen, T. T., Donoso, C., Kitzberger, T., & Rebertus, A. J. (1996). Ecology of southern Chilean and Argentinean *Nothofagus* forests. *The ecology and biogeography of Nothofagus forests*, 10, 93-353.
- Veblen, T. T., Kitzberger, T., Villalba, R., & Donnegan, J. (1999). Fire history in northern Patagonia: the roles of humans and climatic variation. *Ecological Monographs*, 69(1), 47-67.
- Vilarino, A. & Arines, J. (1991). Numbers and viability of VA fungal propagules in field soil samples after wild fire. *Soil Biology and Biochemistry* 23, 1083–1087.
- Vilarino, A., & Arines, J. (1990). VAM propagule activity as affected by burning. *Symbiosis*, 9, 129-131.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In PCR protocols: a guide to methods and applications. Edited by M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White. Academic Press, New York. pp. 315–322.
- Wickham, H (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4, <<https://ggplot2.tidyverse.org>>.
- Xiang, X., Gibbons, S. M., Yang, J., Kong, J., Sun, R., & Chu, H. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungal communities show low resistance and high resilience to wildfire disturbance. *Plant and Soil*, 397, 347-356.

## Bibliografía

Yang, T., Tedersoo, L., Lin, X., Fitzpatrick, M. C., Jia, Y., Liu, X., ... & Chu, H. (2020). Distinct fungal successional trajectories following wildfire between soil horizons in a cold-temperate forest. *New Phytologist*, 227(2), 572-587.

## Anexo

### ANEXOS

Tabla suplementaria 1. Ectomorfitipos (MT) encontrados en ñire y número de muestras enviadas a secuenciar a MacroGen de cada uno. Se informa también la especie de hongo ectomicorrícico (HEcM) a la que correspondió cada MT según la base de datos del NCBI y la muestra (árbol) de la que provino la muestra. En los casos en los que se encontró más de una especie de HEcM para un mismo MT, se indica con el mismo color qué especie se encontró en cada muestra (árbol). A su vez, en rojo se indican las secuencias que fueron de mala calidad en los casos que se envió más de una muestra de HEcM por MT.

MT	N° de muestras enviadas a secuenciar	HEcM	Muestra de suelo de la que proviene
MT 1	1	<i>Cortinarius</i> sp. 3	N3P
MT 2	1	Inocybaceae 1	N3P
MT 3	1	<i>Cenococcum geophilum</i>	N2P
MT 4	1	<i>Tomentella patagonica</i>	N3P
MT 6	1	<i>Cortinarius</i> sp. 1	N3P
MT 7b	1	<i>Tomentella</i> sp. 1	N5P
MT 8a	1	<i>Cortinarius</i> sp. 3	N2P
MT 8b	1	Inocybaceae 1	N2S
MT 9a	1	Inocybaceae 1	N3S
MT 9b	6	Pyronemataceae 1 (x4, secuencias de mala calidad x2)	N1S, N4S, N1P, N2P, N4P y N5P
MT 9c	1	Inocybaceae 1	N3S
MT 10	4	<i>Cortinarius</i> sp. 1 (x2), <i>Hysterangium</i> sp. 1 (x2)	N2S, N3S, N4S y N5S
MT 11	2	<i>Hysterangium</i> sp. 1 (x2)	N2S y N5S
MT 12	1	Pyronemataceae 1	N5S
MT 13	1	Inocybaceae 1	N5S
MT 14	3	<i>Tomentella</i> sp. 1 (x3)	N2S
MT 15	2	Sordariomycete 1 (x2)	N4S y N4P
MT 16a	2	<i>Cortinarius</i> sp. 2, <i>Tomentella patagonica</i>	N4P y N5S
MT 16b	2	<i>Tomentella patagonica</i> , <i>Cortinarius</i> sp. 2	N1P y N3S
MT 17	3	<i>Tomentella patagonica</i> (x3)	N1S, N2S y N4P
MT 18	1	Inocybaceae 1	N1S
MT 19	1	<i>Tomentella</i> sp. 1	N1S
MT 20	1	<i>Cortinarius</i> sp. 2	N1S
MT 21	1	Secuencia de mala calidad	N1P
MT 22	1	Secuencia de mala calidad	N2P
MT 23	1	Secuencia de mala calidad	N2S

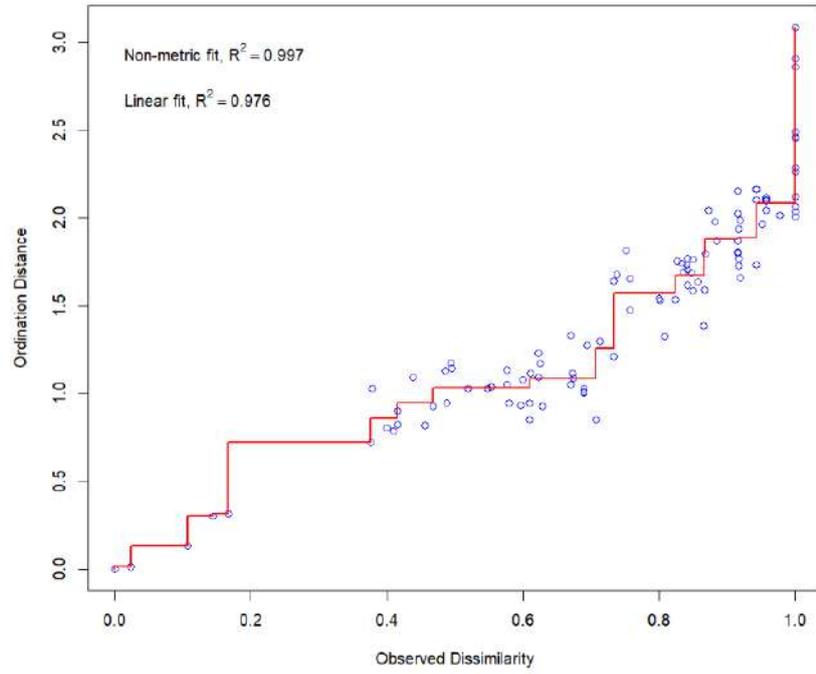


Figura suplementaria 1. Stressplot del análisis NMDS HECM.

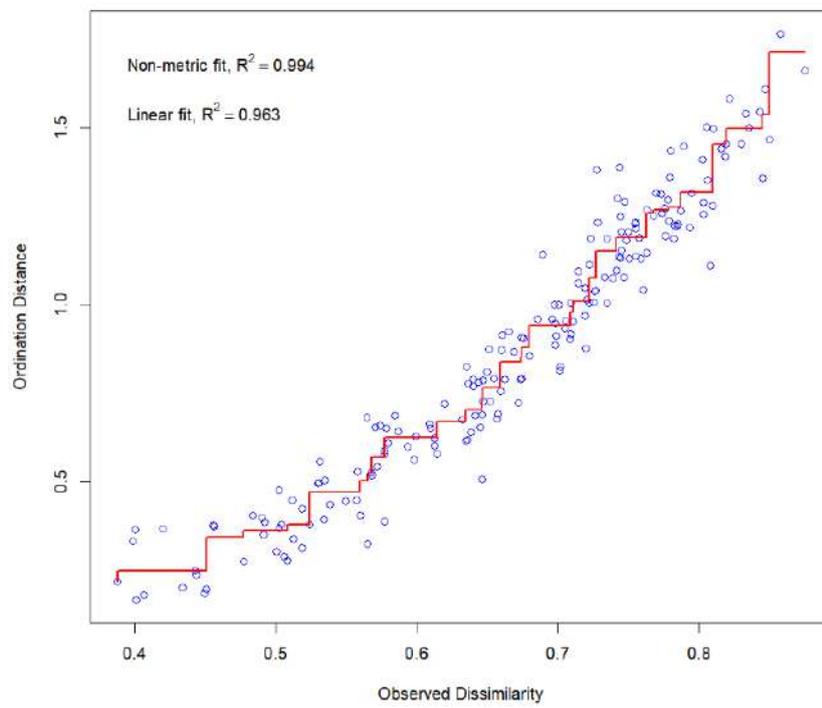


Figura suplementaria 2. Stressplot del análisis NMDS de las comunidades fúngicas totales de los suelos de cipresal.

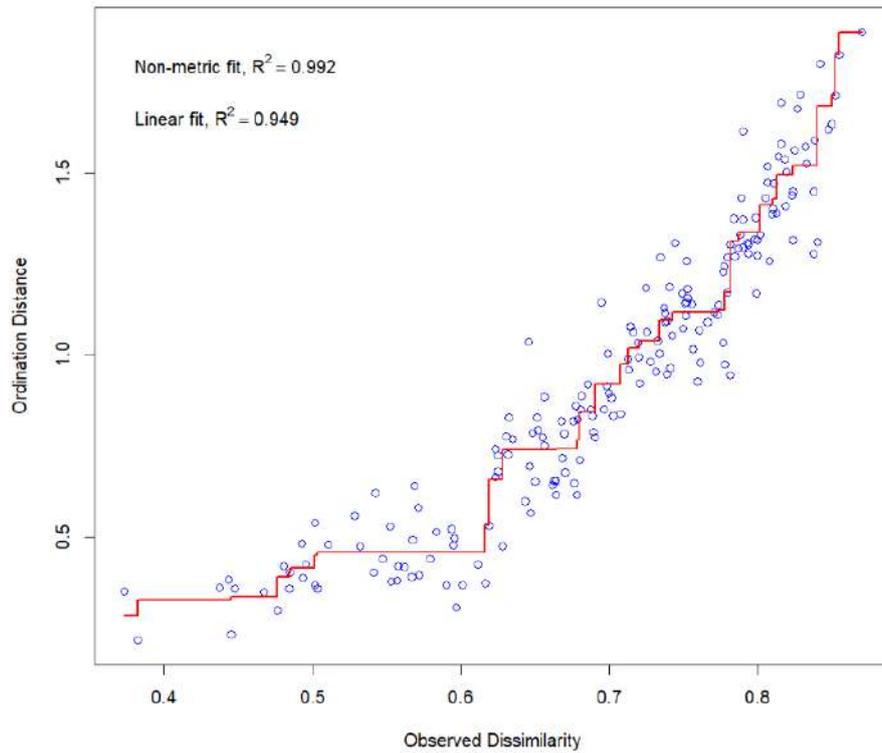


Figura suplementaria 3. Stressplot del análisis NMDS de las comunidades fúngicas totales de los suelos de ñirantal.

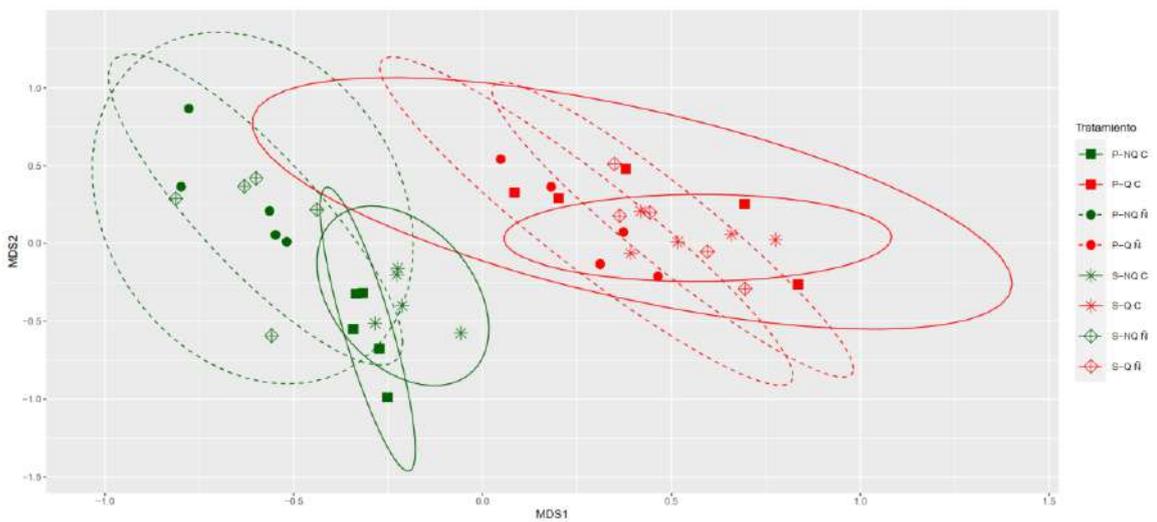


Figura suplementaria 4. Análisis de NMDS con los datos de OTUs de cipresal (C) y ñirantal (Ñ), según profundidad (P = 10-20 cm, S = 0-5 cm) y condición de quemado (NQ: no quemado, Q: quemado). Las elipses representan el error estándar, por lo que el grado de solapamiento es indicativo de la similitud o diferenciación de las comunidades.