



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA INDOAMÉRICA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MEDIO AMBIENTE
INGENIERÍA EN BIODIVERSIDAD Y RECURSOS GENÉTICOS
PROYECTO DE TITULACIÓN

TEMA:

**BIODIVERSIDAD EDÁFICA DE HONGOS Y BACTERIAS BAJO
DISTINTAS COBERTURAS DE LA TIERRA Y SU POTENCIAL PARA LA
RESTAURACIÓN DE SUELOS CON CARACTERÍSTICAS ÁNDICAS**

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de INGENIERA EN
BIODIVERSIDAD Y RECURSOS GENÉTICOS

Autor(a)

Beltrán Benavides Sharon Patricia

Tutor(a)

Bonilla Bedoya Santiago Patricio Ph.D

QUITO – ECUADOR

2024

**AUTORIZACIÓN POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN
PARCIAL O TOTAL, Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TRABAJO DE
TÍTULACIÓN**

Yo, Sharon Patricia Beltrán Benavides, declaro ser autora del Trabajo de Titulación con el nombre **“BIODIVERSIDAD EDÁFICA DE HONGOS Y BACTERIAS BAJO DISTINTAS COBERTURAS DE LA TIERRA Y SU POTENCIAL PARA LA RESTAURACIÓN DE SUELOS CON CARACTERÍSTICAS ÁNDICAS”**, como requisito para optar al grado de Ingeniera en Biodiversidad y Recursos Genéticos y autorizo al Sistema de Bibliotecas de la Universidad Tecnológica Indoamérica, para que con fines netamente académicos divulgue esta obra a través del Repositorio Digital Institucional (RDI-UTI).

Los usuarios del RDI-UTI podrán consultar el contenido de este trabajo en las redes de información del país y del exterior, con las cuales la Universidad tenga convenios. La Universidad Tecnológica Indoamérica no se hace responsable por el plagio o copia del contenido parcial o total de este trabajo.

Del mismo modo, acepto que los Derechos de Autor, Morales y Patrimoniales, sobre esta obra, serán compartidos entre mi persona y la Universidad Tecnológica Indoamérica, y que no tramitaré la publicación de esta obra en ningún otro medio, sin autorización expresa de la misma. En caso de que exista el potencial de generación de beneficios económicos o patentes, producto de este trabajo, acepto que se deberán firmar convenios específicos adicionales, donde se acuerden los términos de adjudicación de dichos beneficios.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Quito, a los 29 días del mes de enero de 2024, firmo conforme:

Autor: Sharon Patricia Beltrán Benavides

Firma:.....

Número de Cédula: 1727515213

Dirección: Pichincha, Quito, Cotacollao, Thomas.

Correo Electrónico: sharonbeltran9bhcb@hotmail.com

Teléfono: 0999783223

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Titulación “BIODIVERSIDAD EDÁFICA DE HONGOS Y BACTERIAS BAJO DISTINTAS COBERTURAS DE LA TIERRA Y SU POTENCIAL PARA LA RESTAURACIÓN DE SUELOS CON CARACTERÍSTICAS ÁNDICAS” presentado por Sharon Patricia Beltrán Benavides, para optar por el Título Ingeniera en Biodiversidad y Recursos Genéticos,

CERTIFICO

Que dicho trabajo de investigación ha sido revisado en todas sus partes y considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del Tribunal Examinador que se designe.

Quito, 29 de enero del 2024

.....
PhD. Santiago Patricio Bonilla Bedoya

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Quien suscribe, declaro que los contenidos y los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, como requerimiento previo para la obtención del Título de Ingeniera en Biodiversidad y Recursos Genéticos, son absolutamente originales, auténticos y personales y de exclusiva responsabilidad legal y académica del autor

Quito, 29 de enero del 2024

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Sh. Beltrán', is written over a horizontal dotted line.

Sharon Patricia Beltrán Benavides

1727515213

APROBACIÓN TRIBUNAL

El trabajo de Titulación, ha sido revisado, aprobado y autorizada su impresión y empastado, sobre el Tema: BIODIVERSIDAD EDÁFICA DE HONGOS Y BACTERIAS BAJO DISTINTAS COBERTURAS DE LA TIERRA Y SU POTENCIAL PARA LA RESTAURACIÓN DE SUELOS CON CARACTERÍSTICAS ÁNDICAS, previo a la obtención del Título de Ingeniera en Biodiversidad y Recursos Genéticos, reúne los requisitos de fondo y forma para que el estudiante pueda presentarse a la sustentación del trabajo de titulación.

Quito, 26 de febrero del 2024

.....
Dr. Salazar Valenzuela Christian David
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

.....
Ing. Jean Carlo Andrade Tobar MSc.
VOCAL

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a:

Mis padres, por ser una fuente inagotable de amor, apoyo e inspiración. A mi hermana que siempre me inspira a seguir adelante con su cariño y comprensión. A mis amigos, por compartir risas y crear juntos momentos inolvidables. A mis profesores, por su orientación, sabiduría y amor por la enseñanza. A todos aquellos que han sido parte de este viaje académico. A cada uno quienes dejaron una huella imborrable en mi corazón y contribuyeron a mi crecimiento personal y académico.

AGRADECIMIENTO

Primero, doy gracias a Dios por ser el motor que me impulsa a aprovechar los momentos buenos y sobrellevar los malos. A mis padres, que sin su sacrificio y arduo trabajo no hubiera sido posible este trabajo ni mi graduación. Le agradezco infinitamente a mi hermana que me dio su amor y apoyo en cada momento en el que me sentía perdida y sin ánimos de nada. A mi tutor, el PhD. Santiago Bonilla quien me guio en cada paso de este trabajo y dio su apoyo financiero. Gracias a la PhD. Patricia Salerno por brindar su conocimiento y sugerencias para elaborar y mejorar este trabajo. A los asistentes de investigación Ing. Kevin Valencia e Ing, María Belén Buenaño quienes integran el grupo de trabajo del Centro de Investigación para el Territorio y el Hábitat Sostenible (CITEHS), a la MSc. Natasha Baer e Ing. Kassandra Bazantes muchas gracias por su paciencia, ayuda y acompañamiento en trabajo de campo, investigación y laboratorio. A los docentes quienes tienen amor por la enseñanza y se convirtieron en más que profesores, en amigos.

ÍNDICE DE CONTENIDO

PORTADA.....	i
AUTORIZACIÓN PARA EL REPOSITORIO DIGITAL.....	ii
APROBACIÓN DEL TUTOR	iii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iv
APROBACIÓN TRIBUNAL	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
RESUMEN EJECUTIVO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN Y OBJETIVOS	4
1.1.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	4
1.1.2 OBJETIVOS	4

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO	6
2.1 DEGRADACIÓN DE SUELOS	6
2.1.1 Indicadores de la degradación del suelo	6
2.2 DESERTIFICACIÓN.....	7
2.2.1 Indicadores de la desertificación.....	9
2.3 CONTEXTO REGIONAL Y LOCAL.....	9
2.3.1 Degradación y desertificación en América Latina y Los Andes.....	9
2.3.2 Degradación y desertificación en Ecuador	10

2.4	RESTAURACIÓN DE SUELOS.....	12
2.4.1	Uso de microorganismos para restauración	13
2.5	INDICADORES BIOLÓGICOS EN LA RESTAURACIÓN DE SUELOS.....	14
2.5.1	Biodiversidad del suelo.....	14
2.5.2	Microbioma del suelo	16
2.5.3	Bioindicadores	17
2.6	METAGENÓMICA.....	18

CAPÍTULO III

3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	21
3.2	ÁREA DE ESTUDIO.....	21
3.2.1	Los Andes	21
3.2.2	Volcán Ilaló.....	21
3.2.3	Parroquia rural La Merced	22
3.2.4	Quebrada Manzanapugro	23
3.3	MUESTREO DE SUELO	25
3.4	EXTRACCIÓN DE ADN	27
3.5	CUANTIFICACIÓN DE ADN.....	31
3.6	SECUENCIACIÓN.....	34
3.7	ANÁLISIS DE DATOS	35
3.7.1	Abundancia relativa	35
3.7.2	Diagramas de Venn.....	36
3.7.3	Diversidad de las comunidades.....	36
3.7.4	Estadística PERMANOVA.....	37

CAPÍTULO IV

4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1	CARACTERIZACIÓN Y TENDENCIAS DE COMUNIDADES BACTERIANAS Y FÚNGICAS EN RELACIÓN CON LAS COBERTURAS DEL SUELO	38
4.1.1	Abundancia relativa	38
4.1.2	Comparación de las comunidades.....	44
4.2	DIVERSIDAD DE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS Y FÚNGICAS	49
4.2.1	Diversidad Alfa.....	49
4.2.2	Diversidad Beta.....	51
4.3	ESTADÍSTICA PERMANOVA.....	53

CAPÍTULO V

5.	CONCLUSIONES.....	55
6.	RECOMENDACIONES	56
7.	BIBLIOGRAFÍA	58
8.	ANEXOS	75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido del kit de extracción E.Z.N.A.® Soil DNA.....	27
Tabla 2. Cantidades en μL para la preparación de buffer TE 1X según la cantidad de muestras a cuantificar.....	31
Tabla 3. Cantidades en μL para la preparación de solución de trabajo con tinte según la cantidad de muestras a cuantificar.....	32
Tabla 4. Concentraciones en $\text{ng}/\mu\text{l}$ de ADN de las muestras de cada categoría.....	33
Tabla 5. Concentraciones de muestras extraídas por segunda vez.....	34
Tabla 6. Concentraciones en $\text{ng}/\mu\text{L}$ de las muestras luego de la repetición y unión de muestras.....	35
Tabla 7. Phyla bacterianos dominantes por categoría.....	39
Tabla 8. Estimadores de biodiversidad y riqueza de comunidades microbianas (bacterias y hongos) calculados en el rango taxonómico de phylum.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la quebrada Manzanapugro y los puntos de muestreo.....	24
Figura 2. Abundancia relativa de phyla bacterianos.....	38
Figura 3. Abundancia relativa de phyla fúngicos.....	43
Figura 4. Diagrama de Venn de phyla bacterianos.....	45
Figura 5. Diagrama de Venn de phyla fúngicos.....	48
Figura 6. Agrupación jerárquica por categoría (a) y por muestra (b) según el índice de similitud Bray-Curtis usando los phyla bacterianos.....	52
Figura 7. Agrupación jerárquica por categoría (a) y por muestra (b) según el índice de similitud Bray-Curtis usando los phyla fúngicos.....	53

UNIVERSIDAD TÉCNOLÓGICA INDOAMÉRICA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MEDIO AMBIENTE
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIODIVERSIDAD Y RECURSOS GENÉTICOS

**TEMA: BIODIVERSIDAD EDÁFICA DE HONGOS Y BACTERIAS BAJO DISTINTAS
COBERTURAS DE LA TIERRA Y SU POTENCIAL PARA LA RESTAURACIÓN DE
SUELOS CON CARACTERÍSTICAS ÁNDICAS**

AUTOR: Sharon Patricia Beltrán Benavides

TUTOR: PhD. Santiago Bonilla Bedoya

RESUMEN EJECUTIVO

La desertificación y degradación de suelos afecta al 47% de Ecuador debido a la deforestación, pérdida de cobertura vegetal, sobrepastoreo y urbanización. Aunque hongos y bacterias desempeñan funciones vitales en ecosistemas terrestres y son bioindicadores fiables de la calidad del suelo, en Ecuador no se estudia su relación con la cobertura de suelos volcánicos. Esta investigación analizó dicha relación en una quebrada de los Andes, explorando su potencial como bioindicador en procesos de restauración. Las comunidades bacterianas y fúngicas se caracterizaron mediante la secuenciación de genes 16S para bacterias e ITS para hongos, de muestras de suelo de cuatro coberturas (Bosque, Arbustos y herbáceas, Sedimento y Roca). Se usaron indicadores como la abundancia relativa, riqueza, diversidad alfa y beta, y estadística PERMANOVA, para el análisis de resultados. Se obtuvo 83 phyla bacterianos y 18 fúngicos. Proteobacteria, Acidobacteriota y Actinobacteriota fueron las bacterias más destacadas por su papel en la resiliencia y restauración de ecosistemas edáficos. En hongos, los más abundantes en todas las coberturas fueron Ascomycota y Basidiomycota que siguieron una tendencia opuesta según de la existencia de cobertura vegetal. En ambas comunidades se compartieron la gran mayoría de phyla entre las coberturas con pocos exclusivos, especialmente en hongos. La comunidad bacteriana es claramente más rica en especies, pero con una diversidad menor que en hongos. La agrupación jerárquica por categorías mostró más similitud entre “Bosque” y “Arbustos y herbáceas” en ambas comunidades, aunque por muestra solo bacterias mostraron grupos definidos. El PERMANOVA arrojó que estadísticamente no hay diferencia significativa entre coberturas. Se demostró que la quebrada es un paisaje heterogéneo en coberturas de suelo, pero homogéneo en la diversidad de hongos y bacterias. Estas tendencias microbiológicas muestran el potencial de restauración de suelo degradado de origen volcánico gracias a la presencia de indicadores biológicos en suelos sedimentarios y cangahua.

DESCRIPTORES: Bacterias, Coberturas del suelo, Desertificación, Hongos, Restauración

UNIVERSIDAD TÉCNOLÓGICA INDOAMÉRICA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MEDIO AMBIENTE
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIODIVERSIDAD Y RECURSOS GENÉTICOS

**THEME: EDAPHIC BIODIVERSITY OF FUNGI AND BACTERIA UNDER
DIFFERENT GROUND COVERS AND ITS POTENTIAL FOR THE RESTORATION
OF SOILS WITH ANDIC CHARACTERISTICS**

AUTOR: Sharon Patricia Beltrán Benavides

TUTOR: PhD. Santiago Bonilla Bedoya

ABSTRACT

Desertification and soil degradation affect 47% of Ecuador due to deforestation, loss of vegetation cover, overgrazing and urbanization. Although fungi and bacteria play vital functions in terrestrial ecosystems and are reliable bioindicators of soil quality, their relationship with volcanic soil cover have not been studied in Ecuador. This research analyzed this relationship in Andean ravine, exploring its potential as a bioindicator in restoration processes. The bacterial and fungal communities were characterized by sequencing 16S genes for bacteria and ITS for fungi, from soil samples of four ground covers (Forest, Shrub and Herbaceous, Sediment and Rock). Indicators such as relative abundance, richness, alpha and beta diversity, and PERMANOVA statistics were used for the analysis of results. 83 bacterial and 18 fungal phyla were obtained. Proteobacteria, Acidobacteriota and Actinobacteriota were the most notable bacteria for their role in the resilience and restoration of soil ecosystems. In fungi, the most abundant in all covers were Ascomycota and Basidiomycota, which followed an opposite trend depending on the existence of plant cover. In both communities, most phyla were shared between covers with few exclusive ones, especially in fungi. The bacterial community is clearly richer in species, but with lower diversity than in fungi. The hierarchical grouping by categories showed more similarity between “Forest” and “Shrub and Herbaceous” in both communities, but per sample only bacteria showed defined groups. PERMANOVA showed that there is no statistically significant difference between coverages. It was demonstrated that the ravine is a heterogeneous landscape in soil cover, but homogeneous in the diversity of fungi and bacteria. These microbiological trends show the potential for restoration of degraded soil of volcanic origin due to the presence of biological indicators in sedimentary and cangahua soils.

KEYWORDS: Bacteria, Desertification, Fungi, Ground covers, Restoration

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

El suelo sostiene la vida en la Tierra al ser un importante recurso no renovable que apoya la alimentación y combate la escasez de agua. Sin embargo, el clima y acciones humanas ponen en peligro a dicho recurso (Ferreira et al., 2022). La biodiversidad del suelo, a pesar de que brinda varios servicios ecosistémicos, no se toma en cuenta en decisiones políticas y se pierde aceleradamente gracias a la mala gestión del territorio y en general por la degradación de la tierra (Laban et al., 2018). Más del 75 % de la superficie terrestre ya sufre degradación y se calcula que la cifra aumentará al 90% para 2050 (European Commission, 2018). La degradación del suelo resulta de la interacción de factores antrópicos y/o naturales que afectan negativamente las propiedades del suelo. Los factores antrópicos se relacionan con el manejo, uso y gestión del suelo, mientras que los naturales tienen que ver con el agua, relieve, clima y coberturas (Gutiérrez Rodríguez, 2018). La producción primaria, depósito y descomposición de hojarasca son procesos fundamentales que se reducen a causa del cambio climático lo cual ejerce gran influencia en zonas secas que junto a procesos erosivos y lluvias intensas degradan el suelo (FAO, 2016). Sin embargo, procesos antrópicos como el sobrepastoreo, deforestación, incendios forestales y demás actividades intensivas también contribuyen a que los suelos de zonas secas sufran niveles de degradación sin precedentes (Bateman & Muñoz-Rojas, 2019).

Los tipos de degradación de suelos son física, química y biológica, procesos con efectos directos e indirectos cuya etapa final es la desertificación (Gutiérrez Rodríguez, 2018). La desertificación es definida como “la degradación de los suelos de zonas áridas, semiáridas y subhúmedas secas resultantes de diversos factores, entre ellos las variaciones climáticas y las actividades humanas” (UNCCD, 1994). Se reconoce que este es uno de los problemas mundiales más relevantes, en especial al preverse que, debido al cambio climático, en pocos años habrá un aumento de hasta 23% de áreas secas y 56% de zonas hiperáridas, áridas, semiáridas y secas subhúmedas (Huang et al., 2016; Huang et al., 2017). La desertificación se considera como una degradación extrema ya que es un fenómeno generalizado de alto nivel, largo plazo y multiescalar. De hecho, suele caracterizarse por ser un proceso generalmente irreversible al implicar la reducción o pérdida de recursos económicos y biológicos, complejidad de la tierra y productividad (Briassoulis, 2019). Cabe destacar que a menudo este es un problema causado por el desequilibrio entre la

disponibilidad de recursos naturales y el sistema socioeconómico que los usa, por lo tanto, la desertificación se relaciona con la conservación de ecosistemas y el manejo sustentable de sus recursos (Gutiérrez-Rodríguez, 2018). Por ello, descubrir las causas del problema, así como estrategias para revertirlo, es el objetivo de varias investigaciones de modo que al recuperar los suelos se pueda hacer contra a la degradación ambiental, desigualdad social y pérdida de productividad ecológica (Zucca et al., 2009; Gutiérrez Rodríguez, 2018).

Se estima que cerca del 47% del Ecuador está sujeto a procesos acelerados de degradación y desertificación, incluyendo el 11% del territorio que son tierras áridas, semiáridas y subhúmedas secas (MAATE, 2015). La degradación del suelo en el país se debe principalmente a causas como la deforestación, pérdida de cobertura vegetal, sobrepastoreo, urbanización, entre otras (Teich et al., 2023). Especialmente las zonas montañosas son vulnerables a la erosión por sus características topológicas y ambientales (Teich et al., 2023). Dichos aspectos, sumada la agricultura insostenible, provocan la aceleración de la desertificación, pérdida de carbono orgánico, productividad y biodiversidad. De hecho, estudios de análisis de vulnerabilidad física y ambiental en la Región Andina del Ecuador, evidenciaron que las fuertes precipitaciones, sequías, pendientes pronunciadas y manejo inadecuado del suelo causaron el deterioro en la productividad de cultivos y calidad del suelo (Barrera et al., 2020). Desde 2022 Ecuador puso en marcha el uso de tecnologías de mapeo que apoya la toma de decisiones en zonas degradadas (Teich et al., 2023); sin embargo, los análisis espacio-temporales deben complementarse con datos de campo que permitan caracterizar el componente biótico de tierras degradadas. Cabe desatacar que, en cuanto a suelos de origen volcánico en Ecuador, las investigaciones se enfocan en pedogénesis; efectos del sobrepastoreo en la vegetación; estabilización y almacenamiento de carbono; meteorización química; variabilidad de suelos de origen volcánico y su relación con el material parental, clima y usos; y la presencia de diversas sustancias químicas y nanopartículas (Silva-Yumi et al., 2021). Sin embargo, ningún estudio se enfoca en la diversidad edáfica de hongos y bacterias y su relación con la cobertura de la tierra como potencial indicador de la calidad de suelo de origen volcánico.

Las interacciones suelo-organismo son esenciales para los procesos biogeoquímicos y físicos de los ecosistemas, incluido el ciclo de nutrientes; capacidad de retención de agua; almacenamiento, filtración, amortiguación y transformación de compuestos; y la provisión de estabilidad física y apoyo al paisaje (Bonilla-Bedoya et al., 2017). Por ello, la importancia de los

organismos subterráneos para influir en los organismos de la superficie (y viceversa) debe considerarse en las nuevas investigaciones, de tal modo que una comprensión más completa de la biodiversidad del suelo amplíe la cartera de opciones de gestión para suelos amenazados y/o degradados (Geisen et al., 2019). En efecto, las funciones y fertilidad del suelo pueden recuperarse a través de estrategias que aumenten la biodiversidad edáfica y el contenido orgánico del suelo. Para ello se requiere mejorar la gestión en investigación, monitoreo, conservación y restauración de ecosistemas terrestres (Fischer et al., 2020; Guerra et al., 2021).

Recientemente la atención es dirigida al uso de microorganismos como algas, cianobacterias, líquenes, hongos y musgos para la restauración de suelos ya que sus funciones ecológicas son cruciales, especialmente en zonas secas al mejorar la retención de agua (Kumar et al., 2019b; Roncero-Ramos et al., 2019; Wang et al., 2020; Adessi et al., 2021). De hecho, investigaciones recientes respaldan la idea de que las diversas especies de microorganismos presentes en el suelo están estrechamente ligadas a la calidad de la materia orgánica, jugando un papel singular en su descomposición y retención en el suelo (Zhang et al., 2021). Incluso, se ha propuesto que la biodiversidad del suelo en su conjunto, o grupos individuales, son bioindicadores fiables de la calidad del suelo, ya que responden rápidamente a cambios y perturbaciones (Pulleman et al., 2012). Además, hay evidencia de que la biodiversidad del suelo se puede aplicar para restaurar tierras contaminadas o degradadas (Wubs et al., 2016). El desarrollo, aplicación y seguimiento de indicadores biológicos del suelo es posiblemente el aspecto más transformador en el marco de la calidad o salud del suelo, pues sus variaciones dan más información sobre la función del suelo en comparación con aspectos fisicoquímicos (Bonilla-Bedoya et al., 2023). Aun así, en los últimos 50 años, la producción científica en América Latina por país que consideran indicadores biológicos de la calidad del suelo es baja y muy baja excepto en Argentina y Brasil. En Ecuador la producción científica al respecto está en un rango de tan solo de 0 a 25 publicaciones en 50 años, un intervalo muy bajo considerando que Brasil supera las 200 publicaciones y Argentina está en un rango de 100 a 200. Especialmente la investigación de hongos y bacterias como bioindicadores de la calidad del suelo es la de menor frecuencia a pesar de ser microorganismos indispensables en el funcionamiento del ecosistema terrestre (Bonilla-Bedoya et al., 2023). De hecho, los hongos y bacterias son los principales impulsores de muchos procesos vitales en ecosistemas terrestres (Wang et al., 2019).

A pesar de que los organismos del suelo (microorganismos, micro meso y macrofauna) tienen gran influencia en el funcionamiento del mismo, la investigación acerca de su biología es un campo relativamente joven (Muñoz-Rojas et al., 2021; Ferreira et al., 2022). El avance de tecnologías genómicas permite revelar el papel de la biodiversidad edáfica demostrando la importancia de su diversidad y abundancia en la productividad primaria, nutrientes disponibles y la capacidad de descomposición en zonas áridas (Delgado-Baquerizo et al., 2016; Trivedi et al., 2019; Ochoa-Hueso et al., 2018). Especialmente la metagenómica permite estudiar comunidades microbianas en muestras ambientales, y los avances tecnológicos ahora permiten este análisis en suelos revelando la diversidad taxonómica y funcional de microorganismos terrestres (Sboner et al., 2011; Myrold et al., 2014).

Por la importancia de la caracterización de la biodiversidad edáfica para planes de restauración, especialmente en suelos degradados, y la falta de información sobre este aspecto en suelos de origen volcánico, en este trabajo se eligió como zona de estudio la quebrada Manzanapugro cerca al volcán Ilaló en la cordillera de los Andes (Ecuador). Esta quebrada es un paisaje de origen volcánico con distintas coberturas de tierra, desde roca (cangahua) y suelo desnudo hasta áreas boscosas de árboles pequeños, que presenta signos de degradación. De este modo fue posible lograr el objetivo general que fue analizar la relación entre la biodiversidad edáfica de hongos y bacterias en una quebrada de los Andes septentrionales bajo distintas coberturas del suelo, a través de estudios metagenómicos con el fin de discutir su potencial como indicador de procesos de restauración de suelos volcánicos.

1.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN Y OBJETIVOS

1.1.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Se pueden distinguir patrones entre comunidades de hongos y bacterias bajo distintas coberturas de suelo en la quebrada Manzanapugro?

1.1.2 OBJETIVOS

General

Analizar la relación entre la biodiversidad edáfica de hongos y bacterias en una quebrada de los Andes septentrionales bajo distintas coberturas del suelo, a través de estudios metagenómicos con el fin de discutir su potencial como indicador de procesos de restauración de suelos volcánicos.

Específicos

- Caracterizar la diversidad de hongos y bacterias del suelo bajo distintas coberturas a través de un levantamiento de campo y análisis de laboratorio.
- Determinar las tendencias respecto a la diversidad de hongos y bacterias en suelos con características ándicas bajo distintas coberturas a través de gráficas y métodos estadísticos.
- Discutir el papel de los indicadores biológicos del suelo en la restauración de ecosistemas andinos.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 DEGRADACIÓN DE SUELOS

La degradación del suelo se define como “un cambio en la salud del suelo resultando en una disminución de la capacidad del ecosistema para producir bienes o prestar servicios...” (FAO, 2016). Dicha degradación es provocada por factores climáticos como el incremento de temperaturas y cambios en las precipitaciones; y causas antrópicas, principalmente la reducción de la cobertura y diversidad vegetal del suelo causada por prácticas agrícolas inadecuadas, mal uso de tierra, incendios, deforestación y sobrepastoreo. (Gaitán et al., 2018; Bach et al., 2020; Muñoz-Rojas et al., 2021). La degradación de suelos se clasifica en física (compactación, erosión), química (pérdida de nutrientes, salinización, acidificación, contaminación, desequilibrio geoquímico) y biológicas (reducción de micro y macrofauna, pérdida de materia orgánica, reducción de biomasa del suelo). Estos tipos de degradación son procesos cuyo estado final es la desertificación (Gutiérrez Rodríguez, 2018). En general los efectos de este fenómeno pueden ser directos o indirectos. Los directos son conflictos de uso del suelo y territorio, deterioro del paisaje, inestabilidad territorial, deterioro de flora y fauna, pérdida de las propiedades y funciones del suelo, pérdida de la capacidad productiva, deterioro de la oferta de servicios ambientales y bajo rendimiento de cultivos (Gutiérrez Rodríguez, 2018). Por otro lado, los posibles efectos indirectos son vulnerabilidad y riesgo en infraestructura humana, aumento de amenazas hidrológicas y desastres naturales, abandono de tierras, aumento de pobreza, disminución de biodiversidad, pérdida de resiliencia frente al cambio climático, disminución de la calidad de vida de habitantes, pérdida del valor del suelo, pérdida de competitividad nacional, y amenazas a la seguridad alimentaria (Gutiérrez Rodríguez, 2018). Cabe destacar que a pesar de que la degradación del suelo es una problemática global, las soluciones deben aplicarse a nivel local, por lo que se necesita incrementar los esfuerzos de cooperación y compromiso a baja escala para detener la degradación de suelos y la pérdida de su biodiversidad (European Commission, 2018).

2.1.1 Indicadores de la degradación del suelo

Los estudios de calidad del suelo no pueden medir directamente la fertilidad, desertificación o degradación de la tierra. En su lugar se obtienen resultados con evaluaciones por lógica matemática

basados en algunas características físicas, químicas y biológicas del suelo (İmamoglu & Dengiz, 2019) que hacen posible estimar un índice de degradación de suelos y evaluar sus clases. Entre los indicadores físicos están la porosidad total, índice de separabilidad de partículas (ISP) y relación macro/microporosidad. Los indicadores químicos son las relaciones C/N, Ca/K, Ca/Mg, Ca/materia orgánica, carbono orgánico/arcilla; nitrógeno total; pH; y fósforo. Por último, los indicadores biológicos son carbono de biomasa microbiana y respiración basal también conocida como cociente metabólico (Acevedo et al., 2021). De este modo, es posible monitorear la condición y cambio en las propiedades del suelo (erosión, profundidad, textura, materia orgánica, pH, material original, drenaje, cal, salinidad y contaminación) para examinar la situación frente a la degradación de la tierra, lo cual juega un papel importante en la lucha contra la desertificación (İmamoglu & Dengiz, 2019).

2.2 DESERTIFICACIÓN

A escala mundial uno de los problemas ambientales más relevantes es la desertificación. Las Naciones Unidas definió la desertificación como “la degradación de los suelos de zonas áridas, semiáridas y subhúmedas secas resultantes de diversos factores, entre ellos las variaciones climáticas y las actividades humanas” (UNCCD, 1994). En la Convención de las Naciones Unidas de Lucha contra la Desertificación (UNCCD) se complementó al concepto definiendo la desertificación como la pérdida o reducción de la productividad económica o biológica del sistema bioproductivo terrestre que incluye la biota, procesos hidrológicos y ecológicas, y suelo especialmente en zonas áridas, semiáridas y subhúmedas secas, como efecto de los sistemas de uso insostenible de tierra incluyendo otras actividad humanas y climáticas. En la misma convención se reconoció que la sequía y desertificación son problemas de dimensión global en vista de que sus efectos inciden en todas las regiones del mundo (UNCCD, 2022). De hecho, modelos climáticos prevén un aumento de hasta 23% de áreas secas para 2100 debido al cambio climático y se pronostica que zonas hiperáridas, áridas, semiáridas y secas subhúmedas podrían llegar a ocupar hasta el 56% de la superficie terrestre en un futuro no muy lejano (Huang et al., 2016; Huang et al., 2017).

La similitud conceptual entre “desertificación” y “degradación” se discute y actualiza en todo el mundo. Dunjó (2004) señala que, si bien ambos procesos conducen a tierras parcial o totalmente improductivas, estas palabras no son sinónimos. La desertificación se centra en aquellos factores antrópicos y ambientales que afectan la productividad del suelo, mientras que la degradación se refiere a cambios en propiedades biológicas, químicas y físicas que afectan el crecimiento de plantas (Gutiérrez Rodríguez, 2018). De este modo, la desertificación puede entenderse como la degradación extrema del suelo de forma natural o provocada por el ser humano (desertización) que amenaza el buen funcionamiento del ecosistema. La desertificación es diferente de otros peligros naturales al ser un fenómeno generalizado de alto nivel, largo plazo y multiescalar que se experimenta como una degradación grave de la tierra (Briassoulis, 2019). Las características generales de la desertificación según Briassoulis (2019) son:

- (a) Se refiere a la degradación extrema de la tierra en las tierras secas (hiperáridas, áridas, semiáridas y secas subhúmedas).
- (b) A menudo es irreversible ya que implica la reducción o pérdida de recursos económicos y biológicos, complejidad de la tierra y productividad.
- (c) Implica procesos antrópicos y naturales que operan en múltiples escalas espaciotemporales.

Las fuerzas impulsoras de la desertificación pueden ser biofísicas y/o humanas. Las biofísicas son la hidrología, cubierta vegetal, clima, topografía, geología y las condiciones del suelo. Por otro lado, los impulsores humanos son la extracción y producción de energía, ganadería, agricultura, silvicultura, construcción de viviendas, transporte y turismo. En estos impulsores pueden incluirse los de tipo institucionales, como política nacional e internacional, tenencia de tierra y regímenes medioambientales y económicos internacionales, que podrían causar efectos negativos en regiones bioclimáticamente sensibles, preparando el escenario para una degradación extrema (Briassoulis, 2019). Un ejemplo de impulsor institucional son los subsidios y políticas sectoriales que a menudo empeoran los problemas de desertificación, ya que en ocasiones podrían incentivar actividades intensivas como los monocultivos en el caso de políticas agrícolas (Gambella et al., 2021).

Desde una perspectiva de sistemas adaptativos complejos, en los cuales pueden existir perturbaciones humanas y reorganizarse el territorio integrando lo social y ecológico en el paisaje,

la desertificación es un problema causado en gran medida por el desequilibrio entre los recursos naturales y el sistema socioeconómico que los usa (Gutiérrez Rodríguez, 2018), atrayendo consecuencias como la pérdida de complejidad del paisaje, degradación ambiental, desigualdad social, inestabilidad política, y pérdida de la productividad económica y biológica (Zucca et al., 2009; Gutiérrez Rodríguez, 2018). Es así que el problema está relacionado con la conservación de la biodiversidad, cambio climático y el manejo sustentable de los recursos naturales (Gutiérrez Rodríguez, 2018). Por ello, se requiere implementar estrategias basadas en múltiples variables que consideren la condición de la tierra, resiliencia de los suelos, potencial de la tierra y factores económicos, sociales y culturales, basadas en conocimiento científico y objetivos políticos. De este modo cada país podrá buscar soluciones ajustadas a problemas de desertificación local (Sterk & Stoorvogel, 2020).

2.2.1 Indicadores de la desertificación

El indicador de desertificación asignado por la UNCCD es la relación Precipitación/Evapotranspiración según el tipo de ecosistema (UNCCD, 2022). Sin embargo, existe otros cinco indicadores que ayudan a evaluar, monitorear y hasta cierto punto predecir la desertificación. Estos indicadores son biológicos, socioeconómicos, climáticos, físicos e hidrológicos (Dhinwa et al., 2016). En la actualidad también se emplean técnicas de teledetección y sistemas de información geográfica para identificar, evaluar y monitorear la desertificación en zonas específicas (Masoudi et al., 2018; İmamoglu & Dengiz, 2019; Kumar et al., 2019a; Kumar et al., 2022; Teich et al., 2023). Cabe destacar que, aunque la dinámica de la desertificación puede ser valorada y monitoreada a través de la combinación de información de campo y observaciones satelitales, las causas de la desertificación, las condiciones socioeconómicas y climáticas difieren ampliamente entre regiones. Esto reduce la precisión de identificación ya que se dan múltiples interacciones entre factores socioeconómicos y biofísicos (Xu et al., 2010).

2.3 CONTEXTO REGIONAL Y LOCAL

2.3.1 Degradación y desertificación en América Latina y Los Andes

En América Latina la exploración, explotación y exportación de estos recursos (minerales, gas, bosques y pastos) es rápida y provoca cambios drásticos en el uso de la tierra y la degradación generalizada del suelo (FAO & ITPS, 2015). A pesar de que algunos países de la región desarrollan

e implementan buenas políticas y enfoques para mitigar la degradación de la tierra, por ejemplo, Uruguay, Cuba y Brasil (FAO & ITPS, 2015), se calcula que para el 2050, tan solo en América Latina el 50% de las tierras podrían estar desertificadas (Molina & Lozano, 2016). Actualmente, este problema afecta al 35% de la región (aproximadamente 6,9 millones de km²) en diferentes tipos de ambientes áridos. Casi el 56% de suelos de América Latina y el Caribe es afectada por degradación química como aridez y salinidad, mientras que alrededor del 49% está expuesto a erosión hídrica (European Commission, 2014; Montaña-Lopez et al., 2021). En general, la región tiene graves problemas de desertificación en sus zonas áridas, semiáridas y subhúmedas secas y se estima que la vulnerabilidad de los suelos a la degradación afectará mucho más a dichas áreas incrementando la superficie afectada de 8% a 26,3% (European Commission, 2014).

Las dinámicas de degradación y desertificación del suelo no son desconocidas para los Andes. Aproximadamente el 80% de la cadena montañosa es afectado por la erosión causada por el clima y actividades agropecuarias con tecnologías insostenibles, inadecuadas y que no consideran la aptitud del suelo. Esto genera pérdidas progresivas del recurso además de la reducción considerable de materia orgánica, pérdida de capacidad productiva y acidificación del suelo (Bastidas & Botina, 2018). En las laderas montañosas los deslizamientos de tierra y la erosión hídrica son amenazas prominentes (FAO & ITPS, 2015). De hecho, las quebradas son el resultado del escurrimiento de agua que talla las capas superiores del suelo al desprender y transportar sedimentos al cono aluvial (Naş et al., 2021).

2.3.2 Degradación y desertificación en Ecuador

En Ecuador, la degradación de la tierra es un problema de larga data cuyas causas directas incluyen la deforestación, pérdida de la cobertura vegetal nativa, sobrepastoreo, desarrollo urbano, actividades mineras e industriales, y la contaminación del agua (Teich et al., 2023). A nivel nacional, cerca del 47% del país está sujeto a procesos de degradación (MAATE, 2015). Por ejemplo, cerca del 15% de suelos del Ecuador (37,5 mil km²) se encuentran erosionados. La región más afectada es la Amazonía (44%), seguido por la Costa (30 %) y Sierra (25,9 %) (Jiménez, 2011). Se estima que el 11% del territorio del Ecuador está compuesto de tierras áridas, semiáridas y subhúmedas secas que albergan alrededor de un millón habitantes, y que están sujetas a procesos acelerados de degradación y desertificación por agentes naturales y acción humana. Las zonas más afectadas están en las provincias de Azuay, Chimborazo, Guayas, El Oro, Loja, Manabí, Pichincha,

Santa Elena y Tungurahua (MAATE, 2015). Además, alrededor del 39,13% de las cuencas hidrográficas de Ecuador están en una etapa crítica de erosión, 28,26% en erosión seria, 4,35% erosión moderada, 26,09% en erosión potencial y tan solo el 2,17% no tiene riesgos de erosión (Benalcázar, 2017).

En 2022, se creó el Ecuador's LDN Decision Support System (LDN DSS) (Sistema de Apoyo a la Decisión de Neutralidad de la Degradación de la Tierra (LDN) de Ecuador), una herramienta interactiva desarrollada para integrar indicadores que apoyan el mapeo de la degradación de la tierra y la toma de decisiones sobre el problema. Esta herramienta pretende contribuir al avance hacia la LDN a través de un proceso participativo que involucra a los tomadores de decisiones del sector público junto con otras partes interesadas relevantes. Esto se está utilizando para mapear no solo puntos críticos de degradación, sino también falsos positivos y negativos en los informes respecto al tema (Teich et al., 2023).

En el país, la tenencia de tierras es una de las causas agravantes de los procesos de desertificación y degradación del suelo. Este factor se vincula directamente con el modelo de desarrollo que se implementó en Ecuador hasta hace poco más de dos décadas. En parte, esto se debe a que los conflictos de tenencia e invasión de tierras limitan la aplicación de programas de producción que involucren un mejor manejo de los recursos naturales. Por otra parte, la propiedad sobre el suelo con frecuencia conduce a su mal uso con prácticas como la sobreexplotación de los recursos naturales sumado a políticas destinadas a incentivar la producción para exportación (MAATE, 2013).

Actualmente la desertificación es un problema innegable en Ecuador que, si bien se presenta con mayor intensidad en la Costa, algunas provincias de la Sierra manifiestan tendencias progresivas (Salomón et al., 2008). Las zonas montañosas albergan ecosistemas únicos que brindan servicios de suma importancia para Ecuador. Estas áreas son particularmente frágiles y vulnerables a erosión y otras problemáticas debido a sus características ambientales y topográficas, lo cual se agrava por el cambio climático (Teich et al., 2023). En tierras altas de la Sierra, la agricultura a pequeña escala se relaciona con la erosión excesiva del suelo y la degradación de su salud. Esto, sumado a la intensidad y distribución de las lluvias provocadas por el cambio

climático, aceleran el ritmo de procesos erosivos, inundaciones y desertificación; incluyendo la pérdida de carbono orgánico, productividad y biodiversidad (Barrera et al., 2020).

2.4 RESTAURACIÓN DE SUELOS

La fertilidad y funcionalidad del suelo puede aumentar mediante estrategias de restauración que incrementen la biodiversidad y contenido orgánico del suelo. La década de la restauración (2021-2030) declarada por la ONU será crucial para la protección y restauración de las zonas secas degradadas en el mundo. Este es un reto que requiere de mejorar la gestión, monitoreo, conservación y restauración de ecosistemas terrestres (Fischer et al., 2020; Guerra et al., 2021). Por ejemplo, en China entre 1994-2005 se logró reducir la degradación del suelo en casi un millón de hectáreas gracias a proyectos centrados en frenar las actividades degradantes, sobre todo cultivos en pendientes pronunciadas, tala de árboles y pastoreo de cabras al aire libre (Dang et al., 2014).

Entre las prácticas usadas generalmente están:

- Enmienda orgánica

El aporte directo de materia orgánica al suelo, o enmienda orgánica, puede incrementar el contenido de carbono orgánico en el suelo además de favorecer la disponibilidad de otros nutrientes. En general, aumenta la calidad del suelo al ayudar a regular sus propiedades y contribuir al desarrollo de plantas (cobertura vegetal), lo cual a su vez mejora la biodiversidad del suelo y su fertilidad (Bach et al., 2020; İmamoglu & Dengiz, 2019; Irfan et al., 2019).

- Biochar

El biocarbono o biochar es un residuo alto en carbono que se produce por pirolisis a partir de biomasa animal y/o vegetal (Purakayastha et al., 2015). Su uso en zonas secas con suelos degradados se extendió en los últimos años para mejorar la fertilidad del suelo (Li et al., 2020; Romero et al., 2021). Su popularidad deriva de su potencial como secuestrador de carbono, ya que

el carbono que aporta el biochar es más estable y recalcitrante que el de otros compuestos orgánicos como el estiércol o abono (Irfan et al., 2019).

- Gestión sostenible del suelo

La agricultura de conservación garantiza rotación de cultivos, labranza mínima y cobertura del suelo con abono, que se combinan para aumentar la materia orgánica en el suelo y su fertilidad. Esto ayuda a mantener e incluso recuperar la biodiversidad (Muñoz-Rojas et al., 2021). Por otro lado, la gestión sostenible de tierras para pastoreo hace énfasis en gestionar la intensidad, duración y sincronización del pastoreo, garantizando el menor impacto posible. Otra forma de gestión sostenible es la agroforestería o agroecología, sistemas integrales entre árboles, pastos, arbustos y cosechas, que aumentan la diversidad, resiliencia y productividad de las fincas (Laban et al., 2018).

- Cambio de uso de tierra

El cambio de uso de la tierra toma dos formas; modificación de un tipo de uso de la tierra existente (e.g., cambio entre cultivos, cambio en el uso del bosque) o conversión de un tipo de uso de la tierra a otro (e.g., de tierra agrícola a industrial o urbana). La planificación del uso de la tierra es el principal instrumento del cambio planificado del suelo cuya efectividad depende críticamente de la disponibilidad de todo tipo de recursos (o capitales) en las combinaciones, lugares y momentos correctos. Esto permitirá implementar con éxito el plan de uso de la tierra y cumplir con las metas y objetivos de desarrollo sostenible (Briassoulis, 2019).

2.4.1 Uso de microorganismos para restauración

Los microorganismos, en especial los rizosféricos, pueden funcionar como sumideros de carbono que pueden almacenarse como biomasa o convertirse en metabolitos estables que eventualmente forman carbono orgánico recalcitrante mediante agregación y formación de complejos organominerales (Ayangbenro & Babalola, 2021). En zonas áridas, se usan bacterias de los géneros *Microbacterium*, *Arthrobacter*, *Planococcus*, *Streptomyces* y *Rhodococcus* para convertir los precipitados de carbonato de calcio y fijar CO₂ atmosférico (Liu et al., 2018; Liu et al., 2020).

En los últimos años hay más atención en el uso de microbios de vida libre que componen las costras biológicas o biocostras (comunidades de algas, cianobacterias, líquenes, hongos y musgos)

como restauradores del suelo y biofertilizantes (Roncero-Ramos et al., 2019; Wang et al., 2020). Estos organismos realizan funciones ecológicas cruciales para las zonas secas, por ejemplo, la fijación de nitrógeno y agregación de las partículas del suelo por liberación de exopolisacáridos (Chamizo et al., 2020; Adessi et al., 2021). Estas sustancias protegen a los microorganismos del estrés osmótico por desecación al controlar la difusión de compuestos orgánicos y mejorar la retención de agua, incluso mejora en la absorción de nutrientes favoreciendo al secuestro de carbono en los suelos (Kumar et al., 2019b). Las cianobacterias pueden establecerse en suelos desnudos debido a que tienen la capacidad de dispersarse y que son organismos tolerantes a la desecación capaces de reactivar su metabolismo tras la rehidratación (Muñoz-Rojas et al., 2021). Además de su papel en el control de la erosión con la mejora de la estructura y estabilidad del suelo, las cianobacterias que forman biocostras pueden fijar carbono y nitrógeno en el suelo, al ser las únicas procariotas capaces de realizar fotosíntesis oxigenada de manera similar a las plantas (Rocha et al., 2020; Wang et al., 2020). De este modo, se empezó a desarrollar nuevos métodos para aislar, cultivar e inocular cianobacterias y demás organismos de la biocostra para reestablecer la fertilidad de suelos degradados en zonas áridas (Faist et al., 2019; Chua et al., 2020; Román et al., 2020).

Estudios recientes confirman que la calidad de la materia orgánica que haya en el suelo se relaciona con las distintas especies microbianas que habitan en él, ya que contribuyen de manera única a su degradación y secuestro en el suelo (Zhang et al., 2021). En escenarios de cambio climático actuales y futuros, estos procesos dependerán de la sensibilidad de la biodiversidad del suelo a cambios ambientales, lo cual determinará su capacidad para utilizar las diferentes fuentes de materia orgánica en el suelo (Dacal et al., 2019; Fan et al., 2021).

2.5 INDICADORES BIOLÓGICOS EN LA RESTAURACIÓN DE SUELOS

2.5.1 Biodiversidad del suelo

Entre los hábitats con mayor cantidad de especies están los suelos. Dichos organismos son los responsables del desarrollo y funcionamiento del ecosistema terrestre. Aproximadamente, el costo de los servicios ecosistémicos proporcionados por la biodiversidad de los suelos a nivel mundial está entre 1500 a 13000 miles de millones de dólares europeos al año (Van der Putten et al., 2004;

Laban et al., 2018). La mayoría de los organismos (lombrices, insectos, protozoarios, hongos, bacterias, etc.) habitan en una capa superior del suelo (2-3 cm) donde se concentra la mayor cantidad de materia orgánica y raíces, en donde interactúan entre ellos, con plantas y otros animales, formando una red de actividad biológica (Orgiazzi et al., 2016; Ferrenberg et al., 2017). Esta biodiversidad puede emplearse como indicador de la calidad del suelo ya que de ella depende el desempeño de funciones clave como el mantenimiento de la estructura del suelo, absorción de desechos orgánicos y reciclaje de nutrientes. De este modo, una mayor biodiversidad genera más estabilidad en el suelo y aumenta la resiliencia del ecosistema (Jónsson & Davíðsdóttir, 2016; Laban et al., 2018). De hecho, la biodiversidad del suelo colabora al desarrollo de la vegetación superficial, ya que descompone residuos vegetales convirtiendo los nutrientes de la materia orgánica en minerales y formas orgánicas disponibles para la absorción de las plantas (Van der Putten et al., 2004).

En los suelos de ecosistemas áridos y semi-áridos se forma una corteza biológica con las comunidades de organismos que habitan dentro del suelo o a pocos milímetros de profundidad. Dicha corteza es una asociación de partículas de tierra con microalgas, algas, cianobacterias, hongos, entre otras, que tienen papeles ecológicos fundamentales y diversos como la estabilización del suelo, fijación de nitrógeno y carbono, germinación de semillas, infiltración de agua, y demás propiedades que también influyen en la productividad del suelo y crecimiento vegetal (Laban et al., 2018). Cabe destacar que las cortezas biológicas de cianobacterias se forman con mayor probabilidad en suelo con cobertura vegetal escasa ya que son organismos que requieren energía solar para la fotosíntesis, por lo cual este tipo de cortezas pueden ser síntoma de degradación del suelo, aunque también podrían estabilizarlo y evitar más degradación (Belnap & Lange, 2003).

El conocimiento que se adquiere sobre la biodiversidad de los suelos se conecta al reconocer la importancia de dicha biodiversidad en el ecosistema, siendo ese el principal objetivo de instituciones como la Iniciativa Global para la Biodiversidad del Suelo (Bach et al., 2020; FAO et al., 2020). El avance de tecnologías en genómica, así como técnicas estadísticas y analíticas, permite comprender de mejor manera el papel de organismos edáficos. Esto es crucial para desarrollar nuevos métodos biotecnológicos y enfoques ecológicos que apoyen a la lucha contra la degradación del suelo (Delgado-Baquerizo et al., 2018; Román et al., 2020; Adessi et al., 2021). Gracias a dichos avances ya existen estudios a nivel global que están demostrando lo fundamental

de la abundancia y diversidad de los organismos del suelo para mantener la productividad primaria, nutrientes disponibles y la capacidad de descomposición en zonas áridas (Delgado-Baquerizo et al., 2016; Trivedi et al., 2019; Ochoa-Hueso et al., 2018). De igual manera se ha demostrado que las actividades humanas que involucran uso intensivo del suelo pueden impactar negativamente en la biodiversidad edáfica debido a la erosión, compactación o uso de químicos que destruyen los ciclos biológicos (Bach et al., 2020).

2.5.2 Microbioma del suelo

El suelo típico comprende partículas minerales de diferentes compuestos orgánicos adheridos, formas y tamaños. Las composiciones químicas y estructurales del suelo determinan sus propiedades fisicoquímicas, como la relación superficie-volumen (disponibilidad de oxígeno) dentro del suelo, capacidad de retención de agua, nutrientes disponibles y pH. La superficie del suelo puede sufrir cambios cíclicos dramáticos estacionales o diarios en sus propiedades fisicoquímicas, lo cual confiere una gran microheterogeneidad ambiental espacial y temporal que plantea desafíos importantes para ecólogos microbianos (Xu, 2006). Por ejemplo, recolectar una muestra que sea representativa de un suelo es un reto para cualquier tipo de estudio de suelos debido a la naturaleza heterogénea del medio y su variabilidad espaciotemporal. A menudo, el uso de diseños repetidos, toma de muestras compuestas y muestreo estratificado pueden ayudar a obtener muestras representativas apropiadas para abordar el objetivo de un experimento (Myrold et al., 2014). Cabe destacar que estimaciones actuales indican que un solo gramo de suelo puede contener más de 10 mil millones de células microbianas que representan desde varios miles hasta un millón de especies distintas (Xu, 2006). Por ello, la mayoría de los taxones microbianos del suelo permanecen sin describir (Vieira et al., 2021).

Las comunidades de hongos y bacterias que dominan las zonas desérticas son Basidiomycota, Ascomycota, Alphaproteobacteria, Acidobacteria y Actinobacteria (Tedersoo et al., 2014; Maestre et al., 2015). Entre los grupos funcionales de hongos que incluyen dichas zonas son en general descomponedores, patógenos y micorrizicos, los cuales desempeñan un papel esencial en la captura de carbono en los suelos por medio de la descomposición de materia orgánica (Verbruggen et al., 2018). Destacan los hongos micorrizicos ya que forman relaciones simbióticas con la mayoría de las plantas de zonas áridas, lo cual les permite mejorar la absorción de nutrientes y agua. Además, estos hongos mejoran las características químicas y físicas del suelo contribuyendo

a la acumulación de carbono por medio del enriquecimiento de materia orgánica y formación de agregados (Remke et al., 2021). En especial los hongos ectomicorrícicos (con hifas que penetran las raíces), son fundamentales para la vegetación nativa en ecosistemas secos al protegerla de patógenos, lo cual a su vez mejora la diversidad de los organismos del suelo (Tedersoo et al., 2020). A pesar de su importancia en una amplia variedad de procesos ecosistémicos y su potencial para mantener la biodiversidad del suelo, las comunidades microbianas de zonas secas son poco estudiadas (Vasar et al., 2021). De hecho, según un estudio, la mayoría de las especies de hongos desconocidas en el mundo están en las zonas secas (Delgado-Baquerizo, 2019).

2.5.3 Bioindicadores

El desarrollo de nuevas tecnologías y enfoques para utilizar los microbiomas del suelo para luchar contra la degradación del suelo y la desertificación es prometedor. En diversos estudios se resalta la importancia de emplear bioindicadores a nivel de especies de organismos del suelo, como lombrices, artrópodos, o nemátodos, y microorganismos para monitorear la fertilidad del suelo (Li et al., 2021). Además, varios investigadores proponen el uso de taxones poco comunes en cada suelo que, aunque sean escasos, pueden actuar como bioindicadores al ser relevantes para identificar procesos de degradación o recuperación de suelos en zonas secas (Wu et al., 2021).

En los últimos 50 años el 25% de la producción científica (577 artículos) estudió indicadores biológicos del suelo en hábitats naturales específicos, los más frecuentes fueron bosques (62,91%), pastizales (18,37%), humedales (11,09%); y en una media más baja en hábitats como desierto (3,63 %), sabana (2,07 %), áreas de pastoreo (1,03 %) y rocas (0,86 %). En el mismo período, la producción científica en América Latina por país que consideran indicadores biológicos de la calidad del suelo es baja y muy baja exceptuando a Argentina (alta) y Brasil (muy alta). Particularmente en Ecuador la generación de estudios relacionados a dichos temas es de tan solo de 0 a 25 publicaciones en los últimos 50 años (Bonilla-Bedoya et al., 2023). Además, Bonilla-Bedoya et al. (2023) identificaron 25 criterios/indicadores de calidad del suelo con una mayor aplicación en los últimos 50 años, de los cuales hongos y bacterias fueron los que se investigan con menor frecuencia. De hecho, la composición y abundancia comunidades bacterianas son indicadores cada vez más importantes de la calidad del suelo en general por sus respuestas a cambios ambientales, principalmente el Ph, nutrientes y vegetación (Zheng et al., 2020).

2.6 METAGENÓMICA

La palabra 'genómica' se ha convertido en un término ampliamente usado por la comunidad científica y el público en general. Un genoma se refiere al conjunto completo de genes y cromosomas en un organismo, aunque también se refiere al análisis funcional de genomas completos. Estos aspectos analíticos funcionales incluyen las transcripciones de ARN del genoma (transcriptómica), metabolitos (metabolómica) y proteínas (proteómica). Una disciplina “-ómica” muy usada es la metagenómica, la cual se refiere al estudio de los genomas colectivos en una comunidad ambiental. Los estudios de metagenomas suelen implicar la clonación de fragmentos de ADN aislados directamente de microbios en entornos naturales, seguidos de la secuenciación y el análisis funcional de los fragmentos clonados. Si bien la mayoría de las técnicas metagenómicas existen durante mucho tiempo y se usan rutinariamente en la investigación de biología molecular, su aplicación en el análisis de muestras de ADN ambiental desconocidas proporciona hallazgos interesantes (Xu, 2006).

La metagenómica, al ser independiente de cultivos en laboratorio, da acceso directo a la enorme diversidad genética de los microorganismos no cultivables del suelo y se convirtió en una parte esencial de muchos estudios de biología del suelo (Semenov, 2021). Las comparaciones de métodos dependientes e independientes del cultivo revelaron que, en la mayoría de las muestras ambientales de suelo, solo entre el 0,1% y 1% de las especies microbianas pueden cultivarse mediante métodos microbiológicos estándar. Por lo tanto, queda por descubrir y explorar una gran cantidad de diversidad microbiana tanto metabólica como fisiológica y genética (Xu, 2006). De hecho, en los últimos años estudios de secuenciación de alto rendimiento logran iluminar cada vez más las composiciones y diversidades previamente desconocidas de las comunidades microbianas del suelo en una variedad de hábitats terrestres sin la necesidad de cultivos (Jansson & Hofmockel, 2018).

La metagenómica es una innovadora técnica en microbiología que permite estudiar comunidades microbianas en diversos ecosistemas. Inicialmente, se centraba en la secuenciación de escopeta, pero hoy en día también se utiliza para investigar genes marcadores como el 16S rRNA (bacterias) y el ITS (Internal Transcribed Spacer) (hongos) utilizando la secuenciación de próxima generación (NGS). Esto implica extraer una región específica del ADN que codifica

dichos genes, amplificarlos, secuenciarlos y compararlos con secuencias en bases de datos públicas. La combinación de NGS, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y técnicas de código de barras de ADN ha mejorado la velocidad, eficacia, sensibilidad y costo de la metagenómica (Sboner et al., 2011). Esto revela información valiosa sobre las comunidades microbianas en varios ecosistemas terrestres. La metagenómica del suelo ha permitido la identificación de microorganismos no cultivables, lo que ha contribuido a cerrar la brecha en el conocimiento taxonómico y funcional de estos organismos (Zapata et al., 2023). En particular, la investigación del metagenoma del suelo ayuda a comprender la relación entre microorganismos del suelo y los genes involucrados en los ciclos de nutrientes y energía. Sin embargo, la investigación actual se enfoca en comprender cómo estas operaciones genéticas predichas realmente funcionan en condiciones del mundo real, especialmente en el suelo (Kaushik et al., 2020).

Si bien la metagenómica del suelo no es un campo nuevo, su aplicación y relevancia han aumentado considerablemente en las últimas décadas debido a los avances tecnológicos y metodológicos en el campo de la microbiología del suelo (Zapata et al., 2023). Hay una cantidad significativa de estudios de metagenómica en suelos que se han llevado a cabo en todo el mundo. Dicho campo de investigación ha surgido como una herramienta poderosa para comprender la diversidad microbiana, estructura de la comunidad y funciones potenciales de los microorganismos presentes en el suelo. Estos estudios han demostrado ser útiles en áreas como la biorremediación, agricultura, salud humana, y para evaluar la salud del suelo (Zapata et al., 2023). Los avances tecnológicos en secuenciación y herramientas de análisis bioinformático actualmente permiten obtener un metagenoma a partir de muestras de suelo, aunque el objetivo final de obtener los genomas completos de todos los organismos en una muestra aún se encuentra en el futuro. La rica información obtenida del metagenoma de suelo sin duda proporcionará nuevos conocimientos sobre la diversidad taxonómica y funcional de los microorganismos terrestres (Myrold et al., 2014).

Hasta 2019 los 10 países que más publicaron sobre metagenómica de suelos fueron, de mayor a menor, Estados Unidos, China, Alemania, Francia, India, Reino Unido, Australia, Canadá, Corea del Sur y Brasil (Vieira et al., 2021). En relación con metagenómica para identificar hongos y/o bacterias del suelo destacan los estudios de China (Deng et al., 2019; Jin et al., 2019; Wang et al.,

2019; Zheng et al., 2020), aunque también existen trabajos en América Latina como el ya mencionado Brasil (Yamauchi et al., 2021), Colombia (Vélez-Martínez et al., 2023) y México (Velez et al., 2021). Algunos ejemplos de investigaciones respecto al tema en los Andes se realizaron en Perú (Nottingham et al., 2018), Chile (Rodríguez-Echeverría et al., 2021), Argentina (Geml et al., 2014) y Ecuador (Ramírez-Villacis et al., 2023) aunque no son muy frecuentes. Por último, cabe destacar que en el transcurso de esta investigación no se encontraron reportes metagenómicos en suelos de origen volcánico en Ecuador.

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El diseño de investigación de este trabajo fue cuantitativo debido a que se recopilaron datos empíricos del área de estudio para ofrecer una perspectiva de la biodiversidad edáfica de hongos y bacterias de una quebrada. Esta información fue expresada con pruebas estadísticas, gráficas y tablas. Adicionalmente fue un diseño de investigación descriptiva ya que el trabajo se basó en describir y analizar las tendencias de la biodiversidad edáfica hallada en las cuatro categorías de cobertura de suelo en la quebrada Manzanapugro.

3.2 ÁREA DE ESTUDIO

3.2.1 Los Andes

La cadena montañosa de los Andes forma una muralla natural que se extiende de 100 a 120 km de ancho, presentando picos abruptos que superan los 4000 msnm. El panorama en Ecuador se destaca por la existencia de dos series de montañas paralelas, coronadas por imponentes volcanes. En el centro de esta región se encuentran los "valles" o cuencas (también llamadas hoyas) situados a altitudes de entre 1600 y 3000 msnm, exhibiendo una topografía suavemente ondulada y un clima templado. Estos valles están separados entre sí por crestas transversales o "nudos" que alcanzan altitudes de 3000 a 3400 msnm (Ulloa, 2014).

3.2.2 Volcán Ilaló

El Ilaló es un volcán extinto con 1.6 millones de años de antigüedad que abarca a las parroquias La Merced, Guangopolo y Alangasí. Es parte de los Andes tropicales ubicado en la depresión interandina rodeada por el horst de Quito (porción de la corteza terrestre que ha sido levantada debido a actividad tectónica) y las estribaciones de la cordillera oriental separando la urbe del valle interandino (Lara, 2016). La constitución del Ilaló es principalmente lavas básicas (andesitas olivinopiroxénicas), cubierta por ceniza volcánica meteorizada y horizontes de suelo lateríticos (arcillosos). La geología es constituida por facies proximales como domos, estratovolcanes y calderas (piroclastos, riolitas, andesitas); y facies distales como piroclastos primarios (cangahua), escombros, flujos de lava y lahares del volcán Cotopaxi (Lara, 2016). El Ilaló tiene 24 quebradas

cuyo origen se encuentra en las zonas altas, y que actualmente están secas (Patiño, 2016). Se pueden ver pendientes en un rango de 50 a 70° en las que están la mayoría de los asentamientos poblacionales, por lo que son susceptibles a movimientos en masa. Cabe destacar que este volcán inactivo ha sufrido transformaciones por procesos erosivos, por ello, puede observarse un drenaje radial definido en el flanco oeste (Lara, 2016). Además, el deterioro de sus cualidades ambientales es evidente gracias a las presiones en el uso de suelo, generalmente para construir viviendas en vista de que la mayor parte del volcán es de propiedad privada (Patiño, 2016).

El Ilaló forma parte del Cinturón Verde de Quito y del Bosque y Vegetación Protectores del Flanco Oriental del Pichincha (Patiño, 2016). A penas queda el 24% de la vegetación nativa y los ecosistemas naturales remanentes son en su mayoría de dos tipos: arbustal montano de los Andes del norte (947.7 ha, 19%) y arbustal seco interandino (225.6 ha, 5%). El primer ecosistema es el más representativo y el que sufre menos impactos antrópicos debido a que se encuentra en las zonas de mayor pendiente, por lo que tiene cuencas hídricas saludables y riqueza de especies entre media y alta. Sin embargo, desde hace 10 años se encuentra amenazado por plantaciones de pino y eucalipto, actividades agropecuarias y extracción de leña. Por otra parte, el ecosistema arbustal seco interandino es perturbado por la producción de carbón e incendios afectando el rol clave de la vegetación arbustiva y herbácea en la protección y estabilización de suelos en altas pendientes (Lara, 2016). Cabe destacar que, para la recuperación de estos ecosistemas y sus especies, en 2015 se elaboró una propuesta de ordenanza para el Ilaló el cual comprendería una extensión de 8672 ha denominada como “Área de Intervención Especial y Recuperación (AIER) Ilaló-Lumbisí”. Esta propuesta de macrozonificación establece zonas de manejo de suelo para protección y conservación, recuperación de laderas y suelo degradado, recuperación y planificación forestal, zona agrícola residencial de baja intensidad, uso sustentable, y área de equipamiento (Marín, 2019).

3.2.3 Parroquia rural La Merced

La Merced nace el 4 de mayo de 1964 como una parroquia rural de las 33 que tiene el Distrito Metropolitano de Quito. Está ubicada en el Valle de Los Chillos, al sureste de la capital con un área de 31,86 km² y 8394 habitantes de los cuales 89% se identifican como mestizos y 3% como indígena (GAD La Merced, 2017; Silva, 2018). La parroquia está a 2680 msnm, con una temperatura promedio anual de 16 a 18°C (Go Raymi, 2022). El clima corresponde al tipo

ecuatorial mesotérmico seco, el cual se encuentra en la Sierra sobre la cota de 2000 msnm, especialmente en valles interiores del Callejón Interandino. Las precipitaciones promedio son de 500 mm cuyo máximo precede o antecede a los equinoccios, intercaladas por la estación seca de julio, agosto y septiembre (Ulloa, 2014). Por este clima relativamente templado, paisajes, zonas arqueológicas y la riqueza cultural, La Merced se convirtió en un atractivo turístico, destacándose por sus balnearios con aguas termales (Silva, 2018).

La actividad económica principal de la parroquia es la agricultura seguida de la crianza de animales como cerdos, cuyes, aves de corral, borregos, abejas (paulatinamente) y ganado vacuno. También existen actividades como turismo, gastronomía, carpintería, cerrajería, producción artesanal y negocios propios pequeños (Patiño, 2016). En la zona del Ilaló que pertenece a la parroquia La Merced en su mayoría es de propiedad privada y de los comuneros de San Francisco, quienes usan la tierra para tener animales de granja y cultivar producto local como habas, arveja, cebada, mellocos, trigo, papa y maíz. Esta es la única localidad en la que aún puede hallarse bosque primario y especies nativas como capote, pumamaqui, motiquero y quishuar (huila) (Costales, 2006). Sin embargo, los suelos de la parroquia La Merced se degradan principalmente por la pérdida de fuentes de agua, deforestación de bosques primarios, incendios, siembra de especies invasoras como eucalipto (ha acabado con vertientes de agua), sobrepastoreo de vacas y chivos, y escasas de lluvia. Además, se produce contaminación de cursos hídricos remanentes por las descargas directas de aguas domésticas y residuales sin tratamiento en ríos y quebradas. Así mismo existe contaminación por residuos sólidos y materia orgánica que la gente quema en terrenos y quebradas del sector debido a la mala gestión de recolección de desechos (Patiño, 2016).

3.2.4 Quebrada Manzanapugro

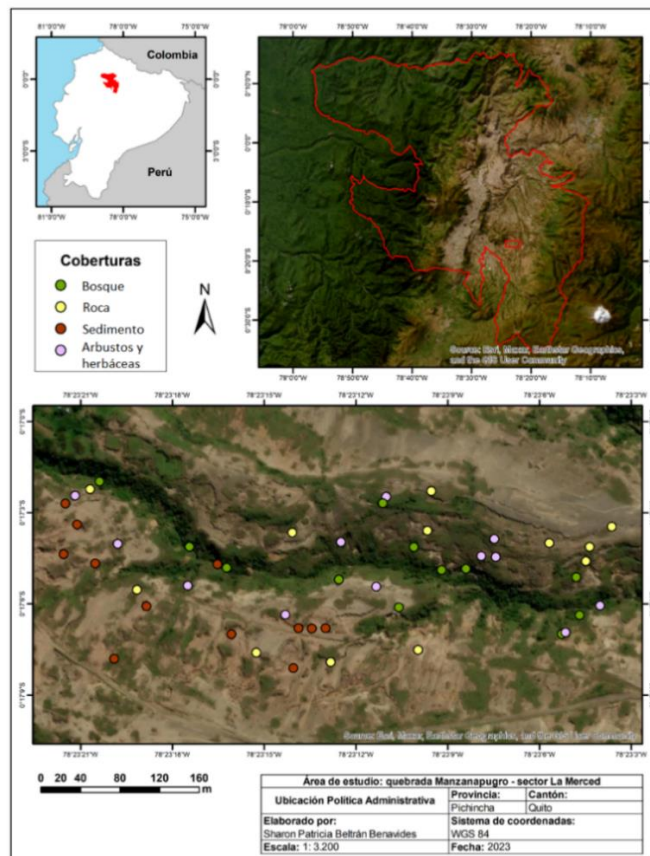
La investigación fue realizada en la quebrada Manzanapugro en el lado sueste de las faldas del Ilaló. Esta quebrada pertenece a la parroquia rural La Merced y tiene extensión aproximada de 1856 m de largo y 400 m de ancho (742400 m²). Esta quebrada es considerada como parte de la zona de recuperación de laderas y suelo degradado, y del área de recuperación y planificación forestal establecidas en la ordenanza de 2015 para la intervención y restauración Ilaló-Lumbisí (Marín, 2019). De hecho, en 2022 el Centro de Investigación para el Territorio y el Hábitat Sostenible de la Universidad Indoamérica en cooperación con Gobierno Autónomo Descentralizado de la Parroquia Rural de La Merced, coordinó actividades de restauración del

paisaje con especies agroforestales a fin de recuperar los suelos y reducir la erosión en esta quebrada (Universidad Indoamérica, 2022).

Al ser parte del volcán Ilaló, el suelo de la quebrada es de origen volcánico y actualmente presenta cuatro tipos de cobertura: Sedimento, Roca (cangahua), Arbustos y herbáceas, y Bosque de árboles pequeños. Estas cuatro categorías son las que se consideraron para el muestreo, secuenciación y el análisis de resultados. A cada cobertura se le otorgó un código para la identificación de los puntos de muestreo y el suelo colectado como QSed, QRoc, QShr y QFor, por los nombres en inglés de las categorías (Sediment, Rock, Shrub and herbaceous, y Forest, respectivamente). Los puntos de muestreo y sus categorías se muestran en la figura 1.

Figura 1

Mapa de la quebrada Manzanapugro y los puntos de muestreo



Nota. El mapa fue realizado con apoyo del Centro de Investigación para el Territorio y el Hábitat Sostenible (CITEHS)

3.3 MUESTREO DE SUELO

Trabajo en campo

El trabajo de campo se realizó en dos días, el primero se tuvo el apoyo de cinco personas (dos varones y tres mujeres) y se recolectaron 19 muestras en cinco horas de trabajo. El segundo día se contó con la ayuda de cuatro personas (tres varones, una mujer) y se recolectaron 29 muestras en aproximadamente ocho horas de trabajo. En total se colectaron 48 muestras.

Puntos de muestreo

Se realizó un muestreo aleatorio estratificado para que se obtengan 12 puntos de cada una de las cuatro coberturas de tierra en la quebrada: “Sedimento”, “Roca”, “Arbustos y herbáceas”, y “Bosque”. Cada grupo de puntos se configuró para tener un color distintivo según su tipo de cobertura para poder distinguir cada punto del mapa en el campo. Este trabajo fue realizado en el Centro de Investigación para el Territorio y el Hábitat Sostenible (CITEHS).

Muestra compuesta

Se tomaron 48 muestras compuestas, las cuales dan mejor representación de la diversidad genética de cada punto de muestreo, de suelo del horizonte A con 10 cm de profundidad. Al llegar a cada sitio de muestreo, se marcó un círculo de 1m de radio, señalando cuatro puntos donde se tomará el suelo, uno en cada cuarto del círculo. De ser necesario se retiró la capa superficial para que hierbas y raíces grandes no estorben en el muestreo. Para facilitar el trabajo se aflojó el suelo con el pico en cada uno de los cuatro puntos. En una funda hermética grande se recogió la tierra con una pala de jardinería, evitando las piedras grandes y raíces, con precaución de no tocar con las manos la tierra colectada. Se toma aproximadamente la misma cantidad de suelo cada cuadrante del círculo mezclando la tierra dentro de la bolsa para obtener una muestra homogénea.

Muestra para análisis metagenómico

Una vez se mezcló bien el suelo en la bolsa, se tomó un tubo falcón autoclavado y etiquetado, con cuidado de no tocar la muestra, se los llena hasta la mitad de ser la categoría “Sedimento” o “Roca”, y el tubo entero de ser la categoría de “Bosque” o de “Arbustos y herbáceas”. Esto se debe

a que, al tamizar las raíces, se puede reducir el tamaño de la muestra. Se tapó el tubo y se guardó en una hielera con ice packs para mantener frío el suelo hasta ponerlo en congelación. También se etiquetó cada funda con el mismo código de su respectivo tubo para realizar análisis fisicoquímicos en otro estudio. Para coleccionar otra muestra, si esta era de la misma categoría, se usó el mismo material tan solo sacudiendo la tierra sobrante. De ser otra categoría, se tuvo que sacudir la tierra, sumergir la superficie que entra en contacto con el suelo en un balde con cloro al 1%, enjuagar en un balde con agua destilada y por último escurrir el exceso de líquido o secar con un trapo.

Materiales

- Fundas plásticas con sellado hermético de 26,8 cm x 27,9 cm (75u.)
- Tubos falcon autoclavados de 50ml etiquetados por categoría con el código de la cobertura, número de muestra, localidad, tipo de contenido y fecha (48u.)
- Cinta adhesiva pequeña
- Hielera grande
- Hielera mediana
- Ice packs
- Cuaderno de campo
- Lápiz
- Cinta métrica
- Palas de jardinería (8u.)
- Reglas pequeñas de 20 cm (4u.)
- Baldes (4u.)
- Galón de cloro diluido al 1%

- Galón de agua destilada
- Marcadores permanentes (2u.)
- Picos grandes (2u.)
- Trapos (2u.)

3.4 EXTRACCIÓN DE ADN

Para la extracción de ADN se utilizó el protocolo titulado “DNA Extraction and Purification from 250-1000mg Soil”, de la empresa OMEGA BIO-TEK incluido en el kit comercial E.Z.N.A.® Soil DNA también usado en esta investigación (OMEGA BIO-TEK, 2020). Se realizaron algunos cambios en base a la experiencia de quien maneja en laboratorio de microbiología de la Universidad Indoamérica. El contenido del kit se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1

Contenido del kit de extracción E.Z.N.A.® Soil DNA

NÚMERO DE PRODUCTO	D5625-01
Purificaciones	50 preparaciones
Minicolumnas de ADN HiBind®	50
Tubos de recolección de 2 ml	100
Tubos disruptores	50
SLX-Mlus Buffer	60ml
DS Buffer	6ml
P2 Buffer	25ml
Reactivo cHTR	12ml
XP1 Buffer	40ml
HBC Buffer	25ml

Buffer de lavado de ADN	20ml
Buffer de elución*	30ml

*El buffer de elución es Tris HCl 10 mM pH 8,5

Materiales y equipos adicionales

- Microcentrífuga BOECO M-24A
- Centrífuga GEMMY PLC-05 para tubos de 15 ml
- Vortex mixer LABNET S0200 VX-200
- Incubadora capaz de llegar a 70°C
- Tubos de microcentrífuga de 1,5 ml y 2 ml
- Tubos de centrífuga de 15 ml
- Etanol al 100%
- Isopropanol al 100 %
- Congelador

Antes de empezar

- Preparar el buffer HBC y el buffer de lavado de ADN como se indica en la guía de uso del kit en la sección "Preparación de reactivos".
- Poner la incubadora a 70°C
- Calentar el buffer de elución a 70 °C
- Enfríe el buffer P2 en un congelador o nevera.

Procedimiento para muestras de 1g

1. Transferir las perlas de vidrio de un tubo disruptor a un tubo de centrífuga de 15ml.
2. Agregar 1g de muestra de suelo evitando piedras o raíces al tubo de centrífuga de 15 ml.
El tamizado de piedras o raíces puede ser con un cernidor o a mano.
3. Agregar 1ml de Buffer SLX-Mlus. Llevar a vórtex a máxima velocidad durante 5 minutos para lisar las muestras.
4. Agregar 100 μ l de buffer DS. Dar vórtex para mezclar bien.
5. Incubar a 70°C durante 10 minutos. Dar vórtex brevemente cuando hayan pasado 5 minutos de incubación.
6. Centrifugar a máxima velocidad durante 3 minutos a temperatura ambiente.
7. Transferir 800 μ l de sobrenadante a un nuevo tubo de microcentrífuga de 2ml.
8. Agregar 270 μ l de buffer P2 frío. Dar vórtex para mezclar bien.
9. Dejar reposar en la congeladora durante 5 minutos.
10. Centrifugar a máxima velocidad durante 5 minutos.
11. Transferir con cuidado el sobrenadante a un nuevo tubo de microcentrífuga de 2 ml.
12. Añadir 490 μ l de isopropanol al 100 %. Mezcle bien invirtiendo el tubo 30 veces. Dejar las muestras en el congelador a -20 °C toda la noche.
13. Centrifugar a máxima velocidad durante 10 minutos.
14. Desechar el sobrenadante, sin perturbar el sedimento de ADN, invirtiendo el tubo en un recipiente para que caiga el líquido.
15. Invertir el tubo abierto sobre papel absorbente durante 1 minuto para escurrir el líquido.
16. Agregar 200 μ l de buffer de elución. Dar vórtex durante 10 segundos.
17. Incubar a 70 °C durante 15 minutos para disolver el sedimento de ADN.

18. Agregar 100 μ l de reactivo cHTR. Dar vórtex para mezclar bien.
19. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 2 minutos.
20. Centrifugar a máxima velocidad durante 2 minutos.
21. Transferir el sobrenadante aclarado a un nuevo tubo de microcentrífuga de 2 ml.
22. Agregar 300 μ l de buffer XP1. Dar vórtex para mezclar bien y centrifugar por 30 segundos para que toda la muestra baje al fondo del tubo.
23. Insertar las minicolumna de ADN HiBind® cada una en un tubo de recolección de 2ml.
24. Transferir la muestra del paso 22 a la minicolumna de ADN HiBind®.
25. Centrifugar a máxima velocidad por 1 minuto a temperatura ambiente.
26. Desechar el filtrado y reutilizar el tubo de recolección.
27. Agregar 500 μ l de buffer HBC.
28. Centrifugar a máxima velocidad durante 1 minuto.
29. Desechar el filtrado y el tubo de recolección.
30. Transferir la minicolumna de ADN HiBind® a un nuevo tubo de recolección de 2 ml.
31. Agregar 700 μ l de buffer de lavado de ADN.
32. Centrifugar a máxima velocidad durante 1 minuto.
33. Desechar el filtrado y reutilizar el tubo de recolección.
34. Centrifugar la minicolumna de ADN HiBind® vacía a máxima velocidad durante 2 minutos a temperatura ambiente.
35. Transferir la minicolumna de ADN HiBind® a un tubo de microcentrífuga limpio de 1,5 ml.

36. Agregar 50 μ l de buffer de elución calentado a 70 °C directamente en el centro de la membrana de la minicolumna de ADN HiBind®.
37. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 2 minutos.
38. Centrifugar a máxima velocidad durante 1 minuto.
39. Tomar el filtrado del paso 38 y colocarlo en el centro de la misma minicolumna de ADN HiBind® utilizada en el procedimiento.
40. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 1 minuto.
41. Centrifugar a máxima velocidad durante 1 minuto.
42. Guardar el ADN eluido a -20 °C.

3.5 CUANTIFICACIÓN DE ADN

Se usó un fluorómetro QUANTUS junto con su kit de cuantificación para medir la fluorescencia del ADN y así saber cuánto material genético se extrajo.

Procedimiento

1. Preparar el buffer TE 1X a partir de TE 20X (incluido en el kit) según la cantidad de muestras que se desea cuantificar incluyendo controles positivos y negativos para calibrar el equipo, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2

Cantidades en μ L para la preparación de buffer TE 1X según la cantidad de muestras a cuantificar

		TE 1X									
Componentes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
TE 20X	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Agua de PCR	190	380	570	760	950	1140	1330	1520	1710	1900	

2. Preparar las muestras a cuantificar y los controles en tubos específicos para el equipo. En cada tubo colocar 2 μ L de ADN excepto en el tubo de control negativo.
3. Preparar la solución de trabajo con tinte con una dilución 1:400 según la cantidad de muestras a cuantificar, incluidos los controles, como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3

Cantidades en μ L para la preparación de solución de trabajo con tinte según la cantidad de muestras a cuantificar

SOLUCIÓN DE TRABAJO CON TINTE										
Componentes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
TE 1X	199,5	399	598,5	798	997,5	1197	1396,5	1596	1795,5	1995
Tinte dsDNA 200X	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5

4. Colocar 200 μ l de la solución preparada con el tinte en cada tubo previamente preparado con el ADN a cuantificar. Cerrar los tubos y dar vórtex para mezclar bien.
5. Incubar a temperatura ambiente por 5 minutos.
6. Encender el equipo, seleccionar “Protocolo” y a continuación “dsDNA”.
7. Colocar el control negativo en el orificio de lectura, cerrar la tapa y pulsar “Read Blank”.
8. Colocar el control positivo en el orificio de lectura, cerrar la tapa y pulsar “Read Std”.
9. Guardar la calibración pulsando la opción “Save”
10. Elegir el programa deseado, el volumen de muestra que en este caso fue 2 μ L y las unidades de concentración (ng/ μ L).

11. Colocar las muestras en el orificio de lectura y cerrar la tapa. El equipo hará la lectura de manera automática. Si la concentración es demasiado alta o baja se debe acceder al historial del equipo para ver esas lecturas.

Concentración de las muestras

Una vez realizada la cuantificación de todas las muestras se obtuvieron los valores indicados en la Tabla 4.

Tabla 4

Concentraciones en ng/μl de ADN de las muestras de cada categoría

Número de muestra	Qsed	QRoc	Qshr	Qfor
01	0,07	8,3	16	121
02	0,006	3,02	22	92
03	0,4	1,79	16	112
04	87	5,8	61	98
05	2,39	2,06	82	125
06	0,82	2,89	75	96
07	0,03	14	29	39
08	0,15	4,01	131	118
09	0,2	18	127	76
10	0,9	8,5	18	109
11	0,5	6,9	82	65
12	0,26	0,7	111	65

Debido a que todas las muestras de la cobertura de “Sedimento” (Qsed) obtuvieron muy poca concentración de ADN, se unieron todas en el tubo de Qsed04 (única muestra con alta concentración de ADN). Para las muestras de la cobertura de “Roca” (QRoc) que mostraron poca concentración, al ser pocas (QRoc02, QRoc03, QRoc04, QRoc05, QRoc06, QRoc12), se optó por repetir la extracción para obtener más ADN, cuya concentración se presenta en la Tabla 5.

Tabla 5

Concentraciones de muestras extraídas por segunda vez.

Muestra	Concentración (ng/μL)
QRoc02	2,28
QRoc03	0,212
QRoc04	3,39
QRoc05	4,80
QRoc06	0,737
QRoc12	0

3.6 SECUENCIACIÓN

Se unieron las muestras repetidas de QRoc con su pareja respectiva en un solo tubo de tal forma que de cada categoría se tengan 12 muestras, excepto de “Sedimento” ya que todas las muestras se unieron en un solo tubo por la baja cantidad de ADN. Los nuevos tubos se colocaron en la incubadora a 70°C para evaporar el exceso de líquido de las muestras. Una vez completada la evaporación se diluyó con 40 μL de Buffer de elución. Las nuevas concentraciones se aproximaron sumando los valores de las muestras unidas. Así la concentración de la única muestra de Qsed fue aproximadamente 92,726 ng/μL. Las nuevas concentraciones de QRoc junto con las de Qshr y Qfor se presentan en la Tabla 6. De dichas categorías se retiró las dos muestras con la menor cantidad de ADN para mandar a secuenciar.

Tabla 6*Concentraciones en ng/ μ L de las muestras luego de la repetición y unión de muestras*

Número de muestra	QRoc	QShr	QFor
01	8,3	16*	212
02	5,1	22	92
03	2,002*	16*	112
04	9,19	61	98
05	6,86	82	125
06	3,627	76	96
07	14	29	39*
08	4,01	131	118
09	18	127	76
10	8,5	18	109
11	6,9	82	65
12	0,7*	111	65*

*Muestras descartadas

Para el envío de las muestras se separaron en tubos con igual cantidad de tal forma que todas las muestras tengan un duplicado ya que un grupo servirá para secuenciar el gen ITS (hongos) y otro grupo para secuenciar el gen 16s (bacterias). De dicho modo se envió a secuenciar a la empresa Novogene un total de 31 muestras para cada gen (62 muestras en total) en tubos de 1,5ml etiquetados (ej. QFor01-ITS, QFor01-16s) y sellados con parafilm.

3.7 ANÁLISIS DE DATOS

3.7.1 Abundancia relativa

La abundancia relativa de especies se puede definir como la proporción de una especie o taxón en relación con todas las especies o taxones contenidos en un sitio (Hubbell, 2001). Se calcula dividiendo el número de individuos de una especie entre el número total de individuos de todas las especies (Díaz, 2020). El resultado puede expresarse en números decimales (de 0 a 1) o porcentajes (0 a 100%), y se refiere a cuán raro o común es un taxón en comparación con otros de la misma

comunidad biológica estudiada. Esta medida es importante en ecología porque permite comprender la estructura y dinámica de las especies dentro de una comunidad (Hubbell, 2001). Para esta tesis no se hizo el cálculo ya que la empresa encargada de la secuenciación devolvió los resultados de las abundancias relativas de hongos y bacterias. Para presentar estos resultados se realizaron unas gráficas con el paquete “ggplot2” de RStudio versión 2023.09.0 + 463 (RStudio Team, 2020). Las bases de datos que se usaron fueron las abundancias relativas de cada phyla según las coberturas de suelo. Se usaron los phyla que tenían al menos 1% de abundancia relativa en alguna de las coberturas. Aquellos phyla que no cumplieron con la descripción se las sumó en la categoría “Others”.

3.7.2 Diagramas de Venn

Los diagramas de Venn son representaciones gráficas que muestran las intersecciones y diferencias entre dos o más conjuntos de datos relacionados con la presencia o ausencia de especies u otros taxones. En este caso son útiles para visualizar las relaciones entre los phyla y las coberturas de suelo, e identificar patrones de distribución de comunidades bacterianas y fúngicas en diferentes ambientes. Los diagramas de Venn se realizaron con los paquetes “ggVennDiagram” y “ggplot2” de RStudio versión 2023.09.0 + 463 (RStudio Team, 2020). Para ello, se usó una tabla de datos en la que se colocó en cada hoja del Excel una categoría, en la primera celda, y hacia abajo los nombres de todos los phyla que se encontraron en dicha categoría. Se hizo lo mismo con los demás órdenes taxonómicos (clase, orden, familia y género).

3.7.3 Diversidad de las comunidades

La diversidad alfa se analizó mediante la obtención de la riqueza (número de especies), índice de Simpson (dominancia), estimador de riqueza Chao 1 junto su error estándar asociado (SE.Chao1), estimador de cobertura de abundancia (ACE) y su error estándar correspondiente (SE.ACE). Estos parámetros se obtuvieron a partir de los datos de phyla bacterianos y fúngicos, con el paquete “BiodiversityR” de RStudio versión 2023.09.0 + 463 (RStudio Team, 2020).

Para el estudio de la diversidad beta se hizo un agrupamiento jerárquico considerando el índice de similitud de Bray-Curtis, el cual considera la abundancia de manera ponderada. Esto se hizo con los datos de abundancia absoluta por categoría y por muestra de los phyla, usando el programa PAST versión 3.24 (Hammer & Harper, 2001). Por diferencias en la cantidad de muestras

secuenciadas se decidió excluir a la categoría “Sedimento” de este análisis para no incurrir en comparaciones erróneas.

3.7.4 Estadística PERMANOVA

Debido a que los datos no siguen una distribución normal, se eligió hacer una prueba no paramétrica PERMANOVA, la cual permite ver si existen diferencias significativas entre al menos dos categorías de un conjunto de datos. Para esta prueba estadística y su supuesto de homocedasticidad, se usó el paquete “vegan” de RStudio versión 2023.09.0 + 463 (RStudio Team, 2020), y se probó con la misma base de datos de usada para las gráficas de abundancia relativa.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

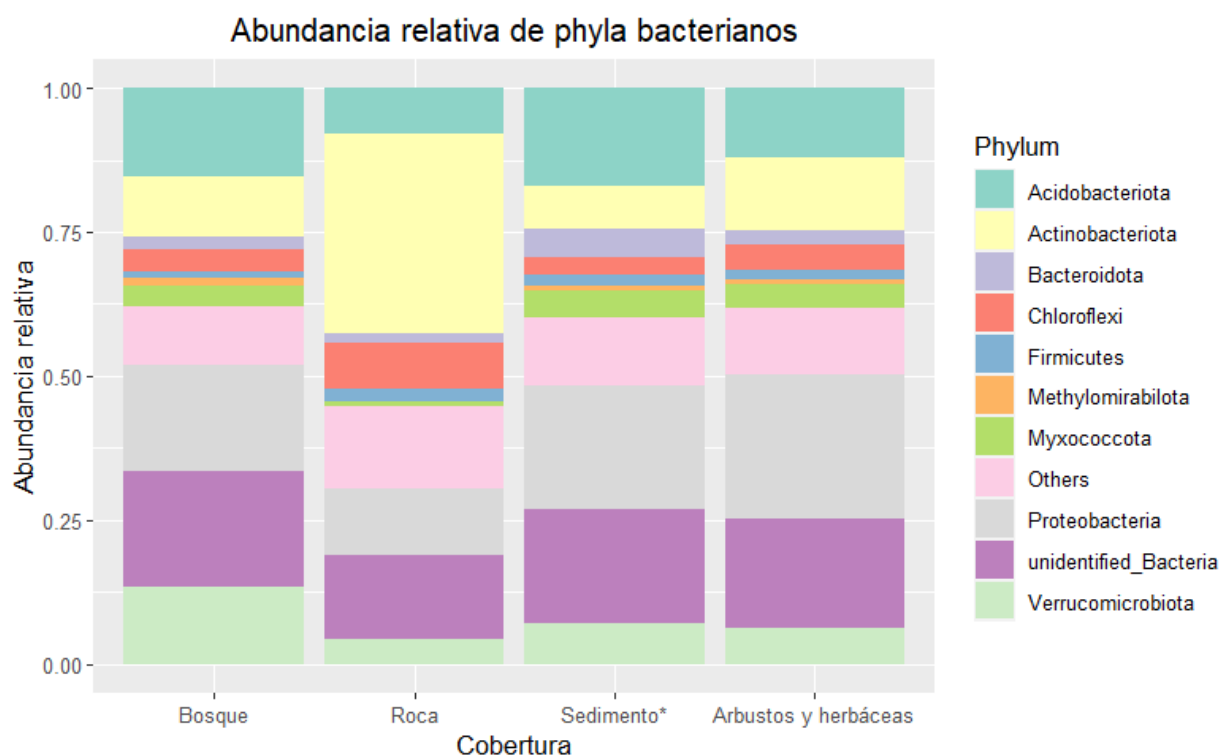
4.1 CARACTERIZACIÓN Y TENDENCIAS DE COMUNIDADES BACTERIANAS Y FÚNGICAS EN RELACIÓN CON LAS COBERTURAS DEL SUELO

4.1.1 Abundancia relativa

De la empresa Novogene se recibieron datos de abundancias relativas y absolutas de un total de 83 phyla bacterianos y 18 fúngicos. A partir de estos datos se obtuvieron dos gráficos de barras que indican las abundancias relativas de los Phylum más abundantes de bacterias (Figura 2) y hongos (Figura 3), clasificadas según las coberturas del suelo.

Figura 2

Abundancia relativa de phyla bacterianos



Nota. Se destaca la categoría “Sedimento” con un (*) debido a que sus resultados deben considerarse con cuidado por obtenerse a partir de una sola muestra unificada.

En cuanto a los phyla bacterianos se encontraron 10 grupos con más abundancia relativa (>1% en al menos una cobertura), incluyendo aquellos phyla que no pudieron ser identificados (unidentified_Bacteria). Estos grupos representaron el 89,79%, 88,47%, 88,33% y 85,65% de las secuencias totales en “Bosque”, “Arbustos y herbáceas”, “Sedimento” y “Roca”, respectivamente. Las bacterias dominantes en cada categoría se presentan a continuación en la tabla 7. Cabe destacar el caso de “Sedimento” que, por tener un diseño de muestreo distinto a las demás coberturas debido a la falta de material genético en cada uno de los puntos recolectados, el análisis y discusión tanto de bacterias como de hongos fue enfocado a las demás coberturas (“Roca”, “Arbustos y herbáceas”, y “Bosque”).

Tabla 7

Phyla bacterianos dominantes por categoría

Cobertura	Phyla dominantes	Abundancia relativa
Bosque	Proteobacteria	18,46%
	Acidobacteriota	15,43%
	Verrucomicrobiota	13,39%
Arbustos y herbáceas	Proteobacteria	24,84%
	Actinobacteriota	12,62%
	Acidobacteriota	12,02%
	Verrucomicrobiota	6,31%
Sedimento*	Proteobacteria	21,67%
	Acidobacteriota	16,89%
	Actinobacteriota	7,5%
Roca	Actinobacteriota	34,6%
	Proteobacteria	11,58%
	Acidobacteriota	8,02%
	Chloroflexi	7,8%

Nota. Se destaca la categoría “Sedimento” con un (*) debido a que sus resultados deben considerarse con cuidado por obtenerse a partir de una sola muestra unificada.

Proteobacteria fue el phylum dominante en las categorías con cobertura vegetal, seguido de Acidobacteriota. Estos phyla con frecuencia son dominantes en ecosistemas terrestres (Kalam et al., 2020). Incluso se sabe que su abundancia aumenta en tierras restauradas junto con los phyla Chloroflexi y Actinobacteriota (Zheng et al., 2020), los cuales también fueron de los más abundantes en esta investigación, sugiriendo que su abundancia puede ser indicador de restauración en los suelos del área de estudio. Se sabe que Proteobacteria y Acidobacteriota son capaces de sobrevivir en ambientes desérticos y son tolerantes a otros tipos de estrés como pH, calor, metales pesados o inanición (Coban et al., 2022; Contreras et al., 2023) cualidades que les permite adaptarse y continuar con su labor ecológica en el suelo modulando los ciclos biogeoquímicos e influenciando el crecimiento de plantas (Kalam et al., 2020). Para Proteobacteria se reportó su preferencia por ecosistemas contrastantes con diferencias en contenido de carbono y materia orgánica (Vélez-Martínez et al., 2023), lo que concuerda con lo obtenido en la quebrada con coberturas distintas en dichos aspectos desde un suelo desnudo y sedimentario a suelos con cubierta arbustiva, herbácea y forestal. Además, se sabe que este phylum tiene una relación positiva con el rendimiento de las plantas ya que desempeña una función importante en el reciclaje de nitrógeno que beneficia al crecimiento, producción y calidad de frutos y semillas (Zhang et al., 2022). En cuando a organismos del phylum Acidobacteriota, también llamado Acidobacteria, son descritos como taxones bacteriano clave o “ingenieros de ecosistemas” por su importancia en el recambio de carbono, descomposición de materia orgánica y desnitrificación. Por ello, la manipulación exitosa de este Phylum puede aumentar el secuestro de carbono en el suelo mejorando el rendimiento y productividad de cobertura vegetal (Kalam et al., 2020). Esto es importante para el área de estudio ya que en la quebrada actualmente se llevan a cabo procesos de cambio de uso de tierra para cultivos y forrajeo (chivos y vacas), por lo que usar microorganismos que ayuden a mejorar el rendimiento a la vez que contribuyen a la salud del ecosistema es importante para el desarrollo agroecológico.

Algo destacable es la dominancia de Actinobacteriota (antes phylum Actinobacteria) en la cangahua (“Roca”) ya que esta tendencia no se ve en ninguna otra cobertura. Esto fue inesperado debido a que estudios anteriores encontraron que este phylum suele dominar los suelos en la rizosfera (Araujo, 2022), pero al tomar las muestras en la cangahua no se encontraron raíces. Por otra parte, se sabe que las actinobacteriotas pueden seguir una correlación positiva con el pH del

suelo (Vélez-Martínez et al., 2023), aunque esto no se sabe con certeza si explica su alta abundancia en “Roca” ya que no se realizaron análisis físicoquímicos en este estudio. Sin embargo, algo que puede explicar la tendencia es la plasticidad del phylum en el uso de fuentes de carbono metabolizando todo lo que tenga disponible (Vélez-Martínez et al., 2023), y por su alta tolerancia a la desecación por períodos de tiempo prolongados (Coban et al., 2022). Además, se reportaron tendencias de aumento de bacterias monodermas (Actinobacteriota, Chloroflexi y Firmicutes) al disminuir la humedad del suelo (Coban et al., 2022). Este hallazgo en abundancia de Actinobacteriotas en la cangahua demuestra que esta superficie es un ecosistema apto para la restauración, debido a que dichos organismos son potenciales agentes de biorremediación y recuperación de cubiertas vegetales. Esto se debe a que tienen tasas de crecimiento relativamente rápidas, gran capacidad de colonización de sustratos, y brindan ventajas a las plantas como promoción del crecimiento además del control biológico de plagas y enfermedades (bacterianas y fúngicas) (Silva et al., 2022). Además, son organismos adecuados para remediar suelos contaminados con metales pesados y pesticidas (Aparicio et al., 2017).

En los últimos años aumentó el interés por los microorganismos para mejorar la productividad de las plantas, principalmente con el objetivo de encontrar cepas prometedoras para superar el impacto del cambio climático y la degradación del suelo. En este sentido son importantes aquellos taxones que resistan el estrés, especialmente por sequía. Por ejemplo, en el estudio de Contreras et al. (2023), hecho en el desierto de Atacama y la Antártida, hallaron que las plantas pueden reclutar y conservar bacterias comunes que promueven su crecimiento y supervivencia en ambientes inhóspitos y desérticos. Algunas de esas bacterias son de los phyla Acidobacteriota, Bacteroidetes (o Bacteroidota), Firmicutes, Proteobacteria y Myxococcota, los cuales también se hallaron en este estudio, recalando el potencial de restauración de los suelos degradados de la quebrada Manzanapugro. Cabe destacar que en los ecosistemas de quebradas al ser parte fundamental de la hidrología del paisaje es importante considerar la relación entre microorganismos del suelo y los ciclos hídricos. Diferentes especies de bacterias pueden afectar la hidrofobicidad del suelo y la infiltración del agua gracias a la capacidad de producir sustancias extracelulares hidrofílicas o hidrofóbicas (Schaumann et al., 2007). Por ejemplo, algunas Proteobacterias y Actinobacteriotas pueden degradar ceras y así reducir la repelencia al agua. Esto indica un uso potencial de estas bacterias para mejorar la humectabilidad del suelo y descomponer la

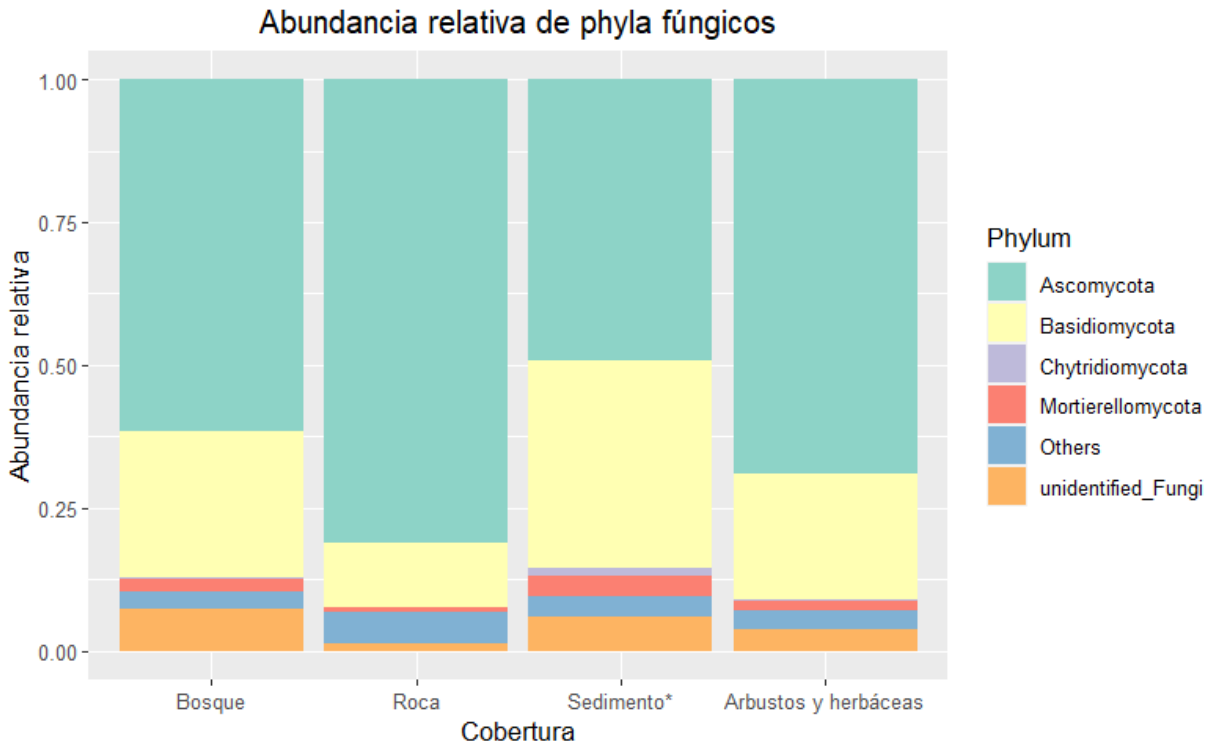
hidrofobicidad como solución para recuperar ecosistemas con problemas de desertificación (Coban et al., 2022).

Por último, se destaca que los phyla bacterianos no identificados son notablemente más abundantes que muchos otros en todas las categorías. Esto indica un vacío de investigación en microorganismos bacterianos de quebradas con suelos de origen volcánico que podrían ser de importancia médica, ecológica y alimenticia. Si en esta pequeña quebrada hay biodiversidad sin descubrir, hay un gran potencial de investigación en este campo no solo relacionado con la riqueza y abundancia de especies sino con la diversidad funcional y de interrelaciones con el medio físico y otros seres vivos. Este vacío existe en todos los niveles taxonómicos debido a la dificultad de cultivar ciertas bacterias del suelo debido a requerimientos metabólicos. Por ejemplo, en una revisión reciente sobre el phylum Acidobacteriota reportó que se sabe que existen más de 6500 unidades taxonómicas a nivel de especie, pero solo están descritas 56 especies cultivables (Kalam et al., 2020).

En cuanto a los phyla fúngicos, se encontraron cinco grupos con mayor abundancia relativa (> 1 % en al menos una cobertura), incluyendo aquellos phyla que no pudieron ser identificados (unidentified_Fungi) (Figura 3). Estos grupos representaron el 97,02%, 96,95%, 96,49% y 94,46% de las secuencias totales en “Bosque”, “Arbustos y herbáceas”, “Sedimento” y “Roca”, respectivamente. Los hongos dominantes en todas las coberturas fueron Ascomycota seguido por Basidiomycota siendo el 87,17%, 90,97%, 85,58% y 92,39% de las secuencias totales en “Bosque”, “Arbustos y herbáceas”, “Sedimento” y “Roca”, respectivamente. En el caso de Ascomycota la mayor abundancia relativa fue en “Roca” (81,07%), mientras que para Basidiomycota fue en “Sedimento” (36,33%). A diferencia de las bacterias, los phyla fúngicos que no pudieron ser identificados no son tan abundantes representando solo el 7,27%, 7,88%, 6% y 1,29% de las secuencias totales en “Bosque”, “Arbustos y herbáceas”, “Sedimento” y “Roca”, respectivamente.

Figura 3

Abundancia relativa de phyla bacterianos fúngicos



Nota. Se destaca la categoría “Sedimento” con un (*) debido a que sus resultados deben considerarse con cuidado por obtenerse a partir de una sola muestra unificada.

Los hongos son clave en el ciclo de nutrientes al descomponer materia orgánica y compuestos complejos en la naturaleza. También destacan por acumular metales pesados (como Pb, Hg, Cd) y radionucleidos (como Cs), convirtiéndolos en buenos bioindicadores de contaminación en entornos urbanos, industriales y ecosistemas forestales afectados (Karaman et al., 2012). Incluso sirven para la restauración de suelos gracias a su capacidad de degradar muchos contaminantes y desechos a través del micelio con cuatro métodos distintos: micorremediación o biorremediación mediante la descontaminación de un área determinada por los micelios; micofiltración donde los micelios filtran desechos tóxicos y microorganismos del suelo o medio acuático; micopesticidas, usando micelios para controlar plagas de insectos; y micosilvicultura, que es para restaurar los bosques (Elsakhawy et al., 2022). Otro estudio hecho en los Andes argentinos también reportó a Ascomycota y Basidiomycota como los phyla predominantes en el suelo (Geml et al., 2014). Para Ascomycota se sabe que es el phylum más rico en especies y que la mayoría son saprófitos, es decir que obtienen su energía de materia orgánica muerta (Li et al., 2022). Esto puede explicar la

tendencia del phylum a aumentar conforme desaparece la vegetación viva en las coberturas estudiadas. La tendencia opuesta se ve con el phylum Basidiomycota el cual aumenta con las coberturas vegetales teniendo la menor abundancia relativa en “Roca” y la mayor en “Bosque”, lo que se explica porque muchos hongos de este grupo son micorrízicos y necesitan plantas hospederas (Li et al., 2022). De este modo los patrones de abundancia relativa tanto de Ascomycota como Basidiomycota podría ser indicadores de procesos de restauración de suelos. Además, ambos tienen tolerancia a contaminación con metales pesados, haciéndolos una opción viable para la restauración de suelos contaminados permitiendo el crecimiento vegetal en esos ecosistemas (Fuke et al., 2021). Especialmente los basidiomicetos son potenciales biorremediadores gracias a su sistema lignolítico que participa directamente en la degradación de colorantes y diversos compuestos xenobióticos incluyendo metales pesados (Maciel & Ribeiro, 2010; Karaman et al., 2012). Incluso se ha demostrado que el phylum Basidiomycota y su interacción con Zygomycota y bacterias de los phyla Acidobacteriota, Verrucomicrobia, Actinobacteria y Firmicutes tienen potencial para estabilizar los suelos recién restaurados y protegerlos de enfermedades (Xiong et al., 2017). Las interacciones entre hongos y bacterias son sumamente importantes para mantener la resiliencia de los suelos y recuperar aquellos que se encuentren degradados. De hecho, actualmente se demostró que los hongos facilitan la colonización de bacterias en suelo seco (Coban et al., 2022), un hecho importante para el uso de estos microorganismos para la recuperación de suelos sedimentarios y cangahuas.

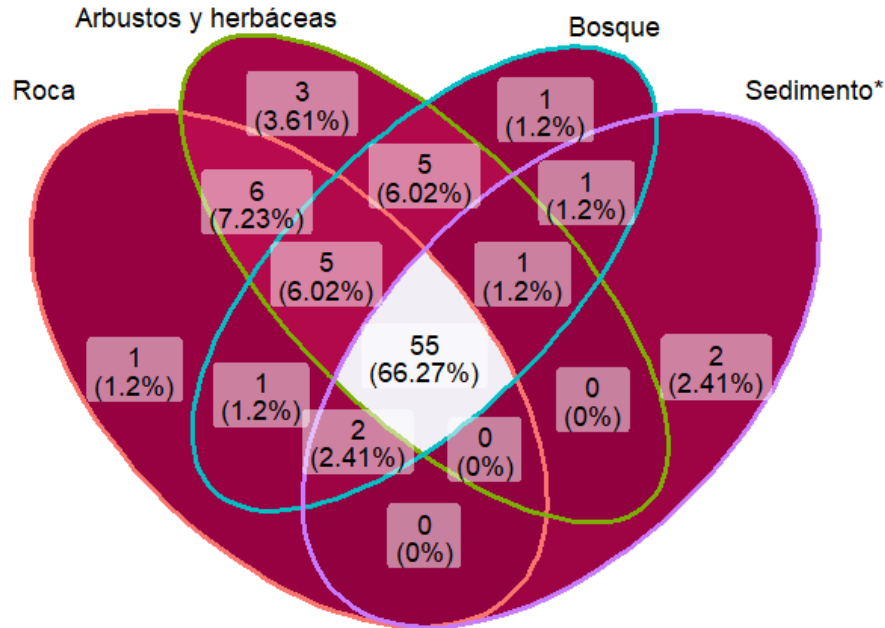
Por último, se destaca que en general no se ven aspectos distintivos entre los phyla bacterianos ni fúngicos en cada cobertura, aunque sí existen ciertas tendencias. Esto podría deberse a que la estructura de comunidades microbianas es notablemente similar en suelos que comparten una historia a largo plazo (en este caso el origen volcánico y las subsecuentes sucesiones ecológicas) a pesar de las diferencias en la composición de la comunidad vegetal (coberturas del suelo) que se han mantenido a lo largo del tiempo (Meng et al., 2019).

4.1.2 Comparación de las comunidades

Al realizar los diagramas de venn comparando las comunidades se obtuvo el número de phyla, clases, órdenes, familias, y géneros bacterianos y fúngicos según las coberturas del suelo. Sin embargo, la discusión se centró a nivel de phylum tanto para bacterias (Figura 4) como hongos (Figura 5).

Figura 4

Diagrama de Venn de phyla bacterianos



Nota. Se destaca la categoría “Sedimento” con un (*) debido a que sus resultados deben considerarse con cuidado por obtenerse a partir de una sola muestra unificada.

Las secuencias bacterianas se asignaron taxonómicamente a 83 phyla, 188 clases, 401 órdenes, 579 familias y 953 géneros. El número de phyla bacterianos (Figura 4) comunes entre los cuatro tipos de cobertura fue de 55 (66,27%), es decir los suelos de la quebrada en general comparten más de la mitad de la biodiversidad bacteriana de la zona independientemente de la cobertura del suelo. El número de phyla hallado en cada cobertura fue de 70, 61, 75 y 71 para “Roca”, “Sedimento”, “Arbustos y herbáceas”, y “Bosque”, respectivamente. Esto indica que la composición de comunidades bacterianas del suelo no es muy distinta en relación a la riqueza de phyla en cada cobertura excepto por “Sedimento”. Cabe recalcar que en el caso de la cobertura “Sedimento”, al no hallarse una buena cantidad de ADN en cada muestra, todas fueron unidas para la secuenciación, quizá es por ello que se encontró menos cantidad de phyla que en las demás coberturas que sí tuvieron 10 muestras cada una para secuenciación. Estudios previos mostraron que la biomasa y la actividad de los microorganismos del suelo aumentan significativamente con el aumento de la diversidad de plantas (Meng et al., 2019), pero esto no se reflejó en los resultados

de esta investigación posiblemente por el diseño de muestreo, cantidad de muestras o posibles similitudes en las condiciones fisicoquímicas en toda la quebrada.

En todas las coberturas hay al menos un phylum único, los cuales podrían ser específicos de cada cobertura y por tanto potenciales indicadores del estado del suelo y procesos de restauración. En “Roca” se presentó como único Phylum bacteriano a Candidatus Daviesbacteria; en “Sedimento” fueron los phyla Candidatus Campbellbacteria y Candidatus Uhrbacteria; en “Arbustos y herbáceas” fueron Candidatus Raymondbacteria, Candidatus Wolfbacteria y Nitrospinota; y en “Bosque” fue solo el phylum Candidatus Roizmanbacteria. Todos ellos aparecieron con una abundancia relativa menor al 1% por lo que ninguno fue incluido en los gráficos de abundancia relativa. De hecho, todos tuvieron una abundancia menor al 0,01%. Los phyla con la denominación “Candidatus” son linajes que carecen de representantes aislados en una colección de cultivo bacteriológico, es decir, son grupos que hasta el momento no pueden ser cultivados (Brown et al., 2015). Este tipo de bacterias están en diversos hábitats y se cree que median los ciclos del hidrógeno y carbono, pero no se han podido estudiar a profundidad debido a que son difíciles de detectar y su cultivo en laboratorio es impedido por varias limitaciones metabólicas (Wrighton et al., 2012). Por lo mismo, la mayoría de los estudios disponibles sobre phyla Candidatus son sobre secuenciación para tener registros genéticos. Por ejemplo, para la mayoría de phyla obtenidos como exclusivos de las coberturas en este estudio (Candidatus Campbellbacteria, Candidatus Uhrbacteria, Candidatus Wolfbacteria y Candidatus Roizmanbacteria), hay muy poca información disponible en literatura científica incluyendo la obtención del borrador de su genoma en 2015 por Brown y colegas. El único phylum específico de una cobertura que no es Candidatus, es Nitrospinota en “Arbustos y herbáceas”, con una abundancia relativa de apenas 0,0003%. Estos organismos son bacterias oxidantes de nitrito reportadas principalmente en ecosistemas marinos (Lücker et al., 2013), por lo que hallarlos en este estudio fue inesperado. Sin embargo, se encontraron en suelos tratados con herbicidas demostrando que sí pueden estar en ecosistemas terrestres especialmente en los que poseen abundantes fuentes de nitrógeno (Johnsen et al., 2001). En este contexto las nitrospinotas juegan un papel clave en el ciclo del nitrógeno al intervenir en el proceso de nitrificación aumentando la disponibilidad de nitrógeno para las plantas en forma de nitrato (Prosser, 2005). Por lo tanto, a pesar de ser inusual, es posible encontrar nitrospinotas en suelos, especialmente los muy

fertilizados, estimulando el crecimiento de plantas. Esto puede explicar de cierto modo la presencia de Nitrospinota en la cobertura de “Arbustos y herbáceas”.

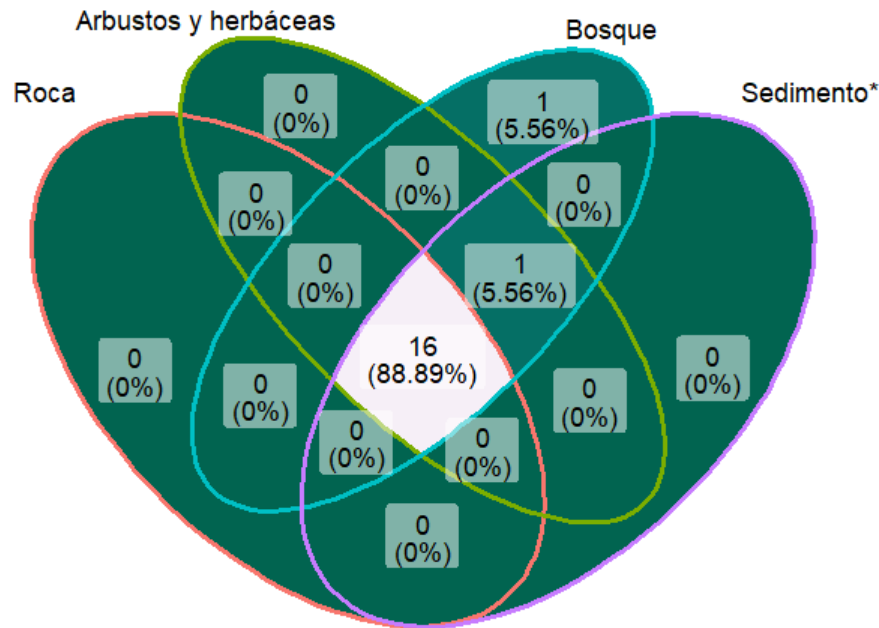
En cuanto a los demás niveles taxonómicos en clase se compartieron 116 (61,7%) entre todas las coberturas con cinco clases exclusivas en “Roca”, una en “Sedimento”, cuatro en “Arbustos y herbáceas”, y dos en “Bosque”. A nivel de orden se compartieron 243 (60.6%) entre las cuatro coberturas con 15 órdenes exclusivos en “Roca”, ocho en “Arbustos y herbáceas”, y cuatro en “Bosque”. “Sedimento” fue la única cobertura sin órdenes exclusivos definidos. A nivel de familia se compartieron 313 (54,06%) entre las cuatro coberturas con 15 familias exclusivas en “Roca”, 19 en “Arbustos y herbáceas”, y nueve en “Bosque”. “Sedimento” fue la única cobertura sin familias exclusivas definidas. A nivel de género se compartieron 371 (38,93%) entre las cuatro coberturas con 42 géneros exclusivos en “Roca”, tres en “Sedimento”, 34 en “Arbustos y herbáceas”, y 33 en “Bosque”. Los gráficos de estos niveles taxonómicos pueden revisarse en la sección de Anexos.

Las secuencias fúngicas se asignaron taxonómicamente a 18 phyla, 74 clases, 197 órdenes, 443 familias y 909 géneros. El número de phyla fúngicos (Figura 5) comunes entre los cuatro tipos de cobertura fue de 16 (88,89%), es decir los suelos de la quebrada comparten la mayoría de la biodiversidad fúngica de la zona independientemente de la cobertura del suelo. El número de phyla hallado en cada cobertura fue de 16, 17, 17 y 18 para “Roca”, “Sedimento”, “Arbustos y herbáceas”, y “Bosque”, respectivamente. Esto indica que, al igual que con las bacterias, la composición de comunidades bacterianas del suelo no es muy distinta en relación a la riqueza de phyla en cada cobertura. Igualmente se recalca el caso de la categoría “Sedimento”, en el cual todas las muestras fueron unidas para la secuenciación por falta de ADN en cada una, y aun así se encontró casi la misma cantidad de phyla que en las demás coberturas. Algo llamativo es que tan solo dos phyla están fuera del grupo común entre todas las coberturas y que en la cangahua (“Roca”) todos los phyla hallados son compartidos con todas las demás coberturas. Además, solo “Bosque” posee un phylum único, que es Basidiobolomycota con una abundancia relativa de solo el 0,0002%, también reportado en bosques nubosos montanos de México igual con muy poca abundancia (Velez et al., 2021). Este es un phylum basal raro y poco estudiado con poca resistencia al déficit hídrico, ya que se ha visto que su abundancia disminuye en respuesta a la sequía (Bazany

et al., 2022; Gonçalves et al., 2023). Esto puede explicar su presencia en suelos con coberturas boscosas y quizás ser indicador de suelos húmedos sin desertificación.

Figura 5

Diagrama de Venn de phyla fúngicos



Nota. Se destaca la categoría “Sedimento” con un (*) debido a que sus resultados deben considerarse con cuidado por obtenerse a partir de una sola muestra unificada.

Para los siguientes niveles taxonómicos a nivel de clase se compartieron 52 (70,27%) entre todas las coberturas con dos clases exclusivas en “Sedimento”, dos en “Arbustos y herbáceas”, y una en “Bosque”. “Roca” fue la única cobertura sin clases exclusivas definidas. A nivel de orden se compartieron 119 (60.41%) entre las cuatro coberturas con dos órdenes exclusivos en “Roca”, tres en “Sedimento”, cinco en “Arbustos y herbáceas”, y cuatro en “Bosque”. A nivel de familia se compartieron 224 (50,56%) entre las cuatro coberturas con seis familias exclusivas en “Roca”, cinco en “Sedimento”, 17 en “Arbustos y herbáceas”, y 19 en “Bosque”. A nivel de género se compartieron 356 (39,16%) entre las cuatro coberturas con 27 géneros exclusivos en “Roca”, 12 en “Sedimento”, 50 en “Arbustos y herbáceas”, y 54 en “Bosque”. Los gráficos de estos resultados se encuentran en la sección de Anexos.

4.2 DIVERSIDAD DE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS Y FÚNGICAS

4.2.1 Diversidad Alfa

Las coberturas muestran datos similares en cuanto a la diversidad y riqueza de phyla bacterianos (Tabla 8). Especialmente con respecto al índice de dominancia de Simpson, el cual es muy alto para todas las categorías, indicando una diversidad baja en la quebrada respecto a phyla bacterianos. La cobertura de “Arbustos y herbáceas” destaca al tener la mayor riqueza (75 phyla) y “Sedimento” (61 phyla) por tener la menor. La riqueza estimada Chao1 coincide casi exactamente con la riqueza realmente encontrada en todas las coberturas, lo que indica la poca probabilidad de phyla raros o poco comunes que se encuentren en la quebrada pero que no hayan sido muestreados. Algo similar pasa con el estimador de cobertura de abundancia (ACE) el cual es muy parecido a la riqueza obtenida con una pequeña desviación en la cobertura de “Bosque” en el que se estima que probablemente existen dos phyla raros que se encuentran en dicha cobertura pero que no fueron muestreados. Debido a que de la cobertura “Sedimento” se envió a secuenciar solamente una muestra junto con las demás 30 correspondientes a las demás coberturas (10 de cada una) por falta de contenido de ADN se esperaba una riqueza mucho menor a las demás coberturas, un desfase grande en los estimadores de riqueza Chao1 y ACE, o una diversidad menor que en las demás coberturas. Efectivamente en “Sedimento” se halló la menor riqueza (61 phyla), con una diferencia de 9 phyla con la cobertura más rica, pero los valores de Chao1 y ACE resultaron muy similares a la riqueza, y una diversidad parecida a las demás coberturas.

En cuanto a los hongos, se ve una riqueza notablemente menor a la de phyla bacterianos. Destaca “Bosque” como la cobertura con mayor riqueza (18 phyla) y “Roca” (16 phyla) con la menor, aunque entre ellas hay una diferencia de tan solo dos phyla, por lo que no se ve un notable contraste entre coberturas en cuanto a la riqueza. Los estimadores de riqueza Chao1 y ACE son muy similares a la riqueza real conseguida en el estudio en todas las categorías, lo que indica, al igual que en bacterias, que hay una muy baja probabilidad de que existan phyla raros en el área de estudio que hayan sido pasados por alto en el muestreo. Cabe destacar que de las muestras de “Roca” Novogene devolvió resultados de siete de las 10 que se enviaron debido a la falta de material genético fúngico en tres muestras, pero aun así obtuvo valores similares a las demás coberturas. En cuanto al índice de Simpson, este sí es diferente entre las categorías. De mayor a menor diversidad se encuentra “Roca”, “Arbustos y herbáceas”, “Bosque” y “Sedimento”.

Tabla 8

Estimadores de biodiversidad y riqueza de comunidades microbianas (bacterias y hongos) calculados en el rango taxonómico de phylum

Comunidades	Cobertura	Riqueza	Simpson	Chao1	SE.Chao1	ACE	SE.ACE
Bacterias	Roca	70	0,819	70,17	0,54	71,3	3,33
	Arbustos y herbáceas	75	0,858	75,33	0,92	75,65	3,02
	Bosque	71	0,865	72,5	2,59	72,28	3,6
	Sedimento*	61	0,864	61,17	0,54	62,02	3,48
	Roca	16	0,314	16	0,24	16,94	1,45
Hongos	Arbustos y herbáceas	17	0,474	17	0	17	0,97
	Bosque	18	0,548	18	0	18	1,33
	Sedimento*	17	0,620	18	2,3	18,96	1,67
	Roca	16	0,314	16	0,24	16,94	1,45

Nota. Se destaca la categoría “Sedimento” con un (*) debido a que sus resultados deben considerarse con cuidado por obtenerse a partir de una sola muestra unificada.

En general no se ven diferencias muy notorias entre las coberturas para bacterias y hongos, sin embargo, comparando ambos tipos de microorganismos se ve que la comunidad bacteriana es claramente más rica en especies, pero con una diversidad menor que hongos. Lo que indica que entre las bacterias unas pocas especies son las que dominan en la quebrada mientras que las demás son raras y están presentes con abundancias muy pequeñas. Se sabe que una alta diversidad de especies microbiológicas en el suelo es importante para mantenerlo fértil y funcional (Muñoz-Rojas et al., 2021) por lo que para la restauración de la quebrada es importante considerar aumentar la diversidad bacteriana. De hecho, se puede asociar la abundancia de microorganismos edáficos con la capacidad del suelo para secuestrar carbono y mantener funcionando los ciclos de nutrientes en el ecosistema durante el cambio climático (Vieira et al., 2021). La alta diversidad de hongos puede suponer una ventaja ecológica sobre sobre bacterias en cuanto a perturbaciones en el medio, lo que significa que los hongos posiblemente son más resilientes que bacterias, un aspecto importante en el actual contexto de cambio climático. Esta tasa de diversidad fúngica podría deberse a la colonización de nuevas especies en las coberturas quizá por una alta tasa de sucesión de la comunidad fúngica como en el estudio de Wang y colegas (2019). Mientras que la gran

riqueza de bacterias podría explicarse por su versatilidad metabólica (heterótrofas, fotoautótrofas y quimioautótrofas) y una renovación más rápida (~10 veces mayor que la de los hongos) que las hace más adaptables a la vida en suelos áridos (Wang et al., 2019).

El hecho de que “Roca” sea la cobertura con diversidad más alta tanto en hongos como en bacterias fue inesperado, porque estos suelos suelen ser abandonados por ser tierras duras y pobres en nutrientes y materia orgánica (Jiménez et al., 2018). Este hallazgo refuerza la idea de que es posible la rehabilitación de cangahua aflorante para convertirlo en suelo fértil a través de roturación y aumento carbono orgánico (Podwojewski et al., 2008). Otra opción es la inoculación de costras biológicas la cual es más eficaz en tierras secas que la adición de carbono orgánico (Coban et al., 2022). Estas soluciones son importantes debido a que, en Ecuador, este tipo de cangahua cubre 13162 hectáreas a nivel nacional y aproximadamente 15% de la superficie cultivable de la Sierra (Podwojewski et al., 2008; Jiménez et al., 2018).

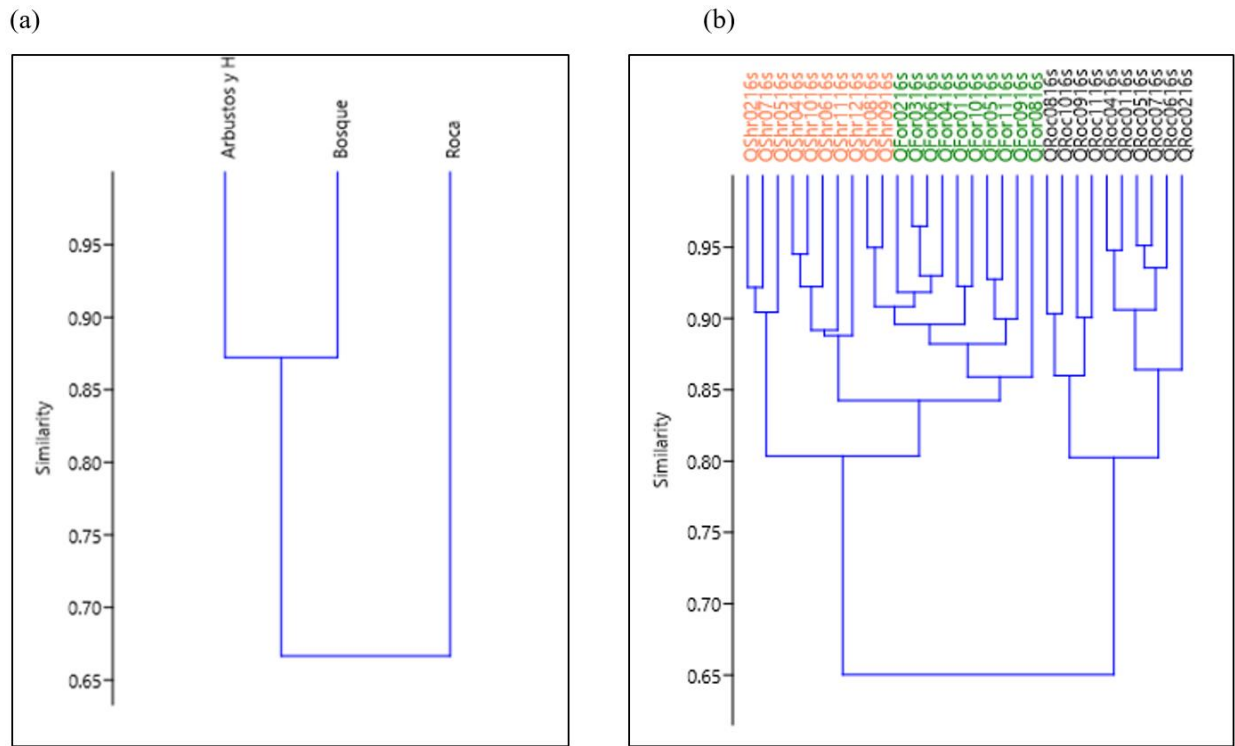
4.2.2 Diversidad Beta

El ordenamiento jerárquico obtenido de phyla bacterianos arrojó la similitud entre las coberturas (Figura 6a) excluyendo a “Sedimento”. Según los datos agrupados por categoría, está primero entre “Bosque” y “Arbustos y herbáceas”, y al último “Roca”. Se esperaba este resultado debido a que “Bosque” y “Arbustos y herbáceas” son las categorías con cobertura vegetal sobre el suelo, mientras “Roca” es suelo desnudo. Cuando se usaron los datos de cada muestra (Figura 6b) la tendencia se mantuvo agrupando primero las muestras de “Bosque” con las de “Arbustos y herbáceas” por un lado y en otro grupo a “Roca” que posteriormente se juntó a las demás muestras. En general se ve que la similitud entre las categorías y las muestras es alta. En el primer caso, el primer nodo entre “Bosque” y “Arbustos y herbáceas” se encuentra con una similitud de aproximadamente 0,87 y el siguiente nodo con cerca de 0,67. De igual modo, según las muestras se ve una gran similitud entre “Bosque” y “Arbustos y herbáceas” debido a que se entremezclan sus muestras en la agrupación, y por su nodo ubicado en un índice de similitud de 0,8. Además se ve claramente la diferencia con las muestras de “Roca” ya que estas forman un solo grupo a parte y se une a las demás en un nodo con similitud de 0,65. En general se ve una tendencia de los phyla bacterianos a ser semejantes según la existencia o ausencia de cobertura vegetal en el suelo, tanto en los datos por categoría como por muestra como una posible respuesta de la comunidad

bacteriana a las coberturas. Sin embargo, si estas diferencias son significativas o no se obtuvo con el análisis Permanova presentado más adelante.

Figura 6

Agrupación jerárquica por categoría (a) y por muestra (b) según el índice de similitud Bray-Curtis usando los phyla bacterianos

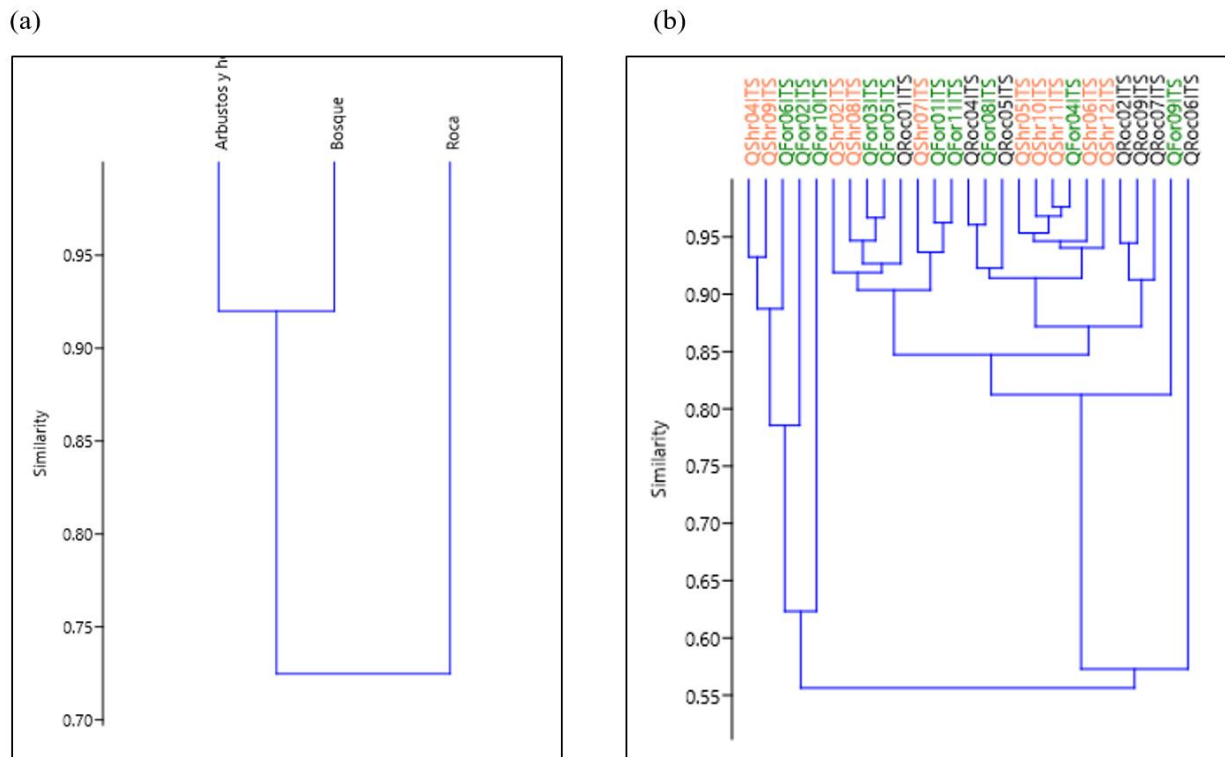


En cuanto a los hongos, la agrupación jerárquica de los phyla es similar a bacterias con los datos por categoría (Figura 6a) ya que el orden de la similitud entre coberturas es la misma. Aunque se ve mayor similitud entre “Bosque” y “Arbustos y herbáceas” en hongos (aprox. 0,92) que, en bacterias, y también en el siguiente nodo con “Roca” cuyo índice de similitud en hongos fue de aproximadamente 0,73. Se observaron más diferencias en la agrupación por muestras (Figura 7b), ya que se no se ven grupos definidos de cada categoría como en bacterias (Figura 6b). Además, los índices de similitud de los nodos son más bajos lo que indica que no hay una distinción clara de las categorías. Aquí se evidencia la falta de tres muestras de “Roca” que no pudieron ser secuenciadas por falta de material genético fúngico lo que quizá explica que esta categoría tenga

la menor riqueza de hongos. Además, la comunidad fúngica se considera más sensible a cambios en cobertura vegetal debido a la compleja naturaleza de simbiosis entre plantas y hongos (Jin et al., 2019), por lo que se esperaba una menor cantidad de materia fúngica en “Roca”.

Figura 7

Agrupación jerárquica por categoría (a) y por muestra (b) según el índice de similitud Bray-Curtis usando los phyla fúngicos



4.3 ESTADÍSTICA PERMANOVA

Los resultados de la estadística Permanova usando los datos de phyla por categoría, para bacterias y hongos mostraron un p de 0,99; mientras que por muestra para bacterias se obtuvo un p de 0,15 y para hongos un p de 0,51. Estadísticamente no hay una diferencia significativa en las abundancias relativas usando los datos por grupos ni por muestras, demostrando que las comunidades de hongos y bacterias no difieren en relación a las coberturas del suelo de la quebrada. Esto fue inesperado considerando que dos categorías son suelo desnudo (“Sedimento” y “Roca”). Incluso se esperaban diferencias significativas entre “Sedimento” y alguna de las demás

categorías principalmente por el diseño de muestreo en el que para “Sedimento” se decidió juntar todas las muestras para obtener una cantidad suficiente de ADN. Por otro lado, y como se discutió con anterioridad, es posible observar tendencias que dan luz sobre la diversidad y abundancia de grupos fúngicos y bacterianos importantes que podrían ser bioindicadores útiles en planes de restauración de suelos degradados de origen volcánico.

Cabe destacar algunas limitaciones que pudieron intervenir en que no existan diferencias significativas entre las coberturas en relación con la diversidad microbiológica de hongos y bacterias. En primer lugar, está el presupuesto que limita el número de muestras que se pueden enviar a secuenciar. En segundo, se tiene el hecho de que en Ecuador todavía no está disponible la tecnología para generar secuenciaciones genéticas confiables, por lo que es más demoroso tener que enviar las muestras a otros países e incluso fuera del continente. Por último, es importante considerar que esta investigación abarca solamente una dimensión de la calidad del suelo, ya que este concepto involucra aspectos físicos, químicos y biológicos. Por lo tanto, para afirmar con certeza que no existen diferencias entre las coberturas se necesitan datos más completos y complementarios además de un análisis estadístico más fuerte.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES

En este trabajo se analizó la relación entre la diversidad edáfica de hongos y bacterias en una quebrada de los Andes septentrionales bajo distintas coberturas de suelo demostrando que el área de estudio es un paisaje heterogéneo en cuanto a la cobertura del suelo, pero estadísticamente homogéneo en su diversidad microbiológica de hongos y bacterias. Esto representa una luz para la restauración de suelo degradado de origen volcánico gracias a la presencia de indicadores biológicos en suelos sedimentarios y cangahua.

Los estudios metagenómicos y de campo son apropiados para caracterizar la diversidad de hongos y bacterias en suelos de quebradas con distintas coberturas. Se halló un total de 83 phyla bacterianos (10 con la mayor abundancia relativa), siendo Proteobacteria, Acidobacteriota y Actinobacteriota los más destacados por su papel en la resiliencia y restauración de ecosistemas terrestres. En hongos, se encontró un total de 18 phyla (cinco con mayor abundancia relativa). Los más abundantes en todas las coberturas fueron Ascomycota y Basidiomycota que siguen una tendencia opuesta según la existencia de cobertura vegetal, ya que el primero se beneficia más de materia en descomposición y el segundo de raíces de plantas hospedadas. Tanto para bacterias como hongos se compartieron la gran mayoría de phyla entre las coberturas con pocos exclusivos (raros y poco investigados), especialmente hongos donde “Bosque” fue la única cobertura con un grupo único.

En general no se encontraron diferencias significativas entre las coberturas, pero sí ciertas tendencias que amplían la comprensión sobre la estructura y distribución de comunidades microbianas fúngicas y bacterianas en distintas coberturas de suelos de origen volcánico. Se demostró las diferencias entre las abundancias, riqueza y diversidad de comunidades bacterianas y fúngicas bajo distintas coberturas mostrando que hay más bacterias que hongos en la quebrada, aunque la diversidad de hongos es notablemente mayor. Esto mostró una posible mayor capacidad de resiliencia de hongos sobre bacterias en el área de estudio. A pesar de la diferencia en el diseño metodológico de “Sedimento” dificultando su comparación con las demás coberturas, se pudo obtener una aproximación de la diversidad bacteriana y fúngica en esa categoría.

La composición y abundancia de hongos y bacterias edáficas se ha convertido en un indicador cada vez más importante de la calidad del suelo, específicamente en el contexto de la degradación y restauración de la tierra. Esta investigación reveló que ciertos patrones de abundancia y distribución de microorganismos fúngicos y bacterianos podrían ser indicadores de procesos de restauración de suelos. Sin embargo, hay un vacío de información en cuanto a estos microorganismos en quebradas con suelos de origen volcánico, por lo que este estudio servirá como referencia para investigaciones futuras e incluso para la toma de decisiones que involucren la restauración de ecosistemas andinos. Además, la comprensión de las tendencias de comunidades de bacterias y hongos indicadoras de la calidad del suelo permitirá su gestión para solucionar la problemática de desertificación en el país.

6. RECOMENDACIONES

Dado que los cambios en el uso del suelo alteran la comunidad bacteriana, es importante comenzar estudios que analicen las dinámicas de la diversidad edáfica en períodos largos de tiempo considerando tomar más muestras en la quebrada y los posibles efectos del cambio climático. Esto ayudaría a entender de mejor manera la biogeografía y diversidad microbiana de la quebrada. También se debe complementar con estudios de diversidad gamma en el que se comparen los resultados con distintas quebradas de la zona y determinar el comportamiento de las comunidades de hongos y bacterias en suelos de origen volcánico.

En vista de la sensibilidad de las comunidades microbianas a cambios ambientales es importante complementar estos resultados con análisis fisicoquímicos del suelo que permitan ver la distribución y diversidad de hongos y bacterias en respuesta dichos factores. También es importante realizar estudios y análisis adicionales para determinar la respuesta de los grupos fúngicos y bacterianos con una resolución taxonómica más fina, así como la diversidad funcional de los grupos más abundantes. Así pues, adquirir un conocimiento más profundo sobre la conexión entre las coberturas de suelo, las características fisicoquímicas del suelo, y comunidades bacterianas y fúngicas a distintos niveles taxonómicos brindaría una comprensión integral acerca de la degradación del suelo y las posibles soluciones.

Ampliar la investigación de la diversidad bacteriana y fúngica en conjunto con las características hídricas de la quebrada para comprender las interacciones entre la dinámica hidrológica y microbiana del suelo. Esto ayudará a tener una perspectiva holística del territorio y bases para idear y ejecutar planes de restauración adaptados a ecosistemas de quebradas.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, I., Sánchez, A., & Mendoza, B. (2021). Evaluación del nivel de degradación del suelo en dos sistemas productivos en la depresión de Quíbor. II. Calidad del suelo. *Bioagro*, 33(2), 127-134.
- Adessi, A., De Philippis, R., & Rossi, F. (2021). Drought-tolerant cyanobacteria and mosses as biotechnological tools to attain land degradation neutrality. *Web Ecology*, 21(1), 65-78.
- Aparicio, J. D., Benimeli, C. S., Almeida, C. A., Polti, M. A., & Colin, V. L. (2017). Integral use of sugarcane vinasse for biomass production of actinobacteria: Potential application in soil remediation. *Chemosphere*, 181, 478-484.
- Araujo, R. (2022). Advances in soil engineering: sustainable strategies for rhizosphere and bulk soil microbiome enrichment. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 27(6), 195.
- Ayangbenro, A. S., & Babalola, O. O. (2021). Reclamation of arid and semi-arid soils: The role of plant growth-promoting archaea and bacteria. *Current Plant Biology*, 25, 100173.
- Bach, E.M., Ramirez, K.S., Fraser, T.D., & Wall, D.H. (2020). Soil Biodiversity Integrates Solutions for a Sustainable Future. *Sustainability*, 12, 2662.
- Barrera, V., Delgado, J. A., Alwang, J., Escudero, L., Arévalo, J., & Cartagena, Y. (2020). *Prácticas de agricultura de conservación que promueven la productividad y sostenibilidad del sistema de producción papa-pastos en la microcuenca del río Illangama, Ecuador*. Boletín Divulgativo No. 448. Editorial ARCOIRIS Producción Gráfica. Quito, Ecuador. 38 pp.
- Bastidas, B.K., & Botina O.A. (2018). Características fisicoquímicas del suelo y su asociación con la materia orgánica en diferentes sistemas productivos, Nariño. [Tesis de pregrado, Universidad de Nariño]. Repositorio SIREN de la Universidad de Nariño <http://sired.udenar.edu.co/5450/>

- Bateman, A.M., & Muñoz-Rojas, M. (2019). To whom the burden of soil degradation and management concerns. En: Pereira, P. (ed.). *Advances in Chemical Pollution, Environmental Management and Protection, Vol. 4: Soil Degradation, Restoration and Management in a Global Change Context*, pp. 1-22. Academic Press, Elsevier.
- Bazany, K. E., Wang, J. T., Delgado-Baquerizo, M., Singh, B. K., & Trivedi, P. (2022). Water deficit affects inter-kingdom microbial connections in plant rhizosphere. *Environmental Microbiology*, 24(8), 3722-3734.
- Belnap, J., & Lange, O. L. (Eds.). (2003). *Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management*. Ecological Studies. doi:10.1007/978-3-642-56475-8
- Benalcázar, C. G. (2017). *Evaluación de los procesos erosivos en la microcuenca de la Quebrada Ambuquí-Cochapamba, norte del Ecuador* (Bachelor's thesis).
- Bonilla-Bedoya, S., Lopez-Ulloa, M., Vanwalleghem, T., & Herrera-Machuca, M.A. (2017). Effects of Land Use Change on Soil Quality Indicators in Forest Landscapes of the Western Amazon. *Soil Science*, 182(4). <https://doi.org/10.1097/SS.0000000000000203>.
- Bonilla-Bedoya, S., Valencia, K., Herrera, M. Á., López-Ulloa, M., Donoso, D. A., & Pezzopane, J. E. M. (2023). Mapping 50 years of contribution to the development of soil quality biological indicators. *Ecological Indicators*, 148, 110091.
- Briassoulis, H. (2019). Combating land degradation and desertification: The land-use planning quandary. *Land*, 8(2), 27.
- Brown, C. T., Hug, L. A., Thomas, B. C., Sharon, I., Castelle, C. J., Singh, A., ... & Banfield, J. F. (2015). Unusual biology across a group comprising more than 15% of domain Bacteria. *Nature*, 523(7559), 208-211.
- Chamizo, S., Adessi, A., Certini, G., & De Philippis, R. (2020). Cyanobacteria inoculation as a potential tool for stabilization of burned soils. *Restoration Ecology*, 28, 106-114.

- Chua, M., Erickson, T.E., Merritt, D.J., Chilton, A.M., Ooi, M.K., & Muñoz-Rojas, M. (2020). Bio-priming seeds with cyanobacteria: effects on native plant growth and soil properties. *Restoration Ecology*, 28, 168-176.
- Coban, O., De Deyn, G. B., & van der Ploeg, M. (2022). Soil microbiota as game-changers in restoration of degraded lands. *Science*, 375(6584), abe0725.
- Contreras, M. J., Leal, K., Bruna, P., Núñez-Montero, K., Gomez, O., Santos, A., ... & Barrientos, L. (2023). Commonalities between the Atacama Desert and Antarctica rhizosphere microbial communities. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1197399.
- Costales, A. (2006). *Ilaló La montaña Luminosa*. Quito: Ocp Ecuador.
- Dacal, M., Bradford, M.A., Plaza, C., Maestre, F.T., & García-Palacios, P. (2019). Soil microbial respiration adapts to ambient temperature in global drylands. *Nature ecology and evolution*, 3(2), 232-238.
- Dang, Y., Ren, W., Tao, B., Chen, G., ... & Lu, C. (2014). Climate and Land Use Controls on Soil Organic Carbon in the Loess Plateau Region of China. *PLOS ONE* 9(5): e95548.
- Delgado-Baquerizo, M. (2019). Obscure soil microbes and where to find them. *The ISME journal*, 13(8), 2120-2124.
- Delgado-Baquerizo, M., Maestre, F.T., Reich, P.B., Jeffries, T.C., Gaitan, J.J., ... & Encinar, D. (2016). Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nature communications*, 7(1), 1-8.
- Delgado-Baquerizo, M., Oliverio, A.M., Brewer, T.E., Benavent-González, A., Eldridge, D.J., ... & Bardgett, R.D. (2018). A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science*, 359(6373), 320-325.
- Deng, J., Zhu, W., Zhou, Y., & Yin, Y. (2019). Soil organic carbon chemical functional groups under different revegetation types are coupled with changes in the microbial community composition and the functional genes. *Forests*, 10(3), 240.

- Dhinwa, P.S., Dasgupta, A. & Ajai, (2016). Monitoring and assessment of desertification using satellite remote sensing. *J. Geomatics*, 10(2), 210-216.
- Díaz, I. (2020). *Guía Completa Para Calcular La Abundancia Relativa En Ecología*. Recuperado el 23 de enero de 2024, de Ecología Digital: <https://ecologiadigital.bio/como-se-calcula-la-abundancia-relativa-en-ecologia-y-que-importancia-tiene/>
- Dunjó Denti, G. (2004). *Developing a desertification indicator system for a small Mediterranean catchment: A case study from the Serra de Rodes, Alt Empordà, Catalunya, NE Spain*. Universitat de Girona.
- Elsakhawy, T., Omara, A. E. D., Abowaly, M., El-Ramady, H., Badgar, K., Llanaj, X., ... & Prokisch, J. (2022). Green Synthesis of Nanoparticles by Mushrooms: A Crucial Dimension for Sustainable Soil Management. *Sustainability*, 14(7), 4328.
- European Commission, Directorate-General for International Cooperation and Development, Ontiveros, R. (2014). *Cambio climático y degradación de los suelos en América Latina : escenarios, políticas y respuestas : guía metodológica*, Oficina de Publicaciones. <https://data.europa.eu/doi/10.2841/60789>
- European Commission. (2018). *World atlas of desertification* (Tercera ed.). (M. Cherlet, C. Hutchinson, J. Reynolds, J. Hill, S. Sommer, & G. Von Maltitz, Edits.) Luxemburgo: Office of the European Union. doi:10.2760/06292
- Faist, A.M., Antoninka, A.J., Belnap, J., Bowker, M.A., Duniway, M.C., ... & Garcia-Pichel, F. (2019). Inoculation and habitat amelioration efforts in biological soil crust recovery vary by desert and soil texture. *Restoration Ecology*, 28, 96-105.
- Fan, X., Gao, D., Zhao, C., Wang, C., Qu, Y., Zhang, J., & Bai, E. (2021). Improved model simulation of soil carbon cycling by representing the microbially derived organic carbon pool. *The ISME Journal*, 15(8), 2248-2263.
- FAO, ITPS, GSBI, CBD, & EC. (2020). *State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities*, Report 2020. Rome, FAO.

- FAO. (2016). *Estado Mundial del Recurso Suelo*. Resumen Técnico. FAO, Roma, Italia.
- FAO & ITPS. (2015). *Status of the World's Soil Resources report*. FAO Publication. Rome, Italy.
- Ferreira, C. S., Seifollahi-Aghmiuni, S., Destouni, G., Ghajarnia, N., & Kalantari, Z. (2022). Soil degradation in the European Mediterranean region: Processes, status and consequences. *Science of the Total Environment*, 805, 150106.
- Ferrenberg, S., Tucker, C. & Reed, S. (2017). Biological soil crusts: Diminutive communities of potential global importance. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 15(3).
- Fischer, J., Riechers, M., Loos, J., Martin-Lopez, B., & Temperton, V.M. (2020). Making the UN Decade on Ecosystem Restoration a Social-Ecological Endeavour. *Trends in Ecology and Evolution*, 36, 20-28.
- Fuke, P., Kumar, M., Sawarkar, A. D., Pandey, A., & Singh, L. (2021). Role of microbial diversity to influence the growth and environmental remediation capacity of bamboo: a review. *Industrial Crops and Products*, 167, 113567.
- GAD La Merced. (2017). *Actualización Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial*. Sistema Nacional de Información. https://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdocumentofinal/1768098920001_PDY_OT%20FINAL%20PARROQUIA%20LA%20MERCED_29-10-2015_15-55-17.pdf
- Gaitán, J.J., Bran, D.E., Oliva, G.E., Aguiar, M.R., Buono, G.G., ... & Ferrante, D. (2018). Aridity and overgrazing have convergent effects on ecosystem structure and functioning in Patagonian rangelands. *Land Degradation and Development*, 29(2), 210-218.
- Gambella, F., Quaranta, G., Morrow, N., Vcelakova, R., Salvati, L., Gimenez Morera, A., & Rodrigo-Comino, J. (2021). Soil degradation and socioeconomic systems' complexity: Uncovering the latent nexus. *Land*, 10(1), 30.

- Geisen, S., Briones, M. J., Gan, H., Behan-Pelletier, V. M., Friman, V. P., de Groot, G. A., ... & Wall, D. H. (2019). A methodological framework to embrace soil biodiversity. *Soil Biology and Biochemistry*, 136, 107536.
- Geml, J., Pastor, N., Fernandez, L., Pacheco, S., Semenova, T. A., Becerra, A. G., ... & Nouhra, E. R. (2014). Large-scale fungal diversity assessment in the Andean Yungas forests reveals strong community turnover among forest types along an altitudinal gradient. *Molecular ecology*, 23(10), 2452-2472.
- Go Raymi. (2022). *La Merced*. Recuperado el 27 de marzo de 2023, de <https://www.goraymi.com/es-ec/pichincha/quito/rurales/merced-ada2b761e>
- Gonçalves, V. N., Lirio, J. M., Coria, S. H., Lopes, F. A., Convey, P., de Oliveira, F. S., ... & Rosa, L. H. (2023). Soil Fungal Diversity and Ecology Assessed Using DNA Metabarcoding along a Deglaciaded Chronosequence at Clearwater Mesa, James Ross Island, Antarctic Peninsula. *Biology*, 12(2), 275.
- Guerra, C.A., Bardgett, R.D., Caon, L., Crowther, T.W., Delgado-Baquerizo, M., ... & Montanarella, L. (2021). Tracking, targeting, and conserving soil biodiversity. *Science*, 371(6526), 239-241.
- Gutiérrez-Rodríguez, O. A. (2018). *Diagnóstico de la tendencia a degradación de suelos por desertificación en la jurisdicción CAR*. Recuperado el 05 de abril de 2023, de CAR: <https://sie.car.gov.co/handle/20.500.11786/37864#page=1>
- Hammer, Ø., & Harper, D. A. (2001). Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica*, 4(1), 1.
- Huang, J., Yu, H., Dai, A., Wei, Y., & Kang, L. (2017). Drylands face potential threat under 2°C global warming target. *Nature Climate Change*, 7, 417- 422.
- Huang, J., Yu, H., Guan, X., Wang, G., & Guo, R. (2016). Accelerated dryland expansion under climate change. *Nature Climate Change*, 6, 166-171.

- Hubbell, S. P. (2001). *The unified neutral theory of biodiversity and biogeography (MPB-32)*. Princeton University Press.
- İmamoglu, A., & Dengiz, O. (2019). Evaluation of soil quality index to assess the influence of soil degradation and desertification process in sub-arid terrestrial ecosystem. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 30(4), 723-734.
- Irfan, M., Hussain, Q., Khan, K.S., Akmal, M., Ijaz, S.S., ... & Hayat, R. (2019). Response of soil microbial biomass and enzymatic activity to biochar amendment in the organic carbon deficient arid soil: a 2-year field study. *Arabian Journal of Geosciences*, 12(3), 95.
- Jansson, J. K., & Hofmockel, K. S. (2018). The soil microbiome—from metagenomics to metaphenomics. *Current opinion in microbiology*, 43, 162-168.
- Jiménez, S. (2011). La erosión del suelo en el Ecuador. En *Estudio científico de los índices de erosión en el Ecuador*. Observatorio de política ambiental.
- Jiménez, W., Loayza, V., & Metzler, E. (2018). Mapeo de cangahuas mediante teledetección en el Ecuador. *Siembra*, 5(1), 38-50.
- Jin, X., Liu, Y., Hu, W., Wang, G., Kong, Z., Wu, L., & Ge, G. (2019). Soil bacterial and fungal communities and the associated nutrient cycling responses to forest conversion after selective logging in a subtropical forest of China. *Forest Ecology and Management*, 444, 308-317.
- Johnsen, K., Jacobsen, C. S., Torsvik, V., & Sørensen, J. (2001). Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils—a review. *Biology and Fertility of Soils*, 33, 443-453.
- Jónsson J.Ö.G. & Davíðsdóttir B., (2016). Classification and valuation of soil ecosystem services. *Agricultural Systems*, 145, 24-38.

- Kalam, S., Basu, A., Ahmad, I., Sayyed, R. Z., El-Enshasy, H. A., Dailin, D. J., & Suriani, N. L. (2020). Recent understanding of soil acidobacteria and their ecological significance: a critical review. *Frontiers in Microbiology, 11*, 580024.
- Karaman, M., Novakovic, M., & Matavuly, M. (2012). Fundamental fungal strategies in restoration of natural environment. *Fungi: Types, environmental impact and role in disease. New York: Nova Science Publishers Inc.*
- Kaushik, P., Sandhu, O. S., Brar, N. S., Kumar, V., Malhi, G. S., Kesh, H., & Saini, I. (2020). Soil metagenomics: prospects and challenges. *Mycorrhizal fungi-utilization in agriculture and forestry.*
- Kumar, B. P., Babu, K. R., Anusha, B. N., & Rajasekhar, M. (2022). Geo-environmental monitoring and assessment of land degradation and desertification in the semi-arid regions using Landsat 8 OLI/TIRS, LST, and NDVI approach. *Environmental Challenges, 8*, 100578.
- Kumar, B. P., Babu, K. R., Rajasekhar, M., & Ramachandra, M. (2019a). Assessment of land degradation and desertification due to migration of sand and sand dunes in Beluguppa Mandal of Anantapur district (AP, India), using remote sensing and GIS techniques. *J. Ind. Geophys. Union (March 2019), 23(2)*, 173-180.
- Kumar, M., Kumar, M., Pandey, A., & Thakur, I.S. (2019b). Genomic analysis of carbon dioxide sequestering bacterium for exopolysaccharides production. *Scientific reports, 9(1)*, 1-12.
- Laban, P., Metternicht, G., & Davies, J. (2018). Biodiversidad de suelos y carbono orgánico en suelos: cómo mantener vivas las tierras áridas. *UICN, Gland, Suiza.*
- Lara, D. A. (2016). *Análisis de la dinámica territorial del Cerro Ilaló que justifica su declaración como área natural protegida del Distrito Metropolitano de Quito* (Bachelor's thesis, PUCE).
- Li, P., Wu, M., Kang, G., Zhu, B., Li, H., Hu, F., & Jiao, J. (2020). Soil quality response to organic amendments on dryland red soil in subtropical China. *Geoderma 373*:114416.

- Li, X., Qu, Z., Zhang, Y., Ge, Y., & Sun, H. (2022). Soil fungal community and potential function in different forest ecosystems. *Diversity*, *14*(7), 520.
- Li, Y., Wang, J., & Shao, M. A. (2021). Assessment of earthworms as an indicator of soil degradation: A case-study on loess soils. *Land Degradation and Development*, *32*, 2606-2617.
- Liu, Z., Sun, Y., Zhang, Y., Qin, S., Sun, Y., Mao, H., & Miao, L. (2020). Desert soil sequesters atmospheric CO₂ by microbial mineral formation. *Geoderma*, *361*:114104.
- Liu, Z., Zhang, Y., Fa, K., Zhao, H., Qin, S., Yan, R., & Wu, B. (2018). Desert soil bacteria deposit atmospheric carbon dioxide in carbonate precipitates. *Catena*, *170*, 64-72.
- Lücker, S., Nowka, B., Rattei, T., Spieck, E., & Daims, H. (2013). The genome of *Nitrospina gracilis* illuminates the metabolism and evolution of the major marine nitrite oxidizer. *Frontiers in Microbiology*, *4*, 27.
- MAATE. (2013). *Aprendiendo a luchar contra la desertificación, degradación de tierras y sequía en el Ecuador*. Recuperado el 08 de abril de 2023, de Ministerio del Ambiente: <https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/06/aprendiendo2.pdf>
- MAATE. (2015). *Líneas de acción del Ecuador para la lucha contra la desertificación fueron presentadas*. Recuperado el 11 de abril de 2023, de Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica: <https://www.ambiente.gob.ec/lineas-de-accion-del-ecuador-para-la-lucha-contra-la-desertificacion-fueron-presentadas/>
- Maciel, M. J. M., & Ribeiro, H. C. T. (2010). Industrial and biotechnological applications of ligninolytic enzymes of the basidiomycota: A review. *Electronic Journal of Biotechnology*, *13*(6), 14-15.
- Maestre, F.T., Delgado-Baquerizo, M., Jeffries, T.C., Eldridge, D.J., Ochoa, V., & Singh, B.K. (2015). Increasing aridity reduces soil microbial diversity and abundance in global drylands. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*, 15684-15689.

- Marín, M. (2019). *Informe Técnico AIER Ijaló*. Recuperado el 29 de agosto de 2023, de Distrito Metropolitano de Quito:
https://www7.quito.gob.ec/mdmq_ordenanzas/Administraci%C3%B3n%202019-2023/Circulares%20previo%20SITRA/2019/016-ESTADO%20DE%20EMERGENCIA-VOLCAN%20ILALO-INFORME%20SECRETARIA%20TERRITORIO/ANEXO.pdf
- Masoudi, M., Jokar, P., & Pradhan, B. (2018). A new approach for land degradation and desertification assessment using geospatial techniques. *Natural Hazards and Earth System Sciences*, *18*(4), 1133-1140.
- Meng, M., Lin, J., Guo, X., Liu, X., Wu, J., Zhao, Y., & Zhang, J. (2019). Impacts of forest conversion on soil bacterial community composition and diversity in subtropical forests. *Catena*, *175*, 167-173.
- Molina, L. D., & Lozano, L. P. (2016). La desertificación del suelo, aspectos y estrategias de lucha. *Publicaciones e Investigación*, *10*, 117-127.
- Montaño-Lopez, F., Guevara, M., & Biswas, A. (2021). Soil Science Research and Development in Latin America and the Caribbean. En: Rakshit, A., Singh, S., Abhilash, P., Biswas, A. (Eds.), *Soil Science: Fundamentals to Recent Advances* (pp. 613-621). Springer, Singapore.
- Muñoz-Rojas, M., Delgado-Baquerizo, M., & Lucas-Borja, M. E. (2021). La biodiversidad y el carbono orgánico del suelo son esenciales para revertir la desertificación. *Ecosistemas*, *30*(3), 2238. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2238>
- Myrold, D. D., Zeglin, L. H., & Jansson, J. K. (2014). The potential of metagenomic approaches for understanding soil microbial processes. *Soil Science Society of America Journal*, *78*(1), 3-10.
- Naş, S., Ciurean, O. M., Bondrea, M. V., & Radulescu, V. M. (2021). A sustainable approach to geomatic methods in ravine monitoring and associated natural disaster prevention. *Preprints.org*.

- Nottingham, A. T., Fierer, N., Turner, B. L., Whitaker, J., Ostle, N. J., McNamara, N. P., ... & Meir, P. (2018). Microbes follow Humboldt: temperature drives plant and soil microbial diversity patterns from the Amazon to the Andes. *Ecology*, 99(11), 2455-2466.
- Ochoa-Hueso, R., Collins, S.L., Delgado-Baquerizo, M., Hamonts, K., Pockman, W.T., & Sinsabaugh, R.L. (2018). Drought consistently alters the composition of soil fungal and bacterial communities in grasslands from two continents. *Global Change Biology*, 24(7), 2818-2827.
- OMEGA BIO-TEK. (2020). Product Manual. Estados Unidos.
- Orgiazzi, A., Bardgett, R.D., Barrios, E., Behan-Pelletier, V., Briones, M.J., Chotte, J-L., De Deyn, G.B., Eggleton, P., Fierer, N. & Fraser, T. (2016). Global soil biodiversity atlas. Publications Office of the European Union.
- Patiño, G.R.M. (2016). *Sistematización del proyecto cultivo y cosecha de agua de lluvia de mujeres Tierra Nueva, Comuna de Guantugloma, Parroquia de la Merced, Cantón Quito* (Bachelor's thesis).
- Podwojewski, P., Janeau, J. L., & Leroux, Y. (2008). Effects of agricultural practices on the hydrodynamics of a deep tilled hardened volcanic ash–soil (Cangahua) in Ecuador. *Catena*, 72(1), 179-190.
- Prosser, J. I. (2005). Nitrogen in soils: nitrification. In *Encyclopedia of Soils in the Environment* (pp. 31-39). Elsevier Inc.
- Pulleman, M., Creamer, R., Hamer, U., Helder, J., Pelosi, C., Peres, G., & Rutgers, M. (2012). Soil biodiversity, biological indicators and soil ecosystem services—an overview of European approaches. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 4(5), 529-538.
- Purakayastha, T. J., Kumari, S., & Pathak, H. (2015). Characterisation, stability, and microbial effects of four biochars produced from crop residues. *Geoderma*, 239, 293-303.

- Ramirez-Villacis, D. X., Pinos-Leon, A., Vega-Polo, P., Salas-González, I., Jones, C. D., & Torres, M. D. L. (2023). Untangling the Effects of Plant Genotype and Soil Conditions on the Assembly of Bacterial and Fungal Communities in the Rhizosphere of the Wild Andean Blueberry (*Vaccinium floribundum* Kunth). *Microorganisms*, *11*(2), 399.
- Remke, M.J., Johnson, N.C., Wright, J., Williamson, M., & Bowker, M.A. (2021). Sympatric pairings of dryland grass populations, mycorrhizal fungi and associated soil biota enhance mutualism and ameliorate drought stress. *Journal of Ecology*, *109*(3), 1210-1223.
- Rocha, F., Esteban Lucas-Borja, M., Pereira, P., & Muñoz-Rojas, M. (2020). Cyanobacteria as a Nature-Based Biotechnological Tool for Restoring Salt-Affected Soils. *Agronomy*, *10*(9), 1321.
- Rodriguez-Echeverria, S., Delgado-Baquerizo, M., Morillo, J. A., Gaxiola, A., Manzano, M., Marquet, P. A., ... & Armas, C. (2021). Azorella cushion plants and aridity are important drivers of soil microbial communities in Andean ecosystems. *Ecosystems*, *24*(7), 1576-1590.
- Román, J.R., Chilton, A. M., Cantón, Y., & Muñoz-Rojas, M. (2020). Assessing the viability of cyanobacteria pellets for application in arid land restoration. *Journal of Environmental Management*, *270*, 110795.
- Romero, C.M., Chunli, L.I., Owens, J., Ribeiro, G.O., Mcallister, T.A., Okine, E., & Xiyang, H.A.O. (2021). Nutrient cycling and greenhouse gas emissions from soil amended with biochar-manure mixtures. *Pedosphere*, *31*(2), 289- 302.
- Roncero-Ramos, B., Román, J.R., Rodríguez-Caballero, E., Chamizo, S., Águila-Carricondo, P., Mateo, P., & Cantón, Y. (2019). Assessing the influence of soil abiotic and biotic factors on 235 *Nostoc commune* inoculation success. *Plant Soil*, *444*, 57–70.
- RStudio Team. (2020). *RStudio: Integrated Development for R*. RStudio, PBC, Boston, MA.
Recuperado el 23 de enero de 2024, de <http://www.rstudio.com/>

- Salomón, M., Ríos, C. G., Rubio, C., Galárraga, R., & Abraham, E. (2008). Indicadores de uso del agua en una zona de los Andes centrales de Ecuador. Estudio de la cuenca del Río Ambato. *Ecosistemas*, 17(1).
- Sboner, A., Mu, X. J., Greenbaum, D., Auerbach, R. K., & Gerstein, M. B. (2011). The real cost of sequencing: higher than you think!. *Genome biology*, 12, 1-10.
- Schaumann, G. E., Braun, B., Kirchner, D., Rotard, W., Szewzyk, U., & Grohmann, E. (2007). Influence of biofilms on the water repellency of urban soil samples. *Hydrological Processes: An International Journal*, 21(17), 2276-2284.
- Semenov, M. V. (2021). Metabarcoding and metagenomics in soil ecology research: achievements, challenges, and prospects. *Biology Bulletin Reviews*, 11, 40-53.
- Silva, D. (2018). *Rendición de cuentas Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural La Merced*. Recuperado el 25 de agosto de 2023, de DocPlayer: <https://docplayer.es/63409026-Rendicion-de-cuentas-gobierno-autonomo-descentralizado-parroquial-rural-la-merced.html>
- Silva, G. D. C., Kitano, I. T., Ribeiro, I. A. D. F., & Lacava, P. T. (2022). The potential use of actinomycetes as microbial inoculants and biopesticides in agriculture. *Frontiers in Soil Science*, 2.
- Silva-Yumi, J., Cazorla Martínez, R., Medina Serrano, C., & Chango Lescano, G. (2021). Alofán, una nanopartícula natural presente en andisoles del Ecuador, propiedades y aplicaciones. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 33(1), 53-66.
- Sterk, G., & Stoorvogel, J. J. (2020). Desertification—Scientific Versus Political Realities. *Land*, 9(5), 156.
- Tedersoo, L., Bahram, M., Põlme, S., Kõljalg, U., Yorou, N.S., ... & Wijesundera, R. (2014). Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, 346, 6213.

- Tedersoo, L., Bahram, M., & Zobel, M. (2020). How mycorrhizal associations drive plant population and community biology. *Science*, 367(6480).
- Teich, I., Harari, N., Caza, P., Henao-Henao, J. P., Lopez, J. C., Raviolo, E., ... & García, C. L. (2023). An interactive system to map land degradation and inform decision-making to achieve land degradation neutrality via convergence of evidence across scales: A case-study in Ecuador. *Land degradation & development*, 34(15), 4475-4487.
- Trivedi, C., Delgado-Baquerizo, M., Hamonts, K., Lai, K., Reich, P.B., & Singh, B.K. (2019). Losses in microbial functional diversity reduce the rate of key soil processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 135, 267-274.
- Ulloa, M. C. (2014). El suelo y la productividad agrícola en la sierra del Ecuador. In *XIV Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo* (p. 28).
- UNCCD. (1994). *Elaboration of an international convention to combat desertification in countries experiencing serious drought and/or desertification, particularly in Africa* (A/AC.241/27). United Nations, New York, Estados Unidos.
- UNCCD. (2022). *Convención De La Naciones Unidas De Lucha Contra La Desertificación*. Recuperado el 04 de abril de 2023, de NACIONES UNIDAS: https://www.unccd.int/sites/default/files/2022-02/UNCCD_Convention_text_SPA.pdf
- Universidad Indoamérica. (2022). *Estudiantes de Indoamérica participan de la recuperación en la quebrada Manzana Pugro – La Merced*. Recuperado el 25 de agosto de 2023, de Noticias Indoamérica: <https://indoamerica.edu.ec/estudiantes-de-indoamerica-participan-de-la-recuperacion-en-la-quebrada-manzana-pugro-la-merced/>
- Van der Putten, W. H., Anderson, J. M., Bardgett, R. D., Behan-Pelletier, V., Bignell, D. E., Brown, G. G., ... & Wall, D. H. (2004). *The sustainable delivery of goods and services provided by soil biota* (pp. 15-43). Island Press.

- Vasar, M., Davison, J., Sepp, S.-K., Öpik, M., Moora, M., ... & Koorem, K. (2021). Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in the Soils of Desert Habitats. *Microorganisms*, 9, 229.
- Velez, P., Tapia-Torres, Y., García-Oliva, F., & Gasca-Pineda, J. (2021). Small-scale variation in a pristine montane cloud forest: evidence on high soil fungal diversity and biogeochemical heterogeneity. *PeerJ*, 9, e11956.
- Vélez-Martínez, G. A., Reyes-Ardila, W. L., Duque-Zapata, J. D., Rugeles-Silva, P. A., Muñoz Flórez, J. E., & López-Álvarez, D. (2023). Soil bacteria and fungi communities are shaped by elevation influences in Colombian forest and páramo natural ecosystems. *International Microbiology*, 1-15.
- Verbruggen, E., Sheldrake, M., Bainard, L. D., Chen, B., Ceulemans, T., De Gruyter, J., & Van Geel, M. (2018). Mycorrhizal fungi show regular community compositions in natural ecosystems. *The ISME journal*, 12(2), 380-385.
- Vieira, A. F., Moura, M., & Silva, L. (2021). Soil metagenomics in grasslands and forests—A review and bibliometric analysis. *Applied Soil Ecology*, 167, 104047.
- Wang, J., Liu, G., Zhang, C., Wang, G., Fang, L., & Cui, Y. (2019). Higher temporal turnover of soil fungi than bacteria during long-term secondary succession in a semiarid abandoned farmland. *Soil and Tillage Research*, 194, 104305.
- Wang, J., Zhang, P., Bao, J.T., Zhao, J.C., Song, G., ... & Yang, H.T. (2020). Comparison of cyanobacterial communities in temperate deserts: A cue for artificial inoculation of biological soil crusts. *Science of The Total Environment*, 745:140970.
- Wrighton, K. C., Thomas, B. C., Sharon, I., Miller, C. S., Castelle, C. J., VerBerkmoes, N. C., ... & Banfield, J. F. (2012). Fermentation, hydrogen, and sulfur metabolism in multiple uncultivated bacterial phyla. *Science*, 337(6102), 1661-1665.

- Wu, Y., Chen, D., Saleem, M., Wang, B., Hu, S., Delgado-Baquerizo, M., & Bai, Y. (2021). Rare soil microbial taxa regulate the negative effects of land degradation drivers on soil organic matter decomposition. *Journal of Applied Ecology*, *58*(8), 1658-1669.
- Wubs, E. R., Van Der Putten, W. H., Bosch, M., & Bezemer, T. M. (2016). Soil inoculation steers restoration of terrestrial ecosystems. *Nature plants*, *2*(8), 1-5.
- Xiong, W., Li, R., Ren, Y., Liu, C., Zhao, Q., Wu, H., ... & Shen, Q. (2017). Distinct roles for soil fungal and bacterial communities associated with the suppression of vanilla Fusarium wilt disease. *Soil Biology and Biochemistry*, *107*, 198-207.
- Xu, D. Y., Kang, X. W., Zhuang, D. F., & Pan, J. J. (2010). Multi-scale quantitative assessment of the relative roles of climate change and human activities in desertification—a case study of the Ordos Plateau, China. *Journal of Arid Environments*, *74*(4), 498-507.
- Xu, J. (2006). Invited review: microbial ecology in the age of genomics and metagenomics: concepts, tools, and recent advances. *Molecular ecology*, *15*(7), 1713-1731.
- Yamauchi, D. H., Garcia Garces, H., Teixeira, M. D. M., Rodrigues, G. F. B., Ullmann, L. S., Garcia Garces, A., ... & Bagagli, E. (2021). Soil mycobiome is shaped by vegetation and microhabitats: A regional-scale study in southeastern Brazil. *Journal of Fungi*, *7*(8), 587.
- Zapata, J. D. D., Florez, J. E. M., & Alvarez, D. L. (2023). Metagenomics approaches to understanding soil health in environmental research-a review. *Soil Science Annual*, *74*(1), 1-11.
- Zhang, H., Ullah, F., Ahmad, R., Shah, S. U. A., Khan, A., & Adnan, M. (2022). Response of soil proteobacteria to biochar amendment in sustainable agriculture-a mini review. *Journal of Soil, Plant and Environment*, *1*(2), 16-30.
- Zhang, S., Fang, Y., Luo, Y., Li, Y., Ge, T., ... & Wang, Y. (2021). Linking soil carbon availability, microbial community composition and enzyme activities to organic carbon mineralization of a bamboo forest soil amended with pyrogenic and fresh organic matter. *Science of The Total Environment*, *801*, 149717.

Zheng, X., Lin, C., Guo, B., Yu, J., Ding, H., Peng, S., ... & Zhang, Y. (2020). Effects of re-vegetation restoration on soil bacterial community structure in degraded land in subtropical China. *European journal of soil biology*, 98, 103184.

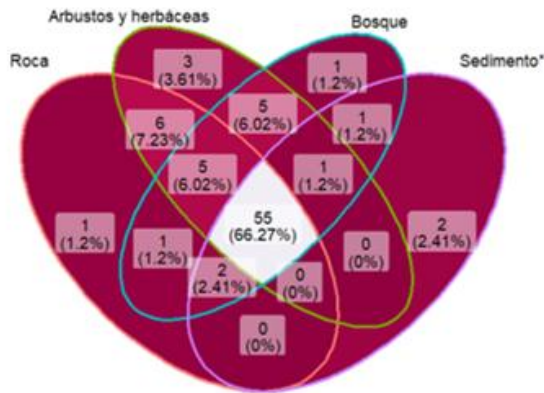
Zucca, C., Biancalani, R., Hamrouni, H., Attia, R., & Bunning, S. (2009). Guidelines for the identification, selection and description of nationally based indicators of land degradation and improvement. *Land Degradation Assessment in Drylands. LADA Project* (57pp).

8. ANEXOS

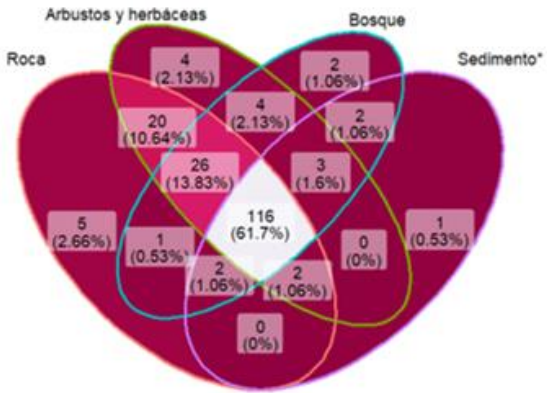
Anexo 1

Diagrama de Venn de phyla (a), clases(b), órdenes (c), familias (d) y géneros (e) bacterianos

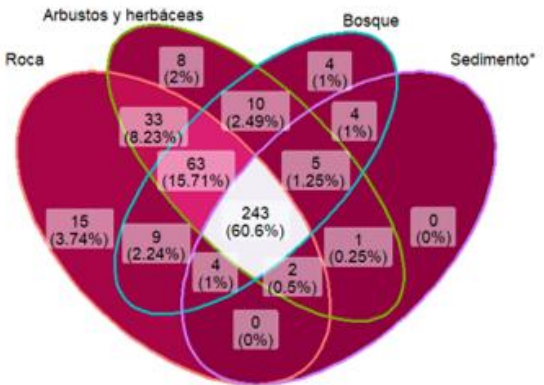
(a) Phylum



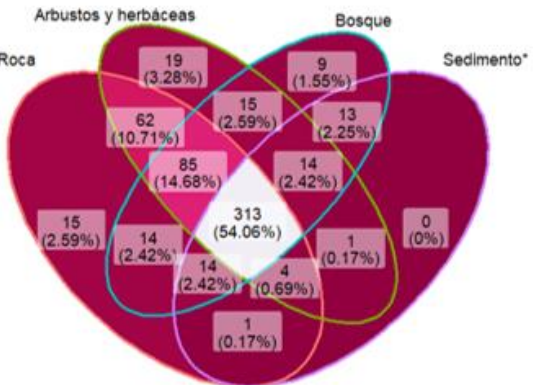
(b) Clase



(c) Orden



(d) Familia



(e) Género

