

VCH-FC  
MAG-B  
F219  
C.1



FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE CHILE



**“EFECTO DE LA PRECIPITACIÓN ÁCIDA DE NITRÓGENO REACTIVO  
SOBRE LA DIVERSIDAD FÚNGICA DE SUELOS ÁRIDOS”**

Tesis  
entregada a la  
Universidad de Chile  
en cumplimiento parcial de los requisitos  
para optar al grado de

**MAGÍSTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Por

**FELIPE ANDRÉS FARIÁS BERRÍOS**

**Septiembre, 2011**

**Directoras de Tesis:  
Dra. MARGARITA CARÚ MARAMBIO  
Dra. JULIETA ORLANDO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**INFORME DE APROBACIÓN**

**TESIS DE MAGISTER**

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magíster presentada por el candidato:

**FELIPE ANDRÉS FARIÁS BERRÍOS**

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas, en el examen de Defensa de Tesis rendido el día 6 del mes julio del año 2011.

**Directores de Tesis:**

Dra. Margarita Carú

Dra. Julieta Orlando

**Comisión de Evaluación de la Tesis:**

Dr. Francisco ~~Soto~~ <sup>Pérez</sup>

Dr. Ramiro Bustamante

The image shows several handwritten signatures in black ink. A circular stamp is placed over the signatures, containing the text: "FACULTAD DE CIENCIAS", "BIBLIOTECA CENTRAL", and "U. DE CHILE" with stars on either side. The signatures are written over horizontal dotted lines.



*A GUILLERMINA JORQUERA  
MI NANITA*



Felipe Andrés Farías Berríos, Biólogo con mención en Medio ambiente de profesión, me formé en la Universidad de Chile, específicamente en la Facultad de Ciencias. Aunque al principio parecía no tener tan clara mi vocación, finalmente me convencí de que lo mío era la biología. Prefiero sin lugar a dudas las salidas a terreno, aunque la mayor parte de mis investigaciones se llevaron a cabo en el laboratorio. Producto del trabajo participé en diversos proyectos, varias presentaciones en congreso y un artículo científico.

Luego de terminar mi carrera profesional con la presentación del trabajo realizado en mi Memoria de Título, tuve un período en el que incursioné en diferentes trabajos. Participé en la ayuda técnica de un proyecto; instruí a alumnos en distintas oportunidades, entre las que se incluyen cursos internacionales, cursos de verano y ayudantías docentes. En cuanto a mi experiencia laboral, la que más me permitió el desarrollo de mis habilidades fue la realizada en el SAG (Servicio Agrícola y Ganadero).

Siempre he sido amante de los animales, por lo que también experimenté en mis facetas como emprendedor; aunque no libre de dificultades, logré la realización de uno de mis proyectos de vida, la creación de un ranario de la rana grande chilena (*Calyptocephalella gayi*, antiguamente *Caudiverbera caudiverbera*). Esta actividad no dio los resultados planificados por el momento, pero no pierdo la confianza en que es una gran idea y que con los conocimientos adquiridos hasta ahora mis mascotas a futuro lograrán rendir los frutos esperados.

Para perfeccionar mis conocimientos y adquirir mayor competitividad en el campo laboral, actualmente me encuentro en la última etapa del Magíster en Ciencias Biológicas con mención en Ecología y Biología Evolutiva. Para ello conseguí una beca CONICYT que me ayudó con el financiamiento.

Mi gran anhelo como profesional consiste en encontrar un lugar donde poder desarrollar mis habilidades académicas y profesionales, dentro del ámbito público ligado al medio ambiente, la conservación de la biodiversidad y el rescate natural y patrimonial.

Felo



## AGRADECIMIENTOS

*PRIMERO QUE NADA QUIERO AGRADECER A MIS PADRES, PATRICIO & MAGALI POR TODO SU AMOR, EDUCACIÓN Y LAS INCONTABLES VECES DE APOYO...GRACIAS A ELLOS ESTOY DONDE ESTOY, MUCHAS GRACIAS VIEJITOS...*

*A LA DRA. MARGARITA CARÚ POR RE-ACEPTARME, GUIARME Y AYUDARME EN TODO MOMENTO A LO LARGO DE ESTA TESIS, A MIS COMPAÑEROS DE LABORATORIO REINA JUANITA, FEÑA, CATA, MARJORIE, VALENTINA, NATALIA, MARISOL, CAMILA, MADELAINE, MERLY, JOSÉ, GABRIEL Y MAURICIO... POR SUS CONSEJOS, APOYO Y AGUANTAR MIS DESÓRDENES Y TAIMADURAS... Y SER TODOS TAN BUENOS COMPAÑEROS.... Y EN ESPECIAL A MI GRAN AMIGA JULIETA POR TODA SU AYUDA, TIEMPO Y APOYO EN ESTA TESIS.*

*A MIS AMIGOS DE CAMINO PAOLA, ALE, ALEX, GONZALO, HUASO, CELSO, POROTO, JACK, JORGE, ABUELO, CAROLINA, FIORELLA Y MUCHOS OTROS QUE ME ACOMPAÑARON EN ESTOS AÑOS DE ESTUDIO, CARRETE, Y FELICIDADES INFINITAS...OJALA SEAN MUCHOS AÑOS MÁS...*

*A FONDECYT (PROYECTO 1080280) Y CONICYT (BECA 22090196) POR LA OPORTUNIDAD Y EL FINANCIAMIENTO DE ESTA TESIS.*

## ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	IV
LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE TABLAS	IX
LISTA DE ABREVIATURAS	X
RESUMEN	XI
ABSTRACT	XIV
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
HIPÓTESIS	9
OBJETIVO GENERAL	9
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
<b>MATERIALES &amp; MÉTODOS</b>	10
2.1.RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS DE SUELO	10
2.2.DISEÑO Y MONTAJE DE LOS MICROCOSMOS	12
2.3.EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL DNA DEL SUELO	13
2.4.AMPLIFICACIÓN DEL DNA DEL SUELO POR PCR	14
2.4.1.GEN DEL rRNA 18S (rDNA 18S)	14
2.4.2.REGIÓN RIBOSOMAL INTERGÉNICA (ITS)	15
2.5.DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN FÚNGICA EN LAS MUESTRAS DE SUELO	16
2.5.1.CLONACIÓN Y SECUENCIACIÓN	16
2.5.2.ESTIMACIÓN DE LA COBERTURA DE LAS GENOTECAS	18
2.5.3.ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO DE LAS SECUENCIAS	19
2.6.DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA FÚNGICA EN LAS MUESTRAS DE SUELO DE LOS MICROCOSMOS	19
2.6.1.PERFILES DE TRFLP	19
2.6.2.NORMALIZACIÓN DE LOS PERFILES DE TRFLP	20
2.6.3.ANÁLISIS DE LOS PERFILES DE TRFLP	21
2.6.3.A.ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO	21

2.6.3.B.ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA CANÓNICA	21
2.6.3.C.ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS ECOLÓGICOS	22
<b>RESULTADOS</b>	25
3.1.EXTRACCIÓN DEL DNA DEL SUELO Y AMPLIFICACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES FÚNGICOS	25
3.2.DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN FÚNGICA EN LAS MUESTRAS DE SUELO	26
3.2.1.ESTIMACIÓN DE LA COBERTURA DE LAS GENOTECAS	26
3.2.2.ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO DE LAS SECUENCIAS	29
3.3.DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA FÚNGICA EN LAS MUESTRAS DE SUELO DE LOS MICROCOSMOS	31
3.3.1.ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO	31
3.3.3.ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA CANÓNICA	34
3.3.4.ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS ECOLÓGICOS	38
3.3.5.ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA CANÓNICA POR TIPO DE SUELO	42
<b>DISCUSIÓN</b>	48
4.1.TÉCNICAS MOLECULARES EN ECOLOGÍA MICROBIANA Y SUS LIMITACIONES	48
4.2.COMPOSICIÓN FÚNGICA EN LAS MUESTRAS DE SUELO	52
4.3.STRUCTURA FÚNGICA EN LAS MUESTRAS DE SUELO DE LOS MICROCOSMOS	56
<b>CONCLUSIONES</b>	65
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	66
<b>ANEXOS</b>	

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	SITIO DE RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS DE SUELO SEMIÁRIDO, LOCALIDAD DE "EL ROMERAL", CAJÓN DEL MAIPO, CORRESPONDIENTE AL MATORRAL ESCLERÓFILO DE CHILE CENTRAL.	11
FIGURA 2.	SITIO DE RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS DE SUELO ÁRIDO, LOCALIDAD DE "SIERRA PAJARITO" CORRESPONDIENTE AL MATORRAL SUBDESÉRTICO DEL DESIERTO DE ATACAMA.	11
FIGURA 3.	REPRESENTACIÓN DEL MÉTODO DE CLONACIÓN-SECUENCIACIÓN DE LOS MARCADORES MOLECULARES ITS Y rDNA18S DE LAS MUESTRAS DE SUELO ÁRIDO Y SEMIÁRIDO.	18
FIGURA 4.	REPRESENTACIÓN DEL MÉTODO DE TRFLP DE LOS MARCADORES MOLECULARES ITS Y rDNA18S DE LAS MUESTRAS DE SUELO ÁRIDO Y SEMIÁRIDO.	20
FIGURA 5.	CURVA DE PARETO-LORENZ. DESCRIBE LAS 3 SITUACIONES POSIBLES DE ORGANIZACIÓN FUNCIONAL DE UNA COMUNIDAD.	24
FIGURA 6.	ELECTROFORESIS EN GEL DEL DNA GENÓMICO DERIVADO DE LAS MUESTRAS DE SUELO DE LOS MICROCOSMOS.	25
FIGURA 7.	ELECTROFORESIS EN GEL DE LOS AMPLICONES DEL MARCADOR MOLECULAR rDNA18S Y DEL MARCADOR MOLECULAR ITS DE LAS MUESTRAS DE SUELO DE LOS MICROCOSMOS.	26
FIGURA 8.	CURVAS DE RAREFACCIÓN PARA LOS MARCADORES MOLECULARES rDNA18S E ITS PARA LOS SUELOS ÁRIDO Y SEMIÁRIDO.	27
FIGURA 9.	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA A NIVEL DE CLASE DE LAS SECUENCIAS DE LAS GENOTECAS DE LOS MARCADORES MOLECULARES rDNA18S E ITS EN LOS SUELOS ÁRIDO Y SEMIÁRIDO.	30
FIGURA 10.	ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO EN BASE A LOS PERFILES DE TRFLP DEL MARCADOR MOLECULAR rDNA18S DE LAS COMUNIDADES FÚNGICAS DE LOS SUELOS ÁRIDO Y SEMIÁRIDO.	32



FIGURA 11.	ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO EN BASE A LOS PERFILES DE TRFLP DEL MARCADOR MOLECULAR ITS DE LAS COMUNIDADES FÚNGICAS DE LOS SUELOS ÁRIDO Y SEMIÁRIDO.	33
FIGURA 12.	ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA CANÓNICA DE LOS PERFILES DE TRFLP DEL MARCADOR MOLECULAR rDNA18S DE LOS MICROCOSMOS DE LOS SUELOS ÁRIDO Y SEMIÁRIDO.	35
FIGURA 13.	ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA CANÓNICA ENTRE LOS PERFILES DE TRFLP DEL MARCADOR MOLECULAR ITS DE LOS MICROCOSMOS DE LOS SUELOS ÁRIDO Y SEMIÁRIDO.	37
FIGURA 14.	PARÁMETROS ECOLÓGICOS CALCULADOS EN BASE A LOS PERFILES DE TRFLP DEL MARCADOR MOLECULAR ITS DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACIÓN DE LOS MICROCOSMOS DEL SUELO SEMIÁRIDO.	41
FIGURA 15.	PARÁMETROS ECOLÓGICOS CALCULADOS EN BASE A LOS PERFILES DE TRFLP DEL MARCADOR MOLECULAR ITS DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACIÓN DE LOS MICROCOSMOS DEL SUELO ÁRIDO.	42
FIGURA 16.	ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA CANÓNICA DE LOS PERFILES DE TRFLP DEL MARCADOR MOLECULAR ITS DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACIÓN DE LOS MICROCOSMOS DEL SUELO SEMIÁRIDO.	44
FIGURA 17.	ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA CANÓNICA DE LOS PERFILES DE TRFLP DEL MARCADOR MOLECULAR ITS DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACIÓN DE LOS MICROCOSMOS DEL SUELO ÁRIDO.	46

## LISTA DE TABLAS

TABLA 1.	DISEÑO MULTIFACTORIAL PARA LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EN LOS MICROCOSMOS DE SUELO SEMIÁRIDO Y ÁRIDO.	13
TABLA 2.	PARTIDORES UTILIZADOS EN LA AMPLIFICACIÓN DEL RDNA18S.	14
TABLA 3.	PARTIDORES UTILIZADOS EN LA AMPLIFICACIÓN DEL ITS	15
TABLA 4.	RESULTADOS DEL AJUSTE DE LAS CURVAS DE RAREFACCIÓN Y DEL CÁLCULO DE COBERTURA PARA AMBOS MARCADORES MOLECULARES EN CADA SUELO.	28
TABLA 5.	COEFICIENTES DE CORRELACIÓN INTRAGRUPO DEL ORDENAMIENTO DE LOS TRFLP DEL RDNA18S EN LOS MICROCOSMOS DE LOS SUELOS ÁRIDO Y SEMIÁRIDO.	36
TABLA 6.	COEFICIENTES DE CORRELACIÓN INTRAGRUPO DEL ORDENAMIENTO DE LOS TRFLP DEL ITS EN LOS MICROCOSMOS DE LOS SUELOS ÁRIDO Y SEMIÁRIDO.	38
TABLA 7.	VALORES PROPUESTOS PARA CLASIFICAR LOS PARÁMETROS ECOLÓGICOS RIQUEZA PONDERADA POR EL RANGO, DINÁMICA Y ORGANIZACIÓN FUNCIONAL.	39
TABLA 8.	COEFICIENTES DE CORRELACIÓN INTRAGRUPO DEL ORDENAMIENTO DE LOS TRFLP DEL ITS EN LOS MICROCOSMOS DEL SUELO SEMIÁRIDO.	45
TABLA 9.	COEFICIENTES DE CORRELACIÓN INTRAGRUPO DEL ORDENAMIENTO DE LOS TRFLP DEL ITS EN LOS MICROCOSMOS DEL SUELO ÁRIDO.	47

## LISTA DE ABREVIATURAS

(A)	SUELO ÁRIDO
(S)	SUELO SEMIÁRIDO
CCA	ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA CANÓNICA
CH	CONTENIDO HÍDRICO
DNA	ÁCIDO DESOXIRIBONUCLEICO
ITS	MARCADOR MOLECULAR DE LA REGIÓN RIBOSOMAL INTERGÉNICA
MO	MATERIA ORGÁNICA
MVSP	PAQUETE DE ESTADÍSTICA MULTIVARIADA
NCBI	CENTRO NACIONAL PARA INFORMACIÓN BIOTECNOLÓGICA
$\text{NH}_4^+$	CONTENIDO DE AMONIO
$\text{NO}_3^-$	CONTENIDO DE NITRATO
NR	NITRÓGENO REACTIVO
ORP	POTENCIAL DE ÓXIDO-REDUCCIÓN
PB	PARES DE BASES
PCR	REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA
PS	PESO SECO
rDNA18S	MARCADOR MOLECULAR DEL DNA RIBOSOMAL 18S
TAE	TRIS-ÁCIDO ACÉTICO-EDTA
T-RFLP	POLIMORFISMO EN LA LONGITUD DE LOS FRAGMENTOS TERMINALES DE RESTRICCIÓN
TRFs	FRAGMENTOS TERMINALES DE RESTRICCIÓN
UF	UNIDADES DE FLUORESCENCIA
UPGMA	MÉTODO DE AGRUPAMIENTO DE PARES NO PONDERADOS CON MEDIAS ARITMÉTICAS

## RESUMEN

Los factores ambientales que regulan la distribución y abundancia de plantas y animales han sido estudiados desde hace siglos, sin embargo los factores que regulan la distribución y abundancia de los microorganismos del suelo son todavía poco conocidos.

Estudios recientes han demostrado que la distribución de las comunidades microbianas del suelo a través del espacio está fuertemente correlacionada con las diferencias en la química del suelo, factores abióticos como la disponibilidad de agua, de nitrógeno y el pH influyen tanto en la composición como en la estructura de las comunidades microbianas, particularmente de bacterias y arqueas. Sin embargo, para el caso de los hongos existen antecedentes que indican que serían microorganismos más resistentes a condiciones de estrés por factores abióticos.

En este trabajo se evaluó el efecto de la disponibilidad de agua y del nitrógeno reactivo en condiciones ácidas sobre la estructura de las comunidades fúngicas, mediante ensayos de microcosmos de suelo semiárido del matorral esclerófilo de Chile Central y de suelo árido del Desierto de Atacama. Para determinar el efecto de los tratamientos sobre la diversidad de las comunidades fúngicas se aplicaron técnicas moleculares independientes de cultivo.

En primer lugar, para determinar la composición fúngica en cada tipo de suelo, los amplicones derivados de los marcadores moleculares rDNA 18S y de las regiones ribosomales intergénicas ITS se clonaron y secuenciaron para la obtención

de genotecas. Posteriormente se evaluó la identidad de las secuencias, se realizaron análisis de agrupamiento y se estimó de la cobertura de las genotecas. Para determinar la estructura, en términos de riqueza y abundancia, de las comunidades fúngicas bajo los diferentes tratamientos se determinaron perfiles en base al polimorfismo de los fragmentos de restricción terminales (TRFLP) de los marcadores moleculares mencionados anteriormente. Los datos generados se analizaron a diferentes niveles: i) análisis de agrupamiento en base a matrices de presencia/ausencia para relacionar la riqueza de filotipos presente a lo largo de la incubación de los microcosmos sometidos a los diferentes tratamientos, ii) análisis de correspondencia canónica para relacionar la estructura de la comunidad fúngica con las variables edáficas, y iii) análisis de los parámetros ecológicos riqueza ponderada por el rango (Rr), dinámica (Di) y organización funcional (OF).

En concordancia con diferentes estudios de la composición fúngica en suelos áridos, se determinó una dominancia de los hongos de la división Ascomycota. Dentro de este grupo, se obtuvo una alta representación del orden Pleosporales, que presentan características que les permiten soportar las condiciones de los sistemas áridos y normalmente median el intercambio de nutrientes entre las plantas vasculares y las costras biológicas en los ecosistemas áridos. El tipo de suelo explicó la diferenciación de las comunidades fúngicas a nivel de estructura. Los factores edáficos que influenciaron los agrupamientos fueron el pH y la materia orgánica, parámetros que diferencian ambos tipos de suelo. Los parámetros ecológicos indicaron una baja capacidad de carga de los ambientes áridos estudiados, posiblemente debido a la escasez de recursos y a la baja disponibilidad de agua.

Además, se determinó que las comunidades fúngicas en ellos pueden enfrentarse a condiciones ambientales estresantes y preservar potencialmente su funcionalidad. Asimismo, se detectó una alta dinámica sugiriendo que se produjo una sucesión de las poblaciones fúngicas en los microcosmos. La aplicación de los tratamientos con pulsos de agua y nitrógeno en condiciones ácidas no provocó una mayor perturbación en la estructura de las comunidades fúngicas de los microcosmos estudiados, probablemente debido a la mayor resistencia de estos organismos a las variables abióticas modificadas, observándose solo cierta influencia de los pulsos de agua sobre la estructura de la comunidad fúngica del suelo árido. El efecto que tuvo la incubación por sí misma sobre la estructura genética de las comunidades fúngicas, sugiere que la perturbación de la estructura del suelo producida por la construcción de los microcosmos podría afectar la diversidad de la comunidad de hongos al romper o dañar su estructura micelial.

Entender cómo está organizada la comunidad fúngica y cómo responde a las perturbaciones ayudará a evaluar el impacto de cambios globales en los procesos de los ecosistemas áridos.

## ABSTRACT

Environmental factors controlling the distribution and abundance of plants and animals across terrestrial biomes have been studied for centuries, but the environmental factors controlling the distribution and abundance of soil microorganisms are still poorly understood.

Recent studies have shown that the distribution of soil microbial communities through space is strongly correlated with differences in soil chemistry, abiotic factors such as water availability, nitrogen and pH influence both the composition and the microbial community structure, particularly of bacteria and archaea. However, in the case of fungi there is evidence to suggest that these organisms would be more resistant to conditions of abiotic stress.

In this study the effect of water availability and reactive nitrogen in acidic conditions on the structure of fungal communities was evaluated by means of microcosm assays of semiarid soil from the sclerophyllous matorral of Central Chile and arid soil from the Atacama Desert. To determine the effect of treatments on the diversity of fungal communities' culture-independent molecular techniques were applied.

First, to determine the fungal composition in each soil type, the amplicons derived from 18S rDNA and ribosomal intergenic regions (ITS) molecular markers were cloned and sequenced to obtain genomic libraries. Subsequently, the sequences identity, cluster analysis and coverage estimates of gene libraries were assessed. To

determine the structure, in terms of richness and abundance of fungal communities under the different treatments, were determined based on terminal restriction fragments length polymorphism (TRFLP) of the molecular markers mentioned above. The data generated were analyzed at different levels: i) cluster analysis based on presence/absence matrices to relate the richness of phylotypes present throughout the incubation of the microcosms subjected to the different treatments, ii) canonical correspondence analysis to relate fungal community structure with soil variables, and iii) analysis of the ecological parameters: range-weighted richness (Rr), dynamic (Di) and functional organization (OF).

In accordance with different fungal composition studies in arid soils, a dominance of fungi in the division Ascomycota was found. Within this group, the Pleosporales order had a high representation, they have characteristics enabling them to hold up the conditions present normally in arid systems and mediate the exchange of nutrients between the vascular plants and biological crusts in arid ecosystems. Soil type explained the differentiation of the fungal communities in terms of structure. Edaphic factors that influenced the groups were pH and organic matter, parameters that differentiate the two types of soil. The ecological parameters indicated a low load-capacity of the arid environments studied, possibly due to the scarcity of resources and low water availability. Besides, was determined that these fungal communities may face stressful environmental conditions and potentially preserving its functionality. A high dynamic was also detected, suggesting that there was a succession of fungal populations in the microcosms. The application of treatments of water pulses and nitrogen under acidic conditions did not cause a notorious disruption



in the fungal communities structure of the microcosms studied, probably due to the increased resistance of these organisms to the abiotic variables changed and there was only some influence of water pulses on the structure of the arid soil fungal community. The incubation has by itself an effect on the genetic structure of fungal communities suggesting that the disturbance of soil structure caused by the microcosms construction could affect the diversity of the fungal community to break or damage the mycelial structure.

Understanding how the fungal community is organized and how it responds to disturbances will help to evaluate the impact of global changes in the processes of arid ecosystems.

## INTRODUCCIÓN

Los microorganismos actualmente forman parte de los tres dominios en que se divide el árbol de la vida (Woese y col. 1990). Dentro del dominio Eukarya, el reino Fungi designa a un grupo de organismos eucariotas heterotróficos, que se nutren por absorción de compuestos orgánicos producidos por la digestión de enzimas extracelulares y que poseen paredes celulares compuestas por quitina (Alexopoulos y col. 1996). En la mayoría de los casos, sus representantes son poco conspicuos debido a su pequeño tamaño; se encuentran en hábitats muy diversos, que incluyen ambientes extremos como los desiertos, áreas de alta salinidad, zonas expuestas a radiación ionizante, ambientes muy ácidos a alcalinos e incluso en sedimentos de los fondos marinos. La mayoría vive en el suelo, junto a materiales en descomposición y como simbioses de plantas, animales u otros microorganismos (Cooke y Whipps 1993).

Se estima que los miembros de la microbiota son responsables de aproximadamente la mitad de la fotosíntesis y casi toda la descomposición de la materia orgánica, nitrificación, desnitrificación, producción de metano, entre otros procesos globales (Schlesinger 1997). Por su parte, los hongos son considerados los principales descomponedores primarios de la materia orgánica y participan también en el ciclo del nitrógeno, por lo que poseen un papel ecológico relevante en los ciclos biogeoquímicos (Dix y Webster 1995). Por lo tanto, cambios en la diversidad de las comunidades microbianas en general y fúngicas en particular, o en las actividades que ellas realizan, podrían tener un efecto en el funcionamiento de los ecosistemas

(Schimel 2004). Datos disponibles en la actualidad sugieren que las comunidades microbianas pueden ser consistentemente alteradas por cambios globales (i.e. aumento de temperaturas, de precipitaciones, de deposición de nutrientes, etc) y que estos cambios pueden tener implicancia en los ciclos biogeoquímicos y en la función del ecosistema (Horz y col. 2004). Para determinar el impacto de las perturbaciones en el funcionamiento del ecosistema es esencial caracterizar las comunidades microbianas que en él habitan pues cambios en la composición y diversidad de estas comunidades pueden afectar las funciones ecosistémicas que ellos realizan (Calbrix y col. 2005; Allison y Martiny 2008).

Los factores ambientales que regulan la distribución y abundancia de plantas y animales han sido estudiados desde hace siglos, sin embargo los factores ambientales que regulan la distribución y abundancia de los microorganismos del suelo son poco conocidos. Estudios recientes han demostrado que la distribución de las comunidades microbianas del suelo a través del espacio a menudo está fuertemente correlacionada con las diferencias en la química del suelo (e.g. Frey y Zhao 2004; Nilsson y col. 2007; Lauber y col. 2008; Jenkins y col. 2009).

Por otra parte, el suelo es un sistema complejo que comprende una variedad de microhábitats con diferentes gradientes fisicoquímicos y condiciones ambientales discontinuas, lo que permite el desarrollo de diversas interacciones de la microbiota. Un gramo de suelo puede albergar sobre 10 mil millones de microorganismos de miles de especies diferentes (Torsvik y col. 2002). Es sabido, de acuerdo a numerosos estudios que la disponibilidad de agua, de nitrógeno y el pH, influyen tanto en la composición como en la estructura de las comunidades bacterianas. La disponibilidad

de agua en el suelo es un factor limitante del crecimiento y actividad microbiana; de hecho un aumento de las precipitaciones puede afectar la biomasa (Bottner 1985; Kieft y col. 1987; van Gestel y col. 1993), la composición (Drees y col. 2006), y la abundancia de la microbiota (Singh y Kashyap 2006), y por lo tanto el ciclado de los nutrientes (Schimel y Parton 1986; Gebauer y Ehleringer 2000; Singh y Kashyap 2006; Liu y col. 2009). Además, si la disponibilidad de agua está por encima del contenido óptimo puede reducir la concentración de oxígeno y reprimir la actividad microbiana (Linn y Doran 1984; Horz y col. 2004). Por su parte, el nitrógeno disponible también se considera un factor limitante para el desarrollo de las comunidades microbianas en el suelo (Hooper y Johnson 1999; Ehleringer 2001). La precipitación de nitrógeno puede resultar en una saturación de este nutriente (Aber y col. 1991) y producir cambios en el estado químico del suelo y la función de la comunidad, resultando en desequilibrios en el ciclado de nutrientes y la productividad del ecosistema (Adams 2003); así como efectos directos e indirectos sobre el tamaño, composición, y actividad de microorganismos en suelos forestales y agrícolas (Bewley y Stotzky 1983; Prescott y Parkinson 1985; Pennanen y col. 1998). Finalmente, el pH es considerado a nivel global el mejor descriptor de la diversidad y riqueza de ensamblajes bacterianos, siendo los suelos con pH neutro los más diversos y disminuyendo la diversidad con un aumento de la acidez (Fierer y Jackson 2006; Hartman y col. 2008; Jenkins y col. 2009; Lauber y col. 2009).

La influencia de estos factores sobre las comunidades bacterianas, e incluso arqueales, fue corroborada en estudios de nuestro laboratorio (Orlando 2008; Espinosa 2010; Bustamante 2010; Verdejo 2010; González 2011). Sin embargo, para

el caso de los hongos existen algunos antecedentes que indican que serían microorganismos más resistentes a condiciones de estrés por factores abióticos.

Un trabajo de Schimel y col. (2007), compara las estrategias que adoptan los microorganismos frente a un estrés abiótico. En condiciones no estresantes, las células sintetizan proteínas, lípidos, entre otros, que ayudan a su crecimiento. Sin embargo, bajo condiciones de estrés hídrico, por ejemplo, la estrategia de las células es producir moléculas de protección (osmolitos) que ayuden a evitar la deshidratación. De acuerdo a si estos osmolitos son constitutivos o inducibles, los organismos pueden ser inherentemente resistentes o simplemente presentar habilidades de aclimatación (Harris 1981). Los hongos generalmente presentan más resistencia que otros microorganismos al estrés hídrico, por lo tanto, los ciclos de sequía-precipitación promueven la selección de comunidades compuestas por estos microorganismos más resistentes a la deshidratación (Nazih y col. 2001). Zhou y col. (2002) sugieren que un bajo contenido hídrico puede explicar altas diversidades microbianas en suelos con bajo contenido de materia orgánica. Según estos autores la falta de agua limitaría la comunicación entre microhábitats dentro de la matriz del suelo, resultando en una mayor heterogeneidad espacial que disminuye o anula el efecto de la competencia. Además, en estos suelos con un bajo contenido de materia orgánica, las poblaciones microbianas podrían evitar la competencia al permanecer aisladas y en bajo número, usando unos recursos que son escasos pero, probablemente, heterogéneos. Así, la falta de agua y el bajo contenido de materia orgánica permitirían el mantenimiento de comunidades más diversas y equitativas. Las comunidades bacterianas y arqueales de suelos áridos presentan una mayor

diversidad asociada a un bajo contenido hídrico, la cual se reduce con un aumento en la disponibilidad de agua (Espinosa 2010, González 2011). Sin embargo, las comunidades fúngicas podrían tener un comportamiento distinto debido a su mayor resistencia al estrés hídrico (Nazih y col. 2001).

Por su parte, el creciente interés por los problemas ambientales ha puesto especial atención sobre la precipitación de nitrógeno reactivo (Nr) atmosférico ya que la intervención antropogénica ha generado un aumento dramático de la precipitación y movilidad del Nr, produciendo una sobrecarga al ciclo que ha contribuido a la acidificación, fertilización y eutrofización de diferentes ecosistemas (Vitousek y col. 1997; Galloway y col. 2003). Cabe mencionar que Hayatsu y col. (2008) destacan la diversidad de microorganismos que están involucrados en el ciclo del nitrógeno, rompiendo por ejemplo el paradigma de que el proceso de desnitrificación es realizado exclusivamente por bacterias, al ser los hongos incluso dominantes en la producción de óxido nitroso a partir de nitrato en regiones semiáridas. Por su parte, la descomposición fúngica disminuye después de la aplicación de Nr como fertilizante (van Groenigen y col. 2007) y aumenta por el aporte de materia orgánica con una alta relación C/N (Henriksen y Breland 1999; Thiet y col. 2006). Además, hay antecedentes que indican que la deposición de Nr disminuye la diversidad de hongos ectomicorrícicos (Lilleskov y col. 2001; 2002).

También se ha determinado que los hongos son más ácido-tolerantes que las bacterias, llevando a una incrementada dominancia fúngica en suelos ácidos (Högberg y col. 2007; Joergensen y Wichern 2008; Rousk y col. 2009). En un estudio en que se comparó la estructura de poblaciones bacterianas y fúngicas a través de un

gradiente de pH, Rousk y col. (2010) encontraron que al igual que en los cultivos axénicos, los hongos presentan un rango más amplio de resistencia a cambios en este factor (Wheeler y col. 1991).

Por otro lado, los ecosistemas áridos son altamente vulnerables a las perturbaciones antropogénicas como consecuencia del cambio en el uso del suelo (Charney y col. 1975), la pérdida de nutrientes (Evans & Belnap 1999), la disminución de la vegetación, el aumento de la erosión, la invasión de especies exóticas y la pérdida de especies nativas (Brown y col. 1997). En Chile las regiones áridas y semiáridas cubren una superficie aproximada de 16,5 millones de hectáreas, las cuales representan el 22% del territorio nacional. Entre estas regiones, el desierto de Atacama (Sierra pajarito) y el matorral esclerófilo de Chile Central (Cajón del Maipo) son dos ejemplos de suelos áridos y semiáridos. El desierto de Atacama se extiende desde el los 5°S hasta los 27°S mientras que el matorral esclerófilo de Chile Central abarca desde los 32°S hasta los 36°S (Gajardo 1994). Se ha postulado que las regiones áridas y semiáridas cubren alrededor de un tercio del área continental del planeta (UNESCO 1977) y que a su vez, se encuentran entre los sistemas que más tempranamente responderían a los efectos del cambio climático debido a que los procesos ecosistémicos en ellos están estrechamente acoplados a las precipitaciones (OIES 1991). Los ciclos de sequía y precipitación (“drying-rewetting”) son comunes en una variedad de ecosistemas (Kieft y col. 1987; Groffman y Tiedje 1988; Ryan y col. 1998; Pulleman y Tietema 1999) pero a menudo son más pronunciados en ecosistemas áridos y semiáridos con una precipitación fuertemente estacional (Austin y col. 2004). Normalmente se considera que en estos ambientes la biogeoquímica es

limitada, debido principalmente a la reducida actividad microbiana como consecuencia del bajo contenido hídrico (Otter y Scholes 2005). Cabe mencionar que en este tipo de suelos donde las precipitaciones son escasas y la disponibilidad de materia orgánica es baja, se formaría una red de interconexiones las cuales unirían las costras biológicas con los componentes vegetales del ecosistema, esta red estaría formada por las hifas de los hongos a través de las cuales se moverían nutrientes bidireccionalmente (*fungal loop*) y vincularía el ciclado de nitrógeno y carbono, la producción primaria neta y la descomposición (Collins y col. 2008).

De acuerdo a estos antecedentes se pretende evaluar si un aumento en la disponibilidad de agua y la precipitación de nitrógeno reactivo en condiciones ácidas, los principales factores que limitan la productividad en suelos áridos, son capaces de modificar significativamente la diversidad de la comunidad fúngica, lo que toma relevancia al evaluar los efectos del cambio climático sobre modificaciones a nivel de la microbiota que pudieran alterar la biogeoquímica y el funcionamiento ecosistémico.

El estudio de la diversidad microbiana en general, y de los hongos en particular, ha estado sesgado por las técnicas dependientes de cultivo, ya que se estima que menos del 1% de los microorganismos son cultivables usando técnicas estándares de cultivo (Amman y col. 1995). La diversidad de hongos en el suelo se ha investigado por medio de técnicas dependientes de cultivo, sin embargo se estima que existen 1,5 millones de hongos de los cuales solo 70.000 especies se han descrito, permaneciendo un 95% de especies sin describir (Hawksworth y Rossman 1997; Hagn y col. 2003). Sin embargo, se han desarrollado técnicas moleculares para



tipificar y cuantificar microorganismos a partir de muestras ambientales (Picard y col.1992; Ovreas 2000, Bothe y col. 2000, Fredslund y col. 2001). Estas técnicas están basadas en el uso de marcadores moleculares que permiten acceder directamente a los microorganismos sin necesidad de aislarlos y preservarlos como cultivo puro (Smit y col. 1999; Klamer y Hedlund 2004; Fierer y col. 2007).

El propósito de este trabajo es: i) conocer la composición de la comunidad fúngica en suelos áridos del Desierto de Atacama y semiáridos del matorral esclerófilo de Chile Central y, ii) evaluar el efecto del agua y el nitrógeno reactivo ácido sobre la diversidad de este grupo microbiano. Para abordar este problema se propone realizar ensayos de microcosmos con estos suelos. Se utilizarán técnicas moleculares independientes de cultivo en dos aproximaciones. Por un lado, para poder identificar los organismos y determinar la composición presente, se realizará la clonación y secuenciación de los marcadores moleculares correspondientes a las regiones ribosomales intergénicas (ITS) y al gen del rRNA 18S (rDNA18S) (Figura A1, Anexo) utilizando partidores específicos y universales para hongos (Figura A2, Anexo), las secuencias obtenidas se compararán con bases de datos para determinar la composición de la comunidad fúngica en estos suelos. Por otro lado, se determinará si las variaciones en el contenido hídrico del suelo y la precipitación ácida de nitrógeno reactivo en ensayos de microcosmos, afectan los perfiles de TRFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) (Liu y col. 1997, Dunbar y col. 2001) como una medida de la estructura de la comunidad fúngica.

## **HIPÓTESIS**

Si bien los principales factores que limitan la productividad en suelos áridos y semiáridos son la disponibilidad de agua y el contenido de nitrógeno en condiciones ácidas, dada la fisiología que presentan los hongos que les otorga resistencia a cambios de estos factores abióticos, se espera que un aumento en el contenido hídrico y en el nitrógeno disponible en condiciones ácidas no altere mayormente la diversidad de la comunidad fúngica.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto de la disponibilidad de agua y del nitrógeno reactivo ácido sobre la diversidad de la comunidad fúngica en suelos áridos mediante ensayos de microcosmos.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar la composición fúngica identificando los grupos predominantes de la comunidad de los suelos áridos mediante clonación y secuenciación de regiones ribosomales intergénicas y del gen del RNA ribosomal 18S.
2. Determinar la estructura de filotipos de la comunidad fúngica de los suelos áridos sometidos a los diferentes tratamientos durante la incubación de los microcosmos mediante patrones de TRFLP.
3. Determinar la influencia de los tratamientos sobre los cambios en la estructura de la comunidad fúngica de los microcosmos a diferentes niveles de análisis.

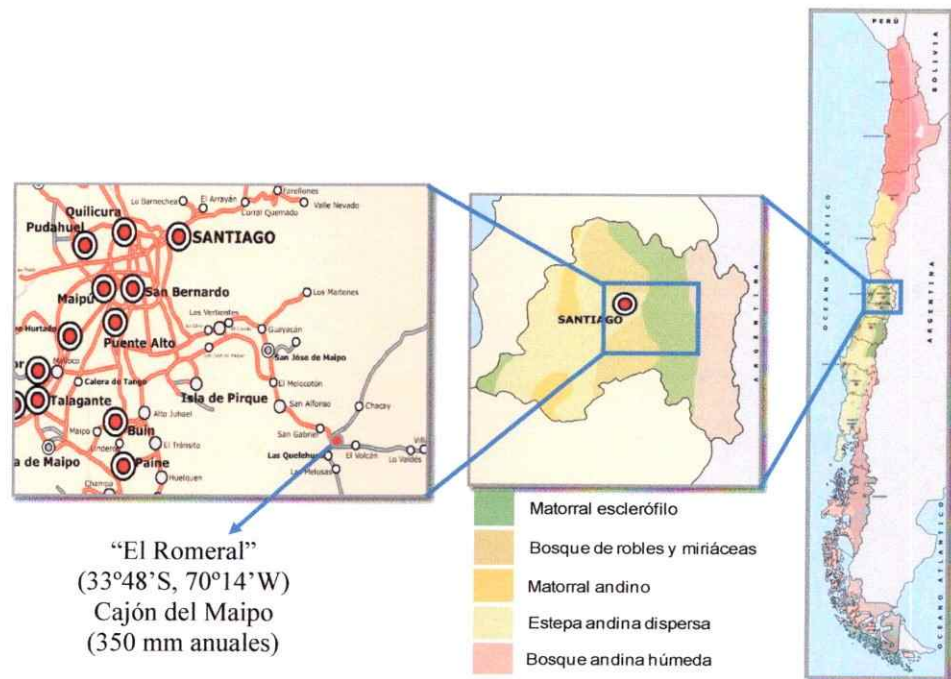
## MATERIALES & MÉTODOS

### 2.1. Recolección de las muestras de suelo

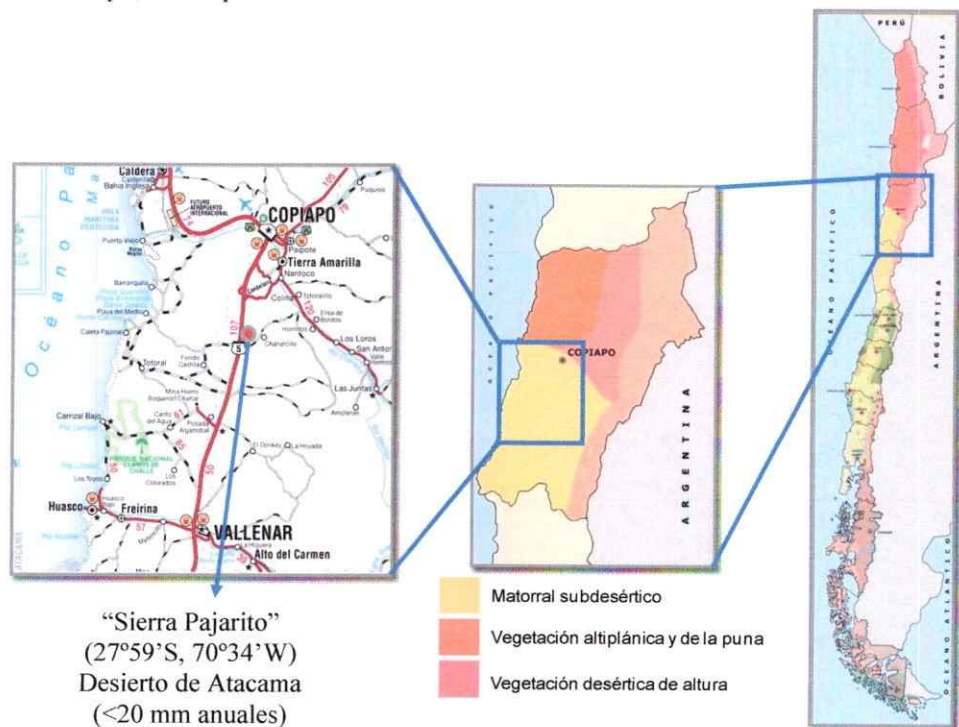
El sitio de recolección de muestras de suelo semiárido se ubicó en la localidad de “El Romeral” (33°48’S, 70°14’W), Cajón del Maipo, Región Metropolitana (Figura 1). Corresponde a una zona semiárida del matorral esclerófilo de Chile Central que presenta un clima Mediterráneo seco con precipitaciones invernales con un promedio anual de 350 mm (Gajardo 1994).

El sitio de recolección de muestras de suelo árido se ubicó en la localidad de “Sierra Pajarito” (27°59’S, 70°34’W), Desierto de Atacama, Región de Atacama (Figura 2). Corresponde a una zona desértica árida con escasas precipitaciones que no superan los 20 mm anualmente (McKay y col. 2003).

La obtención de muestras se realizó a partir del horizonte superficial del suelo, en cada sitio se tomaron 10 muestras simples sin cobertura vegetal en un área de 10 m x 10 m a 10 cm de profundidad, todos los puntos de muestreo presentaron características macroscópicas similares. Posteriormente las muestras simples se mezclaron en partes iguales y se homogeneizaron para la obtención de una muestra compuesta para cada sitio con el objetivo de reducir la heterogeneidad espacial a pequeña escala (Webster y col. 2002; Girvan y col. 2003). Las muestras compuestas se almacenaron a 4°C para su posterior utilización.



**Figura 1.** Sitio de recolección de las muestras de suelo semiárido, localidad de “El Romeral”, Cajón del Maipo, correspondiente al matorral esclerófilo de Chile Central.



**Figura 2.** Sitio de recolección de las muestras de suelo árido, localidad de “Sierra Pajarito” correspondiente al matorral subdesértico del Desierto de Atacama.

## 2.2. Diseño y montaje de los microcosmos

Los microcosmos se construyeron a partir de las muestras compuestas de suelo de cada sitio, se tomaron 150 g de suelo y se separaron en recipientes en una relación 1:3 (v:v) suelo:aire y se mantuvieron a 20°C durante 84 días. Los tratamientos se aplicaron como soluciones al inicio de la incubación hasta alcanzar el 60% de la capacidad de retención de agua de cada suelo.

Los tratamientos consistieron en la adición de agua (H<sub>2</sub>O), adición de nitrógeno reactivo (Nr) y aplicación de una solución a pH ácido (pH) en un diseño factorial completo (H<sub>2</sub>O, Nr, Ac, y la combinación de factores NrAc) a suelos de dos grados de aridez diferentes (Tabla 1). Adicionalmente se realizó un tratamiento que consistió en la adición de agua cada 14 días (H<sub>2</sub>O(14)) hasta alcanzar nuevamente el 60% de la capacidad de retención de agua de cada suelo y así determinar el efecto que pudieran tener los pulsos de agua sobre las comunidades a estudiar.

Se tomaron muestras de los microcosmos semanalmente para la determinación de parámetros edáficos y cada 28 días se realizó la extracción de DNA para la determinación de la diversidad genética. Cada tratamiento se realizó por triplicado.

**Tabla 1.** Diseño multifactorial para la aplicación de los tratamientos en los microcosmos de suelo semiárido (S) y árido (A).

Tipo de suelo	Tratamiento	Agua <sup>a</sup>	pH ácido <sup>b</sup>	Nitrógeno <sup>c</sup>
Semiárido	S(s/t)	-	-	-
	S(H <sub>2</sub> O)	+	-	-
	S(Ac)	-	+	-
	S(Nr)	-	-	+
	S(NrAc)	+	+	+
	S(H <sub>2</sub> O(14)) <sup>d</sup>	+	-	-
Árido	A(s/t)	-	-	-
	A(H <sub>2</sub> O)	+	-	-
	A(Ac)	-	+	-
	A(Nr)	-	-	+
	A(NrAc)	+	+	+
	A(H <sub>2</sub> O(14)) <sup>d</sup>	+	-	-

<sup>a</sup> Se utilizó agua desionizada para que no interfiera con las mediciones de iones.

<sup>b</sup> La acidificación se realizó con HCl hasta alcanzar pH 4,0 en la solución a aplicar.

<sup>c</sup> El nitrógeno reactivo se aplicó como una solución de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> a una concentración de 100 ug/gps.

<sup>d</sup> Adición de agua cada 14 días para recuperar el 60% de la capacidad de retención de agua de cada suelo.

### 2.3. Extracción y cuantificación del DNA del suelo

El DNA se obtuvo a partir de 0,25 g de suelo empleando el kit de extracción "Ultraclean Soil DNA" (MoBio laboratorios, Inc.), se resuspendió en 50 µl de buffer TE (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0) y se guardó a -20°C hasta su análisis.

La concentración y calidad del DNA se determinó por electroforesis en geles de agarosa al 0,8% (p/v) en buffer TAE 1X (Tris-acetato 40 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0) y se visualizó por tinción con Bromuro de Etidio (0,5 µg/ml), comparándolo con cantidades conocidas del marcador de peso molecular λ/HindIII (Gibco BRL®).

## 2.4. Amplificación del DNA del suelo por PCR

### 2.4.1. Gen del rRNA 18S (rDNA18S)

Para la amplificación del marcador molecular rDNA18S desde las muestras de suelo de los microcosmos se realizó un PCR semi-anidado (un partidador es diferente en el segundo PCR) dividiendo la amplificación del DNA en 2 fases, utilizando partidores universales para el gen que codifica para la subunidad 18S del RNA ribosomal (Tabla 2; Figura A2, Anexo)

**Tabla 2.** Partidores utilizados en la amplificación del rDNA18S.

PCR	Partidores	Secuencia (5'-3')	Referencia
1	EF4	GGAAGGGRTGTATTTATTAG	Smit y col. 1999
	EF3	GTTTGAACCAGTAAATCTCCT	
2	NS1	GTAGTCATATGCTTGTCTC	Hagn y col. 2003
	EF3	GTTTGAACCAGTAAATCTCCT	

La primer mezcla de reacción contenía GoTaq<sup>®</sup> Green Master Mix (GoTaq<sup>®</sup> DNA Polimerasa en 1X Green GoTaq<sup>®</sup> Reaction Buffer (pH 8,5), 200 µM de cada dNTP y 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>) (Promega) y los partidores EF4 y EF3 a una concentración de 0,3 µM cada uno (Tabla 2). Posteriormente, a partir del producto de la primera amplificación, se utilizó 1 µl como templado para la segunda amplificación con los partidores NS1 y EF3 (Tabla 2) en las mismas condiciones descritas para el primer PCR. De cada muestra de suelo se realizaron 6 réplicas para su posterior purificación.

El programa de amplificación para la primera reacción consistió en un ciclo térmico de: desnaturalización inicial a 94°C por 3 min, luego 40 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 min, hibridación a 48°C por 1 min y extensión a 72°C por 3 min, terminando con una extensión final a 72°C por 10 min. Para el segundo PCR, el

programa de amplificación consistió en: desnaturación inicial a 94°C por 5 min, luego 25 ciclos de desnaturación a 94°C por 30 seg, hibridación a 47°C por 45 seg y una extensión a 72°C por 3 min, terminando con una extensión final a 72°C por 10 min.

Para el análisis de TRFLP se utilizó en el segundo PCR el partidor EF3 marcado con el fluoróforo FAM (6-carboxyfluoresceína) en su extremo 5'.

#### ***2.4.2. Región ribosomal intergénica (ITS)***

Para la amplificación del marcador molecular ITS, desde las muestras de suelo de los microcosmos, se realizó un PCR anidado (ambos partidores son diferentes en el segundo PCR) dividiendo la amplificación del DNA en 2 fases, utilizando partidores universales para la región intergénica del RNA ribosomal (Tabla 3; Figura A2, Anexo).

**Tabla 3.** Partidores utilizados en la amplificación del ITS.

PCR	Partidores	Secuencia (5'-3')	Referencia
1	NSA3	AAACTCTGTCGTGCTGGGGATA	Martin y Rygiewicz 2005
	NLC2	GAGCTGCATTCCCAAACAACCTC	
2	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	Gardes y Bruns 1993
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	

La primer mezcla de reacción contenía GoTaq® Green Master Mix (GoTaq® DNA Polimerasa en 1X Green GoTaq® Reaction Buffer (pH 8,5), 200 µM de cada dNTP y 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>) (Promega) y los partidores NSA3 y NLC2 a una concentración de 0,4 µM cada uno (Tabla 3). Posteriormente, a partir del producto de la primera amplificación, se utilizó 1 µl como templado para la segunda amplificación con los partidores ITS1 e ITS4 (Tabla 3) en las mismas condiciones



descritas para el primer PCR. De cada muestra de suelo se realizaron 6 réplicas para su posterior purificación.

El programa de amplificación para la primera reacción consistió en un ciclo térmico de: desnaturalización inicial a 95°C por 10 min, luego 35 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30 seg, hibridación a 60°C por 40 seg y una extensión a 72°C por 40 seg, terminando con una extensión final a 72°C por 5 min. Para el segundo PCR, el programa de amplificación consistió en: desnaturalización inicial a 94°C por 3 min, luego 38 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 seg, hibridación a 55°C por 30 seg y una extensión a 72°C por 3 min, terminando con una extensión final a 72°C por 20 min.

Para el análisis de TRFLP se utilizó en el segundo PCR el partidor ITS1 marcado con el fluoróforo FAM (6-carboxyfluoresceína) en su extremo 5'.

Los productos de amplificación se cuantificaron por electroforesis en geles de agarosa al 1,2% (p/v) en buffer TAE 1X teñidos con Bromuro de Etidio, el tamaño de los amplicones se determinó por comparación con el estándar de tamaño molecular 100 bp DNA Ladder (Gibco BRL).

## **2.5. Determinación de la composición fúngica en las muestras de suelo**

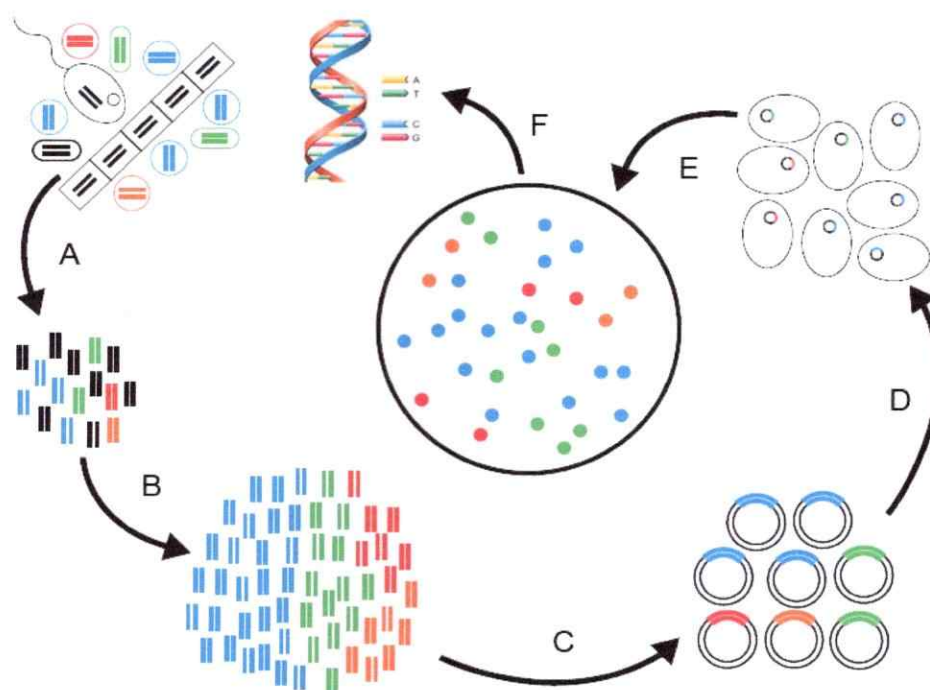
### ***2.5.1. Clonación y secuenciación***

Para determinar la composición fúngica en cada tipo de suelo, los amplicones derivados de los marcadores moleculares rDNA18S e ITS de las muestras compuestas previas al montaje de los microcosmos, se clonaron y secuenciaron para la obtención de genotecas (Figura 3). Para ello, 100 ng de los productos de PCR se purificaron mediante el kit de purificación "UltraClean PCR Clean-up" (MoBio Lab,

Inc.). Los amplicones purificados se ligaron en el vector pTZ57R/T y se clonaron en células competentes de *Escherichia coli* XL1B mediante el kit de clonación "InsTAclone" (Fermentas) siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Los transformantes se crecieron en medio LB (1,0% Triptona, 0,5% extracto de levadura, 1,0% NaCl, pH 7,0) y se seleccionaron por su resistencia a ampicilina (50 µg/ml) y por su incapacidad de degradar el compuesto X-gal (5-bromo-4-cloro-3-indolil-b-galactopiranosido) en presencia de IPTG (isopropil-β-D-tio-galactósido). Para confirmar la presencia del inserto por PCR, los clones seleccionados se resuspendieron en 10 µl de amortiguador TE y el DNA se obtuvo por lisis celular mediante 8 ciclos sucesivos de choques térmicos de 1 min a 98°C / 1 min a 4°C, la amplificación se realizó utilizando los partidores M13F y M13R del vector.

Los insertos de los clones se secuenciaron en un solo sentido con el partidor M13F del vector, utilizando un Analizador Genético 3730 (Applied Biosystems) (Macrogen Inc.). Los clones secuenciados se guardaron en glicerol al 20% a -80°C (Sambrook y col. 1989).



**Figura 3.** Representación del método de clonación-secuenciación: A. Extracción del DNA de las muestras de suelo; B. Amplificación de los marcadores moleculares mediante PCR; C. Ligación de los amplicones en vectores de clonación; D. Transformación de células hospederas; E. Selección de clones con inserto; F. Secuenciación del inserto y análisis bioinformático de las secuencias.

### 2.5.2. Estimación de la cobertura de las genotecas

Las secuencias obtenidas se agruparon en base a dos criterios de identidad de secuencia: 97% y 99%, utilizando el programa Clusterer (Klepac-Ceraj y col. 2006). Los grupos formados se procesaron por el programa Analytic Rarefaction 1.3 (Holland 2003) obteniéndose datos para construir una curva de rarefacción. Posteriormente estos datos se ajustaron a una curva teórica mediante regresión no lineal con el programa GraphPad Prism 4.00 (GraphPad Software), obteniéndose los parámetros teóricos. Finalmente, la estimación de cobertura se realizó mediante la fórmula  $CX = 1 - (Nx/n)$ , donde  $Nx$  representa el número de grupos diferentes y  $n$  el número total de secuencias analizadas.

### **2.5.3. Análisis de agrupamiento de las secuencias**

La identidad de las secuencias se evaluó utilizando el programa BLASTN (Altschul y col. 1997) por comparación con las secuencias de los organismos cultivados disponibles en la base de datos del GenBank más relacionados a los clones obtenidos.

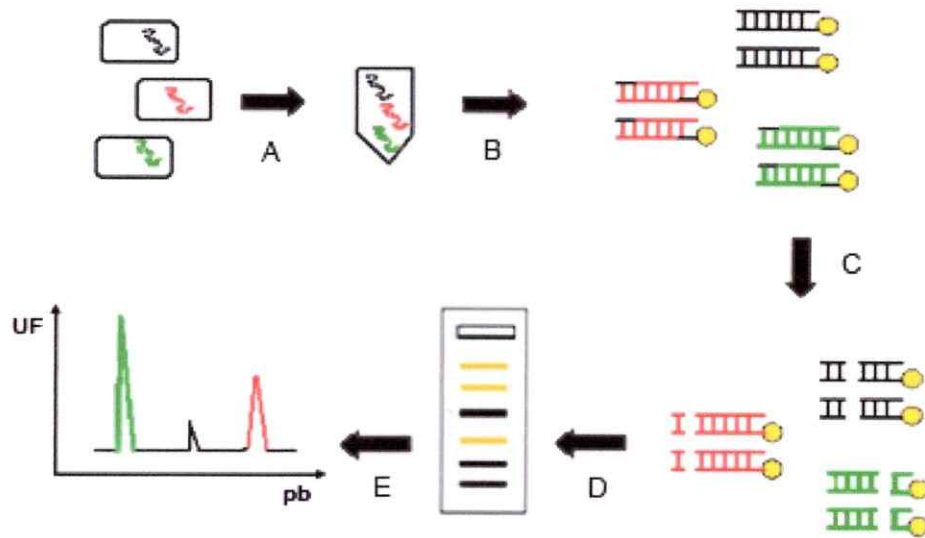
Las secuencias se alinearon mediante ClustalX v 1.81 (Thompson y col. 1997) y se construyó un dendrograma con el programa MEGA4 (Tamura y col. 2007) usando la distancia genética de Jukes & Cantor (Jukes y Cantor 1969) y el algoritmo de agrupamiento Neighbor-Joining (Saitou y Nei 1987). Para estimar la robustez de los nodos se realizó un análisis de bootstrap de 500 iteraciones.

## **2.6. Determinación de la estructura fúngica en las muestras de suelo de los microcosmos**

### **2.6.1. Perfiles de TRFLP**

Para determinar los perfiles de TRFLP (Figura 4) se amplificaron los marcadores moleculares rDNA18S e ITS desde el DNA extraído a partir de submuestras de los microcosmos cada 28 días (0, 28, 56 y 84 días de incubación). Para ello, la purificación de los amplicones se realizó utilizando el kit de purificación "UltraClean PCR Clean-up" (MoBio Lab, Inc.). Las mezclas de amplicones se digirieron con las enzimas de restricción *HaeIII* y *MspI* (Invitrogen) en reacciones independientes durante 3,5 hs a 37°C, según las condiciones recomendadas por el fabricante. Los fragmentos de restricción terminal (TRFs) se resolvieron por electroforesis capilar en un Analizador Genético 3730 (Applied Biosystems)

(Macrogen Inc.). Para cada muestra se generó un electroferograma donde se determinó el número de TRFs de cada muestra (riqueza) y la fluorescencia de cada TRF (abundancia). Como control de la reproducibilidad de la técnica, una muestra de cada suelo se analizó en triplicado desde la extracción del DNA.



**Figura 4.** Representación del método de TRFLP: A. Extracción del DNA de las muestras de suelo; B. Amplificación de los marcadores moleculares mediante PCR utilizando partidores marcados con fluorescencia; C. Digestión de los amplicones con enzimas de restricción; D. Separación de los fragmentos de restricción por electroforesis capilar; E. Obtención del electroferograma.

### 2.6.2. Normalización de los perfiles de TRFLP

El tamaño en pares de bases (pb) de los fragmentos terminales de restricción (TRFs), la altura y el área de los picos en los electroferogramas, se determinaron con el programa GeneMapper v3.0 (Applied Biosystems). Para el análisis se incluyeron sólo fragmentos mayores a 50 pb para descartar las señales de los partidores. Para normalizar y hacer comparables los electroferogramas de las distintas muestras se realizó un procedimiento iterativo para homogenizar las unidades de fluorescencia

(UF) totales (Dunbar y col. 2001) y se eliminaron las señales con fluorescencia menor al 1% con respecto al total, las cuales podrían constituir ruido. Adicionalmente los perfiles se alinearon manualmente para evitar la identificación errónea de los TRFs por el corrimiento esperable en los tamaños de los fragmentos debido a la electroforesis. Con los datos corregidos se determinó la fluorescencia relativa de los TRFs, éstos representan distintas unidades taxonómicas operacionales (OTUs) y no necesariamente especies, por lo tanto, la fluorescencia de cada TRF se utilizó como un indicador de la abundancia relativa de los OTUs presentes en cada muestra.

### ***2.6.3. Análisis de los perfiles de TRFLP***

#### ***2.6.3.a. Análisis de agrupamiento***

Para comparar la riqueza de las diferentes comunidades fúngicas se crearon matrices de presencia/ausencia de TRFs de las submuestras de los microcosmos bajo los diferentes tratamientos y para los diferentes tiempos de incubación. En base a las matrices se calculó la similitud entre las muestras mediante el Coeficiente de Jaccard (Jaccard 1901) y posteriormente se construyeron dendrogramas mediante el algoritmo UPGMA (Unweighted Pairs Group Method with Arithmetic Average) (Li 1981) en el programa MVSP 3.12d (GeoMem). El valor estadístico de los nodos ( $P < 0,05$ ) se determinó por análisis de MonteCarlo con 1000 iteraciones de la matriz en el programa PopTools versión 2.5 (Hood 2000).

#### ***2.6.3.b. Análisis de correspondencia canónica***

Para relacionar la estructura de la comunidad fúngica con los parámetros edáficos se utilizó un análisis de correspondencia canónica (CCA) (Ter Braak 1986),

en donde los puntos representan las muestras y los vectores las variables ambientales, ya que éste es un método multivariado de análisis directo adecuado para describir esta relación (Yang y Crowley 2000; Yannarell y Triplett 2005; Morales y col. 2006; Córdova-Kreylos y col. 2006). Sin embargo, para la aplicación de estos análisis es necesario comprobar que las variables medidas no estén fuertemente correlacionadas ya que este fenómeno podría afectar el análisis haciendo los coeficientes de correlación muy inestables (Ter Braak 1990). La posible correlación entre los factores ambientales analizados se evaluó mediante el coeficiente de Pearson según el modelo de regresión lineal usando el programa GraphPad Prism versión 4.0 (GraphPad Software Inc.). Posteriormente, se realizó el CCA, donde se relacionaron los perfiles de TRFLP, considerando una matriz de abundancia relativa de los TRFs, con los parámetros edáficos correspondientes a los suelos de cada tipo. Las variables edáficas fueron: contenido hídrico (CH), materia orgánica (MO), pH, potencial de óxido-reducción (ORP), contenido de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y contenido de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) (Tabla A1, Anexo). El CCA se realizó en el programa MVSP 3.12h (GeoMem). El significado estadístico ( $P < 0,05$ ) de la relación entre la diversidad genética y cada parámetro edáfico del CCA se obtuvo a través de la prueba de MonteCarlo con 1000 permutaciones de la matriz, bajo el modelo completo con el programa CANOCO 4 (Ter Braak y Smilauer 1998). De la misma manera se determinó el valor estadístico individual del eje canónico 1 (CCA1) y de la totalidad de los ejes canónicos.

#### 2.6.3.c. Análisis de los parámetros ecológicos

Finalmente, se calcularon los parámetros ecológicos descriptivos de comunidades microbianas desarrollados específicamente para ser aplicados en datos

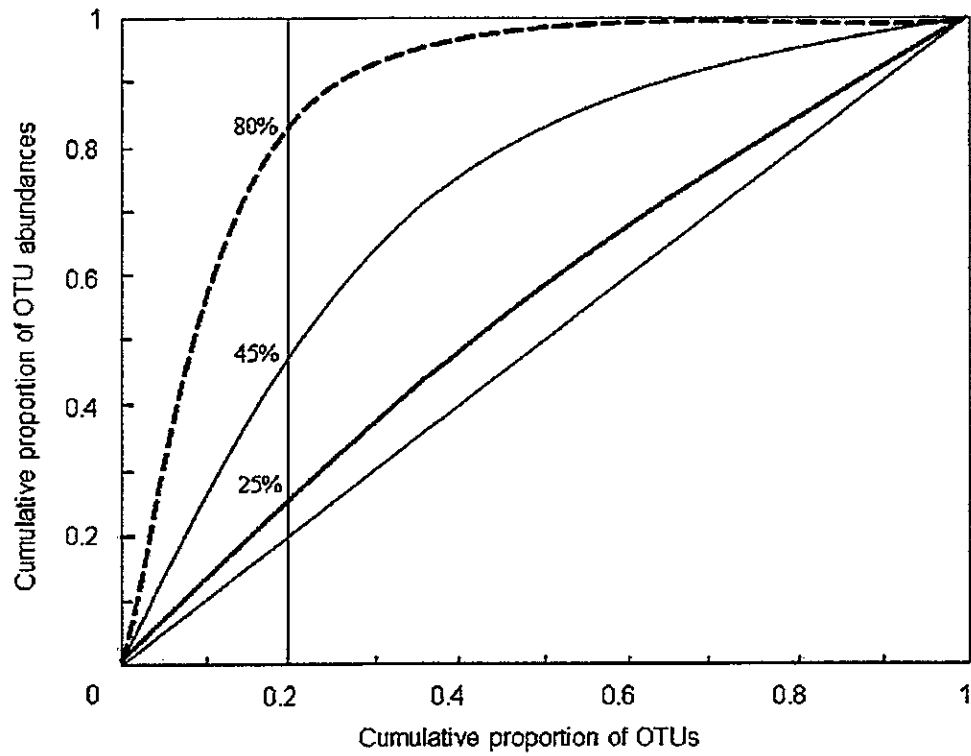
obtenidos con técnicas moleculares de “DNA *fingerprinting*” (Marzorati y col. 2008): riqueza ponderada por el rango (Rr), dinámica (Di) y organización funcional (OF).

La Rr se calculó en base a la cantidad de TRFs obtenidos (N) y a la cobertura que tuvieron esos TRFs en relación al rango máximo detectable de acuerdo al marcador de tamaño molecular utilizado (R), según la fórmula  $Rr = N \times R$ .

La Di se evaluó en relación al número de TRFs que se mantienen entre dos tiempos consecutivos durante la incubación de los microcosmos, de esta manera se puede establecer el porcentaje de cambio del perfil como  $\% \text{ cambio} = 100 - \% \text{ similitud}$ . Dado que la tasa de cambio se evaluó entre los intervalos (en días) 0-28, 28-56 y 56-84, se hizo un promedio de estos tres valores para obtener la dinámica neta de la comunidad.

La OF describe el nivel de especialización que alcanza una comunidad, así una comunidad microbiana con baja OF sería aquella que posee una gran diversidad de filotipos con similar abundancia conviviendo en un mismo ambiente; una comunidad con OF media se presenta cuando disminuye la diversidad de la comunidad y algunos filotipos aumentan su abundancia; y finalmente una comunidad con alta OF corresponde a aquella que tiene unos pocos filotipos dominantes. Para calcular este índice, los TRFs se ordenaron, en término de su abundancia, de mayor a menor y se evaluó qué porcentaje de la comunidad total corresponde al 20% de los filotipos más abundantes de acuerdo a la curva de abundancia de Pareto–Lorenz (PL) (Marzorati y col. 2008). En la Figura 5 se ejemplifican comunidades con distintos niveles de OF; cuanto más alta la OF, menor la equitatividad y por lo tanto unos pocos filotipos representan a la mayoría de la comunidad.





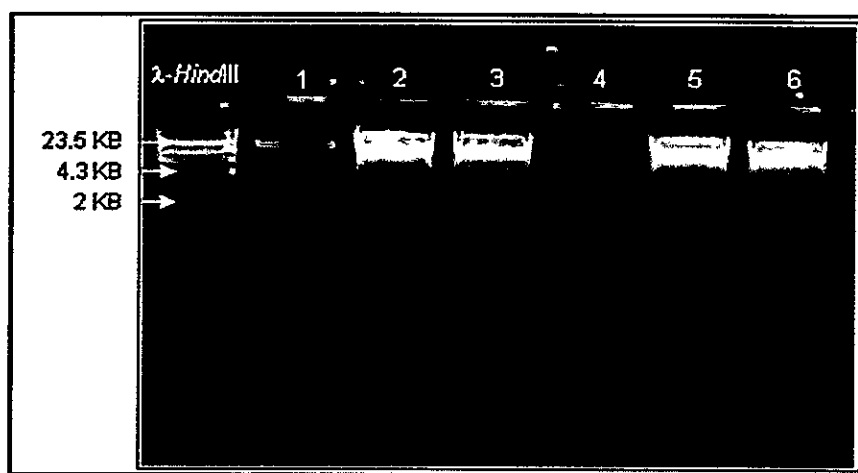
**Figura 5.** Curva de Pareto-Lorenz derivada de tres patrones hipotéticos de DGGE. Describe las 3 situaciones posibles de organización funcional con respecto al 20% de los OTUs más abundantes de una comunidad: alta (curva 80%), media (curva 45%) y baja (curva de 25%). Tomada de Marzorati y col. (2008).

## RESULTADOS

### 3.1. Extracción del DNA del suelo y amplificación de marcadores moleculares fúngicos

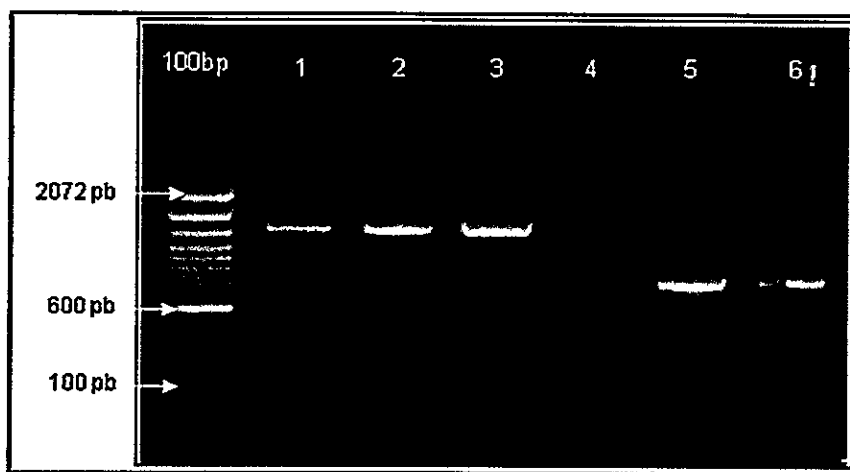
Para determinar la diversidad genética de los grupos fúngicos predominantes en la comunidad de cada suelo, se utilizó una aproximación molecular independiente de cultivo. El DNA se purificó directamente de las muestras de suelo de los microcosmos y se amplificaron los marcadores moleculares rDNA18S e ITS.

El DNA extraído desde las muestras de suelo de los microcosmos para cada tratamiento se sometió a electroforesis en geles de agarosa. A modo de ejemplo se muestra un gel en donde se pudo verificar la integridad del DNA extraído (Figura 6).



**Figura 6.** Electroforesis en gel de agarosa al 0,8% del DNA extraído de las muestras de suelo de los microcosmos sometidos a distintos tratamientos. Carril 1: tratamiento con agua cada 14 días (H2O(14)); carril 2: control sin tratamiento (s/t); carril 3: tratamiento con agua (H2O); carril 4: tratamiento con solución ácida (Ac); carril 5: tratamiento con solución de nitrato de amonio (Nr); carril 6: tratamiento con solución ácida de nitrato de amonio (NrAc); todos al tiempo inicial (t0) del microcosmos de suelo semiárido. El primer carril contiene el marcador de tamaño molecular  $\lambda$ -HindIII.

El DNA amplificado para cada uno de los marcadores moleculares utilizados se visualizó por electroforesis en geles de agarosa. En la Figura 7 se muestra un gel en el que se observan las bandas del tamaño esperado (~1500 pb para el rDNA18S y 400-600 pb para el ITS) y la ausencia de bandas inespecíficas.



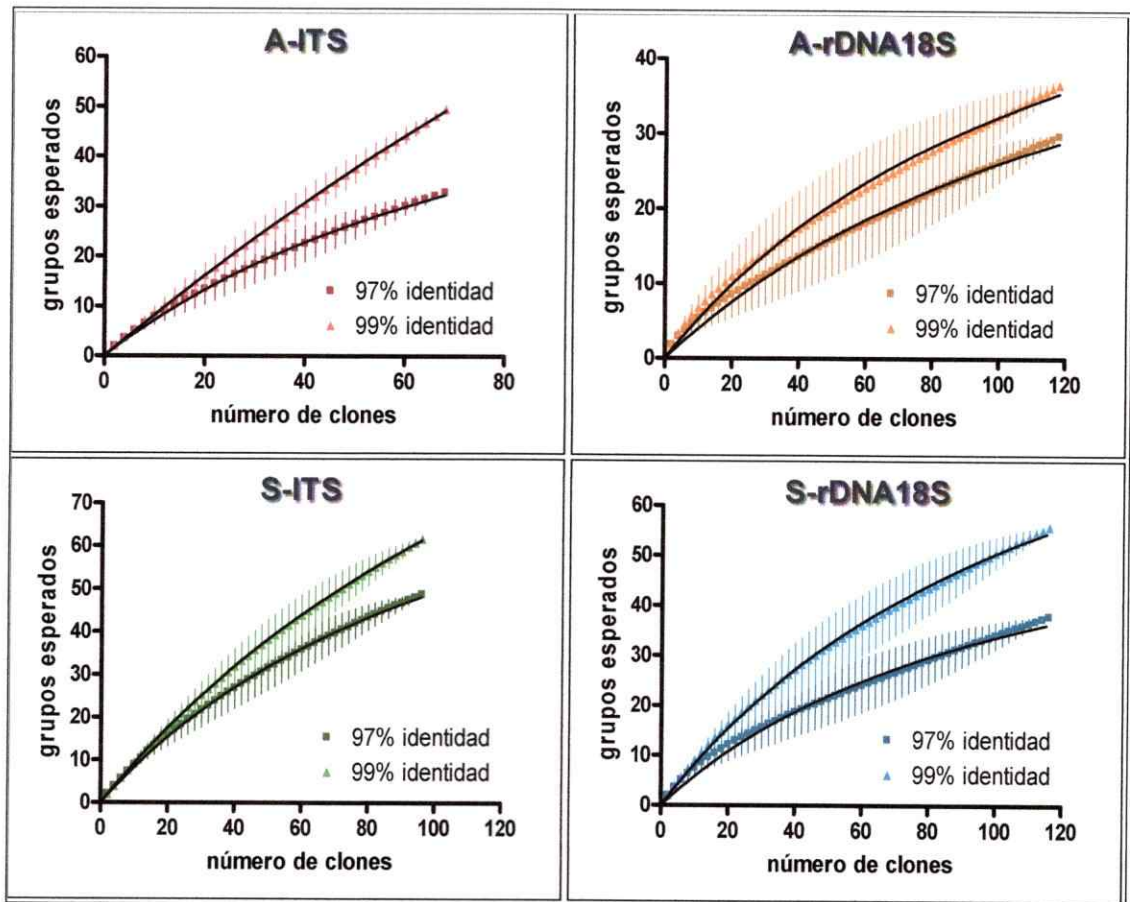
**Figura 7.** Electroforesis en gel de agarosa al 1,2% de los amplicones del marcador molecular rDNA18S (carriles 1, 2 y 3) y del marcador molecular ITS (carriles 4, 5 y 6). El DNA amplificado corresponde a los microcosmos del tratamiento con agua (H<sub>2</sub>O) a los tiempos t<sub>0</sub>, t<sub>28</sub> y t<sub>56</sub>. El primer carril contiene el marcador de tamaño molecular 100 bp.

### 3.2. Determinación de la composición fúngica en las muestras de suelo

#### 3.2.1. Estimación de la cobertura de las genotecas

Los amplicones de cada marcador molecular (rDNA18S e ITS) obtenidos para ambas muestras de suelo se clonaron y secuenciaron. Para estimar la cobertura de la composición fúngica de cada suelo se realizaron curvas de rarefacción de las genotecas, para ello las secuencias de los clones se agruparon mediante 2 criterios: 99% y 97% de identidad. Posteriormente, las curvas de rarefacción de ambos suelos

se ajustaron a una hipérbola. Una tendencia de las curvas a alcanzar la asíntota (o máximo teórico) indica que la cantidad de secuencias estudiadas fue la suficiente para cubrir un número importante de los grupos fúngicos presentes en estos suelos, y además sugiere que para encontrar nuevos grupos se requeriría de un esfuerzo de muestreo considerablemente mayor. Visualmente se pudo determinar que el marcador molecular rDNA18S permitió una mayor cobertura de la composición fúngica en ambos tipos de suelo (Figura 8).



**Figura 8.** Curvas de rarefacción para los marcadores moleculares rDNA18S e ITS para los suelos árido (A) y semiárido (S). Los cuadrados y triángulos representan los datos de agrupamiento para el 97% y 99% de identidad de las secuencias, respectivamente. La línea negra continua en todos los gráficos, representa el ajuste de la curva a una hipérbola.

Los resultados del ajuste de las curvas se observan en la Tabla 4, la genoteca construida con amplicones del marcador molecular rDNA18S permitió determinar una mayor cobertura de la composición fúngica en ambos tipos de suelo. Por su parte, el marcador ITS reveló mayor diversidad de filotipos, dando cuenta de que la genoteca obtenida tiene menor cobertura cuando se usa este marcador. Los datos obtenidos para este marcador indican que la diversidad esperada en el suelo árido es mayor que en el suelo semiárido. Además, se calculó el porcentaje de cobertura de las genotecas utilizando la fórmula  $Cx = 1 - (Nx/n)$ , donde Nx corresponde a los grupos observados y n al número de clones analizados. El criterio de identidad del 99% promedia una cobertura del 45,9% para las cuatro genotecas mientras que el criterio de identidad de un 97% promedia un 60,6%, obteniéndose la mayor cobertura para las muestras de suelo árido con el marcador molecular rDNA18S (Tabla 4).

**Tabla 4.** Resultados del ajuste de las curvas de rarefacción y del cálculo de cobertura para ambos marcadores moleculares, en cada suelo y con dos criterios de identidad para el agrupamiento.

Muestra <sup>a</sup>	Criterio de identidad	Grupos observados	Clones analizados	Máximo grupo teórico	Cobertura	Bondad ajuste (R <sup>2</sup> )
A-18S	99%	37	118	74	68,6%	0,9938
	97%	30	118	66	74,6%	0,9932
A-ITS	99%	49	68	331	27,9%	0,9998
	97%	33	68	80	51,5%	0,9988
S-18S	99%	56	116	116	51,7%	0,9988
	97%	38	116	71	67,2%	0,9919
S-ITS	99%	62	96	178	35,4%	0,9999
	97%	49	96	110	49,0%	0,9994

<sup>a</sup>A-18S: genoteca del suelo árido con el marcador molecular rDNA18S; A-ITS: genoteca del suelo árido con el marcador molecular ITS; S-18S: genoteca del suelo semiárido con el marcador molecular rDNA18S; S-ITS: genoteca del suelo semiárido con el marcador molecular ITS.

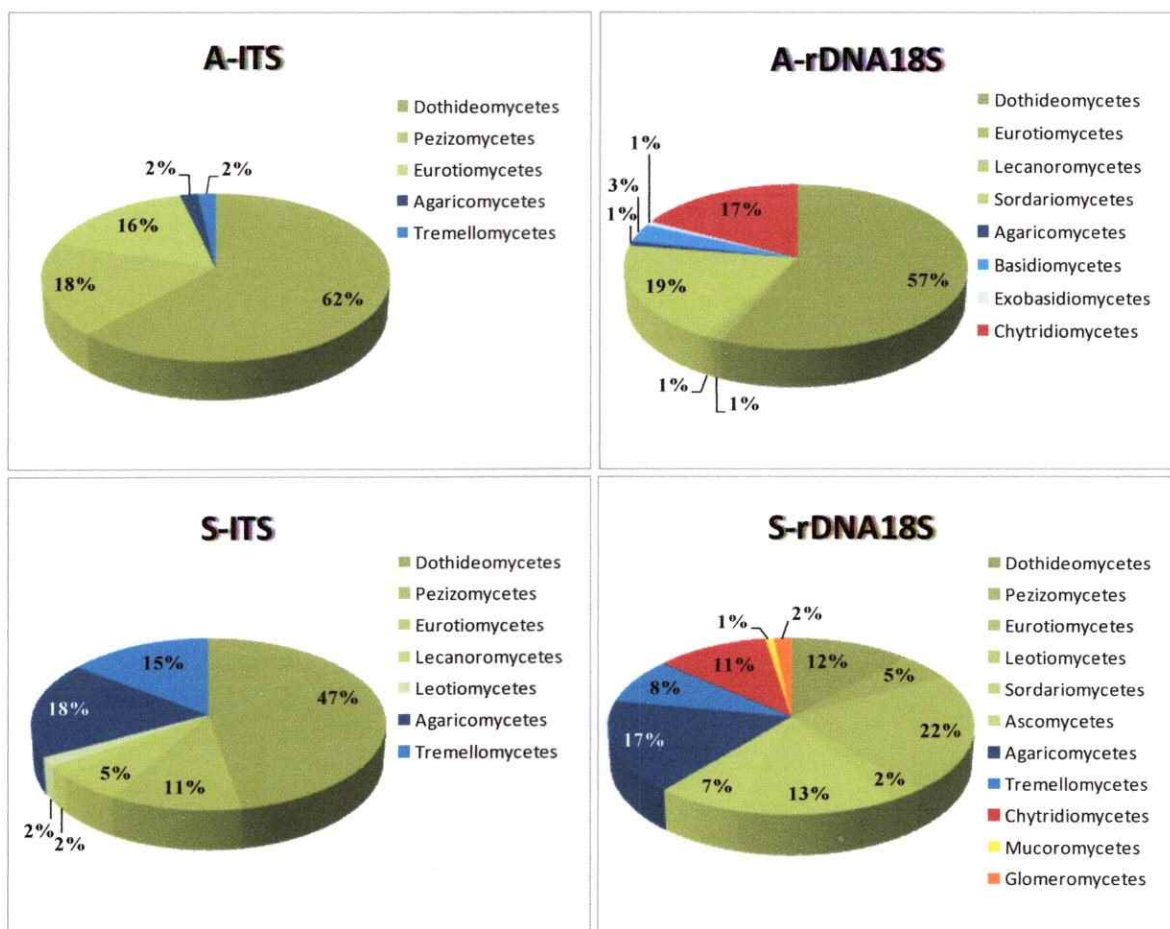
### 3.2.2. Análisis de agrupamiento de las secuencias

Para ambas muestras de suelo se determinaron los filotipos fúngicos más abundantes por comparación con secuencias de las bases de datos del *National Center for Biotechnology information* (NCBI). De un total de 398 clones secuenciados, más del 90% de las secuencias se alinearon con secuencias de clones de la base de datos. Las secuencias de organismos cultivados descargadas de la base de datos junto a las secuencias de los clones de cada suelo de este estudio, se agruparon en dendrogramas que permitieron confirmar la identidad de las secuencias obtenidas para cada suelo (Tablas A2, A3, A4, A5 y Figuras A4, A5, A6, A7; Anexo).

Al clasificar taxonómicamente las secuencias obtenidas se determinó que éstas se agrupan en un total de 5 divisiones, 14 clases y 24 órdenes fúngicos. Independientemente del marcador utilizado, el grupo Ascomycota fue predominante (61-95%), seguido por Basidiomycota (5-34%). El marcador molecular rDNA18S permitió además detectar la presencia de Chytridiomycota, Zygomycota y Glomeromycota, encontrándose los dos últimos sólo en el suelo semiárido (Figura 9).

De un total de 14 clases encontradas, el 50% pertenecen a la división Ascomycota y representan al 75% de las secuencias analizadas. De este 75%, el 59% de las secuencias pertenecen a suelo árido y un 41% de las secuencias son de suelo semiárido. La segunda división más abundante fue Basidiomycota, con 4 clases correspondientes al 28,6% de las clases encontradas, en las cuales se distribuyeron 16,8% del total de las secuencias obtenidas. El 87% de estas secuencias pertenecieron a suelos semiáridos y el 13% restante a suelos áridos (Figura 9). Las 3 divisiones restantes: Chytridiomycota, Glomeromycota y Zygomycota, representaron 7,1%,

0,42% y 0,21%, respectivamente de las secuencias analizadas. Cabe recalcar que estas divisiones se detectaron sólo en el suelo semiárido al utilizar el marcador molecular rDNA18S (Figura 9).



**Figura 9.** Clasificación taxonómica a nivel de Clase de las secuencias de las genotecas de los marcadores moleculares rDNA18S e ITS en los suelos árido (A) y semiárido (S). Los colores verdes corresponden a la división Ascomycota; los colores azules a la división Basidiomycota; el color rojo a la división Chytridiomycota; el color amarillo a la división Zygomycota y el color naranja a la división Glomeromycota.

### **3.3. Determinación de la estructura fúngica en las muestras de suelo de los microcosmos**

Los efectos de los tratamientos sobre la estructura fúngica en las muestras de suelo de los microcosmos se determinaron mediante perfiles de TRFLP en cuatro tiempos durante la incubación (Figuras A8 - A19; Anexo). La amplificación mediante PCR de los marcadores moleculares se realizó con un partidador marcado en su extremo 5' con el fluoróforo FAM (EF3 para el rDNA18S e ITS1 para el ITS). Para la digestión del producto del PCR, se usaron dos enzimas de corte frecuente, *HaeIII* y *MspI*. Los perfiles de TRFLP entregan información sobre la riqueza y abundancia de los filotipos o fragmentos terminales de restricción (TRFs) presentes en la comunidad, por lo que los análisis de los datos se hicieron considerando los diferentes componentes de la estructura comunitaria.

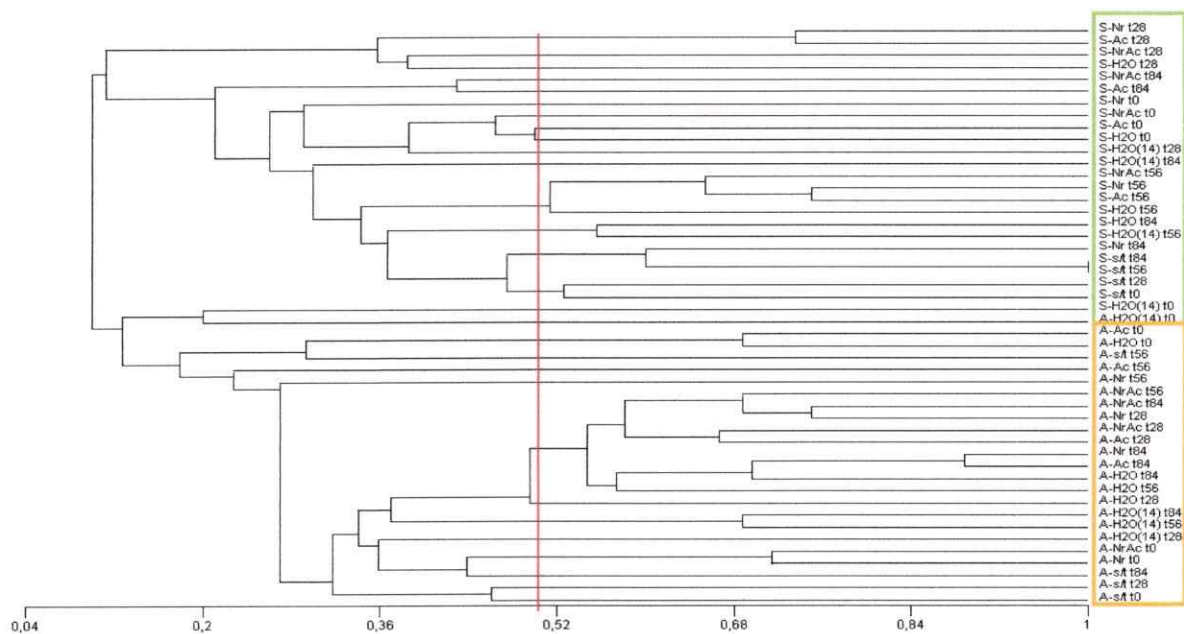
#### ***3.3.1. Análisis de agrupamiento***

En primer lugar, el efecto de los tratamientos sobre la riqueza de las comunidades fúngicas se determinó mediante un análisis de similitud de los perfiles de TRFLP, en base a una matriz binaria de presencia/ausencia (riqueza de TRFs) utilizando el coeficiente de similitud de Jaccard y el algoritmo UPGMA. Para ello, los datos obtenidos por la digestión con las dos enzimas de restricción utilizadas se unieron para cada uno de los marcadores moleculares utilizados. En la Figura 10 se muestra el análisis de agrupamiento para el rDNA18S y en la Figura 11 para el ITS. Para validar las agrupaciones se realizó un análisis de Montecarlo, los grupos a la derecha de la línea punteada responden a un patrón definido y no pueden ser explicadas por el azar. En ambos casos las comunidades fúngicas se separaron de



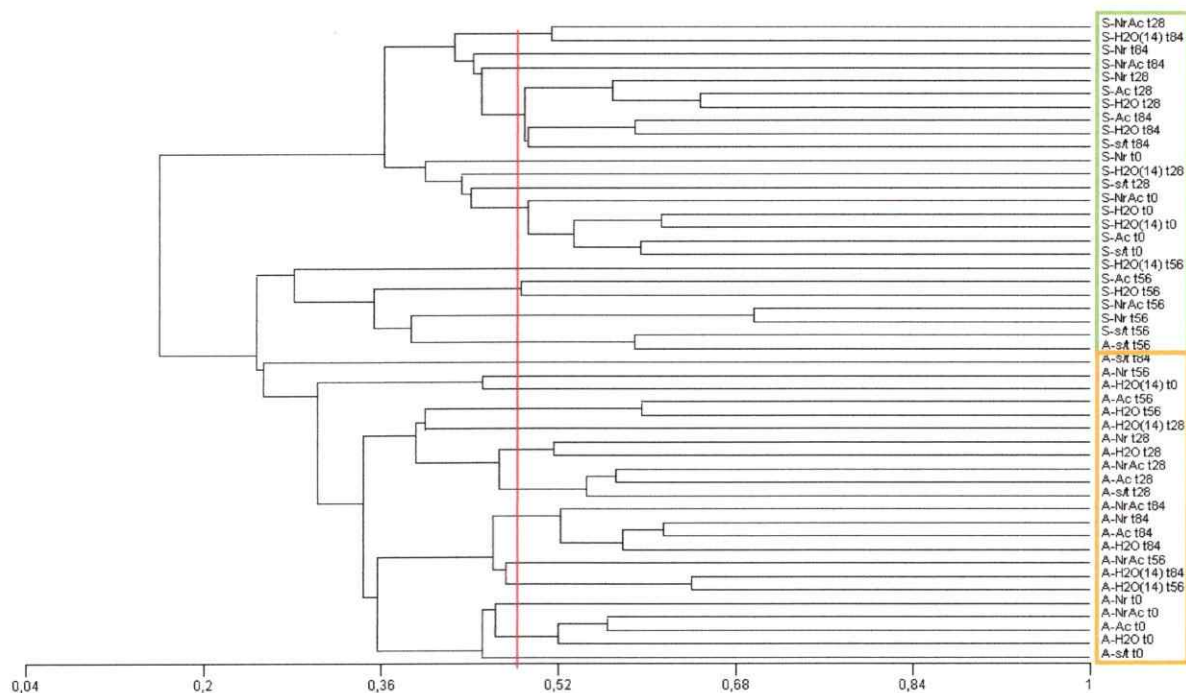
acuerdo al tipo de suelo. Las muestras correspondientes al marcador molecular ITS tuvieron una mayor similitud entre sí que las basadas en el análisis del rDNA18S.

En el caso del marcador molecular rDNA18S las muestras se separaron de acuerdo al tipo de suelo, sin embargo los índices de similitud son bajos. Cuando se analizan las muestras del suelo árido, la mayoría de las muestras tratadas con nitrógeno reactivo (Nr) tendieron a agruparse, mientras que en las muestras del suelo semiárido, los controles sin tratamiento (s/t) son las más similares entre sí (Figura 10).



**Figura 10.** Análisis de agrupamiento en base a los perfiles de TRFLP del marcador molecular rDNA18S de las comunidades fúngicas de los suelos árido (A) y semiárido (S) bajo cada tratamiento y durante la incubación de los microcosmos. El dendrograma se construyó usando el coeficiente de Jaccard y el algoritmo UPGMA. La línea roja señala la distancia de agrupamiento crítico obtenida con la prueba de MonteCarlo con 1000 iteraciones (Programa Poptools). Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H2O(14)); agua al inicio de la incubación (H2O); solución ácida al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio al inicio de la incubación (Nr); solución ácida de nitrato de amonio al inicio de la incubación (NrAc). Tiempos: 0 días de incubación (t0); 28 días de incubación (t28); 56 días de incubación (t56); 84 días de incubación (t84).

En el caso del marcador molecular ITS también se formaron dos grupos definidos, uno para cada tipo de suelo. Las muestras del suelo árido tendieron a agruparse de acuerdo al tiempo de incubación de los microcosmos, sin aparente efecto del tratamiento aplicado. En las muestras de suelo semiárido este efecto fue más notorio, observándose un grupo formado por las muestras de los tiempos iniciales de incubación (t0), otro por las muestras del tiempo 56 días de incubación (t56) y un tercero formado por las muestras correspondientes a los tiempos finales de incubación (t84) y las muestras del tiempo 28 días de incubación (t28) (Figura 11).



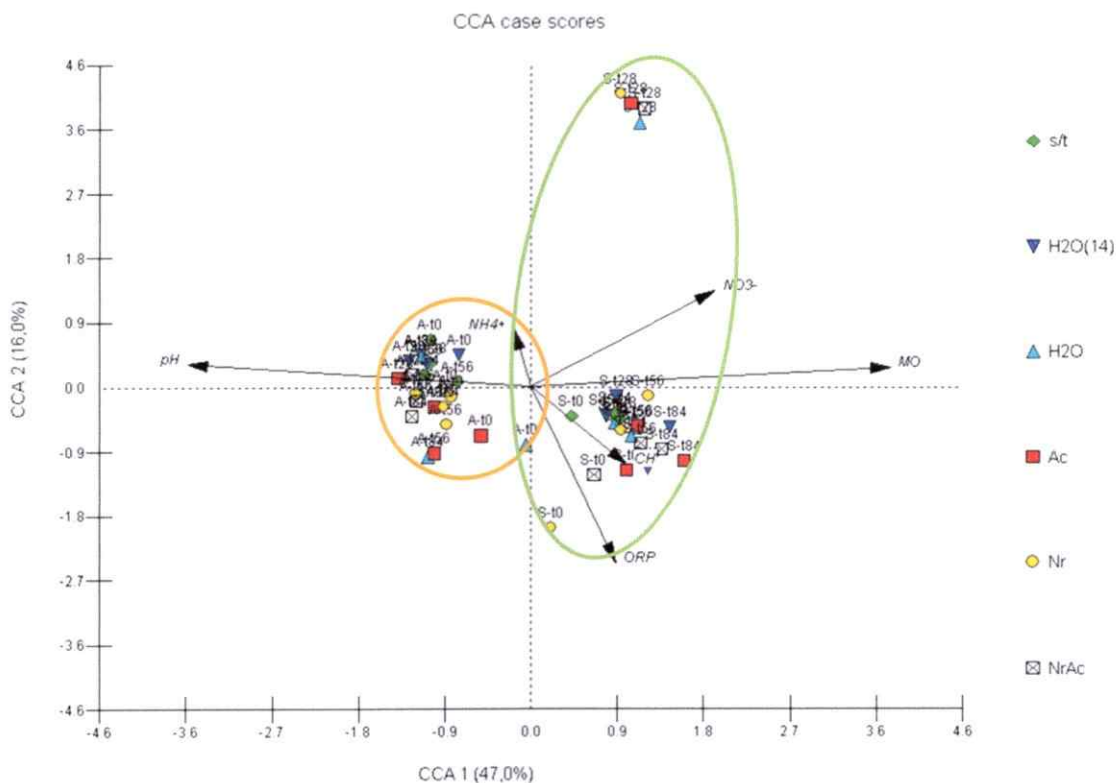
**Figura 11.** Análisis de agrupamiento en base a los perfiles de TRFLP del marcador molecular ITS de las comunidades fúngicas de los suelos árido (A) y semiárido (S) bajo cada tratamiento y durante la incubación de los microcosmos. El dendrograma se construyó usando el coeficiente de Jaccard y el algoritmo UPGMA. La línea roja señala la distancia de agrupamiento crítico obtenida con la prueba de MonteCarlo con 1000 iteraciones (Programa Poptools). Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H2O(14)); agua al inicio de la incubación (H2O); solución ácida al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio al inicio de la incubación (Nr); solución ácida de nitrato de amonio al inicio de la incubación (NrAc). Tiempos: 0 días de incubación (t0); 28 días de incubación (t28); 56 días de incubación (t56); 84 días de incubación (t84).

### 3.3.2. *Análisis de correspondencia canónica*

Para determinar la influencia de los tratamientos sobre los perfiles de TRFLP de ambos marcadores moleculares, y a su vez qué parámetros edáficos se relacionan con el ordenamiento observado, se realizaron análisis de correspondencia canónica (CCA). Este análisis relaciona la estructura comunitaria con variables ambientales, en el cual los puntos representan las muestras, los vectores las variables y los porcentajes en los ejes indican cuánto explica cada uno de la varianza total de los TRFs analizados para cada muestra. Si las variables edáficas incluidas en el análisis se relacionan fuertemente con algún eje, se puede predecir que influyen en el ordenamiento de las muestras a lo largo del eje correspondiente, lo que refleja la variación de la estructura de esas muestras. La influencia de la variable ambiental se refleja en el largo y la cercanía al eje del vector que la representa, y a su vez en el coeficiente de correlación intragrupo (CCI) asociado a dicha variable.

En una primera instancia se incluyeron las muestras de ambos tipos de suelo en el mismo análisis, utilizando los datos obtenidos con las dos enzimas de restricción utilizadas. En el CCA de los TRFs obtenidos con el marcador molecular rDNA18S (Figura 12; Tabla 5), se observa una clara separación de las muestras de cada tipo de suelo a lo largo del primer eje canónico (CCA1 47,0%). Los parámetros edáficos que influenciaron esta separación fueron la MO (CCI 0,987;  $p$ : 0,001) y el pH (CCI -0,944;  $p$ : 0,001). Además, se observó a lo largo del segundo eje canónico (CCA2 16,0%) la separación de la mayoría de las muestras del suelo semiárido obtenidas a los 28 días de incubación (t28) del resto de las muestras, la variable más influyente sobre este eje fue el ORP (CCI -0,648;  $p$ : 0,016). Cabe mencionar que tanto el primer

eje canónico como la suma de todos los ejes canónicos, fueron estadísticamente significativos ( $p: 0,001$ ).



Vector scaling: 3.85

**Figura 12.** Análisis de correspondencia canónica entre los perfiles de TRFLP del marcador molecular rDNA18S y los factores edáficos medidos durante el tiempo de incubación de los microcosmos de los suelos árido (A) y semiárido (S). Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H2O(14)); agua al inicio de la incubación (H2O); solución ácida al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio al inicio de la incubación (Nr); solución ácida de nitrato de amonio al inicio de la incubación (NrAc). Tiempos: 0 días de incubación (t0); 28 días de incubación (t28); 56 días de incubación (t56); 84 días de incubación (t84). Variables edáficas: pH; potencial de óxido reducción (ORP); Contenido hídrico (CH); materia orgánica (MO); contenido de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>); contenido de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). La línea verde encierra las muestras del suelo semiárido y la naranja las del suelo árido.

**Tabla 5.** Coeficientes de correlación intragrupo (CCI) de las variables edáficas (VE) y los dos primeros ejes del ordenamiento de los TRFLP del marcador molecular rDNA18S, en los microcosmos de los suelos árido y semiárido.

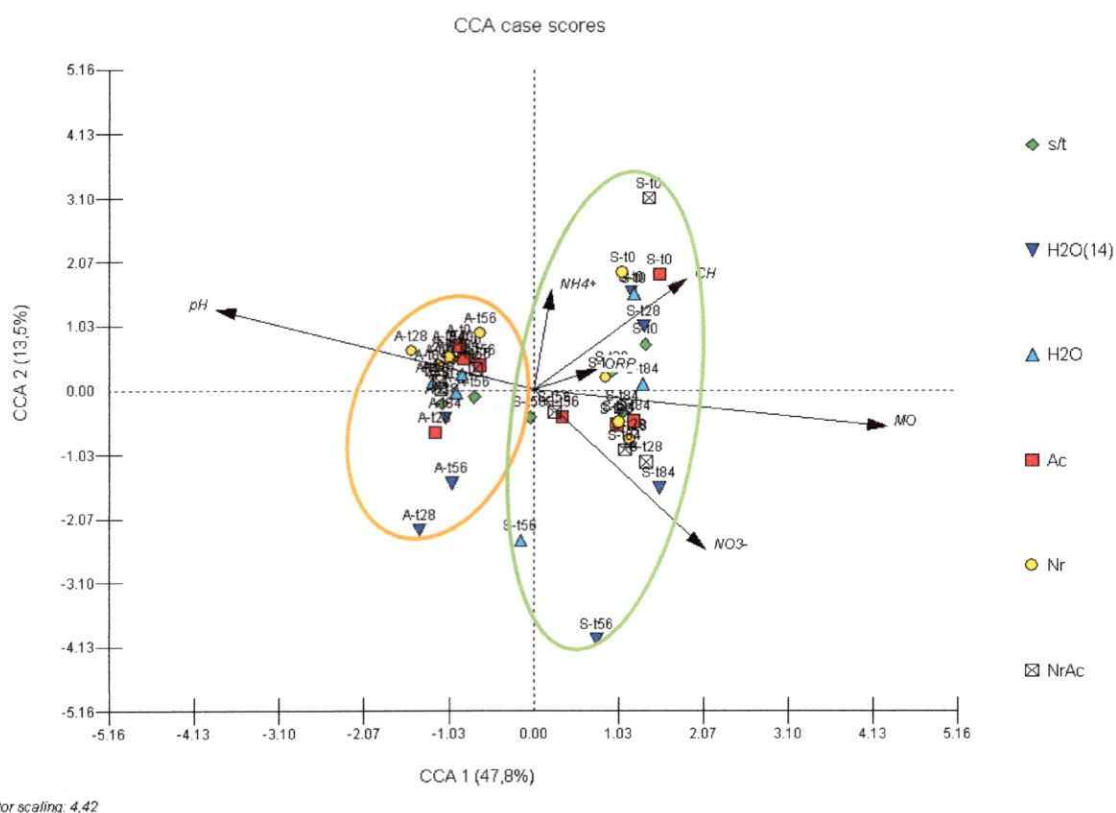
VE <sup>a</sup>	CCI		<i>p</i>	F
	CCA1	CCA2		
pH <sup>*</sup>	-0,944	0,085	0,001	24,21
ORP <sup>*</sup>	0,234	-0,648	0,016	2,06
CH	0,262	-0,287	0,277	1,14
MO <sup>*</sup>	0,987	0,073	0,001	13,98
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-0,045	0,211	0,782	0,69
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,505	0,355	0,148	1,37
1° eje canónico <sup>*</sup>			0,001	22,03
Suma de los ejes canónicos <sup>*</sup>			0,001	8,56

\* Relaciones estadísticamente significativas entre las variables edáficas y el agrupamiento de las muestras según el análisis de MonteCarlo con 1000 permutaciones de la matriz (Programa Canoco).

<sup>a</sup> pH; potencial de óxido reducción (ORP); contenido hídrico (CH); materia orgánica (MO); contenido de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>); contenido de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>).

Al analizar el CCA de los TRFs obtenidos con el marcador molecular ITS (Figura 13; Tabla 6), se observa nuevamente una clara separación de las muestras de cada tipo de suelo a lo largo del primer eje canónico (CCA1 47,8%), siendo las muestras de suelo árido más similares entre sí, independientemente de los tratamientos aplicados. Los parámetros edáficos que influenciaron esta separación fueron una vez más la MO (CCI 0,974; *p*: 0,001) y el pH (CCI -0,874; *p*: 0,001). Además, a lo largo del segundo eje canónico (CCA2 13,5%) se separaron las muestras del suelo semiárido, influenciadas por el contenido de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (CCI -0,580). Una vez más, tanto el primer eje canónico como la suma de todos los ejes canónicos, fueron estadísticamente significativos (*p*: 0,001).

Dada la longitud del marcador molecular ITS (~ 500 pb), se espera que sea menos resolutivo que el marcador molecular rDNA18S (~ 1800 pb); sin embargo, al ser una región intergénica susceptible de una mayor variabilidad resulta ser más explicativo en relación a la estructura de las muestras, permitiendo una mejor discriminación de las muestras en el plano cartesiano, al menos en el suelo semiárido.



**Figura 13.** Análisis de correspondencia canónica entre los perfiles de TRFLP del marcador molecular ITS y los factores edáficos medidos durante el tiempo de incubación de los microcosmos de los suelos árido (A) y semiárido (S). Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H2O(14)); agua al inicio de la incubación (H2O); solución ácida al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio al inicio de la incubación (Nr); solución ácida de nitrato de amonio al inicio de la incubación (NrAc). Tiempos: 0 días de incubación (t0); 28 días de incubación (t28); 56 días de incubación (t56); 84 días de incubación (t84). Variables edáficas: pH; potencial de óxido reducción (ORP); Contenido hídrico (CH); materia orgánica (MO); contenido de amonio (NH4+); contenido de nitrato (NO3-). La línea verde encierra las muestras del suelo semiárido y la naranja las del suelo árido.

**Tabla 6.** Coeficientes de correlación intragrupo (CCI) de las variables edáficas (VE) y los dos primeros ejes del ordenamiento de los TRFLP del marcador molecular ITS, en los microcosmos de los suelos árido y semiárido.

VE <sup>a</sup>	CCI		p	F
	CCA1	CCA2		
pH*	-0,874	0,296	0,001	19,70
ORP	0,172	0,075	0,698	0,81
CH	0,423	0,407	0,088	1,44
MO*	0,974	-0,130	0,001	12,74
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,050	0,368	0,748	0,79
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,473	-0,580	0,214	1,15
1° eje canónico*			0,001	18,62
Suma de los ejes canónicos*			0,001	6,94

\* Relaciones estadísticamente significativas entre las variables edáficas y el agrupamiento de las muestras según el análisis de MonteCarlo con 1000 permutaciones de la matriz (Programa Canoco).

<sup>a</sup>pH; potencial de óxido reducción (ORP); contenido hídrico (CH); materia orgánica (MO); contenido de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>); contenido de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>).

### 3.3.4. Análisis de los parámetros ecológicos

Se determinaron los parámetros ecológicos recientemente descritos para caracterizar comunidades microbianas basadas en datos de *fingerprinting* (Marzorati y col. 2008). Estos parámetros son la riqueza ponderada por el rango (Rr), la dinámica (Di) y la organización funcional (OF). Los valores propuestos para clasificar cada uno de ellos en los rangos alto (A), medio (M) y bajo (B) se muestran en la Tabla 7. Cabe destacar que este análisis fue realizado exclusivamente con los patrones de TRFs obtenidos por la endonucleasa *HaeIII* debido a que esta enzima de restricción fue más resolutiva.

**Tabla 7.** Valores propuestos para clasificar los parámetros ecológicos riqueza ponderada por el rango (Rr), dinámica (Di) y organización funcional (OF) en los rangos bajo (B), medio (M) y alto (A) (tomado de Marzorati y col. 2008).

	Rr	Di (%)	OF (%)
<b>B</b>	Rr<10	Di<5	OF<25
<b>M</b>	10<Rr<30	5>Di>15	25<OF<60
<b>A</b>	Rr>30	Di>15	OF>60

La Rr se calculó en base a la cantidad de TRFs obtenidos, en relación al rango máximo detectable, según el tamaño del marcador molecular y del estándar interno utilizados. Se determinó una Rr dentro del rango bajo para ambos marcadores, dando cuenta de que la cantidad de TRFs o haplotipos encontrados, en relación al rango máximo detectable, es baja. La Rr obtenida con el marcador molecular ITS, supera en todos los casos a las obtenidas con el rDNA18S, probablemente debido a que es una región más variable por lo que puede reflejar mejor los cambios de este parámetro (Tablas A6 y A7, Anexo).

Por su parte, la Di fue evaluada en relación al número de TRFs que se mantienen entre dos tiempos consecutivos durante la incubación de los microcosmos. Los resultados muestran, para ambos marcadores, valores dentro del rango alto, dando indicios de que durante la incubación los TRFs que eran más abundantes entre un tiempo y otro, en su mayoría, fueron reemplazados por nuevos haplotipos (Tablas A6 y A7, Anexo).

La OF es el parámetro que más cambió entre los marcadores moleculares utilizados, lo que puede considerarse un caso opuesto al de la Rr ya que ésta de cierta manera influye en que la abundancia relativa total se distribuya en menos TRFs. En el

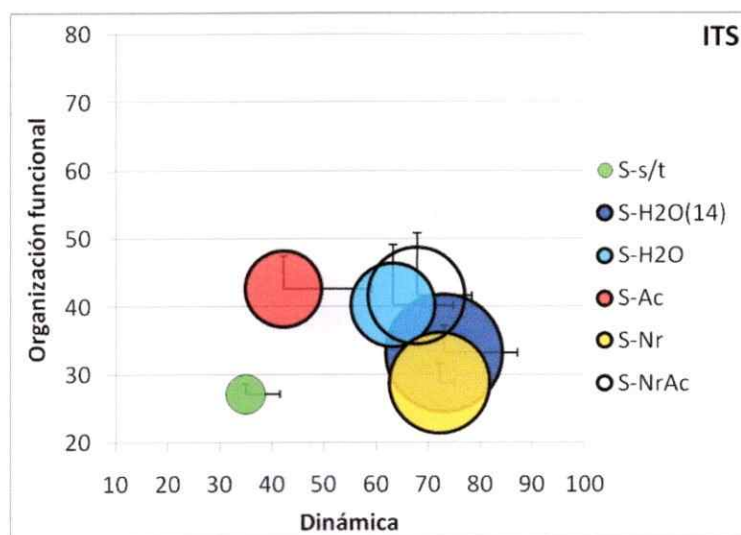


caso del marcador molecular ITS se calculó una organización funcional media, por lo que no existiría una clara dominancia de TRFs. Por otro lado, el análisis en base al marcador molecular rDNA18S mostró una organización funcional media-alta, indicador de que la comunidad fúngica estuvo dominada por unos pocos TRFs (Tablas A6 y A7, Anexo).

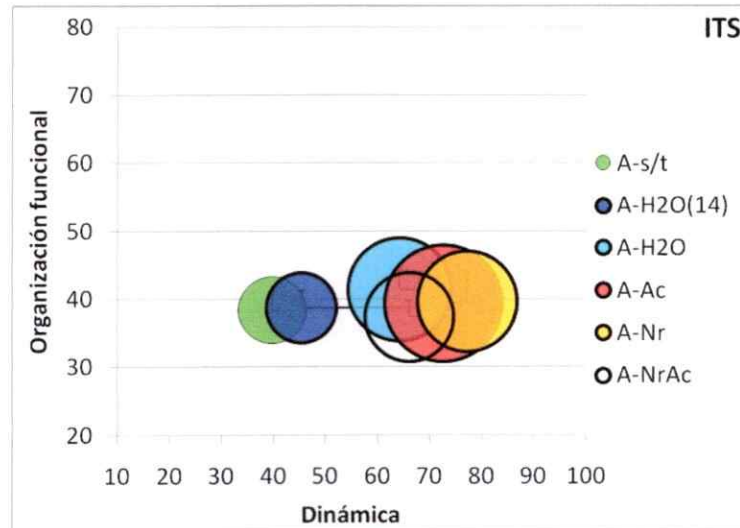
Dados los resultados obtenidos por los análisis de CCA, para intentar determinar el efecto de los tratamientos sobre la comunidad fúngica del suelo, se graficaron los parámetros ecológicos para cada tipo de suelo utilizando los datos generados por el marcador molecular ITS, dada su mayor resolución. Los gráficos para el marcador molecular rDNA18S se muestran en las Figuras A20 y A21 del Anexo. En base al marcador molecular ITS, se determinó que para ambos suelos y para todos los tratamientos aplicados, la Rr fue baja, la Di fue alta y la OF fue media, de acuerdo a los rangos de clasificación de Marzorati y col. (2008) (Tabla A6, Anexo). Por lo tanto, los parámetros ecológicos obtenidos promediando los datos de todos los tiempos de incubación, para los microcosmos del suelo semiárido y árido se incluyeron en las Figuras 14 y 15, respectivamente, donde se intentaron determinar diferencias cuantitativas dentro de cada rango.

La Rr presentó su valor más bajo en las muestras control sin tratamiento (s/t) del suelo semiárido, en todos los tratamientos aplicados la Rr tuvo un valor mayor, indicando que el agua agregada en todos los tratamientos pudo haber influenciado este parámetro. Sin embargo, en el suelo árido, el control (s/t) y el tratamiento con pulsos de agua (H<sub>2</sub>O(14)) presentaron un valor similar. En cuanto a la OF, las muestras del suelo semiárido correspondientes al control sin tratamiento (s/t) y

tratadas con nitrógeno reactivo (Nr), presentaron el menor valor; el aparente aumento de la OF podría deberse al efecto de los tratamientos (Tabla A6, Anexo), o ser consecuencia de cambios sucesionales debidos a la incubación. Por el contrario, las muestras del suelo árido presentaron un valor similar en todos los casos. Finalmente, la Di muestra que se produjo un cambio entre los controles y los tratamientos aplicados, para ambos tipo de suelos, obteniéndose valores mayores de Di en las muestras tratadas (Figuras 14 y 15).



**Figura 14.** Parámetros ecológicos calculados en base a los perfiles de TRFLP del marcador molecular ITS durante el tiempo de incubación de los microcosmos del suelo semiárido (S). Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H2O(14)); agua al inicio de la incubación (H2O); solución ácida al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio al inicio de la incubación (Nr); solución ácida de nitrato de amonio al inicio de la incubación (NrAc). La riqueza ponderada por el rango (Rr) está representada por el diámetro de los círculos.



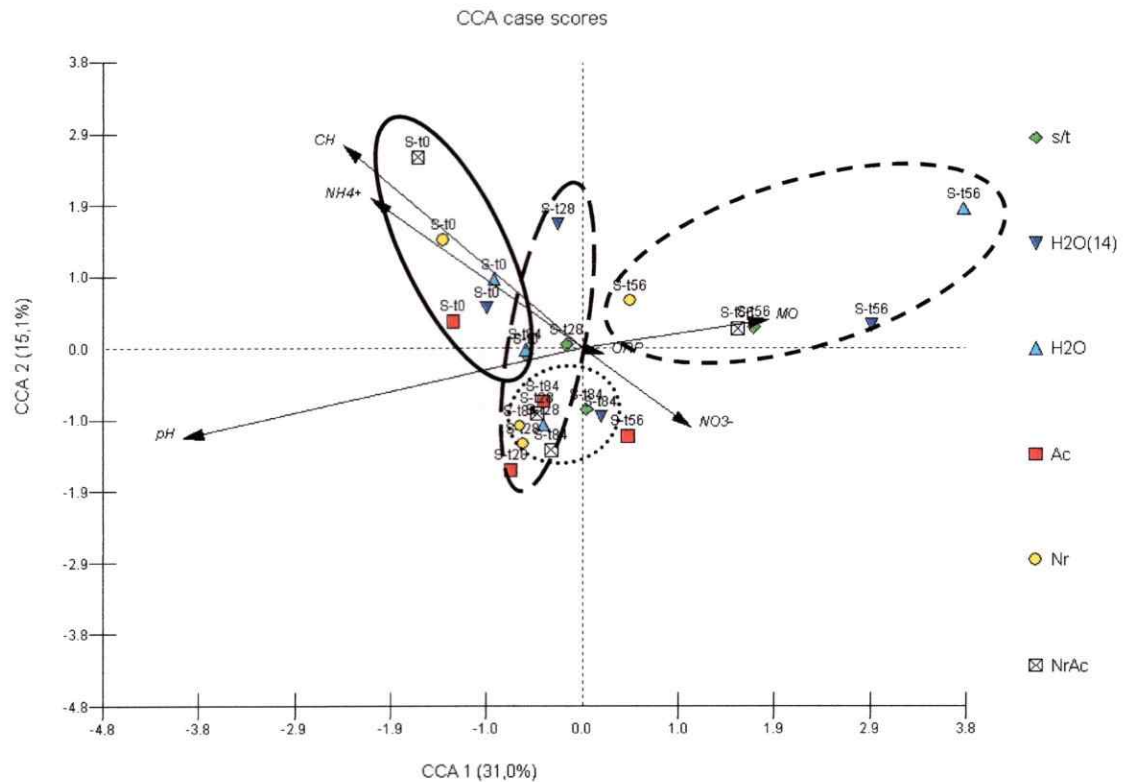
**Figura 15.** Parámetros ecológicos calculados en base a los perfiles de TRFLP del marcador molecular ITS durante el tiempo de incubación de los microcosmos del suelo árido (A). Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H<sub>2</sub>O(14)); agua al inicio de la incubación (H<sub>2</sub>O); solución ácida al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio al inicio de la incubación (Nr); solución ácida de nitrato de amonio al inicio de la incubación (NrAc). La riqueza ponderada por el rango (Rr) está representada por el diámetro de los círculos.

### 3.3.5. Análisis de correspondencia canónica por tipo de suelo

Debido a que el análisis de agrupamiento y los parámetros ecológicos dieron indicio de posibles sucesiones temporales que se van produciendo durante la incubación de los diferentes microcosmos, se realizaron nuevos análisis de correspondencia para intentar corroborar dicho comportamiento y a su vez dilucidar qué variables ambientales lo determinan. Para evitar la influencia del tipo de suelo evidenciada en los CCAs de las Figuras 12 y 13 (Sección 3.3.3.) se analizaron por separado los datos obtenidos para cada tipo de suelo. Los CCAs obtenidos con el marcador molecular rDNA18S para los suelos semiárido y árido se encuentran en las Figura A22, Tabla A8 y Figura A23, Tabla A9 del Anexo, respectivamente.

El CCA de los TRFs obtenidos con el marcador molecular ITS para las muestras de los microcosmos del suelo semiárido (Figura 16; Tabla 8), evidencia una tendencia a que las muestras de los diferentes tratamientos se agrupan de acuerdo al tiempo de incubación de los microcosmos, confirmando una posible sucesión temporal de las comunidades fúngicas. Cabe destacar que en este análisis tampoco se observó una influencia de los tratamientos en cuanto a la distribución de las muestras.

Ambos ejes canónicos explican el 46,1% de la varianza de los datos (CCA1 31,0%; CCA2 15,1%) y las variables que determinaron la separación son el pH (CCI -0,910;  $p$ : 0,001) a lo largo del primer eje canónico y el CH (CCI 0,621) a lo largo del segundo eje canónico. Las muestras de los tiempos iniciales de incubación ( $t_0$  y  $t_{28}$ ) se separan a lo largo del segundo eje canónico, las de los 56 días de incubación ( $t_{56}$ ) a lo largo del segundo eje canónico y las del tiempo final de incubación ( $t_{84}$ ) forman el grupo más definido. Como en los casos anteriores, tanto el primer eje canónico como la suma de todos los ejes canónicos, fueron estadísticamente significativos ( $p$ : 0,001).



**Figura 16.** Análisis de correspondencia canónica entre los perfiles de TRFLP del marcador molecular ITS y los factores edáficos medidos durante el tiempo de incubación de los microcosmos del suelo semiárido (S). Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H2O(14)); agua al inicio de la incubación (H2O); solución ácida al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio al inicio de la incubación (Nr); solución ácida de nitrato de amonio al inicio de la incubación (NrAc). Tiempos: 0 días de incubación (t0); 28 días de incubación (t28); 56 días de incubación (t56); 84 días de incubación (t84). Variables edáficas: pH; potencial de óxido reducción (ORP); Contenido hídrico (CH); materia orgánica (MO); contenido de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>); contenido de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). La línea continua encierra las muestras del t0; la línea con guiones largos las del t28; la línea con guiones cortos las del t56 y la línea punteada las del t84.

**Tabla 8.** Coeficientes de correlación intragrupo (CCI) de las variables edáficas (VE) y los dos primeros ejes del ordenamiento de los TRFLP del marcador molecular ITS, en los microcosmos del suelo semiárido.

VE <sup>a</sup>	CCI		<i>p</i>	F
	CCA1	CCA2		
pH <sup>*</sup>	-0,910	-0,275	0,001	13,55
ORP	0,049	-0,019	0,835	0,58
CH	-0,546	0,621	0,164	1,40
MO	0,424	0,088	0,368	1,05
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-0,482	0,457	0,829	0,59
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,249	-0,243	0,479	0,92
1° eje canónico <sup>*</sup>			0,001	10,85
Suma de los ejes canónicos <sup>*</sup>			0,001	2,93

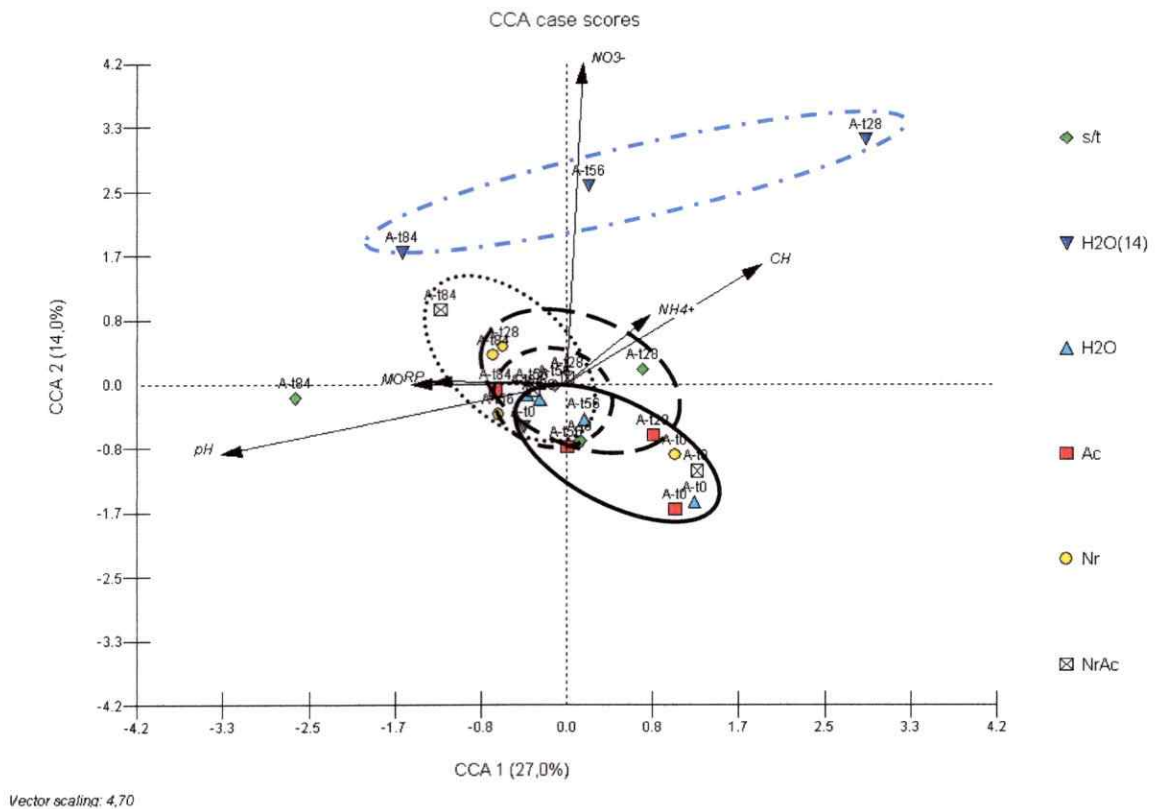
\* Relaciones estadísticamente significativas entre las variables edáficas y el agrupamiento de las muestras según el análisis de MonteCarlo con 1000 permutaciones de la matriz (Programa Canoco).

<sup>a</sup> pH; potencial de óxido reducción (ORP); contenido hídrico (CH); materia orgánica (MO); contenido de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>); contenido de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>).

Por otra parte, en el CCA de los TRFs obtenidos con el marcador molecular ITS para las muestras de los microcosmos del suelo árido (Figura 17; Tabla 9), también se observa una cierta tendencia a que las muestras de los diferentes tratamientos se agrupen de acuerdo al tiempo de incubación de los microcosmos, aunque la separación es menos clara que para las muestras del suelo semiárido. Sin embargo, también se reflejó la influencia del tratamiento con pulsos de agua cada 14 días (H<sub>2</sub>O(14)) a lo largo de la incubación de los microcosmos correspondientes.

Ambos ejes canónicos explican el 41,0% de la varianza de los datos (CCA1 27,0%; CCA2 14,0%) y las variables que influyeron en el ordenamiento fueron el pH (CCI -0,715; *p*: 0,001) y el CH (CCI 0,404; *p*: 0,040) a lo largo del primer eje canónico y el contenido de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (CCI 0,890) a lo largo del segundo eje

canónico. Las muestras tratadas con pulsos de agua (H2O(14)) se separaron entre ellas a lo largo del primer eje canónico y de las muestras del resto de los tratamientos a lo largo del segundo eje canónico. En este caso, como en los anteriores, tanto el primer eje canónico como la suma de todos los ejes canónicos, fueron estadísticamente significativos ( $p: 0,001$ ).



**Figura 17.** Análisis de correspondencia canónica entre los perfiles de TRFLP del marcador molecular ITS y los factores edáficos medidos durante el tiempo de incubación de los microcosmos del suelo árido (A). Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H2O(14)); agua al inicio de la incubación (H2O); solución ácida al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio al inicio de la incubación (Nr); solución ácida de nitrato de amonio al inicio de la incubación (NrAc). Tiempos: 0 días de incubación (t0); 28 días de incubación (t28); 56 días de incubación (t56); 84 días de incubación (t84). Variables edáficas: pH; potencial de óxido reducción (ORP); Contenido hídrico (CH); materia orgánica (MO); contenido de amonio (NH4+); contenido de nitrato (NO3-). La línea continua encierra las muestras del t0; la línea con guiones largos las del t28; la línea con guiones cortos las del t56 y la línea punteada las del t84. La línea azul encierra las muestras tratadas con pulsos de agua (H2O(14)).

**Tabla 9.** Coeficientes de correlación intragrupo (CCI) de las variables edáficas (VE) y los dos primeros ejes del ordenamiento de los TRFLP del marcador molecular ITS, en los microcosmos del suelo árido.

VE <sup>a</sup>	CCI		p	F
	CCA1	CCA2		
pH <sup>*</sup>	-0,715	-0,196	0,001	21,94
ORP	-0,280	0,007	0,410	0,98
CH <sup>*</sup>	0,404	0,330	0,040	1,66
MO	-0,321	0,000	0,313	1,11
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,173	0,191	0,830	0,65
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,034	0,890	0,185	1,26
1° eje canónico <sup>*</sup>			0,001	17,57
Suma de los ejes canónicos <sup>*</sup>			0,001	4,70

\* Relaciones estadísticamente significativas entre las variables edáficas y el agrupamiento de las muestras según el análisis de MonteCarlo con 1000 permutaciones de la matriz (Programa Canoco).

<sup>a</sup> pH; potencial de óxido reducción (ORP); contenido hídrico (CH); materia orgánica (MO); contenido de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>); contenido de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>).



## DISCUSIÓN

### 4.1. Técnicas moleculares en ecología microbiana y sus limitaciones

Los estudios comparativos de las comunidades microbianas en ambientes naturales son difíciles de realizar por la complejidad de los ensamblajes microbianos y por la falta de métodos directos para determinar su diversidad y composición. La mayor dificultad es que una gran proporción de microorganismos son difíciles de aislar y cultivar en laboratorio, se estima que menos del 1% son cultivables (Amman y col. 1995; Blackwood y col. 2003), entregando una visión sesgada de la diversidad biológica presente en ambientes naturales.

Para superar estas dificultades, se han desarrolladas técnicas moleculares para tipificar y cuantificar microorganismos a partir de muestras ambientales (e.g. Picard y col. 1992; Ovreås 2000; Schloter y col. 2000; Fredlund y col. 2001). Estas técnicas están basadas en el uso de marcadores moleculares que permiten rastrear la presencia de los microorganismos en una muestra ambiental.

Los resultados obtenidos indican que los marcadores moleculares rDNA18S e ITS son adecuados para determinar la composición de la comunidad fúngica presente en muestras ambientales. Sin embargo, en los estudios de comunidades microbianas, cada paso en el análisis molecular está abierto a limitaciones (Farrelly y col. 1995). El principal desafío es diseñar partidores que amplifiquen el mayor rango de grupos

taxonómicos fúngicos pero previniendo la co-amplificación de DNA eucariótico estrechamente relacionado (Anderson y Cairney 2004).

El gen que codifica para el rRNA 18S se encuentra en todos los hongos cumpliendo la misma función, tiene baja tasa de transferencia horizontal y sus secuencias poseen regiones conservadas y variables las cuales son informativas a distintos niveles taxonómicos (Hill y col. 2000). Sin embargo, a diferencia de lo que sucede con las bacterias, la identificación taxonómica de los hongos en base al rDNA18S está limitada al nivel de género o familia, ya que existe una relativa carencia de variación de este marcador entre especies fúngicas estrechamente relacionadas como resultado del corto período de evolución del reino Fungi (Hugenholtz y Pace 1996). También se han utilizado como marcadores moleculares fúngicos las regiones ribosomales intergénicas localizadas entre el gen del rRNA 18S y el del rRNA 28S, abarcando el gen del rRNA 5,8S. Estas regiones no codificantes presentan la ventaja de poseer una tasa de evolución más rápida, resultando en una mayor variación de secuencias entre especies estrechamente relacionadas (Anderson y col. 2003).

Adicionalmente a la variabilidad de cada marcador entre las diferentes especies de hongos, otro problema es la especificidad de los partidores diseñados, lo que se ve agravado por la falta de una base de datos exhaustiva de las secuencias de referencia de hongos. Existen reportes contradictorios con respecto a la especificidad de los partidores para el análisis de las comunidades fúngicas del suelo. A modo de ejemplo, los partidores EF4-EF3 parecen estar levemente sesgados para amplificar

los grupos Basidiomycota y Zygomycota cuando se compara la secuencia de los partidores con las secuencias del rDNA18S fúngicos en la base de datos (Maidak y col. 1999; Smit y col. 1999). Sin embargo, al comparar estos partidores con otros, para amplificar el rDNA18S desde muestras de un suelo agrícola, se obtuvieron proporciones relativas similares para todos los grupos fúngicos detectados (Anderson y col. 2003).

Cabe destacar que para ambos tipos de suelo los partidores utilizados para amplificar los marcadores moleculares estudiados, son considerados universales. Sin embargo ninguno de los partidores conocidos del rDNA18S ni del ITS han sido exitosos para hibridar con todas las secuencias fúngicas conocidas. Además, los productos amplificados obtenidos mediante el uso de partidores universales sólo pueden compararse con datos existentes en las bases de secuencias correspondientes, lo que representa sólo una porción del total de la diversidad de especies fúngicas.

Una aproximación para determinar la composición de microorganismos presentes en una muestra ambiental, es decir identificar los miembros de una comunidad, consiste en la amplificación de marcadores moleculares, la individualización de los amplicones por clonación y la secuenciación de los insertos para su comparación con bases de datos donde las secuencias tienen asociada una caracterización taxonómica. Para determinar la cobertura de la composición presente en una muestra ambiental que se realiza con la construcción de una genoteca hay que tener presente que el número de tipos de organismos observados aumenta con el esfuerzo de muestreo hasta que todos los tipos se observan. La relación entre el

número de tipos observados y el esfuerzo de muestreo proporciona información acerca de la diversidad total de la comunidad en la muestra, este patrón se puede visualizar mediante el trazado de curvas de rarefacción (Hughes y col. 2001). La gran variación intraespecífica del marcador molecular ITS complica la determinación de un criterio de identidad apropiado para determinar la cobertura que tuvieron las genotecas sobre la composición fúngica de cada suelo (Nilsson y col. 2008); sin embargo, un agrupamiento de secuencias con una identidad del 97% o más es una medida conservativa de la riqueza de especies fúngicas (O'Brien y col. 2005).

Por otro lado, las técnicas de *fingerprinting* o *barcoding* son utilizadas para determinar la estructura (riqueza y abundancia de filotipos) de las comunidades microbianas; en particular la técnica del TRFLP usada en este estudio ha sido utilizada en otros estudios sobre comunidades fúngicas (e.g. Klammer y col. 2002; Lord y col. 2002; Singh y col. 2006; Dickie y col. 2007; Lauber y col. 2008), sin embargo los datos obtenidos usando este método deben ser cuidadosamente interpretados. Cada TRF obtenido (representado como un pico en el electroferograma) debe ser considerado como una OTU (unidad taxonómica operacional) y no como una especie. Este sesgo puede ilustrarse con algunos hallazgos descritos en la literatura, por ejemplo, diferentes especies del género fúngico *Cortinarius* presentan el mismo perfil de RFLP con dos enzimas de restricción (Kårén y col. 1997); asimismo, aislados de la misma especie del género *Pisolithus* presentaron diferentes perfiles de RFLP (Hitchcock y col. 2003). El uso de varias combinaciones de enzimas de restricción es la estrategia más utilizada para

disminuir este sesgo (Clement y col. 1998; Marsh y col. 2000; Dunbar y col. 2001; Blackwood y col. 2003; Conn y Franco 2004). Sin embargo, el uso de dos enzimas de restricción diferentes para digerir los amplicones de una misma muestra puede generar resultados contrastantes (e.g. Klamer y col. 2002). Así, la ausencia de un TRF no necesariamente confirma la ausencia de una especie (Dickie y col. 2002) ni la presencia de un TRF garantiza la presencia de una especie, ya que se ha demostrado incluso la presencia de pseudo-TRFs (Egert y Friedrich 2003). Además, se debe considerar que en el proceso de estandarización de los datos, los TRFs con baja fluorescencia son eliminados del análisis ya que ellos generalmente representan el ruido de la técnica. El análisis se realiza con los TRFs con alta fluorescencia ya que éstos son los TRFs reproducibles. No obstante, la estandarización podría eliminar TRFs reales que se encuentran poco representados en la muestra, ya que ellos se encuentran en el límite de discriminación del método (Dunbar y col. 1999). Limitaciones aparte, el TRFLP es una técnica muy poderosa en particular para la comparación entre muestras (e.g. desde diferentes localidades, sometidas a diferentes tratamientos, entre otros) (Liu y col. 1997; Marsh 1999).

#### **4.2. Composición fúngica en las muestras de suelo**

Los hongos desempeñan funciones importantes y diversas en los ecosistemas terrestres, participando en muchos de los procesos claves para el funcionamiento de éstos. Ellos son importantes agentes descomponedores de la materia orgánica (Dix y Webster 1995) y establecen interacciones con la biota como simbiontes micorrícicos

de plantas (Smith y Read 1997) y como patógenos de plantas y animales (San-Blas y Calderone 2008), entre otros roles. Por lo tanto, los hongos poseen la capacidad de controlar los flujos de nutrientes en los ecosistemas naturales, los que podrían estar facilitados a través de la extensa red subterránea de micelio fúngico (Collins y col. 2008; Green y col. 2008). A pesar de su importancia en los ecosistemas terrestres, poco se sabe de la diversidad de las poblaciones fúngicas; algunas estimaciones indican que 1,5 millones de especies de hongos están presentes en los ecosistemas naturales, pero sólo un 5-10% se han descrito formalmente (Hawksworth 2001).

Tanto para el suelo árido como para el semiárido, considerando el criterio del 97% de identidad se logró al menos una cobertura del 50% de la composición fúngica de cada suelo. Si se comparan las coberturas de las genotecas obtenidas con marcadores de la comunidad fúngica con aquellas obtenidas en genotecas obtenidas con marcadores moleculares bacterianos, en los mismos suelos árido y semiárido, se puede observar que las bacterias son más diversas que los hongos en ambos tipos de suelo (Orlando 2008; Espinosa 2010), mientras que las arqueas parecen ser los organismos menos diversos (González 2011). Las curvas de rarefacción de las genotecas bacterianas no exhiben una tendencia a alcanzar el valor asintótico, indicando que hay una importante diversidad no detectada y el nivel de cobertura estimado fue de aproximadamente el 10% (Espinosa 2010), para las arqueas se estimó una cobertura promedio de 80% analizando un número similar de secuencias (González y col. 2011). El nivel de diversidad inferido para los diferentes grupos microbianos obtenidos en estos suelos presenta el mismo patrón predicho por Fierer y

col. (2007) desde muestras de suelos de bosque, pradera y desierto. La aparentemente menor contribución de las comunidades fúngicas a la diversidad de las comunidades microbianas de estos suelos, en comparación a las bacterias, puede deberse a la baja concentración de materia orgánica y a la ausencia de polímeros complejos derivados de plantas (Bates y col. 2010).

Por su parte, el marcador ITS reveló mayor diversidad de filotipos, dando cuenta de que las genotecas obtenidas tienen menor cobertura cuando se usa este marcador, lo cual puede deberse a la mayor variabilidad esperable para este marcador molecular (Anderson y col. 2003). Los datos obtenidos para este marcador indican que la diversidad esperada en el suelo árido es mayor que en el suelo semiárido. Herrera y col. (1997), Zhou y col. (2002), Chesson y col. (2004) y Zak (2005) proponen que esta mayor diversidad en suelos áridos puede deberse a las condiciones más heterogéneas de los ecosistemas desérticos (e.g. variabilidad en el régimen de precipitaciones que controlan los ciclos del carbono y del nitrógeno, heterogeneidad espacial del suelo, distribución en parches de plantas y costras biológicas, entre otros).

Al analizar la distribución de las secuencias fúngicas en los diferentes grupos taxonómicos, la principal diferencia entre los tipos de suelo fue la detección, sólo al utilizar el marcador molecular rDNA18S, de representantes de las divisiones Zygomycota y Glomeromycota en el suelo semiárido, pero en muy baja proporción (1%-2%). Esto es esperable dado que la mayoría de estos hongos forman simbiosis micorrícicas con plantas (Smith y Read 1997) y por lo tanto no deberían ser

abundantes en este tipo de ambientes. Además, se detectó la presencia de hongos de la división Chytridiomycota en ambos tipos de suelo, al utilizar el marcador molecular rDNA18S, pero en una baja proporción (11% y 17% para suelo semiárido y árido, respectivamente). Este resultado concuerda con la baja representatividad que tienen los quitridiomycetes en suelo (Smit y col. 1999).

Además, se observaron dos tendencias generales para ambos suelos y con los dos marcadores utilizados. En primer lugar, existe en todos los casos una dominancia de los hongos de la división Ascomycota. Aunque la mayoría de los estudios de diversidad fúngica se realizaron en suelos agrícolas, algunos estudios realizados en ambientes áridos corroboran estos resultados. Utilizando técnicas de aislamiento dependientes de cultivo, States y Christensen (2001) encontraron que los ascomicetes representaron un 98% de las 58 especies fúngicas aisladas en desiertos de Norteamérica; mientras que Grishkan y col. (2006) encontraron que representantes de esta división alcanzaron un 95% de las 86 especies de hongos aisladas desde el Desierto de Negev. Por su parte, utilizando técnicas moleculares independientes de cultivo, Bates y col. (2010) determinaron que un 91% de los filotipos estuvieron asociados a secuencias de ascomicetes en suelos semiáridos de Norteamérica; mientras que en el Desierto de Chihuahua, Green y col. (2008) encontraron que un 83,3% de las secuencias se relacionaron con este grupo. La dominancia de los ascomicetes también se observa en suelos de cultivo y pastizales, sin embargo en suelos de plantaciones de pino y bosque mixto los basidiomicetes y ascomicetes se encuentran igualmente representados (Lauber y col. 2008) (Tabla A10; Anexo).



La otra observación general corresponde a la alta representación de secuencias fúngicas relacionadas al orden Pleosporales, que típicamente presentan hifas de pigmentación oscura o esporas (e.g. grupo de los Dematiaceous) que les permiten soportar las adversas condiciones de los sistemas áridos (e.g. alta radiación solar, temperaturas extremas, desecación y escasez de nutrientes, entre otros). Además, algunos hongos de este orden se encuentran normalmente asociados a las raíces de los pastos de ambientes áridos y en las cercanías de las costras biológicas (Green y col. 2008; Porras-Alfaro y col. 2008), lo que hace pensar que son estos hongos los que juegan el importante papel de mediar el intercambio de nutrientes entre las plantas vasculares y las costras biológicas en los ecosistemas áridos (Collins y col. 2008; Green y col. 2008).

#### **4.3. Estructura fúngica en las muestras de suelo de los microcosmos**

Al analizar los perfiles de TRFLP para caracterizar la estructura de las comunidades fúngicas de los suelos áridos estudiados, se observó que independientemente de si se analizan a nivel de la riqueza (dendrogramas), o considerando tanto la riqueza como la abundancia (CCAs), las muestras de los microcosmos se separaron de acuerdo al tipo de suelo, independientemente de los tratamientos aplicados. Cabe destacar la gran similitud de las comunidades fúngicas sometidas a los diferentes tratamientos, siendo esto más notable en el caso del suelo árido. Esto concuerda con la suposición de que las comunidades microbianas que experimentan episodios de estrés regulares son más tolerantes a las perturbaciones

que las comunidades no sometidas a tales episodios, sugiriendo una selección de organismos con mecanismos de tolerancia efectivos (van Gestel y col. 1993; Fierer y col. 2003; Steenwerth y col. 2005).

Así, se pudo determinar que los efectos de los tratamientos sobre las comunidades fúngicas del suelo fueron menores que las diferencias entre los tipos de suelo. Más aún los factores edáficos que, utilizando ambos marcadores moleculares, influenciaron estos agrupamientos fueron los mismos: el pH y la MO, los cuales permitieron la diferenciación de ambos suelos. Estos resultados son consistentes con otros estudios que muestran que el régimen de humedad puede influir sobre la estructura de las comunidades microbianas, pero que las diferencias entre tipos de suelo y hojarasca son a menudo mayores en magnitud que cualquier efecto de factores abióticos como la humedad (Lundquist y col. 1999; McLean y Huhta 2000; Wilkinson y col 2002; Guevara 2007; González 2011). Hay varios factores que permiten explicar las diferencias entre las comunidades microbianas de ambos suelos. Entre ellos, están las diferencias en las condiciones abióticas del suelo, tales como temperatura (Zogg y col. 1997; Pietikäinen y col. 2005; Bárcenas-Moreno y col. 2009; Dang y col. 2009) y humedad (Bossio y Scow 1998; Schimel y col. 1999; Wilkinson y col. 2002; Williams y col. 2007), las cuales se ha visto que influyen sobre la estructura de la comunidad microbiana. Los suelos semiáridos son, en promedio, más fríos y húmedos que los suelos áridos debido a la sombra de la cobertura vegetal y a la capa de hojarasca (Parker y Muller 1982; Helfrich y col. 2008; Trinder y col. 2009; Aponte y col. 2010). La estructura de la comunidad

microbiana también depende de la disponibilidad y calidad de la materia orgánica y el estado nutricional del suelo (Ovreas y Torsvik 1998; Griffiths y col. 1999; Bastida y col. 2008; Eskelinen y col. 2009). Estas diferencias podrían también deberse a las diferencias en pH de ambos suelos, lo que puede influir indirectamente en la forma química, la concentración y la disponibilidad de nutrientes (Kemmit y col. 2006).

A escala ecosistémica “estrés” se considera usualmente como un cambio crónico (e.g. toxinas, sequía, etc) el cual tiene costos fisiológicos, mientras que “perturbación” se considera un evento de pulso que involucra alteración física y mortalidad directa (e.g. fuego, tormentas, cosechas, etc). A escala microbiana la distinción es menos clara y ante una perturbación a escala ecosistémica, que puede alterar por ejemplo el microclima y los recursos de la microbiota, en la respuesta microbiana prevalecen los cambios fisiológicos (Austin y col. 2004; Schimel y col. 2007). Sin embargo, a nivel de las comunidades bacterianas, y en menor proporción en las comunidades arqueales, también se han determinado cambios a nivel de la estructura genética ante una perturbación. A modo de ejemplo, se determinó que estas comunidades pueden cambiar su estructura por efecto de cambios en la disponibilidad de agua (Zhou y col. 2002; Drees y col 2006; Espinosa 2010; González 2011), en el pH (Fierer y Jackson 2006; Baker y col. 2009; Lauber y col. 2009) y en el contenido de nitrógeno (Evans y Belnap 1999; Hooper y Johnson 1999; Adams 2003).

En este trabajo se buscó establecer si estos factores abióticos que afectan la química del suelo y a las comunidades bacteriana (Espinosa 2010) y arqueal (González 2011), tienen algún efecto sobre la estructura de las comunidades fúngicas

de los suelos árido y semiárido en estudio. Sin embargo, las comunidades fúngicas parecen ser más resilientes o resistentes (Allison y Martiny 2008) a cambios en los factores abióticos. Para citar algunos ejemplos, se puede mencionar que Bapiri y col. (2010) no observaron ningún efecto de los ciclos de sequía-precipitación sobre el crecimiento fúngico, mientras que el crecimiento bacteriano se vio severamente reducido; esto puede deberse a que los hongos suelen presentar más resistencia que otros microorganismos al estrés hídrico (Harris 1981), por lo que los ciclos de sequía-precipitación promueven la selección de comunidades compuestas por estos microorganismos más resistentes a la deshidratación (Schimel y col. 1999; Nazih y col. 2001). Por su parte, Rousk y col. (2010) observaron un comportamiento similar de las comunidades microbianas por efecto del pH y concluyeron que la aparentemente más fuerte influencia del pH sobre la composición de la comunidad bacteriana es probablemente debido a los estrechos rangos de pH óptimo para el crecimiento de las bacterias (Rosso y col. 1995; Fernández-Calviño y Bååth 2010), mientras que la influencia más débil del pH sobre la composición de la comunidad de hongos es consistente con los estudios de cultivo puro que demuestran que los hongos presentan un rango de pH más amplio para un crecimiento óptimo (Wheeler y col. 1991; Nevarez y col. 2009). Asimismo, en un estudio comparando las comunidades fúngicas en parcelas fertilizadas y no fertilizadas con nitrógeno, los índices de diversidad no mostraron diferencias significativas aunque se observaron algunos cambios en la estructura comunitaria, lo que pudo deberse a un diferente nivel de manejo agrícola (Bapiri y col. 2010). Además hay antecedentes que indican que la

deposición de nitrógeno disminuye la diversidad de hongos ectomicorrícicos (Lilleskov y col. 2001; 2002), pero dado que ellos fueron detectados en baja proporción en estos suelos, es esperable que no se hayan observado cambios.

En un análisis posterior se compararon los parámetros ecológicos riqueza ponderada por el rango (Rr), organización funcional (OF) y dinámica (Di) que fueron recientemente descritos para caracterizar comunidades microbianas basadas en datos de “DNA *fingerprinting*” (Marzorati y col. 2008). La Rr tiene relación con la capacidad de carga de un ambiente, la cual está directamente relacionada con la disponibilidad de recursos. Si un ambiente es muy habitable puede albergar una gran cantidad de microorganismos diferentes; por otro lado, si el ambiente es adverso o exclusivo, menos microorganismos serán parte de la comunidad microbiana. Por lo tanto, cuanto mayor es la capacidad de carga de un ambiente, mayor será la probabilidad de que puede alojar un gran número de TRFs diferentes. Una Rr baja (<10) se puede atribuir a ambientes particularmente adversos o con una colonización restringida (e.g. suelo contaminado, fuente hidrotermal, etc); ambientes con capacidad de carga media presentan valores de Rr entre 10 y 30; mientras que una Rr >30 es típica de ambientes muy habitables y que se caracterizan por una alta diversidad microbiana (e.g. lodos activados, rizósfera, etc).

Por otra parte, la OF es el reflejo de la acción de los microorganismos que están más adecuados a las interacciones ambiente-microorganismo y por esta razón tienden a ser dominantes en la estructura comunitaria. Cuanto más alta la OF, menos equitativa es una comunidad y por lo tanto unos pocos TRFs representan a la mayoría

de la comunidad. Para abordar la relación entre funcionalidad y estructura de la comunidad, Fernández y col. (2000) observaron el comportamiento de diferentes comunidades microbianas ante una perturbación, llegando a la conclusión de que la estabilidad de las funciones no implica necesariamente la estabilidad de las estructuras comunitarias. A partir de esto se ha sugerido que la conservación de una función dada se debe a la flexibilidad de una comunidad microbiana cuyos miembros minoritarios pueden llegar a ser dominantes en un período corto después de una perturbación significativa. Esta condición asegura una rápida recuperación ante una condición de estrés debido a la presencia de redundancia funcional (Fernández y col. 2000). Por lo tanto, es posible definir la OF como la capacidad de la comunidad de organizarse para conservar la funcionalidad aún ante una perturbación. En términos ecológicos una OF baja (<25%) representa una comunidad con alta equitatividad, lo que puede resultar de una falta de presión selectiva, y ya que no hay TRFs dominantes puede ser necesaria una fase de latencia relativamente larga para contrarrestar una perturbación. Una OF media (>25% y <60%) indica que los microorganismos más adaptados son dominantes, mientras que la mayoría está presente en cantidades más bajas. Debido a la dominancia de algunos microorganismos, y a la disponibilidad de muchos otros, la comunidad potencialmente puede hacer frente a las cambiantes condiciones del ambiente y preservar su funcionalidad. Por último, una OF alta (>60%) representa una comunidad especializada en la cual unas pocas especies microbianas son dominantes y todas los demás están presentes en pequeñas cantidades, con una gran diferencia

entre los dos grupos. Esta comunidad puede ser muy organizada funcionalmente, pero es frágil ante una perturbación porque puede requerir más tiempo de recuperación.

Por su parte la Di se puede interpretar como el número de TRFs detectables en un hábitat determinado, durante un intervalo de tiempo definido. Cuantos más TRFs aparezcan o desaparezcan comparando dos tiempos consecutivos, mayor será la dinámica. Una Di baja (<5%) indica que la comunidad es muy cerrada, restringiendo la aparición de nuevos microorganismos; una Di media (>5% y <15%) indica que nuevos microorganismos son capaces de hacerse dominantes en la comunidad, pero sin interferir con la funcionalidad del sistema; finalmente, una Di alta (>15%) revela que varios microorganismos aparecen y desaparecen de la comunidad, probablemente causando la pérdida de coherencia global.

Las comunidades fúngicas de ambos suelos presentaron parámetros ecológicos dentro de los mismos rangos independientemente de los tratamientos aplicados. Por lo tanto se graficaron los diferentes parámetros para intentar determinar diferencias más cuantitativas que cualitativas dentro de cada rango. Sin embargo, los valores son muy similares y las pequeñas diferencias se anulan al considerar los errores estándares. La Rr estuvo dentro del rango bajo, lo que da cuenta de la baja capacidad de carga de los ambientes áridos debido principalmente a la escasez de recursos y a la baja disponibilidad de agua (Austin y col. 2004; Otter y Scholes 2005), congruente con ello los microcosmos sin tratamiento presentaron la menor Rr. Sin embargo, la Rr en el suelo árido fue mayor que en el semiárido, en congruencia con la mayor diversidad presente en el primero, respaldando lo postulado

por Zhou y col. (2002) que indica que en estos suelos con un menor contenido de carbono, las poblaciones microbianas podrían evitar la competencia al permanecer aisladas y en bajo número, usando unos recursos que son escasos pero, probablemente, heterogéneos. Con respecto a la OF ambos suelos presentaron valores dentro del rango medio, por lo que las comunidades fúngicas de estos suelos pueden enfrentarse a condiciones ambientales estresantes y preservar potencialmente su funcionalidad, considerando la probabilidad de redundancia funcional (Wolters y col. 2000; Allison y Martiny 2008). Por último, la dinámica fue alta en ambos suelos, lo que revela que a lo largo de la incubación de los microcosmos unos TRFs son reemplazados por otros, sugiriendo que se produce una sucesión de poblaciones que permitieron mantener la Rr y la OF relativamente estables.

Esta sucesión de poblacionales se visualiza al realizar un análisis de CCA por tipo de suelo, detectándose una separación de las muestras por efecto del tiempo de incubación. Estas sucesiones pueden haberse desencadenado por las perturbaciones que sufrieron los micro-ambientes antes de la aplicación de los tratamientos (e.g. toma de muestra, tamizado de la muestras, homogenización, etc.), los cuales podrían provocar una disrupción de la estructura de la comunidad fúngica. Hay evidencia de que eventos que desorganizan la estructura del suelo (e.g. cosecha, trilla, deforestación, etc) podrían afectar principalmente a los hongos al romper o dañar su estructura micelial (Hu y col. 1995; Frey y col. 1999; Guggenberger y col. 1999; Scheller y Joergensen 2008) y no así a las bacterias o arqueas que están presentes como células individuales. También a través de este nivel de análisis se pudo



observar la influencia del tratamiento de pulsos de agua solo en el suelo árido. Una explicación a la ausencia de cambios en la diversidad fúngica en los suelos semiáridos frente a la adición de agua, podría ser que el mayor contenido hídrico inicial observado en estos suelos, produciría una baja diversidad ya que mantendría en contacto los potenciales microhábitats. De acuerdo a esto, un incremento en el contenido hídrico mantendría así el mismo nivel de diversidad en las muestras tratadas de los suelos semiáridos (Zhou y col. 2002).

En conclusión, las investigaciones recientes sugieren que en los suelos áridos y semiáridos, el déficit de agua y el bajo contenido de materia orgánica favorecen a las comunidades fúngicas mejor adaptadas que las bacterias a estas condiciones ambientales (Collins y col. 2008). En este escenario, los hongos dominarían los procesos de descomposición y las principales transformaciones del ciclo del nitrógeno en estos suelos (McLain y Martens 2005, 2006). Por lo tanto, entender cómo está organizada la comunidad fúngica y cómo responde a las perturbaciones, permitirá determinar su papel funcional en estos suelos y ayudará a evaluar el impacto de cambios globales en los procesos de los ecosistemas áridos.

## CONCLUSIONES

- ✓ Se determinó una dominancia de los hongos de la división Ascomycota. Dentro de este grupo, se obtuvo una alta representación del orden Pleosporales, que normalmente median el intercambio de nutrientes entre las plantas vasculares y las costras biológicas en los ecosistemas áridos.
- ✓ El tipo de suelo explicó la diferenciación de las comunidades fúngicas a nivel de estructura. Los factores edáficos que influenciaron los agrupamientos fueron el pH y la materia orgánica, parámetros que diferencian ambos tipos de suelo.
- ✓ Los parámetros ecológicos indicaron una baja capacidad de carga de los ambientes áridos estudiados y que las comunidades fúngicas en ellos pueden enfrentarse a condiciones ambientales estresantes y preservar potencialmente su funcionalidad.
- ✓ La aplicación de los tratamientos con pulsos de agua y nitrógeno en condiciones ácidas no provocó una mayor perturbación en la estructura de las comunidades fúngicas de los microcosmos estudiados, observándose solo cierta influencia de los pulsos de agua sobre la estructura de la comunidad fúngica del suelo árido.
- ✓ El efecto que tuvo la incubación por sí misma sobre la estructura genética de las comunidades fúngicas, sugiere que la perturbación de la estructura del suelo producida por la construcción de los microcosmos podría afectar la diversidad de la comunidad de hongos al romper o dañar su estructura micelial.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aber JD, JM Melillo, KJ Nadelhoffer, J Pastor, RD Boone.** 1991. Factors controlling nitrogen cycling and nitrogen saturation in northern temperate forest ecosystems. *Ecol. Applic.* 1:303-315.
- Adams MB.** 2003. Ecological issues related to N deposition into natural ecosystems: research needs. *Environ. Internat.* 29:189-199.
- Alexopoulos CJ, CW Mims, M Blackwell.** 1996. *Introductory Mycology* (4th Ed.). John Wiley and Sons, New York, USA. 868p.
- Allison SD y JBH Martiny.** 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105:11512-11519.
- Altschul SF, TL Madden, AA Schäffer, J Zhang, Z Zhang, W Miller, DJ Lipman.** 1997. Gapped BLAST y PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402.
- Amman R, W Ludwig, K Schleifer.** 1995. Phylogenetic Identification and In Situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:754-762.
- Anderson IC, JWG Cairney.** 2004. Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques. *Environ. Microbiol.* 6:769-779.
- Anderson IC, CD Campbell, JI Prosser.** 2003. Potential bias of fungal 18S rDNA and internal transcribed spacer polymerase chain reaction primers for estimating fungal biodiversity in soil. *Environ. Microbiol.* 5:36-47.
- Aponte C, García LV., Marañón T, Gardes M.** 2010. Indirect host effect on ectomycorrhizal fungi: Leaf fall and litter quality explain changes in fungal communities on the roots of co-occurring Mediterranean oaks. *Soil Biol. Biochem.* 42:788-796.
- Austin AT, L Yahdjian, JM Stark, J Belnap, A Porporato, U Norton, DA Ravetta, SM Schaeffer.** 2004. Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems. *Oecologia* 141:221-235.

- Baker KL, S Langenheder, GW Nicol, D Ricketts, K Killham, CD Campbell.** 2009. Environmental and spatial characterisation of bacterial community composition in soil to inform sampling strategies. *Soil Biol. Biochem.* 41: 2292-2298.
- Bastida F, E Kandeler, JL Moreno, M Ros, C García, T Hernández.** 2008. Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. *Appl. Soil Ecol.* 40:318-329.
- Bates ST, F Garcia-Pichel, TH Nash III.** 2010. Fungal components of biological soil crusts: insights from culture-dependent and culture-independent studies. *Bibl. Lichenol.* 105:197-210.
- Bapiri A, E Bååth, J Rousk.** 2010. Drying–rewetting cycles affect fungal and bacterial growth differently in an arable soil. *Microbial Ecol.* 60:419-428.
- Bárcenas-Moreno G, M Gómez-Brandón, J Rousk, E Bååth.** 2009. Adaptation of soil microbial communities to temperature: comparison of fungi and bacteria in a laboratory experiment. *Glob. Change Biol.* 15:2950-2957.
- Bewley RJ, G Stotzky.** 1983. Effects of combinations of simulated acid rain and cadmium or zinc on microbial activity in soil. *Environ. Res.* 31:332-339.
- Blackwood C, T Marsh, K Sang-Hoon, P Eldor.** 2003. Terminal restriction fragment length polymorphism data analysis for quantitative comparison of microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:926-932.
- Bossio DA, KM Scow.** 1998. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. *Microb. Ecol.* 35:265-278.
- Bothe H, G Jost, M Schloter, BB Ward, KP Witzel.** 2000. Molecular analysis of ammonia oxidation and denitrification in natural environments. *FEMS Microbiol. Rev.* 24:673-690.
- Bottner P.** 1985. Response of microbial biomass to alternate moist and dry conditions in a soil incubated with <sup>14</sup>C y <sup>15</sup>N-labelled plant material. *Soil. Biol. Biochem.* 17:329-337.
- Brown JH, TJ Valone, CG Curtin.** 1997. Reorganization of an arid ecosystem in response to recent climate change. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:9729-9733.
- Bustamante M.** 2010. Efecto de la disponibilidad de agua sobre la diversidad de bacterias oxidadoras de amonio de suelos áridos. Memoria de Título Ingeniería en Biotecnología. pp. 64.

- Calbrix R, L Laval, S Barray.** 2005. Analysis of the potential functional diversity of the bacterial community in soil: a reproducible procedure using sole-carbon-source utilization profiles. *Eur. J. Soil Biol.* 41:11-20.
- Charney J, PH Stone, WJ Quirk.** 1975. Drought in the Sahara: A biogeophysical feedback mechanism. *Science* 187:434-435.
- Chesson P, RLE Gebauer, S Schwinning, N Huntly, K Wiegand, MSK Ernest, A Sher, A Novoplansky, JF Weltzin.** 2004. Resource pulses, species interactions, and diversity maintenance in arid and semi-arid environments. *Oecologia* 141:236-253.
- Clement BG, LE Kehl, KL DeBord, CL Kitts.** 1998. Terminal restriction fragment patterns (TRFPs), a rapid, PCR-based method for the comparison of complex bacterial communities. *J. Microbiol. Meth.* 31:135-142.
- Collins SL, RL Sinsabaugh, C Crenshaw, LE Green, A Porras-Alfaro, M Stursova, LH Zeglin.** 2008 Pulse dynamics and microbial processes in aridland ecosystems. *J. Ecol.* 96:413-420.
- Conn VM, CMM Franco.** 2004. Effect of microbial inoculants on the indigenous actinobacterial endophyte population in the roots of wheat as determined by terminal restriction fragment length polymorphism. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:6407-6413.
- Cooke RC, JM Whipps.** 1993. *Ecophysiology of Fungi.* Blackwell Scientific Pub., London, U.K.
- Cordova-Kreylos AL, Y Cao, PG Green, HM Hwang, KM Kuivila, MG Lamontagne.** 2006: Diversity, composition, and geographical distribution of microbial communities in California salt marsh sediments, *Appl. Environ. Microbiol.* 72:3357-3366.
- Dang KD, M Schindler, E Chauvet.** 2009. Temperature oscillation coupled with fungal community shifts can modulate warming effects on litter decomposition. *Ecology* 90:122-131.
- Dickie IA, B Xu, RT Koide.** 2002. Vertical distribution of ectomycorrhizal hyphae in soil as shown by T-RFLP analysis. *New Phytol.* 156: 527-535.
- Dickie IA, RG FitzJohn.** 2007. Using terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) to identify mycorrhizal fungi: a methods review. *Mycorrhiza* 17:259-270.
- Dix NJ, JW Webster.** 1995. *Fungal Ecology.* Capman and Hall. London, U.K.

- Drees KP, JW Neilson, JL Betancourt, J Quade, DA Henderson, BM Pryor, RM Maier.** 2006. Bacterial community structure in the hyperarid core of the Atacama desert, Chile. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:7902-7908.
- Dunbar J, S Takala, SM Barns, JA Davis, CR Kuske.** 1999. Levels of bacterial community diversity in four arid soils compared by cultivation and 16S rRNA gene cloning. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:1662-1669.
- Dunbar J, LO Ticknor, CR Kuske.** 2001. Phylogenetic specificity and reproducibility and new method for analysis of terminal restriction fragment profiles of 16SrRNA genes from bacterial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:190-197.
- Egert M, MW Friedrich.** 2003. Formation of pseudoterminal restriction fragments, a PCR-related bias affecting terminal restriction fragment length polymorphism analysis of microbial community structure. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 2555-2562.
- Ehleringer JR.** 2001. Productivity of deserts, p. 345-362. In HA Mooney, J Roy (eds.), *Primary Productivity in Terrestrial Ecosystems*. Academic Press, San Diego.
- Eskelinen A, S Stark, M Männistö.** 2009. Links between plant community composition, soil organic matter quality and microbial communities in contrasting tundra habitats. *Oecologia* 161:113-123.
- Espinosa F.** 2010. Respuesta de la comunidad bacteriana total y la comunidad bacteriana metabólicamente activa frente a pulsos de precipitación e ingreso de nitrógeno reactivo ácido al suelo. Tesis de Magister en Ciencias Biológicas. pp. 92.
- Evans RD, J Belnap.** 1999. Long-term consequences of disturbance on nitrogen dynamics in an arid ecosystem. *Ecology* 80:150-160.
- UNESCO.** 1977. Soil map of the world, Africa. Publ. FAO-UNESCO, París, Francia.
- Farrelly V, FA Rainey, E Stackebrandt.** 1995. Effect of genome size and *rrn* gene copy number on PCR amplification of 16S rRNA genes from a mixture of bacterial species. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:2798-2801.
- Fernández-Calviño D, E Bååth.** 2010. Growth response of the bacterial community to pH in soils differing in pH. *FEMS Microbiol. Ecol.* 73:149-156
- Fernández AS, Hashsham SA, Dollhopf SL, Raskin L, Glagoleva O, Dazzo FB.** 2000. Flexible community structure correlates with stable community function in methanogenic bioreactor communities perturbed by glucose. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:4058-4067.

- Fierer N, R Jackson.** 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:626-631.
- Fierer N, JP Schimel, PA Holden.** 2003. Influence of drying-rewetting frequency on soil bacterial community structure. *Microb. Ecol.* 45:63-71.
- Fierer N, M Breitbart, J Nulton, P Salamon, C Lozupone, R Jones, M Robeson, RA Edwards, B Felts, S Rayhawk, R Knight, F Rohwer, RB Jackson.** 2007. Metagenomic and small-subunit rRNA analyses of the genetic diversity of bacteria, archaea, fungi, and viruses in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:7059-7066.
- Fredslund L, F Ekelund, CS Jacobsen, J Kaare.** 2001. Development and Application of a Most-Probable-Number-PCR Assay to Quantify flagellate populations in Soil samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:1613-1618.
- Frey HC, YC Zhao.** 2004. Quantification of variability and uncertainty for air toxic emission inventories with censored emission factor data, *Environ. Sci. Technol.* 38:6094-6100.
- Frey SD, ET Elliott, K Paustian.** 1999. Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. *Soil Biol. Biochem.* 31: 573-585.
- Gajardo R.** 1994. *La Vegetación Natural de Chile. Clasificación y Distribución Geográfica.* Editorial Universitaria, Santiago, Chile. 165 pp.
- Galloway JN, JD Aber, JW Erisman, SP Seitzinger, RW Howarth, EB Cowling, JB Cosby.** 2003. The nitrogen cascade. *Bioscience* 53:341-356.
- Gardes M, TD Bruns.** 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes: application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.* 2:113-118.
- Gebauer RLE, JR Ehleringer.** 2000. Water and nitrogen uptake patterns following moisture pulses in a cold desert community. *Ecology* 81:1415-1424.
- Girvan MS, J Bullimore, JN Pretty, AM Osborn, AS Ball.** 2003. Soil type is the primary determinant of the composition of the total and active bacterial communities in arable soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:1800-1809.
- González J.** 2011. Efecto de la disponibilidad de agua sobre la diversidad de arqueas de suelos áridos. Memoria de Título Ingeniería en Biotecnología. pp. 59.

- Green LE, A Porrás-Alfaro, RL Sinsabaugh.** 2008 Translocation of nitrogen and carbon integrates biotic crust and grass production in desert grassland. *J. Ecol.* 96:1076-1085.
- Grishkan I, E Zaady, E Nevo.** 2006. Soil crust microfungi along a southward rainfall gradient in desert ecosystems. *Eur. J. Soil Biol.*42:33-42.
- Griffiths BS, M Bonkowski, J Roy, K Ritz.** 2001. Functional stability, substrate utilization and biological indicators of soils following environmental impacts. *Appl. Soil Ecol.* 16:49-61.
- Groffman PM, JM Tiedje.** 1988. Denitrification hysteresis during wetting and drying cycles in soil. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 52:1626-1629.
- Guevara R.** 2007. Diversidad Genética funcional y actividad de grupos microbianos relacionados al ciclo del nitrógeno en suelos con diferente cobertura vegetal. Tesis de Doctorado en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. 171 pp.
- Guggenberger G, SD Frey, J Six, K Paustian, ET Elliott.** 1999. Bacterial and fungal cell wall residues in conventional and no-tillage agroecosystems. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 63:1188-1198.
- Hagn A, K Pritsch, W Ludwig, M Schloter.** 2003. Theoretical and practical approaches to evaluate suitable primer sets for the analysis of soil fungal communities. *Acta Biotechnol.* 23:373-381.
- Harris RF.** 1981. Effect of water potential on microbial growth and activity, pp 23-95. *In:* JF Parr, WR Gardner, LF Elliott (eds). *Water potential relations in soil microbiology.* American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.
- Hartman WH, CJ Richardson, R Vilgalys, GL Bruland.** 2008. Environmental and anthropogenic control of bacterial communities in wetland soils. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105:17842-17847.
- Hawksworth DL.** 2001 The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycol. Res.* 105:1422-1432.
- Hawksworth DL, AY Rossman.** 1997. Where Are All the Undescribed Fungi? *Phytopathol.* 87:888-891.
- Hayatsu M, K Tago, M Saito.** 2008. Various players in the nitrogen cycle: diversity and functions of the microorganisms involved in nitrification and denitrification. *Soil Sci. Plant Nutr.* 54:33-45.



**Helfrich M, B Ludwig, M Potthoff, H Flessa.** 2008. Effect of litter quality and soil fungi on macroaggregate dynamics and associated partitioning of litter carbon and nitrogen. *Soil Biol. Biochem.* 40:1823-1835.

**Henriksen TM, TA Breland.** 1999. Nitrogen availability effects on carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities during decomposition of wheat straw in soil. *Soil Biol. Biochem.* 32:1121-1134.

**Herrera J, CL Kramer, OJ Reichman.** 1997. Patterns of fungal communities that inhabit rodent foot stores: effect of substrate and infection time. *Mycologia* 86:846-857.

**Hitchcock CJ, SM Chambers, IC Anderson, JWG Cairney.** 2003. Development of markers for simple sequence repeat-rich regions that discriminate between *Pisolithus albus* and *P. microcarpus*. *Mycol Res* 107: 699-706.

**Hill GT, NA Mitkowski, L Aldrich-Wolfe, LR Emele, DD Jurkonie, A Ficke, S Maldonado-Ramirez, ST Lynch, EB Nelson.** 2000 Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Appl. Soil Ecol.* 15:25-36.

**Högberg MN, P Högberg, DD Myrold.** 2007 Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees, or all three? *Oecologia* 150:590-601.

**Holland SM.** 2003. Analytic rarefaction 1.3. (<http://www.uga.edu/~strata/Software.html>).

**Hood GM.** 2000. PopTools: software for the analysis of ecological models. <http://www.cse.csiro.au/poptools/>

**Hooper DU, L Johnson.** 1999. Nitrogen limitation in dryland ecosystems: responses to geographical and temporal variation in precipitation. *Biogeochemistry* 46:247-293.

**Horz HP, A Barbrook, CB Field, BJM Bohannan.** 2004. Ammonia-oxidizing bacteria respond to multifactorial global change. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:15136-15141.

**Hu S, DC Coleman, MH Beare, PF Hendrix.** 1995. Soil carbohydrates in aggrading and degrading agroecosystems: influences of fungi and aggregates. *Agric. Ecosyst. Environ.* 54:77-88.

**Hugenholtz P, NR Pace.** 1996 Identifying microbial diversity in the natural environment: a molecular phylogenetic approach. *Trends Biotechnol.* 14:190-197.

- Hughes JB, JJ Hellmann, TH Ricketts, BJM Bohannan.** 2001. Counting the uncountable: statistical approaches to estimating microbial diversity. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:4399-4406.
- Jaccard P.** 1901. Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles* 37:547-579.
- Jenkins DM, Song C, Fares S, H Cheng, D Barrettino.** 2009. Disposable thermostated electrode for temperature dependent electrochemical measurements. *Sensor Actuat. B-Chem.* 137:222-229.
- Joergensen RG, F Wichern.** 2008. Quantitative assessment of the fungal contribution to microbial tissue in soil. *Soil Biol. Biochem.* 40:2977-2991.
- Jukes TH, CR Cantor.** 1969. Evolution of protein molecules, pp 21-132. *In:* HM Munro (Ed), *Mammalian protein metabolism.* Academic. Press, New York, USA.
- Kårén O, N Högberg, A Dahlberg, L Jonsson, JE Nylund.** 1997. Inter- and intraspecific variation in the ITS region of rDNA of ectomycorrhizal fungi in Fennoscandia as detected by endonuclease analysis. *New Phytol.* 136:313-325.
- Kemmitt SJ, D Wright, KWT Goulding y DL Jones.** 2006. pH regulation of carbon and nitrogen dynamics in two agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.* 38:898-911.
- Kieft TL, E Soroker, MK Firestone.** 1987. Microbial biomass response to a rapid increase in water potential when dry soil is wetted. *Soil. Biol. Biochem.* 19:119-126.
- Klamer M, K Hedlund.** 2004. Fungal diversity in set-aside agricultural soil investigated using terminal-restriction fragment length polymorphism. *Soil Biol. Biochem.* 36:983-988.
- Klamer M, MS Roberts, LH Levine, BG Drake, JL Garland.** 2002. Influence of elevated CO<sub>2</sub> on the fungal community in a coastal scrub oak forest soil investigated with terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:4370-4376.
- Klepac-Ceraj V, I Ceraj, MF Polz.** 2006 Clusterer: extendable java application for sequence grouping and cluster analyses. *Online J. Bioinform.* 7:15-21
- Lauber, CL, MS Strickland, MA Bradford, N Fierer.** 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities cross land-use types. *Soil Biol. Biochem.* 40:2407-2415.

- Lauber CL, M Hamady, R Knight, N Fierer.** 2009. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community composition at the continental scale. *Appl. Environ. Microbiol.* 75:5111-5120.
- Li WT.** 1981 Simple method for constructing phylogenetic trees from distance matrices. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:1085-1089.
- Lilleskov EA, TJ Fahey, TR Horton, GM Lovett.** 2002. Belowground ectomycorrhizal fungal community change over a nitrogen deposition gradient in Alaska. *Ecology* 83:104-115.
- Lilleskov EA, TJ Fahey, GM Lovett.** 2001. Ectomycorrhizal fungal aboveground community change over an atmospheric nitrogen deposition gradient. *Ecol. Appl.* 11:397-410.
- Linn DM, JW Doran.** 1984. Aerobic and anaerobic microbial populations in no-till and plowed soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48:794-799.
- Liu WT, TL Marsh, H Cheng, LJ Forney.** 1997. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:4516-4522.
- Liu WX, Z Zhang, SQ Wan.** 2009. Predominant role of water in regulating soil and microbial respiration and their responses to climate change in a semiarid grassland. *Glob. Change Biol.* 15:184-195.
- Lord NS, CW Kaplan, P Shank, CL Kitts, SL Elrod.** 2002. Assessment of fungal diversity using terminal restriction fragment (TRF) pattern analysis: comparison of 18S and ITS ribosomal regions. *FEMS Microbiol. Ecol.* 42:327-337.
- Lundquist E, K Scow, L Jackson, S Uesugi, C Johnson.** 1999. Rapid response of soil microbial communities from conventional, low input and organic farming systems to a wet/dry cycle. *Soil Biol. Biochem.* 31:1661-1675.
- Maidak BL, JR Cole, CT Parker Jr, GM Garrity, N Larsen, B Li.** 1999. A new version of the RDP (Ribosomal Database Project). *Nucleic Acids Res.* 27:171-173.
- McKay CP, EI Friedmann, B Gomez-Silva, L Caceres-Villanueva, DT Andersen, R Landheim.** 2003. Temperature and moisture conditions for life in the extreme arid region of the Atacama Desert: Four years of observations including the El Nino of 1997 – 1998. *Astrobiology* 3:393-406.
- McLean MA, V Huhta.** 2000. Temporal and spatial fluctuations in moisture affect humus microfungus community structure in microcosms. *Biol. Fert. Soils* 32:114-119.

- McLain JET, DA Martens.** 2005. Nitrous oxide flux from amino acid mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 37:289-299.
- McLain JET, DA Martens.** 2006. N<sub>2</sub>O production by heterotrophic N transformations in a semiarid soil. *Appl. Soil Ecol.* 32:253-263.
- Marsh TL.** 1999. Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP): an emerging method for characterizing diversity among homologous populations of amplification products. *Curr. Opin. Microbiol.* 2:323-327.
- Marsh TL, P Saxman, J Cole, J Tiedje.** 2000. Terminal restriction fragment length polymorphism analysis program, a web-based research tool for microbial community analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:3616-3620.
- Martin KJ, T Rygielwicz.** 1995. Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. *BMC Microbiol.* 5:28.
- Marzorati M, L Wittebolle, N Boon, D Daffonchio, W Verstraete.** 2008. How to get more out of molecular fingerprints: practical tools for microbial ecology. *Environ. Microbiol.* 10:1571-1581.
- Morales SE, Mouser PJ, Ward N, Hudman SP, Gotelli NJ, Ross DS, TA Lewis.** 2006. Comparison of bacterial communities in New England sphagnum bogs using terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP). *Microb. Ecol.* 52:34-44.
- Nazih N, O Finlay-Moore, PG Hartel, JJ Fuhrmann.** 2001. Whole soil fatty acid methyl ester (FAME) profiles of early soybean rhizosphere as affected by temperature and matric water potential. *Soil Biol. Biochem.* 33:693-696.
- Nilsson RH, E Kristiansson, M Ryberg, N Hallenberg.** 2008. Intraspecific ITS variability in the kingdom fungi as expressed in the international sequence databases and its implications for molecular species identification. *Evol. Bioinf.* 4:193-201.
- Nevarez L, V Vasseur, L Le Madec, L Le Bras, L Coroller, I Leguerinel.** 2009. Physiological traits of *Penicillium glabrum* strain LCP 08.5568, a filamentous fungus isolated from bottled aromatised mineral water. *Int. J. Food Microbiol.* 130:166-171.
- Nilsson LO, E Bååth, U Falkengren-Grerup, H Wallander.** 2007. Growth of ectomycorrhizal mycelia and composition of soil microbial communities in oak forest soils along a nitrogen deposition gradient. *Oecologia* 153:375-384.

- O'Brien H, J Parrent, J Jackson, J Moncalvo, R Vilgalys.** 2005. Fungal community analysis by large-scale sequencing of environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:5544-5550.
- Office for Interdisciplinary Earth Studies (OIES).** 1991. Arid ecosystems interactions: recommendations for drylands research in the global change research program. OIES-Report 6. p. 81.
- Orlando J.** 2008. Efecto de la precipitación acida de nitrógeno reactivo sobre la diversidad genética y funcional de la microbiota bacteriana de suelos áridos. Tesis Doctor en Ciencias mención Microbiología. pp. 114.
- Otter L, M Scholes.** 2005. Biogenic fluxes of carbon and nitrogen in arid and semi-arid ecosystems. *Geophys. Res. Abstr.* 7:09593.
- Ovreas L.** 2000. Population and community level approaches for analysing microbial diversity in natural environments. *Ecol. Lett.* 3:236-251.
- Ovreas L, V Torsvik.** 1998. Microbial diversity and community structure in two different agricultural soil communities. *Microb. Ecol.* 36:303-315.
- Parker V, C Muller.** 1982. Vegetational and environmental changes beneath isolated live oak trees (*Quercus agrifolia*) in a California annual grassland. *Am. Mid. Nat.* 107:69-81.
- Pennanen T, H Fritze, P Vanhala, O Kiiikkilä, S Neuvonen y E Bååth.** 1998. Structure of a microbial community in soil after prolonged addition of low levels of simulated acid rain. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:2173-2180.
- Picard C, Ponsonnet C, Paget E, Nesme X, P Simonet.** 1992. Detection and enumeration of bacteria in soil by direct DNA extraction and polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 2.717-2.722.
- Pietikäinen J, M Pettersson, E Bååth.** 2005. Comparison of temperature effects on soil respiration and bacterial and fungal growth rates. *FEMS Microbiol. Ecol.* 52:49-58.
- Porras-Alfaro A, Herrera J, Sinsabaugh RL, Odenbach KJ, Lowrey T, Natvig DO.** 2008. A novel root fungal consortium associated with a dominant desert grass. *Appl. Environm. Microbiol.* 74:2805-2813.
- Prescott CE y D Parkinson.** 1985. Effects of sulphur pollution on rates of litter decomposition in a pine forest. *Can. J. Bot.* 63:1436-1443.

- Pulleman J, A Tietema.** 1999. Microbial and N transformations during drying and rewetting of coniferous forest floor material. *Soil Biol. Biochem.* 31:275-285.
- Rosso L, JR Lobry, S Bajard, JP Flandrois.** 1995. Convenient model to describe the combined effects of temperature and pH on microbial growth. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:610-616.
- Rousk J, Brookes PC, E Bååth.** 2009. Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. *Appl. Environ. Microb.* 75:1589-1596.
- Rousk J, E Bååth, PC Brookes, CL Lauber, C Lozupone, JG Caporaso, R Knight, N Fierer.** 2010. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *ISME J.* 4:1340-1351.
- Ryan MG, P O'Toole, EP Farrell.** 1998. The influence of drought and natural rewetting on nitrogen dynamics in a coniferous ecosystem in Ireland. *Environ. Pollut.* 102:445-451.
- Saitou N, M Nei.** 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4:406-425.
- Sambrook J, EF Fritsch, T Maniatis.** 1989. *Molecular cloning: A laboratory Manual.* Cold Spring Harb. Lab, Cold Spring Harbor, New York, USA.
- San-Blas G, RA Calderone (eds).** 2008. *Pathogenic fungi: Insights in molecular biology.* Caister Academic Press.
- Scheller E, Joergensen RG.** 2008. Decomposition of wheat straw differing in N content in soils under conventional and organic farming management. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 171:886-892.
- Schimel DS, WJ Parton.** 1986. Microclimatic controls of nitrogen mineralization y nitrification in shortgrass steppe soils. *Plant Soil* 93:347-357.
- Schimel JP.** 2004. Playing scales in the methane cycle: from microbial ecology to globe. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:12583-12587.
- Schimel JP, TC Balsler, M Wallenstein.** 2007. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecology* 88:1386-1394.
- Schimel JP, JM Gullledge, JS Clein-Curley, JE Lindstrom, JF Braddock.** 1999. Moisture effects on microbial activity and community structure in decomposing birch litter in the Alaskan taiga. *Soil Biol. Biochem.* 31:831-838.

- Schlesinger W.** 1997. *Biogeochemistry: An Analysis of Global Change*. Academic Press Inc. London, Inglaterra.
- Singh JS, AK Kashyap.** 2006. Dynamics of viable nitrifier community, N-mineralization and nitrification in seasonally dry tropical forest and savanna. *Microbiol. Res.* 161:169-179.
- Singh BK, S Munro, E Reid, B Ord, JM Potts, E Paterson.** 2006. Investigating microbial community structure in soils by physiological, biochemical and molecular fingerprinting methods. *Eur. J. Soil Sci.* 57:72-82.
- Smit E, P Leeftang, B Glandorf, JD van Elsas, K Wernars.** 1999. Analysis of fungal diversity in the wheat rhizosphere by sequencing of cloned PCR-amplified genes encoding 18S rRNA and temperature gradient gel electro-phoresis. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:2614-2621.
- Smith SE, DJ Read.** 1997 *Mycorrhizal Symbiosis*. London: Academic Press.
- States JS, M Christenses.** 2001. Fungi associated with biological soil crusts in desert grasslands of Utah and Wyoming. *Mycologia* 93:432-439.
- Steenwerth KL, LE Jackson, FJ Calderon, KM Scow, DE Rolston.** 2005. Response of microbial community composition and activity in agricultural and grassland soils after a simulated rainfall. *Soil Biol. Biochem.* 37:2249-2262.
- Tamura K, S Kumar, J Dudley, M Nei.** 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 24:1596-1599.
- Ter Braak CJF.** 1986. Canonical Correspondence Analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology* 67:1167-1179.
- Ter-Braak CJF.** 1990. Update notes: CANOCO version 3.10, Agricultural Mathematics Group, Wageningen. 35 pp.
- Ter Braak C, P Smilauer.** 1998. Canoco reference manual and user's guide to Canoco for Windows: software for canonical community ordination (version 4). *In: Microcomputer Power, Ithaca, NY, USA.* pp. 352.
- Thiet RK, SD Frey, J Six.** 2006 Do growth yield efficiencies differ between soil microbial communities differing in fungal: bacterial ratios? Reality check and methodological issues. *Soil Biol. Biochem.* 38:837-844.

- Thompson JD, TJ Gibson, F Plewniak, F Jeanmougin, DG Higgins.** 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 24:4876-4882.
- Torsvik V, L Ovreas, TF Thingstad.** 2002. Prokaryotic diversity: Magnitude, dynamics, and controlling factors. *Science* 296:1064-1066.
- Trinder CJ, D Johnson, RRE Artz.** 2009. Litter type, but not plant cover, regulates initial litter decomposition and fungal community structure in a recolonising cutover peatland. *Soil Biol. Biochem.* 41:651-655.
- van Gestel M, R Merckx, K Vlassak.** 1993. Microbial biomass responses to soil drying and rewetting: the fate of fast- and slowgrowing microorganisms in soils from different climates. *Soil. Biol. Biochem.* 25:109-123.
- Van Groenigen KJ, J Six, D Harris, C van Kessel.** 2007. Elevated CO<sub>2</sub> does not favor a fungal decomposition pathway. *Soil Biol. Biochem.* 39:2168-2172.
- Verdejo V.** 2010. Diversidad de arqueas oxidadoras de amonio y su aporte al proceso de nitrificación en el suelo semiárido del matorral esclerófilo. Memoria de Título Ingeniería en Biotecnología. pp. 55.
- Vitousek PM, JD Aber, RW Howarth, GE Likens, PA Matson, DW Schindler, WH Schlesinger, DG Tilman.** 1997. Human alteration of the global nitrogen cycle: causes and consequences. *Iss. Ecol.* 1:1-15.
- Webster G, TM Embley, JI Prosser.** 2002. Grassland management regimens reduce small-scale heterogeneity and species diversity of  $\beta$ -proteobacteria ammonia oxidizer populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:20-30.
- Wheeler KA, BF Hurdman, JI Pitt.** 1991. Influence of pH on the growth of some toxigenic species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*. *Int. J. Food Microbiol.* 12:141-150.
- Wheeler GN, AE Parker, CL Thomas, P Ataliotis, D Poynter, J Arnemann, AJ Rutman, SC Pidsley, FM Watt, DA Rees, RS Buxton, AI Magee.** 1991. Desmosomal glycoprotein I, a component of intercellular desmosome junctions, is related to the cadherin family of cell adhesion molecules. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88:4796-4800.
- Wilkinson S, J Anderson, S Scardelis, M Tisiafouli, A Taylor, V Wolters.** 2002. PLFA profiles of microbial communities in decomposing conifer litters subject to moisture stress. *Soil Biol. Biochem.* 34:189-200.



- Williams MA, CW Rice.** 2007. Seven years of enhanced water availability influences the physiological, structural and functional attributes of a soil microbial community. *Appl. Soil Ecol.* 35:535-545.
- Woese CR, O Kandler, ML Wheelis.** 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:4576-4579.
- Wolters V, WL Silver, DE Bignell, DC Coleman, P Lavelle, WH van der Putten, P de Ruiter, J Rusek, DH Wall, DA Wardle, L Brussaard, JM Dangerfield, VK Brown, K Giller, DU Hooper, O Sala, J Tiedje, JA van Veen.** 2000. Effects of global changes on above- and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: implications for ecosystem functioning. *BioScience* 50:1089-1098.
- Yannarell AC, Triplett EW.** 2005 Geographic and environmental sources of variation in lake bacterial community composition. *Appl. Environ. Microbiol* 71:227-239.
- Yang, C, DE Crowley.** 2000. Rhizosphere Microbial Community Structure in Relation to Root Location and Plant Iron Nutritional Status. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:345-351.
- Zak J.** 2005. Fungal communities of desert ecosystems: links to climate change, p. 659-681. *In:* J Dighton, JF White, P Oudemans (ed.). *The fungal community: its organization and role in the ecosystems*, 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Zhou J, B Xia, DS Treves, LY Wu, TL Marsh, RV O'Neill, AV Palumbo, JM Tiedje.** 2002. Spatial and resource factors influencing high microbial diversity in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:326-334.
- Zogg G, D Zak, D Ringelberg, N MacDonald, K Pregitzer, D White.** 1997. Compositional and functional shifts in microbial communities due to soil warming. *Soil Sci. Soc. Am. J* 61:475-481.

## ANEXOS

**Tabla A1.** Parámetros edáficos medidos durante el periodo de incubación de los microcosmos: pH; potencial de óxido reducción (ORP); contenido hídrico (CH); materia orgánica (MO); contenido de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ); contenido de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ).

	Suelo semiárido						Suelo árido					
	pH <sup>a</sup>	ORP <sup>a</sup>	CH <sup>b</sup>	MO <sup>c</sup>	$\text{NH}_4^{+d}$	$\text{NO}_3^{-d}$	pH <sup>a</sup>	ORP <sup>a</sup>	CH <sup>b</sup>	MO <sup>c</sup>	$\text{NH}_4^{+d}$	$\text{NO}_3^{-d}$
s/t t0	6,51	172,83	4,39	6,01	21,59	19,04	7,85	140,60	0,77	1,36	0,00	6,92
s/t t28	6,64	170,10	2,29	6,73	34,34	24,00	7,33	161,37	0,64	0,37	0,00	8,08
s/t t56	6,09	159,60	2,54	5,66	14,77	25,58	7,48	156,97	0,65	0,50	0,00	6,12
s/t t84	6,70	183,23	2,40	5,87	0,00	24,05	7,79	153,63	0,58	0,49	0,00	7,53
H <sub>2</sub> O t0	6,29	118,87	39,41	4,52	16,67	37,20	7,50	112,70	11,99	0,52	0,00	17,71
H <sub>2</sub> O t28	5,95	128,33	6,07	5,00	19,11	61,09	7,46	132,67	0,15	0,47	11,79	17,51
H <sub>2</sub> O t56	5,62	169,67	2,05	5,31	11,10	62,87	7,52	162,33	0,18	0,53	0,00	18,80
H <sub>2</sub> O t84	5,45	161,00	2,15	4,31	3,24	63,17	7,23	174,67	0,57	0,55	0,00	17,81
H <sub>2</sub> O(14) t0	6,57	182,23	15,01	6,04	29,12	22,22	7,77	143,70	11,22	0,67	0,00	5,68
H <sub>2</sub> O(14) t28	6,64	174,97	15,73	6,06	23,63	78,66	7,25	162,03	13,06	0,41	0,00	11,28
H <sub>2</sub> O(14) t56	6,69	139,33	15,57	5,81	9,52	92,19	7,44	151,40	14,44	0,56	0,00	11,42
H <sub>2</sub> O(14) t84	6,77	189,17	16,83	5,91	0,00	114,16	7,75	158,53	13,10	0,50	2,87	13,31
Ac t0	6,28	118,20	37,52	4,31	15,45	37,76	7,63	116,23	11,29	0,51	0,00	20,59
Ac t28	6,10	133,00	4,26	5,35	20,33	56,82	7,56	141,67	0,32	0,44	10,08	18,01
Ac t56	5,78	185,67	1,78	5,46	6,03	51,47	7,43	162,00	0,29	0,45	0,00	18,31
Ac t84	5,47	200,67	2,10	4,33	8,13	53,34	7,23	169,33	0,57	0,57	0,80	17,51
Nr t0	6,38	118,63	43,71	4,93	30,09	56,52	7,83	112,50	10,33	0,47	25,21	36,37
Nr t28	6,14	136,33	4,17	5,32	38,14	90,86	7,58	139,00	0,04	0,52	38,39	33,39
Nr t56	5,70	194,33	1,68	5,66	21,23	98,61	7,48	175,00	0,26	0,47	16,16	34,39
Nr t84	5,46	201,00	2,10	4,47	19,11	94,64	7,29	162,67	0,54	0,55	28,87	30,61
NrAc t0	6,32	124,73	38,37	4,80	41,07	49,87	7,74	121,00	9,34	0,54	21,55	31,31
NrAc t28	5,99	153,00	9,46	4,92	10,08	109,92	7,70	141,00	0,18	0,49	33,50	34,19
NrAc t56	5,53	205,67	1,94	5,63	12,36	87,39	7,51	174,67	0,21	0,45	31,36	32,20
NrAc t84	5,51	211,67	2,21	4,46	0,00	88,18	7,28	160,67	0,54	0,57	20,33	26,64

<sup>a</sup> Medidos por potenciometría.

<sup>b</sup> Determinado por gravimetría en base a ecuación  $\text{CH} = \text{PH} - \text{PS} / \text{PS} * 100$  (PH: peso húmedo; PS: peso seco).

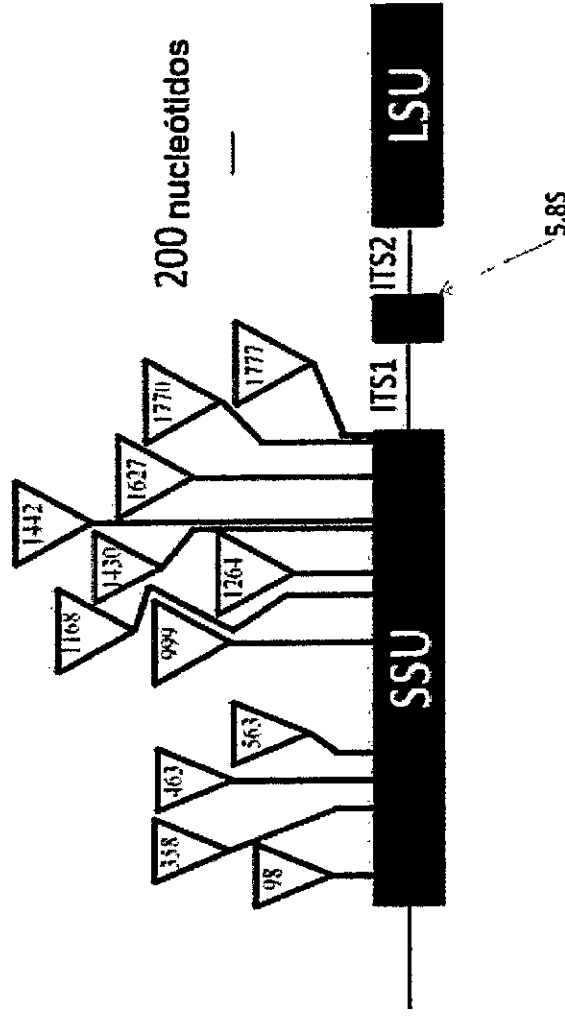
<sup>c</sup> Determinado por calcinación de la muestra de suelo seco, en base a la ecuación  $\text{MO} = \text{PS} - \text{PC} / \text{PC} * 100$  (PS: peso seco; PC: peso calcinado).

<sup>d</sup> Extracción de N mineral por modificación del protocolo de Forster (1995)<sup>1</sup> y medido por métodos colorimétricos (Nelson 1983<sup>2</sup>; Yang y col. 1998<sup>3</sup>).

<sup>1</sup> Forster JC. 1995. Soil sampling, handling, storage and analysis. In: Alef K, P Nannipieri (Eds), Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press Ltd., London, England. Academic Press, London, pp. 49-121.

<sup>2</sup> Nelson DW. 1983. Determination of ammonium in KCl extracts by the salicylate Method. Commun. Soil Sci Plant Anal 14:1051-1062.

<sup>3</sup> Yang JE, EO Skogley, BE Schaff, JJ Kim. 1998. Simple spectrophotometric determination of nitrate in water, resin, and soil extracts. Soil Sci. Soc. Am. J. 62:1108-1115.

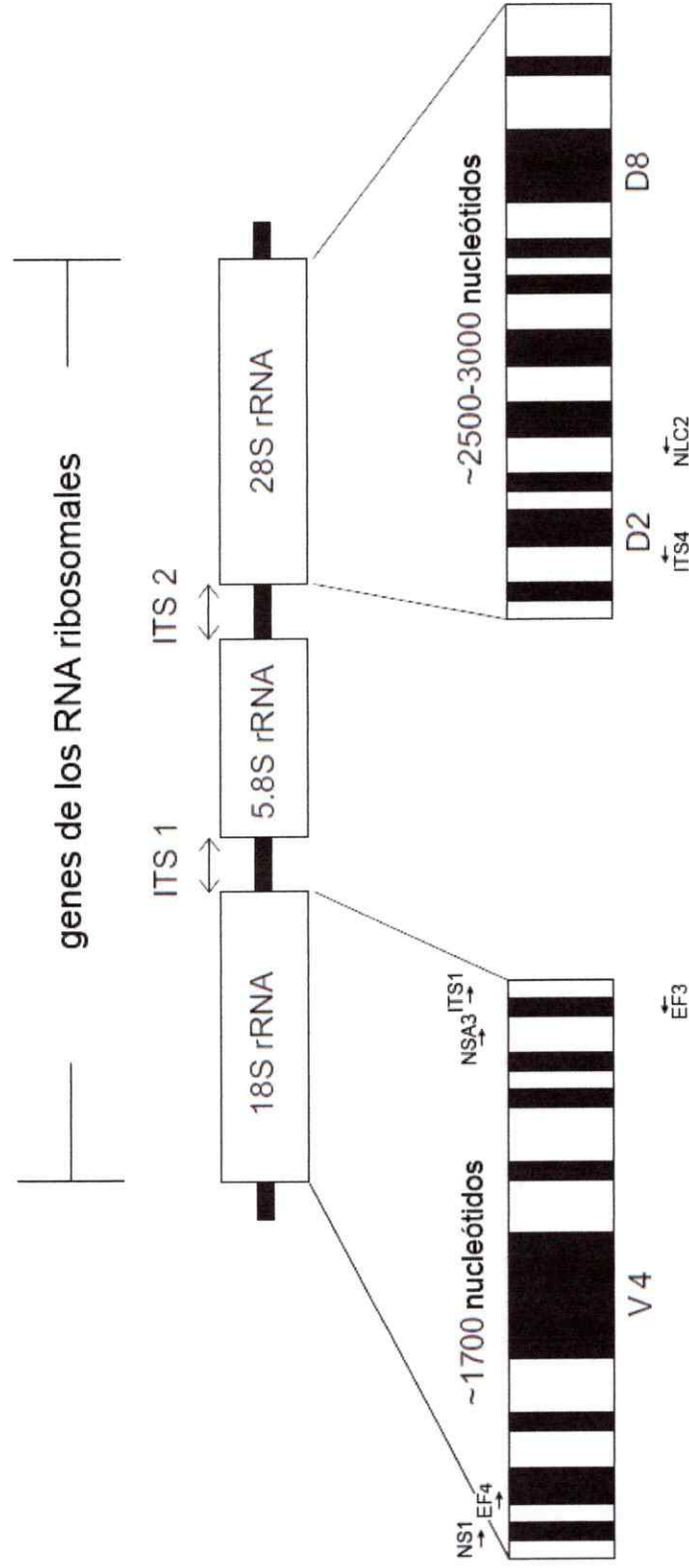


**Figura A1:** Organización de los genes de las subunidades pequeña (ssu, por sus siglas en inglés) y grande (lsu, por sus siglas en inglés) del RNA ribosomal fungico y de las regiones espaciadoras transcritas internas (ITS). Los triángulos indican la localización de los intrones, los números dentro de los triángulos indican el nucleótido sobre el extremo 3' previo al primer nucleótido del intrón, en relación a la subunidad pequeña del rRNA de *Saccharomyces cerevisiae* (número de acceso J01353 en la base de datos del NCBI). Las posiciones indicadas de los intrones fueron tomadas de Gargas y col. 1995<sup>4</sup>; Nikoh y Fukatsu 2001<sup>5</sup> y Chen 2010<sup>6</sup>. Modificado de Chen 2010.

<sup>4</sup> Gargas A, PT DePriest, JW Taylor. 1995. Positions of multiple insertions in SSU rDNA of lichen-forming fungi. *Mol. Biol. Evol.* 12:208-218.

<sup>5</sup> Nikoh N, T Fukatsu. 2001. Evolutionary dynamics of multiple group I introns in nuclear ribosomal RNA genes of entomoparasitic fungi of the genus *Corchylops*. *Mol. Biol.* 18:1631-1642.

<sup>6</sup> Chen X. 2010. Evolution of group I introns in the nuclear ribosomal RNA genes of Dothideomycetes. Master of Science (MS), Bowling Green State University, Biological Sciences. 40 pp.



**Figura A2:** Posición de los partidores utilizados para amplificar el DNA fúngico codificante para la subunidad pequeña (18S) del RNA ribosomal y la región espaciadora transcrita interna (ITS1 - rRNA 5.8S - ITS2): NS1, ITS1, ITS4 (White y col. 1990)<sup>7</sup>; EF3, EF4 (Smit y col. 1999)<sup>8</sup>; NSA3, NLC2 (Kendall 2005)<sup>9</sup>. V4 y D2-D8 representan las regiones más variables dentro del rRNA 18S y del rRNA 28S, respectivamente. (Modificado de Mitchell y Zuccaro 2006)<sup>10</sup>.

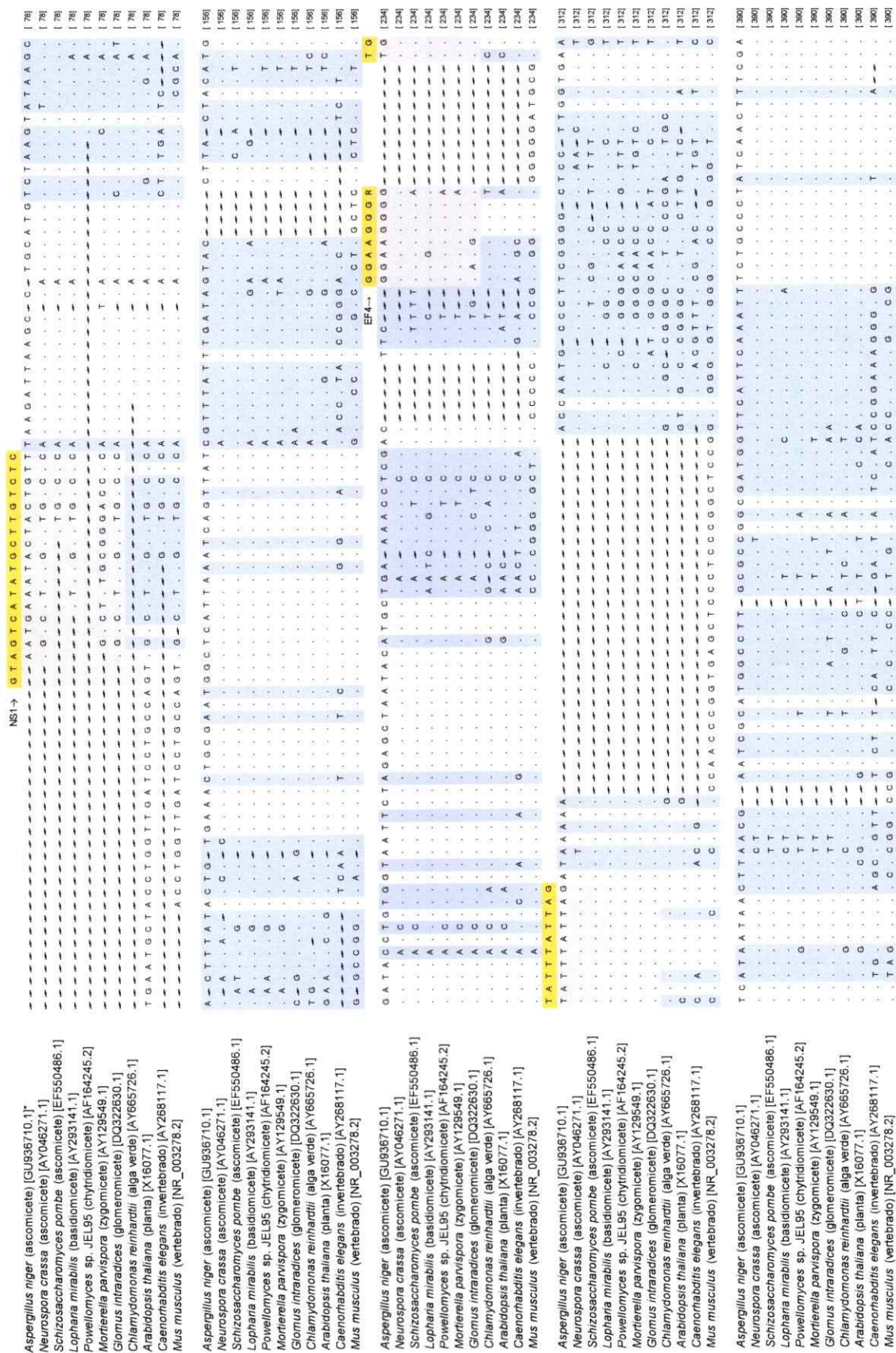
<sup>7</sup> White TJ, T Bruns, S Lee, J Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innes MA, Gelfand DH, JJ Sninsky, T White (eds) PCR protocols: a guide to method and applications. Academic Press, San Diego, pp 315-322.

<sup>8</sup> Smit E, P Leeflang, B Glandorf, JD Elsas, K Wernars. 1999. Analysis of fungal diversity in the wheat rhizosphere by sequencing of cloned PCR-amplified genes encoding 18s rRNA and temperature gradient gel electrophoresis. Appl. Environ. Microbiol. 65:2614-2621.

<sup>9</sup> Martin KJ, T Rygielwicz. 1995. Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. BMC Microbiol. 5:28.

<sup>10</sup> Mitchell J, A Zuccaro. 2006. Sequences, the environment and fungi. Mycologist 20:62-74.

**Figura A3:** Alineamiento de secuencias del gen del rRNA 18S de diferentes organismos y localización de los partidores utilizados en este trabajo.











<i>Aspergillus niger</i> (ascomicete) [GU936710.1]	GC G C T A C A C T G A C A G G G C C A G G A G T A	C A T C A C C T T G G C C G A G A G G T C T G G G T A A T C T T	[1636]
<i>Neurospora crassa</i> (ascomicete) [AY046271.1]	CA . . . . . C A . . . . .	T C . . . . .	[1636]
<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (ascomicete) [EF550486.1]	G . . . . . G . . . . .	T G A A A A A T C T T T T G A T T T . . . . .	[1636]
<i>Lopharia mirabilis</i> (basidiomicete) [AY293141.1]	T . . . . . T . . . . .	T T . . . . .	[1636]
<i>Powellomyces</i> sp. JEL95 (chytridiomicete) [AF164245.2]	T G A A . . . . .	T G A . . . . .	[1636]
<i>Mortierella parvispora</i> (zygomycete) [AY123549.1]	T C A A . . . . .	T C A . . . . .	[1636]
<i>Glomus intraradices</i> (glomeromicete) [DQ332830.1]	T G A A . . . . .	T A T . . . . .	[1636]
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (alga verde) [AY665726.1]	G C . . . . .	C . . . . .	[1636]
<i>Arabidopsis thaliana</i> (planta) [X16077.1]	T G T A T T . . . . .	C A C A C T . . . . .	[1636]
<i>Caenorhabditis elegans</i> (invertebrado) [AY268117.1]	G T G A T T . . . . .	T T . . . . .	[1636]
<i>Mus musculus</i> (vertebrado) [NR_003278.2]	T . . . . . C T . . . . .	C . . . . .	[1636]
<i>Aspergillus niger</i> (ascomicete) [GU936710.1]	G T T A A C C C T G C G T C T G G G G A T A G A C A T T T G C T T C A A C G A G G A A T G C C T A G T A G G C A C G A G T C A T		[1716]
<i>Neurospora crassa</i> (ascomicete) [AY046271.1]	T G . . . . .	. . . . .	[1716]
<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (ascomicete) [EF550486.1]	T . . . . .	. . . . .	[1716]
<i>Lopharia mirabilis</i> (basidiomicete) [AY293141.1]	T . . . . .	. . . . .	[1716]
<i>Powellomyces</i> sp. JEL95 (chytridiomicete) [AF164245.2]	T T C A . . . . .	T T C . . . . .	[1716]
<i>Mortierella parvispora</i> (zygomycete) [AY123549.1]	T T G A . . . . .	T T G A . . . . .	[1716]
<i>Glomus intraradices</i> (glomeromicete) [DQ332830.1]	T T T C A . . . . .	T T T C A . . . . .	[1716]
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (alga verde) [AY665726.1]	T T T C A . . . . .	T T T C A . . . . .	[1716]
<i>Arabidopsis thaliana</i> (planta) [X16077.1]	T T T C A . . . . .	T T T C A . . . . .	[1716]
<i>Caenorhabditis elegans</i> (invertebrado) [AY268117.1]	T T T C A . . . . .	T T T C A . . . . .	[1716]
<i>Mus musculus</i> (vertebrado) [NR_003278.2]	T T T C A . . . . .	T T T C A . . . . .	[1716]
<i>Aspergillus niger</i> (ascomicete) [GU936710.1]	C A G C T C G T G C C G A T T A C G T C C C T G C C C T T T G T A C A C C C C C G T C C T A C T A C C G A T T G A A T G G C T C G G T G A G G C C T		[1794]
<i>Neurospora crassa</i> (ascomicete) [AY046271.1]	T . . . . .	. . . . .	[1794]
<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (ascomicete) [EF550486.1]	T . . . . .	. . . . .	[1794]
<i>Lopharia mirabilis</i> (basidiomicete) [AY293141.1]	C . . . . .	. . . . .	[1794]
<i>Powellomyces</i> sp. JEL95 (chytridiomicete) [AF164245.2]	C . . . . .	. . . . .	[1794]
<i>Mortierella parvispora</i> (zygomycete) [AY123549.1]	C . . . . .	. . . . .	[1794]
<i>Glomus intraradices</i> (glomeromicete) [DQ332830.1]	C . . . . .	. . . . .	[1794]
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (alga verde) [AY665726.1]	C . . . . .	. . . . .	[1794]
<i>Arabidopsis thaliana</i> (planta) [X16077.1]	C . . . . .	. . . . .	[1794]
<i>Caenorhabditis elegans</i> (invertebrado) [AY268117.1]	C . . . . .	. . . . .	[1794]
<i>Mus musculus</i> (vertebrado) [NR_003278.2]	C . . . . .	. . . . .	[1794]
<i>Aspergillus niger</i> (ascomicete) [GU936710.1]	T C G G A C T G G C T C A G G A G G G T T G G C A . . . . .	A C G A C C C C C . . . . .	[1872]
<i>Neurospora crassa</i> (ascomicete) [AY046271.1]	C . . . . .	. . . . .	[1872]
<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (ascomicete) [EF550486.1]	C . . . . .	. . . . .	[1872]
<i>Lopharia mirabilis</i> (basidiomicete) [AY293141.1]	C . . . . .	. . . . .	[1872]
<i>Powellomyces</i> sp. JEL95 (chytridiomicete) [AF164245.2]	C . . . . .	. . . . .	[1872]
<i>Mortierella parvispora</i> (zygomycete) [AY123549.1]	C . . . . .	. . . . .	[1872]
<i>Glomus intraradices</i> (glomeromicete) [DQ332830.1]	C . . . . .	. . . . .	[1872]
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (alga verde) [AY665726.1]	C . . . . .	. . . . .	[1872]
<i>Arabidopsis thaliana</i> (planta) [X16077.1]	C . . . . .	. . . . .	[1872]
<i>Caenorhabditis elegans</i> (invertebrado) [AY268117.1]	C . . . . .	. . . . .	[1872]
<i>Mus musculus</i> (vertebrado) [NR_003278.2]	C . . . . .	. . . . .	[1872]
<i>Aspergillus niger</i> (ascomicete) [GU936710.1]	A A G G A C C T T T A T T T C A C A C A A A A A T C C C T		[1830]
<i>Neurospora crassa</i> (ascomicete) [AY046271.1]	G T . . . . .	. . . . .	[1830]
<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (ascomicete) [EF550486.1]	G T . . . . .	. . . . .	[1830]
<i>Lopharia mirabilis</i> (basidiomicete) [AY293141.1]	G T . . . . .	. . . . .	[1830]
<i>Powellomyces</i> sp. JEL95 (chytridiomicete) [AF164245.2]	G T . . . . .	. . . . .	[1830]
<i>Mortierella parvispora</i> (zygomycete) [AY123549.1]	G T . . . . .	. . . . .	[1830]
<i>Glomus intraradices</i> (glomeromicete) [DQ332830.1]	G T . . . . .	. . . . .	[1830]
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (alga verde) [AY665726.1]	G T . . . . .	. . . . .	[1830]
<i>Arabidopsis thaliana</i> (planta) [X16077.1]	G T . . . . .	. . . . .	[1830]
<i>Caenorhabditis elegans</i> (invertebrado) [AY268117.1]	G T . . . . .	. . . . .	[1830]
<i>Mus musculus</i> (vertebrado) [NR_003278.2]	G T . . . . .	. . . . .	[1830]

\*Entre corchetes se indica el número de acceso de la base de datos del NCBI para cada secuencia. Los guiones indican *gaps* y los puntos el mismo nucleótido de la primera secuencia del alineamiento. En amarillo se indican los partiduros y en gris la zona de hibridación de los mismos. El lila indica las regiones variables que resultan del alineamiento de las secuencias incluidas en el análisis.

**Tabla A2:** Secuencias del marcador molecular rDNA18S obtenidas mediante el programa Blast-n (NCBI) que presentaron la mayor identidad con los clones procedentes de suelo semiárido (S) de la localidad de El Romeral. % ID representa el porcentaje de identidad.

Nombre clon	Secuencia del organismo más relacionado			
	Número de acceso	Especie	Clase	División
S-1-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota
S-2-18S	DQ787831.1	<i>Tricharina gilva</i>	-	Ascomycota
S-3-18S	AF164245.2	<i>Powellomyces sp.</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota
S-4-18S	FJ358340.1	<i>Arachniotus littoralis</i>	Eurotiomycetes	Basidiomycota
S-5-18S	AY293141.1	<i>Lopharia mirabilis</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota
S-6-18S	AY293141.1	<i>Lopharia mirabilis</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota
S-8-18S	AY293141.1	<i>Lopharia mirabilis</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota
S-9-18S	AJ972809.2	<i>Sarcinomyces sp.</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota
S-10-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Glomerales	Glomeromycota
S-11-18S	AF527811.1	<i>Madurella mycetomatis</i>	Sordariales	Ascomycota
S-12-18S	GU199043.1	<i>Sphaerodes retispora</i> var. <i>retispora</i>	Sordariomycetes	Ascomycota
S-13-18S	AY336752.1	<i>Rigidoporus vinctus</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota
S-14-18S	GU250917.1	<i>Coniosporium apollinis</i>	-	Ascomycota
S-15-18S	FJ358331.1	<i>Chaetothyriales sp.</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota
S-16-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota
S-17-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota
S-19-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota
S-20-18S	FJ358331.1	<i>Chaetothyriales sp.</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota
S-21-18S	AF164245.2	<i>Powellomyces sp.</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota
S-22-18S	FJ827648.1	<i>Phyctocheytrium californicum</i>	Spizellomycetales	Chytridiomycota
S-23-18S	DQ810194.1	<i>Penicillium sp.</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota
S-24-18S	AJ496248.1	<i>Lecytophora sp.</i>	Sordariomycetes	Ascomycota

Tabla A2 (continuación)

Secuencia del organismo más relacionado		Nombre de clon		
Especie	Clase	División	% ID	
Número de acceso				
S-25-18S	<i>Powellomyces</i> sp.	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	98
S-26-18S	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	95
S-28-18S	<i>Coniochaeta velutina</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
S-29-18S	<i>Coniochaeta velutina</i>	Glomerales	Glomeromycota	99
S-30-18S	<i>Descolea maculata</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	83
S-31-18S	<i>Coprinus comatus</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	98
S-32-18S	<i>Cyathicula microspora</i>	Leotiomycetes	Ascomycota	99
S-33-18S	<i>Penicillium</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota	99
S-34-18S	<i>Selenaspora guernisacii</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	97
S-35-18S	<i>Penicillium</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota	99
S-36-18S	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	95
S-37-18S	<i>Powellomyces</i> sp.	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	98
S-38-18S	<i>Cryptococcus aerius</i>	Tremellomycetes	Basidiomycota	99
S-39-18S	<i>Sarcinomyces</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota	98
S-40-18S	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	95
S-41-18S	<i>Conocybe lactea</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	99
S-43-18S	<i>Coprinus comatus</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	98
S-44-18S	<i>Lopharia mirabilis</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	98
S-45-18S	<i>Agrocybe pedatae</i>	Glomerales	Basidiomycota	98
S-46-18S	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	97
S-47-18S	<i>Nectria lugdunensis</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
S-48-18S	<i>Conocybe lactea</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	99
S-49-18S	<i>Chaetothyriales</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota	97
S-50-18S	<i>Cryptococcus aerius</i>	Tremellomycetes	Ascomycota	99
S-51-18S	<i>Coniochaeta velutina</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99

Tabla A2 (continuación)

Nombre clon	Secuencia del organismo más relacionado			% ID
	Número de acceso	Especie	Clase	
S-52-18S	GU250917.1	<i>Coniosporium apollinis</i>	-	Ascomycota
S-53-18S	FJ358331.1	<i>Chaetothyriales</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota
S-54-18S	AJ232953.1	<i>Cladophialophora</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota
S-55-18S	FJ358331.1	<i>Chaetothyriales</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota
S-56-18S	AB032657.1	<i>Cryptococcus vishniacii</i>	Tremellomycetes	Basidiomycota
S-57-18S	FJ358331.1	<i>Chaetothyriales</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota
S-58-18S	AY293141.1	<i>Lopharia mirabilis</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota
S-59-18S	FJ358331.1	<i>Chaetothyriales</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota
S-60-18S	AJ888458.1	<i>Sarcinomyces</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota
S-61-18S	AF164245.2	<i>Powellomyces</i> sp.	Chytridiomycetes	Chytridiomycota
S-61-18S	AF104667.1	<i>Selenaspora guernisacii</i>	Pezizomycetes	Ascomycota
S-63-18S	GQ154626.1	<i>Coniochaeta velutina</i>	Sordariomycetes	Ascomycota
S-64-18S	GU250917.1	<i>Coniosporium apollinis</i>	Dothideomycetes	Ascomycota
S-65-18S	FJ358331.1	<i>Chaetothyriales</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota
S-66-18S	AY665772.1	<i>Coprinus comatus</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota
S-67-18S	GQ160456.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota
S-68-18S	M59759.1	<i>Spizellomyces acuminatus</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota
S-69-18S	AB032614.1	<i>Cryptococcus aerius</i>	Tremellomycetes	Basidiomycota
S-70-18S	FJ827665.1	<i>Spizellomyces palustris</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota
S-71-18S	EU189213.1	<i>Phaeosphaeria nodorum</i>	Dothideomycetes	Chytridiomycota
S-72-18S	FJ358331.1	<i>Chaetothyriales</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota
S-73-18S	AB255606.1	<i>Tolyposcladium inflatum</i>	Sordariomycetes	Ascomycota
S-74-18S	AB521052.1	<i>Mortierella</i> sp.	Mortierellales	Zygomycota
S-75-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota
S-76-18S	FJ358331.1	<i>Chaetothyriales</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota

Tabla A2 (continuación)

Secuencia del organismo más relacionado					
Nombre clon	Número de acceso	Especie	Clase	División	% ID
S-77-18S	DQ810194.1	<i>Penicillium</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota	99
S-78-18S	GU214666.1	<i>Passalora graminis</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	85
S-79-18S	GQ154626.1	<i>Coniochaeta velutina</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
S-80-18S	AB032614.1	<i>Cryptococcus aerius</i>	Tremellomycetes	Basidiomycota	99
S-81-18S	AY293141.1	<i>Lopharia mirabilis</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	98
S-82-18S	D85645.1	<i>Rhizoctonia solani</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	98
S-83-18S	EF110888.1	<i>Sclerotinia minor</i>	Leotiomycetes	Ascomycota	98
S-84-18S	FJ358331.1	<i>Chaetothyriales</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota	97
S-85-18S	AB032614.1	<i>Cryptococcus aerius</i>	Tremellomycetes	Basidiomycota	99
S-86-18S	FJ827646.1	<i>Spizellomyces</i> sp.	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	94
S-87-18S	GQ154626.1	<i>Coniochaeta velutina</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
S-88-18S	AY293141.1	<i>Lopharia mirabilis</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	98
S-89-18S	GU250917.1	<i>Coniosporium apollinis</i>	-	Ascomycota	95
S-90-18S	FJ176284.1	<i>Chalara siamense</i>	Leotiomycetes	Ascomycota	95
S-91-18S	DQ810194.1	<i>Penicillium</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota	99
S-92-18S	AY293141.1	<i>Lopharia mirabilis</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	98
S-93-18S	AB521041.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
S-95-18S	DQ113915.1	<i>Agrocybe pedatae</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	98
S-97-18S	AB032614.1	<i>Cryptococcus aerius</i>	Tremellomycetes	Basidiomycota	99
S-98-18S	GU250917.1	<i>Coniosporium apollinis</i>	-	Ascomycota	95
S-99-18S	FJ358331.1	<i>Chaetothyriales</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota	97
S-100-18S	AJ301857.1	<i>Glomus</i> sp.	Glomeromycetes	Glomeromycota	76
S-101-18S	GU250917.1	<i>Coniosporium apollinis</i>	-	Ascomycota	95
S-103-18S	DQ787831.1	<i>Tricharina gilva</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	99
S-104-18S	DQ646544.1	<i>Peziza lobulata</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	98

Tabla A2 (continuación)

Nombre de clon		Secuencia del organismo más relacionado			
	Número de acceso	Especie	Clase	División	% ID
S-106-18S	GQ160456.1	<i>Rhizophyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	97
S-107-18S	D85645.1	<i>Rhizoctonia solani</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	98
S-108-18S	AJ496248.1	<i>Lecytophora</i> sp.	Sordariomycetes	Ascomycota	99
S-109-18S	AF164245.2	<i>Powellomyces</i> sp.	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	98
S-110-18S	AJ232954.1	<i>Exophiala</i> sp.	-	Ascomycota	91
S-111-18S	AB032657.1	<i>Cryptococcus vishniacii</i>	Tremellomycetes	Basidiomycota	99
S-112-18S	GU250917.1	<i>Coniosporium apollinis</i>	-	Ascomycota	95
S-113-18S	AB032614.1	<i>Cryptococcus aerius</i>	Tremellomycetes	Basidiomycota	99
S-114-18S	AB220230.1	<i>Apiospora montagnei</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	97
S-115-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	95
S-116-18S	FJ358331.1	<i>Chaetothyriales</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota	97
S-117-18S	DQ435814.1	<i>Chrysomphalina chrysophylla</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	91
S-118-18S	GQ154626.1	<i>Coniochaeta velutina</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
S-119-18S	FJ358331.1	<i>Chaetothyriales</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota	97
S-120-18S	GU296197.1	<i>Preussia lignicola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-122-18S	AF104667.1	<i>Selenaspora guernisacii</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	99
S-123-18S	GU059542.1	<i>Glomus indicum</i>	Glomerales	Glomeromycota	99

**Tabla A3:** Secuencias del marcador molecular rDNA18S obtenidas mediante el programa Blast-n (NCBI) que presentaron la mayor identidad con los clones procedentes de suelo árido (A) de la localidad de Sierra Pajaritos. % ID representa el porcentaje de identidad.

Nombre clon	Secuencia del organismo más relacionado				
	Número de acceso	Especie	Clase	División	% ID
A-2-18S	FJ430777.1	<i>Preussia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
A-3-18S	NG_017175.1	<i>Tricharina gilva</i>	Chytridiomycetes	Ascomycota	99
A-4-18S	AY456690.1	<i>Lecidea tessellata</i>	Lecanoromycetes	Ascomycota	85
A-5-18S	GU479751.1	<i>Floricola striata</i>	-	Ascomycota	99
A-6-18S	AF548106.1	<i>Ulocladium botrytis</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-7-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-9-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-11-18S	M83257.1	<i>Chaetomium elatum</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-12-18S	GU238224.1	<i>Phoma minutispora</i>	Glomerates	Glomeromycota	96
A-13-18S	NG_017175.1	<i>Madurella mycetomatis</i>	Sordariales	Ascomycota	99
A-14-18S	AF548106.1	<i>Ulocladium botrytis</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-15-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-16-18S	NG_013151.1	<i>Coniosporium apollinis</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-17-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-18-18S	FJ430777.1	<i>Preussia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
A-19-18S	FJ827643.1	<i>Phlyctochytrium reinboldiae</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	90
A-20-18S	EU826480.1	<i>Chaetomium</i> sp.	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-21-18S	EU887762.1	<i>Ascomycota</i> sp.	-	Ascomycota	97
A-22-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-23-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-24-18S	M83257.1	<i>Chaetomium elatum</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-25-18S	M83257.1	<i>Chaetomium elatum</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99

Tabla A3 (continuación)

Nombre clon		Secuencia del organismo más relacionado			
	Número de acceso	Especie	Clase	División	% ID
A-26-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-29-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-30-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-31-18S	EU754080.1	<i>Phoma betae</i>	Glomerales	Glomeromycota	96
A-33-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-34-18S	EU826480.1	<i>Chaetomium</i> sp.	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-35-18S	DQ678009.1	<i>Cucurbitaria elongata</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-36-18S	AF048793.1	<i>Chaetomium funicola</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	83
A-37-18S	AF548106.1	<i>Ulocladium botrytis</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-38-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-39-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-40-18S	EU686519.1	<i>Monodictys arctica</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-41-18S	EU826480.1	<i>Chaetomium</i> sp.	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-42-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-43-18S	DQ678009.1	<i>Cucurbitaria elongata</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-44-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-45-18S	DQ678009.1	<i>Cucurbitaria elongata</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-46-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-47-18S	HM150641.1	<i>Paraconiothyrium variabile</i>	Glomerales	Glomeromycota	97
A-48-18S	FJ515314.1	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Agaricomycetes	Basidiomycota	99
A-49-18S	DQ678009.1	<i>Cucurbitaria elongata</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-50-18S	DQ678009.1	<i>Cucurbitaria elongata</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-52-18S	FJ430777.1	<i>Preussia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
A-53-18S	EU887762.1	<i>Ascomycota</i> sp.		Ascomycota	97
A-54-18S	DQ678009.1	<i>Cucurbitaria elongata</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99



Tabla A3 (continuación)

Secuencia del organismo más relacionado					
Nombre clon	Número de acceso	Especie	Clase	División	% ID
A-55-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-56-18S	EU686519.1	<i>Monodictys arctica</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-57-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-58-18S	FJ515314.1	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Agaricomycetes	Basidiomycota	99
A-59-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-60-18S	FJ430777.1	<i>Preussia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
A-61-18S	FJ430777.1	<i>Preussia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
A-61-18S	EU887762.1	<i>Ascomycota</i> sp.		Ascomycota	97
A-63-18S	FJ430777.1	<i>Preussia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
A-64-18S	DQ678009.1	<i>Cucurbitaria elongata</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-65-18S	M83257.1	<i>Chaetomium elatum</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-66-18S	FJ430777.1	<i>Preussia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
A-67-18S	EU826480.1	<i>Chaetomium</i> sp.	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-68-18S	DQ680067.1	<i>Stachybotrys chlorohalonata</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	92
A-69-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-70-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-71-18S	GQ253350.1	<i>Paraphaeosphaeria</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
A-72-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-73-18S	AF548106.1	<i>Ulocladium botrytis</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-74-18S	EU826480.1	<i>Chaetomium</i> sp.	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-75-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-76-18S	EU826480.1	<i>Chaetomium</i> sp.	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-77-18S	EU887762.1	<i>Ascomycota</i> sp.	Mortierellales	Zygomycota	97
A-78-18S	M83257.1	<i>Chaetomium elatum</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-79-18S	EU826480.1	<i>Chaetomium</i> sp.	Sordariomycetes	Ascomycota	99

Tabla A3 (continuación)

Secuencia del organismo más relacionado					
Nombre clon	Número de acceso	Especie	Clase	División	% ID
A-80-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-81-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-82-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-83-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-84-18S	EU192364.1	<i>Malassezia globosa</i>	Exobasidiomycetes	Basidiomycota	99
A-85-18S	AF548106.1	<i>Ulocladium botrytis</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-86-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-87-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-88-18S	DQ384067.1	<i>Eremodothis angulata</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	87
A-89-18S	EU826480.1	<i>Chaetomium</i> sp.	Sordariomycetes	Chytridiomycota	99
A-90-18S	GU479751.1	<i>Floricola striata</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-91-18S	AY313953.1	<i>Asteromassaria olivaceohirta</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	96
A-93-18S	EU887762.1	<i>Ascomycota</i> sp.		Ascomycota	97
A-94-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-95-18S	GQ253350.1	<i>Paraphaeosphaeria</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
A-96-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-97-18S	AY757266.1	<i>Ceratobasidium</i> sp.	Agaricomycetes	Basidiomycota	99
A-98-18S	FJ430777.1	<i>Preussia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
A-99-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-100-18S	GQ387572.1	<i>Setomelanomma holmii</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-101-18S	EU826480.1	<i>Chaetomium</i> sp.	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-102-18S	EU826480.1	<i>Chaetomium</i> sp.	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-103-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-104-18S	EU686519.1	<i>Monodictys arctica</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-105-18S	FJ430777.1	<i>Preussia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98

Tabla A3 (continuación)

Secuencia del organismo más relacionado		Secuencia del organismo más relacionado			
Nombre clon	Número de acceso	Especie	Clase		
			División		
			% ID		
A-107-18S	GU296197.1	<i>Preussia lignicola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	98
A-108-18S	GQ387555.1	<i>Pyrenochaeta nobilis</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	84
A-109-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-110-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-111-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-112-18S	M83257.1	<i>Chaetomium elatum</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-113-18S	L76622.1	<i>Zopfia rhizophila</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	96
A-114-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-115-18S	DQ678009.1	<i>Cucurbitaria elongata</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-116-18S	M83257.1	<i>Chaetomium elatum</i>	Sordariomycetes	Ascomycota	99
A-117-18S	NG_013151.1	<i>Preussia terricola</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-118-18S	FJ515314.1	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Agaricomycetes	Basidiomycota	99
A-119-18S	FJ430777.1	<i>Preussia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
A-120-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99
A-121-18S	GQ499384.1	<i>Spizellomyces pseudodichotomus</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	89
A-123-18S	GU190186.1	<i>Cochliobolus</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	88
A-124-18S	GU238212.1	<i>Phoma capitulum</i>	Glomerales	Glomeromycota	95
A-125-18S	FJ515314.1	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Agaricomycetes	Basidiomycota	99
A-126-18S	NG_017175.1	<i>Rhizophlyctis rosea</i>	Chytridiomycetes	Chytridiomycota	99

**Tabla A4:** Secuencias del marcador molecular ITS obtenidas mediante el programa Blast-n (NCBI) que presentaron la mayor identidad con los clones procedentes de suelo semiárido (S) de la localidad de El Romeral. % ID representa el porcentaje de identidad.

Nombre clon	Secuencia del organismo más relacionado				% ID
	Número de acceso	Especie	Clase	División	
S-2-ITS1	DQ525482.1	<i>Pleopsisidium chlorophanum</i>	Lecanoromycetes	Ascomycota	82
S-3-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-4-ITS1	EU669387.1	<i>Pseudaleuria quinauliana</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	92
S-5-ITS1	AJ971447.1	<i>Coniosporium</i> sp.	Dothideomycetes	Basidiomycota	98
S-6-ITS1	AF482863.1	<i>Leucoagaricus crystallifer</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	96
S-7-ITS1	GQ153175.1	<i>Pezizomycetes</i> sp.	Pezizomycetes	Ascomycota	96
S-8-ITS1	AF482863.1	<i>Leucoagaricus crystallifer</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	96
S-9-ITS1	GQ153175.1	<i>Pezizomycetes</i> sp.	Pezizomycetes	Ascomycota	96
S-10-ITS1	AJ244276.1	<i>Pringsheimia euphorbiae</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	91
S-11-ITS1	FJ839617.1	<i>Cyphellophora eugeniae</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota	83
S-14-ITS1	EU784238.1	<i>Geastrum minimum</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	88
S-15-ITS1	AJ971447.1	<i>Coniosporium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
S-16-ITS1	GQ911534.1	<i>Cryptococcus aerius</i>	Tremellomycetes	Basidiomycota	99
S-17-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-18-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-19-ITS1	AF482863.1	<i>Leucoagaricus crystallifer</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	96
S-20-ITS1	DQ525482.1	<i>Pleopsisidium chlorophanum</i>	Lecanoromycetes	Ascomycota	82
S-21-ITS1	AJ971447.1	<i>Coniosporium</i> sp.	Dothideomycetes	Basidiomycota	98
S-22-ITS1	DQ317360.1	<i>Cryptococcus</i> sp.	Tremellomycetes	Basidiomycota	98
S-23-ITS1	GQ911534.1	<i>Cryptococcus aerius</i>	Tremellomycetes	Basidiomycota	99
S-24-ITS1	GU212409.1	<i>Pezizomycotina</i> sp.	Pezizomycetes	Ascomycota	97
S-25-ITS1	DQ112629.1	<i>Tulostoma kotlabae</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	86

Tabla A4 (continuación)

Nombre clon		Secuencia del organismo más relacionado			Clase	División	% ID
	Número de acceso	Especie					
S-26-ITS1	AF482863.1	<i>Leucoagaricus crystallifer</i>		Agaricomycetes	Basidiomycota	96	
S-27-ITS1	AF482863.1	<i>Leucoagaricus crystallifer</i>		Agaricomycetes	Basidiomycota	96	
S-28-ITS1	GQ153108.1	<i>Leotiomycetes</i> sp.		Leotiomycetes	Ascomycota	83	
S-29-ITS1	EU784437.1	<i>Tulostoma niveum</i>		Agaricomycetes	Basidiomycota	88	
S-30-ITS1	DQ525482.1	<i>Pleopsidium chlorophanum</i>		Lecanoromycetes	Ascomycota	87	
S-31-ITS1	DQ112629.1	<i>Tulostoma kotlabae</i>		Agaricomycetes	Basidiomycota	86	
S-32-ITS1	GQ911534.1	<i>Cryptococcus aerius</i>		Tremellomycetes	Basidiomycota	99	
S-34-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.		Dothideomycetes	Ascomycota	99	
S-35-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.		Dothideomycetes	Ascomycota	99	
S-37-ITS1	GQ911534.1	<i>Cryptococcus aerius</i>		Tremellomycetes	Basidiomycota	99	
S-38-ITS1	DQ317360.1	<i>Cryptococcus</i> sp.		Tremellomycetes	Basidiomycota	98	
S-39-ITS1	GQ153175.1	<i>Pezizomycetes</i> sp.		Pezizomycetes	Ascomycota	96	
S-40-ITS1	AJ971447.1	<i>Coniosporium</i> sp.		Dothideomycetes	Ascomycota	98	
S-41-ITS1	AF444367.1	<i>Cryptococcus elinovii</i>		Tremellomycetes	Basidiomycota	98	
S-42-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.		Dothideomycetes	Ascomycota	99	
S-43-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.		Dothideomycetes	Ascomycota	99	
S-44-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.		Dothideomycetes	Ascomycota	99	
S-45-ITS1	FJ755200.1	<i>Botryosphaeria dothidea</i>		Dothideomycetes	Ascomycota	82	
S-46-ITS1	AY345356.1	<i>Embellisia</i> sp.		Dothideomycetes	Ascomycota	99	
S-47-ITS1	AJ971447.1	<i>Coniosporium</i> sp.		Dothideomycetes	Ascomycota	98	
S-48-ITS1	AY345356.1	<i>Embellisia</i> sp.		Dothideomycetes	Ascomycota	99	
S-49-ITS1	AF050258.1	<i>Capronia</i> sp.		Eurotiomycetes	Ascomycota	85	
S-50-ITS1	AJ971447.1	<i>Coniosporium</i> sp.		Dothideomycetes	Ascomycota	98	
S-51-ITS1	GQ911534.1	<i>Cryptococcus aerius</i>		Tremellomycetes	Basidiomycota	99	
S-52-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.		Dothideomycetes	Ascomycota	99	

Tabla A4 (continuación)

Secuencia del organismo más relacionado					
Nombre clon	Número de acceso	Especie	Clase	División	% ID
S-53-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomyces</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-54-ITS1	AY345356.1	<i>Embellisia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-55-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomyces</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-56-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomyces</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-57-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomyces</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-58-ITS1	GU212409.1	<i>Peizomycotina</i> sp.	Peizomycetes	Ascomycota	95
S-60-ITS1	FJ379805.1	<i>Penicillium</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota	99
S-61-ITS1	DQ525482.1	<i>Pleopsidium chlorophanum</i>	Lecanoromycetes	Ascomycota	82
S-62-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-63-ITS1	AJ971447.1	<i>Coniosporium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
S-64-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomyces</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-65-ITS1	AY194553.1	<i>Conocybe</i> sp.	Agaricomycetes	Basidiomycota	84
S-66-ITS1	GQ153175.1	<i>Peizomyces</i> sp.	Peizomycetes	Ascomycota	96
S-67-ITS1	DQ112629.1	<i>Tulostoma kotlabae</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	86
S-68-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomyces</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-69-ITS1	AY345356.1	<i>Embellisia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-70-ITS1	GQ153108.1	<i>Leotiomycetes</i> sp.	Leotiomycetes	Ascomycota	83
S-71-ITS1	AF444367.1	<i>Cryptococcus elinovii</i>	Tremellomycetes	Basidiomycota	99
S-72-ITS1	AY345356.1	<i>Embellisia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-73-ITS1	DQ112629.1	<i>Tulostoma kotlabae</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	86
S-74-ITS1	AJ971447.1	<i>Coniosporium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
S-75-ITS1	FJ839617.1	<i>Cyphelophora eugeniae</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota	83
S-76-ITS1	AF482863.1	<i>Leucoagaricus crystallifer</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	96
S-77-ITS1	GQ911534.1	<i>Cryptococcus aerius</i>	Tremellomycetes	Basidiomycota	99
S-79-ITS1	AY943059.1	<i>Preussia funiculata</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	94

Tabla A4 (continuación)

Secuencia del organismo más relacionado					
Nombre clon	Número de acceso	Especie	Clase	División	% ID
S-80-ITS1	HQ130702.1	<i>Preussia</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	85
S-81-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-83-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-84-ITS1	AY943059.1	<i>Preussia funiculata</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	94
S-85-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-86-ITS1	AJ971447.1	<i>Coniosporium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
S-87-ITS1	DQ683978.1	<i>Ascomycete</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	98
S-88-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-89-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-90-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-93-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-94-ITS1	GQ153108.1	<i>Leotiomyces</i> sp.	Leotiomyces	Ascomycota	83
S-95-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
S-96-ITS1	AF269068.1	<i>Ericoid mycorrhizal</i> -sp.	Leotiomyces	Ascomycota	96
S-97-ITS1	GQ911534.1	<i>Cryptococcus aerius</i>	Tremellomycetes	Basidiomycota	99

Tabla A5: Secuencias del marcador molecular ITS obtenidas mediante el programa Blast-n (NCBI) que presentaron la mayor identidad con los clones procedentes de suelo árido (A) de la localidad de Sierra Pajaritos. % ID representa el porcentaje de identidad.

Nombre clon	Secuencia del organismo más relacionado			División	% ID
	Número de acceso	Especie	Clase		
A-1-ITS1	HQ115714.1	<i>Pleosporales</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	92
A-2-ITS1	GU212409.1	<i>Pezizomycotina</i> sp.	Pezizomycetes	Ascomycota	99
A-3-ITS1	AF435827.1	<i>Choiromyces venosus</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	99
A-4-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-5-ITS1	AJ271628.2	<i>Ascobolus immersus</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	84
A-6-ITS1	AJ271628.2	<i>Ascobolus immersus</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	84
A-7-ITS1	AJ271628.2	<i>Ascobolus immersus</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	83
A-8-ITS1	FJ571458.1	<i>Gymnoascus</i> sp.	Eurotiomycetes	Ascomycota	89
A-9-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-10-ITS1	DQ683976.1	<i>Ascomycete</i> sp.	-	Ascomycota	96
A-11-ITS1	GQ121326.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-12-ITS1	GQ121326.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-13-ITS1	GU212409.1	<i>Pezizomycotina</i> sp.	Pezizomycetes	Ascomycota	99
A-14-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-15-ITS1	AJ271628.2	<i>Ascobolus immersus</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	84
A-16-ITS1	AB361639.1	<i>Gymnoascoideus petalosporus</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota	90
A-18-ITS1	DQ458903.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-19-ITS1	AJ300336.1	<i>Cladosporium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	97
A-20-ITS1	AJ300336.1	<i>Cladosporium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	97
A-21-ITS1	AF435827.1	<i>Choiromyces venosus</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	99
A-22-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-23-ITS1	AB361639.1	<i>Gymnoascoideus petalosporus</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota	90



Tabla A5 (continuación)

Secuencia del organismo más relacionado					
Nombre clon	Número de acceso	Especie	Clase	División	
				% ID	
A-24-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-25-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-26-ITS1	AB361639.1	<i>Gymnoascoides petalospuris</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota	90
A-27-ITS1	AB361643.1	<i>Gymnoascus reesii</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota	87
A-28-ITS1	AF435827.1	<i>Choiromyces venosus</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	99
A-29-ITS1	EU626069.1	<i>Cryptococcus</i> sp.	Tremellomycetes	Basidiomycota	85
A-30-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-32-ITS1	AB361643.1	<i>Gymnoascus reesii</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota	87
A-33-ITS1	DQ780380.2	<i>Cladosporium langeronii</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	100
A-34-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-35-ITS1	EU626069.1	<i>Cryptococcus</i> sp.	Tremellomycetes	Basidiomycota	85
A-36-ITS1	AF435827.1	<i>Choiromyces venosus</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	99
A-37-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-38-ITS1	GQ121326.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-39-ITS1	GU723448.1	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota	99
A-40-ITS1	GQ121326.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-41-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-42-ITS1	GU214631.1	<i>Cladosporium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-43-ITS1	AF435827.1	<i>Choiromyces venosus</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	99
A-45-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-46-ITS1	AY649593.1	<i>Pyrenochaeta lycopersici</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	100
A-47-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-48-ITS1	DQ458903.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-49-ITS1	EU040243.2	<i>Toxicocladosporium irritans</i>	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-50-ITS1	AJ244256.1	<i>Phaeotheca triangularis</i>	-	Ascomycota	91

Tabla A5 (continuación)

Secuencia del organismo más relacionado					
Nombre clon	Número de acceso	Especie	Clase	División	% ID
A-51-ITS1	DQ865086.1	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Agaricomycetes	Basidiomycota	97
A-52-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-53-ITS1	GQ121326.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-54-ITS1	GU214631.1	<i>Cladosporium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-55-ITS1	AJ271628.2	<i>Ascobolus immersus</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	91
A-56-ITS1	HQ115714.1	<i>Pleosporales</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	92
A-57-ITS1	EU002867.1	<i>Cryptococcus</i> sp.	Tremellomycetes	Ascomycota	99
A-58-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-59-ITS1	FN868451.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-60-ITS1	AF435827.1	<i>Choiromyces venosus</i>	Pezizomycetes	Ascomycota	99
A-61-ITS1	AJ971455.1	<i>Contiosporium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	88
A-63-ITS1	GU212409.1	<i>Pezizomycotina</i> sp.	Pezizomycetes	Ascomycota	99
A-64-ITS1	AF482863.1	<i>Leucoagaricus crystalifer</i>	Agaricomycetes	Basidiomycota	96
A-65-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-66-ITS1	EF669988.1	<i>Neosartorya spinosa</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota	97
A-67-ITS1	GQ121326.1	<i>Ulocladium</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99
A-69-ITS1	AB361639.1	<i>Gymnoascoideus petalosporus</i>	Eurotiomycetes	Ascomycota	86
A-70-ITS1	GU212409.1	<i>Pezizomycotina</i> sp.	Pezizomycetes	Ascomycota	94
A-71-ITS1	GQ153023.1	<i>Dothideomycetes</i> sp.	Dothideomycetes	Ascomycota	99

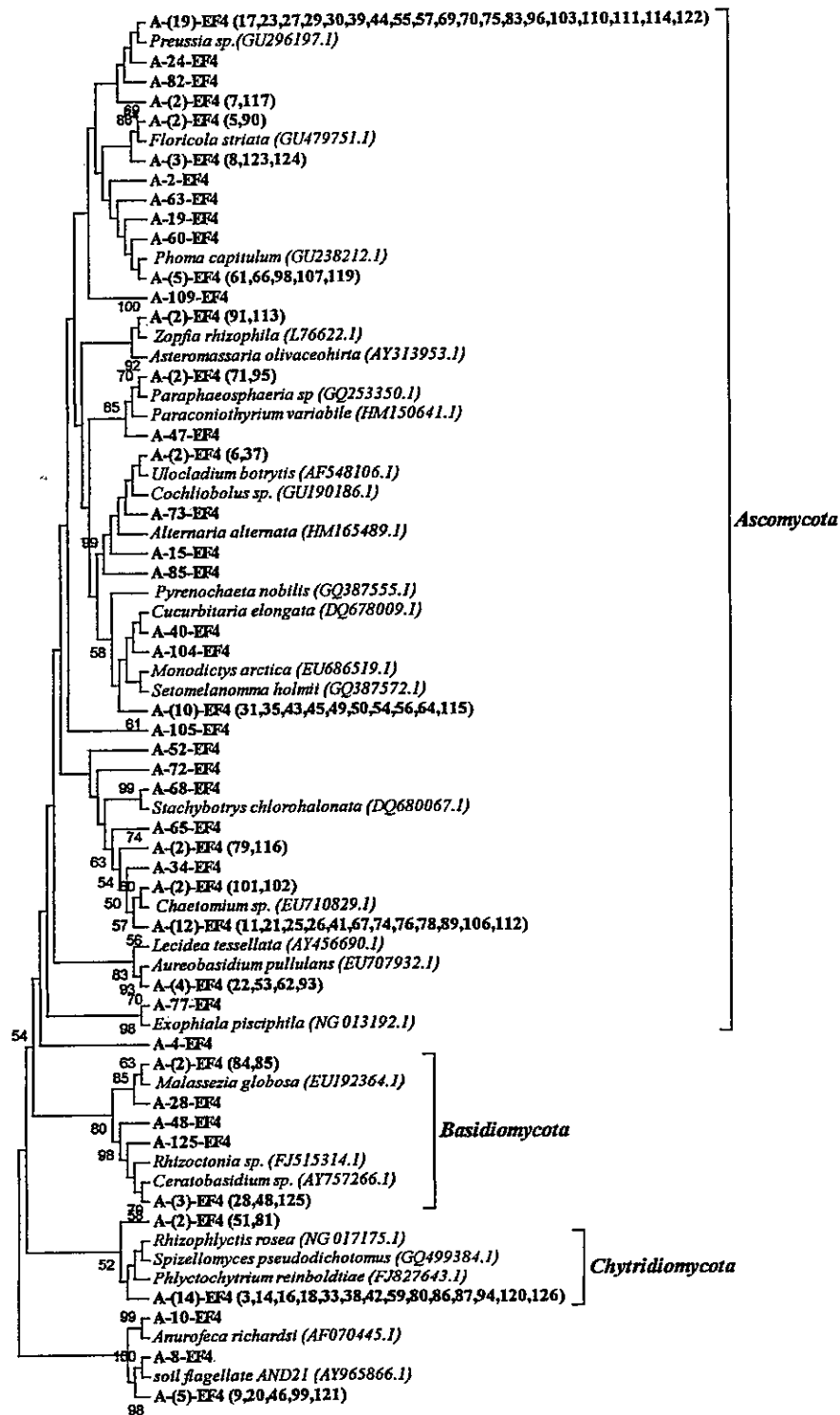


Figura A4. Análisis de agrupamiento de las secuencias obtenidas con el marcador molecular rDNA18S del suelo árido (A). Se usó el índice de Jukes y Cantor para calcular las distancias genéticas. La topología del árbol se infirió mediante el algoritmo Neighbor-Joining con 1000 iteraciones de *bootstrap*. En negrita se muestran las secuencias obtenidas. Se incluyen secuencias publicadas en el GenBank relacionadas a los clones obtenidos, junto a cada secuencia se indica el número de acceso. Se muestran los valores de *bootstrap* sobre 50.

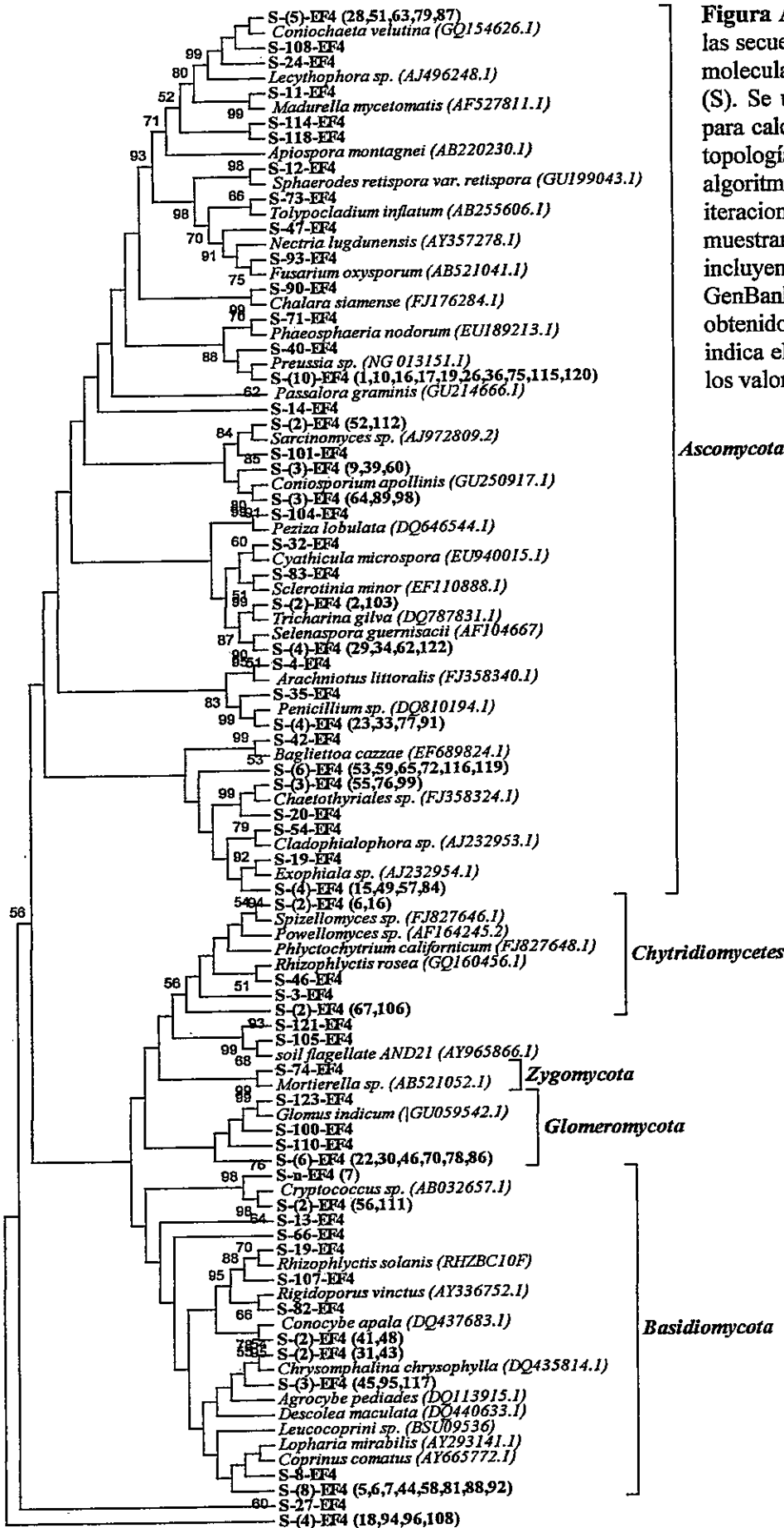
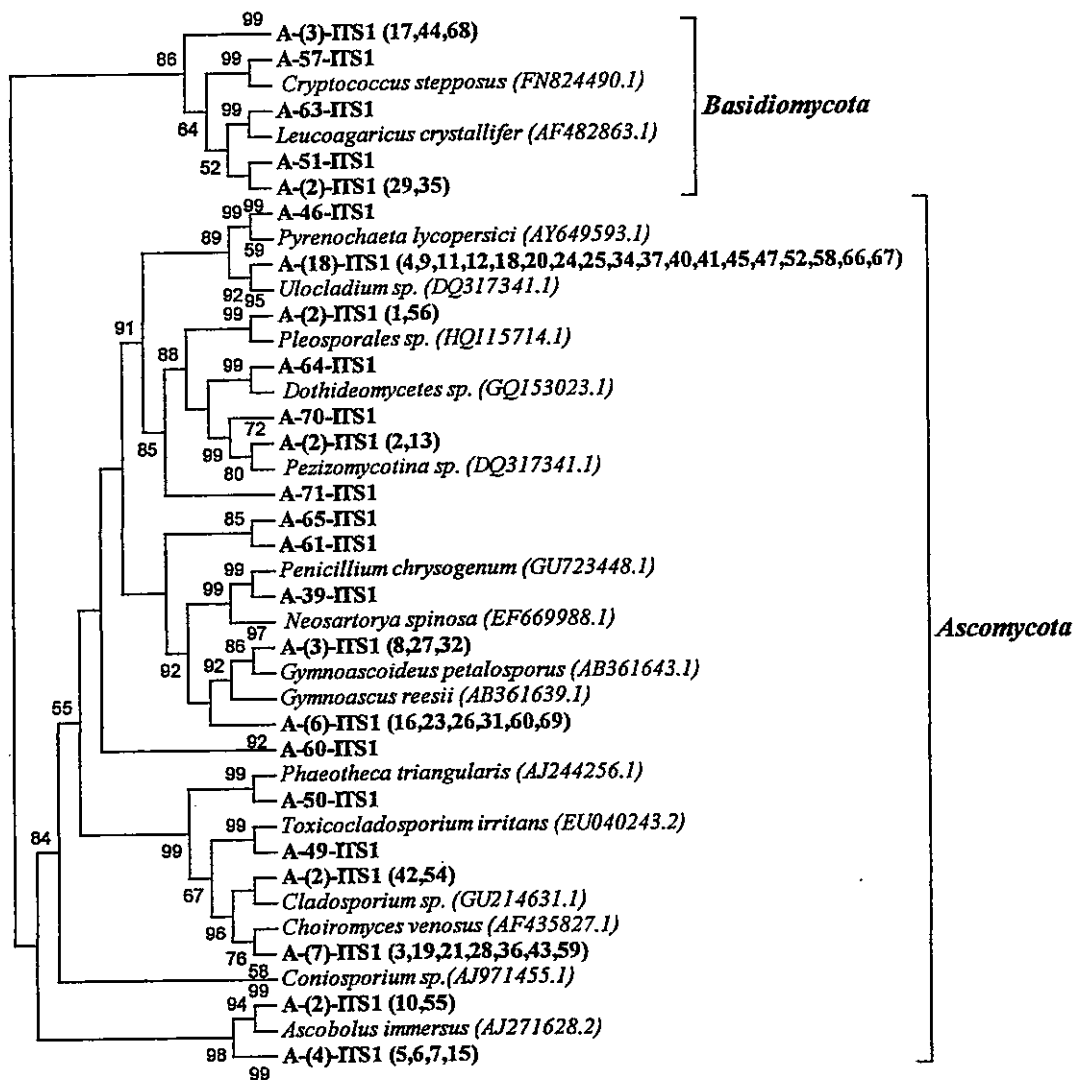
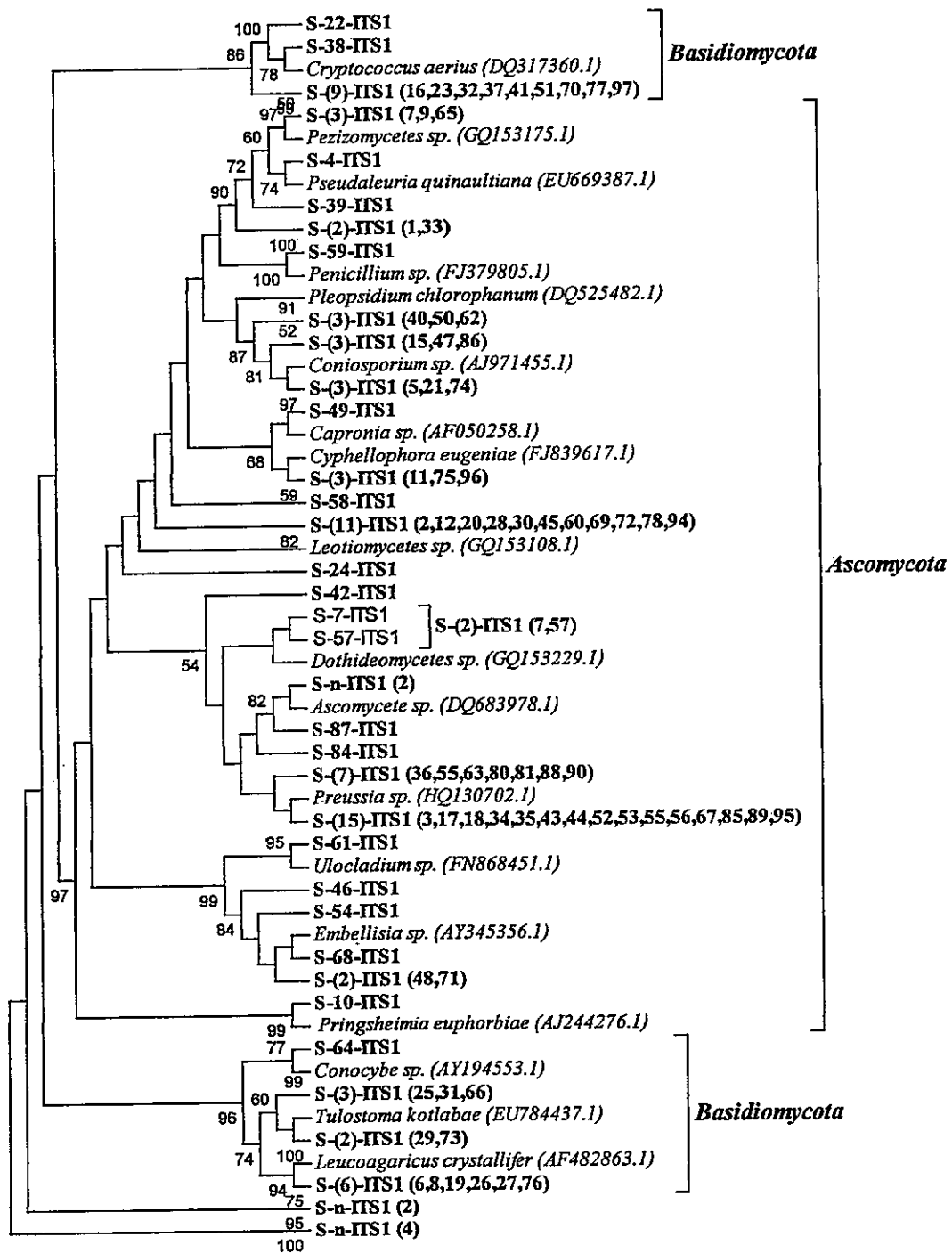


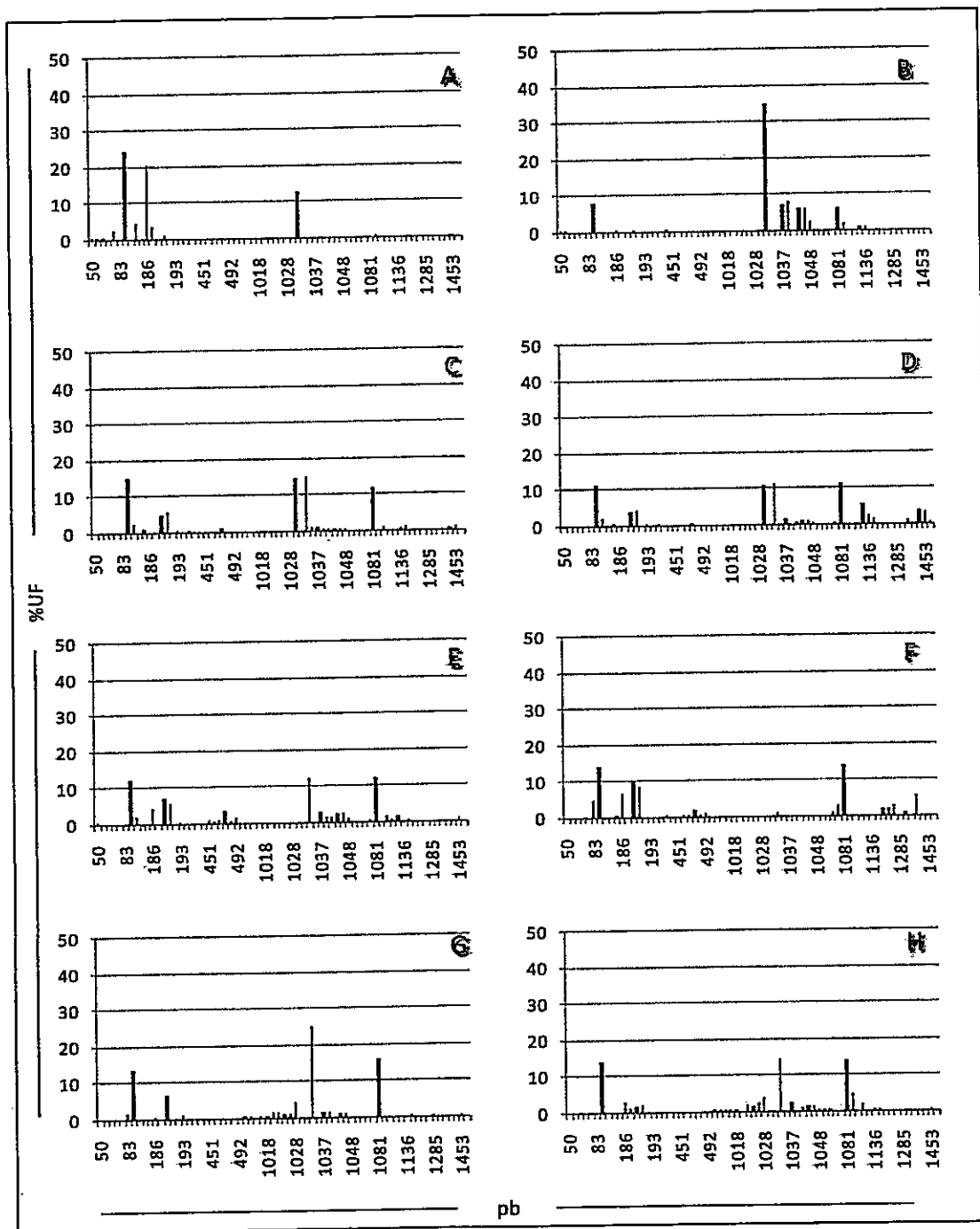
Figura A5. Análisis de agrupamiento de las secuencias obtenidas con el marcador molecular rDNA18S del suelo semiárido (S). Se usó el índice de Jukes y Cantor para calcular las distancias genéticas. La topología del árbol se infirió mediante el algoritmo Neighbor-Joining con 1000 iteraciones de *bootstrap*. En negrita se muestran las secuencias obtenidas. Se incluyen secuencias publicadas en el GenBank relacionadas a los clones obtenidos, junto a cada secuencia se indica el número de acceso. Se muestran los valores de *bootstrap* sobre 50.



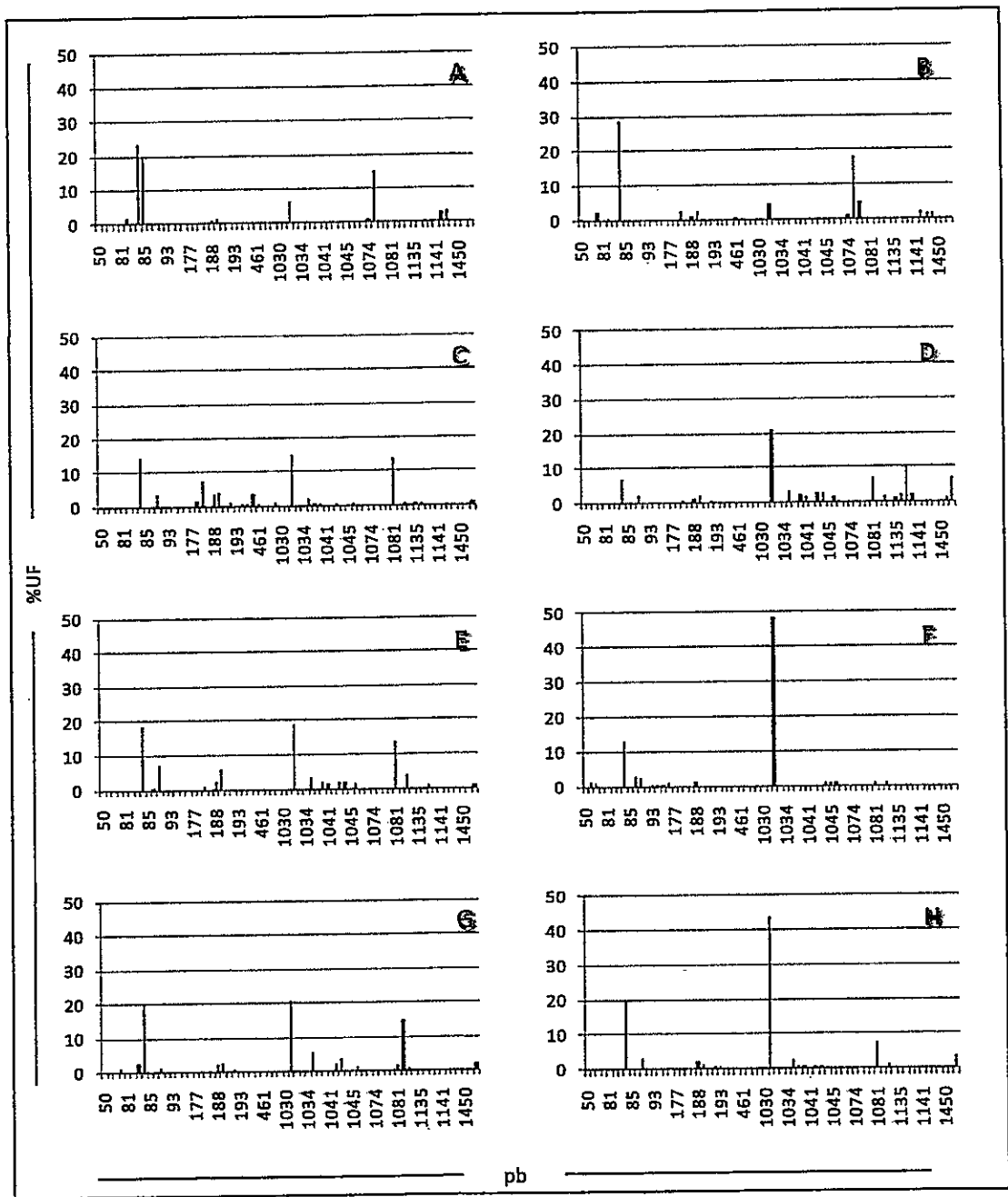
**Figura A6.** Análisis de agrupamiento de las secuencias obtenidas con el marcador molecular ITS del suelo árido (A). Se usó el índice de Jukes y Cantor para calcular las distancias genéticas. La topología del árbol se infirió mediante el algoritmo Neighbor-Joining con 1000 iteraciones de *bootstrap*. En negrita se muestran las secuencias obtenidas. Se incluyen secuencias publicadas en el GenBank relacionadas a los clones obtenidos, junto a cada secuencia se indica el número de acceso. Se muestran los valores de *bootstrap* sobre 50.



**Figura A7.** Análisis de agrupamiento de las secuencias obtenidas con el marcador molecular ITS del suelo semiárido (S). Se usó el índice de Jukes y Cantor para calcular las distancias genéticas. La topología del árbol se infirió mediante el algoritmo Neighbor-Joining con 1000 iteraciones de *bootstrap*. En negrita se muestran las secuencias obtenidas. Se incluyen secuencias publicadas en el GenBank relacionadas a los clones obtenidos, junto a cada secuencia se indica el número de acceso. Se muestran los valores de *bootstrap* sobre 50.

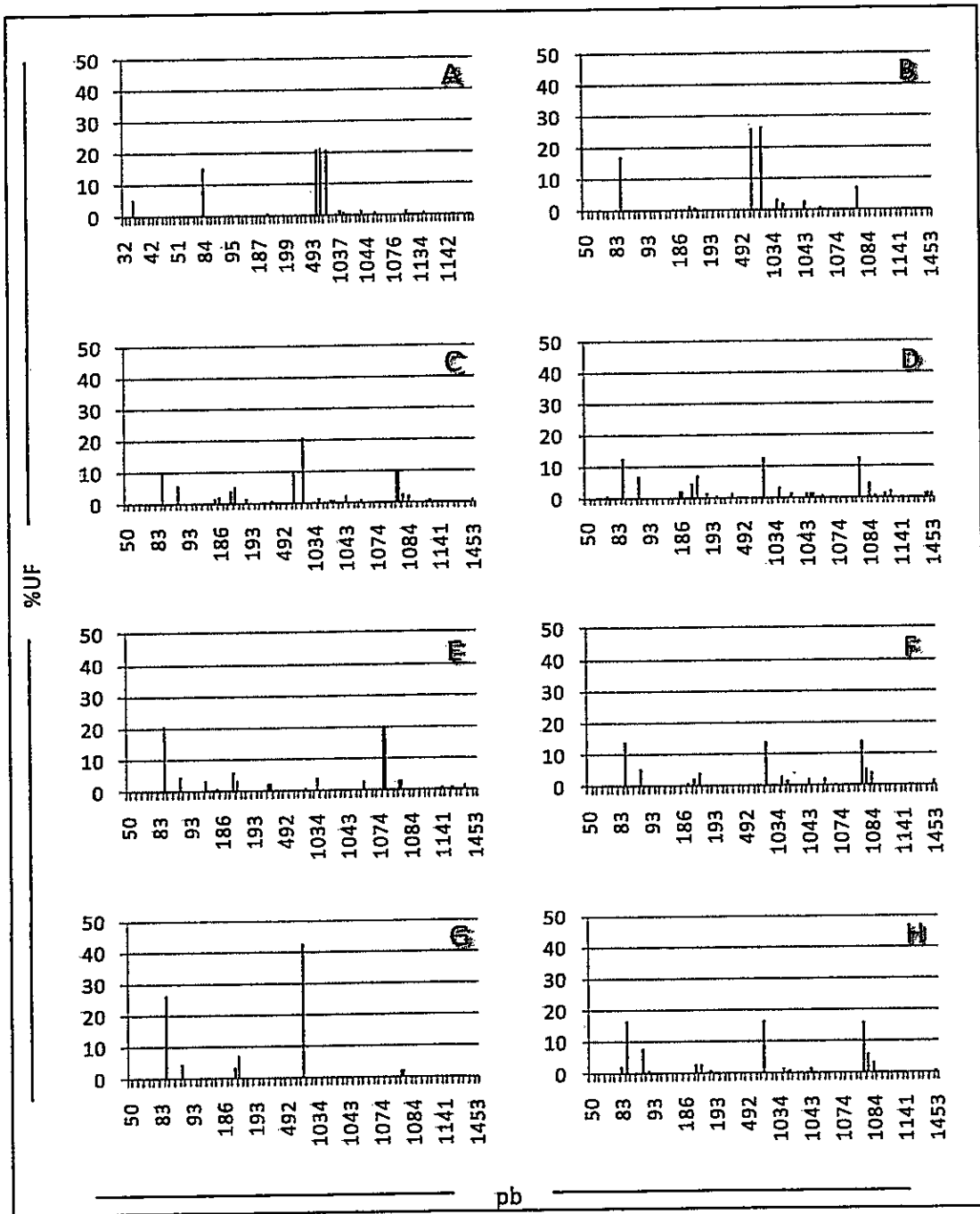


**Figura A8.** Perfiles de TRFLP utilizando el marcador molecular rDNA18S durante la incubación de los microcosmos de suelo árido montados para determinar el efecto de los pulsos de agua y los controles sin tratamiento. A, C, E, G: microcosmos A-H<sub>2</sub>O(14) a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación; B, D, F, H: microcosmos A-s/t a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación.

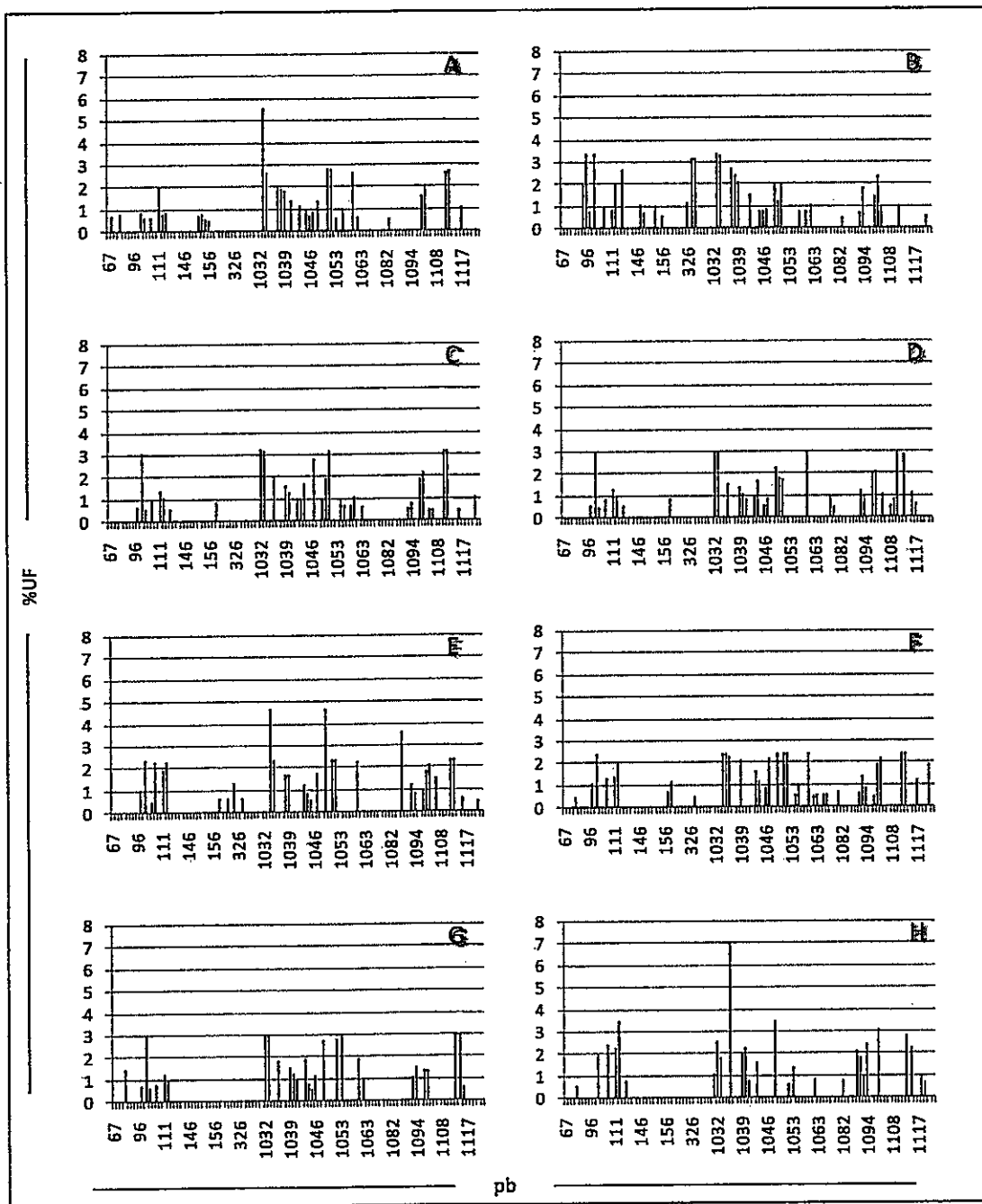


**Figura A9.** Perfiles de TRFLP utilizando el marcador molecular rDNA18S durante la incubación de los microcosmos de suelo árido montados para determinar el efecto de la disponibilidad de agua y ácido. A, C, E, G: microcosmos A-H<sub>2</sub>O a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación; B, D, F, H: microcosmos A-Ac a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación.

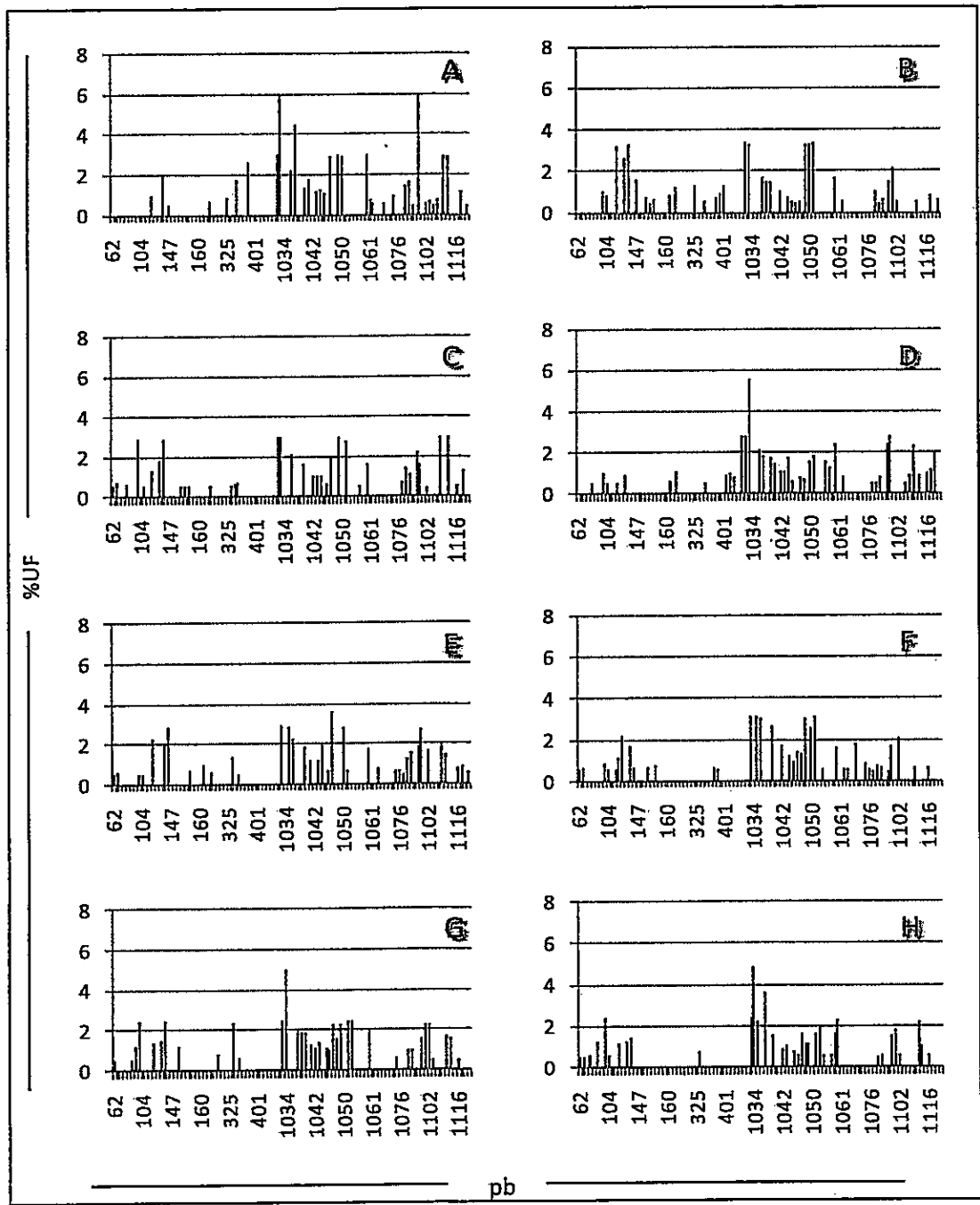




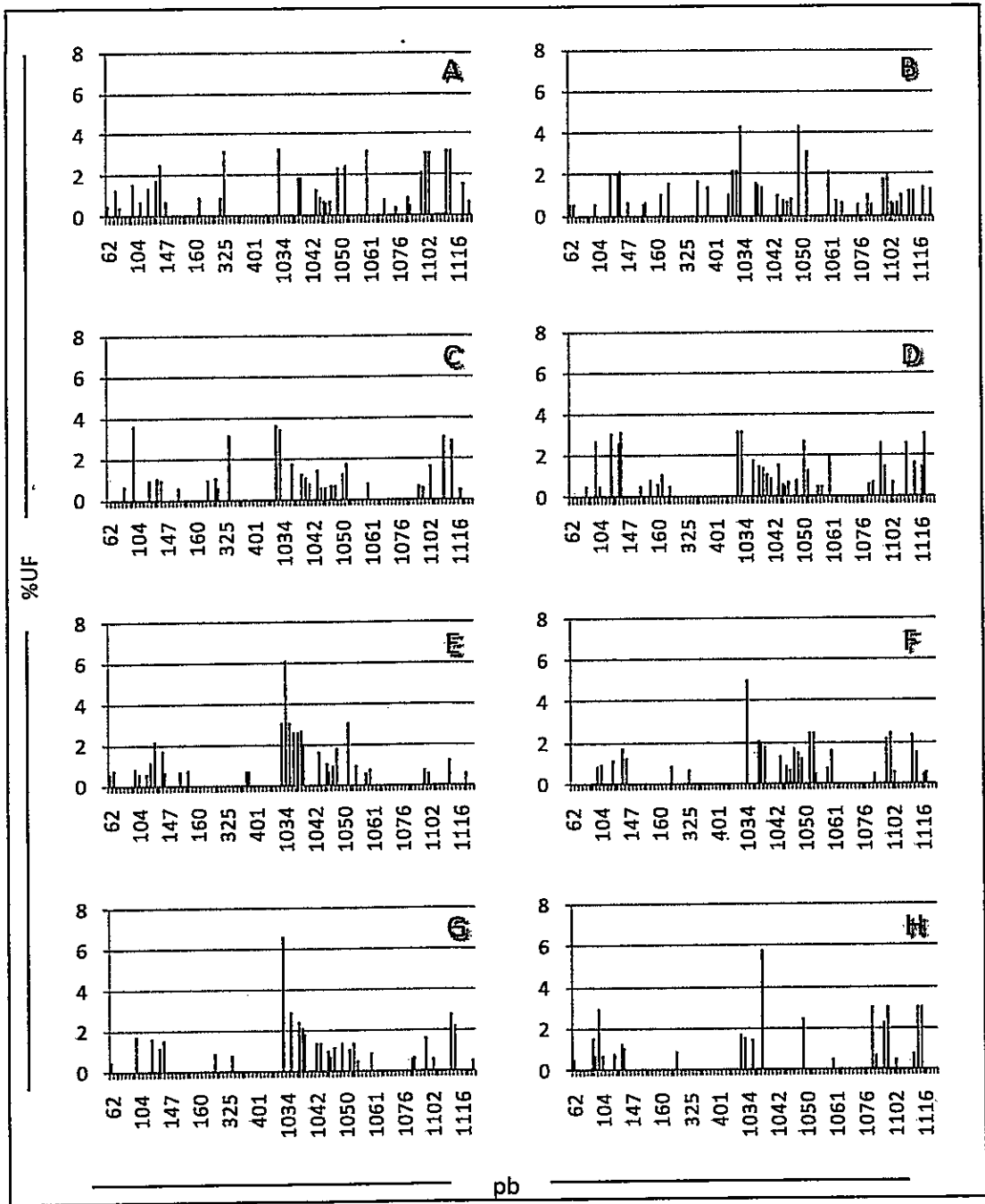
**Figura A10.** Perfiles de TRFLP utilizando el marcador molecular rDNA18S durante la incubación de los microcosmos de suelo árido montados para determinar el efecto del nitrógeno reactivo ácido. A, C, E, G: microcosmos A-Nr a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación; B, D, F, H: microcosmos A-NrAc a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación.



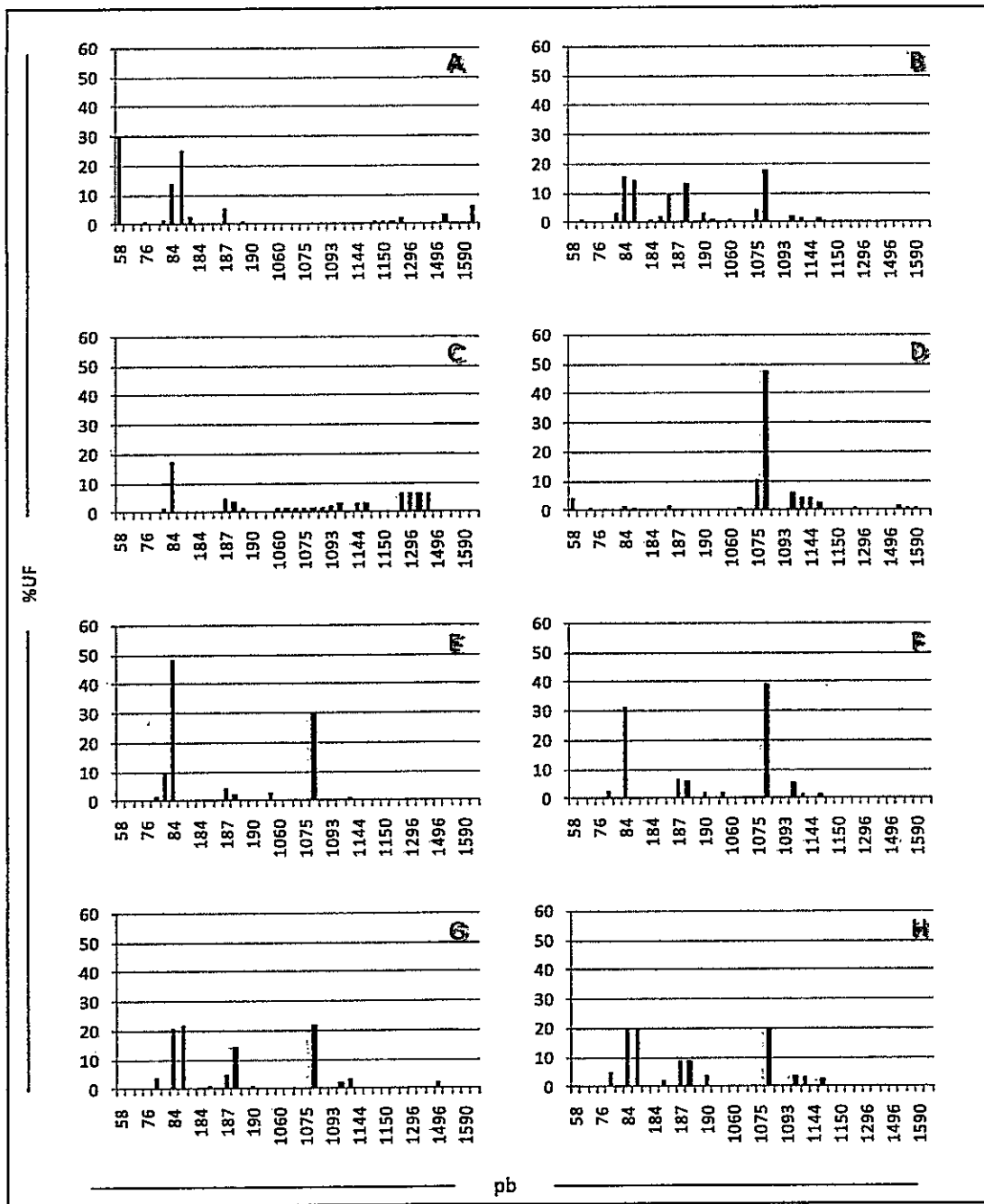
**Figura A11.** Perfiles de TRFLP utilizando el marcador molecular ITS durante la incubación de los microcosmos de suelo árido montados para determinar el efecto de los pulsos de agua y los controles sin tratamiento. A, C, E, G: microcosmos A-H<sub>2</sub>O(14) a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación; B, D, F, H: microcosmos A-s/t a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación.



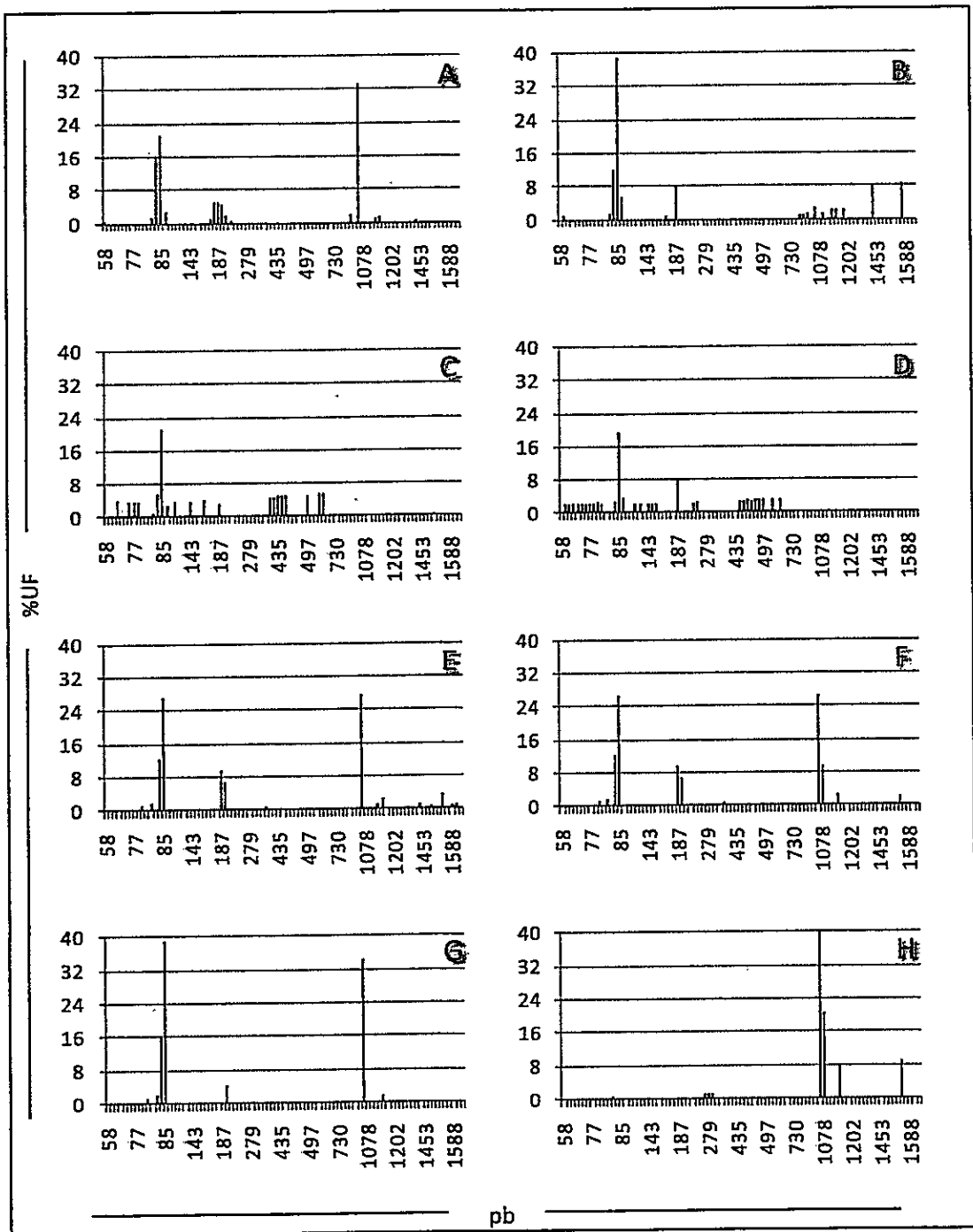
**Figura A12.** Perfiles de TRFLP utilizando el marcador molecular ITS durante la incubación de los microcosmos de suelo árido montados para determinar el efecto de la disponibilidad de agua y ácido. A, C, E, G: microcosmos A-H<sub>2</sub>O a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación; B, D, F, H: microcosmos A-Ac a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación.



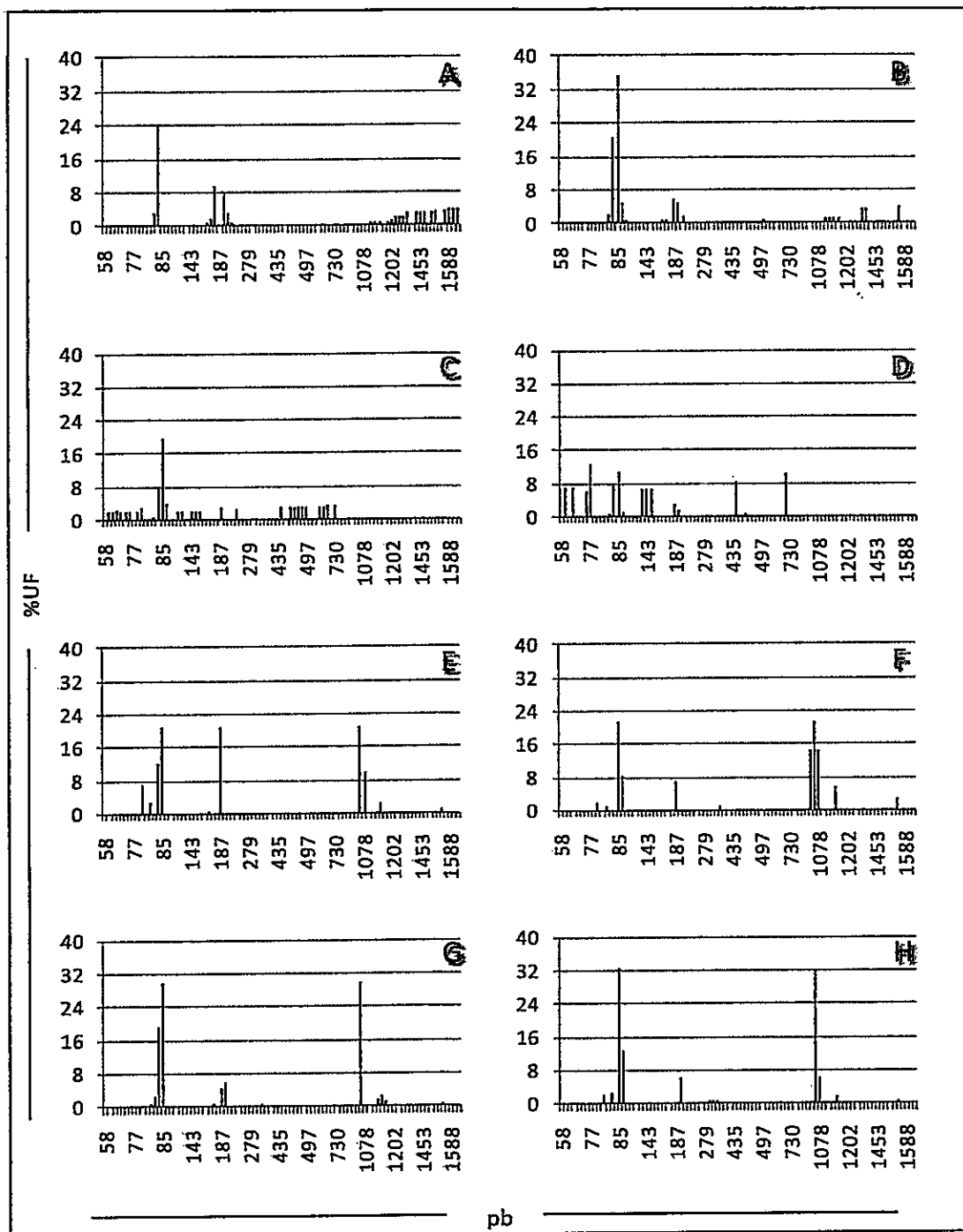
**Figura A13.** Perfiles de TRFLP utilizando el marcador molecular ITS durante la incubación de los microcosmos de suelo árido montados para determinar el efecto del nitrógeno reactivo ácido. A, C, E, G: microcosmos A-Nr a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación; B, D, F, H: microcosmos A-NrAc a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación.



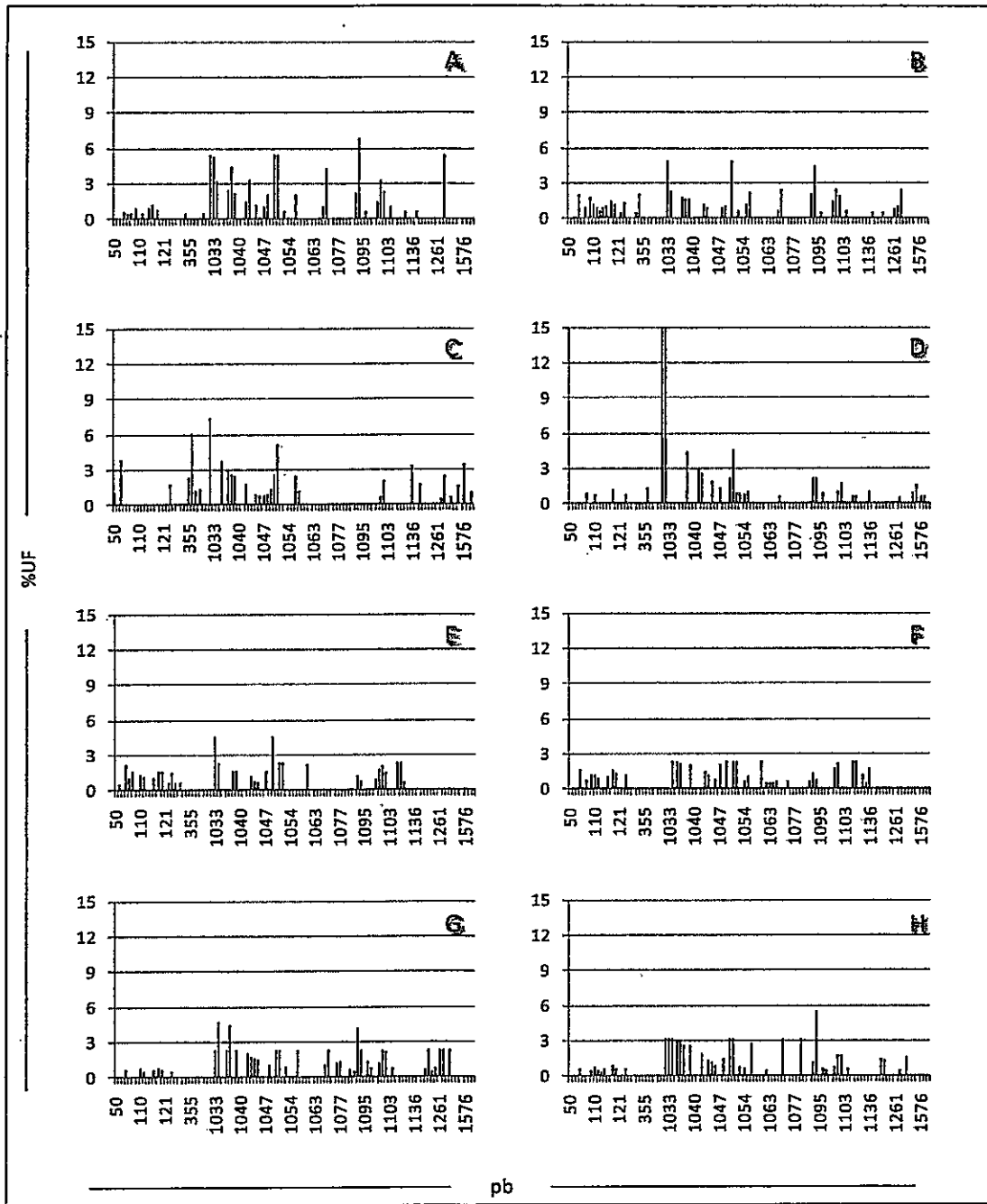
**Figura A14.** Perfiles de TRFLP utilizando el marcador molecular rDNA18S durante la incubación de los microcosmos de suelo semiárido montados para determinar el efecto de los pulsos de agua y los controles sin tratamiento. A, C, E, G: microcosmos S-H<sub>2</sub>O(14) a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación; B, D, F, H: microcosmos S-s/t a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación.



**Figura A15.** Perfiles de TRFLP utilizando el marcador molecular rDNA18S durante la incubación de los microcosmos de suelo semiárido montados para determinar el efecto de la disponibilidad de agua y ácido. A, C, E, G: microcosmos S-H<sub>2</sub>O a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación; B, D, F, H: microcosmos S-Ac a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación.

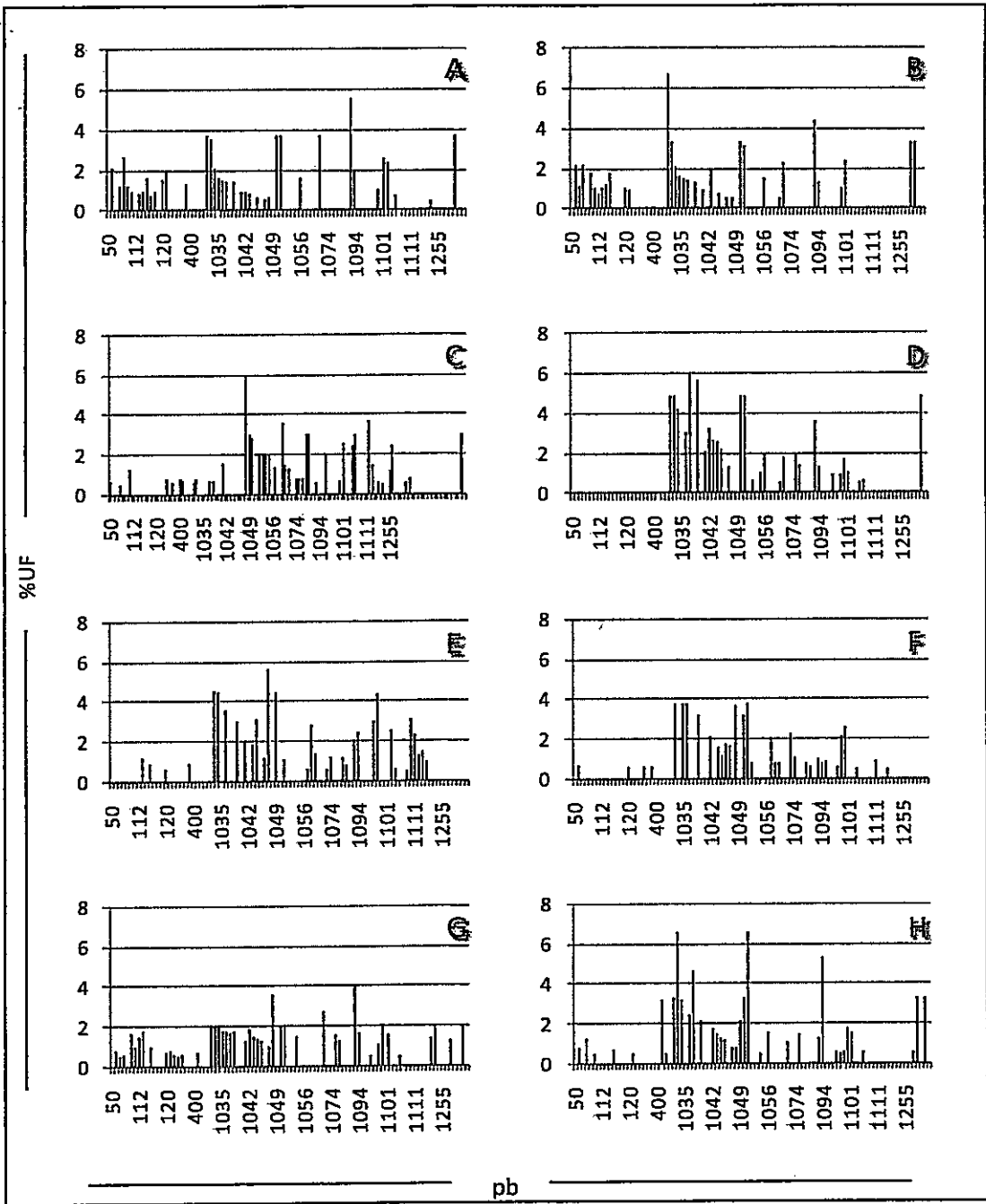


**Figura A16.** Perfiles de TRFLP utilizando el marcador molecular rDNA18S durante la incubación de los microcosmos de suelo semiárido montados para determinar el efecto del nitrógeno reactivo ácido. A, C, E, G: microcosmos S-Nr a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación; B, D, F, H: microcosmos S-NrAc a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación.

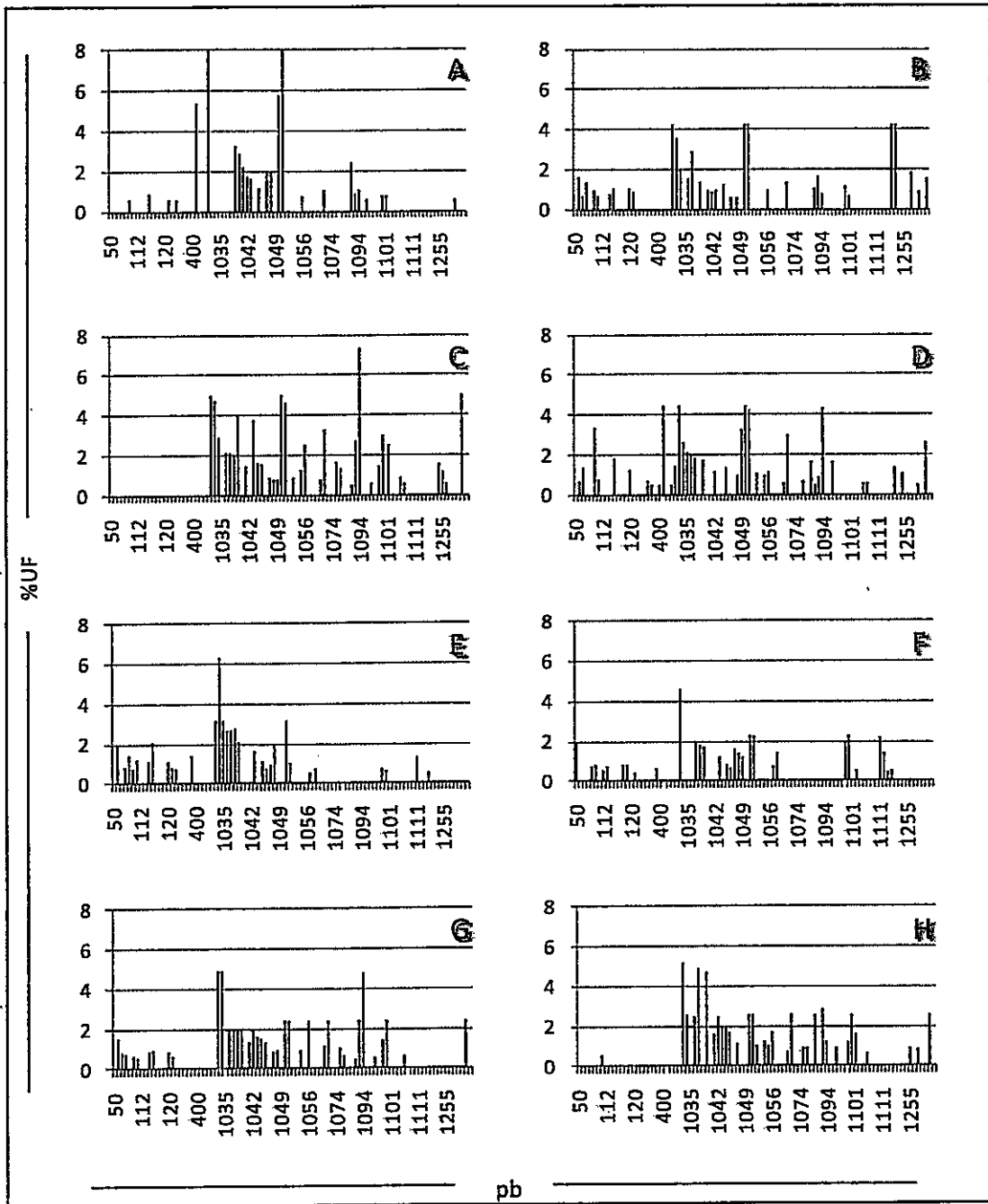


**Figura A17.** Perfiles de TRFLP utilizando el marcador molecular ITS durante la incubación de los microcosmos de suelo semiárido montados para determinar el efecto de los pulsos de agua y los controles sin tratamiento. A, C, E, G: microcosmos S-H<sub>2</sub>O(14) a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación; B, D, F, H: microcosmos S-s/t a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación.





**Figura A18.** Perfiles de TRFLP utilizando el marcador molecular ITS durante la incubación de los microcosmos de suelo semiárido montados para determinar el efecto de la disponibilidad de agua y ácido. A, C, E, G: microcosmos S-H<sub>2</sub>O a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación; B, D, F, H: microcosmos S-Ac a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación.



**Figura A19.** Perfiles de TRFLP utilizando el marcador molecular ITS durante la incubación de los microcosmos de suelo semiárido montados para determinar el efecto del nitrógeno reactivo ácido. A, C, E, G: microcosmos S-Nr a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación; B, D, F, H: microcosmos S-NrAc a los tiempos 0, 28, 56 y 84 días de incubación.

**Tabla A6.** Valores de los parámetros ecológicos obtenidos con el marcador molecular ITS: riqueza ponderada por el rango (Rr), organización funcional (OF) y dinámica (Di) para cada tiempo de la incubación de los microcosmos. Se muestran además los promedios (Prom) y los errores estándar (EE) de todos los tiempos de incubación de cada microcosmos.

Tratamientos <sup>a</sup>	tiempos <sup>b</sup>	Rr <sup>c</sup>			tiempos <sup>b</sup>	OF			tiempos <sup>b</sup>	Di		
		Rr	Prom	± EE		Prom	± EE	Prom		± EE		
A-s/t	t0	5,04	2,76	± 1,27	t0	34,21	38,33	± 2,77	t0-t28	41,67	39,72	± 1,05
	t28	4,88			t28	36,46			t28-t56	40,00		
	t56	0,46			t56	46,49			t56-t84	37,50		
	t84	0,64			t84	36,16						
A-H2O(14)	t0	2,02	3,01	± 1,63	t0	32,22	38,72	± 2,57	t0-t28	71,43	45,38	± 19,72
	t28	7,85			t28	36,97			t28-t56	64,71		
	t56	1,09			t56	42,85			t56-t84	0,00		
	t84	1,09			t84	42,85						
A-H2O	t0	4,05	6,55	± 0,97	t0	38,77	41,40	± 2,81	t0-t28	77,78	64,16	± 6,95
	t28	8,74			t28	48,27			t28-t56	50,00		
	t56	7,00			t56	43,27			t56-t84	64,71		
	t84	6,41			t84	35,28						
A-Ac	t0	10,25	8,41	± 0,99	t0	44,72	39,35	± 1,87	t0-t28	66,67	72,58	± 5,99
	t28	8,96			t28	38,32			t28-t56	86,36		
	t56	8,82			t56	38,31			t56-t84	64,71		
	t84	5,62			t84	36,03						
A-Nr	t0	6,71	6,18	± 1,05	t0	41,55	39,64	± 4,41	t0-t28	77,78	77,24	± 1,01
	t28	5,23			t28	50,03			t28-t56	78,95		
	t56	8,82			t56	38,31			t56-t84	75,00		
	t84	3,93			t84	28,68						
A-NrAc	t0	11,78	4,83	± 2,33	t0	34,10	37,32	± 2,35	t0-t28	70,00	66,07	± 2,13
	t28	1,94			t28	42,36			t28-t56	61,54		
	t56	3,35			t56	32,61			t56-t84	66,67		
	t84	2,26			t84	40,21						
S-s/t	t0	1,30	0,55	± 0,25	t0	30,58	27,10	± 1,47	t0-t28	42,86	35,03	± 5,59
	t28	0,33			t28	26,50			t28-t56	22,22		
	t56	0,25			t56	23,49			t56-t84	40,00		
	t84	0,33			t84	27,86						
S-H2O(14)	t0	4,39	4,94	± 0,78	t0	28,86	33,17	± 4,04	t0-t28	46,67	73,06	± 12,19
	t28	6,82			t28	32,30			t28-t56	94,74		
	t56	5,43			t56	44,80			t56-t84	77,78		
	t84	3,14			t84	26,72						
S-H2O	t0	6,33	2,54	± 1,42	t0	32,67	40,22	± 8,99	t0-t28	40,00	63,22	± 10,11
	t28	0,40			t28	31,63			t28-t56	76,92		
	t56	3,12			t56	67,12			t56-t84	72,73		
	t84	0,33			t84	29,47						
S-Ac	t0	0,40	2,11	± 1,67	t0	30,96	42,59	± 4,90	t0-t28	64,29	42,24	± 14,61
	t28	0,45			t28	38,43			t28-t56	9,09		
	t56	0,49			t56	48,21			t56-t84	53,33		
	t84	7,11			t84	52,76						
S-Nr	t0	1,89	3,66	± 1,01	t0	26,03	28,78	± 2,79	t0-t28	66,67	72,22	± 2,41
	t28	1,95			t28	22,40			t28-t56	75,00		
	t56	5,36			t56	32,00			t56-t84	75,00		
	t84	5,46			t84	34,68						
S-NrAc	t0	8,85	3,41	± 2,08	t0	35,25	41,63	± 7,98	t0-t28	60,00	67,81	± 9,23
	t28	4,47			t28	59,79			t28-t56	54,55		
	t56	0,33			t56	29,86			t56-t84	88,89		
	t84	0,00			t84	ND						

<sup>a</sup> Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H2O(14)); agua al inicio de la incubación (H2O); solución ácida al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio al inicio de la incubación (Nr); solución ácida de nitrato de amonio al inicio de la incubación (NrAc).

<sup>b</sup> Tiempos: 0 días de incubación (t0); 28 días de incubación (t28); 56 días de incubación (t56); 84 días de incubación (t84).

<sup>c</sup> Los tonos de gris indican el rango bajo (gris claro), medio (gris medio) o alto (gris oscuro) en el que se clasifican cada uno de los parámetros ecológicos.

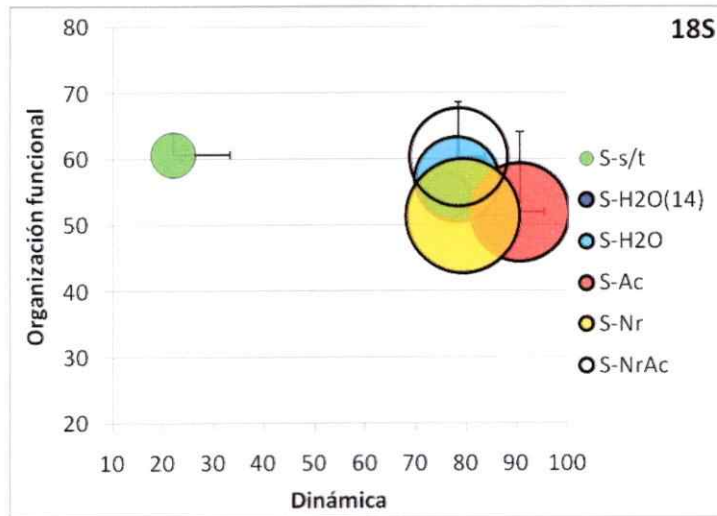
**Tabla A7.** Valores de los parámetros ecológicos obtenidos con el marcador molecular rDNA18S: riqueza ponderada por el rango (Rr), organización funcional (OF) y dinámica (Di) para cada tiempo de la incubación de los microcosmos. Se muestran además los promedios (Prom) y los errores estándar (EE) de todos los tiempos de incubación de cada microcosmos.

Tratamientos <sup>a</sup>	tiempos <sup>b</sup>	Rr				OF				Di					
		Rr	Prom	±	EE	tiempos <sup>b</sup>	OF	Prom	±	EE	tiempos <sup>b</sup>	Di	Prom	±	EE
A-s/t	t0	5,92	3,02	±	1,44	t0	55,73	58,51	±	1,83	t0-t28	43,75	56,71	±	6,37
	t28	5,06				t28	56,50				t28-t56	69,23			
	t56	0,57				t56	57,97				t56-t84	57,14			
	t84	0,54				t84	63,83								
A-H2O(14)	t0	1,29	2,46	±	0,43	t0	70,04	66,70	±	5,96	t0-t28	50,00	44,44	±	20,97
	t28	2,36				t28	82,15				t28-t56	83,33			
	t56	3,10				t56	57,42				t56-t84	0,00			
	t84	3,10				t84	57,19								
A-H2O	t0	1,15	1,93	±	1,05	t0	71,56	71,06	±	7,16	t0-t28	75,00	64,03	±	4,98
	t28	5,06				t28	59,02				t28-t56	61,54			
	t56	0,65				t56	62,63				t56-t84	55,56			
	t84	0,86				t84	91,05								
A-Ac	t0	3,39	1,53	±	0,64	t0	76,73	71,69	±	5,35	t0-t28	60,00	71,28	±	4,89
	t28	0,66				t28	61,63				t28-t56	76,92			
	t56	1,41				t56	64,09				t56-t84	76,92			
	t84	0,67				t84	84,30								
A-Nr	t0	0,43	2,08	±	0,94	t0	69,69	59,25	±	5,43	t0-t28	50,00	50,00	±	0,00
	t28	3,11				t28	44,09				t28-t56	50,00			
	t56	4,21				t56	60,26				t56-t84	50,00			
	t84	0,55				t84	62,97								
A-NrAc	t0	0,43	1,89	±	0,73	t0	67,75	60,78	±	4,85	t0-t28	55,56	53,37	±	1,48
	t28	3,53				t28	47,70				t28-t56	54,55			
	t56	2,71				t56	68,49				t56-t84	50,00			
	t84	0,89				t84	59,17								
S-s/t	t0	1,21	1,00	±	0,12	t0	84,51	60,63	±	10,78	t0-t28	28,57	22,02	±	9,79
	t28	1,21				t28	73,07				t28-t56	37,50			
	t56	0,79				t56	44,61				t56-t84	0,00			
	t84	0,79				t84	40,33								
S-H2O(14)	t0	1,08	1,02	±	0,28	t0	55,66	54,37	±	3,16	t0-t28	68,75	76,36	±	5,47
	t28	1,77				t28	57,75				t28-t56	71,43			
	t56	0,55				t56	58,97				t56-t84	88,89			
	t84	0,66				t84	45,12								
S-H2O	t0	1,52	3,58	±	2,40	t0	65,80	56,90	±	6,56	t0-t28	80,77	78,31	±	5,32
	t28	10,74				t28	37,40				t28-t56	87,50			
	t56	1,50				t56	62,96				t56-t84	66,67			
	t84	0,56				t84	61,47								
S-Ac	t0	0,92	4,91	±	3,83	t0	79,66	51,92	±	12,14	t0-t28	84,38	90,75	±	4,10
	t28	16,39				t28	40,43				t28-t56	87,88			
	t56	1,50				t56	62,96				t56-t84	#####			
	t84	0,82				t84	24,64								
S-Nr	t0	3,51	6,47	±	4,56	t0	60,69	51,39	±	6,57	t0-t28	91,43	79,51	±	8,52
	t28	20,03				t28	41,27				t28-t56	87,10			
	t56	0,67				t56	38,97				t56-t84	60,00			
	t84	1,66				t84	64,62								
S-NrAc	t0	5,80	4,86	±	2,20	t0	74,44	60,24	±	8,48	t0-t28	68,18	78,58	±	4,51
	t28	10,69				t28	35,88				t28-t56	84,21			
	t56	1,29				t56	62,46				t56-t84	83,33			
	t84	1,67				t84	68,17								

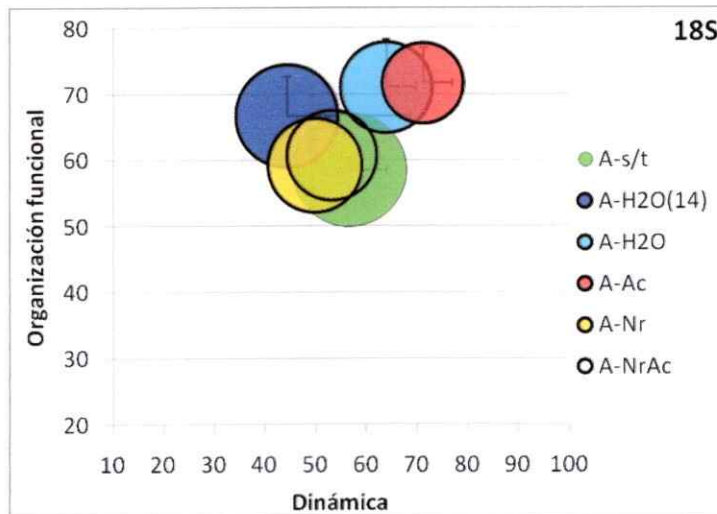
<sup>a</sup>Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H2O(14)); agua al inicio de la incubación (H2O); solución ácida al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio al inicio de la incubación (Nr); solución ácida de nitrato de amonio al inicio de la incubación (NrAc).

<sup>b</sup>Tiempos: 0 días de incubación (t0); 28 días de incubación (t28); 56 días de incubación (t56); 84 días de incubación (t84).

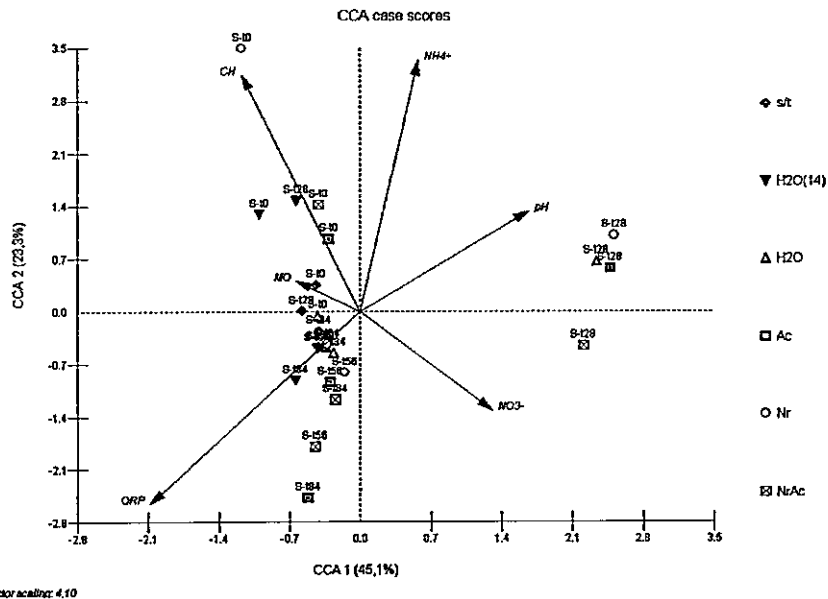
<sup>c</sup> Los tonos de gris indican el rango bajo (gris claro), medio (gris medio) o alto (gris oscuro) en el que se clasifican cada uno de los parámetros ecológicos.



**Figura A20.** Parámetros ecológicos calculados en base a los perfiles de TRFLP del marcador molecular rDNA18S durante el tiempo de incubación de los microcosmos del suelo semiárido (S). Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H2O(14)); agua al inicio de la incubación (H2O); solución ácida (pH 4,0) al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio ( $100 \mu\text{g g}^{-1}$ ) al inicio de la incubación (Nr); solución ácida (pH 4,0) de nitrato de amonio ( $100 \mu\text{g g}^{-1}$ ) al inicio de la incubación (NrAc). La riqueza ponderada por el rango (Rr) está representada por el diámetro de los círculos.



**Figura A21.** Parámetros ecológicos calculados en base a los perfiles de TRFLP del marcador molecular rDNA18S durante el tiempo de incubación de los microcosmos del suelo árido (A). Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H2O(14)); agua al inicio de la incubación (H2O); solución ácida (pH 4,0) al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio ( $100 \mu\text{g g}^{-1}$ ) al inicio de la incubación (Nr); solución ácida (pH 4,0) de nitrato de amonio ( $100 \mu\text{g g}^{-1}$ ) al inicio de la incubación (NrAc). La riqueza ponderada por el rango (Rr) está representada por el diámetro de los círculos.



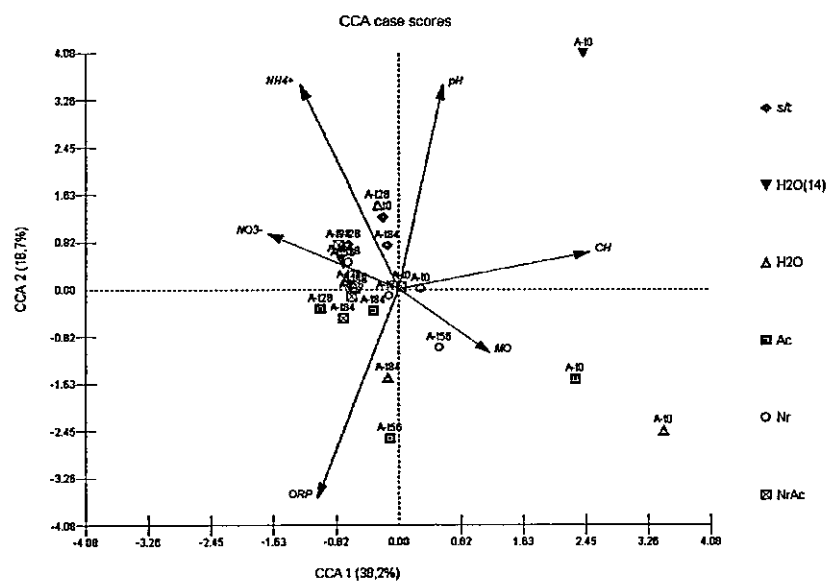
**Figura A22.** Análisis de correspondencia canónica entre los perfiles de TRFLP del marcador molecular rDNA18S y los factores edáficos medidos durante el tiempo de incubación de los microcosmos del suelo semiárido (S). Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H2O(14)); agua al inicio de la incubación (H2O); solución ácida al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio al inicio de la incubación (Nr); solución ácida de nitrato de amonio al inicio de la incubación (NrAc). Tiempos: 0 días de incubación (t0); 28 días de incubación (t28); 56 días de incubación (t56); 84 días de incubación (t84). Variables edáficas: pH; potencial de óxido reducción (ORP); Contenido hídrico (CH); materia orgánica (MO); contenido de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>); contenido de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>).

**Tabla A8.** Coeficientes de correlación intragrupo (CCI) de las variables edáficas (VE) y los dos primeros ejes del ordenamiento de los TRFLP del marcador molecular rDNA18S, en los microcosmos de los suelos árido y semiárido.

VE <sup>a</sup>	CCI		<i>p</i>	F
	CCA1	CCA2		
pH*	0,400	0,320	0,001	19,66
ORP	-0,501	-0,613	0,083	1,67
CH	-0,282	0,754	0,296	1,15
MO*	-0,152	0,098	0,045	1,91
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,138	0,802	0,624	0,71
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,314	-0,317	0,183	1,42
1º eje canónico*			0,001	16,06
Suma de los ejes canónicos*			0,001	4,71

\* Relaciones estadísticamente significativas entre las variables edáficas y el agrupamiento de las muestras según el análisis de MonteCarlo con 1000 permutaciones de la matriz (Programa Canoco).

<sup>a</sup> pH; potencial de óxido reducción (ORP); contenido hídrico (CH); materia orgánica (MO); contenido de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>); contenido de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>).



**Figura A23.** Análisis de correspondencia canónica entre los perfiles de TRFLP del marcador molecular rDNA18S y los factores edáficos medidos durante el tiempo de incubación de los microcosmos del suelo árido (A). Tratamientos: control sin tratamiento (s/t); agua cada 14 días (H2O(14)); agua al inicio de la incubación (H2O); solución ácida (pH 4,0) al inicio de la incubación (Ac); solución de nitrato de amonio al inicio de la incubación (Nr); solución ácida de nitrato de amonio al inicio de la incubación (NrAc). Tiempos: 0 días de incubación (t0); 28 días de incubación (t28); 56 días de incubación (t56); 84 días de incubación (t84). Variables edáficas: pH; potencial de óxido reducción (ORP); Contenido hídrico (CH); materia orgánica (MO); contenido de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>); contenido de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>).

**Tabla A9.** Coeficientes de correlación intragrupo (CCI) de las variables edáficas (VE) y los dos primeros ejes del ordenamiento de los TRFLP del marcador molecular rDNA18S, en los microcosmos de los suelos árido y semiárido.

VE <sup>a</sup>	CCI		<i>p</i>	F
	CCA1	CCA2		
pH	0,106	0,644	0,143	1,47
ORP	-0,195	-0,659	0,081	1,55
CH*	0,454	0,116	0,001	3,93
MO*	0,217	-0,201	0,001	31,96
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-0,235	0,646	0,626	0,79
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-0,313	0,177	0,203	1,39
1º eje canónico*			0,001	25,61
Suma de los ejes canónicos*			0,001	8,01

\* Relaciones estadísticamente significativas entre las variables edáficas y el agrupamiento de las muestras según el análisis de MonteCarlo con 1000 permutaciones de la matriz (Programa Canoco).

<sup>a</sup> pH; potencial de óxido reducción (ORP); contenido hídrico (CH); materia orgánica (MO); contenido de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>); contenido de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>).

**Tabla A10.** Comparación de la distribución de las secuencias fúngicas, a nivel de Divisiones, en diferentes tipos de suelo.

	Ascomycota	Basidiomycota	Chytridiomycota	Glomeromycota	Zygomycota
Campo de cultivo (81)*	96,2 ± 0,5	1,6 ± 1,6	1,1 ± 1,1	0,0 ± 0,0	1,1 ± 1,1
Pastizal (88)	85,3 ± 13,1	12,3 ± 12,3	0,0 ± 0,0	2,3 ± 1,2	0,0 ± 0,0
Bosque mixto (86)	56,4 ± 10,8	40,1 ± 11,1	0,0 ± 0,0	2,4 ± 1,3	1,1 ± 1,1
Plantación de pino (89)	47,6 ± 26,4	51,3 ± 26,0	0,0 ± 0,0	1,1 ± 1,1	0,0 ± 0,0
Semiárido (173)	64,1 ± 3,1	29,1 ± 3,7	5,5 ± 5,5	0,8 ± 0,8	0,4 ± 0,4
Árido (170)	86,9 ± 9,5	4,4 ± 0,8	8,7 ± 8,7	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

\*Entre paréntesis se muestra el número de clones analizados por tipo de suelo. Los datos para suelo árido y semiárido corresponden a este estudio, los demás datos fueron obtenidos de Lauber y col. 2008<sup>11</sup>.

<sup>11</sup> Lauber C, Strickland M, Bradford M, Fierer N. 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biol. Biochem.* 40:2407-2415.