

**EFFECTO DE LOS INCENDIOS FORESTALES
SOBRE LA MICORRIZACIÓN ARBUSCULAR EN
PLANTAS NODRIZAS DEL BOSQUE HIGRÓFILO
DE QUEBRADA Y SUS IMPLICANCIAS PARA LA
RESTAURACIÓN BIOLÓGICA**

Tesis

**Entregada A La
Universidad De Chile
En Cumplimiento Parcial De Los Requisitos
Para Optar Al Grado De**

Magíster en Ciencias Biológicas

Facultad De Ciencias

Por

MARÍA JOSÉ DEL CARMEN VARGAS ÁLVAREZ

Julio, 2023

Director de Tesis:

Dr. RAMIRO BUSTAMANTE

Co-Directoras:

Dra. MILEN DUARTE MUÑOZ

Dra. PATRICIA SILVA-FLORES

**FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE
INFORME DE APROBACIÓN**

TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magíster presentada por la candidata.

MARÍA JOSÉ DEL CARMEN VARGAS ÁLVAREZ

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 Privada de Tesis rendido el día 06 de julio de 2023.

Director de Tesis:

Dr. Ramiro O. Bustamante

Co-Directora de Tesis

Dra. Milen Duarte Muñoz

Co-Directora de Tesis

Dra. Patricia Silva-Flores

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dra. Julieta Orlando

Dra. Alejandra González

Para Federico,
mi ser vivo favorito.

RESUMEN BIOGRÁFICO



Profesora de Biología y Química, Comunicadora Audiovisual y recientemente, madre de un ser humano maravilloso. Amante de los gatos, el café y el cine. Radicada en Santiago hace 15 años, pero nacida y criada en un caserío de la Región del Maule, la autora creció como testigo de la belleza del bosque esclerófilo, pero también de sus constantes amenazas. Aficionada al trekking y a la observación de la flora y fauna nativa. Convencida de que la ecología y la educación ambiental son la clave para enfrentar los desafíos medioambientales y sociológicos de este siglo y hacer un cambio.

AGRADECIMIENTOS

A Pablo por ser el mejor compañero, por apoyarme y aguantarme en mis peores días. A mi madre y a Sonia, por cuidar a su nieto para que yo pudiera trabajar. Al profesor Ramiro por su apoyo y comprensión. A Ronny, Sarina, Monse, Bastián, Diego y Pablo, por ser un gran equipo en terreno y atreverse a tomar muestras de suelo del bosque esclerófilo. A Milen y Patricia, por ser ejemplos y guías en este proceso, tanto como investigadoras y como madres. Gracias por su paciencia, por las correcciones y consejos, por mostrarme que es posible ser una mamá increíble y una académica destacada al mismo tiempo.

ÍNDICE DE MATERIAS

ÍNDICE DE MATERIAS	v
LISTA DE TABLAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS O NOMENCLATURA	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xiii
INTRODUCCIÓN	1
1.1- Vulnerabilidad del bosque esclerófilo.....	2
1.2.-Sucesión y efecto nodriza	3
1.3.- Micorriza en el bosque esclerófilo.....	5
1.4.- Micorriza e incendios forestales	8
1.4.1.- Pregunta	10
1.4.2.- Hipótesis de Trabajo	10
1.4.3.- Objetivo General del estudio	11
1.4.4.- Objetivo Específicos del estudio.....	11
METODOLOGÍA	12
2.1.- Sitios de estudios	12
2.2.- Diseño experimental	16
2.3.- Toma de muestras de raíces	16
2.4.- Tratamiento de las Raíces	18
2.4.1.- Cosecha de raíces.....	18
2.4.2.- Tinción de raíces	18
2.4.3.- Montaje de raíces.....	21
2.5.- Cuantificación de la colonización micorrícica.....	22
2.6.- Análisis estadísticos	23
2.6.1.- Normalidad de los datos	24
2.6.2.- Modelos lineales generalizados	24
2. 7.-Revisión Bibliográfica	25

RESULTADOS	27
3.1.- Colonización Micorrícica	27
3.2.- Presencia de las estructuras fúngicas Micorrícicas Arbusculares	30
DISCUSIÓN	34
4.1.- Viabilidad de las muestras	39
4.2.- Relevancia de estos resultados para la restauración biológica	43
CONCLUSIÓN	46
BIBLIOGRAFÍA	48
ANEXO 1	58
ANEXO 2	60
ANEXO 3	62
ANEXO 4	64

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Datos fisicoquímicos generales del suelo de los sitios de estudio.	13
Tabla 2: Imágenes satelitales de los sitios de estudio.	14
Tabla 3: Detalle de los registros de colonización por MA.	64

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Secuencia de trabajo de la toma de muestras. (A) Esquema espacial de la distribución de los tubos para tomar la submuestra en cada planta de interés. (B) Almacenaje de los tubos en bolsas. (C) Representación del almacenaje de las raíces una vez que han sido separadas del suelo. 17
- Figura 2: Secuencia del protocolo de tinción. En A se aplica el tratamiento con hidróxido de potasio al 10%. En B, el tratamiento con peróxido de hidrógeno al 3%. En C, el tratamiento con ácido acético. En D, el tratamiento con la tinta Pelikan Blue y en E, el tratamiento de mantención en glicerol acético. 20
- Figura 3: Microscopía de distintas estructuras fúngicas (azul oscuro e indicadas con flecha roja). En A, B y C se observa la MA (200x) caracterizada por hifas aseptadas (h). En D y E se pueden observar vesículas micorrícicas (v). En F se ven tanto hifas intercelulares como arbuscúlos al interior de las células vegetales. En G y H se observa un detalle de los arbuscúlos (a) e hifas (h) con una magnificación de 1000x. 28
- Figura 4: Colonización micorrícica global (GC%) encontrado en las muestras estudiadas. En verde se muestra la distribución de las muestras provenientes desde los sitios F- y en rojo las de sitio F+. No se evidencian diferencias estadísticamente significativas (p-value: 0,217). 29
- Figura 5: Colonización micorrícica global (GC%) encontrado en las muestras estudiadas separadas según el sitio de estudio. En verde se muestra la distribución de las muestras provenientes desde los sitios F- y en rojo las de sitio F+. Con un asterisco se indican las diferencias estadísticamente significativas (p-value: 0,025). 30
- Figura 6: Colonización micorrícica según cada estructura fúngica: Hifas (HC%), Vesículas (VC%) y Arbuscúlo (AC%). En verde se muestra la distribución de las muestras provenientes desde los sitios F- y en rojo las de sitio F+. Un asterisco representa las diferencias significativas (p-value: 0,016). 31
- Figura 7: Colonización micorrícica por hifas (HC%) según el sitio de procedencia. En verde se muestra la distribución de las muestras provenientes desde los sitios F- y en rojo las de sitio F+. Con un asterisco se indica la diferencia estadísticamente significativa (p-value: 0,025). 32
- Figura 8: Colonización micorrícica por vesículas (VC%) según el sitio de 32

procedencia. En verde las muestras provenientes desde los sitios F- y en rojo F+. El asterisco indica diferencias estadísticamente significativas (p-value: 0,0007).

Figura 9: Colonización micorrícica por arbusculos (AC%) según el sitio de procedencia. En verde las muestras provenientes desde los sitios F- y en rojo las de sitios F+. La línea al interior de la caja representa el promedio para cada condición, los cuales no evidencian diferencias estadísticamente significativas. 33

Figura 10: Distribución de las muestras según especie nodriza, sitio de estudio y condición F+ o F-. 58

Figura 11: Algunas estructuras de hongos endófitos no micorrícicos observadas durante la cuantificación. En A y B se pueden observar tanto hifas de MA como hifas oscuras septadas de hongos no micorrícicos. En C, D y E se distinguen microesclerocios. En F se muestran células moniliformes. 60

Figura 12: En A se muestra el contenido general de colonización por otros hongos endófitos (ENM%) encontrado en las muestras estudiadas (32 muestras para cada condición); y en B el contenido por sitio de procedencia de las muestras (8 muestras para cada condición en cada sitio de estudio). En verde se muestra la distribución de las muestras provenientes desde los sitios sin incendio forestal y en rojo las de sitio incendiado. La línea al interior de la caja representa el promedio para cada condición, los cuales no evidencian diferencias estadísticamente significativas en el caso general. 61

Figura 13: En A se observa el histograma de residuos, el cual muestra la distribución de los residuos para todas las observaciones. En B se observa un gráfico Cuantil-cuantil (Q-Q plot) para los mismos datos, la recta punteada en el gráfico indica el comportamiento de los residuos si se cumpliera con una distribución normal. 64

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS O NOMENCLATURA

HMA: Hongos micorrícicos arbusculares.

MA: Micorriza Arbuscular.

PVLG: Alcohol polivinílico lactoglicerol.

GC%: Colonización micorrícica global expresada porcentualmente.

HC%: Colonización micorrícica por hifas expresado porcentualmente.

VC%: Colonización micorrícica por vesículas expresada porcentualmente.

AC%: Colonización micorrícica por arbusculos expresada porcentualmente.

ENM%: Colonización por hongos endófitos no micorrícicos (ENM) expresado porcentualmente.

F+: Sitio afectado por incendio, ecosistema perturbado.

F-: Sitio no afectado por incendio, ecosistema de referencia.

RESUMEN

El bosque higrófilo de quebrada, un elemento azonal del bosque esclerófilo, es un ecosistema altamente amenazado por el creciente aumento de la frecuencia e intensidad de los incendios forestales y supone un desafío para la restauración ecológica; la que requiere conocer tanto el sistema degradado como un sistema de referencia que represente las metas de restauración. En este contexto, nos propusimos estudiar dos interacciones de facilitación: el efecto nodriza y el efecto de la Micorriza Arbuscular (MA), considerando que ambas son clave para la sucesión ecológica en ambientes perturbados. La MA es una simbiosis usualmente mutualista que se da entre plantas y Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMAs) y que sería clave para la nutrición y resistencia al estrés de las plantas; mientras que la facilitación por plantas nodrizas es una interacción donde una especie de planta facilita a una recluta mediante mecanismos como la generación de un microhábitat adecuado para ella y la micorrización. Se hipotetizó que los incendios disminuyen la micorrización arbuscular asociada a plantas nodrizas, lo que podría afectar la recuperación natural del bosque. Para evaluarlo, se midió el efecto del fuego sobre la colonización por MA en potenciales plantas nodrizas del bosque higrófilo de quebrada. De manera global, no se encontró evidencia de un efecto negativo del fuego sobre la colonización. No obstante, surgieron variaciones a considerar en los sitios de estudio, las que podrían deberse a factores ambientales. La hifa fue la estructura más abundante, y no se vio afectada por el fuego, lo mismo que las vesículas, mientras que la abundancia de

arbúsculos fue afectada negativamente por el fuego. Estos resultados pueden interpretarse como evidencia de la resiliencia de la interacción micorrícica, donde la sobrevivencia de las plantas nodrizas significa un refugio para las hifas, haciendo de sus rizosferas una fuente de inóculo para la colonización de nuevos tejidos propios y de las raíces de plántulas reclutadas dentro sus influencias, facilitando su establecimiento y la sucesión ecológica en la recuperación de los ecosistemas degradados. Así, en un contexto de restauración ecológica, nuestros resultados sugieren que reforestando cerca de plantas potencialmente nodrizas sería posible mantener y/o replicar las características ecológicas del suelo rizosférico y aumentar la facilitación entre nodrizas y reclutas. No obstante, esto debería comprobarse mediante experimentos manipulativos.

ABSTRACT

The hygrophilic Forest, an azonal element of the sclerophyll forest, is an ecosystem that is highly threatened by the increasing frequency and intensity of wildfires, becoming a challenge for ecological restoration, which requires knowing both the degraded system and a system baseline that represents restoration goals. In this context, we proposed to study two facilitation interactions: the Nurse Effect and the Arbuscular Mycorrhiza (AM), considering that both play a key role in ecological succession in disturbed environments. The arbuscular mycorrhiza is usually a mutualistic symbiosis that occurs between plants and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMFs), which fosters plant nutrition and stress resistance; while facilitation by nurse plants is an interaction where a plant species facilitates a recruit through mechanisms such as the generation of a suitable microhabitat for it and mycorrhization. It was hypothesized that fires reduce arbuscular mycorrhization associated with nurse plants, which could affect the natural recovery of the forest. To evaluate this, we measured the effect of fire on AM colonization in potential nurse plants of the hygrophilic forest. We found no evidence of a negative effect of fire on colonization. However, study sites showed variations among them, which could be due to environmental factors. The hypha was the most abundant structure, and it was not affected by the fire, the same as the vesicles, while the abundance of arbuscules was negatively affected by the fire. These results can be interpreted as a sign of the resilience of the mycorrhizal interaction, where the survival of the nurse plants means a refuge for the

hyphae, making their rhizosphere a source of inoculum for the colonization of new tissues in themselves and in recruited seedlings roots within their influence, facilitating their establishment and the ecological succession in the recovery of degraded ecosystems. Thus, in a context of ecological restoration, our results suggest that reforesting close to potential nurse plants would make it possible to maintain and/or replicate the ecological characteristics of rhizospheric soil and would increase facilitation between nurses and recruits. However, this should be verified using manipulative experiments.

INTRODUCCIÓN

La vegetación nativa característica de la zona central de Chile se conoce como bosque esclerófilo, un tipo de bosque “siempreverde” que se extiende entre las latitudes 30°S y 36°S (Armesto et al., 2007) y cuya “*composición florística es muy variada y rica, contando entre sus elementos a numerosas especies de tipo laurifolio relictual*” (Gajardo, 1994). La palabra *esclerófila* proviene del griego y significa “hoja dura”, aludiendo a uno de los mecanismos que sus plantas insignes han desarrollado para sobrellevar la extensa sequía estival típica de un clima mediterráneo (Keeley et al., 2011), donde las precipitaciones se concentran en la época invernal por aproximadamente tres meses, con un promedio de 200-400 mm por año (Donoso Z., 1982). Especies representativas como *Acacia caven*, *Lithrea caustica*, *Cryptocarya alba*, *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii*, *Quillaja saponaria* y *Schinus molle* dominan el paisaje con sus hojas duras, pequeñas, duraderas y verde oscuras (por su cara adaxial), las que resisten la desecación gracias al ajuste osmótico de sus estomas y a una cutícula gruesa que evita la pérdida de agua por evapotranspiración (Dunn et al., 1976; Peña-Rojas et al., 2004; Donoso et al., 2011). La mayoría de estas especies son de crecimiento lento, pero de larga vida, conformando comunidades complejas y exhibiendo diferentes organizaciones comunitarias, o composiciones florísticas, dependiendo de las características del suelo, relieve, condiciones lumínicas y disponibilidad de agua (Donoso, 1982; Gajardo, 1994).

Una de estas composiciones es el “bosque higrófilo de fondo de quebrada”, donde las

especies esclerófilas representativas ya mencionadas se asocian con especies de tipo forestal laurifolio, con mayores requerimientos de humedad ambiental, como *Persea lingue* y *Drymis winteri* (Gajardo, 1994). Como su nombre anticipa, es posible encontrarla en el fondo de quebradas, donde se concentra la humedad y se forman cursos de agua permanente o estacionales. Ecosistemas ribereños como estos resultan de gran importancia ecológica, tanto por la biodiversidad que albergan, así como también por la mantención y enriquecimiento de las condiciones edáficas de las mismas quebradas que las alojan (Riis et al., 2020, Nunes et al., 2022).

1.1- Vulnerabilidad del bosque esclerófilo

Compuesto principalmente por angiospermas, el bosque esclerófilo presenta un alto grado de endemismo y vulnerabilidad, siendo reconocido como un *hotspot* de biodiversidad mundial. En él, elementos florísticos relictuales conviven con neotropicales (Armesto et al., 2007). Sin embargo, distintas actividades humanas han reducido su superficie desde la colonia hasta el presente (Altamirano & Lara, 2010; Armesto et al., 2010; Schulz et al., 2010; Salazar et al., 2015).

El remanente de bosque que aún perdura se encuentra sometido a una fuerte presión antrópica, donde destaca la fragmentación de hábitats (Bustamante & Grez, 1995; Grez et al., 2006; Salinas et al., 2018), el cambio del uso de suelo para actividades productivas y asentamientos (Armesto et al., 2010; Miranda et al., 2017), el estrés hídrico producido por la reducción de las precipitaciones debido al cambio climático, el cual afecta el crecimiento de las distintas especies (Venegas-González et al., 2022) y que ha hecho que la coloración “siempreverde” de este bosque se haya visto disminuida durante extensas

temporadas estivales (Miranda et al., 2020), a lo cual se suman perturbaciones como los incendios forestales de origen antrópico (Schulz et al., 2010; Jaksic & Fariña, 2015).

Durante los últimos veinte años, los incendios forestales de cada temporada reducen la superficie de bosque, afectando incluso al sistema de áreas silvestres protegidas del estado (SNASPE), y cuya frecuencia en aumento dificulta la recuperación natural de los espacios (Smith-Ramírez et al., 2021). Respecto a la capacidad de respuesta al fuego del bosque esclerófilo, existen atributos y adaptaciones que sus especies vegetales muestran a la hora de regenerarse luego de un incendio. Uno de estos atributos es el mantenimiento de la viabilidad de las semillas en algunas especies frente a fuegos moderados (Muñoz & Fuentes, 1989; Gómez-González et al., 2017) y, por otra parte, la capacidad de rebrotar desde estructuras que sobreviven al fuego (meristemas), mecanismo que muestran la mayoría de las especies insignes arbustivas y arbóreas ya mencionadas (Armesto & Gutiérrez, 1978; Montenegro et al., 2004; Figueroa, 2017). Este último atributo es de gran interés para la restauración, debido a la relevancia de las plantas rebrotadoras como estados tempranos en el proceso de sucesión ecológica post-incendios.

1.2.-Sucesión y efecto nodriza

La sucesión ecológica, que puede entenderse como el recambio en el tiempo de las especies que componen las comunidades, se encuentra mediada por interacciones de facilitación entre diferentes especies (Chang & Turner, 2019). Interacciones que serían más relevantes y tendrían efectos más intensos a medida que el estrés ambiental aumenta,

según lo que propone la “Hipótesis del Gradiente de Estrés”, o SHG, por sus siglas en inglés (Liancourt et al., 2017, Duarte et al. 2021).

Una de estas interacciones es el “efecto nodriza” (Callaway, 1992), concepto acuñado para referirse a una situación en la que las opciones de supervivencia de las plántulas se ven incrementadas cuando crecen bajo el dosel o bajo influencia directa de otra planta, enriqueciendo la diversidad local de especies (Navarro-Cano et al., 2016). Este efecto se produce cuando ciertas plantas son capaces de generar, bajos sus doseles, condiciones favorables para la germinación y/o crecimiento de otras. Condiciones como un microclima donde exista una mayor humedad y menor radiación (Gómez-Aparicio et al., 2008), o como cuando en su rizosfera ocurre una mayor acumulación de nutrientes que son aprovechados por plantas más jóvenes (Pugnaire et al., 2004). Incluso, de forma más reciente, se ha sugerido que la planta nodriza puede ser fuente de propágulos micorrícicos esenciales en el proceso de asentamiento de las plántulas que se desarrollan dentro del alcance de su rizosfera, para luego establecer relaciones de facilitación mediadas por la simbiosis micorrícica (Montesinos-Navarro, Valiente-Banuet, et al., 2019a, 2019b; Montesinos-Navarro, Verdú, et al., 2019).

En el bosque esclerófilo, esta facilitación planta-planta es considerada el principal mecanismo que orienta la sucesión ecológica (Armesto & Pickett, 1985). Una vez que se produce una perturbación, se ha observado que especies colonizadoras como *A. caven* y *B. linearis* pueden sobrevivir o germinar en espacios pobres en recursos, convirtiéndose en nodrizas del establecimiento de especies sucesionales medianas y tardías (Armesto & Pickett, 1985). Además, se ha visto que en etapas sucesionales tempranas, y frente a

perturbaciones como los incendios, ciertas especies muestran regeneración vegetativa, aunque toda su parte aérea sea consumida por las llamas o cortada, rebrotando desde sus raíces, siendo esta la respuesta más común luego de un incendio forestal (Becerra et al., 2019). Este proceso resulta en un desarrollo de la planta relativamente más rápido que la germinación, permitiendo a algunas de ellas recomponer prontamente elementos como el dosel y la rizosfera, adquiriendo el potencial de actuar como “nodrizas” de plántulas, las que a su vez pueden asumir dicho rol posteriormente. Así, la sucesión avanza en una secuencia de efectos de facilitación que permite recuperar la cubierta vegetal en un ecosistema mediterráneo perturbado (Armesto & Gutiérrez, 1978; Jaksic & Fariña, 2015).

1.3.- Micorriza en el bosque esclerófilo

Otra interacción de facilitación es la simbiosis que ocurre entre las raíces de las plantas y los hongos micorrícicos del suelo. Conocida como micorriza, se estima que esta interacción juega un rol en diversos procesos comunitarios, como en el establecimiento de plántulas mediante una mejora en la adquisición de nutrientes (Nara, 2006), regulando inclusive la coexistencia entre especies mediante mecanismos que estabilizan la distribución de dichos nutrientes (Tedersoo et al., 2020), o actuando como un agente que modela el ensamblaje de la comunidad mediante una participación en la facilitación planta-planta (Montesinos-Navarro et al., 2012). Se estima que están presentes en la mayoría de las plantas (Brundrett & Tedersoo, 2018) y que son el producto de una larga historia coevolutiva de más de 400 millones de años (Honrubia, 2009; Strullu-Derrien et al., 2018; Walker et al., 2018). Es importante aclarar que el término “micorriza” hace referencia a la simbiosis directa que ocurre entre las hifas de estos hongos y las raíces de

las plantas, donde se generan estructuras específicas que varían según los grupos taxonómicos de los simbiontes involucrados, generando así distintos tipos de micorriza (Smith & Read, 2008; Moora, 2014). Cuando las hifas de hongos del phylum Glomeromycota, también conocidos como Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMAs) penetran el interior de las células vegetales del córtex de la raíz, hablamos de Micorriza Arbuscular (MA, o AM por sus siglas en inglés), la cual se estima es el tipo de micorriza más abundante en la naturaleza y el primero en diversificar (Smith & Read, 2008; Honrubia, 2009; Brundrett & Tedersoo, 2018). Cabe mencionar que no todos los hongos del suelo forman micorrizas, ni que todos los hongos asociados a una raíz son micorrícicos. Es posible encontrar hifas de distintos hongos endófitos formando parte de la rizosfera de una planta (Brundrett, 2006; Jiang et al., 2017), participando del ciclaje de nutrientes y facilitando la nutrición de las raíces, pero eso no significa que sean micorrícicos. Solo aquellos que forman las estructuras típicas de micorriza, hifas-vesículas-arbúsculos, lo son.

La colonización de una raíz por HMAs origina la MA, interacción de carácter usualmente positivo que favorece a ambos simbiontes (van der Heijden et al., 2015). Se caracteriza por la formación de arbúsculos, una estructura fúngica que se desarrolla al interior de las células corticales del simbionte vegetal, la cual tiene la función del intercambio de metabolitos, donde la MA provee de agua y nutrientes a la planta a cambio de azúcares (Smith & Read, 2008) y lípidos (Jiang et al., 2017; Keymer et al., 2017; Luginbuehl et al., 2017), siendo la participación del hongo fundamental en procesos asociados a la movilización, solubilización y absorción de elementos como nitrógeno y fósforo

(Miyasaka & Habte, 2001). Además, existe crecimiento de hifas aseptadas al interior de los tejidos que pueden colonizar extracitoplasmáticamente las células vegetales (tipo Arum) o intracitoplasmáticamente (tipo París), reuniendo un sinnúmero de núcleos que comparten un solo citoplasma, produciendo esporas multinucleadas y, en algunas especies, forman estructuras de almacenamiento llamadas vesículas (Smith & Read, 2008). Es el reconocimiento de estas estructuras lo que permite diferenciar a una verdadera MA, en contraste a la presencia de hifas de otros hongos endófitos, puesto que estos exhiben otro tipo de estructuras, como hifas septadas, microesclerocios y células moniliformes (Brundrett, 2006). Adicionalmente cabe mencionar que los HMAs son organismos asexuales y simbioses obligados, por lo que no se pueden cultivar sin la presencia de una planta hospedera y cuyo estudio, en la actualidad, utiliza tanto aproximaciones morfológicas como moleculares (Krüger et al., 2012).

Se ha documentado que la MA llega a ser capaz de modificar el metaboloma de las plantas; permitiendo, en ciertos casos, que respondan con mayor eficiencia al estrés ambiental, tanto biótico como abiótico (Delavaux et al., 2017). También se ha descrito que la MA podría estar intermediando una comunicación química entre las plantas, transfiriendo metabolitos en ambos sentidos, donde incluso la planta nodriza puede verse beneficiada (Sortibrán et al., 2018). Así, esta interacción podría estar ayudando a que las plantas puedan enfrentarse a un ambiente perturbado y/o estresante (Maltz et al., 2017), incluso mediando el efecto facilitador de las plantas nodrizas sobre las reclutas facilitadas (Moora, 2014; Rodríguez-Echeverría et al., 2015).

Trabajos como los de Casanova-Katny et al. (2011), Torres-Mellado et al. (2012) y Silva-Flores (2018) han permitido conocer características de la micorrización de algunas especies del bosque esclerófilo, como la intensidad y tipo de micorrización más recurrente (e.g. micorriza arbuscular), basándose en descripciones morfológicas surgidas de la observación directa de raíces y de la presencia de esporas en el suelo. En estos estudios se han incluido algunas de las especies que son parte de la composición florística del bosque higrófilo como *Peumus boldus*, *Quillaja saponaria* y *Drymis winteri*. Aun así, la información respecto a la micorrización de otras especies descritas como nodrizas del bosque esclerófilo e higrófilo es aún escasa. Más aún, poco se conoce de los efectos de las perturbaciones antrópicas sobre los HMAs en estos ambientes, en particular del fuego sobre la MA y el estado en que queda la colonización micorrícica post-incendio en plantas clave para la sucesión ecológica, puesto que inician la recuperación mediante el rebrote.

1.4.- Micorriza e incendios forestales

Estudios realizados en el hemisferio norte muestran que los terrenos afectados con incendios de altas temperaturas presentan una disminución en la diversidad de microorganismos del suelo (Mataix-Solera et al., 2009; Day et al., 2019), discutiendo sobre la idea de que esto podría implicar una menor posibilidad de colonización micorrícica natural. Lo anterior se suma a evidencias *ex situ* que indicarían que el fuego (y la temperatura) tendría un efecto negativo directo sobre la cantidad de propágulos de HMAs y la viabilidad de las esporas (Rashid et al., 1997; Pattinson et al., 1999). En un metaanálisis (Dove & Hart, 2017), donde se analizaron 24 estudios sobre el efecto del fuego en la colonización micorrícica, se reportó que los estudios realizados *in situ*

encontraron evidencia de un efecto negativo, pero este análisis sólo incluía 3 estudios del hemisferio sur, 2 de Australia y 1 de Argentina, mencionando además que este efecto no se observaba en estudios *ex situ*. Además, se cuestiona si la reducción de la micorrización en las plantas provenientes de sitios incendiados podría deberse más a los cambios de las condiciones ambientales que produce el fuego y no directamente a una reducción de los propágulos. A esto se suma otro estudio *in situ* reciente que reporta una menor colonización en las zonas afectadas por incendio (Kivlin et al., 2021).

De existir de forma generalizada un efecto negativo sobre la MA, este se vuelve relevante para evaluar las posibilidades de éxito de la recuperación natural post fuego, no sólo por la interacción positiva que significa la MA para la planta simbiote en sí, sino que también por el alcance que esta facilitación tiene a mayores escala (al nivel de comunidades y ecosistemas), mejorando la diversidad y productividad de los bosques (van der Heijden et al., 2015) y participando de redes de interacciones más complejas, como es el efecto nodriza y el reclutamiento de plántulas durante el proceso de sucesión secundaria, como ya se mencionó anteriormente. Al observar la MA operando en y con estos mecanismos de regeneración natural, se ha podido innovar en algunas propuestas de restauración activa, algunas de ellas en Sudamérica (Silva-Flores et al., 2022). La restauración activa se caracteriza por la intervención humana directa en el proceso de recuperación (Becerra et al., 2019). Esta es posible de ser ejecutada de forma menos invasiva mediante la incorporación temprana y el reforzamiento de atributos que son propios del ecosistema perturbado, buscando mejorar los tiempos y las posibilidades de éxito de la recuperación. En este sentido, se ha observado que la inoculación de plántulas con propágulos de

micorrizas (esporas, hifas en el sustrato y trozos de raíces micorrizadas) mejora su supervivencia y desempeño, lo cual en el contexto de una reforestación podría ser utilizado para hacer frente a una disminución del potencial de inóculos luego de dicha perturbación en el campo (Alvarez & Pérez, 2018; Neuenkamp et al., 2019).

Sin embargo, a la hora de idear una estrategia que incorpore la inoculación con HMAs en un escenario donde además se incluye la acción de plantas nodrizas, se hace necesario definir qué tan necesaria es dicha inoculación, es decir, conocer cuál es el efecto concreto de los incendios sobre la MA en plantas que los sobreviven al incendio, y que tienen la capacidad de rebrotar y con ello actuar como nodriza de otras plantas en el bosque higrófilo. Con ello, se busca comprender cómo esto puede impactar en las estrategias de restauración según el estado de perturbación desde el cual inicia el proceso de sucesión.

1.4.1.- Pregunta

¿Cuál es el estado de la colonización por MA en plantas potencialmente nodrizas del bosque higrófilo de quebrada que sobreviven a un incendio forestal?

1.4.2.- Hipótesis de Trabajo

Dado que existe evidencia de que el fuego disminuye tanto la riqueza de microorganismos en el suelo, entre ellos los HMAs, como la colonización por MA en estudios realizados en diversos ecosistemas, se espera que en las raíces de potenciales plantas nodrizas que rebrotan en zonas afectadas por incendios exista una menor colonización por MA respecto de aquellas que crecen en zonas que no fueron afectadas por incendios, tanto en términos de colonización general como por tipo de estructura fúngica.

1.4.3.- Objetivo General del estudio

Evaluar el efecto de los incendios forestales sobre la colonización por MA presente en potenciales plantas nodrizas del bosque higrófilo de quebrada de la zona central de Chile.

1.4.4.- Objetivo Específicos del estudio

Objetivo 1: Determinar el porcentaje de colonización por micorriza arbuscular presente en potenciales plantas nodrizas del bosque higrófilo de quebrada, tanto en zonas afectadas como no afectadas por incendios forestales.

Objetivo 2: Comparar la colonización micorrícica arbuscular general encontrada en zonas afectadas y no afectadas por incendio, considerando también la colonización según cada tipo de estructura fúngica característica de esta interacción.

METODOLOGÍA

2.1.- Sitios de estudios




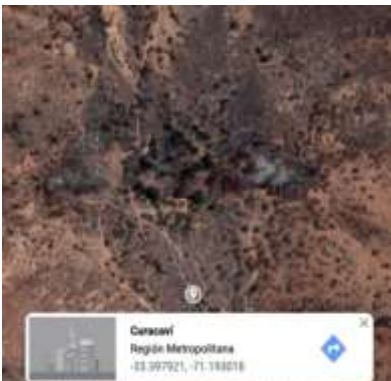


En el marco del proyecto FIBN 013/2020 “Restauración ecológica e incendios forestales: Uso de nodrizas y micorrizas para la recuperación de quebradas con bosque higrófilo en Chile central”, y a partir de los datos incluidos en el registro de incendios forestales proporcionados por CONAF para las temporadas 2019-2020 y 2020-2021, se seleccionaron 4 sitios de interés. Se identificaron sectores que se ubicaran entre los 32° y 35° de latitud (intervalo geográfico donde es posible encontrar bosque esclerófilo higrófilo), es decir, entre la región de Valparaíso y la región de O'Higgins, que hubiesen sido afectados por incendios forestales recientemente.

Los sitios de estudio fueron evaluados en visitas a terreno por parte del equipo del laboratorio de Ecología Geográfica, a cargo del proyecto FIBN, el cual es administrado por el Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB). Dichas visitas fueron llevadas a cabo durante febrero de 2021, a un año de ocurridos los incendios aproximadamente, y con ellas se pudo confirmar que los 4 sitios de interés cumplían con la condición de albergar un bosque de tipo higrófilo de quebrada y qué existían similitudes respecto a la flora que los compone y el incendio que los afectó, siendo este de mediana intensidad. Esto último ya que el incendio afectó a las plantas a nivel de suelo y las copas de los árboles fueron calentadas, pero no quemadas del todo.

En todos los sitios se localizaron quebradas en las que se pudieron identificar zonas afectadas por incendio (F+) y zonas no afectadas por incendio (F-). En algunos casos ambas zonas se encontraban en la misma quebrada; en otros, en quebradas distintas pero contiguas. Luego de ser seleccionadas las quebradas, se midieron características fisicoquímicas del suelo como parte de los datos requeridos por el proyecto FIBN para la caracterización general de cada quebrada incluida en el estudio y sólo se analizó una muestra de suelo por quebrada (Tabla 1). Estos sitios fueron identificados según sus localidades: Peñuelas (V región), Curacaví (R.M.), El Canelo (R.M) y Graneros (VI región) (Tabla 2).

Tabla 1: Datos fisicoquímicos generales del suelo de los sitios de estudio							
Sitio	Tratamiento	N mg/Kg	P mg/Kg	K mg/Kg	M,O %	pH	C,E, dS/m
Peñuelas	F-	6	16	116	3,64	5,71	0,094
	F+	13	16	176	4,04	7,18	0,289
	Diferencia	7	0	60	0,4	1,47	0,195
Curacaví	F-	10	12	145	4,18	6,16	0,101
	F+	9	55	330	5,55	7,42	0,52
	Diferencia	-1	43	185	1,37	1,26	0,419
El Canelo	F-	2	27	320	9,61	6,17	0,139
	F+	9	42	392	5,61	7,22	0,309
	Diferencia	7	15	72	-4	1,05	0,17
Graneros	F-	3	30	283	10,06	6,06	0,309
	F+	49	51	237	3,94	7,4	0,497
	Diferencia	46	21	-46	-6,12	1,34	0,188

Tabla 2: Imágenes satelitales de los sitios de estudio

Sitio	F-	F+
Peñuelas		
Curacaví		
El Canelo		

<p>Graneros</p>		
-----------------	---	--

2.2.- Diseño experimental

El factor de estudio fue la presencia previa de fuego producto de un incendio forestal, habiendo establecido en cada sitio dos condiciones: F- (sin incendio) y F+ (con incendio). Se seleccionaron 8 parcelas para cada condición en base a la identificación de una planta de una especie potencialmente nodriza. De esta manera se obtuvo un total de 64 muestras (4 sitios x 2 condiciones x 8 parcelas). Para la identificación de cada potencial planta nodriza se tomó en consideración las especies del bosque esclerófilo con efecto nodriza reportado previamente (Duarte et al., 2021; Scalia, 2021) y para la delimitación de las parcelas dentro de un mismo sitio se estableció un distanciamiento de 10 metros como mínimo entre parcelas, siguiendo el ejemplo de otros estudios (Maherali & Klironomos, 2012; Tedersoo et al., 2014; Bahram et al., 2015) y con el fin de evitar la autocorrelación de las muestras, puesto que la rizosfera de un árbol adulto puede extenderse horizontalmente hasta 10 metros desde la base del tronco. Diferentes especies fueron incluidas en este estudio, habiendo variaciones respecto a la presencia de dichas especies dependiendo de la composición florística de cada sitio (anexo 1). En la condición F- se muestrearon plantas adultas, mientras que en la condición quemada se muestrearon plantas que estaban rebrotando desde la base de troncos quemados.

2.3.- Toma de muestras de raíces

Para determinar la colonización micorrícica de las plantas nodrizas, tanto en sitios afectados por incendio como no afectados, se tomaron muestras de raíz desde cuatro puntos alrededor de la planta de interés (4 submuestras para construir una muestra

compuesta). Para ello se usaron tubos de PVC de 30 cm de largo y 5 cm de diámetro (Tedersoo et al., 2014), los que fueron introducidos como mínimo 25 cm en la tierra de manera vertical con la ayuda de un combo (Fig. 1A). De esta manera se capturó un volumen de tierra al interior del tubo que se puede calcular mediante la ecuación de volumen de un cilindro:

$$Ec 1. \quad \text{Volumen de un cilindro} = \pi r^2 h$$

donde:

π representa en valor de la constante pi,

r^2 representa el valor del radio del cilindro al cuadrado,

y h representa el valor de la altura, en este caso el valor de la profundidad con que fue introducido el cilindro en el suelo para tomar la muestra. De esta forma podemos decir que en promedio se obtuvieron 491 cm^3 de muestra de suelo en cada parcela.

$$V = \pi 2,5 \text{ cm}^2 25 \text{ cm} = 491 \text{ cm}^3$$

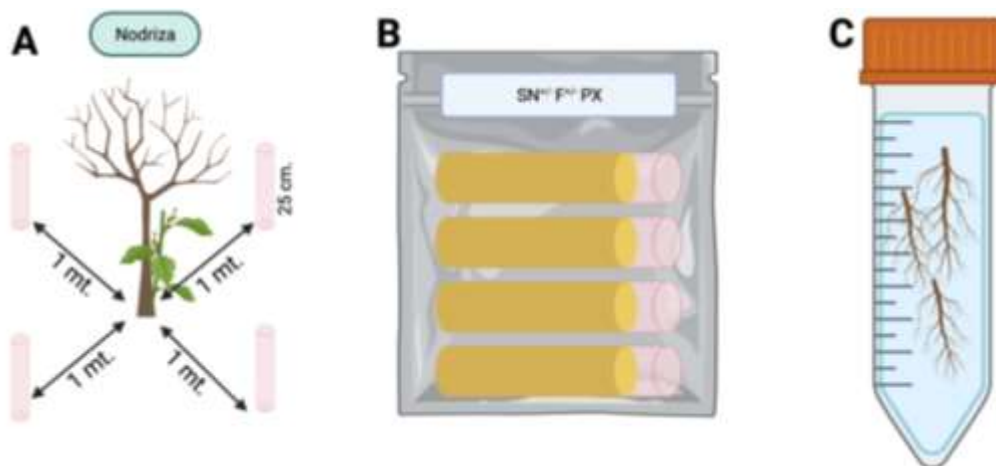


Figura 1: Secuencia de trabajo de la toma de muestras. (A) Esquema espacial de la distribución de los tubos para tomar la submuestra en cada planta de interés. (B) Almacenaje de los tubos en bolsas. (C) Representación del almacenaje de las raíces una vez que han sido separadas del suelo.

Los tubos fueron almacenados en bolsas de plástico debidamente rotuladas (Fig. 1B) y mantenidos a 4°C en un lugar fresco y seco hasta la cosecha. El tratamiento de las muestras que se describe a continuación se basó en los protocolos propuestos por Vierheilig & Piché (1998) y Pitet et al. (2009), modificados y adaptados por Silva-Flores (2018) para trabajar con muestras de bosque esclerófilo.

2.4.- Tratamiento de las Raíces

2.4.1.- Cosecha de raíces

Las submuestras de suelo de cada planta de interés fueron puestas en un recipiente y, con la ayuda de pinzas, se extrajeron las raíces. Puesto que las estructuras de la MA se desarrollan en las raíces secundarias y zonas de crecimiento apical, se conservaron todas las raíces secundarias encontradas y aquellas primarias que estuvieran sosteniendo secundarias. Posteriormente, fueron lavadas con abundante agua para remover los restos de tierra, transferidas a un tubo cónico de 50 mL y fijadas mediante la adición de etanol al 70%, según lo descrito por Brundrett et al. (1996), lo que se muestra en la Fig. 1C.

2.4.2.- Tinción de raíces

Para poder observar las estructuras fúngicas y de esta manera cuantificar el contenido de micorriza arbuscular, fue necesario teñir las raíces, para lo cual se utilizó el protocolo de tinción adaptado a plantas del esclerófilo hecho por Silva-Flores (2018). El protocolo de tinción se presenta resumido en la Fig. 2, donde en A las raíces se lavaron previamente con abundante agua para remover el alcohol y se les agregó KOH al 10%, a 70°C de

temperatura y por 45 minutos, con la finalidad de ablandar el tejido vegetal, remover tinciones propias de la raíz y hacerla más susceptible a la tinción. Este proceso se repitió dos veces para cada tubo, debido a la dureza de las raíces tratadas y a la alta concentración de pigmentos de color café-anaranjado, hasta lograr que la solución resultante fuera translúcida. Se lavó con abundante agua entre repeticiones y antes del paso B, descartando aquellas raíces gruesas y lignificadas, puesto que los protocolos ya citados recomiendan trabajar con las raíces secundarias y jóvenes dado que las que las estructuras de la MA se desarrollan en estos tejidos. Este procedimiento se aplicó a todas las muestras, no obstante, en el caso de las provenientes de Peñuelas y El Canelo (sitios con una abundante cosecha de raíces), la mitad de cada muestra fue sometida a una tanda de tinción con modificaciones en los pasos A y B. Se utilizó KOH al 10%, pero esta vez a temperatura ambiente por 24 horas con la finalidad de evaluar si esto permitía obtener imágenes más nítidas de las estructuras fúngicas. Esto también se repitió una segunda vez, por lo que las raíces fueron expuestas por 48 horas a la acción de la mencionada base. Se apreció que estos cambios no producían diferencias observables en los resultados de la tinción.

En el siguiente paso (Fig. 2B) se agregó peróxido de hidrógeno al 3% para remover el color natural de la raíz, donde se observó que las raíces senescentes mantenían la coloración mientras que las raíces no senescentes se decoloraron con mayor rapidez. Durante este paso fue crucial vigilar la progresión de la decoloración, puesto que hubo variaciones importantes en el tiempo que esta demoró según cada muestra, variando entre minutos a algunas horas. En el caso de la tanda de tinción modificada para Peñuelas y El

Canelo, también se extendió el tiempo de exposición, en este caso a 30 horas, logrando una mayor decoloración de las muestras.

Antes de pasar al siguiente paso (Fig. 2C), la muestra se debió lavar con abundante agua para remover el peróxido, seleccionando las raíces que decoloraron y descartando aquellas que no lo hicieron.

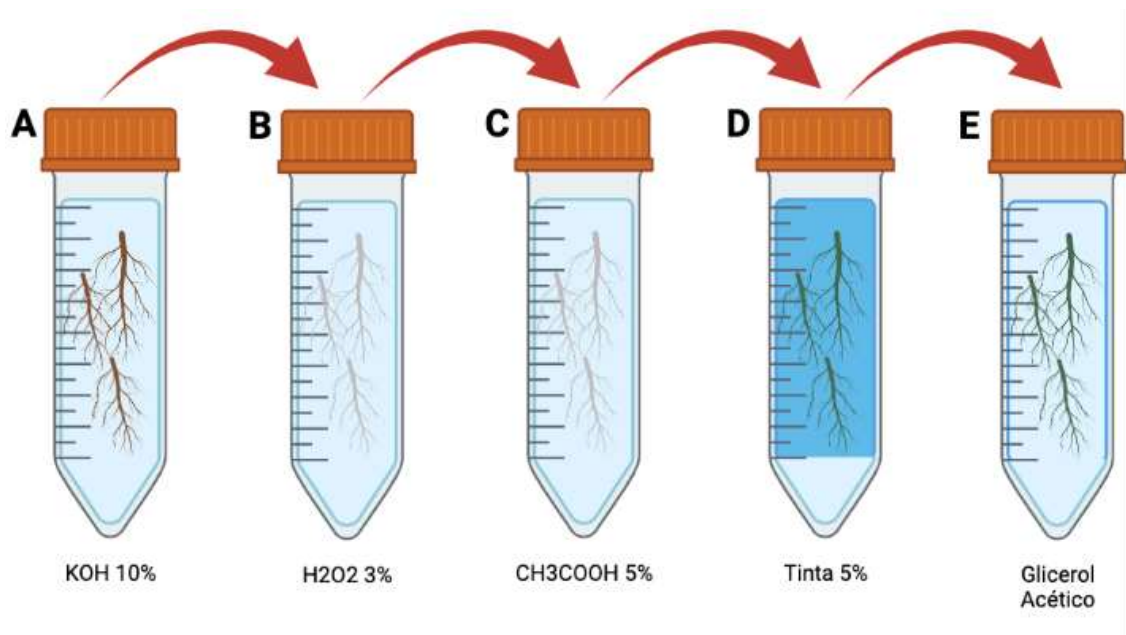


Figura 2: Secuencia del protocolo de tinción. En A se aplica el tratamiento con hidróxido de potasio al 10%. En B, el tratamiento con peróxido de hidrógeno al 3%. En C, el tratamiento con ácido acético. En D, el tratamiento con la tinta Pelikan Blue y en E, el tratamiento de mantención en glicerol acético.

Posteriormente (Fig. 2C) se agregó ácido acético por 30 minutos para que este impregnara el tejido vegetal y acidificara la muestra, facilitando el ingreso de la tinta en el paso siguiente (Fig. 2D). Dado que el solvente de la tinta es este mismo ácido, no se requirió lavado antes de pasar al siguiente paso.

En el siguiente paso (Fig. 2D) se agregó la tinta Pelikan Royal Blue diluida al 5% en ácido acético al 5% y previamente calentada hasta el hervor, dejando reposar las raíces por 15 minutos. Luego, se lavaron las raíces con abundante agua hasta que dejó de salir el agua azul. Se siguió la recomendación de dejar cada muestra dentro del tubo con agua destilada por 48 horas en el refrigerador para que la muestra perdiera el exceso de tinta.

Por último (Fig. 2E), se reemplazó el agua por glicerol acético, el cual tiene la función de conservar la muestra para procesos posteriores.

2.4.3.- Montaje de raíces

Para poder hacer una observación al microscopio de las muestras fue necesario montar 30 fragmentos de cada muestra de raíz, extraídos desde la planta de interés, en portaobjetos (Ho-Plágaro et al., 2020). Con la ayuda de una lupa, bisturí, pinzas y placas Petri, se cortaron 30 segmentos de 1 cm de largo de las raíces más finas de cada muestra y se depositaron 15 segmentos por cada portaobjeto (2 portaobjetos por muestra). Para realizar el corte, las raíces fueron puestas dentro de la placa Petri con 1/3 de agua destilada para evitar la deshidratación. Una vez que todos los fragmentos fueron alineados en el portaobjeto de forma longitudinal al mismo, se cubrieron con un cubreobjetos y se dejó escurrir una gota (o dos gotas) de alcohol polivinílico lactoglicerol (PVLG) por debajo del cubreobjetos. Luego de 5 días de secado del PVLG se pudo sellar parte de las muestras con esmalte, quedando listas para la observación bajo el microscopio.

2.5.- Cuantificación de la colonización micorrícica

Para la cuantificación del contenido de micorrización se utilizó el método de intersección magnificada (McGonigle et al., 1990), basado en la identificación y contabilización porcentual de la presencia de estructuras fúngicas micorrícicas en las raíces.

Dicho método consiste en observar los fragmentos de raíces montados en el portaobjetos con una magnificación de 200x. Con el campo visual del objetivo, se deben hacer pasadas perpendiculares al largo de las muestras de raíces, lo cual produce intersecciones. De ser necesario, se debe acomodar el objetivo con la gradícula para que uno de los ejes quede perpendicular al eje longitudinal de la raíz. En cada intersección se debe mover el plano focal a través de la raíz para explorar el tejido y de esta manera hacer un registro de la presencia, o ausencia, de estructuras fúngicas micorrícicas, usando una codificación de 0 (ausencia) y 1 (presencia), lo cual se fue organizando en un documento Microsoft Excel®. Adicionalmente, dado el esfuerzo de muestreo y observación, se decidió tomar nota de las estructuras fúngicas de otros hongos endófitos como información adicional, lo cual se informa en el anexo 2. Considerando cualquiera de las tres estructuras de la micorriza: hifa, vesícula y arbusculo, se define si la intersección es positiva o negativa para cada una de ellas según si el plano de corte atraviesa al menos una estructura. Para riqueza de este estudio se hizo un registro visual de las estructuras observadas, tomando fotografías mediante una cámara acoplada al microscopio.

Adicionalmente, se ha de considerar que los autores del método recomiendan que los puntos de intersección sobre secciones de la raíz que no tienen córtex no sean considerados y, además, que las observaciones de todas las muestras sean hechas por el/la mismo/a

observador/a. En este estudio, un/a mismo/a observador/a hizo 120 observaciones por muestra (McGonigle et al., 1990), y los resultados de sus observaciones se expresaron de forma porcentual, es decir, que la colonización micorrícica es entendida como un grado de colonización del tejido vegetal, algo que se repite en la bibliografía revisada tanto para desarrollar el marco teórico como la metodología. Es así como en Ho-Plágaro et al. (2020) se proponen las siguientes ecuaciones para este método:

$$Ec 2. \text{ Colonización Micorrícica Global (GC\%)} = \frac{\text{número de intersecciones A +}}{\text{número de intersecciones totales}} \times 100\%$$

$$Ec 3. \text{ Colonización Micorrícica Arbúsculos (AC\%)} = \frac{\text{número de intersecciones A +}}{\text{número de intersecciones totales}} \times 100\%$$

$$Ec 4. \text{ Colonización Micorrícica Vesícula (VC\%)} = \frac{\text{número de intersecciones V +}}{\text{número de intersecciones totales}} \times 100\%$$

$$Ec 5. \text{ Colonización Micorrícica Hifa (HC\%)} = \frac{\text{número de intersecciones H +}}{\text{número de intersecciones totales}} \times 100\%$$

Esta misma ecuación también se aplicó para el caso de la cuantificación de los hongos Endófitos.

$$Ec 6. \text{ Colonización Endófitos no micorrícicos (ENM\%)} = \frac{\text{número de intersecciones H +}}{\text{número de intersecciones totales}} \times 100\%$$

2.6.- Análisis estadísticos

El segundo objetivo específico de este trabajo compromete una comparación de la colonización micorrícica que se encontró en F- frente al que se encontró en F+. Para el análisis estadístico se utilizó el software Rstudio (RStudio Team., 2020).

2.6.1.- Normalidad de los datos

Para determinar si utilizar una estadística paramétrica o no paramétrica, fue necesario probar si los datos seguían una distribución normal. De esta forma, en primera instancia se creó un modelo lineal con la fórmula *Modelo1 <- lm(Global~Fuego)* para evaluar si el comportamiento de los residuales seguía los supuestos de la normalidad.

2.6.2.- Modelos lineales generalizados

Dado que los datos no exhibieron una distribución normal (anexo 3) se optó por trabajar con Modelos Lineales Generalizados (GLM por sus siglas en inglés), puesto que este tipo de modelos permite trabajar con datos que muestran distribuciones no normales. De esta manera, se utilizó la función *glm* contenida en los stats de Rstudio, construyendo una fórmula con una variable respuesta (GC%, HC%, VC%, AC% y ENM%) y una variable independiente (fuego, con sus dos niveles F+ y F-). Para construir dicha fórmula también se definió la distribución Quasibinominal como descripción para la distribución del error en los datos y se definió el predictor lineal usando una regresión logística, por lo que se utilizó la función “logit”, esto siguiendo la recomendación de la literatura asociada al análisis de datos ecológicos (Zuur et al., 2009). De esta manera la fórmula tomó la siguiente forma:

Ec 7. Modelo <- glm(Variable Respuesta~Fuego, data=datos, family=quasibinominal(link=logit))

La hipótesis nula fue que no existían diferencias significativas, mientras que la hipótesis alternativa supone que sí existen diferencias significativas, considerando un $\alpha < 0,05$ para aceptar dicha hipótesis alternativa. Adicionalmente, se optó por seguir las

recomendaciones hechas en Muff et al. (2022) sobre qué lenguaje usar en la discusión y la extrapolación de los resultados estadísticos a la hipótesis de trabajo. De esta manera, se acogió usar la escala de interpretación propuesta por dichos autores, donde se recomienda que para:

$\alpha > 0,1$ = No se encuentra evidencia que sostenga la hipótesis de trabajo.

$0,05 < \alpha < 0,1$ = Se encuentra una evidencia débil que sostenga la hipótesis de trabajo.

$0,01 < \alpha < 0,05$ = Se encuentra una evidencia moderada que sostenga la hipótesis de trabajo.

$0,001 < \alpha < 0,01$ = Se encuentra una evidencia fuerte que sostenga la hipótesis de trabajo.

$\alpha < 0,001$ = Se encuentra evidencia muy fuerte que sostenga la hipótesis de trabajo.

2. 7.-Revisión Bibliográfica

Para construir el soporte teórico de los diferentes apartados de este trabajo, se procedió a hacer una búsqueda y revisión bibliográfica que permitiera reunir evidencias previas y contrastar los resultados obtenidos con otros trabajos sobre micorrización en ecosistemas similares. Para ello se hizo una búsqueda centrada en mayor medida en Web of Science, Google Scholar y la biblioteca digital UChile, usando las siguientes palabras claves:

En Inglés: mycorrhizal, nurse plant, wildfire, mediterranean forest, schlerophill forest fungi.

En español: micorriza, planta nodriza, incendio forestal, bosque mediterráneo, bosque esclerófilo, Fungi.

También se tuvo acceso a otros repositorios, como Scielo, Pubmed y Wiley Online Library, donde los resultados de dichas búsquedas quedaron contenidos en su mayoría dentro de las realizadas en los tres buscadores ya indicados.

RESULTADOS

3.1.- Colonización Micorrícica

A partir de la identificación de las diferentes estructuras fúngicas presentes en las muestras de raíz extraídas de los sitios de estudio (Fig. 3) se pudo determinar la colonización micorrícica para cada una de las 64 muestras, de las cuales 32 fueron provenientes de sitios afectados por incendio (F+) y 32 de sitios sin afectar (F-), detalle de lo cual se incluye en la tabla 3 en el anexo 4. Posteriormente, estos datos fueron comparados (Fig. 4) para evaluar la existencia de diferencias entre los dos niveles, primero de forma general y luego considerando los sitios de estudio desde donde provenían.

En el análisis general (Fig. 4), la colonización micorrícica arbuscular en plantas potencialmente nodrizas no muestra diferencias significativas entre las condiciones F+ y F- (p-value: 0,217), no encontrando sustento estadístico para nuestra hipótesis de trabajo (no es posible rechazar H0), no entregando evidencia de un efecto negativo del fuego sobre la colonización.

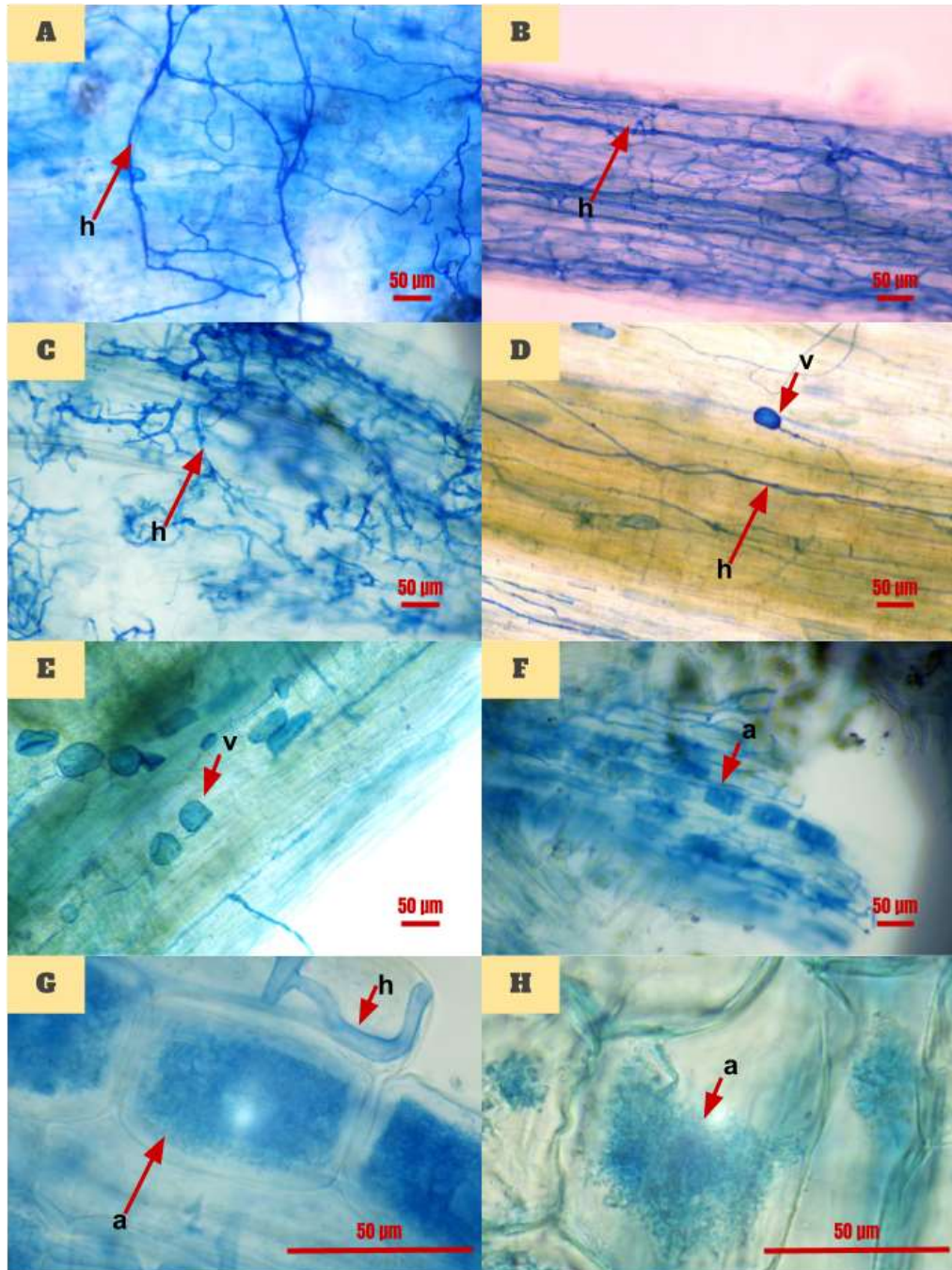


Figura 3: Microscopía de distintas estructuras fúngicas (azul oscuro e indicadas con flecha roja). En A, B y C se observa el micelio de la MA (200x) caracterizado por hifas aseptadas (h). En D y E se pueden observar vesículas micorrícicas (v). En F se ven tanto hifas intercelulares como arbusculos al interior de células vegetales. En G y H se observa un detalle de los arbusculos (a) e hifas (h) con una magnificación de 1000x.

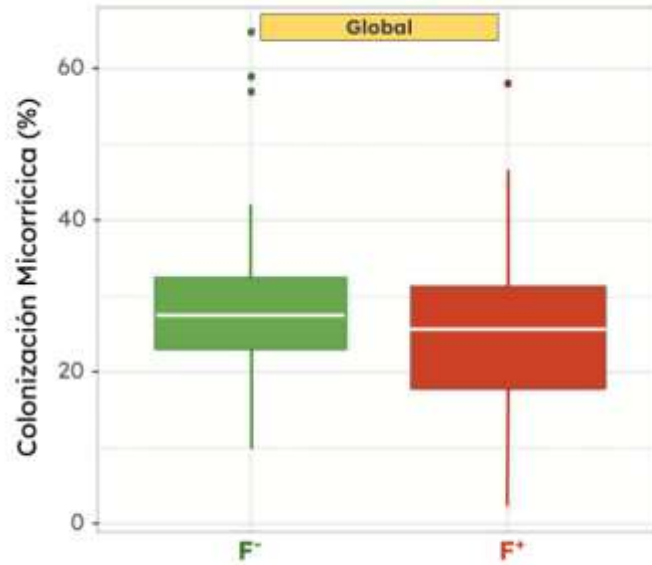


Figura 4: Colonización micorrícica global (GC%) encontrada en las muestras estudiadas. En verde se muestra la distribución de las muestras provenientes desde los sitios F- y en rojo las de sitio F+. No se evidencian diferencias estadísticamente significativas (p-value: 0,217).

En la Fig. 5 se observa que Curacaví, Graneros y El Canelo muestran un patrón donde la colonización en F- es levemente mayor que la encontrada en F+ (esperado según nuestra hipótesis). No obstante, este patrón no se sustenta estadísticamente, puesto que todos los p-value son mayores a 0,05, lo que significa que no se encontró evidencia del efecto esperado. Sin embargo, el caso de Peñuelas es diferente, puesto que exhibe un patrón invertido que sí tiene sustento estadístico, encontrándose evidencia de un efecto positivo del fuego sobre la colonización en este sitio.

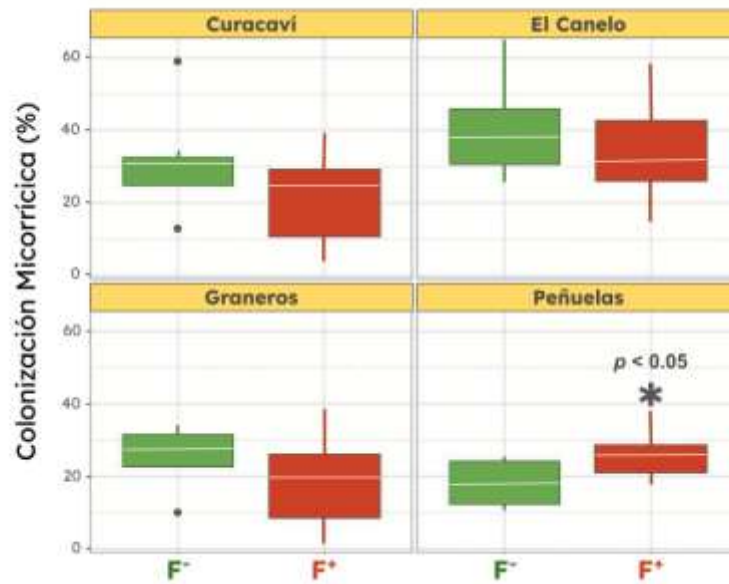


Figura 5: Colonización micorrícica global (GC%) encontrada en las muestras estudiadas separadas según el sitio de estudio. En verde se muestra la distribución de las muestras provenientes desde los sitios F- y en rojo las de sitio F+. Con un asterisco se indican las diferencias estadísticamente significativas (p-value: 0,025).

3.2.- Presencia de las estructuras fúngicas Micorrícicas Arbusculares

La estimación de la colonización micorrícica se construye mediante la identificación de tres tipos de estructuras fúngicas: hifas, vesículas y arbuscúlos. Estas estructuras poseen características y funciones diferentes por lo que se hizo relevante observar la presencia de cada una de ellas por separado (Fig. 6), según lo planteado en el segundo objetivo de este estudio. Adicionalmente, y dado los resultados de micorrización por sitio, se consideró también observar lo que ocurre en cada sitio de proveniencia de las muestras (Fig. 7, 8 y 9).

En cuanto a la colonización por tipo de estructura fúngica (Fig. 6), la hifa es la estructura más abundante, pero no muestra diferencias significativas entre las condiciones, lo cual tampoco se observa en el caso de las vesículas. Los arbuscúlos son la estructura menos abundante en la observación, con valores entre el 0% y 1%, pero sí muestran diferencias significativas entre los tratamientos (p-value: 0,016). Por lo que son la única estructura para la cual se cumple la hipótesis de trabajo en primera instancia, encontrándose evidencia moderada de un efecto negativo del fuego sobre la colonización por arbuscúlos, pero no encontrándose evidencia de un efecto sobre la colonización de hifas y vesículas.

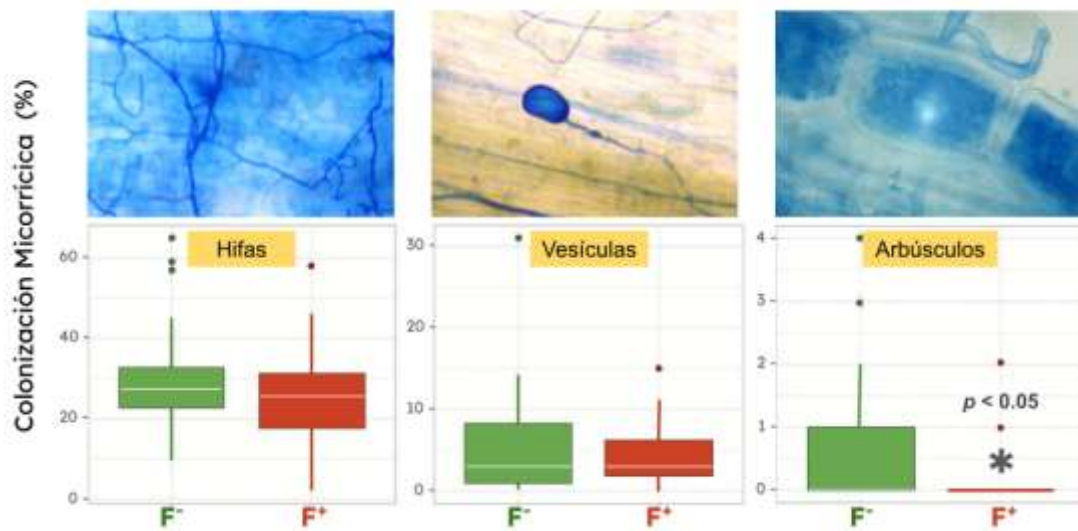


Figura 6: Colonización micorrízica según cada estructura fúngica: hifas (HC%), vesículas (VC%) y arbuscúlos (AC%). En verde se muestra la distribución de las muestras provenientes desde los sitios F- y en rojo las de sitio F+. Un asterisco representa las diferencias significativas (p-value: 0,016).

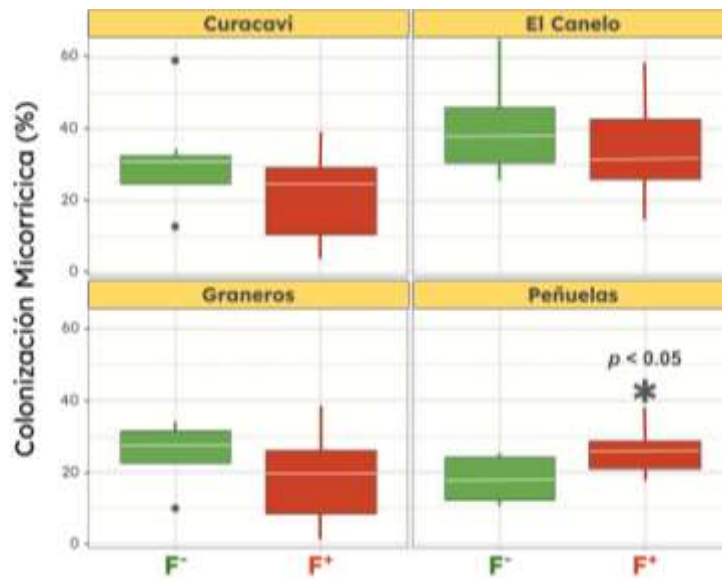


Figura 7: Colonización micorrícica por hifas (HC%) según el sitio de procedencia. En verde se muestra la distribución de las muestras provenientes desde los sitios F- y en rojo las de sitio F+. El asterisco indica diferencia estadísticamente significativa (p-value: 0,025).

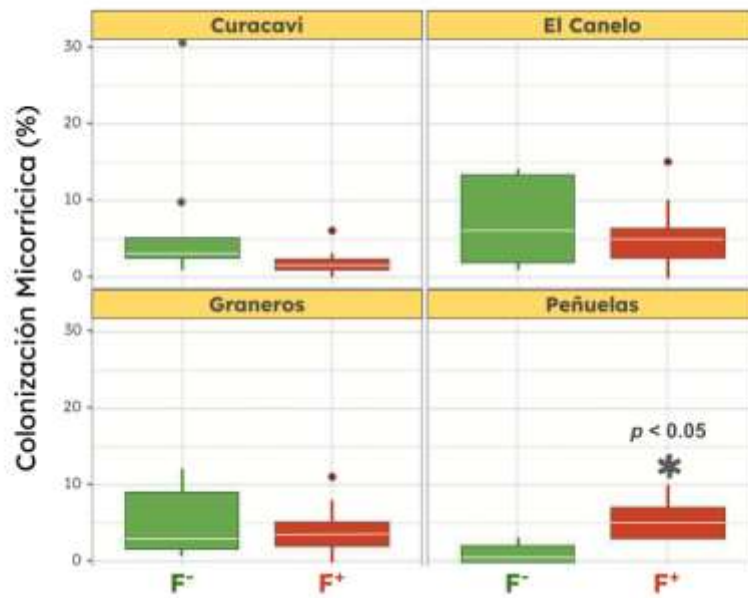


Figura 8: Colonización micorrícica por vesículas (VC%) según el sitio de procedencia. En verde las muestras provenientes desde los sitios F- y en rojo F+. El asterisco indica diferencias significativas (p-value: 0,0007).

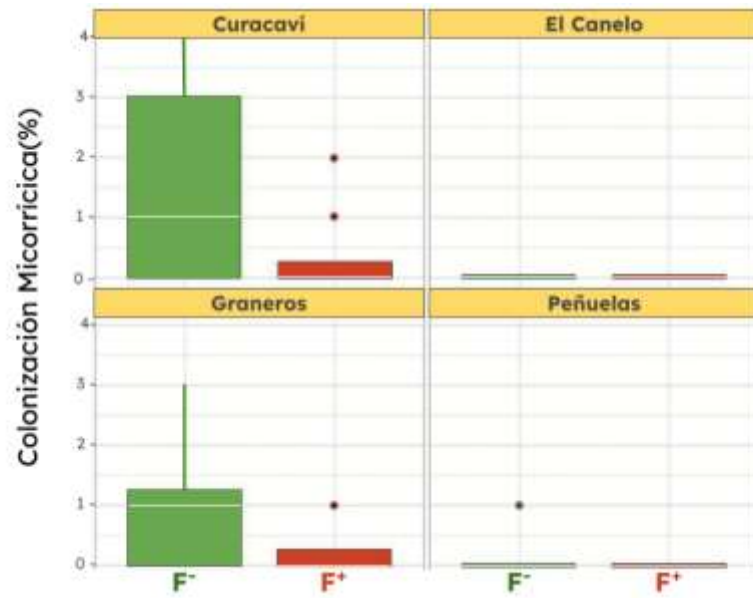


Figura 9: Colonización micorrízica por arbusculos (AC%) según el sitio de procedencia. En verde las muestras provenientes desde los sitios F- y en rojo las de sitios F+. La línea al interior de la caja representa el promedio para cada condición, los cuales no evidencian diferencias estadísticas significativas.

A su vez, al observar qué ocurre con las estructuras según cada sitio de estudio, aparece nuevamente el patrón invertido de Peñuelas en las hifas, aunque sin significancia estadística. En cuanto a las vesículas, tampoco aparecen evidencias de un efecto negativo del fuego, pero en el análisis por sitio el patrón inverso de Peñuelas se acentúa. En el caso de los arbusculos, se encuentra evidencia de un efecto negativo moderado del fuego en forma general.

DISCUSIÓN

Nuestra hipótesis planteaba que la colonización por MA sería menor en zonas afectadas por incendio (Rashid et al., 1997; Pattinson et al., 1999; Dove & Hart, 2017; Kivlin et al., 2021). No obstante, nuestros resultados medidos en el bosque higrófilo de quebrada, a un año de ocurrido el incendio de intensidad media, no muestran evidencia de aquello. En cuanto al efecto del incendio sobre las distintas estructuras, nuestros resultados muestran que tanto la abundancia de vesículas como de las hifas no se ven afectadas por los incendios, mientras que los arbusculos disminuyen en dicha condición.

En la literatura, el efecto de los incendios sobre las MA es un asunto en abierta discusión, puesto que existen estudios en ambos sentidos. En cuanto a aquellos donde se reportan casos *in situ* en los que no se encontraron evidencias consistentes de un efecto negativo del fuego sobre la MA, ya sea en su colonización ni en la diversidad de HMAs (Dhillion et al., 1988; Bellgard et al., 1994; Haskins & Gehring, 2004; Treseder et al., 2004; Longo et al., 2014; Xiang et al., 2015), el elemento más variable es el tiempo transcurrido desde el incendio y la intensidad de este. Por ejemplo, en un estudio realizado a un año de ocurrido el incendio de intensidad moderada, se encontró que la diversidad de HMAs disminuye levemente con el fuego, aunque la densidad de esporas no resulta afectada (Longo et al. 2014), mientras que en otro estudio realizado a 5 años de transcurrido el incendio se encontró que no había diferencias en la colonización por MA entre los tratamientos (Haskins & Gehring, 2004). En otro estudio, en el que tomaron muestras a 1 y 11 años de ocurrido el incendio se encontró que, en el primer caso, sí se veía afectada la

diversidad de MA, pero que a los 11 años ya no había diferencias entre los tratamientos (Xiang et al., 2015), e incluso cuando se encontraron diferencias en la colonización a un año de ocurrido un incendio, estas ya no se observaban al segundo año (Dhillion et al., 1988). En otro caso, donde se comparan muestras tomadas a 2, 14 y 45 años de ocurrido el incendio, no se observan diferencias en la colonización respecto al sitio control (Treseder et al., 2004). Respecto a la intensidad de los incendios, los estudios en general reportan trabajar en contextos de incendios moderados, puesto que se ha reportado que cuando las temperaturas que alcanza el suelo están sobre 70°C ocurre la pérdida total de la colonización por MA (Klopatek et al., 1988; Pattinson et al., 1999), aunque el carácter de “moderado” resulta cualitativo, puesto que ninguno de los estudios mencionados reporta el valor de temperatura que alcanza el suelo, esto posiblemente debido a que son datos difícilmente medibles durante el monitoreo de un incendio. No obstante, la capacidad de recuperación natural de un sistema perturbado estaría asociada a la intensidad del fuego durante el incendio, convirtiéndose en un factor clave para poder predecir el comportamiento de la comunidad en el escenario post incendio (Neary et al., 1999; Brown et al., 2019). Cabe mencionar que en un estudio reciente se evaluó la densidad de esporas, la riqueza de especies de HMAs y la infectividad de suelos extraídos desde bosque amazónico incendiado hacía 5 años y no incendiado, no encontrándose diferencias entre los tratamientos ni evidencias de un efecto del fuego (Stürmer et al., 2022). Mientras, otro estudio reporta que la riqueza de HMAs no se ve disminuida incluso después de un segundo incendio dentro de un intervalo corto de tiempo (Mirzaei et al., 2023).

Teniendo en cuenta la variabilidad de la evidencia, parece que a la hora de definir el efecto de los incendios sobre la colonización por MA es importante considerar más elementos que la sola presencia del fuego, relevándose características particulares de cada sitio de estudio, tal como se recomienda en Dove & Hart (2017). Esto lleva a pensar que la MA no es una asociación tan vulnerable frente al fuego como se pensó originalmente en este trabajo, sino que sería capaz de mantenerse o recuperarse prontamente mediante mecanismos naturales, al menos en cuanto a los porcentajes de colonización y riqueza de especies, y en condiciones de un incendio moderado.

Si bien de manera general nuestros resultados no muestran que el fuego tenga un efecto que apunte en algún sentido, cuando observamos los datos de cada sitio un efecto positivo del incendio sobre la micorrización se plasma parcialmente en el sitio de Peñuelas. Allí encontramos que la micorrización es mayor en la condición con incendio, mientras que los otros tres sitios no muestran diferencias. Esta variabilidad entre sitios también se observó en un estudio reciente (Moura et al., 2022), donde se estudiaron varios sitios (5 elementos azonales del ecosistema del Cerrado brasileño), y se observó que el efecto variaba según el sitio. Mientras que en uno de ellos se observaba un efecto negativo, a los 8 meses de transcurrido el incendio, otros sitios mostraban niveles de colonización (y también de abundancia de esporas) similares, y uno de ellos una colonización levemente mayor en la condición incendiada.

Las diferencias entre los sitios de estudio pueden deberse a la conjunción de un sinnúmero de factores, los cuales podrían ser determinantes a la hora de establecer la simbiosis micorrícica. Entre ellos podemos mencionar algunas condiciones fisicoquímicas del suelo

a las cuales se han asociado respuestas en la colonización (tanto positivas como negativas) (Lenoir et al, 2016). Por ejemplo, cuando ocurre un incendio tiende a aumentar la biodisponibilidad de diferentes nutrientes debido a la quema de materia orgánica (Agbeshie et al., 2022), lo cual podría afectar los niveles de colonización por MA al existir una menor necesidad de la facilitación para la adquisición de nutrientes. Cambios en la concentración de fósforo biodisponible también podrían vincularse a las variaciones encontradas entre los sitios. Peñuelas presenta niveles de fósforo que no varían entre las dos condiciones y el pH más bajo en F- registrado en todos los sitios (Tabla 1). En el caso del fósforo, si bien nuestros resultados no muestran diferencias aparentes, se ha observado que en suelos con poca biodisponibilidad el establecimiento de la MA se ve favorecido y que, al aumentar los niveles de P, disminuye la colonización (Elias & Safir, 1987; Carrenho et al., 2007), donde la textura del suelo también juega un rol (Deepika & Kothamasi, 2015). En cuanto al pH, este es un factor que influye el desarrollo extrarradical de la MA (Carrenho et al., 2007; Davison et al., 2021), donde ocurre que las especies de HMAs tienen óptimos de pH diferentes, por lo que los cambios que produce el fuego podrían llevar a la selección positiva de algunas especies fúngicas sobre otras y esto asociarse a lo observado en este sitio. Cabe mencionar que algunos ecosistemas exhiben adaptaciones al fuego que han permitido que especies fúngicas vean favorecida su germinación cuando ocurre un incendio, e incluso que este pueda actuar como un ente seleccionador que les permite aumentar su abundancia en ciertas comunidades, cambiando la estructura de la comunidad (Bentivenga & Hetrick, 1991; Brown et al., 2019; Franco Manchón et al., 2019). Finalmente, el estrés hídrico después de un incendio podría potenciar la interacción simbiótica mediante la activación de mecanismos de respuestas

asociados a la sequía (Lenoir et al., 2016) y por lo tanto podría también jugar un rol en el patrón de este sitio. Futuros estudios deberían considerar una caracterización detallada de las características del suelo, lo que podría permitir dilucidar los patrones encontrados entre sitios.

En cuanto al efecto del fuego sobre cada una de las estructuras de los HMAs, nuestros resultados muestran que ni las hifas ni las vesículas disminuyen su abundancia, mientras que la de los arbusculos disminuye significativamente. Las hifas son la estructura más abundante de las micorrizas, y se encargan principalmente de extender la red del hongo dentro de la planta e infectar los tejidos. Dado que este rol es principalmente mecánico, hipotetizamos que esta estructura no debería verse afectada por la depresión que genera el fuego sobre el metabolismo fotosintético de las plantas, sino más bien mantenerse de forma latente. Ahora bien, evidencia reciente muestra que las hifas podrían además jugar un rol relevante en la transferencia de agua desde el suelo a la planta (Kakouridis et al. 2022), lo que podría dar luces de un proceso más complejo, donde las hifas podrían ser relevante para mantener o recuperar el metabolismo fotosintético afectado por el fuego, siendo entonces un proceso de facilitación del hongo hacia la planta. Además, no se han encontrado estudios que reporten evidencia de que la planta puede transferir metabolitos a las hifas extracitoplasmáticas o a otras estructuras que no sean los arbusculos, por lo cual el beneficio o la ganancia del hongo en esta situación aún no es clara. Lo mismo ocurre con las vesículas, estructuras encargadas de almacenar lípidos transferidos principalmente desde la planta hacia el hongo (Jiang et al., 2017) y donde además se ha reportado la presencia de concentraciones relevantes de diferentes nutrientes, destacando

el fósforo como el más abundante (Olsson et al., 2011). Por otro lado, los arbusculos son las estructuras de mayor actividad de intercambio hongo-planta (Smith & Read, 2008), formando estructuras bastante móviles y con ciclos de vida cortos, entrando en senescencia entre 2 a 8 días desde su formación (Luginbuehl & Oldroyd, 2017). Dada la disminución observada de los arbusculos en nuestros resultados, hipotetizamos que estos se inactivan al detenerse el intercambio de nutrientes con la planta, degradándose debido a la suspensión de la fotosíntesis por la pérdida de las estructuras aéreas de la planta, no quedando evidencia de su presencia.

Estas hipótesis sobre las estructuras se sostienen también en nueva evidencia en el mismo sistema de estudio (Tomé, 2023), donde se ha reportado que el efecto del fuego sobre la vegetación no se ve reflejado en un efecto sobre la diversidad de esporas que forman micorrizas, por lo que podríamos suponer que las estructuras que podrían verse mayormente afectadas son aquellas de mayor intercambio con la planta, mientras que las estructuras de soporte y de infección de MA no se verían afectadas. De esta manera, la resiliencia de la MA al fuego estaría dada tanto por la sobrevivencia de hifas y vesículas refugiadas dentro de la raíz como por la resistencia de sus esporas, manteniéndose la interacción hongo-planta, pero no necesariamente su funcionalidad.

4.1.- Viabilidad de las muestras

Cada planta muestreada en la condición F+ fue escogida por presentar rebrote, lo cual se interpretó como una señal clara de que parte del organismo vegetal había sobrevivido al incendio, comprobando en terreno que el rebrote es un mecanismo capaz de operar

tempranamente luego de la perturbación (Muñoz & Fuentes, 1989), incluso antes de la germinación, puesto que no se observaron plántulas arbóreas en las zonas afectadas por incendio.

Del estudio de estas muestras, una de las primeras cuestiones a relevar es que en la totalidad de ellas se pudieron reconocer estructuras micorrícicas del tipo arbuscular con apariencia funcional, tanto de las provenientes de zonas afectadas por incendio como de las no afectadas. Este hecho permite suponer que tanto el componente vegetal como el fúngico se encontraban interactuando ya en un tiempo relativamente corto desde que fueron afectados por el fuego (meses para el caso de Curacaví y un año para el caso de los otros sitios), y en diferentes especies arbóreas.

Esta situación plantea una interrogante respecto a si la interacción está presente prontamente debido a que el hongo sobrevive en conjunto con la planta o si este se regenera desde la germinación de esporas que hubiesen sobrevivido a las altas temperaturas, llevando a cabo el proceso de infección desde cero. Respecto a esto, si bien este estudio no puede responder dicha pregunta, existen trabajos en campo que sugieren que la proliferación del micelio desde hifas existente es más rápida que desde la germinación de esporas (Hewitt et al., 2013).

A su vez, en el caso de la sobrevivencia de hifas en las estructuras subterráneas de la planta, cabe preguntarse si la planta actúa como refugio para el componente fúngico o si este tiene un rol más activo en dicha sobrevivencia, es decir, si es que la simbiosis es parte de la razón de la sobrevivencia misma de la planta, otorgándole de alguna forma una

mayor resistencia a las condiciones perturbadas producto del incendio. En este sentido es importante considerar los argumentos de otros estudios que señalan que el efecto de la interacción de facilitación es más fuerte en condiciones de estrés y cómo la micorriza es capaz de conferir resistencia a la desecación, deficiencia de nutrientes y patógenos (Simard, 2009; Augé et al., 2015; Millar & Bennett, 2016; Wang et al., 2021), lo que podría verse explicado también por la transferencia de agua proveniente desde el suelo, desde el hongo hacia la planta (Kakouridis et al. 2022).

En cuanto a las limitantes del estudio, la metodología de muestreo no permite asegurar que las raíces extraídas en la muestra de suelo pertenecen a la planta que se escogió en superficie, puesto que en los bosques las raíces se pueden entremezclar subterráneamente. No obstante, si bien se identifican plantas específicas, el interés de este estudio se centra en su rizosfera, la cual entendemos como una zona de influencia comunitaria y lo que se busca conocer es la colonización micorrícica en ese contexto, puesto que el efecto nodriza va más allá de la interacción directa entre dos organismos y es más bien una conjunción de variables, tanto bióticas como abióticas, que se interrelacionan bajo la zona de influencia de la rizosfera de la planta potencialmente nodriza que se delimita superficialmente (Rodríguez-Echeverría et al., 2015; Sortibrán et al., 2018). Sin embargo, adicionar análisis moleculares podría permitir afinar la técnica, lo que daría paso a reconocer la especificidad de las interacciones hongo-planta.

Adicionalmente, la técnica de muestreo tiene limitaciones propias de los experimentos de campo. La cantidad y calidad de raíces secundarias extraídas para la observación de MA fue limitada, y trabajar con raíces más desarrolladas o deterioradas puede dificultar la

tinción y, por ende, la observación misma, pudiendo disminuir las observaciones positivas. Si bien no se conocen otras técnicas que permitan recuperar una mayor cantidad y calidad de raíces secundarias, proponemos que un aumento del número de muestras podría relajar esta limitante. Además, las especies presentes y, por ende, muestreadas no son las mismas en todos los sitios de estudio, pudiendo ser que existan diferencias de colonización entre las especies vegetales que no son contempladas en este estudio.

Una última limitante sobre la cual reflexionar es que nuestro estudio mide la colonización total de los hongos sobre las raíces. Ello no permite identificar cuáles especies de HMAs participan de la formación de las estructuras de MA observadas, lo que nos lleva a preguntarnos sobre la posibilidad de que el fuego tenga algún efecto en la riqueza de HMAs formando MA. Para conocer la identidad de las especies que efectivamente están formando MA es necesario recurrir a análisis moleculares (Landis et al., 2004; Sanders, 2004; Kryukov et al., 2020), y si bien estos se usan para el estudio de la MA en distintos contextos (Silva-Flores, 2018; Alrajhei et al., 2022; Thanni et al., 2022), aún no es una metodología muy usada para reportar riqueza en el contexto de los incendios forestales, donde prima el reconocimiento de especies mediante la morfología de esporas (Dove & Hart, 2017). Sin embargo, la riqueza de esporas no necesariamente representa lo que ocurre con la MA debido a que la esporulación difiere entre especies (Sanders, 2004). Además, los estudios que sí reportan el uso de análisis moleculares trabajan con muestras de suelo y no directamente con las muestras de raíz (Xiang et al., 2015; Day et al., 2019). Por lo que resulta necesario plantear la necesidad de aplicar análisis moleculares a las muestras de raíz de las plantas de interés y, de esta manera, comparar qué especies están

presentes en cada tratamiento y evaluar si existen variaciones, lo que podría dar cuenta de relaciones específicas.

4.2.- Relevancia de estos resultados para la restauración biológica

Nuestros resultados muestran evidencia de que la colonización por MA no se ve afectada por los incendios. Sin embargo, la presencia de arbuscúlos, estructura encargada del intercambio de nutrientes entre la planta y el hongo, disminuye en los sitios incendiados. Es por ello por lo que proponemos que la MA es un elemento natural resistente, capaz de recolonizar las raíces nuevas de las plantas que rebrotan. No obstante, el proceso de intercambio parece estar siendo afectado, por lo que se podría estudiar la funcionalidad de la interacción hongo-planta en trabajos futuros que nos permitan dilucidar si es que efectivamente ocurre facilitación o esta se encuentra en un estado de latencia.

Determinar lo anterior resulta relevante para la restauración ecológica si se considera que en estrategias activas de restauración se intenta asistir y acelerar el proceso de regeneración mediante acciones como la reforestación, donde la sobrevivencia de las plántulas es una preocupación (Grman et al., 2015). En algunos estudios se ha explorado cómo la inoculación de plantas con HMAs previo a la reforestación podría facilitar la adquisición de nutrientes de las plántulas, mejorando sus probabilidades de sobrevivencia (Perry et al., 1987; Cook et al., 2011; Koziol et al., 2018; Luecke et al., 2021). Sin embargo, este proceso implica varios desafíos técnicos, consumo de recursos y cuidados a considerar, siendo aún una estrategia cuyas ventajas están en estudio y en discusión. Por ejemplo, los HMAs comerciales (normalmente usados en estos casos) no siempre

muestran un buen desempeño en ambientes naturales, puesto que no son los mismos (ni se asemejan) a los que ocuparían dicho ambiente de forma nativa. Con ellos además hay que considerar que se podría estar potenciando un proceso de invasión biológica, incluso en aquellos casos en los que se usan en combinación con inóculos nativos (Luecke et al., 2021).

En relación con este punto, los resultados obtenidos se convierten en una oportunidad, puesto que una estrategia de restauración que contemple reforestar dentro de la zona de influencia de la rizosfera de una planta que rebrota (que pueda actuar como nodriza) no requeriría de dicha inoculación, ya que la evidencia apunta a que esta conserva un potencial de inoculación con HMAs nativos, con el cual se podrían infectar las plántulas nuevas, desencadenando la colonización por MA en ellas (aunque reiteramos la importancia de reevaluar la funcionalidad de la interacción asociada a la actividad arbuscular). Dado que esta infección ocurriría después del incendio, se podría esperar que los procesos de intercambio y facilitación de la MA en estas plántulas ocurran, favoreciendo la respuesta al estrés ambiental que significa el ambiente perturbado y actuando también como intercomunicadores entre la planta nodriza y la facilitada, produciéndose un intercambio de metabolitos que pueda resultar beneficioso para los tres componentes asociados. De esta manera, se podrían enfocar los esfuerzos y recursos en otros aspectos de la estrategia de restauración. También es importante considerar que en aquellos casos en que sea necesaria la inoculación y no existan sistemas de referencia desde donde extraer inóculos nativos, estos también se podrían extraer de las rizosferas de las plantas sobrevivientes en el mismo sitio perturbado a restaurar.

Finalmente, nuestros resultados sugieren que el sitio de estudio y sus particularidades son relevantes a la hora de evaluar el efecto del fuego sobre la micorrización sobre plantas arbóreas. Por lo tanto, en el contexto de una estrategia de restauración, se hace necesario considerar tanto variables del incendio, como el tiempo transcurrido y la intensidad, como las características fisicoquímicas del suelo, elementos que permitirían comprender en mayor medida el estado de degradación en el cual se encuentra la comunidad para enfocar los esfuerzos en aquellos componentes que son claves para la sucesión ecológica.

CONCLUSIÓN

A partir de este estudio se puede concluir que de manera general el efecto del fuego sobre la colonización por HMAs en plantas nodrizas del bosque higrófilo no presenta el sentido negativo que se hipotetizó originalmente, sino que más bien se encontró evidencia de un efecto neutro. Aunque la generalización debe ser cauta, puesto que se observaron patrones diferentes entre los sitios de estudio y entre las estructuras micorrícicas, donde nuestra hipótesis de trabajo si se cumple para el caso de los arbusculo, siendo la única estructura que se vio afectada por el fuego y de forma negativa, lo cual plantea interrogantes respecto al estado de funcionalidad de la interacción y nos hace hipotetizar un estado de latencia entre los simbioses.

Dados los resultados de este estudio, se propone que la planta nodriza puede ser un refugio para las hifas, haciendo de su rizosfera una fuente de inóculo para el reclutamiento de hongos o plantas post incendio. Esto puede tener importantes implicancias para la restauración ecológica, sugiriendo el uso de plantas nodrizas para acciones de reforestación.

Finalmente, se refuerza la idea de que la micorriza es una interacción compleja que está sumamente influenciada por, y que responde a, diferentes factores que pueden ser sitio-específicos, por lo que aún queda mucho que estudiar en cuanto a su rol ecológico y resiliencia frente a las perturbaciones antrópicas que sufre el bosque esclerófilo de la zona central. Por lo tanto, es necesario ampliar este estudio considerando, por ejemplo, estudiar

diferencias entre las distintas especies reconocidas con potencial de nodrizas, y con otras metodologías, como las moleculares, para evaluar la identidad de los HMAs presentes en ambas condiciones y/o determinar qué metabolitos son los que se intercambian en la condición de estrés. Así, se podría tener una idea más acabada del efecto del fuego y del estado de la interacción en etapas tempranas de la sucesión ecológica.

BIBLIOGRAFÍA

- Agbeshie, A., Abugre, S., Atta-Darkwa, T. & Awuah, R. (2022). A review of the effects of forest fire on soil properties. *Journal of Forestry Research* 2022 33:5, 33(5), 1419–1441. <https://doi.org/10.1007/S11676-022-01475-4>
- Alrajhei, K., Saleh, I. & Abu-Dieyeh, M. (2022). Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in plant roots and rhizosphere soil from different arid land environment of Qatar. *Plant Direct*, 6(1), e369. <https://doi.org/10.1002/PLD3.369>
- Altamirano, A. & Lara, A. (2010). Deforestación en ecosistemas templados de la precordillera andina del centro-sur de Chile. *Bosque*, 31(1), 53–64. <https://doi.org/10.4067/s0717-92002010000100007>
- Alvarez, A. & Pérez, D. (2018). Microbial inoculation of *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav. ex Hook.) Hawkins for ecological restoration. *Phyton* 87, 274-279
- Armesto, J. & Gutierrez, J. (1978). El efecto del fuego en la estructura de la vegetación de Chile central. *Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso* 11, 43-48. Recuperado 17 de noviembre de 2022, de <https://bibliotecadigital.ciren.cl/handle/20.500.13082/20429>
- Armesto, J., Kalin, M. & Hinojosa, F. (2007). The Mediterranean Environment of Central Chile. *The Physical Geography of South America*. Disponible en <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/120061>
- Armesto, J., Manuschevich, D., Mora, A., Smith-Ramirez, C., Rozzi, R., Abarzúa, A. & Marquet, P. (2010). From the Holocene to the Anthropocene: A historical framework for land cover change in southwestern South America in the past 15,000 years. *Land Use Policy*, 27(2), 148–160. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2009.07.006>
- Armesto, J. & Pickett, S. (1985). A mechanistic approach to the study of succession in the Chilean matorral. *Revista Chilena de Historia Natural*, 58, 9–17.
- Augé, R., Toler, H. & Saxton, A. (2015). Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis. *Mycorrhiza*, 25(1), 13–24. <https://doi.org/10.1007/s00572-014-0585-4>
- Bahram, M., Peay, K. & Tedersoo, L. (2015). Local-scale biogeography and spatiotemporal variability in communities of mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 205(4), 1454–1463. <https://doi.org/10.1111/NPH.13206>
- Becerra, P., Smith-Ramirez, C. & Arellano, E. (2019). *Evaluación de técnicas pasivas y activas para la recuperación del bosque esclerófilo de Chile central*. [Archivo PDF]. https://investigacion.conaf.cl/archivos/repositorio_documento/2020/08/Documento-tecnico-Proy-007-2013.pdf
- Bellgard, S., Whelan, R. & Muston, R. (1994). The impact of wildfire on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and their potential to influence the re-establishment of

- post-fire plant communities. *Mycorrhiza*, 4(4), 139–146. <https://doi.org/10.1007/BF00203532>
- Bentivenga, S. & Hetrick, B. (1991). Relationship between mycorrhizal activity, burning, and plant productivity in tallgrass prairie. *Canadian Journal of Botany*, 69(12), 2597–2602. <https://doi.org/10.1139/b91-323>
- Brown, S., Veach, A., Horton, J., Ford, E., Jumpponen, A. & Baird, R. (2019). Context dependent fungal and bacterial soil community shifts in response to recent wildfires in the Southern Appalachian Mountains. *Forest Ecology and Management*, 451, 117520. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117520>
- Brundrett, M. (2006). Understanding the Roles of Multifunctional Mycorrhizal and Endophytic Fungi. *Microbial Root Endophytes*, 281–298. https://doi.org/10.1007/3-540-33526-9_16
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. & Malajczuk, N. (1996). Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. <https://doi.org/10.13140/2.1.4880.5444>
- Brundrett, M. & Tedersoo, L. (2018). Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, 220(4), 1108–1115. <https://doi.org/10.1111/NPH.14976>
- Bustamante, R. & Grez, A. A. (1995). *Consecuencias ecológicas de la fragmentación de los bosques nativos*. <https://bibliotecadigital.infor.cl/handle/20.500.12220/8423>
- Callaway, R. M. (1992). Effect of Shrubs on Recruitment of *Quercus Douglasii* and *Quercus Lobata* in California. *Ecology*, 73(6), 2118–2128. <https://doi.org/10.2307/1941460>
- Carrenho, R., Trufem, S., Bononi, V. & Silva, E. (2007). The effect of different soil properties on arbuscular mycorrhizal colonization of peanuts, sorghum and maize. *Acta Botanica Brasílica*, 21(3), 723–730. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062007000300018>
- Casanova-Katny, M., Torres-Mellado, G., Palfner, G. & Cavieres, L. A. (2011). The best for the guest: high Andean nurse cushions of *Azorella madreporica* enhance arbuscular mycorrhizal status in associated plant species. *Mycorrhiza*, 21(7), 613–622. <https://doi.org/10.1007/s00572-011-0367-1>
- Chang, C. C., & Turner, B. L. (2019). Ecological succession in a changing world. *Journal of Ecology*, 107(2), 503–509. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1365-2745.13132>
- Cook, K., Wallender, W., Bledsoe, C., Pasternack, G. & Upadhyaya, S. (2011). Effects of Native Plant Species, Mycorrhizal Inoculum, and Mulch on Restoration of Reservoir Sediment Following Dam Removal, Elwha River, Olympic Peninsula, Washington. *Restoration Ecology*, 19(2), 251–260. <https://doi.org/10.1111/J.1526-100X.2009.00559.X>
- Davison, J., Moora, M., Semchenko, M., Adenan, S., Ahmed, T., Akhmetzhanova, A., Alatalo, J., Al-Quraishy, S., Andriyanova, E., Anslan, S., Bahram, M., Batbaatar, A., Brown, C., Bueno, C., Cahill, J., Cantero, J., Casper, B., Cherosov, M., Chideh, S., ... Öpik, M. (2021). Temperature and pH define the realised niche space of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 231(2), 763–776. <https://doi.org/10.1111/NPH.17240>

- Day, N., Dunfield, K., Johnstone, J., Mack, M., Turetsky, M., Walker, X., White, A. & Baltzer, J. L. (2019). Wildfire severity reduces richness and alters composition of soil fungal communities in boreal forests of western Canada. *Global Change Biology*, 25(7), 2310–2324. <https://doi.org/10.1111/GCB.14641>
- Deepika, S. & Kothamasi, D. (2015). Soil moisture--a regulator of arbuscular mycorrhizal fungal community assembly and symbiotic phosphorus uptake. *Mycorrhiza*, 25(1), 67–75. <https://doi.org/10.1007/S00572-014-0596-1>
- Delavaux, C., Smith-Ramesh, L., & Kuebbing, S. (2017). Beyond nutrients: A meta-analysis of the diverse effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plants and soils. *Ecology*, 98. <https://doi.org/10.1002/ecy.1892>
- Dhillon, S., Anderson, R. & Liberta, A. (1988). Effect of fire on the mycorrhizal ecology of little bluestem (*Schizachyrium scoparium*). *Canadian Journal of Botany*, 66(4), 706–713. <https://doi.org/10.1139/b88-102>
- Donoso, S., Peña, K., Pacheco, C., Luna, G., & Aguirre, A. (2011). Respuesta fisiológica y de crecimiento en plantas de Quillaja saponaria y *Cryptocarya alba* sometidas a restricción hídrica. *Bosque (Valdivia)*, 32, 187–195.
- Donoso, C. (1982). Reseña Ecológica de los Bosques Mediterráneos de Chile. *BOSQUE*, 4(2), 117–146. <https://doi.org/10.4206/BOSQUE.1982.V4N2-04>
- Dove, N. & Hart, S. (2017). Fire Reduces Fungal Species Richness and In Situ Mycorrhizal Colonization: A Meta-Analysis. *Fire Ecology*, 13, 37–65. <https://doi.org/10.4996/fireecology.130237746>
- Duarte, M., Verdú, M., Cavieres, L. & Bustamante, R. (2021). Plant–plant facilitation increases with reduced phylogenetic relatedness along an elevation gradient. *Oikos*, 130(2), 248–259. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/oik.07680>
- Dunn, E., Shropshire, F., Song, L. & Mooney, H. A. (1976). The Water Factor and Convergent Evolution in Mediterranean-type Vegetation. En O. L. Lange, L. Kappen, & E.-D. Schulze (Eds.), *Water and Plant Life: Problems and Modern Approaches* (pp. 492–505). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-66429-8_30
- Elias, K. & Safir, G. (1987). Hyphal Elongation of *Glomus fasciculatus* in Response to Root Exudates. *Applied and environmental microbiology*, 53(8), 1928–1933. <https://doi.org/10.1128/AEM.53.8.1928-1933.1987>
- Figueroa, C. (2017). *Evaluación del efecto de la precipitación, incendios y tipo de parche en la regeneración natural de especies leñosas del bosque esclerófilo en Chile central*. Pontificia Universidad Católica de Chile. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.15927.96160>
- Franco Manchón, I., Salo, K., Oria de Rueda, J., Bonet, J. & Martín-Pinto, P. (2019). Are Wildfires a Threat to Fungi in European Pinus Forests? A Case Study of Boreal and Mediterranean Forests. *Forests*, 10. <https://doi.org/10.3390/fl10040309>
- Gajardo, R. (1994). *La vegetación natural de Chile. Clasificación y distribución geográfica*. Editorial Universitaria. <https://bibliotecadigital.infor.cl/handle/20.500.12220/5018>
- Gómez-Aparicio, L., Zamora, R., Castro, J. & Hódar, J. A. (2008). Facilitation of tree saplings by nurse plants: Microhabitat amelioration or protection against herbivores?

- Journal of Vegetation Science*, 19(2), 161–172. <https://doi.org/10.3170/2008-8-18347>
- Gómez-González, S., Paula, S., Cavieres, L. A. & Pausas, J. G. (2017). Postfire responses of the woody flora of Central Chile: Insights from a germination experiment. *PLoS ONE*, 12(7). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0180661>
- Grez, A., Simonetti, J. & Bustamante, R. (2006). *Biodiversidad en ambientes fragmentados de Chile: patrones y procesos a diferentes escalas* (1a. ed.). Universitaria.
- Grman, E., Bassett, T., Zirbel, C. R., & Brudvig, L. A. (2015). Dispersal and establishment filters influence the assembly of restored prairie plant communities. *Restoration Ecology*, 23(6), 892–899. <https://doi.org/10.1111/REC.12271>
- Haskins, K. & Gehring, C. A. (2004). Long-term effects of burning slash on plant communities and arbuscular mycorrhizae in a semi-arid woodland. *Journal of Applied Ecology*, 41(2), 379–388. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.0021-8901.2004.00889.x>
- Hewitt, R., Bent, E., Hollingsworth, T., Chapin, F. & Taylor, D. (2013). Resilience of arctic mycorrhizal fungal communities after wildfire facilitated by resprouting shrubs. *Ecoscience*, 20(3), 296–310. <https://doi.org/10.2980/20-3-3620>
- Honrubia, M. (2009). The Mycorrhizae: a plant-fungus relation that has existed for more than 400 million years. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 66(S1), 133–144. <https://doi.org/10.3989/ajbm.2226>
- Ho-Plágaro, T., Tamayo-Navarrete, M. I., & García-Garrido, J. M. (2020). Histochemical Staining and Quantification of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Colonization. *Methods in Molecular Biology*, 2146, 43–52. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0603-2_4
- Jaksic, F. & Fariña, J. (2015). Incendios, sucesión y restauración ecológica en contexto. *Anales del Instituto de la Patagonia*, 43(1), 23–34. <https://doi.org/10.4067/S0718-686X2015000100003>
- Jiang, Y., Wang, W., Xie, Q., Liu, N., Liu, L., Wang, D., Zhang, X., Yang, C., Chen, X., Tang, D. & Wang, E. (2017). Plants transfer lipids to sustain colonization by mutualistic mycorrhizal and parasitic fungi. *Science*, 356(6343), 1172–1173. https://doi.org/10.1126/science.aam9970/suppl_file/aam9970_jiang_sm.pdf
- Kakouridis, A., Hagen, J. A., Kan, M. P., Mambelli, S., Feldman, L. J., Herman, D. J., Weber, P. K., Pett-Ridge, J. & Firestone, M. K. (2022). Routes to roots: direct evidence of water transport by arbuscular mycorrhizal fungi to host plants. *New Phytologist*, 236(1), 210–221. <https://doi.org/10.1111/NPH.18281>
- Keeley, J. E., Bond, W. J., Bradstock, R. A., Pausas, J. G. & Rundel, P. W. (2011). Fire in mediterranean ecosystems: Ecology, evolution and management. *Fire in Mediterranean Ecosystems: Ecology, Evolution and Management*, 9780521824910, 1–515. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139033091>
- Keymer, A., Pimprakar, P., Wewer, V., Huber, C., Brands, M., Bucerius, S. L., Delaux, P. M., Klingl, V., von Röpenack-Lahaye, E., Wang, T. L., Eisenreich, W., Dörmann, P., Parniske, M. & Gutjahr, C. (2017). Lipid transfer from plants to arbuscular mycorrhiza fungi. *eLife*, 6. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.29107>

- Kivlin, S. N., Hawkes, C. V., Papeş, M., Treseder, K. K., & Averill, C. (2021). The future of microbial ecological niche theory and modeling. *New Phytologist*, *231*(2), 508–511. <https://doi.org/10.1111/NPH.17373>
- Klopatek, C., Ddebano, L. & Klopatek, J. M. (1988). Effects of simulated fire on vesicular-arbuscular mycorrhizae in pinyon-juniper woodland soil. *Plant and Soil*, *109*(2), 245–249. <http://www.jstor.org/stable/42937561>
- Koziol, L., Schultz, P. A., House, G. L., Bauer, J. T., Middleton, E. L. & Bever, J. D. (2018). The Plant Microbiome and Native Plant Restoration: The Example of Native Mycorrhizal Fungi. *BioScience*, *68*(12), 996–1006. <https://doi.org/10.1093/BIOSCI/BIY125>
- Krüger, M., Krüger, C., Walker, C., Stockinger, H. & Schüßler, A. (2012). Phylogenetic reference data for systematics and phylotaxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi from phylum to species level. *New Phytologist*, *193*(4), 970–984. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2011.03962.X>
- Kryukov, A., Gorbunova, A., Machs, E., Mikhaylova, Y., Rodionov, A., Zhurbenko, P. & Yurkov, A. (2020). Perspectives of using Illumina MiSeq for identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, *24*(2), 158. <https://doi.org/10.18699/VJ19.38-O>
- Landis, F., Gargas, A. & Givnish, T. (2004). Relationships among arbuscular mycorrhizal fungi, vascular plants and environmental conditions in oak savannas. *New Phytologist*, *164*(3), 493–504. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2004.01202.X>
- Lenoir, I., Fontaine, J. & Lounès-Hadj Sahraoui, A. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: A review. *Phytochemistry*, *123*, 4–15. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2016.01.002>
- Liancourt, P., Le Bagousse-Pinguet, Y., Rixen, C., & Dolezal, J. (2017). SGH: Stress or strain gradient hypothesis? Insights from an elevation gradient on the roof of the world. *Annals of Botany*, *120*(1), 29–38. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx037>
- Longo, S., Nouhra, E., Goto, B. T., Berbara, R. L., & Urcelay, C. (2014). Effects of fire on arbuscular mycorrhizal fungi in the Mountain Chaco Forest. *Forest Ecology and Management*, *315*, 86–94. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.12.027>
- Luecke, N., Mejia, A. & Crawford, K. (2021). Native soil amendments combined with commercial arbuscular mycorrhizal fungi increase biomass of *Panicum amarum*. *Scientific Reports 2021 11:1*, *11*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97307-2>
- Luginbuehl, L., Menard, G., Kurup, S., Van Erp, H., Radhakrishnan, G., Breakspear, A., Oldroyd, G. & Eastmond, P. (2017). Fatty acids in arbuscular mycorrhizal fungi are synthesized by the host plant. *Science*, *356*(6343), 1175–1178. https://doi.org/10.1126/science.aan0081/suppl_file/aan0081_luginbuehl_table_s2.xlsx
- Luginbuehl, L. & Oldroyd, G. (2017). Understanding the Arbuscule at the Heart of Endomycorrhizal Symbioses in Plants. *Current Biology*, *27*(17), R952–R963. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.06.042>

- Maherali, H., & Klironomos, J. (2012). Phylogenetic and trait-based assembly of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *PloS one*, 7(5). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0036695>
- Maltz, M., Treseder, K., & Mcguire, K. (2017). Links between plant and fungal diversity in habitat fragments of coastal shrubland. *PLoS ONE*.
- Mataix-Solera, J., Guerrero, C., García-Orenes, F., Bárcenas-Moreno, G., & Torres, M. (2009). Forest Fire Effects on Soil Microbiology. En *Fire Effects on Soils and Restoration Strategies* (Vol. 5, pp. 133–175). <https://doi.org/10.1201/9781439843338-c5>
- McGonigle, T., Miller, M., Evans, D., Fairchild, G. & Swan, J. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 115(3), 495–501. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.1990.TB00476.X>
- Millar, N. & Bennett, A. (2016). Stressed out symbiotes: hypotheses for the influence of abiotic stress on arbuscular mycorrhizal fungi. *Oecologia*, 182(3), 625. <https://doi.org/10.1007/S00442-016-3673-7>
- Miranda, A., Altamirano, A., Cayuela, L., Lara, A., & González, M. (2017). Native forest loss in the Chilean biodiversity hotspot: revealing the evidence. *Regional Environmental Change*, 17(1), 285–297. <https://doi.org/10.1007/s10113-016-1010-7>
- Miranda, A., Lara, A., Altamirano, A., Di Bella, C., González, M. E., & Julio Camarero, J. (2020). Forest browning trends in response to drought in a highly threatened mediterranean landscape of South America. *Ecological Indicators*, 115. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLIND.2020.106401>
- Mirzaei, J., Heydari, M., Omidipour, R., Jafarian, N. & Carcaillet, C. (2023). Decrease in Soil Functionalities and Herbs' Diversity, but Not That of Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Linked to Short Fire Interval in Semi-Arid Oak Forest Ecosystem, West Iran. *Plants*, 12(5), 1112. <https://doi.org/10.3390/PLANTS12051112/S1>
- Miyasaka, S. & Habte, M. (2001). Plant mechanisms and mycorrhizal symbioses to increase phosphorus uptake efficiency. *Communications in Soil Science and Plant analysis - commun soil sci plant anal*, 32, 1101–1147. <https://doi.org/10.1081/CSS-100104105>
- Montenegro, G., Ginocchio, R., Segura, A., Keely, J. & Gómez, M. (2004). Fire regimes and vegetation responses in two Mediterranean-climate regions. *Revista chilena de historia natural*, 77(3), 455–464. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2004000300005>
- Montesinos-Navarro, A., Segarra-Moragues, J., Valiente-Banuet, A., & Verdú, M. (2012). Plant facilitation occurs between species differing in their associated arbuscular mycorrhizal fungi. *The New phytologist*, 196, 835–844. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04290.x>
- Montesinos-Navarro, A., Valiente-Banuet, A., & Verdú, M. (2019a). Mycorrhizal symbiosis increases the benefits of plant facilitative interactions. *Ecography*, 42(3), 447–455. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ecog.03926>
- Montesinos-Navarro, A., Valiente-Banuet, A., & Verdú, M. (2019b). Plant facilitation through mycorrhizal symbiosis is stronger between distantly related plant species. *New Phytologist*, 224(2), 928–935. <https://doi.org/10.1111/nph.16051>

- Montesinos-Navarro, A., Verdú, M., Querejeta, J. & Valiente-Banuet, A. (2019). Nurse shrubs can receive water stored in the parenchyma of their facilitated columnar cacti. *Journal of Arid Environments*, 165(March), 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2019.04.011>
- Moora, M. (2014). Mycorrhizal traits and plant communities: Perspectives for integration. *Journal of Vegetation Science*, 25, 1126–1132. <https://doi.org/10.1111/jvs.12177>
- Moura, J., Souza, R., Vieira Junior, W., Lucas, L., Santos, J., Silva, S. & Marín, C. (2022). Effects of a megafire on the arbuscular mycorrhizal fungal community and parameters in the Brazilian Cerrado ecosystem. *Forest Systems*, 31. <https://doi.org/10.5424/fs/2022311-18557>
- Muff, S., Nilsen, E. B., O'Hara, R. B., & Nater, C. R. (2022). Rewriting results sections in the language of evidence. *Trends in ecology & evolution*, 37(3), 203–210. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2021.10.009>
- Muñoz, M. & Fuentes, E. (1989). Does Fire Induce Shrub Germination in the Chilean Matorral? *Oikos*, 56(2), 177–181. <https://doi.org/10.2307/3565333>
- Nara, K. (2006). Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. *New Phytologist*, 169(1), 169–178. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2005.01545.X>
- Navarro-Cano, J., Ferrer-Gallego, P., Laguna, E., Ferrando, I., Goberna, M., Valiente-Banuet, A. & Verdú, M. (2016). Restoring phylogenetic diversity through facilitation. *Restoration Ecology*, 24(4), 449–455. <https://doi.org/10.1111/rec.12350>
- Neary, D., Klopatek, C., DeBano, L. & Folliott, P. (1999). Fire effects on belowground sustainability: a review and synthesis. *Forest Ecology and Management*, 122(1), 51–71. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(99\)00032-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0378-1127(99)00032-8)
- Neuenkamp, L., Prober, S., Price, J., Zobel, M. & Standish, R. (2019). Benefits of mycorrhizal inoculation to ecological restoration depend on plant functional type, restoration context and time. *Fungal Ecology*, 40, 140–149. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.05.004>
- Nunes, Y., Souza, C., de Azevedo, I., de Oliveira, O., Frazão, L., Fonseca, R., dos Santos, R. & Neves, W. V. (2022). Vegetation structure and edaphic factors in veredas reflect different conservation status in these threatened areas. *Forest Ecosystems*, 9, 100036. <https://doi.org/10.1016/J.FECS.2022.100036>
- Olsson, P. A., Hammer, E. C., Pallon, J., van Aarle, I. M., & Wallander, H. (2011). Elemental composition in vesicles of an arbuscular mycorrhizal fungus, as revealed by PIXE analysis. *Fungal Biology*, 115(7), 643–648. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.funbio.2011.03.008>
- Pattinson, G. S., Hammill, K. A., Sutton, B. G., & Mcgee, P. A. (1999). Simulated fire reduces the density of arbuscular mycorrhizal fungi at the soil surface. *Mycological Research*, 103(4), 491–496. <https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S0953756298007412>
- Peña-Rojas, I., Aranda, X. & Fleck, I. (2004). Stomatal limitation to CO₂ assimilation and down-regulation of photosynthesis in *Quercus ilex* resprouts in response to slowly imposed drought. *Tree physiology*, 24(7), 813–822. <https://doi.org/10.1093/TREEPHYS/24.7.813>

- Perry, D. A., Molina, R. & Amaranthus, M. P. (1987). Mycorrhizae, mycorrhizospheres, and reforestation: current knowledge and research needs. *Canadian Journal of Forest Research*, 17(8), 929–940. <https://doi.org/10.1139/X87-145>
- Pitet, M., Camprubí, A., Calvet, C. & Estaún, V. (2009). A modified staining technique for arbuscular mycorrhiza compatible with molecular probes. *Mycorrhiza*, 19(2), 125–131. <https://doi.org/10.1007/s00572-008-0206-1>
- Pugnaire, F. I., Armas, C. & Valladares, F. (2004). Soil as a mediator in plant-plant interactions in a semi-arid community. *Journal of Vegetation Science*, 15(1), 85–92. <https://doi.org/10.1111/J.1654-1103.2004.TB02240.X>
- Rashid, A., Ahmed, T., Ayub, N. & Khan, A. G. (1997). Effect of forest fire on number, viability and post-fire re-establishment of arbuscular mycorrhizae. *Mycorrhiza*, 7(4), 217–220. <https://doi.org/10.1007/s005720050183>
- Riis, T., Kelly-Quinn, M., Aguiar, F. C., Manolaki, P., Bruno, D., Bejarano, M. D., Clerici, N., Fernandes, M. R., Franco, J. C., Pettit, N., Portela, A. P., Tammeorg, O., Tammeorg, P., Rodríguez-González, P. M. & Dufour, S. (2020). Global Overview of Ecosystem Services Provided by Riparian Vegetation. *BioScience*, 70(6), 501–514. <https://doi.org/10.1093/biosci/biaa041>
- Rodríguez-Echeverría, S., Lozano, Y., & Bardgett, R. (2015). Influence of soil microbiota in nurse plant systems. *Functional Ecology*, 30, n/a-n/a. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12594>
- RStudio Team. (2020). *RStudio: Integrated Development Environment for R*. (Nº 2020). PBC.
- Salazar, A., Baldi, G., Hirota, M., Syktus, J., & McAlpine, C. (2015). Land use and land cover change impacts on the regional climate of non-Amazonian South America: A review. *Global and Planetary Change*, 128, 103–119. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2015.02.009>
- Salinas, R. G., Soto, M. C., Ruiz-Gozalvo, F., Alonso, A. V, Intveen, H. B., & Cerrillo, R. N. (2018). Remnants of sclerophyllous forest in the mediterranean zone of central Chile: Characterization and distribution of fragments. *Interciencia*, 43, 655–663.
- Sanders, I. R. (2004). Plant and arbuscular mycorrhizal fungal diversity – are we looking at the relevant levels of diversity and are we using the right techniques? *New Phytologist*, 164(3), 415–418. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2004.01208.X>
- Scalia, S. (2021). *Efecto de la facilitación en el bosque esclerófilo, mediada por nodrizas de Peumus boldus y Cryptocarya alba en un escenario de incendios, Chile*. [Tesis de pregrado]. Universidad de Chile. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/183675>
- Schulz, J. J., Cayuela, L., Echeverria, C., Salas, J., & Rey Benayas, J. M. (2010). Monitoring land cover change of the dryland forest landscape of Central Chile (1975–2008). *Applied Geography*, 30(3), 436–447. <https://doi.org/10.1016/j.apgeog.2009.12.003>
- Silva-Flores, P. (2018). *Factores que determinan la comunidad de hongos micorrícicos arbusculares del bosque esclerófilo en Chile central mediterráneo* [Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas]. Universidad de Concepción.
- Silva-Flores, P., Neves, M., Weidlich, E., Fajardo, L., Acuña, L., Aguilera, P., Marín, C., Godoy, R., Duarte, M., Cabrera, A., & Santelices Moya, R. (2022). *Mycorrhizas and*

- Ecological Restoration in South America* (pp. 431–443). https://doi.org/10.1007/978-3-031-12994-0_21
- Simard, S. W. (2009). The foundational role of mycorrhizal networks in self-organization of interior Douglas-fir forests. *Forest Ecology and Management*, 258(SUPPL.), S95–S107. <https://doi.org/10.1016/J.FORECO.2009.05.001>
- Smith, S. & Read, D. (2008). 1 - The symbionts forming arbuscular mycorrhizas. En S. E. Smith & D. Read (Eds.), *Mycorrhizal Symbiosis (Third Edition)* (pp. 13–41). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-012370526-6.50003-9>
- Smith-Ramírez, C., Castillo-Mandujano, J., Becerra, P., Sandoval, N., Allende, R., & Fuentes, R. (2021). Recovery of Chilean Mediterranean vegetation after different frequencies of fires. *Forest Ecology and Management*, 485, 118922. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.118922>
- Sortibrán, L., Verdú, M., & Valiente-Banuet, A. (2018). A Nurse plant benefits from facilitative interactions through mycorrhizae. *Plant Biology*, 21. <https://doi.org/10.1111/plb.12948>
- Strullu-Derrien, C., Selosse, M. A., Kenrick, P. & Martin, F. M. (2018). The origin and evolution of mycorrhizal symbioses: from palaeomycology to phylogenomics. *New Phytologist*, 220(4), 1012–1030. <https://doi.org/10.1111/nph.15076>
- Stürmer, S., Heinz, K., Marascalchi, M., Giongo, A. & Siqueira, O. (2022). Wildfire does not affect spore abundance, species richness, and inoculum potential of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota) in ferruginous Canga ecosystems. *Acta Botanica Brasilica*, 36. <https://doi.org/10.1590/0102-33062021abb0218>
- Tedersoo, L., Bahram, M., Pölme, S., Kõljalg, U., Yorou, N., Wijesundera, R., Villarreal-Ruiz, L., Vasco, A., Quang Thu, P., Suija, A., Smith, M., Sharp, C., Saluveer, E., Saitta, A., Rosas, M., Riit, T., Ratkowsky, D., Pritsch, K., Poldmaa, K. & Abarenkov, K. (2014). Fungal biogeography. Global diversity and geography of soil fungi. *Science (New York, N.Y.)*, 346, 1256688. <https://doi.org/10.1126/science.1256688>
- Tedersoo, L., Bahram, M. & Zobel, M. (2020). How mycorrhizal associations drive plant population and community biology. *Science*, 367(6480), eaba1223. <https://doi.org/10.1126/science.aba1223>
- Thanni, B., Merckx, R., De Bauw, P., Boeraeve, M., Peeters, G., Hauser, S. & Honnay, O. (2022). Spatial variability and environmental drivers of cassava—arbuscular mycorrhiza fungi (AMF) associations across Southern Nigeria. *Mycorrhiza*, 32(1), 1–13. <https://doi.org/10.1007/S00572-021-01058-X/FIGURES/5>
- Tomé, M. (2023). *Efectos de los incendios forestales y especies nodrizas en la diversidad de hongos micorrícicos arbusculares en el bosque higrófilo en Chile central*. [Tesis de pregrado]. Universidad de Chile.
- Torres-Mellado, G. A., Escobar, I., Palfner, G. & Casanova-Katny, M. A. (2012). Mycotrophy in Gilliesieae, a threatened and poorly known tribe of Alliaceae from central Chile. *Revista chilena de historia natural*, 85(2), 179–186. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2012000200004>
- Treseder, K., Mack, M. & Cross, A. (2004). Relationships among fires, fungi, and soil dynamics in Alaskan Boreal Forests. *Ecological Applications - ECOL APPL*, 14, 1826–1838. <https://doi.org/10.1890/03-5133>

- van der Heijden, M. G. A., Martin, F. M., Selosse, M. A. & Sanders, I. R. (2015). Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist*, 205(4), 1406–1423. <https://doi.org/10.1111/NPH.13288>
- Venegas-González, A., Muñoz, A. A., Carpintero-Gibson, S., González-Reyes, A., Schneider, I., Gípolou-Zuñiga, T., Aguilera-Betti, I. & Roig, F. A. (2022). Sclerophyllous Forest Tree Growth Under the Influence of a Historic Megadrought in the Mediterranean Ecoregion of Chile. *Ecosystems* 2022, 1–18. <https://doi.org/10.1007/S10021-022-00760-X>
- Vierheilig, H. & Piché, Y. (1998). A modified procedure for staining arbuscular mycorrhizal fungi in roots. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 161(5), 601–602. <https://doi.org/10.1002/JPLN.1998.3581610515>
- Walker, C., Harper, C. J., Brundrett, M. C. & Krings, M. (2018). Chapter 20 - Looking for Arbuscular Mycorrhizal Fungi in the Fossil Record: An Illustrated Guide. En M. Krings, C. J. Harper, N. R. Cúneo, & G. W. Rothwell (Eds.), *Transformative Paleobotany* (pp. 481–517). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813012-4.00020-6>
- Wang, H., An, T., Huang, D., Liu, R., Xu, B., Zhang, S., Deng, X., Siddique, K. H. M., & Chen, Y. (2021). Arbuscular mycorrhizal symbioses alleviating salt stress in maize is associated with a decline in root-to-leaf gradient of Na⁺/K⁺ ratio. *BMC Plant Biology*, 21(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S12870-021-03237-6/FIGURES/6>
- Xiang, X., Gibbons, S. M., Yang, J., Kong, J., Sun, R. & Chu, H. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungal communities show low resistance and high resilience to wildfire disturbance. *Plant and Soil*, 397(1/2), 347–356. <http://www.jstor.org/stable/43872879>
- Zuur, A. F., Ieno, E. N., Walker, N. J., Saveliev, A. & Smith, G. M. (2009). GLM and GAM for Absence–Presence and Proportional Data. En A. F. Zuur, E. N. Ieno, N. Walker, A. A. Saveliev, & G. M. Smith (Eds.), *Mixed effects models and extensions in ecology with R* (pp. 245–259). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-0-387-87458-6_10

ANEXO 1

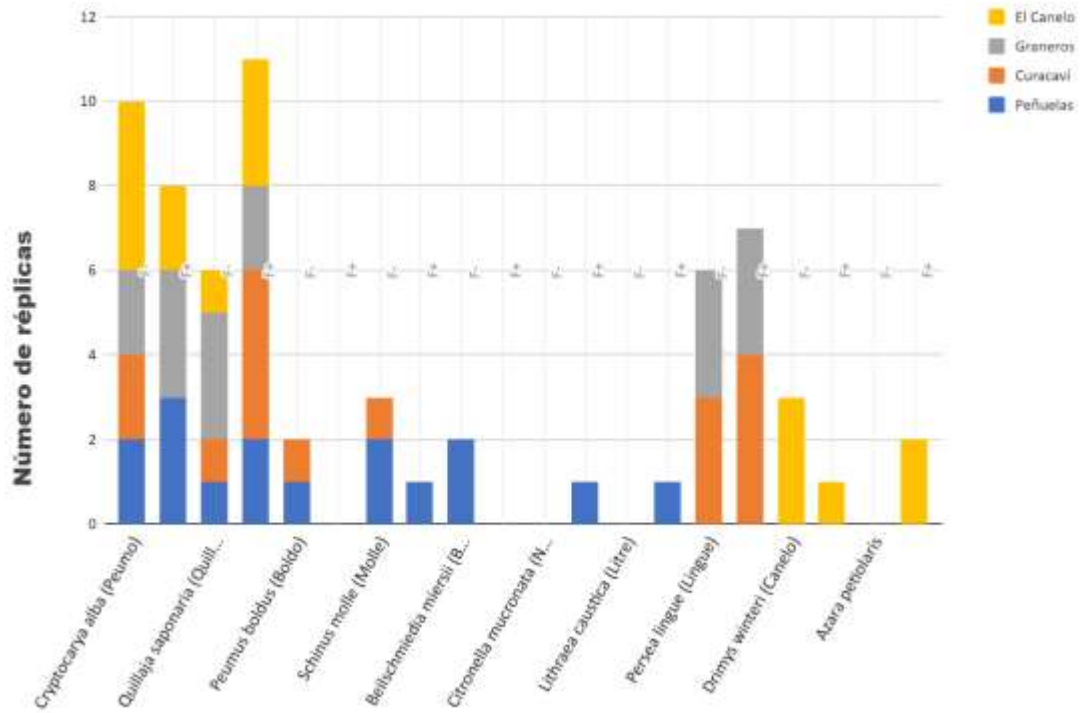


Figura 10: Distribución de las muestras según especie nodriza, sitio de estudio y condición F+ o F-.

Dado que el estudio apuntó a una misma variante del bosque esclerófilo, el Bosque hidrófilo de Fondo de Quebrada, existen similitudes esperadas en cuanto a las especies presentes en los sitios de estudio, siendo *Quillaja saponaria* (Quillay) y *Cryptocarya alba* (Peumo) especies insignes del bosque esclerófilo, las más abundantes, siendo muestreadas en los 4 sitios y en las 2 condiciones. Otras especies con presencia semi-recurrente fue *Persea lingue* (Lingue), encontrándose en Curacaví y Graneros, seguida por *Schinus molle* (Molle) y *Peumus boldus* (Boldo), encontrados en Peñuelas y Curacaví. A su vez,

cada sitio exhibió ciertas particularidades. Por ejemplo, El Canelo fue la única locación donde se muestreó *Drymis winteri* (Canelo, haciendo honor a su nombre), así como también el único sitio donde se encontró *Azara petiolaris*. Por otro lado, Peñuelas fue el único sitio en el cual se encontró *Beilschmiedia miersii* (Belloto del Norte), *Citronella mucronata* (Naranjillo) y *Lithraea caucasica* (Litre).

Cada una de estas especies son propias del bosque esclerófilo, aunque entre ellas existen variaciones respecto a las condiciones de precipitación y humedad necesarias para su establecimiento. Por ejemplo, *P. boldus* y *Q. saponaria* son descritas como especies que crecen en laderas soleadas, mientras que *P. lingue* y *D. winteri* son especies que se han asociado a los cursos de agua y fondos de quebrada (Donoso Z., 1982), lo cual puede suponer que entre los sitios de estudio existan diferencias en cuanto a los factores ambientales que expliquen las distintas composiciones florísticas encontradas. Qué tanto estas diferencias en cuanto a las especies encontradas puedan influir en el estudio es algo que no es posible ni descartar ni determinar en este punto de la investigación, dejando abierta la pregunta sobre si la identidad de las plantas nodrizas es un factor relevante a la hora de evaluar la micorrización en una zona perturbada y/o a la hora de tomar inóculos para trabajos de restauración desde ecosistemas no perturbados.

ANEXO 2

Durante la microscopía de las muestras se pudo tomar nota de la colonización de otros tipos de hongos endófitos mediante la identificación de micelio con hifas septadas, microesclerocios y células moniliformes, lo que se informa a continuación. Este registro se hizo con la finalidad de aportar con datos al estudio de otros componentes fúngicos aún menos estudiados, que anteriormente fueron vistos como organismos comensalistas (o parásitos en el peor de los casos) y que poco a poco se han ido desarrollando ideas sobre interacciones de sentido positivo que se podrían estar dando entre ellos, las plantas que los alojan y los HMAs.

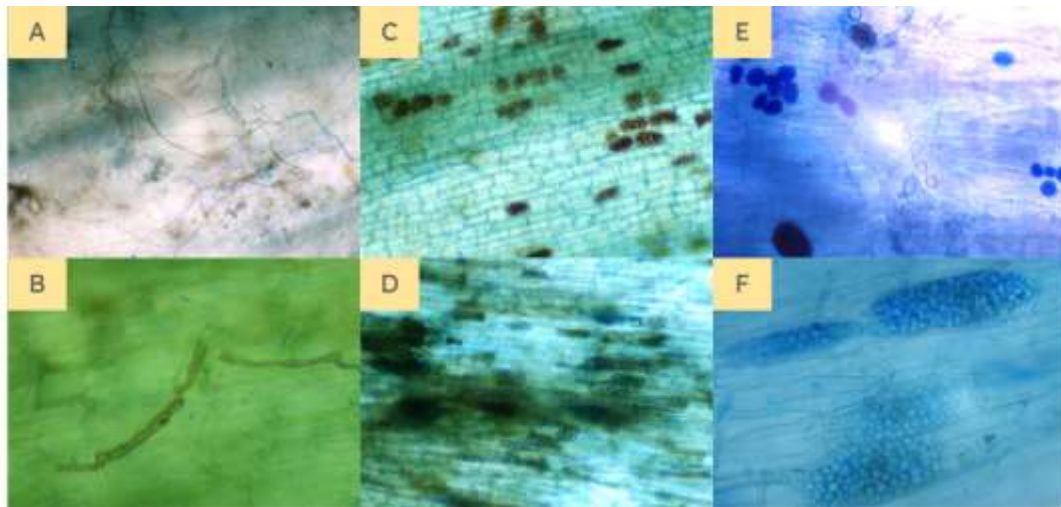


Figura 11: Algunas estructuras de hongos endófitos no micorrícicos arbusculares observadas durante la cuantificación. En A y B se pueden observar tanto hifas de MA como hifas oscuras septadas de hongos no micorrícicos. En C, D y E se distinguen microesclerocios. En F se muestran células moniliformes.

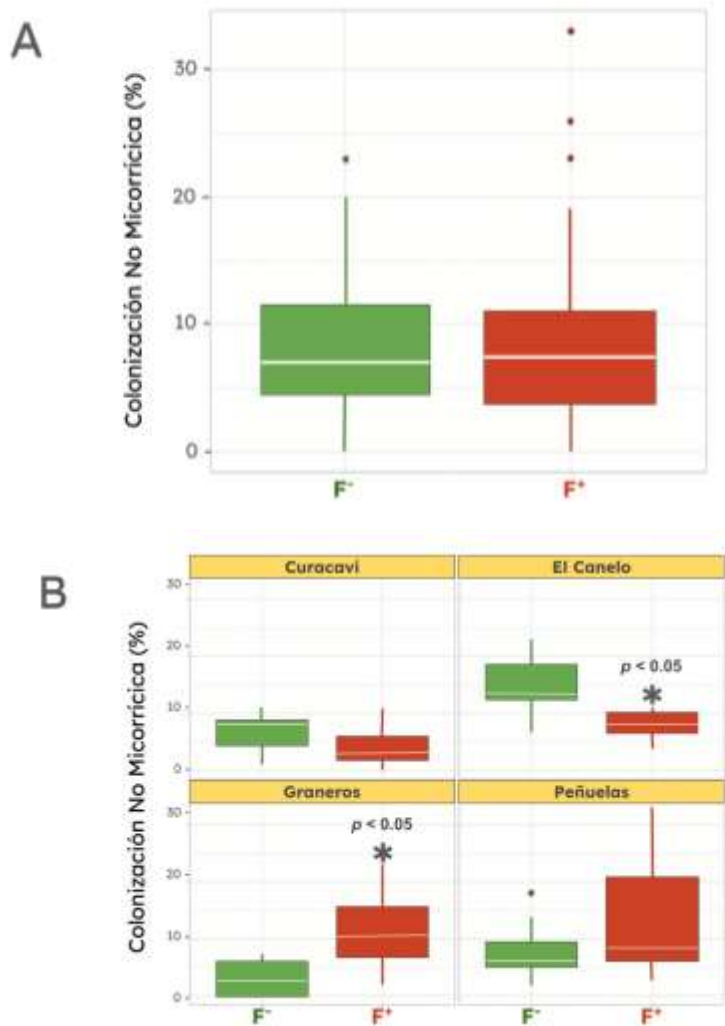


Figura 12: En A se muestra el contenido general de colonización por otros hongos endófitos (EOC%) encontrado en las muestras estudiadas (32 muestras para cada condición); y en B, el contenido por sitio de proveniencia de las muestras (8 muestras para cada condición en cada sitio de estudio). En verde se muestra la distribución de las muestras provenientes desde los sitios sin incendio forestal y en rojo las de sitio incendiado. La línea al interior de la caja representa el promedio para cada condición, los cuales no evidencian diferencias estadísticamente significativas en el caso general, pero sí se observan diferencias entre los sitios de estudio.

ANEXO 3

De acuerdo con lo que se puede observar en la figura a continuación, los datos no muestran un comportamiento normal.

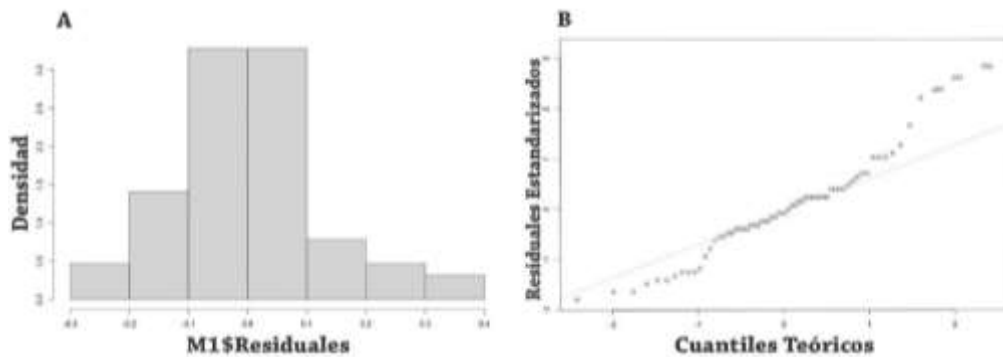


Figura 13: En A se observa el histograma de residuos, el cual muestra la distribución de los residuos para todas las observaciones. En B se observa un gráfico Cuantil-cuantil (Q-Q plot) para los mismos datos, la recta punteada en el gráfico indica el comportamiento de los residuos si se cumpliera con una distribución normal.

Si bien en este histograma se observa una leve asimetría en la distribución de los residuales, lo cual no se condice con la campana de Gauss esperada para datos que presentan una distribución normal, es el gráfico Cuantil-cuantil el que deja evidencia más clara de la falta de normalidad, puesto que muchos de los residuales no se ajustan a la recta teórica que supone una distribución normal. Adicionalmente, se aplicó una prueba de Shapiro-Wilk, la cual arrojó un p-value de 0,01471, lo cual significa que se acepta la hipótesis alternativa, la que en este caso señala que los datos no tienen una distribución

normal (la hipótesis nula supone que los datos siguen una distribución normal), confirmando la interpretación de los gráficos.

ANEXO 4

Datos de cuantificación de presencia de estructuras micorrícicas en las muestras estudiadas (%AC, %VC y %HC) y la cuantificación global (%GC). Se incluye también la cuantificación de la presencia de estructuras de hongos endófitos no micorrícicos (%ENM):

Tabla 3: Detalle de los registros de colonización por MA.								
Sitio	Fuego	Plot	Especie	AC%	VC%	HC%	GC%	ENM%
G R A N E R O S	F+	1	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	10.83	31.67	31.67	16.67
		2	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.83	2.50	16.67	16.67	15.00
		3	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	1.67	9.17	9.17	22.50
		4	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.00	0.00	1.67	1.67	7.50
		5	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.00	7.50	21.67	21.67	2.50
		6	<i>Persea lingue</i> (Lingue)	0.83	4.17	23.53	23.53	7.50
		7	<i>Persea lingue</i> (Lingue)	0.00	1.67	8.33	8.33	1.67
		8	<i>Persea lingue</i> (Lingue)	0.00	4.17	38.33	38.33	13.33
		F-	1	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	3.33	0.83	34.17	34.17

		2	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	1.67	10.00	10.00	0.00
		3	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.83	2.50	23.33	23.33	2.50
		4	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	1.67	2.50	23.33	23.33	0.00
		5	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.83	0.83	26.67	26.67	0.00
		6	<i>Persea lingue</i> (Lingue)	0.00	9.17	27.50	27.50	1.67
		7	<i>Persea lingue</i> (Lingue)	0.83	9.17	30.83	30.83	5.83
		8	<i>Persea lingue</i> (Lingue)	0.00	11.67	31.67	31.67	5.83
P E Ñ U E L A S	F+	1	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	3.33	17.50	17.50	6.67
		2	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	3.33	25.00	25.00	10.00
		3	<i>Citronella mucronata</i> (Naranjillo)	0.00	3.33	26.67	26.67	2.50
		4	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.00	6.67	30.00	30.00	6.67
		5	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.00	2.50	20.00	20.00	4.17
		6	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	10.00	37.50	37.50	25.83
		7	<i>Schinus molle</i> (Molle)	0.00	6.67	21.67	21.67	19.17
		8	<i>Lithraea caustica</i> (Litre)	0.00	6.67	28.33	28.33	32.50

	F-	1	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	0.00	12.50	12.50	5.83
		2	<i>Peumus boldus</i> (Boldo)	0.00	0.00	10.83	10.83	5.83
		3	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	2.50	21.67	21.67	5.00
		4	<i>Schinus molle</i> (Molle)	0.00	1.67	24.17	24.17	17.50
		5	<i>Schinus molle</i> (Molle)	0.00	0.83	25.00	25.00	8.33
		6	<i>Beilschmiedia miersii</i> (Belloto del Norte)	0.83	0.00	24.17	24.17	14.17
		7	<i>Beilschmiedia miersii</i> (Belloto del Norte)	0.00	0.00	10.83	10.83	5.00
		8	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.00	1.67	14.17	14.17	1.67
E L C A N E L O	F+	1	<i>Drimys winteri</i> (Canelo)	0.00	15.00	57.50	57.50	6.67
		2	<i>Azara petiolaris</i>	0.00	0.83	15.00	15.00	6.67
		3	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.00	5.00	20.00	20.00	5.83
		4	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	0.00	30.00	30.00	10.00
		5	<i>Azara petiolaris.</i>	0.00	5.00	33.33	33.33	9.17
		6	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	5.00	40.83	40.83	4.17
		7	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.00	10.00	45.83	45.83	10.83

	F-	8	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.00	2.50	27.50	27.50	10.00
		1	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	4.17	56.67	56.67	20.00
		2	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	13.33	38.33	38.33	13.33
		3	<i>Drimys winteri</i> (Canelo)	0.00	14.17	65.00	65.00	17.50
		4	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	1.67	41.67	41.67	12.50
		5	<i>Drimys winteri</i> (Canelo)	0.00	7.50	31.67	31.67	14.17
		6	<i>Drimys winteri</i> (Canelo)	0.00	14.17	38.33	38.33	10.83
		7	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.00	1.67	27.50	27.50	23.33
		8	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	0.00	0.83	25.83	25.83	6.67
CURACAVÍ	F+	1	<i>Persea lingue</i> (Lingue)	0.83	1.67	39.17	39.17	0.83
		2	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.00	1.67	30.83	30.83	3.33
		3	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.00	0.83	4.17	4.17	1.67
		4	<i>Persea lingue</i> (Lingue)	0.00	5.83	28.33	28.33	7.50
		5	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	1.67	0.83	25.83	25.83	10.83
		6	<i>Persea lingue</i> (Lingue)	0.00	0.00	4.17	4.17	0.00

		7	<i>Persea lingue</i> (Lingue)	0.00	0.83	22.50	22.50	3.33
		8	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	0.00	2.50	12.50	12.50	5.00
	F-	1	<i>Peumus boldus</i> (Boldo)	0.83	3.33	30.00	30.00	7.50
		2	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	2.50	3.33	31.67	31.67	10.00
		3	<i>Persea lingue</i> (Lingue)	0.00	3.33	34.17	34.17	7.50
		4	<i>Persea lingue</i> (Lingue)	0.00	30.83	59.17	59.17	10.83
		5	<i>Schinus molle</i> (Molle)	0.00	10.00	31.67	31.67	5.00
		6	<i>Quillaja saponaria</i> (Quillay)	4.17	2.50	25.00	25.00	8.33
		7	<i>Cryptocarya alba</i> (Peumo)	2.52	0.83	12.50	12.50	0.83
		8	<i>Persea lingue</i> (Lingue)	0.83	0.83	25.00	25.00	2.50