



Universidad de Concepción

Dirección de Postgrado

Facultad de Ciencias Forestales

Programa de Magister en Ciencias Forestales

**ANÁLISIS INTEGRADO DE UN SISTEMA SILVOPASTORIL COMO  
OPCIÓN A LA AGRICULTURA INTENSIVA ADAPTADA AL CLIMA  
PARA BOSQUES DE *Nothofagus* DE LA REGIÓN DE ÑUBLE.**

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Forestales

**PABLO IGNACIO NEIRA VIDAL**

Profesor Guía: Francis Dube

Dpto. de Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales

Universidad de Concepción

CONCEPCIÓN - CHILE

Agosto 2020

**ANÁLISIS INTEGRADO DE UN SISTEMA SILVOPASTORIL COMO OPCIÓN A LA AGRICULTURA INTENSIVA ADAPTADA AL CLIMA PARA BOSQUES DE *Nothofagus* DE LA REGIÓN DE ÑUBLE.**

**Comisión Evaluadora:**

Francis Dube (Profesor guía)

Ingeniero Forestal, Dr. \_\_\_\_\_

Rosa Alzamora (Profesor co-guía)

Ingeniero Forestal, Dr. \_\_\_\_\_

Carlos Henríquez (Comisión evaluación)

Bioquímico, Dr. \_\_\_\_\_



Neal Stolpe (Asesor)

Ingeniero Agronomo, Dr \_\_\_\_\_

**Director de Postgrado:**

Darcy Rios Leal

Profesor de Biología y Química, Dr. \_\_\_\_\_

**Decano Facultad de Ciencias Forestales:**

Manuel Sanchez Olate

Ingeniero Forestal, Dr. \_\_\_\_\_

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco, especialmente a mis guías dentro de este proceso, el Dr, Francis Dube y el Dr. Carlos Henríquez, por confiar en la investigación, facilitar y apoyar en los momentos indicados.

A Camilo Navarro, Luis Cortes, Cristóbal Fredes, Marianela Alfaro y Juan Ortiz, por los trabajos previos realizados y las comunicaciones personales para este trabajo.

A la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Concepción, por el financiamiento para los estudios de postgrado, como a los profesores que participaron de mi formación.



Al proyecto Proyecto FIBN-CONAF No. 001-2014, financiado por el Fondo de Investigación del Bosque Nativo de la Corporación Nacional Forestal, Ministerio de Agricultura, Chile, por el financiamiento brindado.

## TABLA DE CONTENIDOS

CONTENIDO	PÁGINA
AGRADECIMIENTOS .....	iii
INDICE DE TABLAS .....	vii
INDICE DE FIGURAS .....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
1 INTRODUCCION GENERAL.....	11
1.2 Intensificación Agrícola.....	11
1.3 Sistemas Agrícolas frente al Cambio Climático.....	12
1.4 Reservas de la biosfera.....	13
1.4.1 Reserva de la Biosfera “Corredor Biológico Nevados de Chillán - Laguna del Laja”.....	15
1.5 Valorización del Bosque Nativo.....	15
1.6 Agroforestería.....	16
1.6.1 Beneficios de la Agroforestería.....	17
1.7 Problemática del Sitio de Estudio.....	18
1.8 Sistemas Agroforestales como alternativa Sustentable.....	20
1.9 Aplicaciones de los Sistemas Silvopastoriles.....	21
1.9.1 Sistemas Silvopastoriles para la Conservación.....	21
CAPITULO II.....	25
Agroforestry can shape the soil bacterial and fungal communities of an old, degraded <i>Nothofagus obliqua</i> forest in the Andes, south central Chile	
ABSTRACT.....	26
2.1 INTRODUCTION.....	27

2.2 SUPPLEMENTARY MATERIALS.....	28
2.2.1 Study site description.....	28
2.2.2 Experimental design.....	30
2.2.3 Microclimatic parameters.....	31
2.2.4 Yield production.....	31
2.2.5 Soil sampling and DNA extraction.....	32
2.2.6 Metabarcoding Analysis.....	32
2.2.7 Statistical Analysis.....	33
2.3 RESULTS.....	34
2.3.1 Microclimatic conditions.....	34
2.3.2 Yield production.....	36
2.3.3 Microbial communities.....	36
2.3.3.1 Bacterial community.....	36
2.3.3.2 Eukaryotic community.....	38
2.3.3.3 Fungal community.....	39
2.3.3.4 Archeal community.....	42
2.4 DISCUSSION .....	43
2.4.1 Effect of the tree cover on the microclimatic conditions.....	43
2.4.2 Effect of the tree cover on the yield production.....	44
2.4.3 Effect of the tree cover on the microbial communities.....	44
2.5 CONCLUSIONS.....	48
2.6 REFERENCES .....	50
2.7 APENDIX .....	60
CAPITULO III.....	61

Contribuciones de Sistemas Silvopastorales bajo distintas coberturas dosel de *Nothofagus obliqua* maduro a la Agricultura Adaptada al Clima.

ABSTRAC.....	61
3.1 INTRODUCCIÓN.....	62
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	65
3.2.1 Sitio de estudio.....	65
3.2.2 Diseño experimental.....	66
3.2.3 Medición de parámetros microclimáticos.....	67
3.2.4 Determinación carbono en biomasa.....	67
3.2.5 Disponibilidad de pradera.....	68
3.2.6 Muestreo de suelos y extracción de ADN.....	68
3.2.7 Análisis de metabarcodificación.....	68
3.2.8 Evaluación de biodiversidad.....	69
3.2.9 Análisis Integrado de Componentes.....	69
3.2.10 Análisis estadísticos.....	70
3.3 RESULTADOS Y DISCUSION.....	71
3.4 CONCLUSION.....	81
3.5 REFERENCIAS.....	82
3.6 ANEXOS.....	87
DISCUSIÓN GENERAL.....	88
CONCLUSION GENERAL.....	94
REFERENCIAS.....	96

## INDICE DE TABLAS

<b>TABLA</b>	<b>PÁGINA</b>
Table 2.1. Soil chemical characterization of the silvopastoril system at Ranchillo Alto. ....	21
Table 2.2. General information for each tree cover condition in the Silvopastoril system at Ranchillo Alto.....	31
Table 2.3. Microclimatic conditions of the Silvopastoral System located in Ranchillo Alto. ....	36
Table 2.4. Yield production of the silvopastoral system located in Ranchillo Alto in 2017 and 2018.....	36
Table 2.5. Taxonomic characterization of the Archaeal and Eukaryotic microbial community at 0-5 and 5-20 cm depth in the silvopastoril system at Ranchillo Alto....	39
Tabla 3.1. Información general para cada condición de cobertura arbórea en el sistema Silvopastoril en Ranchillo Alto.....	66
Tabla 3.2. Caracterización química del suelo y Almacenamiento de Carbono en pie del sistema silvopastoril en Ranchillo Alto.....	73
Table 3.3. Disponibilidad de pradera del sistema silvopastoril ubicado en Ranchillo Alto en 2017 y 2018.....	74
Table 1-A. Análisis de varianza.....	87

## INDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA</b>	<b>PÁGINA</b>
Figure 2.1 Study site at the Ranchillo Alto state-owned property.....	21
Figure 2.2. Changes in tree cover and variation of soil microclimatic conditions for the Silvopastoral System at Ranchillo Alto.....	35
Figure 2.3. Simpson diversity index of bacteria and fungi from the Silvopastoral System at Ranchillo Alto.....	38
Figure 2.4. Taxonomic composition of microbial communities in the silvopastoral system at Ranchillo Alto.....	41
Figure A1. Relative abundances of Bacterial and Fungal Classes in the silvopastoral system located in Ranchillo Alto.....	60
Figura 3.1. Sitio de estudio en la propiedad estatal de Ranchillo Alto.....	65
Figura 3.2. Cubierta arbórea y condiciones climáticas para el Sistema Silvopastoral Ranchillo alto.....	72
Figura 3.3. Índices de biodiversidad de Hormigas, Árboles y Aves del sistema silvopastoral en Ranchillo Alto.....	77
Figura 3.4. Índice de diversidad de Simpson de diversidad bacteriana y fúngica..	79
Figura 3.5. Análisis integrado de componentes del sistema silvopastoral Ranchillo.....	80



## RESUMEN

Las actividades humanas cambian la estructura y la función del medio ambiente. La creciente demanda de madera y productos no maderables de los bosques nativos en Chile y, la agricultura y el pastoreo de ganado han aumentado la tasa de degradación de los ecosistemas boscosos. La tala no sistémica y el sobrepastoreo del ganado pueden modificar las coberturas arbóreas y alterar la cantidad y calidad de la materia orgánica que ingresa al suelo y, por ende, su calidad general. Satisfacer las demandas de producción agrícola y la conservación de la biodiversidad manteniendo los servicios del ecosistema, mitigando y adaptándose al cambio climático será un desafío decisivo de este siglo.

El objetivo de este trabajo es determinar el efecto del grado de cobertura arbórea sobre la calidad de suelo, producción agrícola y conservación de la biodiversidad en un Sistema Silvopastoril bajo un bosque de *Nothofagus obliqua* sobremaduro, así como su efecto integrado en el uso sustentable del bosque nativo. Resultados preliminares basados en el análisis de indicadores como el carbono orgánico del suelo (SOC) y el nitrógeno (N), indican que existen diferencias tanto en la calidad del suelo como en los procesos microbianos en 3 tratamientos distintos de un sistema silvopastoril con cubiertas forestales semi cerradas, semi abiertas y abiertas. Las diferencias microlimáticas, la calidad y cantidad del sustrato (entrada de materia orgánica del suelo, acumulación de hojarasca y rastrojos forrajeros), así como en la distribución del suministro de carbono al ecosistema, varía según una cobertura de dosel, por lo que hipotetizamos que si cambian estas condiciones de suelo y de microclima se espera que las alteraciones de las coberturas arbóreas alteren las características fisicoquímicas del suelo, ya su vez, la disponibilidad de pradera y la calidad de hábitat para distintas especies que cumplen funciones biológicas relevantes, como son los microorganismos, los insectos y las aves. Este tipo de información permitirá generar conocimiento principalmente para la planificación de un uso sostenible de las prácticas en los sistemas silvopastoriles, en especial en torno a zonas de conservación.

## ABSTRACT

Human activities change the structure and function of the environment. The increasing demand for wood and non-timber products from native forests in Chile, and agriculture and livestock grazing have increased the rate of degradation of forest ecosystems. Non-systemic felling and overgrazing of livestock can modify tree cover and alter the quantity and quality of organic matter entering the soil and, therefore, its general quality. Meeting the demands of agricultural production and the conservation of biodiversity while maintaining ecosystem services, mitigating and adapting to climate change will be a decisive challenge for this century.

The objective of this work is to determine the effect of the degree of tree cover on soil quality, agricultural production and biodiversity conservation in a Silvopastoral System under an over-mature *Nothofagus obliqua* forest, as well as its integrated effect on the sustainable use of the forest. native. Preliminary results based on the analysis of indicators such as soil organic carbon (SOC) and nitrogen (N), indicate that there are differences in both soil quality and microbial processes in 3 different treatments of a silvopastoral system with semi closed, semi open and open forest covers. The microlimatic differences, the quality and quantity of the substrate (input of organic matter from the soil, accumulation of litter and forage stubble), as well as in the distribution of the supply of carbon to the ecosystem, varies according to a canopy cover, so we hypothesize that If these soil and microclimate conditions change, it is expected that the alterations of the tree cover will alter the physicochemical characteristics of the soil, and in turn, the availability of grassland and the quality of habitat for different species that fulfill relevant biological functions, such as microorganisms, insects and birds. This type of information will generate knowledge mainly for planning a sustainable use of practices in silvopastoral systems, especially around conservation areas.

## **INTRODUCCIÓN GENERAL**

El hombre ha transformado gran parte de la superficie terrestre del planeta. Dentro de nuestras acciones podemos destacar las prácticas de agricultura de subsistencia, intensificación de la producción de tierras agrícolas y la expansión de los centros urbanos. (DeFries 2004). Aunque las prácticas de uso del suelo (CUS) varían enormemente en todo el mundo, su resultado es generalmente el mismo: la adquisición de recursos naturales para el uso humano inmediato a expensas de la degradación ambiental que ha modificado de los ecosistemas de la Tierra (Vitousek 1997). El CUS ha causado un evidente declive en la biodiversidad mundial a través de la pérdida, modificación y fragmentación de hábitat; degradación del suelo y agua; y sobreexplotación de especies nativas (Sala et al. 2000). Según el mismo autor el CUS es el factor que se espera tenga el impacto global más importante sobre la biodiversidad al año 2100, principalmente debido a sus devastadores efectos sobre la disponibilidad de hábitat y extinción de especies. Los CUSs son críticos en los ecosistemas debido a que la vegetación y los suelos albergan microorganismos (que habitan la rizósfera), los cuales juegan un papel clave en la sanidad, defensa (Bakker et al. 2013; Mendes et al. 2017), respuesta al estrés (Castrillo et al. 2017), nutrición (Mendes et al. 2014; Fitzpatrick et al. 2018), promoción del crecimiento de las plantas (Sugiyama et al. 2014) y capacidades de secuestro de C de suelo (Dube, 2009). La rizósfera se considera un punto de acceso dinámico a la diversidad microbiana e interacciones ecológicas a través del sistema planta-suelo, que finalmente determina el hábitat para otras especies.

### **1.2 Intensificación Agrícola**

El aumento de la intensificación agrícola durante la segunda mitad del siglo XX ha tenido uno de los efectos más profundos sobre la pérdida de biodiversidad a escala global (Gámez-Virués et al., 2015; Green et al., 2005; Matson et al., 1997; Tilman et al., 2001), una pérdida que a su vez puede alterar el funcionamiento de los ecosistemas (Carmona et al., 2017; Reich et al., 2012).

La intensificación es un proceso que actúa a varias escalas (Zhang et al, 2007). A escala de paisaje, intensificación opera a través de la simplificación estructural de paisajes agrícolas (Gabriel et al 2006; Romero et al. 2008; Bassa et al. 2012) A escala de campo, es relacionado con la gestión de cultivos y ha implicado principalmente la labranza intensiva, el aumento de El uso de biocidas y fertilizantes sintéticos, la simplificación de la rotación de cultivos y la pérdida de diversidad

cultivada, lo que resulta en una mayor simplificación de los mosaicos agrícolas. Los sistemas agrícolas resultantes constituyen la llamada agricultura convencional.

Debido a la expansión agrícola en conjunto con las emisiones generadas por las prácticas propias de la agricultura, se estima que este sistema aporta alrededor del 20 al 25 % de las emisiones de gases con efecto invernadero (GEI) (Edenhofer 2014). La mayoría de las estrategias climáticas requieren mantener o aumentar el C terrestre y al mismo tiempo satisfacer las demandas de alimentos, por lo que se espera que las emisiones aumenten más de un 50% para 2050 (Tilman 2014; Edenhofer 2014).

En un área finita como lo es el planeta tierra, la agricultura constituye un desafío para la sostenibilidad, ya que implica tomar decisiones para aumentar la producción mientras se mantiene la biodiversidad y servicios ecosistémicos (Zhang et al. 2007) aumentando la eficiencia global del uso de la tierra. Según Rosenzweig (2007) la agricultura desempeña un doble papel fundamental en el cambio climático impulsado por el hombre. Por un lado, es uno de los sectores claves que se verán más afectados por el cambio climático durante las próximas décadas, por lo que requieren medidas de adaptación. Por otro lado, la agricultura es también una de las principales fuentes de gases de efecto invernadero a la atmósfera por lo que requiere medidas de mitigación. A medida que cambia el clima y las condiciones socioeconómicas que son las presiones que determinan las demandas futuras de alimentos, fibra y energía, las sinergias deben ser identificadas entre las estrategias de adaptación y mitigación. Por último, Los agricultores y otros en el sector agrícola se enfrentarán con la doble tarea de contribuir a las reducciones globales de dióxido de carbono y otras emisiones de gases de efecto invernadero, mientras que tienen que hacer frente a un clima ya cambiante.

### **1.3 Sistema agrícola frente al cambio climático.**

El cómo se implemente la agricultura es una de las determinantes globales más importante para la salud humana y ambiental, ya que para satisfacer las necesidades de la población se requiere una producción sostenible (Blaser et al, 2018). Dada la vulnerabilidad de la agricultura al cambio climático (CC) y su gran huella global, únicamente mejores prácticas agrícolas permitirían la

adaptación y mitigación del CC, además de limitar impactos en la biodiversidad. Estos requisitos de la agricultura pueden ser resumidos en: intensificación sostenible y climáticamente inteligente a escala de paisaje. Mientras que los requisitos para el futuro de la agricultura son claros, las soluciones integrales y aplicables son escasas.

La agricultura adaptada al clima (Climate Smart Agriculture, CSA) es una aproximación que busca transformar y reorientar el desarrollo de sistemas agrícolas bajo la nueva realidad de cambio climático (Lipper 2014), con el objetivo de mejorar simultáneamente la seguridad alimentaria y los medios de vida rurales, facilitar la adaptación al cambio climático y proporcionar beneficios de mitigación. Sin embargo, la agricultura adaptada al clima requiere acciones más allá de la escala de manejo de un agricultor. Un elemento relevante en la definición de la FAO (2010) para agricultura adaptada al clima es adoptar un enfoque ecosistémico, trabajar a escala de paisaje y promover la participación comunitaria. Entendiendo como paisaje una unidad de territorio compuesta por múltiples elementos o parches que dan origen a un área espacialmente heterogénea. Los elementos del paisaje corresponden a diferentes tipos de hábitats, formaciones vegetacionales y usos del suelo tales como cultivos agrícolas, bosques primarios, matorrales, entre otros.

El paisaje es visto como un nivel dentro de la jerarquía ecológica, siendo más inclusivo que un ecosistema a pesar de que se anida dentro de un bioma (Forman y Godron 1986). En la versión del Banco Mundial (2011), incluye la planificación integrada de la tierra, agricultura, pesca y agua a multiescala (locales, cuenca, regional, nacional). Ambas definiciones proyectan un manejo integral del paisaje que en muchos casos será fundamental para lograr los múltiples objetivos de la agricultura adaptada al clima, junto con mejoras en los medios de vida, la productividad y mantención de servicios ecosistémicos y la conservación de especies.

#### **1.4 Reservas de la Biosfera**

La necesidad de ampliar y hacer sostenible la provisión de servicios ambientales ha dado lugar, en diversos países, a la búsqueda e implementación de esquemas novedosos de conservación y gestión, los cuales integran simultáneamente objetivos económico-productivos, ambientales y sociales (Zarrilli 2010).

En 1971 la Unesco comenzó el Programa sobre el Hombre y la Biosfera (Man and Biosphere, en su denominación inglesa y comúnmente abreviado por su acrónimo MaB), que tiene como objetivo conciliar la mentalidad y el uso de los recursos naturales, esbozando el concepto actual de desarrollo sostenible. Como parte de ese programa, se seleccionaron lugares geográficos representativos de los diferentes hábitats del planeta, abarcando tanto ecosistemas terrestres como marítimos. Estos lugares o áreas se conocen como Reservas de la Biosfera. En cada una de ellas se fomentan soluciones para conciliar la conservación de la biodiversidad con su uso sostenible, el desarrollo económico, la investigación y la educación.

Las Reservas de la Biosfera para lograr una ordenación integrada de las tierras, las aguas dulces y marinas y los recursos vivos está dividida en tres zonas interrelacionadas: zona núcleo, zona tampón y zona de transición. Si bien los países mantienen flexibilidad a nivel nacional con respecto a la definición de zonas, la zonificación debe asegurar que las Reservas de la Biosfera combinen efectivamente la conservación, el uso sostenible de los recursos y la generación de conocimiento a través de la zonificación integrada y la gestión colaborativa.

Además, constituyen “sitios de apoyo a la ciencia al servicio de la sostenibilidad”, es decir, son zonas especialmente designadas con el objetivo de evaluar enfoques interdisciplinarios para comprender y gestionar los cambios e interacciones de los sistemas sociales y ecológicos, incluidas la prevención de conflictos y la gestión de la biodiversidad (San Martín 2014). Existen exitosos ejemplos de labores sustentables dentro de Reservas de la Biosfera alrededor del mundo, como producción y comercio justo, turismo sustentable, creación de rutas científicas e incluso la asociación entre reservas, como la que ocurre entre Colombia y Suiza, donde la primera aporta el cacao y la segunda la leche para fabricar el primer chocolate proveniente de una zona de uso sustentable.

Chile cuenta en la actualidad con 10 Reservas de Biosfera que abarcan cerca de 11,4 millones de hectáreas, de las cuales cerca de 3 millones de hectáreas corresponden a áreas marinas (CONAF 2016). Dentro de éstas, la Reserva de la Biosfera de Nevados de Chillán y Rio Polcura, son considerados prioritarios para la conservación de la biodiversidad en Chile, debido a su riqueza de flora, fauna y su alta diversidad genética. En el caso específico de Nevados de Chillán se encuentra constantemente amenazada por el avance de las empresas forestales y el crecimiento de la agricultura local.

### **1.4.1 Reserva de la Biosfera “Corredor Biológico Nevados de Chillán - Laguna del Laja”**

La Reserva de la Biosfera incorpora parte de 9 comunas de las 54 que posee la Región del BioBío, cuya población alcanza a 69.400 habitantes, un 3,5% de la población regional. Las actividades económicas preponderantes son la ganadería, la agricultura, los cultivos forestales industriales, el manejo extensivo de sus bosques naturales y el turismo orientado a naturaleza. El territorio es foco de desarrollo de proyectos de generación de energía, riego y viales que tensionan su gestión sustentable (CONAF 2016).

La Reserva se encuentra ubicada entre el paralelo 36° 20' y 37° 40' de Latitud Sur y los 71° 07' y 71° 40' de Longitud Oeste, dentro de la Ecoregión de los Bosques Templados Valdivianos de Chile. Es un *hotspot* de alta biodiversidad y zona de transición vegetacional donde confluyen ecosistemas de la Ecoregión del Bosque Esclerófilo de la zona central y del bosque Templado austral en una zona con alta densidad poblacional y fragmentación ambiental, a raíz de intervenciones para la agricultura, ganadería y silvicultura intensiva (San Martín 2014).

La Reserva incorpora sitios de alta diversidad de formaciones vegetacionales y alto recambio de especies, particularmente de aves, sirviendo como corredor migratorio de aves rapaces. Destaca la presencia del huemul, ciervo nativo amenazado el cual se encuentra protegido en tres de las cuatro áreas núcleo de la reserva. El área que cubre la Reserva ha sido reconocida como “Área de protección Cordillerana” que, si bien no la protege legalmente, reconoce el valor ambiental del territorio (CONAF 2016).

### **1.5 Valorización del bosque nativo**

Según lo señalado por Constanza et al. (1997), las funciones del ecosistema que permiten satisfacer una serie de necesidades humanas de manera directa e indirecta son conocidas como servicios ecosistémicos (SE), siendo éstos cruciales para el desarrollo económico y el bienestar social. En Chile, el bosque nativo es un importante productor de SE. Entre estos servicios se incluyen la regulación y provisión de agua en calidad y cantidad, la captura de carbono, la conservación de suelos y de la diversidad biológica, y las oportunidades para el turismo y la recreación. La visión histórica de los bosques como productores de madera y leña ha limitado la valoración social de

estos ecosistemas. Por otra parte, la inadecuada cuantificación y valoración económica de los servicios ecosistémicos han provocado que, en la mayor parte de los casos, éstos carezcan de un precio de mercado que los haga comparables a otros bienes, y no hayan sido considerados en la toma de decisiones respecto al uso y manejo del territorio, las cuencas o los bosques (Constanza et al. 1997; Nahuelhual et al. 2007).

A nivel mundial, la cuantificación del valor de los servicios ambientales se ha convertido en una vía importante para asegurar el reconocimiento y la aceptación social de la gestión pública de servicios de los ecosistémicos; resultando en una mayor valoración del bosque nativo (Villa et al. 2002). Por el contrario, en Chile las políticas económicas han concentrado esfuerzos en favorecer el crecimiento del sector forestal basado en plantaciones de monocultivo y de rápido crecimiento, descuidando el desarrollo de aquel sector asociado a los bosques nativos (Lara et al. 2003), dejando de lado otros sistemas de cultivo que pueden integrar distintas problemáticas a nivel agronómico, forestal, ambiental, económico y social como la agroforestería.

## **1.6 Agroforestería**

La agroforestería o Sistemas agroforestales (SAF), es una asociación de especies agrícolas (con o sin componente animal) con especies forestales leñosas maderables y no maderables (árboles y arbustos) con el propósito de generar bienes y servicios para las familias, respetando las limitaciones ambientales existentes y contribuyendo a la recuperación y conservación del suelo y la biodiversidad (Zonta et al. 2013). La agroforestería incluye un conjunto de técnicas que implican una combinación de prácticas agropecuarias que se realizan en el mismo lugar y al mismo tiempo o aquellas desarrolladas en el mismo sitio, pero en épocas diferentes. El “sitio” puede ser tan pequeño como un simple jardín o una parcela cultivada, o tan extenso como un área de pastizal (Mendieta y Rocha 2007) y como un componente fundamental en los paisajes adaptados al clima (Sherr, 2012).

Burgoa et al. (2004) indican que el término agroforestería no figuraba antes de 1977, sino otros equivalentes (silvoagricultura y agrosilvicultura). A partir de ese año y gracias a la fundación del Centro Internacional de Investigación Agroforestal (ICRAF) por John G. Bene, empieza a figurar el término agroforestería, para denotar un conjunto de prácticas tradicionales y otras novedosas, que por su carácter productivo y conservacionista eran identificadas, como de gran potencial, en



la conservación de las tierras. Los SAF se practican desde hace miles de años partiendo en China y extendiéndose a numerosas partes del mundo. Sus formas varían considerablemente de un paisaje a otro, de un país a otro y de una región a otra, en función de las necesidades y la capacidad de las personas y las condiciones ambientales, culturales y socioeconómicas prevalecientes (FAO 2016).

**1.6.1 Beneficios de la agroforestería.** Mendieta y Rocha (2007) indican que la agroforestería es frecuentemente señalada como una solución a los problemas de degradación de la tierra y del agua, y como una respuesta a la escasez de alimento, leña, ingreso, forraje animal y materiales de construcción. La amplitud y la variedad de sistemas y prácticas agroforestales implican que la Agroforestería puede ofrecer soluciones parciales para muchos problemas productivos y de uso de la tierra en las zonas rurales.

La mejora del suelo en los SAF está vinculada al crecimiento de árboles y arbustos de raíces profundas que fijen el nitrógeno por medio de la fijación biológica y que aumenten la disponibilidad de H<sub>2</sub>O, el reciclado de nutrientes de la planta desde la profundidad (especialmente en zonas secas) y la formación de materia orgánica para el suelo (Beer 1988; Rao et al. 1998). Adicionalmente, estos sistemas gracias a sus características físicas como altura, densidad de plantación o cierre de dosel, permiten proteger los cultivos y el ganado del viento, restaurar las tierras degradadas, mejorar la conservación del agua, limitar el desarrollo de las plagas y evitar la erosión del suelo. Si los SAF se diseñan y se gestionan de manera adecuada, pueden contribuir a la conservación de la biodiversidad y la adaptación al cambio climático y su mitigación. Sin embargo, si se aprovechan de manera inadecuada, pueden provocar una disminución de la producción a consecuencia de la competencia entre los árboles y los cultivos (Farell y Altieri 1999).

Los beneficios ambientales de los SAF no son los únicos, otra función es en el área económica. Según señala la FAO (2016) la finalidad de la mayor parte de los SAF es incrementar o mantener la producción y la productividad de los sistemas agrícolas, reducir los insumos y, en consecuencia, los costos de producción, así como diversificar la producción mediante el aprovechamiento de los árboles y otras especies leñosas perennes a fin de producir, por ejemplo, alimentos, forraje, madera, materiales de construcción y combustible de madera. Además, los SAF pueden ayudar a crear oportunidades para las pequeñas empresas forestales, contribuir a la reducción de la pobreza rural,

gracias al incremento de la producción en los predios agrícolas y los ingresos familiares y la creación de oportunidades de empleo, además de disminuir el riesgo de un fracaso económico mediante el aumento de la diversidad de productos en los sistemas agrícolas. Un aumento en la productividad y la diversidad de productos por medio de la agroforestería puede contribuir a mejorar la salud y la nutrición de la población pobre de las zonas rurales.

La producción de combustible, forraje y otros productos de los árboles, puede disminuir el tiempo y los esfuerzos necesarios para obtenerlos o ahorrar dinero si los productos se hubieran tenido que comprar. Además, cuando la oferta de trabajo cambia en los hogares o las comunidades, la agroforestería ofrece opciones que permiten aprovechar al máximo los productos por insumo de trabajo. De este modo, la agroforestería nos permite aprovechar de mejor manera el entorno natural ofrecido y dar valor al bosque nativo, utilizándolo como un invernadero natural para distintos cultivos agrícolas, como, forrajeras, frutales, hortalizas y berries.

### **1.7 Problemática del sector de estudio**

En Chile actualmente existen 14.4 Mha de Bosque Nativo Estos ecosistemas están altamente amenazados. Se ha calculado que, desde el año 1989 hasta el 2009, más de un 60% del bosque nativo en la zona central de Chile se ha reducido por el uso agrícola y forestal (Miranda,2016).

Del total, el 5,7% se encuentra ubicada en la Región del Biobío y Ñuble, las cuales están conformadas mayoritariamente por el tipo forestal Roble-Raulí-Coihue (CONAF, 2016). En la Región del Biobío y Ñuble, los renovales de Roble (*Nothofagus obliqua*), con o sin presencia de Raulí (*N. nervosa*) cubren aproximadamente 450.000 ha (INFOR, 2012). Este recurso se caracteriza por poseer un alto potencial maderero teniendo las dos especies arbóreas que lo constituyen muy buenas aptitudes tecnológicas para una serie de productos como leña, tablas de partículas y madera aserrada. Sin embargo, esta superficie boscosa no sólo se usa como fuente de combustible y madera de construcción, sino también como pastizales y áreas de protección del ganado en invierno. El ganado perjudica severamente el establecimiento y desarrollo de la regeneración natural además de compactar las capas superficiales del suelo por el pisoteo (Dube 2016).

El predio Ranchillo Alto (Comuna de Yungay, región de Ñuble, Chile, (37°04' S, 71°39' W) posee una superficie importante de bosque nativo (635 ha), la que se encuentra bajo una fuerte presión, habiendo sido sometido a procesos históricos de sobrepastoreo y tala para leña, carbón y madera aserrable. Este proceso amenaza fuertemente la biodiversidad, la calidad del suelo y la existencia del bosque. El sector Ranchillo Alto se encuentra localizado en una estribación precordillerana de la Cordillera andina con marcadas pendientes ocupadas por relictos de bosque nativo (coigües, lengas, ñirres, raulíes y robles, laureles, avellanos, canelos y radales, lleuques y mañíos de hojas largas).

La característica de la ruralidad en el sector de Yungay promueve una agricultura campesina de sobrevivencia, de pequeña escala intensiva en mano de obra familiar, baja en tecnología e innovación, con mínimo o nada de capital y muchas veces sin riego. Las comunidades campesinas están organizadas en juntas de vecinos lo que permite tomar decisiones democráticas. La comunidad identifica el ingreso al predio de ganado bovino y ovino perteneciente a las familias de Ranchillo Alto, lo que ayuda a satisfacer sus necesidades de forraje. Sin embargo, el ramoneo animal ha perjudicado el establecimiento de la regeneración natural en aquellos sitios más descubiertos, afectando la permanencia del roble y del raulí a mediano y largo plazo. La extracción de madera se desarrolló especialmente en el sector norte del predio, donde se utilizaba tanto la madera muerta como la verde. En ciertos sectores, los bosques de roble se encuentran bastante abiertos y con individuos de menor altura, junto con la presencia de un pastizal ralo, de mala calidad y alta presencia de quila (AMBAR, 2010).

Los bosques nativos del predio, a pesar de su buena accesibilidad, tienen grados de alteración muy inferiores en comparación con la casi totalidad de los bosques nativos accesibles en las Regiones del Biobío y Ñuble. Esto les da un valor muy destacado dentro de las Regiones, característica que debe respetarse al diseñar el tipo de manejo silvícola que se aplicará a estos bosques. Otra característica es el estado sobremaduro en que se encuentra gran parte del bosque. La vegetación boscosa no se presenta en forma de un mosaico que abarque toda la gama de edades, sino predomina la fase de bosques viejos sobre regeneración natural entre parcial y completa en los casos de los bosques de Coigüe, Coigüe-Raulí y Lengua y entre parcial e inexistente en el caso de los bosques de Roble. Faltan las fases intermedias de latizal y fustal delgado.

## 1.8 Sistemas Agroforestales como alternativa sustentable

Los sistemas silvopastoriles (SSP) corresponden a un tipo de SAF que combinan los árboles y la producción de pasto y/o forraje para la ganadería, los cuales pueden establecerse mediante la adición de árboles a los pastos existentes, o por el adelgazamiento de una masa forestal existente, y añadir o mejorar un componente de forraje. Los árboles son gestionados por el valor y uso de la madera, al mismo tiempo que proporcionan refugio para el ganado, reducen el estrés por calor (durante el verano) y mejoran la alimentación y el consumo de agua. En las épocas frías la protección de los árboles reduce el estrés por frío en los animales, permitiendo el mantenimiento de la energía calórica, y ganancia de peso. El pasto y la ganadería proporcionan ingresos a corto plazo, al mismo tiempo que la cosecha de trozas proporciona un mayor rendimiento económico global de la tierra (Nair et al. 2009; Peri et al. 2012).

El interés del sector agrícola y forestal en el silvopastoreo nace de la necesidad de revitalizar las economías rurales, el deseo de aumentar las exportaciones de madera garantizando la sustentabilidad del bosque y la resolución de conflictos sobre el uso potencial del suelo para la agricultura, ganadería y la silvicultura. A través del uso de sistemas de gestión agroforestal se puede lograr un aumento de beneficios económicos y silvícolas. Actualmente, las funciones de calidad del medio ambiente y los servicios ecosistémicos que se asocian más comúnmente a este tipo de agroforestería son: secuestro de carbono - cambio climático, conservación de la biodiversidad, mejora de la calidad del agua y mejoramiento del suelo (Jose 2009; Nair, 2011).

Los SSP generan costos y muchos de sus presuntos beneficios, aunque intuitivos, a menudo no se prueban. Por ejemplo, la adaptación al cambio climático ha sido una razón importante para alentar estos sistemas, pero es probable que la obra de los árboles tenga múltiples efectos sobre diferentes variables climáticas como la temperatura y disponibilidad de agua para los cultivos bajo cambio climático y puede que no siempre sean positivos. Además, los árboles de sombra reducen la producción del cultivo a través de la competencia (Sánchez, 1995), y al mismo tiempo es poco probable que coincidan con la diversidad y la provisión de servicios de bosques primarios (De Beenhouwer 2013; Guo & Gifford 2002; Gibson. et al. 2011). A menos que los SSP se implementen de una manera que optimice estas compensaciones, el esfuerzo de una intensificación

sostenible para el beneficio clima simplemente puede comprometer nuestra capacidad para cumplir con la producción, sostenibilidad, objetivos de conservación hasta el mismo clima (Blaser, 2018).

## **1.9 Aplicación de Sistemas Silvopastoriles**

En la Patagonia chilena, se evaluó el potencial de secuestro de carbono en los ecosistemas en Andisol con diferentes usos: en SSP con plantaciones de pino ponderosa (*Pinus ponderosa*), plantaciones de pino de la misma especie y pastos naturales con pastoreo, determinando que las tasas de secuestro de C aumentaron, y que la tasa de secuestro fue significativamente mayor después de la conversión de la plantación al sistema silvopastoril, debido a la menor densidad y la presencia de pasturas con leguminosas. Estos resultados muestran que las prácticas de uso del suelo afectan sustancialmente las existencias de SOC y los sistemas silvopastoriles favorecen el secuestro de C (Dube et al. 2011 y 2012).

El Instituto Forestal de Chile (INFOR) desarrolló el Programa Agroforestal Nacional (PAN) para evaluar el potencial de los sistemas agroforestales en Chile, el que incluye diferentes sistemas agroforestales potenciales (silvoagricultura, silvopastoreo, cortavientos, amortiguador ribereño, bioenergía y apicultura), además se establecieron unidades demostrativas de agrosilvicultura de pino radiata como herramientas de extensión, dirigidas a pequeños agricultores y ganaderos (Dube et al., 2016). Estos proyectos fueron desarrollados con 1600 productores entre los años 2006 y 2013, en los que se plantó una superficie de 1114 ha entre Coquimbo y la Región de Magallanes. Los resultados indican que los sistemas más aceptados fueron el silvopastoril y cortavientos, con el objetivo de producir madera, forraje y animales. Los resultados más importantes encontrados fueron: (1) ingresos a corto plazo a través de animales y cultivos agrícolas; (2) los ingresos por la madera a medio plazo mediante el adelgazamiento comercial o el uso directo de productos forestales; (3) mayor producción de las praderas o cultivos a partir del efecto protector de los árboles, como en SSP y cortavientos, debido a la evapotranspiración reducida del sotobosque; (4) producción de madera al final de la rotación, y (5) mejoramiento de las valoraciones agrícolas y mejora del paisaje rural (Dube et al. 2016).

### **1.9.1 Sistemas Silvopastoriles para la conservación**

Ante las amenazas actuales a la biodiversidad como el cambio climático, especies invasoras, deforestación y alteración de la migración por infraestructura y asentamientos humanos, las áreas protegidas son insuficiente para preservar la biodiversidad (DeFries et al., 2005; Millennium Evaluación de ecosistemas, 2005). Por lo tanto, los agroecosistemas juegan un papel complementario al de las áreas protegidas en la conservación de la biodiversidad (Vandermeer y Perfecto, 2007; Harvey et al., 2008). Se han encontrado que los sistemas agroforestales, como los silvopastoriles, pueden mantener altos niveles de flora y fauna (Tschardt et al., 2011).

La agroforestería tiene el potencial de contribuir a la conservación de la biodiversidad mediante la creación o mantención de hábitat para las especies que son tolerantes a algún nivel de perturbación (Harvey y Villalobos, 2007). Por lo tanto, se han propuesto sistemas agroforestales para su uso en soluciones en zonas amortiguación o corredores biológicos (Donald, 2004; Mas y Dietsch, 2004).

Los SAF sostienen una mayor biodiversidad que los sistemas agrícolas a través de una mayor diversidad de plantas (incluidas las especies nativas), una mayor complejidad estructural y una mayor heterogeneidad de hábitat y paisaje. Se ha encontrado que la riqueza de especies de árboles tiene una correlación con la diversidad de aves y mariposas (Schulze et al., 2004) y con la diversidad de grupos de artrópodos como las hormigas (Leal et al., 2012).

La diversidad no es solo lo que está sobre el suelo sino también los organismos que viven debajo de nuestros pies, en términos de riqueza taxonómica, estrategias de vida y roles funcionales la diversidad es abrumadora (Orgiazzi et al., 2016; Turbé et al., 2010), pero permanece en gran parte inexplorada (Cameron et al., 2018). Se está tomando conciencia de que la biota del suelo es indispensable para sostener la vida vegetal y animal. Los organismos del suelo, que incluyen bacterias, arqueas y hongos, artrópodos del suelo, invertebrados y raíces de plantas, coexisten en una red e interactúan de formas complejas. Las comunidades del suelo desempeñan un papel esencial en los procesos del suelo, como el ciclo del carbono/ nutrientes, la absorción de nutrientes por las plantas y la formación de materia orgánica del suelo (SOM) (Kibblewhite et al., 2008; Orgiazzi et al., 2016). También hay evidencia creciente de que la biodiversidad del suelo contribuye al control de plagas y enfermedades de plantas, animales y humanos (Schlatter et al., 2017; Wall et al., 2015). Además, la biodiversidad de suelo afecta a la biodiversidad aérea y viceversa, así como a la dinámica evolutiva y de sucesión de los ecosistemas, y como tal, la

capacidad de adaptación a, por ejemplo, los cambios globales (Bardgett y van der Putten, 2014; Kardol et al., 2006). Las comunidades del suelo, por lo tanto, apoyan y regulan una amplia gama de procesos del suelo y el funcionamiento de los ecosistemas y, en última instancia, los servicios que son esenciales para el funcionamiento sostenible de los ecosistemas naturales y gestionados.

Como la mayoría de las evaluaciones globales están de acuerdo, el conocimiento actual sobre la biodiversidad del suelo es limitado y apenas se está empezando a comprender su complejidad. Las nuevas técnicas analíticas (incluyendo las estrategias moleculares, que se centran en el ADN y el ARN de comunidades de microorganismos) y los metadatos están comenzando a generar nuevos conocimientos (Bünemann et al., 2018), que buscan relacionar las caracterizaciones de la biodiversidad del suelo basadas en la metagenómica con el funcionamiento del ecosistema (Vestergaard et al. 2017). De estos análisis la mayoría (87%) se realizaron en el hemisferio norte, con un 35% originados en Europa y apenas un 4% entre África y América del Sur (Mujtar, 2019).

Por lo tanto, la contribución de los SSP al futuro de la agricultura adaptada al clima necesita entender no solo el balance de sus costos y beneficios. Primero, requiere mediciones simultáneas de los múltiples efectos de los sistemas silvoagrícolas para identificar las compensaciones inherentes a su implementación. Y segundo, requiere entender cómo los costos y beneficios se acumulan con los cambios en la cobertura arbórea, para que se puedan implementar con niveles de sombra que maximicen los beneficios sociales, ambientales y económicos, minimizando los costos.

Considerando que los SAF aportan tanto en lo productivo como en lo social y medioambiental, los SSP se enmarcan como una opción viable para el manejo integral de los paisajes boscosos de Ranchillo Alto (renovales de Roble (*Nothofagus obliqua*)), el cual que posee una extensión de 635 ha. y que ha sufrido prácticas de sobre talaje, sobre pastoreo y en general, explotación excesiva, afectando diversos sectores en términos de pérdidas de suelo y cubierta vegetal. Estas condiciones hacen propicio el establecimiento de un manejo silvopastoril dentro del predio.

Esperamos que las alteraciones de las coberturas arbóreas no solo alteren las características estructurales y fisicoquímicas del suelo, sino que a su vez la calidad de hábitat para distintas especies que cumplen funciones biológicas importantes en la interacción suelo-planta, como son los insectos, las aves y los microorganismos de suelo. Un enfoque multidimensional del sistema



agroforestal permitirá vincular la taxonomía microbiana con funciones y a su vez con un conjunto más amplio de variables ambientales. Esto permitirá establecer relaciones entre diversidad y ocupación de nicho, así como definir los factores reales que modulan los patrones ecológicos de los suelos (Mendes et al. 2015; Goss-Souza et al. 2017).

Por lo anteriormente expuesto, es necesario determinar todos los componentes claves en el establecimiento de un SSP, en donde se espera que la producción tenga una correlación positiva con los beneficios ambientales obtenidos. Para esto, se propone cuantificar la efectividad de las praderas silvopastoriles a lo largo de los gradientes de la cobertura dosel arbóreo para determinar si, y a qué niveles de cobertura de árboles, estos sistemas pueden ser climáticamente inteligentes y sostenibles en el uso del bosque nativo como matriz productiva y de conservación. Por lo que, al realizar un análisis integrado de los componentes a distintas coberturas de dosel, se espera que los datos obtenidos puedan responder algunas preguntas, como, ¿Pueden los SSP mantener la producción agrícola? ¿Los SSP permiten la adaptación al cambio climático? o ¿Qué tan efectivos son los SSP en la conservación de la biodiversidad? Por lo que para dar respuesta a esta pregunta se plantea la siguiente hipótesis de trabajo: “El dosel arbóreo semi cerrado de *Nothofagus obliqua* favorecerá la calidad de suelo, lo que permitirá una mayor producción silvoagropecuaria y un uso sustentable del bosque nativo”. Para poner a prueba esta hipótesis se plantea el siguiente objetivo general: Determinar el efecto del grado de cobertura arbórea sobre la conservación de la biodiversidad en un bosque de *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Orest, así como el efecto integrado de la producción agroforestal, adaptación al cambio climático y biodiversidad en el uso sustentable del bosque nativo del Bien Nacional Protegido Ranchillo Alto, Región de Ñuble. Los objetivos específicos fueron: i) Evaluar el efecto del cierre de dosel de roble sobre la biodiversidad vegetal, microorganismos, insectos de suelo y aves. Y ii) Analizar en forma integrada los componentes de producción, adaptación al cambio climático y biodiversidad en las distintas coberturas de dosel y sus efectos en la sustentabilidad del bosque nativo del predio Ranchillo Alto, Región de Ñuble.

Considerando que la agroforestería se potencia como una alternativa al actual modelo de la industria agrícola debido a su poder de recuperación de suelo y utilidad en la mitigación del cambio climático, se pretende, con este trabajo aportar al desarrollo rural de la Región del Biobío, específicamente en la comuna de Yungay, diversificando sus entradas económicas, además de



colaborar en la investigación e implementación de los SAF en Chile y su utilización como herramienta para valorización del bosque nativo.



## CAPÍTULO II

### **Agroforestry can affect the soil bacterial and fungal communities of an old, degraded *Nothofagus obliqua* forest in the Andes, south central Chile**

Pablo Neira, Carlos Henríquez-Castillo; Juan Ortiz, Neal Stolpe and Francis Dube

Enviado al Journal Agroforestry Systems

#### **Abstract**

Soil biota is considered a crucial component of healthy and sustainable soil ecosystems because of its role in vital processes. The microbial decomposition of organic matter and the cycling of nutrients influence the chemical and physical properties of the soil, which will ultimately determine fertility and long-term sustainability. Recently, the soil microbiota and its genomic material (microbiome) have received increasing attention since microbes are critical to nutrient availability to plants and physicochemical conditions of soils. However, in agroforestry systems, little information is available on the effect of tree cover on natural microbial assemblies and its potential impact on soil health and production. From this perspective, we present the initial and novel results on the characterization of microbial diversity in soil of a *Nothofagus* - based silvopastoral system with three different shade conditions (open, semi open and semi closed), ascertained from the use of massive sequencing of phylogenetic marker genes for Bacteria, Arquea, Eukarya and Fungi. Our preliminary results not only represent the first multi domain microbial inventory in the study area, they also highlight the need to consider the microbial assemblies in the design and management of soil-based production systems, and also the conservation of biodiversity in ecosystems.

**Keywords:** Silvopasture, Roble, Andean temperate forests, soil microbiome, microbial diversity.

## 2.1 INTRODUCTION

Native forests provide a variety of ecosystem services including regulating water quality and quantity, carbon (C) sequestration, soil conservation, biological diversity, and providing opportunities for tourism and recreation (Lara et al. 2003). An increase of 9.5 million km<sup>2</sup> of forest coverage by 2050 (relative to 2010) is listed amongst the mitigation strategies to limit global warming to 1.5 °C (Rogelj et al. 2018), because extensive forested areas worldwide have been lost to farmlands presently cover approximately one third of the Earth's surface (Fritz 2015). The increasing demand for wood and non-wood forest products and the use of land for agriculture and livestock grazing have increased the rate of degradation of these types of ecosystems (Dube 2016). In Chile for instance, from 1989 to 2009, more than 60% of the central zone's native forest has been reduced by agricultural intensification (Miranda et al. 2016). Unregulated logging and livestock overgrazing have modified the original tree coverage, which has altered the quantity and quality of organic matter entering the soil, and therefore its overall quality.

How production systems such as forestry, livestock and agriculture are managed is one of the most important issues facing the world, since unsustainable production will be unable to satisfy the future needs of the global population. Therefore, the current and future requirements of agriculture can be summarized as being sustainable and having climate-smart intensification (Blaser et al. 2018). While the requirements for the future of agriculture are clear, comprehensive solutions are scarce. Similarly, “sustainable forest management” is a dynamic and evolving concept, but one which generally aims to maintain and enhance the economic, social and environmental values of all types of forests (FAO 2020). A well-managed forest permits the ongoing obtention of goods and services, without damaging the environment, while maintaining or expanding its ecological functions.

Agroforestry systems (AFS) make use of the deliberate inclusion of trees in cropping systems in some form of spatial arrangement or time sequence, and are ideal candidates for agricultural intensification on degraded lands, but in a sustainable and climate smart strategy (Sheer et al. 2012; Zonta et al. 2013). Agroforestry has the potential to improve soil quality and health, mainly by increasing the availability of nutrients and soil organic C (SOC). Currently, agroforestry tends to

focus on components that promote appropriate canopy covers that ensure a determined light intensity, in order to generate an adequate microclimate to control production (Castillo 2020; Lawson et al. 2019). Modifying these conditions not only affects the silvicultural components, but also the soil biota, which supports production processes and regulates diverse biogeochemical cycles (Fierer 2017).

Silvopastoral systems (SPS) represent a form of land use where tree, forage, and livestock components are intentionally combined in the same plot of land. SPS are a type of agroforestry practice that is popular in both the tropics and the temperate regions. Broadly, there are two major forms of silvopasture: grazing- and tree-fodder systems. In grazing systems, cattle are allowed to graze on pasture under widely spaced or scattered trees, whereas in the tree-fodder systems, the animals are stall-fed with fodder from trees or shrubs grown in plots on farms (Cubbage et al. 2012; Jose et al. 2018).

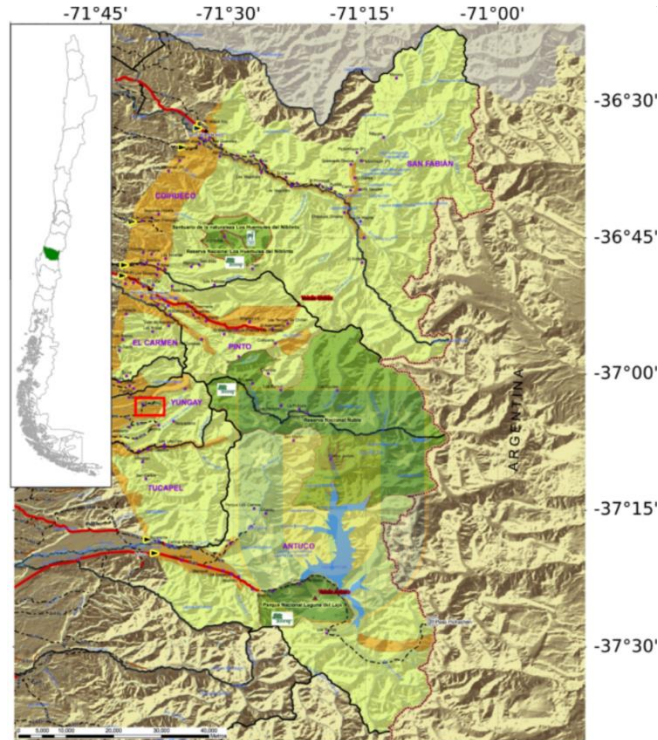
Here, we present preliminary and novel results on the soil microbial diversity in a 5-year-old silvopastoral system that was originally implemented in a degraded, over mature *Nothofagus obliqua* native forest, with three different shade conditions, for the purpose of producing forage for livestock feed. Our results represent the first multi-domain microbial inventory in the study area and highlight the need to include microbial assemblies in the design and management of soil-based production systems, and also the conservation of biodiversity in ecosystems.

## **2.2 MATERIALS AND METHODS**

### **2.2.1 Study site description**

The study area is located at the Ranchillo Alto (RA) state-owned property (Fig. 1), Yungay Commune, Ñuble Region, Chile (37° 04' S, 71° 39' W), which is managed by the University of Concepción. It is inserted in the ecological buffer zone of the Nevados de Chillán - Laguna del Laja Biological Corridor UNESCO Biosphere Reserve (San Martín 2014). The foothills of the Ñuble region have a humid temperate Mediterranean climate with a marked winter season, and mean annual temperatures of 13.5 °C, but can exceed 25 °C in summer. The annual rainfall may exceed 3.000 mm in a normal year. Snowfall occurs mostly between May and September, reaching when there are low temperatures and frequent frosts (Rivas et al. 2009). The dominant tree species

on the property are *Nothofagus dombeyi* (Coigües) followed by *N. obliqua* (Robles). Additional site characteristics have been extensively described in Alfaro et al. (2018) and Ortiz et al. (2020) (Table 1). The RA site was under strong anthropic pressure until 2013, where the continuous land uses had included intensive cattle production and grazing, and tree harvesting for firewood, charcoal and sawn wood. These processes strongly affected and continue to threaten the overall biodiversity, the quality of the soil and the existence of the forest itself (Dube et al. 2016).



**Figure 1.1. Study site at the Ranchillo Alto state-owned property.** Silvopastoral system Ranchillo Alto is located in the Ñuble Region, Chile ( $37^{\circ} 04' S$ ,  $71^{\circ} 39' W$ ). It is inserted in the Nevados de Chillán-Laguna del Laja Biological Corridor, UNESCO Biosphere Reserve. Light green areas represent transition zones. The red square on the left handside shows the location of Ranchillo Alto. Insert: Map of Chile, where the Ñuble region appears in dark green. Adapted from EPIC-Chile, 2020.

**Table 1.1.** Soil chemical characterization of the silvopastoral system at Ranchillo Alto. Variation of mean values of pH, SOC, N and C/N in the period 2015-2018 at 0-20 cm in different *Nothofagus obliqua* shade conditions. Op: Open; SOp: Semi-Open; SC: Semi-Closed; SOC: Soil organic

carbon; N: Nitrogen; C/N: Carbon/Nitrogen ratio. Data for 2015 from (Alfaro et al. 2018). Data for 2018 from (Ortiz et al. 2020). Values are a means of measurements taken in the Chilean temperate forests of *Nothofagus obliqua* in 2015 and 2018.

	Year	Shade- tree over		
		Op	SOp	SC
pH (H <sub>2</sub> O)	2015	6.0	6.1	6.0
	2018	5.6	5.8	5.8
SOC (%)	2015	7.1	7.1	8.0
	2018	13.5	11.8	13.1
N (%)	2015	0.31	0.38	0.42
	2018	0.61	0.46	0.52
C/N	2015	22.3	19.2	19.5
	2018	22.3	25.6	22.0

### 2.2.2 Experimental design

The SPS was established beginning in September 2015 in an old *Nothofagus obliqua* forest that had been previously disturbed for decades by illegal logging and overgrazing. In May 2016, the pasture component was sown with a mixture of grass and leguminous species: *Lolium multiflorum westerwoldicum*: 4 kg ha<sup>-1</sup>; *Phalaris aquatica*: 2 kg ha<sup>-1</sup>; *Lolium perenne*, *Festuca arundinacea*, *Dactylis glomerata*: 15 kg ha<sup>-1</sup>; *Trifolium incarnatum*, *T. subterraneum* and *T. vesiculosum*: 6 kg ha<sup>-1</sup>. Chemical fertilization of pastures consisted of: Nitrogen-Phosphorus-Potassium (N-P-K:150-200-100); Super nitrate: 100 kg ha<sup>-1</sup>; Triple superphosphate: 88 kg ha<sup>-1</sup>; and Muriate of Potash: 25 kg ha<sup>-1</sup>. The system consists of 9 plots randomly distributed under three levels of tree cover (Table 2): Open (Op), Semi open (SOp), Semi closed (SC) (3 sites with three replicates) (Dube et al. 2016). Plots were established according to the canopy cover. The solar radiation in the understory was measured in the different treatments with a Solariscope SOL 300B instrument (Behling, Germany); and for each site measurements were done at 15-20 random spots. Ten to fifteen canopy photographs were also obtained from each treatment (Fig. 2).

**Table 2. General information for each tree cover condition in the Silvopastoral system at Ranchillo Alto.** Op: Open; SOp: Semi-Open; SC: Semi-Closed. DBH: Diameter at breast height; HT: Total Height; N°ha<sup>-1</sup>: Trees per hectare; m<sup>2</sup>ha<sup>-1</sup>: Square meters per hectare.

Tree cover	Tree cover description	Plot size (N°y ha)	Forest Species	Tree density (N° ha <sup>-1</sup> )	DBH (cm)	Basal Area (m <sup>2</sup> ha <sup>-1</sup> )	HT (m)
Op	Ground with 85-95% of external light (average area)	3 x 1,33	<i>Nothofagus obliqua</i> , <i>Chusquea quila</i>	60	38.5	6.98	14
SOp	Ground with 65-75% of external light (average area)	3 x 1,33	<i>Nothofagus obliqua</i> , <i>Nothofagus dombeyi</i>	134	39	16	26
SC	Ground with 45-55% of external light (average area)	3 x 1,33	<i>Nothofagus obliqua</i> , <i>Lomatia hirsuta</i>	258	32	20.7	20

### 2.2.3 Microclimatic parameters

Soil moisture and temperature were measured at two soil depths, 0-5 and 5-20 cm. Measurements were made every 2 h over a period of 12 months from 2016 to 2018, using EC-20 soil moisture sensors and ECT temperature sensors respectively, connected to five-channel Em5b Data Loggers (Decagon Devices, WA, USA). One data logger was installed per treatment, with a total of three.

### 2.2.4. Yield production

Pasture biomass was harvested in January 2017 and 2018 from 50x50 cm quadrants, at a height of 5 cm above the ground, from a 50-m long and 0.5-m wide transect for each treatment. Each sample was placed in a paper bag and weighed in situ with a field scale (Digitron brand, Roble 10-j model). Then, 200 g sub-samples were taken from each sample, dried in a forced-air oven (Kotterman) at 65 °C to a constant weight. Total dry mass (DM) of each component was calculated by multiplying the total fresh mass (FM) by the subsample moisture content (%); the dry mass (DM) was then transformed to the harvested weight of the transect to obtain yield of the prairie. To evaluate the effect of different canopy closures on biomass yield of the prairie, a factorial design with two factors was used, one with three shade levels (Op, SOp and SC) and one with the evaluation time in two levels (2017, 2018).

#### 2.2.5 Soil sampling and DNA extraction

Soil samples were obtained in January 2019 from the silvopastoral plots with three different shade covers. DNA was extracted from 250 µg of soil from each sample (3 treatments, 2 depths) using the Macherey nagel soil DNA extraction kit (Macherey nagel labs, Germany), according to manufacturing instructions. The DNA integrity was verified by electrophoresis on an agarose gel according to Brody & Kern (2004) and the concentration was quantified using a Thermo Scientific NanoDrop™ 3300 Spectrophotometer. DNA samples were then lyophilized and stored at 4° C until sequencing.

#### 2.2.6 Metabarcoding Analysis

All samples analyzed here were processed using the fluidigm technology (Mallot et al. 2019). This method allows to combine multiple primers using a unique genomic DNA template. We used universal primers for Bacteria (Apprill et al. 2015; Parada et al. 2016): F515 (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') and 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'); Archaea (Takai and Horikoshi 2000): Arch349F (5'-GYGCASCAGKCGMGAAW-3') and Arch806R (5'-GYGCASCAGKCGMGAAW-3'); Eukarya (Amaral-Zettler et al. 2009): Euk1391f (5'-GTACACACCGCCCGTC-3') and EukBr (5'-TGATCCTTCTGCAGGTTACCTAC-3'); Fungi (White et al. 1990): ITS3 (5'-GGACTACVSGGGTATCTAAT-3') - ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). The



sequencing was performed in a single 2x250 illumina Hiseq2000 run. All samples were analyzed using the dada2 package (v1.11.3; Callahan et al. 2016) that was implemented in R (v3.4.4). Primers were removed using cutadapt v1.2.1 and the sequences from each pair were trimmed to 220 and 190 bases, respectively, for bacteria, archaea and fungi, and to 100 bases for Eukarya. The reads were filtered (maxEE=1, maxN=0, truncQ=11, rm.phix=TRUE) and the Amplicon Sequence Variants were inferred from dereplicated sequences. Quimeras were removed using the "consensus" removal method. The taxonomic assignment was performed using the Silva v132 database for Bacteria, Archaea and Eukarya, and the UNITE ITS database for fungi (General release dynamic, 2020-02-04). The relative abundance of ASVs in each sample and community analysis were performed in the R environment with the phyloseq package. Pie Charts of the relative abundance of Bacterial and Fungal ASVs at different taxonomic levels were constructed using the TUNDRA software ([inf.imo-chile.cl/tundra](http://inf.imo-chile.cl/tundra)).

### 2.2.7 Statistical Analysis

For yield production comparisons, differences between means were analyzed using an analysis of variance (ANOVA) with a post-hoc Tukey's HSD test for multiple comparisons ( $P < 0.05$ ). Statistical analyses were carried out with InfoStat / L (FCA-UNC, Cordoba, Argentina).

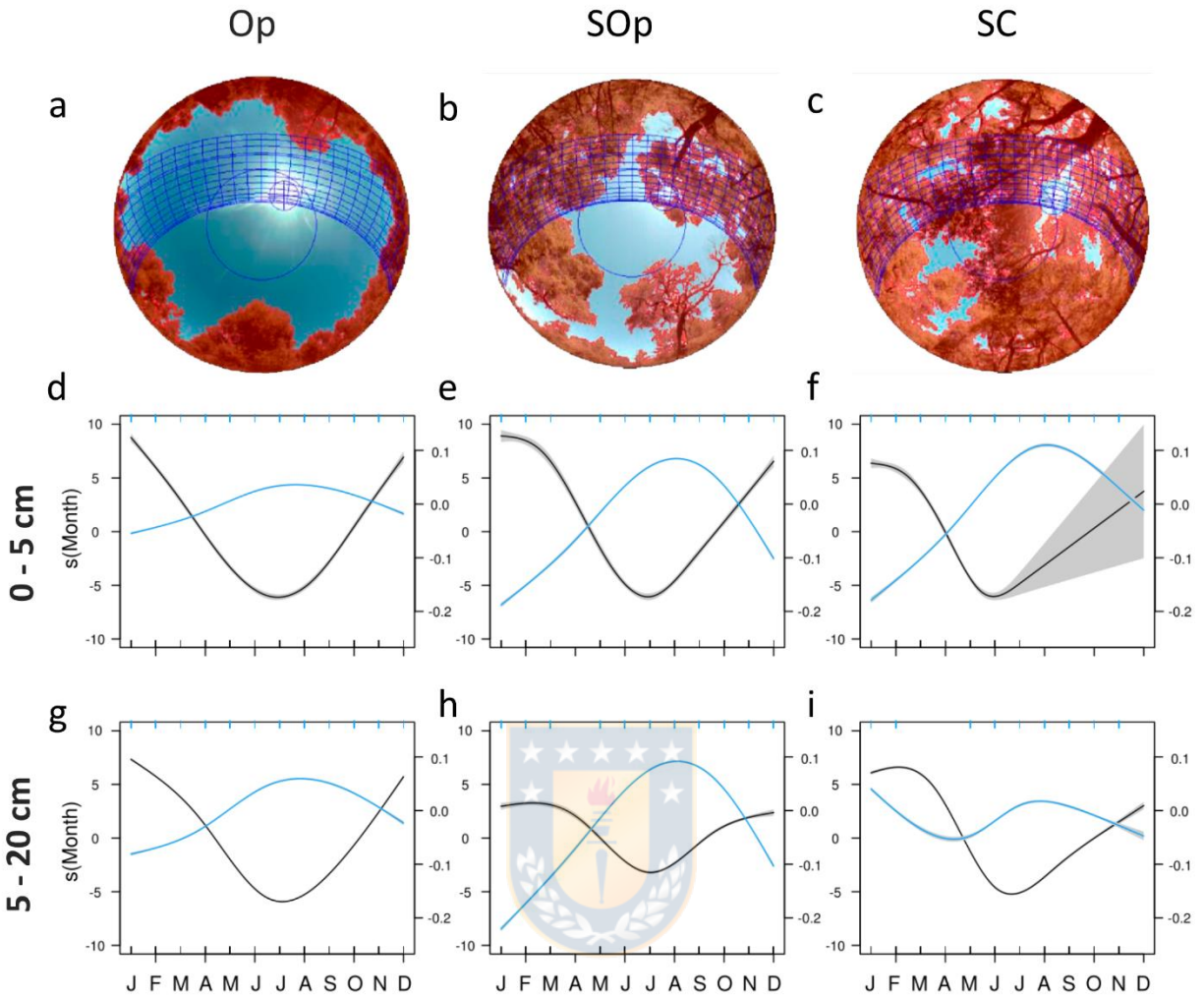
For climatic parameters, the annual trend was obtained using generalized additive models with a cubic spline ( $k = 11$ ). The analysis was also performed in the R environment (v3.4.4) with the mcgv package.

Diversity estimates for metabarcoding data (richness and diversity) along with their related statistics were computed using Sample-size-based Rarefaction/Extrapolation sampling curves (Chao et al. 2014) with the iNEXT package in the R environment. The parameters used were  $q=2$ , knots=40, se=TRUE, confidence=0.95, nboot=100. Simpson diversity index ( $q=2$ , the inverse of Simpson concentration) was plotted using `ggiNEXT()`, as an extension of the `ggplot` package also in the R environment (v3.4.4).

## 2.3 RESULTS

### 2.3.1 Microclimatic conditions

The different shade-tree covers had a differential effect over the annual microclimatic trends (Fig. 2). In the Op condition, a similar trend in Temperature and Humidity was recorded in both soil layers (Fig. 2 d,g) , with an increased Temperature during the austral summer and an increase in the humidity during winter. In the SOp condition, a similar trend was recorded, but with higher Temperatures for an extended period and a higher annual oscillation in terms of humidity. Opposite of the Op, in SOp there were marked differences in the Temperature behavior between the two soil layers. While the first layer followed to the same trend that was observed in the Op condition, the second layer (5-20 cm) had an annual Temperature oscillation that was markedly lower than in the Op condition. Finally, the SC condition displayed the same annual trend as the SOp system in the topsoil layer (0-5 cm), however this site displayed a completely different annual trend at the second soil layer (5-20 cm). The SOp presented fewer months with temperatures lower than 0°C in the rainy season when compared to Op and SC, but was similar to those of the Op condition during the dry season, at both depths. Regarding the soil moisture, SOp maintained the same values at both depths, which were similar to those found at the surface (0-5 cm) in the SC condition (Fig. 2d-i). The minimum and maximum in both soil Temperature and soil moisture are summarized in Table 3.



**Figure 2. Changes in tree cover and variation of soil microclimatic conditions for the Silvopastoral System at Ranchillo Alto.** A: Hemispherical photographs of the canopy cover of *N. obliqua* obtained with a Solariscope® SOL 300B. A) Op: Open (5-15% tree cover); B) SOp: Semi Open (25-35% cover); and C) SC: Semi-closed (45-55% cover). D to F) Annual micro-climatic trends for each shade condition at 0-5 cm soil depth. G to I) Annual micro-climatic trends for each condition at 5-20 cm depth. In Fig. D-I, the x-axis corresponds to the months, while the y-axis corresponds to the temperature (Left, black line) and soil moisture (Right, light blue). Year-round curves were fitted using generalized additive models (gam) in the R environment. (Photo: Francis Dube 2018).

**Table 3. Microclimatic conditions of the Silvopastoral System located in Ranchillo Alto.** Minimum, maximum, and mean temperature and soil moisture measured at 0-5 and 5-20 cm depth in each *Nothofagus obliqua* shade condition. Op: open; SOP: semi-open; SC: semi-closed; Min: Minimum, Max: Maximum. Temperature in Celsius degrees (C°), Soil moisture in (m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>).

	Depth (cm)	Climatic Conditions					
		Temperature (C°)			Soil Moisture (m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> )		
		Min	Max	Mean	Min	Max	Mean
Op	0-5	-7	41	4,5	0.025	0.371	0.13
	5-20	-0.8	19	8.8	0.04	0.43	0.19
SOp	0-5	-7	36	5	0.07	0,5	0.28
	5-20	-11	7.6	-2.5	0.011	0.56	0.34
SC	0-5	-0.9	37	10.8	0.08	0.51	0.29
	5-20	2	22	12	0.13	0.36	0.21

### 2.3.2 Yield production

In the SPS-RA, the maximum yield production was 647.82 kg of DM ha<sup>-1</sup> in 2017 in the SC condition and 879.6 kg of DM ha<sup>-1</sup> in 2018 in the Op condition (Table 3). There was a significant increase in the availability of crop pastures under the conditions of Op and SOP in 2018 compared to 2017, with no significant differences observed in the condition of SC between years (Tukey's test, p-value 0,05). When analyzing the quality of each production, the dominant botanical family in 2017 was grass, with 88.7%, 53.1% and 95.4% of the total production of Op, SOP and SC, respectively. In 2018, grass production decreased significantly in all three conditions, corresponding to 45%, 32%, and 36% of total production for Op, SOP, and SC conditions, respectively, with SOP being the most productive grass condition (Table 4). In general, the net production of grass was higher in Op and SOP, where SOP showed a better performance during its development, increasing its net production and maintaining its specific production of grasses.

**Table 4. Yield production of the silvopastoral system located in Ranchillo Alto in 2017 and 2018.** Grass production, Weed production and Total production (Kg DM ha<sup>-1</sup>) with their respective percentages (%) in each *Nothofagus obliqua* shade condition. Op: Open; SOP: Semi-Open; SC: Semi-Closed. DM: Dry Matter. kgDMha<sup>-1</sup>: Kilograms of Dry Matter per hectare. Values are a means of measurements taken in January 2017–2018.

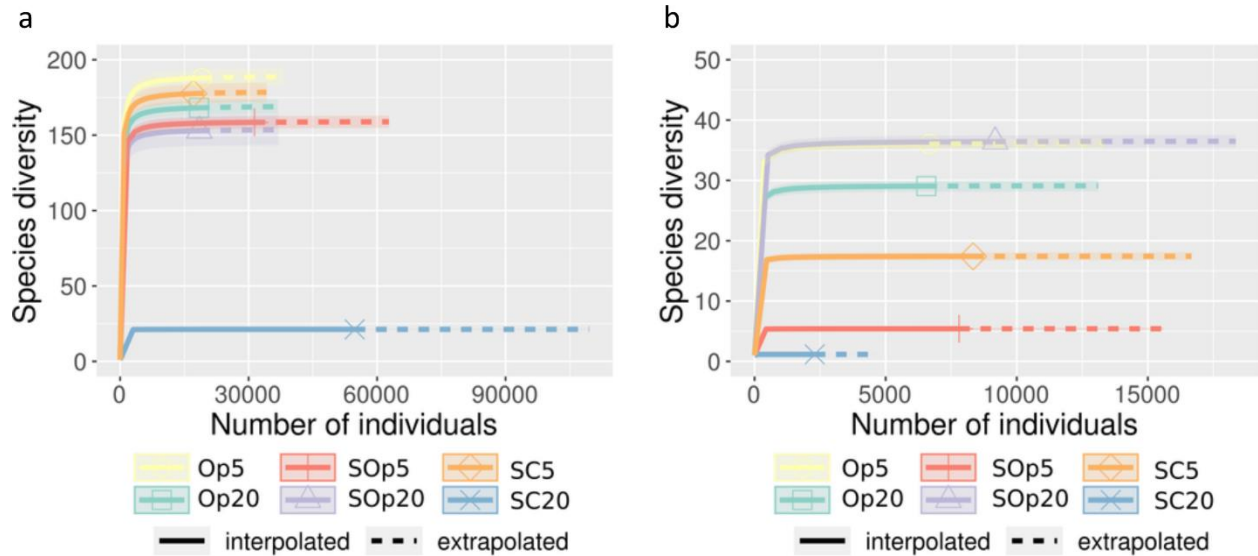
		Yield Production				
	Year	Grass		Weed		Total
		(%)	Kg DM ha <sup>-1</sup>	(%)	Kg DM ha <sup>-1</sup>	Kg DM ha <sup>-1</sup>
Op	2017	53.1	315.98 <sup>a, a</sup>	46.8	279.5 <sup>b, b</sup>	595 <sup>a, a</sup>
	2018	29	255 <sup>a, a</sup>	70.6	620 <sup>c, b</sup>	879 <sup>c, b</sup>
SOp	2017	95.4	527.45 <sup>b, b</sup>	4.5	25.2 <sup>a, a</sup>	553 <sup>a, a</sup>
	2018	65	520.17 <sup>b, c</sup>	35	282.5 <sup>b, a</sup>	808 <sup>bc, b</sup>
SC	2017	88.7	574.6 <sup>b, b</sup>	9.9	64.1 <sup>a, a</sup>	648 <sup>ab, a</sup>
	2018	56.5	313 <sup>a, b</sup>	43.5	240.1 <sup>b, a</sup>	554 <sup>a, a</sup>

First lower-case letters show significant differences between interaction years x cover. Second lower-case letters indicate significant differences between treatments during the same year. Tukey's test (P <0.05).

### 2.3.3 Microbial communities

#### 2.3.3.1 Bacterial community

In terms of bacterial diversity, the SOp condition showed similar values of diversity (Fig. 3) at both depths (0-5 and 5-20 cm), opposite to that observed in SC and SOp, where notable changes in terms of diversity and community composition were observed (Fig. 3a- Fig. 4a-f). Under Op and SOp conditions, the dominant phylum was Proteobacteria (29.5 and 30.3% of the prokaryotic community, respectively), followed by Actinobacteria (20.5 and 18% of the prokaryotic community, respectively). In the SC condition, Proteobacteria and Acidobacteria were dominant (35.5% and 18.5% of the prokaryotic community, respectively) (Fig. 4a-f). Among the Proteobacteria, the order Rhizobiales dominated the Op and SOp conditions (~14% of the prokaryotic community), while in the SC condition the Myxococcales and Rhizobiales orders (7.2-7.5% of the prokaryotic community) were the most abundant.



**Figure 3. Simpson diversity index of bacteria and fungi from the Silvopastoral System at Ranchillo Alto.** A.) Bacterial diversity and B.) Fungal diversity. Diversity indexes were calculated using the iNEXT package with  $q=2$  (the inverse of Simpson concentration), knots=40, se=TRUE, confidence=0.95, nboot=100 parameters. Analysis was performed in the R environment. Op5: Open 0-5 cm soil depth; Op20: Open 5-20 cm; SOp5: Semi Open 0-5 cm; SOp20: Semi Open 5-20 cm; SC5: Semi Closed 0-5 cm; SC20: Semi Closed 5-20cm.

### 2.3.3.2 Eukaryotic community

The eukaryotic 18S rRNA sequences that were obtained from the SPS-RA were dominated by Fungi (88.8% of the total sequences) (Table 5). However, we were able to detect other eukaryotes, including members of the phylum Rotifera (24% of the eukaryotic community) in the 5-20 cm soil layer of the SOp condition, the phylum Cercozoa (19% of the eukaryotic community) in the 0-5 cm soil layer of the SC condition, the phylum Nematoda and Euglenozoa (2.5-2.09% of and 1.09-0.59% of the Eukaryotic community) in the 0-5 and 5-20 cm soil layers, respectively, in the Op condition. In the SC condition we found 3.34 % of the sequences affiliated to the phylum Nematoda, but only in the 5-20 cm soil layer.

**Table 5. Taxonomic characterization of the Archaeal and Eukaryotic microbial community at 0-5 and 5-20 cm depth in the silvopastoral system at Ranchillo Alto.** Percentages (%) for each phylum in each *Nothofagus obliqua* shade condition were shown. Percentages correspond to the number of reads respect to the total number of archaeal reads in each sample. Op: Open; SOp: Semi-Open; SC: Semi-Closed.

Depth (cm)	Shade-tree Cover					
	Op		SOp		SC	
	0- 5	5 -2 0	0 - 5	5 -2 0	0 - 5	5 -2 0
Archaea / Phylum	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Thermoplasmatota	87.5	-	87.5	100	100	-
Crenarchaeota	12.5	100	12.5	-	-	-
Eukarya / Phylum	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Ascomycota	28.23	24.98	3.14	35.89	24.2	28.3
Basidiomycota	18.98	4.63	68.5	36.4	36.03	40.11
Cercozoa	4.63	1.7	-	-	19.23	4.37
Chytridiomycota	0.32	1.62	-	-	-	5.87
Euglenozoa	1.09	0.59	-	-	-	-
Mucoromycota	7.9	33.15	-	-	-	5.87
Nematoda	2.54	2.09	-	-	-	3.341
Phragmoplastophyta	-	-	-	-	-	2.085
Rotifera	-	0.61	-	24.32	-	-

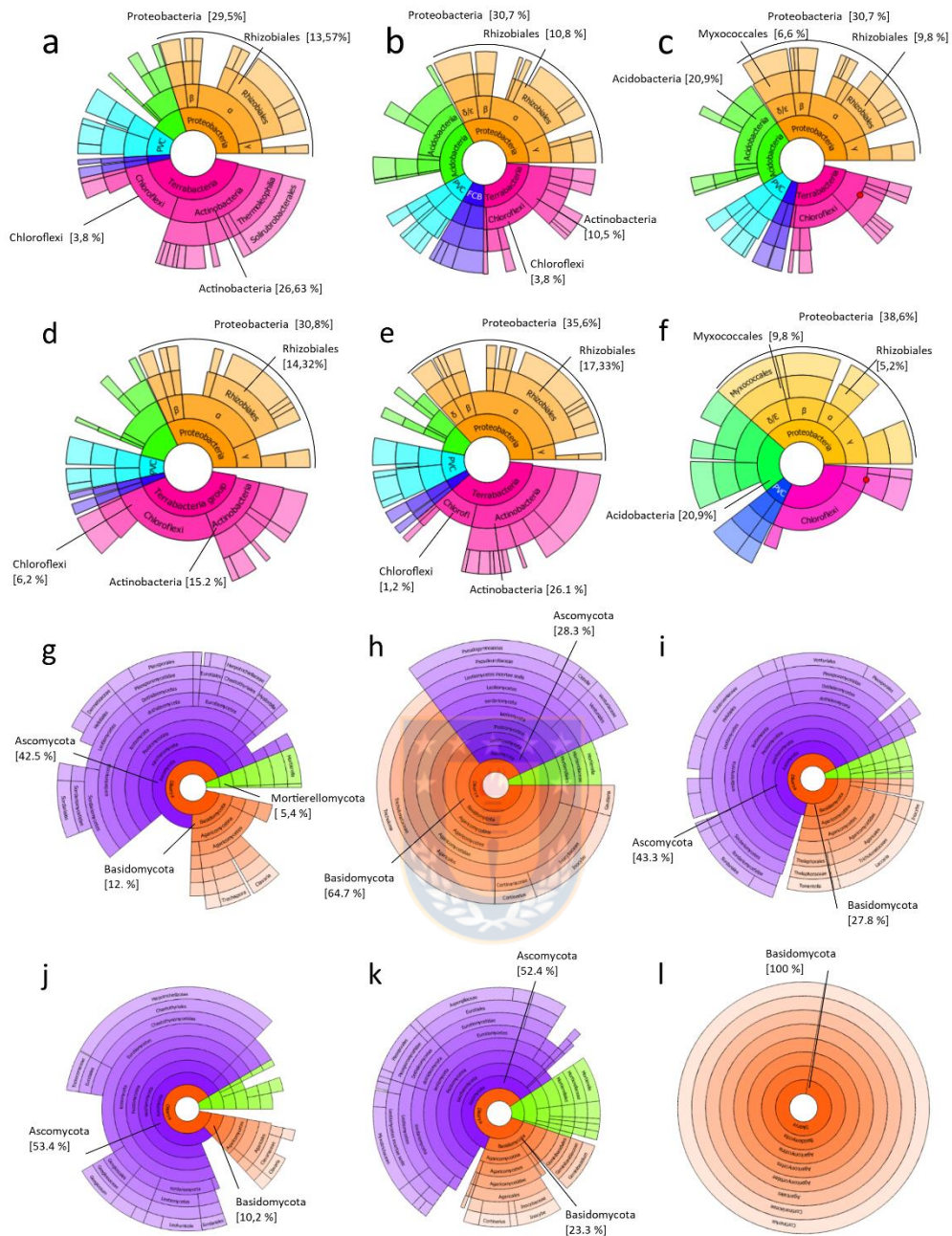
### 2.3.3.3 Fungal community

To better assess the fungal diversity, we used specific primers for this group. Accordingly, both the diversity and community composition of fungi varied according to depth in the SPS-RA, for the three SPS conditions (Fig. 3b) with higher diversity values obtained for the Op and SOp conditions in the first soil layer (0-5 cm). The SOp condition showed the highest fungal diversity at the 5-20 cm depth. In terms of the fungal community composition (Fig. 4 g-l), the phylum

Ascomycota and Basidiomycota were dominant in the Op and SC conditions. The first soil layer (0-5 cm) was dominated by Ascomycota (42% and 12% of the fungal community, respectively) and Basidiomycota (43-27% of the fungal community, respectively) , while in the SOp condition, an opposite pattern was observed, with a dominance of the Basidiomycota (64% of the fungal community). In the second soil layer (5-20 cm), the Op and SOp conditions were also dominated by Ascomycota (53% and 52% of the fungal community, respectively) and Basidiomycota (10% and 23% of the fungal community, respectively), while only Basidiomycota was detected in the SC condition. Members of the Glomeromycota were also detected in the first soil layer but only in the Op and SC conditions (0,6 % and 2 % of the fungal community, respectively). While in the second soil layer, they were only detected in the Op and SOp conditions (5,2% and 1,4% of the fungal community, respectively).







**Figure 4. Taxonomic composition of microbial communities in the silvopastoral system at Ranchillo Alto.** A-F: Relative abundances of Bacterial taxa in the 0-5 cm (A-C) and 5-20 cm soil layers (D-F). G-H: Relative abundances of fungal taxa in the 0-5 cm (G-I) and 5-20 cm soil layers (J-L). Results were graphically displayed utilizing Tundra Pie-Chart editor ([inf.imochile.cl/tundra](http://inf.imochile.cl/tundra)). Each circle of the pie chart corresponds to the different taxonomic level (from the higher in the center to the lowest at the end). Each color denotes a different Phylum in both bacteria

and fungi. Only sequences that have an NCBI taxonomy associated were graphically displayed. Percentages were estimated based on the raw counts data matrix.

At lower taxonomic levels, the microbial differences among the conditions become more evident. The Op condition presented 3 families for Ascomycota (Chaetomiaceae, 3.4%; Herpotrichiellaceae, 8.7%; and Geoglossaceae, 2.85%) and one family for Basidiomycota (Clavariaceae, 3.1%). The SOp condition presented 3 families for Ascomycota (Pseudeurotiaceae, 10%; Aspergillaceae, 6.65%; and Myxotrichaceae, 5.6%) and 3 for Basidiomycota (Tricholomataceae, 19.8%; Inocybaceae, 7.6%; and Geminibasidiaceae, 4%). The SC condition presented 2 families for Ascomycota (Rutstroemiaceae, 3% and Pleosporaceae, 7.9%) and 3 for Basidiomycota (Hydnangiaceae, 7.2%; Thelephoraceae, 3.3%; and Cortinariaceae, 50%). Regarding the Glomeromycota phylum, The Op condition presented 3 families (Archaeosporaceae 0.3%; Glomeraceae 1.49%; Acaulosporaceae 1.12%), while the SOp had an Ambisporaceae family (0.69%) and the SC presented 3 families (Glomeraceae 0, 12% Claroideoglomeraceae 0.52% and Paraglomeraceae 0.36%)



#### 2.3.3.4 Archaeal community

Most of the sequences that were retrieved from amplification with the Archaeal-biased primers in Op, SOp and SC were affiliated to Bacteria (Table 5) from the phylum Verrucomicrobia, and sequences related to the archaeal classes Thermoplasmata and Crenarchaeota were detected in both soil layers. Thermoplasmata dominated the first soil layer, which corresponded to 87,5% of the archaeal sequences in Op and SOp and to 100% of the archaeal sequences in SC. The sequences that were related to Crenarchaeota corresponded to 12.5% of the archaeal community in the OP and SOp conditions. In the second soil layer, only Crenarchaeota related sequences (100% of the archaeal community) were found.

## 2.4 DISCUSSION

The main aspects to be considered in the design a native agroforestry system include the amount of tree cover and its effect on the quality and structure of the soil, the potential for silvo-agricultural production and the conservation of biodiversity, as well as its overall integrated effect on sustainable use of the forest. The implementation of an SPS in climate-vulnerable areas is often necessary because they can help cushion the effects of climate change in the agricultural sector (Lin 2007; Vaast 2016).

Considering that intensive agricultural practices have depleted 25–75% of the organic C in most of the world's soils (Lal 2011), the evaluation of the present SOC levels is relevant. Improved management, however, has the potential to increase C storage in agricultural soils and, therefore, help mitigate climate change, in addition to improving numerous soil properties and processes (Bouma 2019; Bünemann et al. 2018; Gentile et al. 2005). Soil N is also of particular interest since it is often the most limiting nutrient for plant growth (Verhulst 2014). In this sense, grasslands and silvopastoral systems have a great potential to sequester nutrients and increase the soil fertility and crop yields (Dube et al. 2012; Dube et al. 2011; Franzluebbers et al. 2000; Loveland and Webb, 2003; Kundu et al. 2007). Pasture sequences in crop rotations have also been shown to increase SOC and total N in soils, and promote higher crop yields in both conventional and no-till systems (Grahmann 2020).

In terms of soil quality in the SPS-RA in 2015, Alfaro et al. (2018) reported significant differences in the concentration of SOC and N between the different tree covers and the two soil depths (0-5 and 5-20 cm), while significant differences in pH were only found between depths. No significant differences were found, however, for the C/N ratios. In 2018, Ortiz et al. (2020) reported significant differences in terms of SOC, N, and C/N ratio between the SOp system, and the Op and SC systems. The SOp had lower SOC and N values, but a higher C/N ratio. Overall, there was an increase in SOC, N, C/N, and a slight decrease in pH in 2018 as compared to 2015 in all three shade covers that were analyzed (Table 1).

### 2.4.1 Effect of the tree cover on the microclimatic conditions

In our SPS, we found several differences in microclimatic conditions due to tree cover. To summarize, the SOp condition at both soil depths appeared to be in equilibrium with the aboveground microclimatic conditions that had low fluctuation between the seasons, with more stability for plant development. The SC condition, however, showed an anomalous trend in both soil temperature and humidity compared to Op and SOp conditions at a soil depth of 5-20 cm. Blazer et al. (2018) that indicated that the effectiveness of AFS for microclimatic moderation is site specific and depends on the nature of the location's climate (monthly precipitation and temperature extremes) and how the tree density and coverage conditions are established in each system. In our study, in forests of *Nothofagus obliqua*, the condition of SOp promotes an optimum balance in both layers of the soil, in temperature and soil moisture with respect to the natural climatic regime, because it allows sufficient entry of sufficient solar radiation to ground level in order to maintain the soil temperature yet conserve the soil moisture (Lin 2007).

#### 2.4.2 Effect of the tree cover on the yield production

Despite the evident decrease in the total biomass production of pasture in all shade conditions, the 25-35% shade level cover (SOp condition) for the *Nothofagus* forest promotes greater specific production of grass (kg of biomass per m<sup>2</sup> of pasture), but also offers ecosystem services such as increased carbon sequestration (Ortiz et al. 2020). Recent reports suggest that in shade levels above 30%, the agroforestry system becomes less likely to generate mutually beneficial scenarios between components (Blaser et al. 2018). Thus, agroforestry could best optimize the trade-off between production, conservation and sustainable use of native forests at low to intermediate levels of tree coverage.

#### 2.4.3 Effect of the tree cover on the microbial communities

The microbial diversity of forest soils may be directly related to the vegetation cover, type of soil and land use (Yao 2000), so the micro-climate generated by the tree cover is not only a factor in plant development, it also is one for soil microorganisms. Bacteria and fungi are generally the dominant microorganisms found in the soil. These groups usually have 10<sup>2</sup>–10<sup>4</sup> more biomass than any other components of the soil microbiota (Fierer 2017), with bacteria largely dominating in terms of number.

In the SPS-RA, the soil bacterial communities are dominated by members of the Rhizobiales order, which are associated with N fixation, and of the Myxococcales, that are associated with cellulose lysis. The higher abundance of Rhizobiales in both the Op and SOp in 2018 can be associated with the increase in soil N between both productive seasons and to the greater pasture surface in these conditions. The abundance of Myxococcales in SC can be related to the higher tree density and cover and the contribution of tree leaf litter falling to the soil. The greater abundance of Acidobacteria and the lack of a PVC group at 5-20 cm depth in SC can be related to the unique soil moisture and temperature conditions that were observed, compared to Op and SOp (Silva 2019), although other authors point out that Acidobacteria are able to adapt to resource limitations and soil acidity (Naether et al. 2012; Kielak et al. 2016). The relation between Acidobacteria and biogeochemical parameters must be addressed though, since the ecology and function of these bacteria are still unclear.

The use of eukaryotic primers revealed the dominance of fungi in soil, particularly Basidiomycota and Ascomycota, with a lower representation of other eukaryotic members including macro and microorganisms. In terms of protists, Cercozoa appears as the most represented microbial phylum. Cercozoa are a highly diverse protist phylum in soils and in the phyllosphere of plants, but it is probable that majority of existing species remain unknown. A recent report shows that Cercozoa is a relevant member of the eukaryotic community in a temperate grassland soil (Fiore-Donno et al. 2019). In our investigation, the sequences corresponding to members of the Rhizaspididae and Cercomonadidae families are particularly abundant in the 5-20 cm soil layer of SOp.

Regarding the diversity and community composition of fungi in the SPS-RA, the diversity index varies according to depth for the three conditions, with a higher diversity in Op and SOp, but having lower numbers when compared with their bacterial counterpart. The lower representation of fungi in terms of number of sequences and diversity compared to the bacterial counterpart could be due to the drying-rewetting cycles in soils, that are typical in grasslands, which generally reduce fungal biomass (Bapiri et al. 2010).

Special attention should be given to the presence of fungi within the second soil layer (5-20 cm), where the root-fungi interaction occurs and may have synergistic benefits for both plants and fungi. The roots of most plants form close mutualistic associations with soil fungi known as

"mycorrhizae." Mycorrhizal symbiosis is an ancient and widespread occurrence in plants (> 80% of plants) (Tedersoo et al. 2010) which provides numerous benefits including enhanced robustness of terrestrial ecosystems, greater C sequestration in soils and improvement of soil properties, and increased agricultural production (Read and Perez-Moreno 2003). The two dominant fungal phylum, Ascomycota and Basidiomycota, have representatives of mycorrhizae called ectomycorrhiza, but most of them are related to lignin degradation in soil. Also, the Glomeromycetes form arbuscular mycorrhizae that are associated with many plants (Kuo et al. 2014)

The Ascomycota phylum dominates the soils of the area, with differences at a Class level between sites (Fig. A1). Eurotiomycetes dominated in the Op condition, while the Leotiomycetes dominated in SC. Both classes were equally represented in SOp. The exclusive presence of the Basidiomycota phylum, from the Agaricales Class at a depth of 5-20 cm in the SC condition is probably due to the unique microclimatic conditions there compared to the Op and SOp conditions. Meanwhile, the presence of Families pertaining to the phylum Glomeromycota at depths of 5-20 cm in Op and SOp, could explain their better performance in the total biomass production of pastures (Fig. 1i). The observed differences in the lower taxonomic levels among the conditions may have resulted from site characteristics related to their microclimates and botanical compositions. The higher temperatures are related to increased primary production of plant biomass and plant residue decomposition, which promote a greater number of species of microorganisms in soil (Brown et al. 2014; Liu et al. 2020; Zhou et al. 2016). Systems that contain a diverse mixture of plant genera also have the potential to exhibit greater heterogeneity in the microbial community compared to single-species plantations. (Carnovale et al. 2015). The presence of Leotiomycetes in the conditions with the highest shade cover of SOp and SC trees may be attributed to the fact that it is a microbial group containing many saprobes that can subsist on a wide variety of substrates of dead plant material (Wang et al. 2006; Jaklitsch et al. 2016).

Finally, the Archaea had scarce representation in our dataset, even though the use of universal 16S rRNA should allow to potentially record a high number of archeal reads. However, in this study, we only detected archaea from the Euryarchaeota, class Thermoplasmata and Nitrososphaeria, Thaumarchaeota from the Group 1.1, and Nanoarchaeia from the Woesearchaeia Class. The same archaeal groups were detected when analyzing the sequences that were retrieved when using



Archaeal-biased primers, suggesting a low abundance and diversity of these microorganisms in the SPS-RA.



## 2.5 CONCLUSIONS

Climatic conditions not only influence plant development but also affect the root rhizosphere, which is an ecosystem interface between the plant and soil that is directly influenced by plant roots (Philippot et al. 2013). This soil zone is inhabited by microorganisms, which can be particularly sensitive to environmental changes (Egamberdieva et al. 2008; Mendes et al. 2011). Microbial members of the rhizosphere do have very relevant roles in plant growth and can also affect the broader plant communities (Mendes et al. 2013; Philippot et al. 2013). Furthermore, the microbiota of the rhizosphere can play an integral role in virtually all soil processes.

It is therefore fundamental to incorporate the microbial fraction in plans for the conservation of biodiversity and sustainable production in agroforestry systems. Microbial communities in soil remains the largest underexplored biota on earth, even though they are known to serve as true indicators of soil health. Several authors have claimed that increased microbial diversity in soil will enhance the decomposition of organic matter, nitrogen fixation, absorption of essential minerals, and protection against soil-borne plant pathogens (Ahemad and Kibret 2014; Ling et al. 2014; Manzoni et al. 2012; Marschner et al. 2011; Schimel and Schaeffer 2012). However, these results should be taken with caution. For example, in this investigation, the maximum values for microbial diversity were correlated (+ or -) with the main soil indicators, but not with specific grass productivity. Therefore, it is now necessary to research the patterns of microbial diversity on a longer time scale, especially in those systems that are subject to large fluctuations in climatic conditions. Future investigations of agroforestry should also have the goal of developing tools and technologies that are site specific, that promote the ecological integration (belowground and aboveground) of agricultural, forestry, and livestock to soils, landscapes and climates of the area.

Recently, there has been an increase in the use of microbial inoculants in soil to promote the long term sustainability of the agroecosystem (Santos 2019). These microbial consortia should be selected according to tree species, geographic location, and respective climatic conditions. Ever since the arrival of massive sequencing techniques, there has been increasing understanding of the dynamics of microbial communities in soils with different climatic conditions. This type of information can be very useful for the selection and design of introduced microbial consortia that will resemble the soil microbiome.



Both fungal and bacterial communities must be considered in order to fully investigate biological interactions in the soil, the biogeochemical cycles, and the production and cycling of microbial biomass, which affect virtually all soil related aspects of sustainable SPS production. Soil microbial sequencing, along with traditional microbiology and biogeochemical measurements are therefore essential to understand these highly complex communities, and vital for silvo-agricultural production and biodiversity conservation, as well as their integrated effect on the sustainable use of native forests.



## 2.6 REFERENCES

- Ahemad M, Kibret M (2014) Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *J. King Saud Univ Sci* 26:1–20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>.
- Alfaro M, Dube F, Zagal E. (2018) Soil quality indicators in an Andisol under different tree covers in disturbed *Nothofagus* forests. *Chil. J Agric Res*, 78(1):106-116. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392018000100106>.
- Amaral-Zettler LA, McCliment EA, Ducklow HW, Huse S. M (2009) A method for studying protistan diversity using massively parallel sequencing of V9 hypervariable regions of small-subunit ribosomal RNA. *Genes. PLoS ONE* 4(7):e6372. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006372>.
- Apprill A, McNally S, Parsons R, Weber L (2015) Minor revision to V4 region SSU rRNA 806R gene primer greatly increases detection of SAR11 bacterioplankton. *Aquat Microb Ecol* 75(2):129–137. <https://doi.org/10.3354/ame01753>
- Bapiri A, Bååth E, Rousk J (2010) Drying-rewetting cycles affect fungal and bacterial growth differently in an arable soil. *Microb Ecol* 60(2):419-428. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9723-5>
- Blaser WJ, Oppong J, Hart SP (2018) Climate-smart sustainable agriculture in low-to-intermediate shade agroforests. *Nat Sustain* 1:234–239. <https://doi.org/10.1038/s41893-018-0062-8>

- Bouma J (2019) Soil security in sustainable development. *Soil Syst.* 3, 5. <https://doi.org/10.3390/soilsystems3010005>.
- Bünemann EK, Bongiorno G, Ba Z, Creamer RE, De Deyn G, de Goede R Fleskens L, Geissen V, Kuyper TW, Mäder P, Pulleman M, Sukkel W, van Groenigen JW, Brussaard L (2018). Soil quality – a critical review. *Soil Biol Biochem* 120:105–125. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>
- Brody JR, Kern SE (2004). Sodium boric acid: a Tris-free, cooler conductive medium for DNA electrophoresis. *Biotechniques* 36(2):214-216. <https://doi.org/10.2144/04362bm02>
- Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJ, Holmes SP (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods* 13(7):581-583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Carnovale D, Bissett A, Thrall PH, Baker G (2019). Plant genus (*Acacia* and *Eucalyptus*) alters soil microbial community structure and relative abundance within revegetated shelterbelts. *Appl Soil Ecol* 133:1– 11. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.09.001>
- Castillo MS, Tiezzi F, Franzluebbbers AJ (2020) Tree species effects on understory forage productivity and microclimate in a silvopasture of the Southeastern USA. *Agric Ecosyst Environ* 295:106917. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.106917>
- Cernava T, Erlacher A, Aschenbrenner IA (2017) Deciphering functional diversification within the lichen microbiota by meta-omics. *Microbiome* 5:82. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0303-5>

Chao A, Gotelli NJ, Hsieh TC, Sander EL, Ma KH, Colwell RK, Ellison AM (2014) Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. *Ecological Monographs*, 84, 45–67. <https://doi.org/10.1890/13-0133.1>

Cubbage F, Balmelli G, Bussoni A, Noellemeyer E, Pachas AN, Fassola H, Colcombet L, Rossner B, Frey G, Dube F, de Silva ML (2012) Comparing silvopastoral systems and prospects in eight regions of the world. *Agrofor. Syst* 86(3):.303-314. <https://doi.org/10.1007/s10457-012-9482-z>

Dube F, Espinosa M, Stolpe NB, Zagal E, Thevathasan NV, Gordon AM (2012) Productivity and C storage in silvopastoral systems with *Pinus ponderosa* and *Trifolium* spp., plantations and pasture on an Andisol in Patagonia, Chile. *Agrofor. Syst* 86:113–128. <https://doi.org/10.1007/s10457-011-9471-7>

Dube F, Thevathasan NV, Zagal E, Gordon AM, Stolpe NB, Espinosa M (2011). Carbon sequestration potential of silvopastoral and other land use systems in the Chilean Patagonia. In: Kumar BM, Nair PKR. (Eds.) *Carbon Sequestration Potentials of Agroforestry Systems: Opportunities and Challenges. Advances in Agroforestry 8*, Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp 101-127. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1630-8\\_6](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1630-8_6)

Dube F, Sotomayor A, Loewe V, Müller-Using B, Stolpe N, Zagal E, Doussoulin M (2016) Silvopastoral systems in temperate zones of Chile. In: Peri PL, Dube F, Varella A (Eds.), *Silvopastoral Systems in Southern South America. Advances in Agroforestry 11*, Springer, Dordrecht, The Netherlands, 270 pp.

Egamberdieva D, Kamilova F, Validov S, Gafurova L, Kucharova Z, Lugtenberg B (2008) High incidence of plant growth-stimulating bacteria associated with the rhizosphere of wheat grown on salinated soil in Uzbekistan. *Environ Microbiol* 10(1):1-9. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01424.x>

FAO & UNEP (2020) *The State of the World's Forests 2020 Forests, biodiversity and people*. Rome, Italy

Fierer N (2017) Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nat Rev Microbiol* 15:579–590. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.87>

Fiore-Donno AM, Richter-Heitmann T, Degrune F, Dumack K, Regan KM, Marhan S, Bonkowski M (2019) Functional traits and spatio-temporal structure of a major group of soil protists (Rhizaria: Cercozoa) in a temperate grassland. *Front Microbiol* 10:1332. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01332>

Franzluebbers AJ, Stuedemann JA, Schomberg HH, Wilkinson SR (2000) Soil organic C and N pools under long-term pasture management in the Southern Piedmont USA. *Soil Biol. Biochem* 32:469–478. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00176-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00176-5)

Fritz S, See L, McCallum I, You L, Bun A, Moltchanova E, Duerauer M, Albrecht F, Schill C, Perger C et al (2015) Mapping global cropland and field size. *Global Change Biol* 21: 1980–1992. <https://doi.org/10.1111/gcb.12838>.

Gentile RM, Martino DL, Entz MH (2005) Influence of perennial forages on subsoil organic carbon in a long-term rotation study in Uruguay. *Agric Ecosyst Environ* 105:419–423. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2004.05.002>

- Grahmann K, Verhulst N, Buerkert A, Ortiz-Monasterio I, Govaerts B (2013) Nitrogen use efficiency and optimization of nitrogen fertilization in conservation agriculture. *CABS reviews* 8 (53): 1-19. <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR20138053>
- Grahmann K, Dellepiane VR, Terra JA, Quincke JA (2020) Long-term observations in contrasting crop-pasture rotations over half a century: Statistical analysis of chemical soil properties and implications for soil sampling frequency. *Agric Ecosyst Environ* 287:106710. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.106710>
- Heinemann K, Kitzberger T, Veblen T (2000) Influences of gap microheterogeneity on the regeneration of *Nothofagus pumilio* in a xeric old growth forest of northwestern Patagonia, Argentina. *Can J For Res*, 30: 25-31. <https://doi.org/10.1139/x99-181>
- Jose S, Walter D, Kumar BM (2019) Ecological considerations in sustainable silvopasture design and management. *Agrofor. Syst* 93(1): 317-331. <https://doi.org/10.1007/s10457-016-0065-2>
- Kielak AM, Barreto CC, Kowalchuk GA, van Veen JA, Kuramae EE (2016) The Ecology of Acidobacteria: Moving beyond Genes and Genomes. *Front Microbiol* 7:744. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00744>
- Kundu S, Bhattacharyya R, Prakash V, Ghosh BN, Gupta HS (2007) Carbon sequestration and relationship between carbon addition and storage under rainfed soybean–wheat rotation in a sandy loam soil of the Indian Himalayas. *Soil Tillage Res* 92:87–95. <https://doi.org/10.1016/j.still.2006.01.009>

- Kuo A, Kohler A, Martin FM, Grigoriev IV (2014) Expanding genomics of mycorrhizal symbiosis. *Front Microbiol* 5:582. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00582>
- Lal R (2011) Sequestering carbon in soils of agro-ecosystems. *Food Policy* 36:33–39. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2010.12.001>
- Lara A, Soto D, Armesto J, Donoso P, Wernl C, Nahuelhual L, Squeo F (2003) Componentes Científicos Clave para una Política Nacional Sobre Usos, Servicios y Conservación de los Bosques Nativos Chilenos. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile
- Lawson G, Dupraz C, Watté J (2019) Can silvoarable systems maintain yield, resilience, and diversity in the face of changing environments? In: Lemaire (Eds) *Agro-Ecosystem Diversity: Impact on Food Security and Environmental Quality*, Elsevier 145-168
- Lieffers V, Messier C, Gendron F, Stadt K, Comeau P (1999) Predicting and managing light in understory of boreal forests. *Can J For Res* 29: 796-811. <https://doi.org/10.1139/x98-165>
- Lin B (2007) Agroforestry management as an adaptive strategy against potential microclimate extremes in coffee agriculture. *Agric For Meteorol.* 144:85–94. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2006.12.009>
- Ling N, Sun Y, Ma J, Guo J, Zhu P, Peng C, Yu G, Ran W, Guo S, Shen Q (2014) Response of the bacterial diversity and soil enzyme activity in particle-size fractions of Mollisol after different fertilization in a long-term experiment. *Biol Fertil Soils* 50, 901–911. <https://doi.org/10.1007/s00374-014-0911-1>.

- Loveland P, Webb J (2003) Is there a critical level of organic matter in the agricultural soils of temperate regions: a review. *Soil Till Res* 70(1):1-18. [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(02\)00139-3](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(02)00139-3)
- Mallott EK, Malhi RS, Amato KR (2019) Assessing the comparability of different DNA extraction and amplification methods in gut microbial community profiling. *Access Microbiology* 1:(7)
- Manzoni S, Schimel JP, Barbara S (2012) Responses of soil microbial communities to water stress: results from a meta-analysis. *Ecol* 93:930–938. <https://doi.org/10.1890/11-0026.1>
- Marschner P, Crowley D, Rengel Z (2011) Rhizosphere interactions between microorganisms and plants govern iron and phosphorus acquisition along the root axis - model and research methods. *Soil Biol Biochem* 43:883–894. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.01.005>
- Mendes R, Kruijt M, De Bruijn I, Dekkers E, van der Voort M, Schneider JH, Raaijmakers JM (2011) Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *J Sci* 332(6033):1097-1100. <https://doi.org/10.1126/science.1203980>
- Mendes R, Garbeva P, Raaijmakers JM (2013) The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev* 37 (5):634–663. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>
- Miranda A, Altamirano A, Cayuela L, Lara A, González M (2017) Native forest loss in the Chilean biodiversity hotspot: revealing the evidence. *Reg Environ Change* 17(1):285-297. <https://doi.org/10.1007/s10113-016-1010-7>



Naether A, Foesel BU, Naegele V, Wüst PK, Weinert J, Bonkowski M, Alt F, Oelmann Y, Polle A, Lohaus G, Gockel S, Hemp A, Kalko EKV, Linsenmair KE, Pfeiffer S, Renner S, Schöning I, Weisser W.W, Wells K, Fischer M, Overmann J, Friedrich MW (2012) Environmental factors affect acidobacterial communities below the subgroup level in grassland and forest soils. *Appl Environ Microb* 78:7398–7406. <https://doi.org/10.1128/aem.01325-12>.

Ortiz, J, Dube F, Neira P, Panichini M, Stolpe NB, Zagal E, Martínez-Hernández PA (2020) Effects of a newly established silvopastoral system over soil quality in an old, degraded Roble (*Nothofagus obliqua*) forest in the Andes mountain range, south central Chile. Sustainability (under review).

Parada AE, Needham DM, Fuhrman JA (2016) Every base matters: assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. *Environmental Microbiology* 18(5):1403–1414. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13023>

Rogelj J, Shindell D, Jiang K, Fifita S, Forster P, Ginzburg V, Handa C, Kheshgi H, Kobayashi S, Kriegler E (2018) Mitigation Pathways Compatible With 1.5 °C in the Context of Sustainable Development. In: Masson-Delmotte V, Pörtner PZ, Roberts HO, (eds) *Global Warming of 1.5 °C An IPCC Special Report on the Impacts of Global Warming of 1.5 °C above Pre-Industrial Levels and Related Global Greenhouse Gas Emission Pathways, in the Context of Strengthening the Global Response to the Threat of Climate Change*. World Meteorological Organization. Geneva, Switzerland

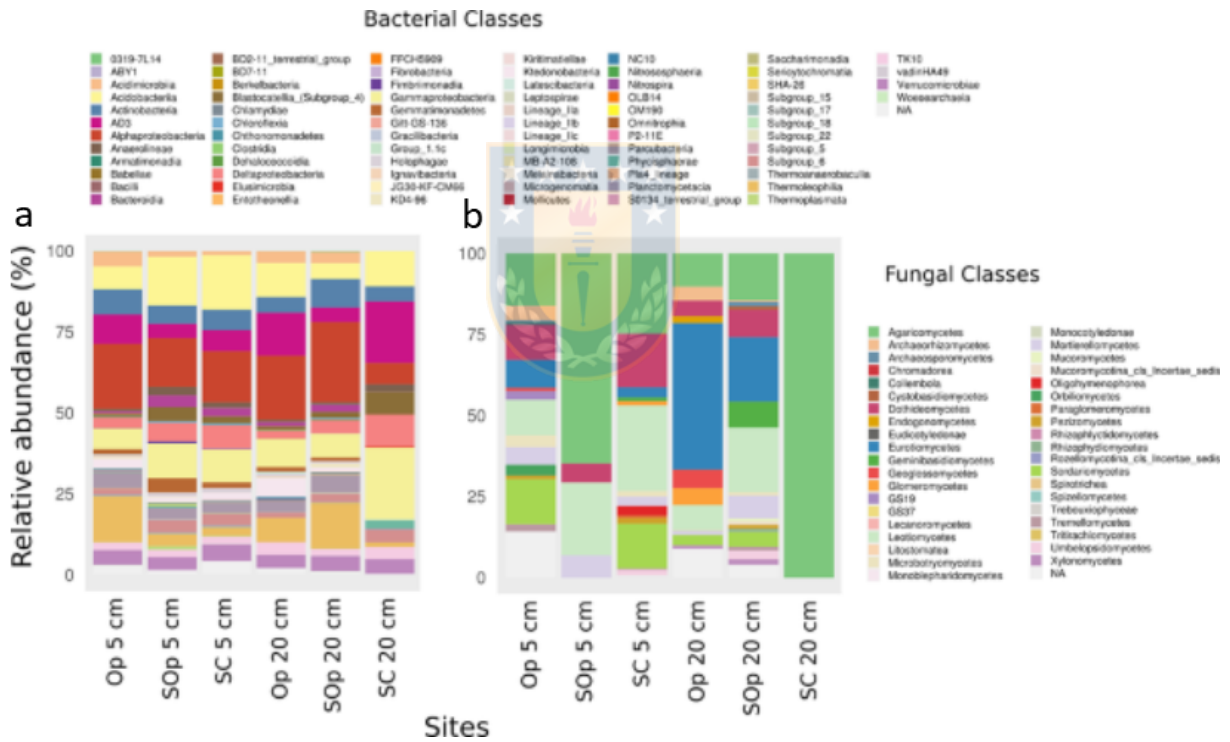
- Philippot L, Raaijmakers J, Lemanceau P (2013) Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nat Rev Microbiol* 11:789–799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>
- Read DJ, Perez-Moreno J (2003) Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems – a journey towards relevance? *New Phytol* 157:475–492. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00704.x>
- San Martín P (2014) Reserva de la Biosfera Corredor Biológico Nevados de Chillán – Laguna del Laja: de la amenaza de la extinción al desarrollo sustentable. In: Moreira-Muñoz A, Borsdorf A (eds) *Reservas de la Biosfera de Chile: Laboratorios para la Sustentabilidad*. Academia de Ciencias Austriaca, Pontificia Universidad Católica de Chile, Instituto de Geografía, Santiago, serie Geolibros 17: 146–160
- Santos MS, Nogueira MA, Hungria M (2019). Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. *AMB Express* 9(1):205. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0932-0>
- Schimel JP, Schaeffer SM (2012) Microbial control over carbon cycling in soil. *Front Microbiol* 3:1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00348>
- Scherr SJ, Shames S, Friedman R (2012) From climate-smart agriculture to climate-smart landscapes. *Agric Food Secur* 1:12. <https://doi.org/10.1186/2048-7010-1-12>
- Silva MRSS, de Castro AP, Krüger RH, Bustamante M (2019) Soil bacterial communities in the Brazilian Cerrado: Response to vegetation type and management. *Acta Oecol* 100:103463. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2019.103463>

- Takai K, Horikoshi K (2000) Rapid detection and quantification of members of the archaeal community by quantitative PCR using fluorogenic probes. *Appl Environ Microbiol* 66:5066–5072. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.11.5066-5072.2000>
- Tedersoo L, May TW, Smith ME (2010) Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20:217–263. <https://doi.org/10.1007/s00572-009-0274-x>
- Tognetti R, Minotta G, Pinzauti S, Michelozzi M, Borghetti M (1998) Acclimation to changing light conditions of long-term shadegrown beech (*Fagus sylvatica*) seedling of different geographic origins. *Trees* 12: 326-333. <https://doi.org/10.1007/PL00009719>
- Wang Z, Binder M, Schoch CL, Johnston PR (2006) Evolution of helotialean fungi (Leotiomycetes, Pezizomycotina): a nuclear rDNA phylogeny. *Mol. Phylogenet. Evol* 41:295–312. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.05.031>
- White T, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninski JJ, White TJ (eds) *PCR-protocols a guide to methods and applications*. San Diego: Academic press, 315-322.
- Vaast P, Harmand JM, Rapidel B, Jagoret P, Deheuvelds O (2016) Coffee and Cocoa Production in Agroforestry A Climate-Smart Agriculture Model. In: Torquebiau (ed) *Climate Change and Agriculture Worldwide*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 209–224

Yao H, He Z, Wilson MJ, Campbell CD (2000) Microbial Biomass and Community Structure in a Sequence of Soils with Increasing Fertility and Changing Land Use. *Microb Ecol* 40:223–237. <https://doi.org/10.1007/s002480000053>

Zonta A. (2013) Guía de Capacitación en Agroforestería. Curso: Implementación y Manejo de Sistemas Agroforestales en la Amazonia. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. <http://www.fao.org/3/a-as953s.pdf>

## 2.7 APENDIX



**Fig. A1 Relative abundances of Bacterial and Fungal Classes in the silvopastoral system located in Ranchillo Alto.** A.) Relative abundance of Bacteria. B.) Relative abundance of Fungi. Op: Open. SOP: Semi-open, SC: Semi-closed.

## CAPÍTULO III

### **Contribuciones de Sistemas Silvopastorales bajo distintas coberturas dosel de *Nothofagus obliqua* maduro a la Agricultura Adaptada al Clima.**

Pablo Neira, Juan Ortiz, Carlos Henríquez, Neal Stolpe, Francis Dube

Artículo en preparación

#### **Resumen**

La creciente demanda de madera y productos no maderables de los bosques nativos en Chile y el pastoreo de ganado han aumentado la tasa de degradación de los ecosistemas boscosos. La tala no sistémica y el sobrepastoreo del ganado pueden modificar las coberturas arbóreas y alterar la cantidad y calidad de la materia orgánica que ingresa al suelo y, por ende, su calidad general. El objetivo de este trabajo es determinar el efecto del grado de cobertura arbórea sobre la calidad de suelo, producción silvoagropecuaria y conservación de la biodiversidad en un Sistema Silvopastoril bajo un bosque de *Nothofagus obliqua* sobremaduro, así como su efecto integrado en el uso sustentable del bosque nativo. Resultados preliminares basados en el análisis de distintos indicadores como el carbono orgánico del suelo (SOC) y el nitrógeno (N), indican que existen diferencias tanto en la calidad del suelo como en los procesos microbianos en 3 tratamientos distintos de un sistema silvopastoril con cubiertas forestales semi cerradas, semi abiertas y abiertas. Las diferencias en la calidad y cantidad del sustrato (entrada de materia orgánica del suelo, acumulación de hojarasca y rastrojos forrajeros), así como en la distribución del suministro de carbono al ecosistema, varía según a cobertura de dosel, por lo que hipotetizamos que si cambian estas condiciones de suelo, se espera que las alteraciones de las coberturas arbóreas alteren las características fisicoquímicas del suelo, y a su vez, la disponibilidad de pradera y la calidad de hábitat para distintas especies que cumplen funciones biológicas relevantes en la interacción suelo-planta, como son los microorganismos, los insectos y las aves. Este tipo de información permitirá generar conocimiento principalmente para la planificación de un uso sostenible de las prácticas en los sistemas silvopastoriles.

**Palabras Claves:** Bosque nativo, Silvopastoril, Agricultura adaptada al clima, *Nothofagus*, Conservación.

### 3.1 INTRODUCCIÓN

Las actividades humanas han alterado radicalmente el medio ambiente. El dióxido de carbono y otros gases de efecto invernadero emitidos a la atmósfera por la producción de energía, la agricultura, el transporte y otras fuentes aumentan la temperatura ambiente, cambian la cantidad y tiempo de precipitación, y afectan la frecuencia de eventos climáticos extremos (IPCC,2014). . Áreas extensas de la tierra se han transformado, a tierras de cultivo que ahora cubren un tercio de la superficie de la Tierra (Fritz,2015) y más especies están en peligro de extinción (IPBES,2019). Esta intensificación agrícola durante la segunda mitad del siglo XX ha tenido uno de los efectos más profundos sobre la pérdida de biodiversidad a escala global (Gámez-Virúes et al.,2015; Green et al., 2005; Matson et al., 1997; Tilman et al., 2001), una pérdida que a su vez puede alterar el funcionamiento de los ecosistemas (Carmona et al., 2017; Reich et al., 2012).

En un área finita como lo es el planeta tierra, la agricultura constituye un desafío para la sostenibilidad, ya que implica tomar decisiones para aumentar la producción mientras se mantiene la biodiversidad y servicios ecosistémicos (Zhang et al, 2007) aumentando la eficiencia global del uso de la tierra. Por último, los agricultores y otros en el sector agrícola se enfrentarán con la doble tarea de contribuir a las reducciones globales de dióxido de carbono y otras emisiones de gases de efecto invernadero, mientras que tienen que hacer frente a un clima ya cambiante (Rosenzweig, 2007).

Existen nuevas estrategias como la agricultura adaptada al clima (Climate Smart Agriculture, CSA), que busca transformar y reorientar el desarrollo de sistemas agrícolas bajo la nueva realidad de cambio climático (Lipper 2014), con el objetivo de mejorar simultáneamente la seguridad alimentaria y los medios de vida rurales, facilitar la adaptación al cambio climático y proporcionar beneficios de mitigación. Sin embargo, la agricultura adaptada al clima requiere acciones más allá de la escala de manejo de un agricultor. Apuntando a un enfoque ecosistémico, promover la participación comunitaria y a trabajar a escala de paisaje. Entendiendo como paisaje una unidad de territorio compuesta por múltiples elementos o parches que dan origen a un área espacialmente heterogénea (FAO, 2010)

Esta necesidad de ampliar y hacer sostenible la provisión de servicios ambientales ha dado lugar, en diversos países, a la búsqueda e implementación de esquemas novedosos de conservación y

gestión, los cuales integran simultáneamente objetivos económicos, productivos, ambientales y sociales (Zarrilli 2007).

Como parte del programa de la Unesco, Hombre y Biosfera (MAB, por sus siglas en inglés), se seleccionaron lugares geográficos representativos de los diferentes hábitats del planeta. Estos lugares o áreas se conocen como Reservas de la Biosfera. En cada una de ellas se fomentan soluciones para conciliar la conservación de la biodiversidad con su uso sostenible, el desarrollo económico, la investigación y la educación (Vivanco,2019). Para esto utiliza una ordenación integrada de las tierras, los cuerpos de aguas y los recursos vivos, esta ordenación está dividida en tres zonas interrelacionadas: zona núcleo, zona tampón y zona de transición. Esta zonificación debe asegurar que las Reservas de la Biosfera combinen efectivamente la conservación, el uso sostenible de los recursos y la generación de conocimiento a través de la zonificación integrada y la gestión colaborativa (Araya,2009).

Los Sistemas agroforestales (SAF) son frecuentemente señalados como una solución a los problemas de degradación de la tierra y del agua, además de tener el potencial de contribuir a la conservación de la biodiversidad mediante la creación o mantención de hábitat para las especies, proponiendo a los SAF para su uso en zonas amortiguación y transición, como hábitats productivos para dichas especies (Donald, 2004; Mas y Dietsch, 2004; Harvey y Villalobos, 2007.; Mendieta y Rocha ,2007). Los sistemas silvopastoriles (SSP) corresponden a un tipo de SAF que combinan los árboles y la producción de pasto y/o forraje para la ganadería, los cuales pueden establecerse mediante la adición de árboles a los pastizales, o por el adelgazamiento de una masa forestal existente, y añadir o mejorar un componente de forraje (Cubbage et al. 2012; Jose et al. 2018). Los árboles son gestionados por el valor y uso de la madera, al mismo tiempo que proporcionan refugio para el ganado, reducen el estrés por calor (durante el verano) y mejoran la alimentación y el consumo de agua (Castillo 2010; Lin 2007). En las épocas frías la protección de los árboles reduce el estrés por frío en los animales, permitiendo el mantenimiento de la energía calórica, y ganancia de peso. El pasto y la ganadería proporcionan ingresos a corto plazo, al mismo tiempo que la cosecha de trozas proporciona un mayor rendimiento económico global de la tierra (Nair et al. 2009; Peri et al. 2012).

Por lo tanto, la contribución de los SSP al futuro de la agricultura adaptada al clima necesita entender no solo el balance de sus costos y beneficios. Primero, requiere mediciones simultáneas de los múltiples efectos de los sistemas silvoagrícolas para identificar las compensaciones inherentes a su implementación. Y segundo, requiere entender cómo los costos y beneficios se acumulan con los cambios en la cobertura arbórea, para que se puedan implementar con niveles de sombra que maximicen los beneficios sociales, ambientales y económicos, minimizando los costos.

La Reserva de la Biosfera “Corredor Biológico Nevados de Chillán - Laguna del Laja corresponde a un *hotspot* de alta biodiversidad y zona de transición vegetacional donde confluyen ecosistemas de la Ecoregión del Bosque Esclerófilo de la zona central y del bosque Templado austral en una zona con alta densidad poblacional y fragmentación ambiental, a raíz de intervenciones para la agricultura, ganadería y silvicultura intensiva (San Martín 2014). La localidad de Ranchillo Alto, zona de transición de la reserva, posee una extensión de 635 ha., ha sufrido prácticas de sobre talaje, sobre pastoreo y en general, explotación excesiva, afectando diversos sectores en términos de pérdidas de suelo y cubierta vegetal (Dube et al. 2016). Donde se ha implementado un SSP de 5 años bajo tres porcentajes de cobertura de dosel forestal (abierto, semi abierto y semi cerrado) de bosque nativo de *Nothofagus obliqua* sobremaduro, con el fin de producir forraje para el alimento de ganado.

El objetivo de este trabajo es determinar los componentes presentes en el establecimiento de un SSP, como una alternativa CSA, en donde se espera que la producción tenga una correlación positiva con los beneficios ambientales obtenidos. Para esto, se propone cuantificar la efectividad de las praderas silvopastoriles a lo largo de los gradientes de la cobertura dosel arbóreo para determinar si, y a qué niveles de cobertura de árboles, estos sistemas pueden ser climáticamente inteligentes y sostenibles en el uso del bosque nativo como matriz productiva y de conservación. Respondiendo así preguntas como:

¿Los SSP permiten la adaptación y mitigación al cambio climático?

¿Pueden los SSP mantener la producción agrícola en bosques templados de la cordillera de los andes?

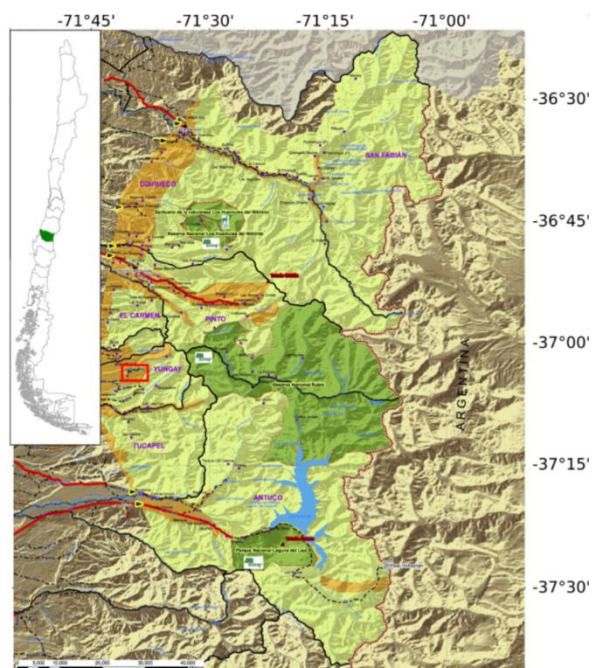
¿Qué tan efectivos son los SSP en la conservación de la biodiversidad?



## 3.2 MATERIALES Y MÉTODOS.

### 3.2.1 Sitio de estudio

Descripción del sitio de estudio El área de estudio se encuentra en el predio Ranchillo Alto, Comuna de Yungay, Región del Biobío, Chile (Lat. 37,1167° S, Long. 72,0167° O) administrada por la Universidad de Concepción, se inserta en la zona de amortiguamiento de la Reserva de la Biosfera de la UNESCO del Corredor Biológico Nevados de Chillán - Laguna del Laja (San Martín 2014). La precordillera de la región de Ñuble tiene un clima mediterráneo templado húmedo con una marcada temporada de invierno, con temperaturas promedio de 13.5 ° C que pueden superar los 25 ° C en verano. Se registran precipitaciones superiores a 3.000 mm en un año normal. Las nevadas ocurren principalmente entre mayo y septiembre, alcanzando temperaturas bajas y heladas frecuentes (Rivas et al. 2009). Las especies de árboles dominantes de la propiedad son *Nothofagus dombeyi* (Coigues) seguido de *N. obliqua* (Robles). Las características del sitio se describen ampliamente en Alfaro et al. (2018) y Ortiz et al. (2020) (Tabla 1). El sitio de RA ha estado bajo una fuerte presión antrópica hasta 2013, donde los usos continuos de la tierra incluyen el pastoreo y la cría de ganado, y la cosecha de árboles para leña, carbón y madera aserrada. Estos procesos amenazan fuertemente la biodiversidad general, la calidad del suelo y la existencia del bosque en sí (Dube et al.2016).



**Figura 1. Sitio de estudio en la propiedad estatal de Ranchillo Alto.** Sistema silvopastoril Ranchillo Alto está ubicado en la Región de Ñuble, Chile (37 ° 04 'S, 71 ° 39' W). Se inserta en el Corredor Biológico Nevados de Chillán-Laguna del Laja, Reserva de la Biosfera de la UNESCO. Las áreas verdes claras representan zonas de transición. El cuadrado rojo en el lado izquierdo muestra la ubicación de Ranchillo Alto. Inserto: Mapa de Chile, donde la región de Ñuble aparece en verde oscuro. Adaptado de EPIC-Chile, 2020.

### 3.2.2 Diseño experimental

Un sistema silvopastoril con pradera mejorada se implementó en marzo 2016 en un bosque de *Nothofagus obliqua* disturbado por procesos de tala y sobrepastoreo. Las especies sembradas consistieron en: *Lolium multiflorum westerwoldicum*: 4 kg ha<sup>-1</sup>; *Phalaris acuatia*: 2 kg ha<sup>-1</sup>; *Lolium perenne*, *Festuca arundinacea* y *Dactylis glomerata*: 15 kg ha<sup>-1</sup> ; *Trifolium incarnatum*, *T. subterraneum* y *T. vesiculosum*: 6 kg ha<sup>-1</sup> . Aplicación de fertilizantes (Nitrógeno-Fósforo-Potasio 150-200-100): Supernitro: 100 kg ha<sup>-1</sup>, Superfosfato triple: 88 kg/ha, Muriato de potasio: 25 kg ha<sup>-1</sup>. El sistema cuenta con 9 parcelas, 3 parcelas (réplicas) aleatoriamente distribuidas bajo tres niveles de cobertura arbórea: Abierto (Op), Semi abierto (SOp), Semi cerrado (SC) (Dube et al. 2016). Para la instalación de las parcelas según cobertura de dosel, se utilizó el instrumento Solariscope SOL 300 (Behling, Alemania), que permite medir la luminosidad indirecta a la altura del sotobosque en los distintos tratamientos. Para cada sitio se midieron entre 15 - 20 puntos al azar y se obtuvieron 7 fotografías hemisféricas según tratamiento. (Tabla 1)

**Tabla 1.** Información general para cada condición de cobertura arbórea en el sistema Silvopastoril en Ranchillo Alto. Op: abierto; SOp: semiabierto; SC: Semi-cerrado. DAP: diámetro a la altura del pecho; HT: altura total; N ° ha<sup>-1</sup>: Árboles por hectárea; m<sup>2</sup>ha<sup>-1</sup>: metros cuadrados por hectárea.

Cobertura Arboea	Descripción	Especies	N (arbha-1)	DAP (cm)	AB (m <sup>2</sup> ha-1)	HT (m)
OP	Suelo con 85-95% de luz externa (promedio de zona)	<i>Nothofagus obliqua</i> , <i>Chusquea quila</i>	258	35,8	20,7	20
SOp	Suelo con 65-75% de luz externa (promedio de zona)	<i>Nothofagus obliqua</i> , <i>Nothofagus dombeyi</i>	134	32,83	16,03	26
SC	Suelo con 45-55% de luz externa (promedio de zona)	<i>Nothofagus obliqua</i> , <i>Lomatia hirsuta</i>	60	27,55	6,98	14

### 3.2.3 Medición parámetro microclimáticos

La humedad y la temperatura del suelo se midieron a dos profundidades del suelo, 0-5 y 5-20 cm. Las mediciones se realizaron cada 2 h durante un período de 12 meses de 2016 a 2018, utilizando sensores de humedad del suelo EC-20 y sensores de temperatura ECT respectivamente, conectados a registradores de datos Em5b de cinco canales (Decagon Devices, WA, EE. UU.). Se instaló un registrador de datos por tratamiento, con un total de tres.

### 3.2.4 Determinación de Carbono en biomasa

Según el inventario forestal para cada tratamiento se obtuvo la cantidad de árboles por hectárea y sus parámetros dasométricos como diámetro a la altura del pecho (DAP) y altura total (HT), con estos datos y según las funciones alométricas para la determinación de existencias de carbono forestal para la especie *Nothofagus obliqua* disponibles en la Unidad de Cambio Climático de CONAF (2013). Se utilizó la función coeficientes de regresión modelo BA (biomasa aérea en peso seco) con dos variables independientes (DAP: Diámetro a la altura del pecho; HT: Altura Total) (1), para determinar el contenido de biomasa de C en cada tratamiento. Para luego calcular el porcentaje de C en el fuste.

$$1. \quad BA \text{ (kg)} = -202,182 + \exp(4,7384 + 0,0344919 * DAP + 0,0314178 * HT)$$

### **3.2.5 Disponibilidad de pradera**

La pradera se cosecho en enero de 2017 y 2018, a una altura de 5 cm sobre el suelo, de un transecto de 50 m de largo y 0,5 m de ancho para cada tratamiento. Cada muestra se colocó en bolsas de papel y se pesó in situ con una balanza de campo (marca Digitron, modelo Roble 10-j). Se obtuvieron submuestras de 200 g de cada muestra, se secaron en un horno de aire forzado (Kotterman) a 65 ° C hasta un peso constante. La masa seca total (MS) de cada componente se calculó multiplicando la masa fresca total (FM) por el contenido de humedad de la submuestra (%). La MS se relacionó con el peso cosechado del transecto para obtener el rendimiento de la pradera. Para evaluar el efecto de diferentes cierres de dosel en el rendimiento de la pradera, se utilizó un diseño factorial con dos factores, uno de cada tres niveles de sombra (Op, SOp y SC) y el tiempo de evaluación en dos niveles (2017, 2018).

### **3.2.6 Muestreo de suelos y extracción de ADN.**

Se obtuvieron muestras de suelo de las parcelas silvopastoriles con tres cubiertas de sombra diferentes en enero de 2019. Se extrajo ADN de 250 µg de suelo de cada muestra (3 tratamientos, 2 profundidades) usando el kit de extracción de ADN de suelo Macherey nagel (laboratorios Macherey nagel, Alemania), de acuerdo con las instrucciones de fabricación. La integridad del ADN se verificó por electroforesis en un gel de agarosa de acuerdo con Brody y Kern (2004) y la concentración se cuantificó con un espectrofotómetro Thermo Scientific NanoDrop™ 3300. Las muestras de ADN fueron liofilizadas y almacenadas a 4 ° C hasta la secuenciación.

### **3.2.7 Análisis de Secuenciación**

Todas las muestras analizadas se procesaron utilizando la tecnología fluidigm (Mallot et al.2019). Este método permite combinar múltiples cebadores usando una plantilla de ADN genómico única. Utilizamos cebadores universales para bacterias (Apprill et al. 2015; Parada et al. 2016): F515 (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3 ') y 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'); Archaea (Takai y Horikoshi 2000): Arch349F (5'-GYGCASCAGKCGMGAAW-3 ") y Arch806R (5'-GYGCASCAGKCGMGAAW-3"); Eukarya (Amaral-Zettler et al. 2009): Euk1391f (5'-GTACACACCGCCCGTC-3 ') y EukBr (5'-TGATCCTTCTGCAGGTTACCTAC-3'); Hongos (White et al. 1990): ITS3 (5'-GGACTACVSGGGTATCTAAT-3 ') - ITS4 (5'-

TCCTCCGCTTATTGATATGC-3’). La secuenciación se realizó en una sola ejecución 2x250 illumina Hiseq2000. Todas las muestras se analizaron utilizando el paquete dada2 (v1.11.3; Callahan et al.2016) implementado en R (v3.4.4). Los cebadores se eliminaron usando cutadapt v1.2.1 y las secuencias de cada par se recortaron a 220 y 190 bases, respectivamente, para bacterias, arqueas y hongos, y a 100 bases para Eukarya. Las lecturas se filtraron (maxEE = 1, maxN = 0, truncQ = 11, rm.phix = TRUE) y las variantes de secuencia de amplicón se dedujeron de las secuencias no duplicadas. Las quimeras se eliminaron utilizando el método de eliminación de "consenso". La asignación taxonómica se realizó utilizando la base de datos Silva v132 para Bacteria, Archaea y Eukarya, y la base de datos UNITE ITS para hongos (General release dynamic, 2020-02-04). La abundancia relativa de ASV en cada muestra y el análisis de la comunidad se realizaron en el entorno R con el paquete phyloseq. Los gráficos circulares de la abundancia relativa de ASV bacterianos y fúngicos a diferentes niveles taxonómicos se construyeron utilizando el software TUNDRA ([inf.imo-chile.cl/tundra](http://inf.imo-chile.cl/tundra)).

### **3.2.8 Evaluación de biodiversidad**

Para la riqueza de especies arbóreas el año 2019 se registró en todas las parcelas obteniendo 3 réplicas por cobertura midiendo de todos los árboles con DAP > 10cm según Blaser et al (2018) datos personales Luis Cortez. Para el muestreo de hormigas el año 2019 se utilizó la metodología de avistamiento en todas las parcelas, obteniendo 3 réplicas por tratamiento según Leather (2005). Para aves se utilizaron datos de Navarro (com. pers) levantados de cada cobertura en 3 tiempos distintos entre los años 2018 y 2019.

### **3.2.9 Análisis Integrado de Componentes**

Los resultados registrados serán agrupados en 3 ítems para evaluar su desempeño desde la perspectiva de la sustentabilidad y análisis integrado de componentes: i) Producción agroforestal, ii) Adaptación y mitigación al cambio climático iii) Biodiversidad del sistema silvopastoril, según Blazer 2018. Para luego elaborar un análisis integrado de todos los componentes y sus importancias en la sustentabilidad del bosque nativo visualizando sus diferencias a través de un gráfico multivariables para determinar cuáles y cómo se ven afectados los principales componentes. Estos análisis se realizaron en el entorno R versión 3.6.0.

### 3.2.10 Análisis estadísticos

Para las comparaciones de producción de rendimiento, las diferencias entre medias se analizaron con un análisis de varianza (ANOVA) con una prueba HSD de Tukey post-hoc para comparaciones múltiples ( $P < 0.05$ ). Los análisis estadísticos se realizaron con InfoStat / L (FCA-UNC, Argentina).

Para los parámetros climáticos, la tendencia anual se obtuvo utilizando modelos aditivos generalizados con una spline cúbica ( $k = 11$ ). El análisis se realizó en el entorno R (v3.4.4) con el paquete mcgv.

Para la estadística de la biodiversidad, los datos a nivel de muestra se probaron para determinar la normalidad utilizando prueba de Shapiro Wilk y la riqueza de especies se transformó logarítmicamente para lograr una distribución normal. Índices de diversidad se calcularon utilizando el paquete Vegan del entorno R. Cambios en las coberturas de dosel y comunidades biológicas fueron evaluado por análisis de varianza (ANOVA) una prueba de comparaciones múltiples HDS Tuckey's ( $P < 0.05$ ). Para la riqueza de árboles se utilizó el test no paramétrico Krustal-Wallis. Los análisis estadísticos fueron realizados entorno R versión 4.0.1.



### 3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los árboles modifican la estructura biofísica de la tierra, afectando directamente el medio ambiente a múltiples escalas, a partir de procesos que ocurren en la escala de micras inmediatamente debajo del árbol (por ejemplo, agregación del suelo, microorganismos) a aquellos a escala global en la atmósfera (p. ej., cambio climático). El conocimiento de cómo la agroforestería afecta el clima, la hidrología, los ciclos de nutrientes y la biodiversidad es un requisito previo para comprender la mediación agroforestal conexiones entre cambio ambiental y sustentabilidad del bosque nativo

#### **¿Los SSP permiten la adaptación y mitigación al cambio climático?**

La agroforestería regula el microclima a escala de campo, incluido el aire temperatura, radiación solar y velocidad del viento y humedad. (Rosenstock et al.; 2019). En nuestra investigación lo más importante en este punto es que los árboles de sombra amortigüen los climas extremos durante la estación seca, cuando las praderas son más vulnerable al estrés por altas temperaturas y la sequía, y generen temperaturas adecuadas para el desarrollo de las praderas durante el invierno.

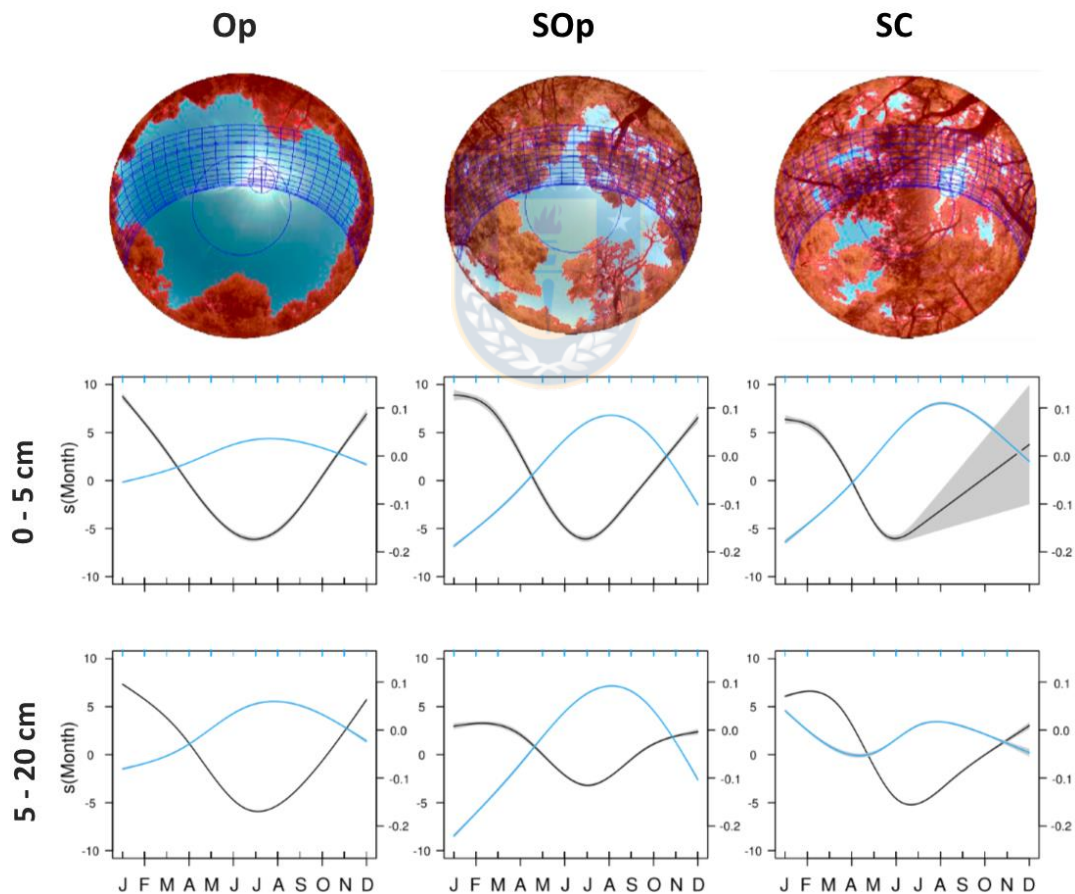
Los SSP presentan resultados positivos y efectos negativos sobre las variables relacionadas con el clima durante la estación seca. El aumento de la cobertura de dosel amortiguó las temperaturas durante la estación seca mientras aumenta la humedad en la estación húmeda, por lo tanto temperaturas altas son más altas en porcentajes de cobertura menor y temperaturas bajas son más bajas con el incremento de la cobertura (Fig.2), similar ocurre con la humedad, por lo que el tratamiento SOp presenta mejores condiciones climáticas durante la temporada húmeda, con temperaturas más cálidas que Op y SC, estableciéndose como el tratamiento más estable o menos fluctuante entre las tres condiciones.

La efectividad de los Sistemas silvopastoriles para la adaptación climática es sitio-específica y dependerá de las principales amenazas de la naturaleza del clima del lugar (régimen hídrico y temperaturas) (Blaser et al. 2018) y cómo se establecen las condiciones de cada sistema, densidad, cobertura arbórea (Tabla 2). Por ahora mientras aumenta la cobertura aumenta la disponibilidad de humedad en temporadas secas, y específicamente la cobertura SOp presenta mejores adaptaciones a los cambios, presentando menos meses con temperaturas bajo 0°C, en la temporada



húmeda, alargando la temporada seca, además de mostrar comportamientos similares en las dos profundidades, ofreciendo mejores condiciones para el cultivo en general.

Al modificar los rodales mediante un manejo silvicultural determinado se influye en los parámetros de luz y humedad del suelo, donde la supervivencia de las plantas dependerá de su capacidad de adaptarse a estos cambios determinado el establecimiento y crecimiento (Tognetti et al. 1998; Heinemann et al. 2000. Lieffers et al. 1999). Resultados que se afirman con otras investigaciones donde los sistemas de silvopastoriles mostraron el potencial para mitigar significativamente la exposición al calor radiante, al tiempo que permitió la penetración directa de la luz solar para el crecimiento del forraje (Castillo, 2020, Lawson et al., 2018).



**Figura 2.** Cubierta arbórea y condiciones climáticas para el Sistema Silvopastoril Ranchillo alto. Arriba: foto hemisférica de la cubierta del dosel de *N. obliqua* obtenida con el instrumento Solariscope ® para determinar el% de cierre del dosel de cada condición. Op: abierto (5-15% de



cobertura). SOp: Semiabierto (25-35% de cobertura). SC: Semi-cerrado (55-65% de cobertura). Panel central: La tendencia microclimática anual para cada condición entre 0-5 cm. Panel inferior, la tendencia microclimática anual para cada condición entre 5-20 cm. La temperatura es de color azul, la tendencia de la humedad fue de color azul claro. Se ajustaron curvas durante todo el año utilizando modelos aditivos generalizados (gam) en el entorno R.

Según Alfaro (2018) y Ortiz (2020) aumento de la cobertura, tiene fuertes efectos positivos sobre el secuestro de carbono por encima del suelo, entre los años 2015 - 2018 las 3 condiciones mostraron un aumento en el %SOC del suelo (Tabla 2) siendo SC la condición que presenta una mayor captura. En cuanto a la captura efectiva de SOC durante el 2015 y 2018, Op secuestra 14,5 mg C ha<sup>-1</sup>, SOp 22,5 y SC 4,8, estableciendo mayor stock de C en la condición SOp con 150 mg C ha<sup>-1</sup>. (Ortiz,2020), mejorando la capacidad de secuestro para la condición SOp desde la implementación del SSP.

**Tabla 2.** Caracterización química del suelo y Almacenamiento de Carbono en pie del sistema silvopastoril en Ranchillo Alto. Variación de los valores medios de pH, SOC, N y C / N en el período 2015-2018 a 0-20 cm en diferentes condiciones de sombra de *Nothofagus obliqua*. Biomasa de carbono Fustal para el año 2017. Op: abierto; SOp: semiabierto; SC: semicerrado; SOC: carbono orgánico del suelo; N: nitrógeno; C / N: relación carbono / nitrógeno. Datos para 2015 de (Alfaro et al.2018). Datos para 2018 de (Ortiz et al.2020). Los valores son un medio de mediciones tomadas en los bosques templados chilenos de *Nothofagus obliqua* en 2015 y 2018.

	Year	Cobertura de Dosel		
		Op	SOp	SC
pH (H <sub>2</sub> O)	2015	6.0	6.1	6.0
	2018	5.6	5.8	5.8
SOC (%)	2015	7.1	7.1	8.0
	2018	13.5	11.8	13.1
N (%)	2015	0.31	0.38	0.42
	2018	0.61	0.46	0.52
C/N	2015	22.3	19.2	19.5
	2018	22.3	25.6	22.0
C biomasa fustal (TON C ha <sup>-1</sup> )	2017	5.4	51.43	57.24

Como es de esperar en los SSP a medida que aumenta la cobertura de dosel aumenta el carbono orgánico de suelo, y también del sistema en su conjunto ya que condiciones con mayor cobertura poseen mayor cantidad de carbono en pie relacionado con la densidad de árboles por hectárea, la condición Op presenta 5,4 Ton C ha<sup>-1</sup>, seguido de las 51,43 y 57,24 Ton C ha<sup>-1</sup> de SOp y SC.

Aunque la cubierta tiene fuertes efectos positivos sobre el secuestro de carbono en superficie, el mayor potencial de secuestro de carbono de los sistemas agroforestales corresponde al carbono en pie (Blazer,2018). El secuestro de C en el suelo ha sido promovido recientemente como un gran potencial estrategia de mitigación del cambio climático, especialmente en sistemas agroforestales otras investigaciones y concordantes con nuestros resultados, señalan que las tasas de secuestro de C aumentaron, y que la tasa de secuestro fue significativamente mayor después de la conversión de la plantación al sistema silvopastoril. Estos resultados muestran que las prácticas de uso del suelo afectan sustancialmente las existencias de SOC, y los sistemas silvopastoriles favorecen el secuestro de C (De Stefano and Jacobson 2018; Dube et al., 2012; Dube et al., 2011.).



### **¿Pueden los SSP mantener la producción agrícola en bosques templados de la cordillera de los andes?**

Nuestros resultados sugieren que es poco probable que la sombra de los árboles, debido a su cobertura, comprometan la producción media anual productividad (Tabla 3). Para el año 2017 SC presentó la mayor disponibilidad total de pradera con 648 kgMSha-1 sin presentar diferencias significativas con OP, SOp. Distinto es lo que ocurre en la temporada 2018 donde se invierte la productividad de sitio para praderas en donde la condición Op y SOp son significativamente mayores, por lo tanto, a medida que la cobertura de dosel aumenta más allá del 35% (SC) se presenta una disminución significativa de la disponibilidad total de pradera.

**Table 3.** Disponibilidad de pradera del sistema silvopastoril ubicado en Ranchillo Alto en 2017 y 2018. Producción de gramíneas, producción de malezas y producción total (Kg MS ha<sup>-1</sup>) con sus respectivos porcentajes (%) en cada condición de sombra *Nothofagus obliqua*. Op: abierto; SOp: semiabierto; SC: Semi-cerrado. MS: materia seca. kgMSha<sup>-1</sup>: Kilogramos de materia seca por hectárea. Los valores son un medio de mediciones tomadas en enero de 2017-2018.

	Año	Disponibilidad de pradera				
		Gramíneas		Maleza		Total
		(%)	Kg DM ha <sup>-1</sup>	(%)	Kg DM ha <sup>-1</sup>	Kg DM ha <sup>-1</sup>
Op	2017	53.1	315.98 <sup>a,a</sup>	46.8	279.5 <sup>b,b</sup>	595 <sup>a,a</sup>
	2018	29	255 <sup>a,a</sup>	70.6	620 <sup>c,b</sup>	879 <sup>c,b</sup>
SOp	2017	95.4	527.45 <sup>b,b</sup>	4,5	25.2 <sup>a,a</sup>	553 <sup>a,a</sup>
	2018	65	520.17 <sup>b,c</sup>	35	282.5 <sup>b,a</sup>	808 <sup>bc,b</sup>
SC	2017	88.7	574.6 <sup>b,b</sup>	9.9	64.1 <sup>a,a</sup>	648 <sup>ab,a</sup>
	2018	56.5	313 <sup>a,b</sup>	43.5	240.1 <sup>b,a</sup>	554 <sup>a,a</sup>

El C y N disponible para el año 2017 y 2018 (Alfaro 2018, Ortiz et al 2020) fue mayor en la cobertura SC y Op respectivamente, lo que coincide con las coberturas más productivas para cada temporada. Se espera que la variación entre temporada se deba al cambio en la disponibilidad de nutrientes ya que estudios han confirmado que el SOC tiene un efecto sobre las propiedades del suelo y el rendimiento de los cultivos (Loveland y Webb, 2003; Kundu et al., 2007) y el N es un factor determinante en todas las etapas de desarrollo de la planta, desde la germinación de la semilla hasta la senescencia, y se considera un factor clave que limita el rendimiento y la calidad del cultivo (Marschner, 2012). Por lo tanto, a medida que aumenta la cobertura no solo se modifica el microclima para cada pradera, también y debido al aumento de la densidad, aumenta la competencia, por luz, nutrientes y agua que podría explicar las variaciones en C, N y diferencias de producción.

Al analizar la producción específica de gramíneas, los tratamientos disminuyen el porcentaje entre 2017 y 2018, en un 45%, 32% y 36% para Op, SOp y SC respectivamente, siendo la condición SOp la única que mantiene significativamente la producción de gramíneas entre temporadas. Esta diferencia puede relacionarse con mayor actividad e incremento del SOC del suelo y mejores condiciones microclimáticas en SOp. Demostrando los beneficios de los SSP en la mitigación y adaptación productiva del cambio climático.

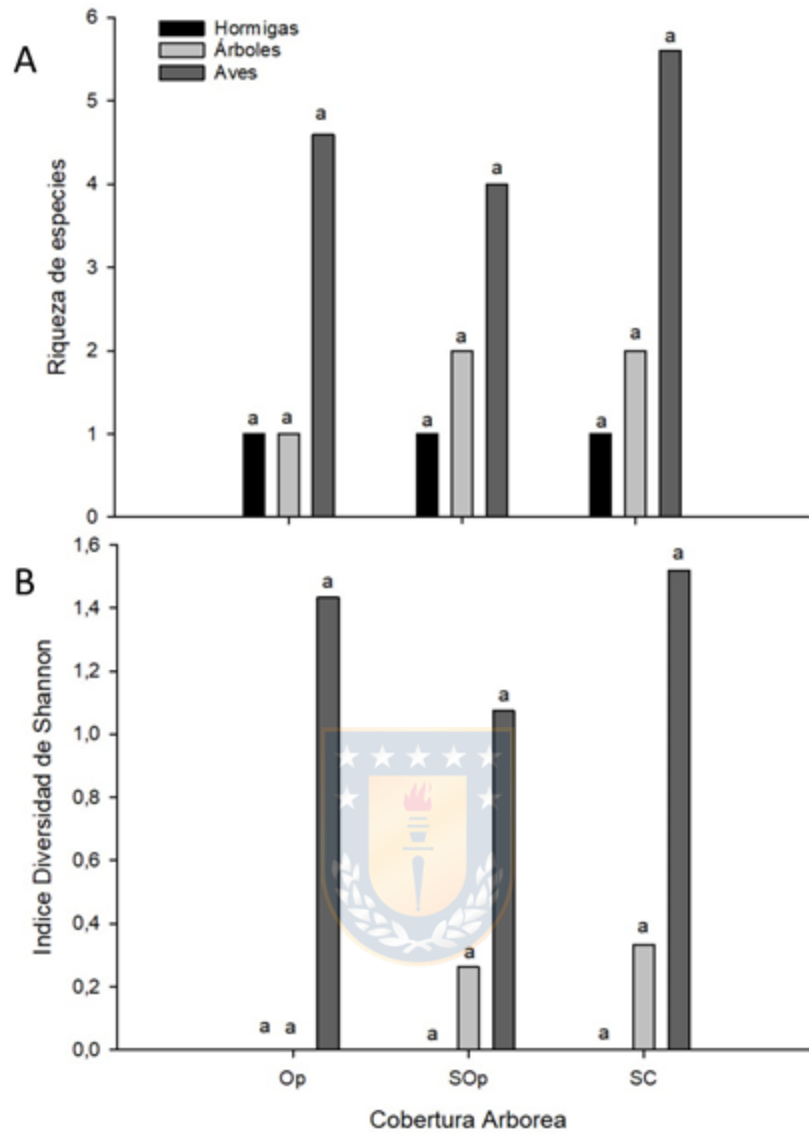
### ¿Qué tan efectivos son los SSP en la conservación de la biodiversidad?

Nuestros resultados indican que los distintos porcentajes de coberturas analizadas no comprometen a las distintas comunidades estudiadas, ya que no existe diferencia significativa para diversidad de hormigas, árboles y aves afirmando que los SAFs tiene el potencial de contribuir a conservación

de la biodiversidad creando hábitat para especies que son tolerante a cierto nivel de perturbación (Harvey y Villalobos, 2007).

Para las especies analizadas, solo se detectó una especie de hormiga, *Camponotus chilensis*, en los tres tratamientos con un índice shannon de 0 (figura 3B), indicando que no existen variaciones por la intensificación e implementación del SSP en esta taxa, a diferencia de los resultados de otras investigaciones, donde la riqueza de hormigas aumenta con la cobertura (Armbrecht, Rivera & Perfecto 2005, Blaser, 2018). Para árboles, aunque existe diferencias en las especies presentes, el índice de shannon fue de 0; 0,26 y 0,33 para Op, SOp y SC respectivamente, donde para todas las coberturas la especie dominante fue *Nothofagus Obliqua*, mientras que como especie acompañante fue *Nothofagus dombeyi* en SOp y *Lomatia hirsuta* SC. Por lo que a medida que aumenta la cobertura, disminuye la dominancia de *Nothofagus*, complejizando la comunidad en SC.

Para aves, los índices de shannon 1,43; 1,07 y 1,52 para Op, SOp y SC no presentan diferencias significativas (Figura 3B). Un índice de diversidad de aves más alto en SC se relaciona con una alta diversidad de árboles de la misma cobertura, la diferencia recae en la composición de estas poblaciones, al analizar la riqueza específica para las 3 coberturas, las condiciones Op y SOp presentan especies de aves que no nidifican en árboles y 3 especies con hábitos secundarios de nidificación, *Aphrastura spinicauda*, *Tachycineta meyenicon* y *Troglodytes aedon*; mientras que SC presenta 3 especies *Colaptes pitius*, *Pygarrhichas albogularis* y *Veniliornis lignarius* con hábitos de nidificación primaria lo que indica que mayores coberturas arbóreas, proporciona un mejor hábitat para especies de aves con hábitos de nidificación primaria, propias del interior de los bosques, que luego deja sus nidos para aves de hábitos secundarios. Al mismo tiempo las 3 coberturas se puede encontrar la especie *Elaenia albiceps*, la única ave migratoria del muestreo, por lo que se puede considerar que los SAF como un agroecosistema pueden jugar un papel importante en la conservación de especies de aves (Bakermans,2009).



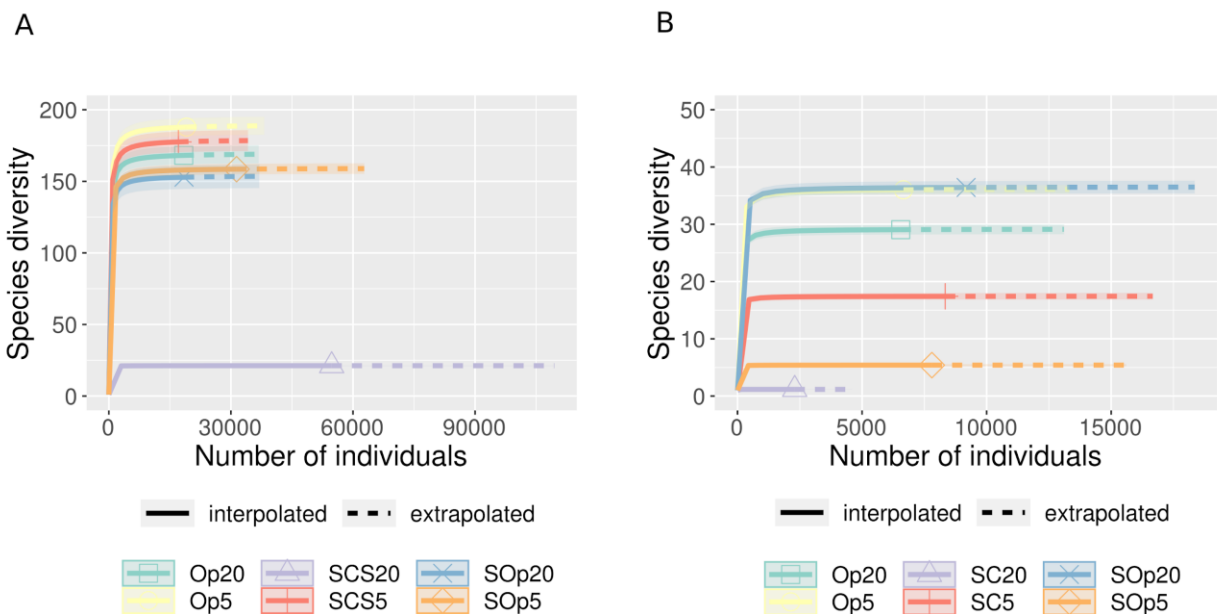
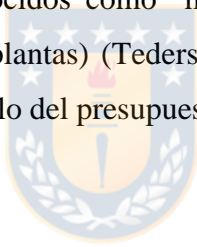
**Figura 3.** Índices de biodiversidad de Hormigas, Árboles y Aves del sistema silvopastoril en Ranchillo Alto. (A) Riqueza de especies de Hormigas, Árboles y Aves. (B) Índice de diversidad de Shannon bajo diferentes coberturas de dosel *Nothofagus obliqua*. Las columnas que comparten la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

A nivel del subsuelo fueron analizadas las comunidades de microorganismos en dos profundidades 0-5 cm y 5-20 cm en donde dominaron bacterias y luego en menor cantidad hongos (Figura 4). El cultivo suele ser más beneficioso para las bacterias que los hongos, ya que la fragmentación

mecánica de los residuos de los cultivos y el aumento de la aireación del suelo son beneficiosos para las bacterias saprófitas (Whalen 2014).

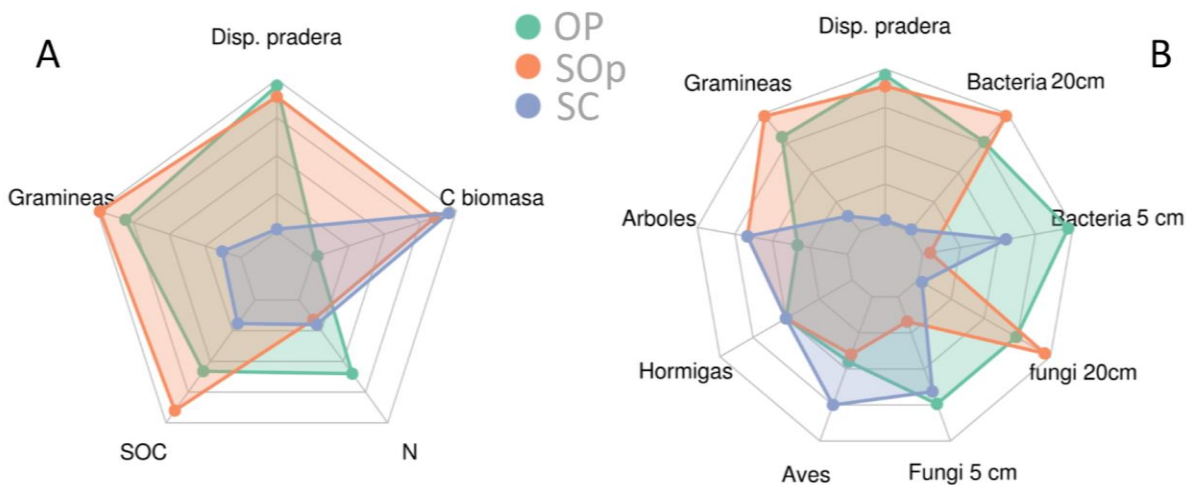
Para bacterias, en ambas profundidades Op presentó mayor índice de Simpson de 187 y 168 respectivamente, SOp y SC presentaron valores de 158 y 177 para la primera profundidad y 152 y 21 para la segunda profundidad. Mientras que, para hongos en la primera profundidad, Op presentó un índice de diversidad Simpson mayor con 36, SOp 5,4 y SC con 17. En la segunda profundidad SOp presenta el mayor índice con 36, Op y SC con 29 y 1,1 respectivamente.

En la profundidad 5-20 cm es la más interesante con respecto al productividad y SOC del suelo debido a que ahí es donde ocurre la mayor interacción de la raíz de las plantas - suelo y microorganismos (Philippot et al., 2013). Esta mayor diversidad de microorganismos en Op y SOp podría explicar el mayor secuestro de SOC y la estabilidad productiva de pradera y gramíneas durante las temporadas, debido a que las raíces de la mayoría de las plantas forman asociaciones mutualistas con hongos del suelo conocidos como "micorrizas". La simbiosis micorrízica es antigua y generalizada (+ 80% de las plantas) (Tedersoo et al.2010), y por lo tanto apoya los ecosistemas terrestres, la porción del suelo del presupuesto global de carbono y la alta producción agrícola (Read y Perez-Moreno 2003).



**Figura 4.** Índice de diversidad de Simpson de diversidad bacteriana y fúngica. A. Diversidad bacteriana. B Diversidad fúngica. Los índices de diversidad se calcularon usando el paquete iNEXT con  $q = 2$  (el inverso de la concentración de Simpson), nudos = 40, se = VERDADERO, conf = 0.95, nboot = 100 parámetros. El análisis se realizó en el entorno R.

La no existencia de cifras significativas en las distintas coberturas analizadas confirma que la efectividad de los sistemas agroforestales está su capacidad para apoyar la biodiversidad sin comprometer los rendimientos (Clough, 2011) al menos con coberturas hasta el 35%. En cuanto a los costos las tendencias observadas de que a mayor cobertura mayor diversidad, pero menor rendimiento coinciden con otros estudios de relaciones negativas de biodiversidad-rendimiento en sistemas templados (Kleijh,2009; Nilsson,2009). Aunque soluciones para aumentar el rendimiento pueden provenir de la misma biodiversidad, pero de microorganismos de suelo, nuestros resultados muestran que a mayor índice de biodiversidad de microorganismos de suelo mayor rendimientos total y específico de gramíneas. Por lo que coberturas hasta un 35% promueven la biodiversidad al mismo tiempo que mantienen rendimientos agrícolas, por lo que SSP como agroecosistemas pueden jugar un papel complementario a las áreas protegidas en la conservación de la biodiversidad (Vandermeer y Perfecto, 2007; Harvey et al., 2008) como las reservas de la biosfera.



**Figura 5.** Análisis integrado de componentes del sistema silvopastoril Ranchillo Alto. A) Componentes productivos y de mitigación del sistema silvopastoril. Disponibilidad de pradera, producción de gramíneas, SOC y N corresponden a las variaciones entre los años 2017 y 2018,

Carbono de Biomasa calculado con el inventario Forestal del año 2017 B.) Componentes productivos de sistema silvopastoril y Conservación de biodiversidad (Riqueza específica).

La combinación de cultivos con diversos ensambles de árboles en agroforestería ha encontrado que estos sistemas mantienen altos niveles de flora y fauna (Tschardt et al., 2011) por lo tanto, los sistemas agroforestales como los implementados en Ranchillo Alto son una propuesta válida para su uso en zonas amortiguadoras o corredores biológicos (Donald, 2004; Mas y Dietsch, 2004). Al analizar de manera conjunta nuestros resultados mediante un análisis multivariado donde se compararon los componentes productivos con los de mitigación y conservación de la biodiversidad (Figura 5), se observa que la condiciones microclimáticas y parámetros dasométricos de la condición SOp, no presenta los máximos valores de disponibilidad de pradera, pero sí la mayor producción de gramíneas el cual era el objetivo de este SSP, al mismo tiempo SOp presenta el mayor índice de secuestro de SOC y altos niveles de secuestro de C en biomasa que las otras condiciones. SOp presenta niveles intermedios de conservación de árboles, aves y hormigas y altos niveles de conservación de microorganismos en la segunda profundidad. Por lo que coberturas entre un 25 y 35 %, diseñadas e implementadas en bosques maduros de *Nothofagus obliqua* como SOp, presenta las mejores adaptaciones climáticas para mantener una producción, mitigación y conservación. Posicionándose como la cobertura más equilibrada en costo beneficio de las 3.



### 3.4 CONCLUSION

Los costos y beneficios implicados por la implementación de cobertura intermedia SOp para un sistema SSP bajo dosel de *Nothofagus obliqua* son los más equilibrados, logrando mantener una producción de gramíneas estable y sin diferencias significativas en la disponibilidad de pradera total. Potenciando el componente productivo al mismo tiempo que presenta mayores beneficios en el secuestro de SOC entre temporadas y condiciones microclimáticas estables para el desarrollo del componente agrícola y microorganismos de suelo.

Si bien existen diferencias productivas se podría utilizar este gradiente de cobertura de dosel como una estrategia de productiva sustentable en zonas de amortiguamiento, generando un sistema productivo sin cambio bruscos en los bordes, permitiendo la movilidad de especies.

Análisis más profundos en la conservación de la flora (Flores, herbáceas) y fauna de insectos podrían dar más información sobre cómo se estructuran las comunidades bajo las distintas coberturas de dosel.

Prácticas climáticamente inteligentes a esta escala de campo, como buenas prácticas en el uso de la tierra, conservación de especies a través de paisajes y gestión de interacciones de uso del suelo son importantes, se necesita un enfoque de paisaje con manejo integral que promueva mejores prácticas a una escala más amplia con el fin de lograr una sinergia entre los objetivos múltiples de la agricultura climáticamente inteligente. Que pueda ser utilizada en no solo en pequeños sitios productivos, si no como una estrategia productiva sostenible a escala de paisaje.

### 3.5 BIBLIOGRAFIA

Araya, P. (2009). *El modelo de reserva de biosfera e instrumentos para su utilización , El caso de Chile*. Oficina Regional de Ciencia de la UNESCO para America Latina y el Caribe. Montevideo, Uruguay.

Armbrecht, I., Rivera, L., & Perfecto (2005). *Reduced Diversity and complexity in the Leaf-Litter Ant Assemblage of Colombian Coffee Plantations*. *Conservation Biology*, 19(3), 897–907. [sci-hub.tw/10.1111/j.1523-1739.2005.00062.x](https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00062.x)

Bakermans, M. H., Vitz, A. C., Rodewald, A. D., & Rengifo, C. G. (2009). *Migratory songbird use of shade coffee in the Venezuelan Andes with implications for conservation of cerulean warbler*. *Biological Conservation*, 142(11), 2476–2483. doi:10.1016/j.biocon.2009.05.018

Intergovernmental Panel on Climate Change (2014). *Climate change 2014: synthesis report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Core Writing Team, R.K. Pachaur, and L.A. Meyer, (eds.).

Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services (2019). *Summary for Policymakers of the Global Assessment Report on Biodiversity and Ecosystem Services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services*.

Fritz, S., See, L., McCallum, I., You, L., Bun, A., Moltchanova, E., Duerauer, M., Albrecht, F., Schill, C., Perger, C., et al. (2015). *Mapping global cropland and field size*. *Glob. Chang. Biol.* 21, 1980–1992.

Gómez-Virués, S., Perović, D., Gossner, M. *et al.* *Landscape simplification filters species traits and drives biotic homogenization*. *Nat Commun* 6, 8568 (2015). <https://doi.org/10.1038/ncomms9568>

Matson, P. A., Parton, W. J., Power, A. G., & Swift, M. J. (1997). *Agricultural intensification and ecosystem properties*. *Science*, 277(5325), 504-509. DOI: 10.1126/science.277.5325.504

Tilman, D., Fargione, J., Wolff, B., D'Antonio, C., Dobson, A., Howarth, R., Swackhamer, D. (2001). *Forecasting agriculturally driven global environmental change*. *science*, 292(5515), 281-284. DOI: 10.1126/science.1057544

Green, R. E., Cornell, S. J., Scharlemann, J. P., & Balmford, A. (2005). Farming and the fate of wild nature. *science*, 307(5709), 550-555. DOI: 10.1126/science.1106049

Carmona, C. P., Guerrero, I., Morales, M. B., Oñate, J. J., & Peco, B. (2017). Assessing vulnerability of functional diversity to species loss: a case study in Mediterranean agricultural systems. *Functional Ecology*, 31(2), 427-435. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12709>

Reich, P. B., Tilman, D., Isbell, F., Mueller, K., Hobbie, S. E., Flynn, D. F., & Eisenhauer, N. (2012). Impacts of biodiversity loss escalate through time as redundancy fades. *Science*, 336(6081), 589-592. <https://doi.org/10.1126/science.1217909>

Zhang, W., Ricketts, T. H., Kremen, C., Carney, K., & Swinton, S. M. (2007). Ecosystem services and dis-services to agriculture. *Ecological economics*, 64(2), 253-260. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2007.02.024>

Rosenzweig, C., Tubiello, F.N. Adaptation and mitigation strategies in agriculture: an analysis of potential synergies. *Mitig Adapt Strat Glob Change* 12, 855–873 (2007). <https://doi.org/10.1007/s11027-007-9103-8>

Zarrilli, A. (2008). Bosques y agricultura: una mirada a los límites históricos de sustentabilidad de los bosques argentinos en un contexto de la explotación capitalista en el siglo XX. *Revista Luna Azul*, (26), 87-106.

Lipper, L., Thornton, P., Campbell, B. *et al.* (2014). Climate-smart agriculture for food security. *Nature Clim Change* 4, 1068–1072 <https://doi.org/10.1038/nclimate2437>

FAO, F. (2010). Climate smart agriculture: policies, practices and financing for food security, adaptation and mitigation. In *Paper prepared for Hague Conference on Agriculture, Food Security and Climate Change*. <http://www.fao.org/3/i1881e/i1881e00.pdf>

Donald, P. F. (2004). Biodiversity impacts of some agricultural commodity production systems. *Conservation biology*, 18(1), 17-37. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2004.01803.x>

Mas, A. H., & Dietsch, T. V. (2004). Linking shade coffee certification to biodiversity conservation: butterflies and birds in Chiapas, Mexico. *Ecological Applications*, 14(3), 642-654. <https://doi.org/10.1890/02-5225>

Harvey, C.A., González Villalobos, J.A. Agroforestry systems conserve species-rich but modified assemblages of tropical birds and bats. *Biodivers Conserv* 16, 2257–2292 (2007). <https://doi.org/10.1007/s10531-007-9194-2>

Mendieta M y Rocha R. 2007. Sistemas Agroforestales. Universidad Nacional Agraria. Nicaragua p 4-29.

Nair, P., Mohan, B., & Nair, V. D. (2009). Agroforestry as a strategy for carbon sequestration. *Journal of plant nutrition and soil science*, 172(1), 10-23. <https://doi.org/10.1002/jpln.200800030>

Peri, P.L. 2012. Implementación, manejo y producción en SSP: enfoque de escalas en la aplicación del conocimiento aplicado. En: Actas del 2º Congreso Nacional de Sistemas Silvopastoriles, INTA (Ed.), 9-11 mayo, Santiago del Estero, Argentina, pp. 8-21.

San Martín P. 2014. Reserva de la Biosfera Corredor Biológico Nevados de Chillán – Laguna del Laja: de la amenaza de la extinción al desarrollo sustentable. Reservas de la Biosfera de Chile: Laboratorios para la Sustentabilidad. Academia de Ciencias Austriaca, Pontificia Universidad Católica de Chile, Instituto de Geografía, Santiago, serie Geolibros 17: 146–160

Rosenstock, T. S., Dawson, I. K., Aynekulu, E., Chomba, S., Degrande, A., Fornace, K., ... & Malesu, M. (2019). A Planetary Health Perspective on Agroforestry in Sub-Saharan Africa. *One Earth*, 1(3), 330-344. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2019.10.017>

Blaser, W.J., Oppong, J., Hart, S.P. *et al.* Climate-smart sustainable agriculture in low-to-intermediate shade agroforests. *Nat Sustain* 1, 234–239 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41893-018-0062-8>

Tognetti R., Minotta G., Pinzauti S., Michelozzi M. and Borghetti M. 1998. Acclimation to changing light conditions of long-term shadegrown beech (*Fagus sylvatica*) seedling of different geographic origins. *Trees* 12: 326-333 p.

Heinemann K., Kitzberger T. and Veblen T. 2000. Influences of gap microheterogeneity on the regeneration of *Nothofagus pumilio* in a xeric oldgrowth forest of northwestern Patagonia, Argentina. *Can. J. For. Res.* 30: 25-31 p. <https://doi.org/10.1139/x99-181>

Lieffers V., Messier C., Gendron F., Stadt K. and Comeau P. 1999. Predicting and managing light in understory of boreal forests. *Can. J. For. Res.* 29: 796-811 <https://doi.org/10.1139/x98-165>

Castillo, M. S., Tiezzi, F., & Franzluebbers, A. J. (2020). Tree species effects on understory forage productivity and microclimate in a silvopasture of the Southeastern USA. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 295, 106917. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.106917>

Lawson, G., Dupraz, C., & Watté, J. (2019). Can silvoarable systems maintain yield, resilience, and diversity in the face of changing environments?. In *Agroecosystem Diversity* (pp. 145-168). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811050-8.00009-1>

Alfaro, M., Dube, F., & Zagal, E. (2018). Soil quality indicators in an Andisol under different tree covers in disturbed *Nothofagus* forests. *Chilean journal of agricultural research*, 78(1), 106-116. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392018000100106>

Ortiz J., Dube F.\*, Neira P., Panichini M., Stolpe N.B., Zagal E., Martínez-Hernández, P.A (2020) Effects of a newly established silvopastoral system over soil quality in an old, degraded Roble (*Nothofagus obliqua*) forest in the Andes mountain range, south central Chile. *Sustainability* 2020, 12. (Submitted)

De Stefano, A., Jacobson, M.G. Soil carbon sequestration in agroforestry systems: a meta-analysis. *Agroforest Syst* 92, 285–299 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10457-017-0147-9>

Dube, F., Espinosa, M., Stolpe, N.B. et al. (2012) Productivity and carbon storage in silvopastoral systems with *Pinus ponderosa* and *Trifolium* spp., plantations and pasture on an Andisol in Patagonia, Chile. *Agroforest Syst* 86, 113–128 (2012). <https://doi.org/10.1007/s10457-011-9471-7>

Dube, F., Thevathasan, N. V., Zagal, E., Gordon, A. M., Stolpe, N. B., & Espinosa, M. (2011). Carbon sequestration potential of silvopastoral and other land use systems in the Chilean Patagonia. In *Carbon sequestration potential of agroforestry systems* (pp. 101-127). Springer, Dordrecht.

Clough, Y., Barkmann, J., Juhrebandt, J., Kessler, M., Wanger, T. C., Anshary, A., ... & Erasmi, S. (2011). Combining high biodiversity with high yields in tropical agroforests. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(20), 8311-8316. <https://doi.org/10.1073/pnas.1016799108>

Kleijn, D., Kohler, F., Báldi, A., Batáry, P., Concepción, E. D., Clough, Y., ... & Kovács, A. (2009). On the relationship between farmland biodiversity and land-use intensity in Europe.

*Proceedings of the royal society B: biological sciences*, 276(1658), 903-909.  
<https://doi.org/10.1098/rspb.2008.1509>

Nilsson, F. O. L. (2009). Biodiversity on Swedish pastures: Estimating biodiversity production costs. *Journal of environmental management*, 90(1), 131-143.  
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2007.08.015>

Loveland, P., & Webb, J. (2003). Is there a critical level of organic matter in the agricultural soils of temperate regions: a review. *Soil and Tillage research*, 70(1), 1-18.  
[https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(02\)00139-3](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(02)00139-3)

Kundu, S., Bhattacharyya, R., Prakash, V., Ghosh, B.N., Gupta, H.S., 2007. Carbon sequestration and relationship between carbon addition and storage under rainfed soybean–wheat rotation in a sandy loam soil of the Indian Himalayas. *Soil Tillage Res.* 92, 87–95  
<https://doi.org/10.1016/j.still.2006.01.009>

Marschner, H. & Marschner, P. *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. (Academic Press 2012)

Whalen, J. K. (2014). Managing soil biota-mediated decomposition and nutrient mineralization in sustainable agroecosystems. *Advances in Agriculture*, 2014.  
<https://doi.org/10.1155/2014/384604>

Philippot, L., Raaijmakers, J., Lemanceau, P. *et al.* Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nat Rev Microbiol* 11, 789–799 (2013). <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>

Vandermeer, J., & Perfecto, I. (2007). The agricultural matrix and a future paradigm for conservation. *Conservation biology*, 21(1), 274-277. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00582.x>

Vivanco, E. (2019). Reservas de la Biosfera, Chile, España y Perú. Asesoría Técnica Parlamentaria. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile (BCN), Valparaíso, Chile

Harvey, C. A., Komar, O., Chazdon, R., Ferguson, B. G., Finegan, B., Griffith, D. M., ... & Van Breugel, M. (2008). Integrating agricultural landscapes with biodiversity conservation in the Mesoamerican hotspot. *Conservation biology*, 22(1), 8-15. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2007.00863.x>

Tscharntke, T., Clough, Y., Bhagwat, S. A., Buchori, D., Faust, H., Hertel, D., ... & Scherber, C. (2011). Multifunctional shade-tree management in tropical agroforestry landscapes—a review. *Journal of Applied Ecology*, 48(3), 619-629. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01939.x>

Donald, P. F. (2004). Biodiversity impacts of some agricultural commodity production systems. *Conservation biology*, 18(1), 17-37. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2004.01803.x>

## ANEXOS

**TABLA 1-a.** Análisis de varianza para los parámetros Pradera total, Producción de gramíneas, respuesta a los factores: tipo de cobertura, tiempo de evaluación y su interacción ( $P < 0.05$ ). Y análisis de varianza para los parámetros Índice de Shannon Aves, Índice de Shannon Árboles, Índice de Shannon Hormigas, Riqueza de especies Aves, Riqueza de especies Árboles y Riqueza de especies Hormigas respuesta a los factores: tipo de cobertura ( $P < 0.05$ ).

Parametro	Tipo Cobertura	Año	TC x Año
	Valor - P	Valor - P	Valor - P
Pradera Total	< 0,05	< 0,05	<0,0001
Gramineas	<0,0001	<0,0001	<0,0001
I. Shannon Aves	ns	-	-
I. Shannon Arbol	ns	-	-
I. Shannon Hormigas	ns	-	-
R sp Aves	ns	-	-
R sp Árboles	ns	-	-
R sp Hormigas	ns	-	-

## DISCUSION GENERAL

Los principales aspectos por considerar en un sistema agroforestal son la determinación del efecto del grado de cobertura arbórea sobre la calidad y estructura del suelo, la producción silvoagrícola y la conservación de la biodiversidad, así como su efecto integrado sobre el Uso sostenible del bosque nativo. La implementación de un SPS en áreas climáticamente vulnerables es necesaria porque pueden amortiguar los efectos del cambio climático en el sector agrícola (Lin 2007; Vaast 2016).

En el Capítulo 2 se determinó que la modificación de las coberturas arbóreas de *N. obliqua* y debido a las características de cada condición se vio afectada la composición y abundancia de las comunidades como la disponibilidad de pradera.

En nuestro SPS, encontramos varias diferencias en las condiciones microclimáticas debido a la cubierta arbórea. La condición de SOp presenta un equilibrio en las condiciones microclimáticas a ambas profundidades, y al mismo tiempo se encontró que era menos fluctuante entre las estaciones, siendo más estable para el desarrollo de la planta. En resumen, la condición SC mostró una tendencia anómala tanto en la temperatura como en la humedad del suelo en comparación con las condiciones Op y SOp a una profundidad del suelo de 5-20 cm. Blazer y col. (2018) indican que la efectividad de AFS para la adaptación climática es específica del sitio y depende de las principales amenazas de la naturaleza del clima del lugar (temporada de lluvias y temperaturas) y cómo se establecen las condiciones de densidad y cobertura en cada sistema. En nuestro estudio, en los bosques de *Nothofagus obliqua*, la condición de SOp promueve un equilibrio en ambas capas del suelo, en temperatura y humedad del suelo con respecto al régimen natural porque permite la entrada de suficiente radiación solar para mantener la temperatura en relación con la humedad del suelo (Lin 2007).

En términos de calidad del suelo en el SPS-RA en 2015, Alfaro et al. (2018) informaron diferencias significativas en la concentración de SOC y N entre las diferentes cubiertas de árboles y las dos profundidades del suelo (0-5 y 5-20 cm), mientras que solo se encontraron diferencias significativas en el pH entre las profundidades. En general, hubo un aumento en SOC, N, C / N y



una ligera disminución en el pH en 2018 en comparación con 2015 en las tres cubiertas de sombra que se analizaron.

A pesar de la evidente disminución en la producción total en todas las condiciones de sombra, la cobertura del nivel de sombra del 25-35% (condición SOp) para el bosque de *Nothofagus* promueve una mayor producción específica de pasto, pero también ofrece servicios ecosistémicos como el secuestro de carbono (Ortiz et al. 2020). Informes recientes sugieren que en niveles de sombra superiores al 30%, el sistema agroforestal se vuelve menos probable que genere escenarios mutuamente beneficiosos (Blaser et al.2018).

La diversidad microbiana de los suelos forestales puede estar directamente relacionada con la cubierta vegetal, el tipo de suelo y el uso de la tierra (Yao 2000), por lo que el microclima generado por la cubierta arbórea no solo es un factor en el desarrollo de las plantas, sino también para el suelo. Microorganismos. En el SPS-RA, las comunidades bacterianas están dominadas por miembros del orden Rhizobiales, que están asociados con la fijación de N, y de Myxococcales, asociados con la lisis de celulosa. La mayor abundancia de Rhizobiales en Op y SOp puede asociarse con el aumento de N entre ambas estaciones productivas y la disponibilidad de praderas en Op y SOp en 2018. La abundancia de Myxococcales en SC puede estar relacionada con la mayor densidad de árboles y la cobertura y la contribución de su aporte de litera al suelo. La mayor abundancia de Acidobacterias y la falta de grupo de PVC a 5-20 cm de profundidad en SC pueden estar relacionadas con las condiciones únicas de humedad y temperatura del suelo que se observaron, en comparación con Op y SOp (Silva 2019), aunque otros autores señalan que las acidobacterias se adaptan a las limitaciones de recursos y la acidez del suelo (Naether et al. 2012; Kielak et al. 2016). Se debe abordar la relación entre las acidobacterias y los parámetros biogeoquímicos, ya que la ecología y la función de estas bacterias aún no están claras.

El uso de cebadores para eucariotas reveló el predominio de hongos en el suelo, particularmente Basidiomycota y Ascomycota, con una menor representación de otros miembros eucariotas, incluidos macro y microorganismos. En términos de protistas, Cercozoa aparece como el filo microbiano más representado. Los cercozoos son un filo protista muy diverso en los suelos y en la filosfera de las plantas, para el cual la gran mayoría de las especies aún se desconocen. Un informe reciente muestra que Cercozoa es un miembro relevante de la comunidad eucariota en una pradera templada (Fiore-Donno et al.2019). Aquí las secuencias correspondientes a los miembros de las

familias Rhizosporiaceae y Cercomonadidae son particularmente abundantes en la capa de suelo de 5-20 cm de SOp.

Con respecto a la diversidad y composición comunitaria de hongos en el SPS-RA, el índice de diversidad varía según la profundidad de las tres condiciones, con una mayor diversidad en Op y SOp, pero con números más bajos en comparación con su contraparte bacteriana. La menor representación de hongos en términos de número de secuencias y diversidad en comparación con la contraparte bacteriana podría deberse al hecho de que los ciclos de secado-rehumectación típicos de los pastizales generalmente reducen la biomasa fúngica (Bapiri et al. 2010).

El interés en el estudio de los hongos se basa en la segunda capa del suelo (5-20 cm), donde se produce la interacción raíz-hongos y puede tener beneficios productivos. Las raíces de la mayoría de las plantas forman asociaciones mutualistas con hongos del suelo conocidos como "micorrizas". La simbiosis micorrízica es antigua y generalizada (+ 80% de las plantas) (Tedersoo et al. 2010) y, por lo tanto, es compatible con los ecosistemas terrestres, la porción del suelo del presupuesto global de carbono y la alta producción agrícola (Read y Perez-Moreno 2003). Los dos filos fúngicos dominantes, Ascomycota y Basidiomycota, tienen representantes de micorrizas llamadas ectomicorrizas. La mayoría de ellos están relacionados con la degradación de la lignina. Además, los glomeromicetos forman micorrizas arbusculares asociadas con una gran cantidad de plantas (Kuo et al. 2014).

El filo Ascomycota domina el área, con diferencias a nivel de clase entre sitios. Eurotiomycetes dominó en la condición de Op, mientras que los Leotiomycetes dominaron en SC. Ambas clases estaban igualmente representadas en SOp. La presencia exclusiva del filo Basidiomycota, de la clase Agaricales a una profundidad de 5-20 cm en la condición SC probablemente se deba a sus condiciones microclimáticas únicas en comparación con las condiciones Op y SOp. Mientras, la presencia de Familias del filo Glomeromycota a profundidades de 5-20 cm en Op y SOp, podría explicar su mejor desempeño en la producción total de pradera. Las diferencias en los niveles taxonómicos más bajos entre las condiciones pueden responder a las diferencias que existen en los microclimas y la composición botánica de cada uno. Dado que las temperaturas más altas están relacionadas con la producción primaria, la descomposición, pudiendo soportar una mayor cantidad de especies de microorganismos (Brown et al. 2014; Liu et al. 2020; Zhou et al. 2016), mientras que los sistemas que contienen una mezcla de diferentes géneros de plantas tienen el

potencial de exhibir una mayor heterogeneidad en la comunidad microbiana que las plantaciones de una sola especie. (Carnovale et al. 2015). La presencia de leotiomicetos en las condiciones con la mayor cobertura de sombra de los árboles SOP y SC se puede atribuir al hecho de que es un grupo ecológico de la mayoría de los saprobios de una amplia variedad de sustratos en material vegetal muerto (Wang et al. 2006; Jaklitsch et al. 2016).

Finalmente, las Archaea estaban mal representadas en nuestro conjunto de datos. El uso de 16S rRNA universal permite reclutar una gran cantidad de lecturas arqueológicas. Sin embargo, en este estudio, solo detectamos arqueas de Euryarchaeota, clase Termoplasmata y Nitrososphaeria, Thaumarchaeota del Grupo 1.1 y Nanoarchaeia de la Clase Woesearchaeia.

Se capturaron los mismos grupos arqueales al analizar las secuencias recuperadas al usar cebadores sesgados por Archaeal, lo que sugiere una baja abundancia y diversidad de estos microorganismos en el SPS-RA.

En el capítulo 2 nuestros resultados indican que los distintos porcentajes de coberturas analizadas no comprometen a las distintas comunidades estudiadas, ya que no existe diferencia significativa para diversidad de hormigas, árboles y aves afirmando que los SAFs tiene el potencial de contribuir a conservación de la biodiversidad creando hábitat para especies que son tolerante a cierto nivel de perturbación (Harvey y Villalobos, 2007). Generando una matriz productiva sustentable y acorde a las necesidades del Bosque nativo.

Para las especies analizadas, solo se detectó una especie de hormiga, *Camponotus chilensis*, en los tres tratamientos con un índice shannon de 0, indicando que no existen variaciones por la intensificación e implementación del SSP en esta taxa, a diferencia de los resultados de otras investigaciones, donde la riqueza de hormigas aumenta con la cobertura (Armbrecht, Rivera & Perfecto 2005, Blaser, 2018). Para árboles, aunque existe diferencias en las especies presentes, el índice de shannon fue de 0; 0,26 y 0,33 para Op, SOP y SC respectivamente, donde para todas las coberturas la especie dominante fue *Nothofagus Obliqua*, mientras que como especie acompañante fue *Nothofagus dombeyi* en SOP y *Lomatia hirsuta* SC. Por lo que a medida que aumenta la cobertura, disminuye la dominancia de *Nothofagus*, complejizando la comunidad en SC.

Para aves, los índices de shannon 1,43; 1,07 y 1,52 para Op, SOP y SC no presentan diferencias significativas. Un índice de diversidad de aves más alto en SC se relaciona con una alta diversidad

de árboles de la misma cobertura, la diferencia recae en la composición de estas poblaciones, al analizar la riqueza específicas para las 3 coberturas, las condiciones Op y SOp presentan especies de aves que no nidifican en árboles y 3 especies con hábitos secundarios de nidificación, *Aphrastura spinicauda*, *Tachycineta meyenicon* y *Troglodytes aedon*; mientras que SC presenta 3 especies *Colaptes pitiús*, *Pygarrhichas albogularis* y *Veniliornis lignarius* con hábitos de nidificación primaria lo que indica que mayores coberturas arbóreas, proporciona un mejor hábitat para especies de aves con hábitos de nidificación primaria, propias del interior de los bosques, que luego deja sus nidos para aves de hábitos secundarios. Al mismo tiempo las 3 coberturas se pueden encontrar la especie *Elaenia albiceps*, la única ave migratoria del muestreo, por lo que se puede considerar que los SAF como un agroecosistema pueden jugar un papel especialmente importante en la conservación de especies de aves (Bakermans,2009).

La no existencia de cifras significativas en las distintas coberturas analizadas confirma que la efectividad de los sistemas agroforestales está su capacidad para apoyar la biodiversidad sin comprometer los rendimientos (Clough, 2011) al menos con coberturas hasta el 35%. En cuanto a los costos las tendencias observadas de que a mayor cobertura mayor diversidad, pero menor rendimiento coinciden con otros estudios de relaciones negativas de biodiversidad-rendimiento en sistemas templados (Kleijh,2009; Nilsson,2009). Aunque soluciones para aumentar el rendimiento pueden provenir de la misma biodiversidad, pero de microorganismos de suelo, nuestros resultados muestran que a mayor índice de biodiversidad de microorganismos de suelo mayor rendimientos total y específico de gramíneas. Por lo que coberturas hasta un 35% promueven la biodiversidad al mismo tiempo que mantienen rendimientos agrícolas, por lo que SSP como agroecosistemas pueden jugar un papel complementario a las áreas protegidas en la conservación de la biodiversidad (Vandermeer y Perfecto, 2007; Harvey et al., 2008) como las reservas de la biosfera. La combinación de cultivos con diversos ensambles de árboles en agroforestería ha encontrado que estos sistemas mantienen altos niveles de flora y fauna (Tschardt et al., 2011) por lo tanto, los sistemas agroforestales como los implementados en Ranchillo Alto son una propuesta válida para su uso en zonas amortiguadoras o corredores biológicos (Donald, 2004; Mas y Dietsch, 2004). Al analizar de manera conjunta nuestros resultados mediante un análisis multivariado donde se compararon los componentes productivos con los de mitigación y conservación de la biodiversidad, se observa que la condiciones microclimáticas y parámetros dasométricos de la

condición SOp, no presenta los máximos valores de disponibilidad de pradera, pero sí la mayor producción de gramíneas el cual era el objetivo de este SSP, al mismo tiempo SOp presenta el mayor índice de secuestro de SOC y altos niveles de secuestro de C en biomasa que las otras condiciones. SOp presenta niveles intermedios de conservación de árboles, aves y hormigas y altos niveles de conservación de microorganismos en la segunda profundidad. Por lo que coberturas entre un 25 y 35 %, diseñadas e implementadas en bosques maduros de *Nothofagus obliqua* como SOp, presenta las mejores adaptaciones climáticas para mantener una producción, mitigación y conservación. Posicionándose como la cobertura que otorga un mejor balance entre costo y beneficio de las 3.

Tomando en cuenta la necesidad de las comunidades rurales de contar con estos bosques nativos para el pastoreo del ganado. La implementación de sistemas silvopastoriles sustentables surge como una oportunidad que permita una simbiosis entre las necesidades del uso de los bosques, y garantizar la sostenibilidad de los recursos, bienes o servicios que brindan. Pudiéndose seleccionar distintos niveles de cobertura según la necesidad de conservar y/o producir. Además, la especie arbórea *Nothofagus obliqua*, es una especie que puede favorecer el desarrollo de sistemas silvopastoriles dada su condición caducifolia, la estructura de sus copas y el color claro de sus hojas que permite que traspase gran cantidad de luz, lo que favorecería el establecimiento y crecimiento de la pradera (Dube et al., 2016).

#### IV. CONCLUSIONES GENERALES

Nuestra hipótesis general indica que el dosel arbóreo semi cerrado de *Nothofagus obliqua* favorecerá la calidad de suelo, lo que permitirá una mayor producción silvoagropecuaria y un uso sustentable del bosque nativo

Nuestro estudio sugiere que los sistemas agroforestales como los SSP tienen un gran potencial en una amplia gama de servicios como producción, clima, regulación de ciclos y métricas de biodiversidad, de cara a un elemento necesario en la planificación de estrategias para la agricultura sustentable y climáticamente inteligente. Sin embargo, no todos los niveles de cobertura cumplen del todo con esta función. Como ocurre en el caso de SC que mayores coberturas, sin una consideración agrícola especial puedan generar rangos productivos bajos. Comprometiendo todos los demás objetivos que pueda ofrecer, como los valores máximos de conservación de la biodiversidad. Por lo tanto, coberturas de dosel al ser seleccionada debe considerar los efectos contradictorios que puede tener sobre la capacidad de producción para las pasturas, priorizando la intención del SSP, por lo que nuestra hipótesis general es rechazada.

Por otro lado, niveles intermedios de cobertura maximizan los beneficios productivos al mismo tiempo que minimizan los costos de biodiversidad sobre el suelo y aumentan la biodiversidad de microorganismos. Al mismo tiempo que aumentan los beneficios de mitigación y adaptación al cambio climático al promover mayor captura de carbono y generar microclimas más aptos para el desarrollo vegetal.

Niveles intermedios de cobertura se asocian a mayores niveles productivos de gramíneas, mayores índices de diversidad de microorganismo, lo que ofrece una interesante línea de estudio en los SSP de bosque templado, que podría ofrecer soluciones biotecnológicas al aumento de componentes productivos, manteniendo altos niveles de conservación, maximizando el potencial de los SSP.

SAFs con distintas coberturas cercanas entre sí, por lo tanto, dependientes de un mismo clima no muestran diferencias en índice de biodiversidad para árboles, aves y hormigas, por lo que para identificar mayores implicancias en la conservación de especies, se deben estudiar especies más sensibles como escarabajos, especies vegetales de temporada y microorganismos de manera anual.

SSP muestran gran potencial de mantener una producción agrícola al mismo tiempo que no genera grandes costos en la conservación de la biodiversidad, posicionándose como una alternativa viable para utilizarse en zonas de transición y/o amortiguación de reservas de la biosfera u otras áreas protegidas donde se requiera una producción y uso sostenible del bosque nativo. Estos distintos gradientes de cobertura pueden ser utilizados para promover transiciones entre zonas, suavizando los bordes y permitiendo mayor movilidad de las especies.



## REFERENCES

AMBAR - Consultoría e Ingeniería Ambiental. 2010. Confección y Elaboración de una Guía de Manejo en Terreno Fiscal Ranchillo Alto en la Región del Biobío. 189p.

Bakker PAHM, Doornbos RF, Zamioudis C et al. Induced systemic resistance and the rhizosphere microbiome. *Plant Pathol J* 2013;29:136–43.

Banco Mundial. Climate-Smart Agriculture: A Call to Action. Washington, DC: World Bank; 2011.

Bardgett, R., van der Putten, W. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* 515, 505–511 (2014). <https://doi.org/10.1038/nature13855>

Bassa, M., Chamorro, L., & Sans, F. X. (2012). Vegetation patchiness of field boundaries in the Mediterranean region: The effect of farming management and the surrounding landscape analysed at multiple spatial scales. *Landscape and urban planning*, 106(1), 35-43.

Beer J. 1988. Litter production and nutrient cycling in coffee (*Coffea arabica*) or cacao (*Theobroma cacao*) plantations with shade trees. *Agroforestry Systems* 7: 103-114.

Blaser WJ, Oppong J, Hart SP (2018) Climate-smart sustainable agriculture in low-to-intermediate shade agroforests. *Nat Sustain* 1:234–239. <https://doi.org/10.1038/s41893-018-0062-8>

Bünemann EK, Bongiorno G, Ba Z, Creamer RE, De Deyn G, de Goede R Fleskens L, Geissen V, Kuyper TW, Mäder P, Pulleman M, Sukkel W, van Groenigen JW, Brussaard L (2018). Soil quality – a critical review. *Soil Biol Biochem* 120:105–125. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>



Burgoa F 2004. Agroforestería en Latinoamérica: experiencias locales Memoria del taller regional de intercambio de experiencias: "Tecnologías Locales en Agroforestería" pp 1-16.

Cameron, E.K., Martins, I.S., Lavelle, P., Mathieu, J., Tedersoo, L., Gottschall, F., Guerra, C.A., Hines, J., Patoine, G., Siebert, J., Winter, M., Cesarz, S., Delgado-Baquerizo, M., Ferlian, O., Fierer, N., Kreft, H., Lovejoy, T.E., Montanarella, L., Orgiazzi, A., Pereira, H.M., Phillips, H.R.P., Settele, J., Wall, D.H., Eisenhauer, N. (2018). Global gaps in soil biodiversity data. *Nat. Ecol. Evol.* 2, 1042–1043. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0573-8>

Carmona, C. P., Guerrero, I., Morales, M. B., Oñate, J. J., & Peco, B. (2017). Assessing vulnerability of functional diversity to species loss: a case study in Mediterranean agricultural systems. *Functional Ecology*, 31(2), 427-435. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12709>.

Castrillo G, Teixeira PJPL, Paredes SH et al. (2017) Root microbiota drive direct integration of phosphate stress and immunity. *Nature* 543:513–8.

Costanza R., D'Arge, R., De Groot R., Farber S., Grasso M., Hannon B. y Raskin R. 1998. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Ecological economics* 25(1): 3-16.

CONAF (Corporación Nacional Forestal). 2016. Parques Nacionales. Reserva de la biosfera. Citado el 13/09/16. Disponible en <http://www.conaf.cl/parques-nacionales/reservas-de-la-biosfera/>

De Beenhouwer, M., Aerts, R. & Honnay, O. A global meta-analysis of the biodiversity and ecosystem service benefits of coffee and cacao agroforestry *Agric. Ecosyst. Environ* 175, 1–7 (2013).

DeFries, R. S., Asner, G. P., & Houghton, R. A. (2004). Ecosystems and land use change. *GMS*, 153.

Donald, P. F. (2004). Biodiversity impacts of some agricultural commodity production systems. *Conservation biology*, 18(1), 17-37. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2004.01803.x>

Dube F, Thevathasan NV, Zagal E, Gordon AM, Stolpe NB, Espinosa M (2011). Carbon sequestration potential of silvopastoral and other land use systems in the Chilean Patagonia. In: Kumar BM, Nair PKR. (Eds.) Carbon Sequestration Potentials of Agroforestry Systems: Opportunities and Challenges. *Advances in Agroforestry* 8, Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp 101-127. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1630-8\\_6](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1630-8_6)

Dube F, Espinosa M, Stolpe NB, Zagal E, Thevathasan NV, Gordon AM (2012) Productivity and C storage in silvopastoral systems with *Pinus ponderosa* and *Trifolium* spp., plantations and pasture on an Andisol in Patagonia, Chile. *Agrofor. Syst* 86:113–128. <https://doi.org/10.1007/s10457-011-9471-7>

Dube, F., Sotomayor, A., Loewe, V., Müller-Using, B., Stolpe, N., Zagal, E., & Doussoulin, M. (2016). Silvopastoral systems in temperate zones of Chile. In P. L. Peri, F. Dube & A. Varella (Eds.), *Advances in Agroforestry-Silvopastoral Systems in Southern South America* (Vol. 11, pp. 183-230). Switzerland: Springer International Publishing.

Edenhofer, O. et al. in *Climate Change* (2014). *Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (eds Edenhofer, O. et al.) 1–30 Cambridge Univ. Press, Cambridge.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2016. *Agroforesteria. Conjunto de Herramientas para la Gestión Forestal*. Citado 03/03/2017. Dponible

en: <http://www.fao.org/sustainable-forest-management/toolbox/modules/agroforestry/basic-knowledge/es/>

Farrell J. G. y Altieri M. A. 1997. Sistemas agroforestales. Agroecología. Bases científicas para una agricultura sustentable.(Ed. MA Altieri). CLADES/ACAO. La Habana, Cuba, 163. 229-243.

Fitzpatrick CR, Copeland J, Wang PW et al. (2018) Assembly and ecological function of the root microbiome across angiosperm plant species. *Proc Natl Acad Sci USA* 22:1157–65

Forman R, M Godron. 1986. Landscape Ecology. New York, USA. John Wiley and Sons. 619p

Gabriel, D., Roschewitz, I., Tschardt, T., & Thies, C. (2006). Beta diversity at different spatial scales: plant communities in organic and conventional agriculture. *Ecological applications*, 16(5), 2011-2021.

[9] Romero, A., Chamorro, L., & Sans, F. X. (2008). Weed diversity in crop edges and inner fields of organic and conventional dryland winter cereal crops in NE Spain. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 124(1-2), 97-104.

Gómez-Virués, S., Perović, D., Gossner, M. *et al.* Landscape simplification filters species traits and drives biotic homogenization. *Nat Commun* 6, 8568 (2015).

<https://doi.org/10.1038/ncomms9568>

Gibson, L. et al. Primary forests are irreplaceable for sustaining tropical biodiversity. *Nature* 478, 378–381 (2011).

Goss-Souza, D., Mendes, L. W., Borges, C. D., Rodrigues, J. L., & Tsai, S. M. (2019). Amazon forest-to-agriculture conversion alters rhizosphere microbiome composition while functions are kept. *FEMS microbiology ecology*, 95(3), fiz009.

Green, R. E., Cornell, S. J., Scharlemann, J. P., & Balmford, A. (2005). Farming and the fate of wild nature. *science*, 307(5709), 550-555. DOI: 10.1126/science.1106049

Guo, L. B. & Gifford, R. M. Soil carbon stocks and land use change: A meta-analysis. *Glob. Change Biol.* 8, 345–360 (2002).

Harvey, C.A., González Villalobos, J.A. Agroforestry systems conserve species-rich but modified assemblages of tropical birds and bats. *Biodivers Conserv* 16, 2257–2292 (2007). <https://doi.org/10.1007/s10531-007-9194-2>

INFOR. 2012. Desarrollo de tecnología silvícola productiva como apoyo para la implementación de la Ley de Bosque Nativo. Anexo 6. Elaboración de pautas silvícolas de manejo para renovales. Proyecto INNOVA/ CORFO – 09CN14-5854. Valdivia, Chile, 28p.

Jose, S. (2009). Agroforestry for ecosystem services and environmental benefits: an overview. *Agroforestry Systems*, 76(1), 1-10.

Kardol, P., Bezemer, T.M. & van der Putten, W.H. (2006) Temporal variation in plant-soil feedback controls succession. *Ecology Letters*, 9, 1080– 1088.

Kibblewhite, M.G., Ritz, K., Swift, M.J., (2008). Soil health in agricultural systems. *Philos.Trans. Roy. Soc. B Biol. Sci.* 363, 685–701. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2178>.

Lara A, Soto D, Armesto J, Donoso P, Wernl C, Nahuelhual L, Squeo F (2003) Componentes Científicos Clave para una Política Nacional Sobre Usos, Servicios y Conservación de los Bosques Nativos Chilenos. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile

Leal, I.R., Filgueiras, B.K.C., Gomes, J.P., Iannuzzi, L., Andersen, A.N., 2012. Effects of habitat fragmentation on ant richness and functional composition in Brazilian Atlantic forest. *Biodivers. Conserv.* 21, 1687–1701.

Lipper, L., Thornton, P., Campbell, B. *et al.* (2014). Climate-smart agriculture for food security. *Nature Clim Change* 4, 1068–1072 <https://doi.org/10.1038/nclimate2437>

Mas, A. H., & Dietsch, T. V. (2004). Linking shade coffee certification to biodiversity conservation: butterflies and birds in Chiapas, Mexico. *Ecological Applications*, 14(3), 642-654. <https://doi.org/10.1890/02-5225>

Matson, P. A., Parton, W. J., Power, A. G., & Swift, M. J. (1997). Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science*, 277(5325), 504-509.

Mendes LW, Kuramae EE, Navarrete AA et al. (2014) Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. *ISME J* 8:1577–87

Mendes LW, Braga LPP, Navarrete AA et al. (2017). Using metagenomics to connect microbial community biodiversity and functions. *Curr Issues Mol Biol* 24:103–18

Mendes LW, Tsai SM, Navarrete AA et al. (2015) Soil-borne microbiome: linking diversity to function. *Microb Ecol* 70:255–65

Mendieta M y Rocha R. 2007. Sistemas Agroforestales. Universidad Nacional Agraria. Nicaragua p 4-29.

Miranda A, Altamirano A, Cayuela L, Lara A, González M (2016) Native forest loss in the Chilean biodiversity hotspot: revealing the evidence. *Reg Environ Change* 17(1):285-297. <https://doi.org/10.1007/s10113-016-1010-7>

Nair, P., Mohan, B., & Nair, V. D. (2009). Agroforestry as a strategy for carbon sequestration. *Journal of plant nutrition and soil science*, 172(1), 10-23. <https://doi.org/10.1002/jpln.200800030>

Nair, P. K. (2011). Agroforestry systems and environmental quality: Introduction. *Journal of Environmental Quality*, 40(3), 784-790.

Nahuelhual L., Donoso P., Lara A., Nuñez D., Oyarzun C. y Neira E. 2007. Valuing ecosystem services of Chilean temperate rainforests. *Environment, Development and Sustainability*, 9(4): 481-499.

Peri, P.L. 2012. Implementación, manejo y producción en SSP: enfoque de escalas en la aplicación del conocimiento aplicado. En: *Actas del 2º Congreso Nacional de Sistemas Silvopastoriles*, INTA (Ed.), 9-11 mayo, Santiago del Estero, Argentina, pp. 8-21.

Rao M.R., Nair P.K.R. y Ong C.K. (1998). Biophysical interactions in tropical agroforestry systems. In *Directions in Tropical Agroforestry Research*. Springer The Netherlands. 38: 223

San Martín P (2014) Reserva de la Biosfera Corredor Biológico Nevados de Chillán – Laguna del Laja: de la amenaza de la extinción al desarrollo sustentable. In: Moreira-Muñoz A, Borsdorf A (eds) *Reservas de la Biosfera de Chile: Laboratorios para la Sustentabilidad*. Academia de Ciencias Austriaca, Pontificia Universidad Católica de Chile, Instituto de Geografía, Santiago, serie Geolibros 17: 146–160

Sugiyama A, Ueda Y, Zushi T et al. Changes in the bacterial community of soybean rhizospheres during growth in the field. *PLoS One* 2014;9:e100709.

Tilman, D., Fargione, J., Wolff, B., D'Antonio, C., Dobson, A., Howarth, R., Swackhamer, D. (2001). Forecasting agriculturally driven global environmental change. *science*, 292(5515), 281-284. [www.https://doi.org/10.1126/science.1057544](https://doi.org/10.1126/science.1057544).

Tilman, D. & Clark, M. (2014). Global diets link environmental sustainability and human health. *Nature* 515, 518–522.

Tscharntke, T., Clough, Y., Bhagwat, S. A., Buchori, D., Faust, H., Hertel, D., ... & Scherber, C. (2011). Multifunctional shade-tree management in tropical agroforestry landscapes—a review. *Journal of Applied Ecology*, 48(3), 619-629. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01939.x>

Turbé, A., Toni, A. De, Benito, P., Lavelle, P., Lavelle, P., Ruiz, N., Putten, W.H. Van der, Labouze, E., Mudgal, S., De Toni, A., Benito, P., Lavelle, P.P., Ruiz, N., Van der Putten, W., Labouze, E., Mudgal, S., (2010). Soil biodiversity: functions, threats and tools for policy makers, Bio Intelligence Service, IRD, and NIOO, Report for European Commission (DG Environment). <https://doi.org/10.2779/14571>

Orgiazzi, A., Bardgett, R., Barrios, E., Behan-Pelletier, V., Briones, M., Chotte, J., De Deyn, G., Eggleton, P., Fierer, N., Fraser, T., Hedlund, K., Jeffery, S., Johnson, N., Jones, A., Kandeler, E., Kaneko, N., Lavelle, P., Lemanceau, P., Miko, L., Montanarella, L., Moreira, F., Ramirez, K., Scheu, S., Singh, B., Six, J., van der Putten, W., Wall, D. (2016). Global soil biodiversity atlas. European Commission, Publications Office of the European Union, Luxembourg. <https://doi.org/10.2788/799182>.

Reich, P. B., Tilman, D., Isbell, F., Mueller, K., Hobbie, S. E., Flynn, D. F., & Eisenhauer, N. (2012). Impacts of biodiversity loss escalate through time as redundancy fades. *Science*, 336(6081), 589-592. <https://doi.org/10.1126/science.1217909>

Rosenzweig, C., Tubiello, F.N. Adaptation and mitigation strategies in agriculture: an analysis of potential synergies. *Mitig Adapt Strat Glob Change* 12, 855–873 (2007). <https://doi.org/10.1007/s11027-007-9103-8>

Sala, O.E., Chapin, F.S., Armesto J.J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., et al. 2000. Biodiversity - global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* 287:1770-1774

San Martín P (2014) Reserva de la Biosfera Corredor Biológico Nevados de Chillán – Laguna del Laja: de la amenaza de la extinción al desarrollo sustentable. In: Moreira-Muñoz A, Borsdorf A (eds) Reservas de la Biosfera de Chile: Laboratorios para la Sustentabilidad. Academia de Ciencias Austriaca, Pontificia Universidad Católica de Chile, Instituto de Geografía, Santiago, serie Geolibros 17: 146–160

Sanchez, P. A. (1995). Science in agroforestry. *Agrofor. Syst.* 30, 5–55.

Schlatter, D., Kinkel, L., Thomashow, L., Weller, D., Paulitz, T., 2017. Disease Suppressive Soils: New Insights from the Soil Microbiome. *Phytopathology* 107, 1284–1297. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-17-0111-RVW>

Schulze, C.H., M. Waltert, P.J.A. Kessler, R. Pitopang, R. Shahabuddin, D. Veddelar, M. Mühlenberg, S.R. Gradstein, C. Leuschner, i. Steffan-Dewenter & T. Tschardtke. 2004. Biodiversity indicator groups of tropical land-use systems: comparing plants, birds, and insects. *Ecol. Appl.* 14: 1321-1333.

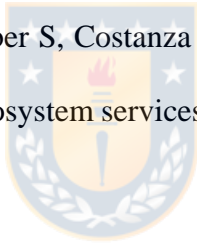


Tilman, D., Fargione, J., Wolff, B., D'Antonio, C., Dobson, A., Howarth, R., Swackhamer, D. (2001). Forecasting agriculturally driven global environmental change. *science*, 292(5515), 281-284. DOI: 10.1126/science.1057544

Vandermeer, J., & Perfecto, I. (2007). The agricultural matrix and a future paradigm for conservation. *Conservation biology*, 21(1), 274-277. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00582.x>

Vestergaard, A. S., Skjøth, F., Larsen, T. B., & Ehlers, L. H. (2017). The importance of mean time in therapeutic range for complication rates in warfarin therapy of patients with atrial fibrillation: A systematic review and meta-regression analysis. *PloS one*, 12(11), e0188482.

Villa F, Wilson M. A, De Groot R, Farber S, Costanza R y Boumans R. M. 2002. Designing an integrated knowledge base to support ecosystem services valuation. *Ecological Economics*, 41(3): 445-456.



Vitousek, P. M., Mooney, H. A., Lubchenco, J., & Melillo, J. M. (1997). Human domination of Earth's ecosystems. *Science*, 277(5325), 494-499.

Wall, D.H., Nielsen, U.N., Six, J., 2015. Soil biodiversity and human health. *Nature* 528, 69–76. <https://doi.org/10.1038/nature15744>

Zarrilli, A. (2008). Bosques y agricultura: una mirada a los límites históricos de sustentabilidad de los bosques argentinos en un contexto de la explotación capitalista en el siglo XX. *Revista Luna Azul*, (26), 87-106.

Zhang, W., Ricketts, T. H., Kremen, C., Carney, K., & Swinton, S. M. (2007). Ecosystem services and dis-services to agriculture. *Ecological economics*, 64(2), 253-260.

<https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2007.02.024>

Zonta A. 2013. Guía de Capacitación en Agroforestería. Curso: Implementación y Manejo de Sistemas Agroforestales en la Amazonia. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Riberalta, Bolivia. p 8-15.

