



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

**EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE MICROBIOTA DE SUELO TOMADA
DESDE BOSQUE NATIVO DE REFERENCIA EN EL CRECIMIENTO DE
ESPECIES LEÑOSAS NATIVAS DE *CRYPTOCARYA ALBA* PROVENIENTES
DEL SANTUARIO DE LA NATURALEZA, PENÍNSULA DE HUALPÉN.**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Forestales de la
Universidad de Concepción para optar al título profesional de
Ingeniera en Biotecnología Vegetal

POR: Catalina Isidora Acuña Cadena

Profesor Guía: Rodrigo Hasbún Zaror

Diciembre, 2025

Concepción, Chile

© 2025, Catalina Isidora Acuña Cadena

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento

EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE MICROBIOTA DE SUELO TOMADA
DESDE BOSQUE NATIVO DE REFERENCIA EN EL CRECIMIENTO DE
ESPECIES LEÑOSAS NATIVAS DE *CRYPTOCARYA ALBA* PROVENIENTES
DEL SANTUARIO DE LA NATURALEZA, PENÍNSULA DE HUALPÉN.

Profesor Guía



Rodrigo Hasbún Zaror

Profesor Asociado

Ingeniero Forestal, Dr.

Profesora Guía



Marcela Bustamante Sánchez

Profesora asistente

Bióloga ambiental, Dra.

DEDICATORIA

Ofrendo y agradezco todo lo que ha sido mi proceso educativo junto con esta tesis a Dios. La confianza, perseverancia y determinación de cada uno de mis pasos han sido motivados por la certeza que habita en mi corazón de que hay un servicio amoroso, resiliente, eficaz y restaurador que entregarle con profundo respeto y pasión a la vida que me rodea; en donde la ciencia se vuelve transdisciplinaria al entrelazar lo tecnológico, ecosistémico, neurobiológico, energético y lo social para la regeneración de la vida de la que formamos parte.

A mi madre y a mi padre, Pilar y Alejandro, el apoyo y el amor infinito que me han brindado todos estos años han sido inefables para la persona que soy hoy en día, y sin duda alguna, cada uno de mis logros también son suyos. Gracias por haber traído a la vida a mis hermanos, Nicole, Gabriela, Ente y al nuevo integrante de la familia, Franco. Ustedes son un motor para convertirme en una mejor persona.

A mi Aurorita, gracias infinitas por todo el amor y sanación que emana junto a ti. Te amo eternamente.

A Matias, por haber sido un gran compañero durante mi proceso de vida y académico, tu fortaleza, amor y determinación me ayudaron a continuar este camino.

A mis amistades que la universidad me regaló, Constanza, Ruth, Fabiola, Mayte, Matias, Leo, Mario y Alejandro, sus presencias fueron indispensables durante todos estos años, e hicieron que la vida académica sonara y se experimentara más bonita, les amo profundamente.

A mis amigas Michelle, Camila V, Camila B y Cote sus mentes brillantes junto a la hermosa amistad y contención que me brindaron este tiempo fueron un gran regalo.

A todo mi linaje sucesional, quienes estuvieron y quienes vendrán, les agradezco y bendigo con todo mi corazón.

A mí, flores, miel, fuego y agua. Los caminos están abiertos.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer profundamente a quienes fueron ejemplos de inspiración en todos estos años de aprendizaje académico, a todos aquellos que enseñaron con vocación, pasión y paciencia, a mis profesores, Homero U., Katherine S., Marta H., Eduardo R., que con su solo ejemplo y camino recorrido lograron inspirar mi mente y mi corazón para ahondar aún más en el camino de la vida y la ciencia, ¡gracias!

A mis profesores Rodrigo Hasbún y Marcela Bustamante, gracias por guiar y acompañar con paciencia y dedicación este proceso cúlmine en mis estudios de pregrado. Sin duda ustedes son grandes referentes para mis siguientes pasos, gracias por todo el aporte que hacen para la ciencia y la vida ecosistémica.

Quiero agradecer a todo el equipo del Laboratorio de Microbiología de Suelos, Mauricio S., Rocío, Sol, Fabián. Gracias por haber abierto las puertas de su laboratorio y por facilitarme su ayuda y orientación para culminar este estudio.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
Hipótesis	4
Objetivo general	4
Objetivos específicos	5
II. METODOLOGÍA.....	6
2.1. Diseño general del estudio.....	6
2.2. Diseño experimental	8
2.3. Materiales y preparación de tratamientos	11
2.3.1. Sitio de muestreo	11
2.3.2. Objeto de estudio y material vegetal	12
2.3.3. Germinación y pretratamiento de semillas	12
2.3.4. Recolección de suelos para elaboración de tratamientos de TSA.....	12
2.3.5. Tratamientos de estudio.....	13
2.3.6. Preparación de los tratamientos.....	14
2.4. Variables evaluadas y métodos	15
2.4.1. Procedimientos de medición de variables de crecimiento para pre-ensayo y ensayo principal	15
2.4.2. Variables de desarrollo de la parte aérea.....	17
2.4.3. Variables de crecimiento y desarrollo de la parte radicular.....	19
2.4.4. Indicadores funcionales e índices derivados	20
2.5. Fase 1: Pre-ensayos exploratorios y análisis microbiológicos en <i>C. alba</i>	23
2.5.1. Objetivo de la Fase	23
2.5.2. Bioensayo preliminar en <i>Lactuca sativa</i>	24
2.5.3. Procedimiento del pre-ensayo exploratorio en <i>C. alba</i>	24
2.5.4. Distribución de individuos en almacigueros.....	25
2.5.5. Condiciones del invernadero.....	25
2.5.6. Aplicación de tratamientos de estudio para Fases 1 y 2.....	26

2.5.7. Métodos y medición de variables microbiológicas en pre-ensayo exploratorio.....	26
2.6. Fase 2: Ensayo experimental de crecimiento.....	28
2.6.1. Objetivo de la fase	29
2.6.2. Diseño experimental del ensayo principal	29
2.6.3. Condiciones del invernadero en ensayo principal	30
2.6.4. Distribución espacial de individuos en la bandeja	30
2.7. Análisis estadísticos.....	31
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
3.1. Fase 1: Bioensayo en semillas de <i>L. sativa</i>	32
3.2. Análisis microbiológicos en pre-ensayo	34
3.2.1. Actividad enzimática de ureasa.....	34
3.2.2. Recuento de unidades formadoras de colonias	37
3.2.3. Respiración total de suelos	40
3.3. Mediciones de estructura aérea en pre-ensayo exploratorio	42
3.4. Mediciones de estructura radicular en pre-ensayo exploratorio	46
3.5. Mediciones de estructura aérea para ensayo principal	55
3.6. Mediciones de estructura radicular para ensayo principal	59
IV. CONCLUSIONES	64
V. ANEXO	67
VI. GLOSARIO.....	68
1. Variables de crecimiento aéreo.....	68
2. Variables radiculares	69
3. Tratamientos e inoculantes	71
4. Conceptos ecológicos y microbiológicos.....	72
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

N° Tabla	Página
Tabla 2.1. Resumen del diseño experimental y descripción de estos.....	10
Tabla 2.2. Descripción e indicador evaluado de los análisis microbiológicos realizados al pre-ensayo en <i>C. alba</i> post-cosecha.....	28
Tabla 3.1. Media de parámetros de crecimiento y desarrollo aéreo en plantas de <i>C. alba</i> bajo diferentes tratamientos en verano del 2025.....	57
Tabla 3.2. Valores de p-valor obtenidos mediante ANOVA o prueba de Kruskal–Wallis, según correspondió, para las variables de crecimiento y desarrollo radicular evaluadas en plantas de <i>C. alba</i> del ensayo principal (verano 2025) ...	62

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

N° Figura	Página
Figura 2.1. Esquema del diseño general del estudio y relación con los objetivos específicos	7
Figura 3.1. Comparación visual de germinación y desarrollo inicial en bioensayo exploratorio realizado sobre semillas de <i>L. sativa</i> en placas Petri bajo cinco tratamientos con soluciones líquidas.....	33
Figura 3.2. Actividad de la enzima ureasa del suelo ($\mu\text{g NH}_4^+$ liberado $\cdot\text{g}^{-1}$ suelo) bajo cinco tratamientos.....	35
Figura 3.3. Comparación visual del recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) en placas de Petri inoculadas con diluciones de TSA eso seco aéreo (PSA) en Ensayo 1 en plantas de <i>C. alba</i>	38
Figura 3.4. Respiración total de suelos en pre-ensayo exploratorio (E1) en <i>C. alba</i> , expresada como $\mu\text{g C}$, bajo cinco tratamientos.....	41
Figura 3.5. Comparación visual del pre-ensayo exploratorio sobre el crecimiento de plántulas de <i>C. alba</i> sometidas a cinco tratamientos.....	44
Figura 3.6. Peso seco aéreo (PSA) (a) y Contenido de agua aéreo (CAA%) (b) en pre-ensayo exploratorio para <i>C. alba</i> bajo cinco tratamientos.....	45
Figura 3.7. Comparación visual de la morfología aérea de plántulas de <i>C. alba</i> en pre-ensayo.....	47
Figura 3.8. Comparación visual de la morfología radicular en pre-ensayo de <i>C. alba</i> generado con el software Winrhizo©.....	48
Figura 3.9. Cuatro variables de la estructura radicular en pre-ensayo (E1) de <i>C. alba</i> bajo T1–T5.....	50
Figura 3.10. Contenido de agua radicular (CAR, %) (a) y Densidad radicular (DR, cm/cm^{-2}) (b) en pre-ensayo exploratorio (E1) de <i>C. alba</i> bajo T1–T5.....	52
Figura 3.11. Contenido de materia seca radicular (CMSR, mg/g) en plántulas de <i>C. alba</i> bajo tratamientos T1–T5 en pre-ensayo.....	53

Figura 3.12. Cuatro variables aéreas en ensayo principal (verano 2025) de C. alba bajo T1–T5.....56

Figura 3.13. Comparación visual de la morfología del sistema radicular generada por software Winrhizo© en ensayo principal de C. alba.....60

RESUMEN

El desarrollo de bioinoculantes basados en microbiota local ofrece una vía prometedora para mejorar la producción de plantas nativas en vivero y apoyar la restauración ecológica. Este estudio evaluó el efecto de comunidades microbianas de distinto origen (bosque joven, bosque maduro y pradera) sobre *Cryptocarya alba*, comparándolas con dos controles (agua y agua+melaza). El trabajo se estructuró en dos etapas bajo condiciones controladas. El pre-ensayo exploratorio se centró en caracterizar la funcionalidad microbiana de los tratamientos mediante tres análisis: actividad enzimática de ureasa, respiración total de suelos y recuento de unidades formadoras de colonias, complementados con mediciones preliminares de crecimiento para contextualizar su impacto potencial.

Los análisis mostraron que los inoculantes provenientes de bosque y pradera presentaron mayor actividad biológica y comportamiento funcional estable, mientras que agua+melaza evidenció respuestas transitorias asociadas a la adición de carbono lábil. En el ensayo principal, se evaluaron diecinueve variables aéreas, radiculares e índices morfofuncionales. Los consorcios nativos promovieron aumentos significativos en rasgos aéreos —como crecimiento del tallo, número de hojas y área foliar— mientras que los rasgos radiculares estructurales convergieron entre tratamientos, persistiendo diferencias en indicadores funcionales de acoplamiento aéreo–subterráneo.

En conjunto, los resultados muestran que la procedencia del inóculo modula la respuesta de *C. alba*, respaldando el potencial de la microbiota local para el desarrollo de bioinsumos orientados a restauración.

ABSTRACT

The development of bioinoculants based on local microbiota offers a promising pathway for improving the nursery production of native plants and supporting ecological restoration. This study evaluated the effect of microbial communities from different origins (young forest, mature forest, and grassland) on *Cryptocarya alba*, comparing them with two controls (water and water+molasses). The work was structured into two stages under controlled conditions. The pre-exploratory assay focused on characterizing the microbial functionality of the treatments through three analyses: urease enzymatic activity, total soil respiration, and colony-forming unit counts, complemented by preliminary growth measurements to contextualize their potential impact.

The analyses showed that inoculants derived from forest and grassland exhibited higher biological activity and more stable functional behavior, whereas the water+molasses control displayed transient responses associated with the addition of labile carbon. In the main experiment, nineteen aerial, root, and morpho-functional variables were evaluated. Native microbial consortia promoted significant increases in aerial traits—such as stem growth, leaf number, and leaf area—while structural root traits converged across treatments, with functional differences persisting in indicators of shoot–root coupling.

Overall, the results show that inoculum origin modulates the response of *C. alba*, supporting the potential of local microbiota for the development of bioinputs aimed at ecological restoration.

I. INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas mediterráneos de Chile central se encuentran entre los más presionados del país debido a la fragmentación del hábitat, el cambio de uso del suelo y el aumento de eventos climáticos extremos, factores que han disminuido su resiliencia y capacidad de regeneración natural (Rubio-Camacho et al., 2015; Cueto et al., 2025). Frente a este escenario, la restauración ecológica basada en especies nativas se ha consolidado como una estrategia fundamental para recuperar funciones ecosistémicas. Sin embargo, el éxito de estos programas depende en gran medida del establecimiento temprano y la supervivencia de las plantas producidas en vivero (Crouzeilles et al., 2017; Gann et al., 2019).

Uno de los principales cuellos de botella en estos programas es la baja tasa de sobrevivencia y crecimiento inicial de las especies leñosas (Bannister et al., 2018), atribuible en parte a la pérdida o degradación de las interacciones beneficiosas entre las raíces y la microbiota del suelo, fundamentales para sostener la nutrición y la tolerancia al estrés (Hartman & Tringe, 2019; Xie et al., 2021). El microbioma rizosférico provee funciones esenciales para el establecimiento vegetal —fijación biológica de nitrógeno, solubilización de fósforo, síntesis de fitohormonas y mejora de la tolerancia a estrés hídrico o

térmico— (Van der Heijden et al., 2008; Osorio-Vega, 2009; Docherty & Gutknecht, 2019). Estudios recientes han demostrado que el estrés abiótico y la degradación del suelo reconfiguran profundamente la comunidad microbiana, reduciendo la disponibilidad de funciones metabólicas clave para el crecimiento temprano (Hartman & Tringe, 2019; Bai et al., 2020; Xie et al., 2021). En consecuencia, la ausencia o reemplazo del microbioma nativo por comunidades empobrecidas limita severamente la capacidad de las plantas para establecerse en ambientes alterados.

Ante este desafío, la inoculación con microbiota nativa se posiciona como una alternativa biotecnológica de bajo costo y alta aplicabilidad. Entre las herramientas emergentes destacan los tés de suelo aireados (TSA), suspensiones microbianas elaboradas a partir de pequeñas cantidades de suelo sano que permiten multiplicar consorcios microbianos funcionales de manera controlada. Se ha demostrado que los TSA incrementan la diversidad microbiana, mejoran la disponibilidad de nutrientes y fortalecen la sanidad del sustrato, constituyendo una opción sostenible frente al uso de fertilizantes químicos o inoculantes comerciales (Emam, 2016; Martínez-Yáñez et al., 2022; Day, 2023).

Cryptocarya alba (peumo), especie emblemática del bosque esclerófilo chileno, desempeña un rol ecológico clave como formadora de hábitat, reguladora de

microclimas y proveedora de estructura ecológica (Altamirano, 2008; García et al., 2014). No obstante, su crecimiento inicial es lento y altamente dependiente de las condiciones estacionales, lo que dificulta su incorporación exitosa en programas de restauración (Altamirano, 2008; Bustamante-Sánchez et al., 2011; Davis & Pinto, 2021). Por ello, se propone evaluar si la inoculación con microbiota proveniente de suelos nativos no degradados —particularmente desde bosques maduros, bosques jóvenes y praderas— puede mejorar el crecimiento y vigor de plántulas de *C. alba* en vivero, así como modificar las propiedades biológicas del sustrato. Su aplicación en vivero permite transferir comunidades microbianas autóctonas directamente a los sustratos de crecimiento, reforzando la capacidad adaptativa de las plántulas antes de su plantación en terreno.

Este estudio se desarrolló en el vivero de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Concepción, en articulación con el vivero del Santuario de la Naturaleza Parque Museo Pedro del Río Zañartu, ubicado en la Península de Hualpén, Región del Biobío, Chile, con el propósito de generar evidencia aplicada que oriente el uso de inoculantes microbianos locales como herramienta para fortalecer programas de restauración ecológica contextualizada.

A partir de ello, se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuáles son los efectos de la inoculación con microbiota nativa de distintos orígenes de suelo sobre el crecimiento de plántulas de *Cryptocarya alba* y sobre las propiedades biológicas del sustrato?

Hipótesis

La inoculación de microbiota obtenida desde suelos nativos no degradados promueve un mayor crecimiento en plantas de *C. alba* y mejora las propiedades biológicas del sustrato que las sustenta.

Objetivo general

Evaluar el crecimiento y las propiedades del sustrato en plántulas de *C. alba* inoculadas con microbiota de diferentes orígenes de suelo nativo.

Objetivos específicos

1. Caracterizar la actividad microbiológica de los tratamientos utilizados, mediante indicadores enzimáticos, respiratorios y unidades formadoras de colonias.
2. Evaluar el efecto de la inoculación con microbiota nativa sobre el crecimiento aéreo y radicular de *C. alba*.

II. METODOLOGÍA

2.1. Diseño general del estudio

El estudio se estructuró en dos fases complementarias y secuenciales, orientadas a evaluar la actividad microbiológica y el efecto funcional de cinco tratamientos experimentales —dos controles y tres con actividad biológica (T1–T5)— sobre *Cryptocarya alba* (Figura 2.1). La Fase 1, realizada en primavera, correspondió a un pre-ensayo exploratorio en el que se caracterizó la actividad microbiana de los tratamientos mediante indicadores enzimáticos, respiratorios y poblacionales, junto con mediciones iniciales de crecimiento. La Fase 2, desarrollada en verano, constituyó el ensayo experimental principal, destinado a evaluar el efecto de los tratamientos sobre el crecimiento aéreo y radicular de *C. alba* bajo condiciones controladas.

Las variables microbiológicas se evaluaron únicamente en la Fase 1, mientras que las variables de crecimiento se analizaron principalmente en la Fase 2.

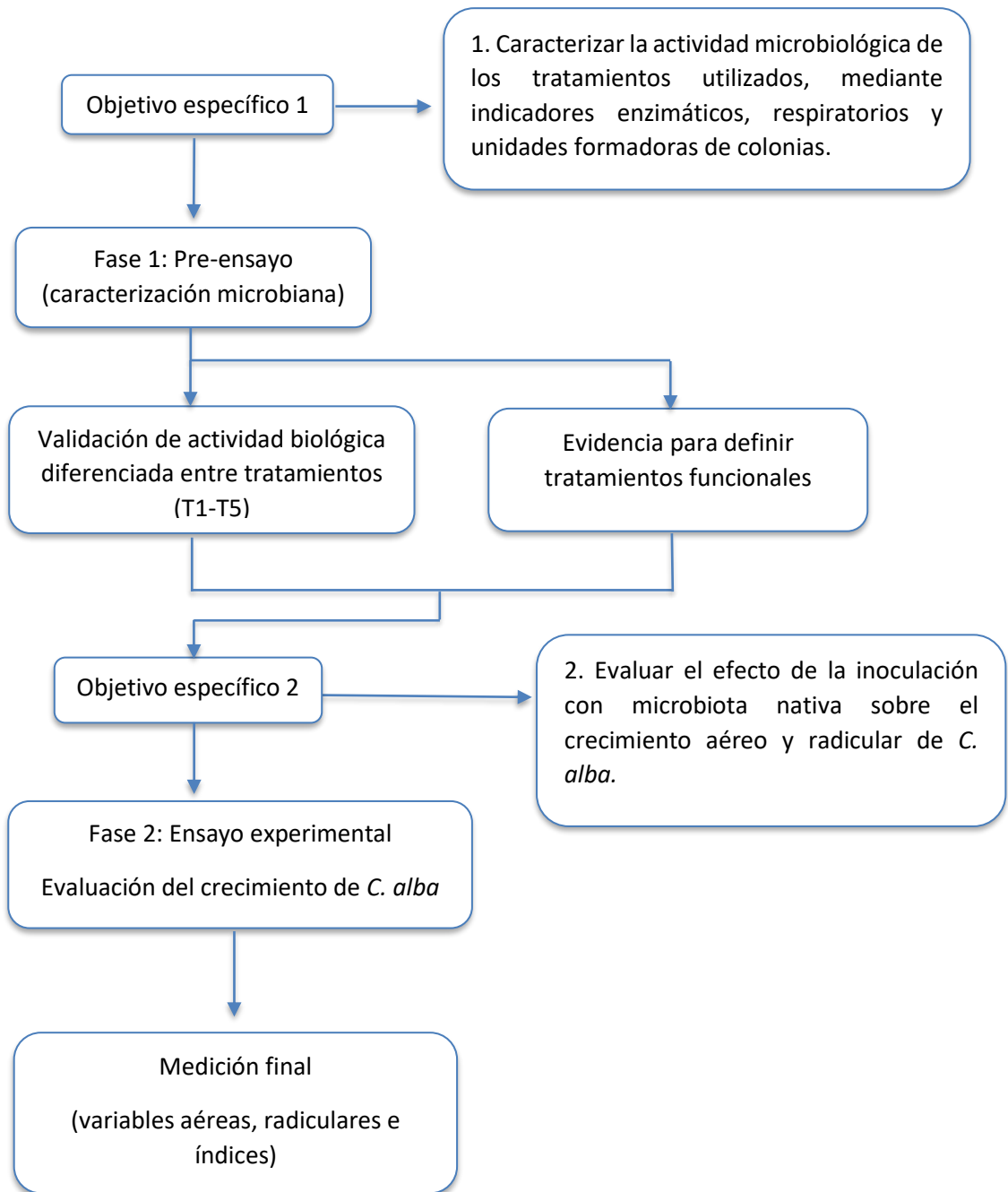


Figura 2.1: Esquema del diseño general del estudio y relación con los objetivos específicos.

Ambas fases se desarrollaron bajo condiciones experimentales homogéneas en el Laboratorio de Epigenética Vegetal (LEV) y en el invernadero de la Facultad de Ciencias Forestales (FCF) de la Universidad de Concepción.

2.2. Diseño experimental

El estudio se organizó como un arreglo unifactorial con cinco tratamientos aplicados a plántulas individuales de *C. alba*, consideradas como unidades experimentales independientes. Los tratamientos incluyeron dos controles (agua y agua + melaza) y tres téis de suelo aireados (TSA) provenientes de bosque joven, bosque maduro y pradera.

La Fase 1 incluyó 5 réplicas por tratamiento ($n = 25$) durante 43 días, mientras que la Fase 2 consideró 8 réplicas por tratamiento ($n = 40$) durante 92 días. En ambas fases se utilizó una única bandeja de cultivo con los tratamientos dispuestos en columnas fijas. Este diseño no incorporó aleatorización formal debido a criterios técnicos asociados a la prevención de contaminación cruzada y a la necesidad de estandarizar la aplicación de inoculantes.

La ausencia de aleatorización y de replicación de bandejas implica un riesgo de gradientes espaciales, mitigado mediante la rotación periódica de la bandeja y el

mantenimiento de condiciones ambientales homogéneas en el invernadero. En este contexto, el estudio se interpreta como un ensayo exploratorio bajo condiciones controladas. Los elementos centrales del diseño se resumen en la Tabla 2.1

Tabla 2.1. Resumen experimental y descripción de éstos.

Diseño experimental	Descripción
Unidad experimental	Cada plántula de <i>Cryptocarya alba</i> .
Tratamientos (controles y TSA)	T1: Agua (control negativo) T2: Agua + melaza (control positivo) T3: TSA de bosque joven (Núcleo) T4: TSA de bosque maduro (Bosque) T5: TSA de pradera.
Réplicas	Fase 1: 5 plantas/tratamiento (n = 25) Fase 2: 8 plantas/tratamiento (n = 40).
Duración	Fase 1: 43 días (primavera) Fase 2: 92 días (verano).
Aleatorización	No se aplicó; los tratamientos se dispusieron por columnas fijas en una única bandeja.
Justificación	Evitar contaminación cruzada y facilitar la aplicación precisa de los inoculantes microbianos.
Condiciones ambientales	Condiciones homogéneas de temperatura, luz y humedad en invernadero; la bandeja se rotó para reducir gradientes espaciales.
Estructura del estudio	Fase 1 → Pre-ensayo exploratorio (OE1: caracterización microbiológica). Fase 2 → Ensayo experimental (OE2: crecimiento de <i>C. alba</i>).

2.3. Materiales y preparación de tratamientos

En esta sección se describen los materiales utilizados en el estudio y los procedimientos empleados para la obtención y preparación de los tratamientos experimentales, incluyendo el sitio de muestreo, el material vegetal, la germinación preliminar y el procesamiento de suelos para la elaboración de téis de suelo aireados (TSA).

2.3.1. Sitio de muestreo

Las semillas de *C. alba* y las muestras de suelo empleadas en los tratamientos se recolectaron en la Estación Biológica Terrestre de la Universidad de Concepción ($36^{\circ}47'47.3''S$, $73^{\circ}09'40.5''W$), ubicada en el Santuario de la Naturaleza de la Península de Hualpén, Región del Biobío, Chile. Se seleccionaron tres ambientes contrastantes para la obtención del material edáfico: Bosque Joven (Núcleo), Bosque Antiguo (Bosque) y Pradera, los cuales constituyeron las fuentes de suelo para la preparación de los TSA.

Todo el material fue trasladado al Laboratorio de Epigenética Vegetal (LEV) y al vivero de la Facultad de Ciencias Forestales (FCF) de la Universidad de Concepción, donde se llevaron a cabo las fases experimentales del estudio.

2.3.2. Objeto de estudio y material vegetal

El objeto de estudio correspondió a *Cryptocarya alba* (peumo), especie endémica del centro-sur de Chile perteneciente a la familia *Lauraceae*. El material vegetal consistió en semillas maduras recolectadas en el mismo sitio de muestreo, utilizadas posteriormente en ambas fases experimentales (Fase 1: pre-ensayo exploratorio; Fase 2: ensayo experimental principal).

2.3.3. Germinación y pretratamiento de semillas

Las semillas utilizadas en ambas fases fueron sometidas a un pretratamiento de imbibición en agua durante 48 h y luego dispuestas entre papel absorbente humedecido dentro de recipientes de vidrio, mantenidos en oscuridad durante 3 semanas. Se realizó un control semanal del estado de hidratación y del progreso de germinación. Este procedimiento permitió obtener plántulas homogéneas, adecuadas para las fases de crecimiento posteriores.

2.3.4. Recolección de suelos para elaboración de tratamientos de TSA

Las muestras de suelo se recolectaron tras retirar la hojarasca superficial (horizonte A₀), extrayendo material del horizonte A (10–12 cm de profundidad).

Para cada ambiente se tomaron tres submuestras independientes (~200 ml). Las muestras tomadas de bosque fueron obtenidas bajo el dosel de estos. Las submuestras se espaciaron 50–100 m en bosque maduro (Bosque) y ~30 m en bosque joven (Núcleo), en pradera se muestrearon áreas abiertas a 10–20 m de los núcleos. Todas las muestras fueron depositadas en bolsas estériles sellables, transportadas al LEV y almacenadas a 4 °C hasta su preparación y aplicación en los tratamientos experimentales.

2.3.5. Tratamientos de estudio

Se evaluaron cinco tratamientos experimentales aplicados en ambas fases, los TSA (T3, T4 y T5) representan condiciones contrastantes de microbiota nativa provenientes de ambientes no degradados de la Estación Biológica Terrestre:

T1 – Control Negativo: Plántulas regadas solo con agua corriente, donde se evaluó el crecimiento basal sin suplementos.

T2 – Control Positivo: Plántulas regadas con agua y melaza como fuente de carbono simple, que determinó el efecto del sustrato energético por sí solo.

T3 – Té de suelo aireado (TSA) de Bosque Joven (Núcleo): Plántulas inoculadas con una mezcla de agua, melaza (como fuente de alimento microbiano) y suelo de bosque joven.

T4 – TSA de Bosque Antiguo (Bosque): Plántulas inoculadas con una mezcla de agua, melaza y suelo de bosque antiguo.

T5 – TSA de Pradera (Pradera): Plántulas inoculadas con una mezcla de agua, melaza y suelo de pradera.

2.3.6. Preparación de los tratamientos

La elaboración de los téis de suelo aireados (TSA) siguió la metodología de Martínez-Yáñez et al. (2022), adaptada para su empleo con suelos nativos. Para cada TSA (T3, T4, T5) se mezclaron:

- 25 ml de suelo del ambiente correspondiente,
- 25 ml de melaza,
- completando el volumen en matraces Erlenmeyer de 1 L con agua corriente.

Los controles se prepararon de la siguiente manera:

- T2: misma proporción de melaza, sin adición de suelo.
- T1: únicamente agua corriente.

Todos los tratamientos se mantuvieron en agitación aeróbica (150 rpm) durante 4 días, con matraces cubiertos con papel aluminio perforado para evitar contaminación y facilitar la aireación. Finalizado el periodo de activación microbiana, los sobrenadantes fueron retirados y las soluciones obtenidas se almacenaron a 4 °C hasta su aplicación.

2.4. Variables evaluadas y métodos

En el estudio se evaluaron dos grupos de variables: variables microbiológicas, medidas exclusivamente en la Fase 1, y variables de crecimiento, registradas tanto en la Fase 1 como en la Fase 2. A continuación, se describen los métodos y las variables empleados para su cuantificación.

2.4.1. Procedimientos de medición de variables de crecimiento para pre-ensayo y ensayo principal

En ambos ensayos se midieron variables aéreas, radicales e índices funcionales. Algunas variables (tasa de crecimiento del tallo y aumento del número de hojas) se midieron al inicio (t_0) y al final (t_f), mientras que el resto se

registró únicamente en la postcosecha. Los procedimientos utilizados para cada grupo de mediciones se describen a continuación.

a) Biomasa aérea: La altura se midió desde el cuello de la planta hasta el ápice utilizando una regla milimetrada. En cada fase se registró la altura final de cada individuo, lo que permitió estimar la elongación diferencial entre tratamientos. Para las demás variables aéreas, la parte aérea fue separada de la radicular y se registró primero el peso fresco (g), empleando balanza analítica. Posteriormente, fue secada en estufa a 60 °C durante 48–72 h, hasta alcanzar peso constante, con lo cual se obtuvo el peso seco (g). Se utilizó el software de escaneo de imágenes ImageJ para la obtención de variables foliares.

b) Biomasa radicular: El análisis radicular se realizó al finalizar cada ensayo en el Laboratorio de Microbiología de Suelos perteneciente a la Facultad de Agronomía de la UdeC. Para ello, se separó cuidadosamente las raíces de la parte aérea y se eliminó el sustrato mediante un lavado con agua corriente, evitando daños en su estructura. Posteriormente, las raíces fueron escaneadas con un equipo de alta resolución y procesadas en el software WinRhizo®, a partir del cual se obtuvieron datos de longitud total, área superficial, volumen y densidad. Para asegurar comparabilidad entre muestras, el escaneo se realizó con configuración constante (resolución/contraste) y los análisis se ejecutaron

con parámetros fijos del software. Además, se efectuaron mediciones gravimétricas en balanza analítica con las mismas condiciones usadas en la biomasa aérea, para determinar biomasa fresca y seca radicular, necesarias para algunos índices derivados.

d) Índices funcionales de crecimiento: A partir de las mediciones aéreas y radiculares se calcularon índices funcionales orientados a describir la asignación de biomasa, el contenido de agua y la proporción estructural entre compartimentos, entre otros. Estos indicadores permitieron evaluar el desempeño fisiológico de *C. alba* bajo cada tratamiento y aportaron evidencia sobre los ajustes funcionales asociados a la inoculación con TSA.

2.4.2. Variables de desarrollo de la parte aérea

Estas variables permitieron evaluar el desempeño funcional de *C. alba* frente a los distintos tratamientos aplicados en ambas fases del estudio. La medición de los atributos morfológicos de la parte aérea se realizó una vez finalizado el periodo experimental definido para cada fase, siguiendo los procedimientos descritos en la sección 2.4.1.

a) Tasa de crecimiento de longitud de tallo (%CT): Corresponde al cambio relativo en la longitud del tallo entre el inicio y el final de cada fase experimental.

Se expresa como un porcentaje que refleja la elongación aérea diferencial entre tratamientos:

$$\%CT = \left(\frac{\text{Longitud de tallo final (cm)} - \text{Longitud de tallo inicial (cm)}}{\text{Longitud de tallo inicial (cm)}} \right) \times 100$$

b) Aumento de número de hojas absoluto (NH): Corresponde al cambio neto en el número de hojas entre el inicio y el final de cada fase experimental. Este indicador refleja la expansión foliar y la producción de nuevas hojas como respuesta a los tratamientos. El valor se obtiene como la diferencia entre el número final e inicial de hojas:

$$NH = \text{Número de hojas final} - \text{Número de hojas inicial}$$

c) Peso fresco aéreo (PFA) y Peso seco aéreo (PSA): Corresponden al peso fresco y al peso seco de la fracción aérea de cada individuo, compuesta por tallo y hojas. Estos valores permiten evaluar la inversión estructural en tejidos fotosintéticos y el desarrollo supraterráneo de las plantas bajo los distintos tratamientos.

d) Área foliar (AF) y Área foliar específica (AFE): El área foliar total (AF) corresponde a la superficie foliar desarrollada por cada individuo, mientras que

el área foliar específica (AFE) expresa la relación entre dicha superficie y la biomasa seca aérea (cm²/g). Estos indicadores permiten evaluar la capacidad de expansión foliar y la asignación de biomasa al tejido fotosintético. Se usó la siguiente fórmula:

$$AFE = \frac{\text{Área foliar (cm)}}{\text{Peso seco de la parte aérea (g)}}$$

2.4.3. Variables de crecimiento y desarrollo de la parte radicular

Las variables radiculares evaluadas permitieron caracterizar el desarrollo subterráneo de *C. alba* y su asignación de biomasa bajo los distintos tratamientos. Estas métricas estructurales y gravimétricas se obtuvieron a partir de los procedimientos descritos en la sección 2.4.1. Se describen a continuación:

a) Peso fresco radicular (PFR) y Peso seco radicular (PSR): Corresponden al peso fresco y al peso seco de la fracción radicular de cada individuo. Estos indicadores reflejan la inversión en estructura subterránea y la acumulación de biomasa destinada a exploración y absorción de recursos.

b) Área radicular (AR) y Área radicular específica (ARE): El área radicular (AR) cuantifica la superficie total de raíces desarrollada por cada planta, mientras

que la área radicular específica (ARE) expresa la relación entre superficie radicular y biomasa seca (cm²/g). Para su cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

$$ARE = \frac{\text{Área radicular} \times 100 \text{ (cm)}}{\text{Peso seco de la parte radicular} \times 1000 \text{ (g)}}$$

c) Longitud de raíz (LR) y Volumen de raíz (VR): La longitud total (cm) y el volumen de raíz (cm³) describen la extensión y el tamaño tridimensional del sistema radicular, respectivamente, proporcionando información clave sobre la exploración del sustrato y la arquitectura de raíces.

d) Densidad radicular (DR): Expresa la longitud de raíz por unidad de volumen (cm/cm⁻³) y permite evaluar el grado de ramificación, compacidad y eficiencia exploratoria del sistema radicular a partir de la siguiente fórmula:

$$DR = \frac{\text{Longitud de raíz (cm)}}{\text{Volumen de raíz (cm}^3\text{)}}$$

2.4.4. Indicadores funcionales e índices derivados

Estos índices complementan las métricas de crecimiento de *C. alba* al proporcionar una perspectiva integradora sobre el desempeño fisiológico de las plántulas frente a los tratamientos microbianos.

a) Contenido de materia seca foliar (MSF) y radicular (MSR): Representan la proporción de materia seca respecto al peso fresco en cada fracción (aérea y radicular). Estos indicadores permiten evaluar el grado de estructuración tisular y la densidad funcional de los tejidos, se expresan en % y se calcularon con la siguiente fórmula:

$$MSF = \frac{\text{Peso seco de la parte aérea}}{\text{Peso fresco de la parte aérea}} \times 100$$

$$MSR = \frac{\text{Peso seco de la parte radicular}}{\text{Peso fresco de la parte radicular}} \times 100$$

c) Contenido de agua aéreo (CAA%) y radicular (CAR%): Expresan la fracción relativa de agua contenida en la parte aérea y en las raíces. Estos índices permiten interpretar el estado hídrico de las plantas y su capacidad de retención de agua bajo los distintos tratamientos. Se aplicó la siguiente fórmula:

$$CAA\% = 1 - \frac{\text{Peso seco aéreo}}{\text{Peso fresco aéreo}}$$

$$CAR\% = 1 - \frac{\text{Peso seco radicular}}{\text{Peso fresco radicular}}$$

e) Relación biomasa aérea/raíz fresca (RBA/RF) y biomasa aérea/raíz seca (RBA/RS): Índices adimensionales que describen la asignación relativa de biomasa entre las fracciones aérea y radicular. Valores altos (>1) indican una mayor inversión en tejido supraterráneo, mientras que valores bajos (<1) reflejan una mayor asignación hacia el sistema radical. Estos índices permiten evaluar cambios en la estrategia de crecimiento de *C. alba* en respuesta a los tratamientos. Para su cálculo se usaron las siguientes fórmulas:

$$RBA/RF = \frac{\text{Peso fresco aéreo}}{\text{Peso fresco radicular}}$$

$$RBA/RS = \frac{\text{Peso seco aéreo}}{\text{Peso seco radicular}}$$

f) Relación altura/longitud de raíz (RA/LR): Índice adimensional que compara el crecimiento de la parte aérea con el desarrollo del sistema radicular. Refleja el equilibrio estructural entre la elongación del tallo y la exploración subterránea, permitiendo identificar diferencias en el balance arquitectural de *C. alba* en respuesta a los tratamientos. La razón se calculó por individuo como:

$$RA/LR = \frac{\text{Longitud de tallo final} \times 100}{\text{Longitud radicular}}$$

2.5. Fase 1: Pre-ensayos exploratorios y análisis microbiológicos en *C. alba*

La Fase 1 correspondió a un pre-ensayo exploratorio realizado en primavera, orientado al establecimiento inicial de plántulas de *C. alba* y a la caracterización de la actividad microbiológica de los tratamientos (T1–T5) bajo condiciones controladas. Esta fase combinó dos aproximaciones complementarias: un bioensayo preliminar en *Lactuca sativa* para detectar respuestas tempranas a los tratamientos y un pre-ensayo en plántulas de *C. alba* donde se evaluaron tres análisis microbiológicos. En conjunto, estas evaluaciones proporcionaron la línea base experimental y sustentaron la aplicación de los tratamientos en la Fase 2.

2.5.1. Objetivo de la Fase

Caracterizar la actividad microbiológica de los tratamientos experimentales mediante indicadores enzimáticos, respiratorios y poblacionales, con el fin de cumplir el Objetivo Específico 1 y generar información basal sobre la funcionalidad microbiana asociada a cada tratamiento previo al ensayo principal.

2.5.2. Bioensayo preliminar en *Lactuca sativa*

Como aproximación exploratoria previa, se realizó un bioensayo in vitro de 15 días utilizando *L. sativa* como especie modelo, con el fin de obtener una respuesta rápida a los cinco tratamientos (T1–T5). Para cada tratamiento se dispusieron 10 semillas por placa Petri, en triplicado independiente. Este bioensayo permitió identificar diferencias tempranas en germinación y desarrollo inicial, entregando una primera señal de la actividad biológica diferencial de los TSA y los controles, útil para anticipar posibles respuestas en *C. alba*.

2.5.3. Procedimiento del pre-ensayo exploratorio en *C. alba*

Se estableció un cultivo piloto de 25 plántulas de *C. alba* a partir de semillas germinadas, con el fin de evaluar su respuesta fisiológica inicial y estandarizar los procedimientos de cultivo. Las plántulas fueron trasplantadas a contenedores con sustrato estéril de corteza de pino y mantenidas en cámara de crecimiento del LEV bajo condiciones controladas (20 ± 2 °C, $60 \pm 5\%$ HR, $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y fotoperiodo 16/8). Tras dos meses, fueron trasladadas al invernadero de la FCF y trasplantadas a contenedores de 280 ml con un sustrato mixto (50% fibra de coco + turba; 50% compost de corteza de pino). Bajo estas condiciones homogéneas se aplicaron los tratamientos y, al finalizar el pre-ensayo, se

recolectaron muestras de sustrato por tratamiento para los análisis microbiológicos correspondientes.

2.5.4. Distribución de individuos en almacigueros

En la Fase 1, los 25 individuos de *C. alba* se dispusieron en una única bandeja con cinco columnas fijas, cada una asignada a un tratamiento (T1–T5) y conformada por cinco unidades experimentales. Esta organización permitió evitar contaminación cruzada y mantener una aplicación uniforme de los tratamientos. Aunque la disposición fija implica riesgo potencial de efectos espaciales, este se redujo mediante rotación periódica de la bandeja y el mantenimiento de condiciones ambientales homogéneas en el invernadero de la FCF de la UdeC durante todo el pre-ensayo.

2.5.5. Condiciones del invernadero

Durante el pre-ensayo exploratorio realizado en primavera, las plántulas de *C. alba* se mantuvieron bajo condiciones ambientales homogéneas en el invernadero del vivero de la FCF. La temperatura promedio fue de aproximadamente 28 °C, con iluminación natural filtrada y un régimen de riego estandarizado aplicado de manera uniforme a todos los tratamientos. Estas condiciones se mantuvieron constantes a lo largo de la fase con el propósito de

minimizar variaciones ambientales no deseadas y asegurar la comparabilidad interna del pre-ensayo.

2.5.6. Aplicación de tratamientos de estudio para Fases 1 y 2

Los tratamientos TSA y el control positivo (T2) se aplicaron en una dilución 1:10 en agua corriente y se administraron semanalmente durante seis semanas. A partir de la segunda semana, la aplicación se estandarizó a un volumen de 50 ml por plántula, ajustando la cantidad únicamente para mantener la humedad óptima del sustrato. Este mismo esquema de aplicación se empleó tanto en la fase exploratoria (Fase 1) como en el ensayo principal (Fase 2), asegurando consistencia en el manejo experimental entre ambas etapas.

2.5.7. Métodos y medición de variables microbiológicas en pre-ensayo exploratorio

Al finalizar la Fase 1 se evaluaron variables microbiológicas destinadas a caracterizar la actividad biológica asociada a los tratamientos experimentales (Tabla 2.2). Estas mediciones permitieron describir la capacidad metabólica, enzimática y poblacional de la microbiota presente en los téis de suelo aireados

(TSA) y en los controles, constituyendo la base para interpretar su desempeño funcional. Los procedimientos analíticos completos se detallan en esta sección:

a) Actividad ureasa: La actividad ureasa del sustrato se determinó mediante un método colorimétrico que cuantifica la liberación de amonio (NH_4^+) producto de la hidrólisis enzimática de urea. Las muestras fueron incubadas con solución de urea y posteriormente se midió la absorbancia del complejo indofenol a 660 nm. Los resultados se expresaron como $\mu\text{g NH}_4^+$ liberado $\cdot \text{g}^{-1}$ de sustrato.

b) Respiración basal del sustrato: La actividad respiratoria se evaluó mediante incubación de suelos frescos durante 72 h a 22 °C, usando trampas de NaOH 0,2 M para capturar el CO_2 liberado. Luego se añadió BaCl_2 para precipitar carbonatos y se tituló el exceso de álcali con HCl 0,1 M. La producción de CO_2 se calculó mediante la ecuación estándar:

$$\mu\text{g C} = (B - V) \times N \times PE \times 1000$$

donde B es el volumen del blanco, V el volumen gastado en la muestra, N la normalidad del ácido y PE el peso equivalente del carbono.

c) Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC): El recuento de microorganismos cultivables se realizó mediante diluciones seriadas de muestras homogenizadas en PBS y siembra en agar nutritivo, incubadas 48 h a 28 °C. Las colonias se cuantificaron y los resultados se expresaron como UFC · g⁻¹ de sustrato fresco.

Tabla 2.2. Descripción e indicador evaluado de los análisis microbiológicos realizados al pre-ensayo en *C. alba* post-cosecha.

Análisis	Descripción	Indicador evaluado
Actividad enzimática ureasa	Método colorimétrico que mide la liberación de amonio a partir de la hidrólisis de urea.	Capacidad del suelo para transformar compuestos nitrogenados.
Respiración total de suelos	Medición de la tasa de producción de CO ₂ en incubaciones controladas con trampas de NaOH y posterior titulación.	Actividad metabólica total de la microbiota del sustrato.
Recuento total de UFC	Siembra por diluciones seriadas en medios de cultivo generales.	Densidad poblacional de microorganismos viables.

2.6. Fase 2: Ensayo experimental de crecimiento

La Fase 2 correspondió al ensayo experimental principal del estudio, desarrollado en verano y orientado a evaluar el efecto de los tratamientos microbianos (T1–

T5) sobre el crecimiento aéreo y radicular de *C. alba* bajo condiciones controladas de invernadero. Esta fase constituyó la evaluación funcional central del estudio.

2.6.1. Objetivo de la fase

Evaluar el efecto de la inoculación con microbiota nativa asociada a los tratamientos experimentales (T1–T5) sobre el crecimiento aéreo, radicular y los índices funcionales de *C. alba*, en concordancia con el Objetivo Específico 2.

2.6.2. Diseño experimental del ensayo principal

El ensayo experimental principal (Fase 2) estuvo conformado por 40 plántulas de *C. alba* distribuidas en cinco tratamientos (T1–T5), con ocho individuos por tratamiento. Las plántulas utilizadas en esta fase provenían del mismo proceso de germinación descrito en la sección 2.3.3 y fueron trasladadas al invernadero de la FCF tras completar su desarrollo inicial en cámara de crecimiento.

Cada plántula fue trasplantada a contenedores de 280 ml con el sustrato mixto estandarizado descrito en la Fase 1, asegurando homogeneidad en las condiciones de establecimiento. Bajo este diseño, los tratamientos se aplicaron siguiendo la estructura experimental definida en el apartado 2.4.3.

2.6.3. Condiciones del invernadero en ensayo principal

En el ensayo experimental principal, desarrollado en verano, las plántulas se mantuvieron bajo condiciones controladas en el mismo invernadero, con una temperatura promedio de aproximadamente 32 °C, bajo las mismas condiciones utilizadas en el pre-ensayo exploratorio.

2.6.4. Distribución espacial de individuos en la bandeja

En la Fase 2, las 40 plántulas se organizaron en una única bandeja con cinco columnas fijas, cada una asignada a un tratamiento (T1–T5) y compuesta por ocho unidades experimentales. Esta disposición permitió evitar contaminación cruzada y asegurar una aplicación uniforme de los tratamientos; sin embargo, la falta de aleatorización representa una limitación, ya que puede generar gradientes espaciales dentro del invernadero (variaciones de luz o temperatura) que no pueden separarse estadísticamente de los efectos del tratamiento.

Para reducir este riesgo, la bandeja fue rotada periódicamente, manteniéndose siempre bajo condiciones ambientales homogéneas. Aun así, la disposición fija implica que los resultados deben interpretarse como un ensayo exploratorio bajo condiciones controladas.

2.7. Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron por separado para cada fase del estudio.

En cada fase, las variables se analizaron mediante un ANOVA de una vía cuando cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. La normalidad se evaluó mediante la prueba de Shapiro–Wilk, mientras que la homogeneidad se verificó mediante Bartlett cuando los datos presentaron distribución normal o mediante Levene cuando existían indicios de desviación de la normalidad. Cuando ambos supuestos fueron satisfechos, las diferencias entre tratamientos se evaluaron con la prueba post hoc de Tukey (HSD).

Cuando los datos no cumplieron los supuestos paramétricos, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal–Wallis, complementada con el test post hoc de Dunn para las comparaciones múltiples. En todos los análisis se utilizó un nivel de significancia de $p \leq 0,05$.

Las pruebas estadísticas se realizaron mediante la plataforma en línea Statistics Kingdom, mientras que los diagramas de caja (boxplots) se generaron en DATAtab, incorporando únicamente las variables que presentaron diferencias significativas entre tratamientos.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Fase 1: Bioensayo en semillas de *L. sativa*

Se observó mayor crecimiento temprano de *L. sativa* post germinación con T3 (Núcleo) y T5 (Pradera) respecto de T1 (C1: Agua) y T2 (C2: Agua + Melaza) (n = 3 placas × 10 semillas; 15 días) tal como se observa en la Figura 3.1. T2 no superó al control negativo. Se registró contaminación fúngica puntual en T4. Se interpreta que la microbiota nativa promueve bioestimulación temprana mientras que el carbono simple entregado con la melaza (T2), no reemplaza funciones simbióticas (Glick, 2012; Vurukonda et al., 2016; Ruzzi & Aroca, 2015; López-Bucio et al., 2007; Iliev et al., 2021; Calvo, 2014; Cordero et al., 2023). Se registró posible desecación al final del ensayo (más notoria en T2), lo que puede haber afectado el desarrollo de las plántulas; estos hallazgos se interpretan con cautela.

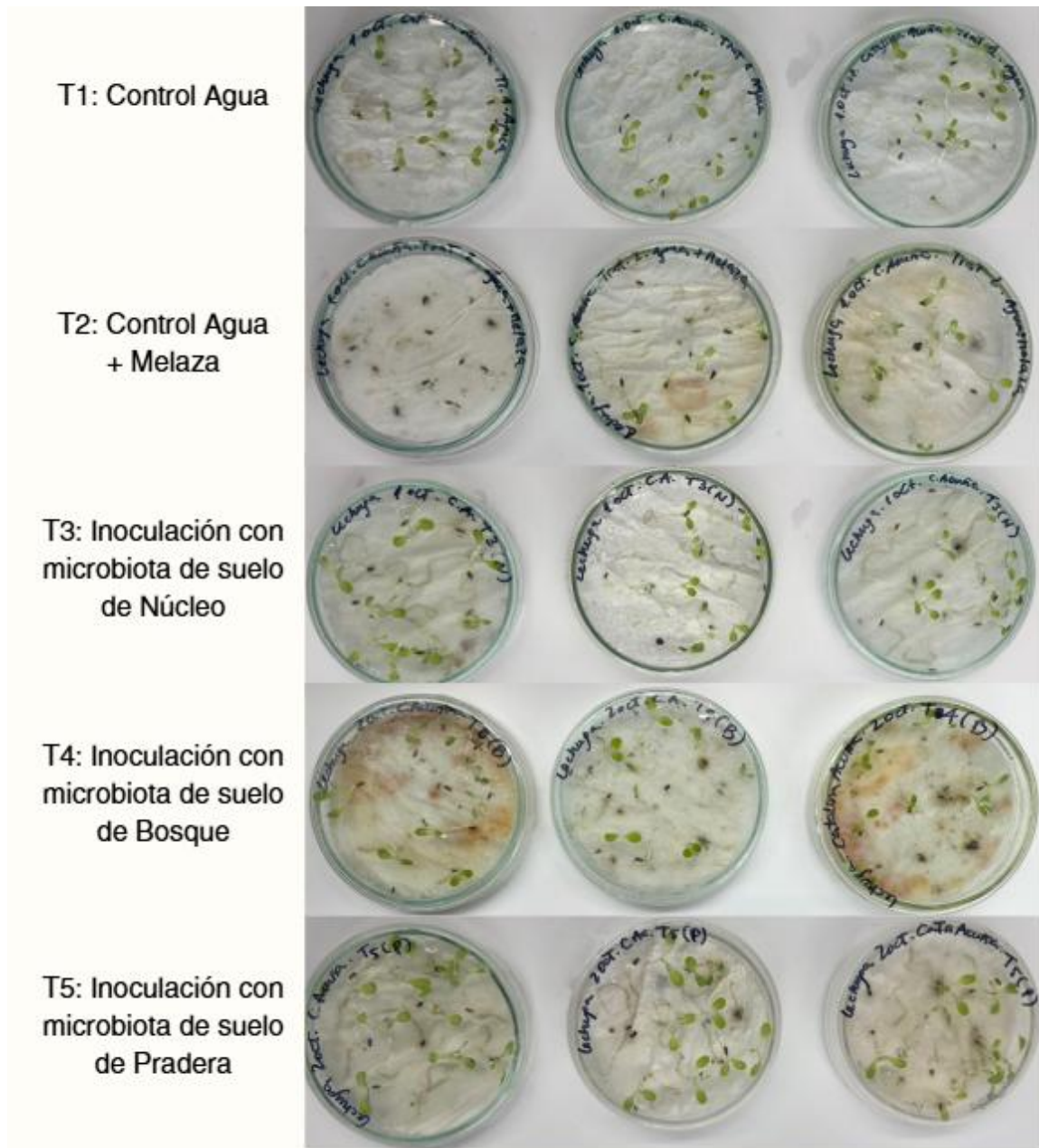
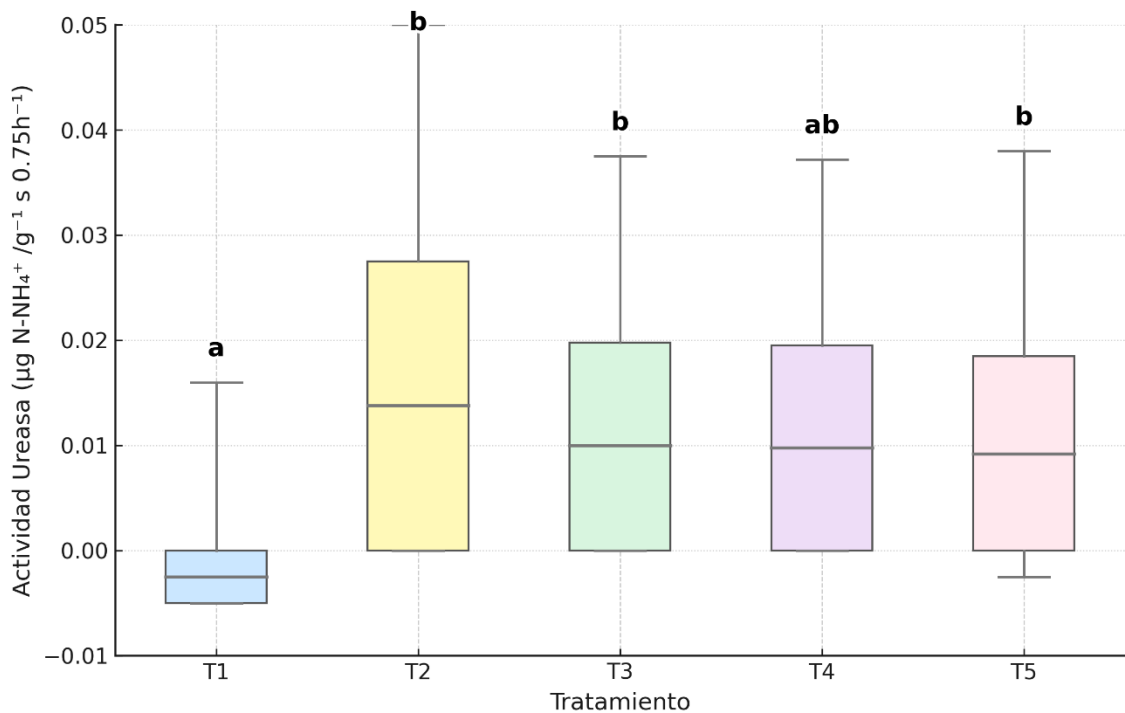


Figura 3.1. Comparación visual de germinación y desarrollo inicial en bioensayo exploratorio realizado sobre semillas de *L. sativa* en placas Petri bajo cinco tratamientos con soluciones líquidas, controles y TSA. Se aplicaron 10 semillas por placa las cuales fueron proporcionadas por el LEV, por triplicado, para cada uno de los tratamientos: T1 (control negativo: agua corriente), T2 (control positivo: agua + melaza), T3 (TSA de núcleo (bosque joven)), T4 (TSA de suelo de bosque antiguo) y T5 (TSA de suelo de pradera).

3.2. Análisis microbiológicos en pre-ensayo

3.2.1. Actividad enzimática de ureasa

La actividad ureasa mostró un comportamiento diferencial entre tratamientos, reflejando la capacidad de cada condición experimental para modular procesos microbianos asociados al ciclo del nitrógeno. El control negativo (T1) presentó los valores más bajos de actividad ureasa (Figura 3.2), lo que sugiere una limitada biomasa microbiana activa y, por ende, una menor capacidad potencial de mineralización de nitrógeno. Este resultado es consistente con lo descrito para suelos sin aporte orgánico ni inoculación, donde la actividad de esta enzima — mayoritariamente de origen microbiano— suele mantenerse en niveles reducidos (Klose & Tabatabai, 2000; Pei et al., 2024).



(E1) p-valor (ANOVA): 0.000560615

Figura 3.2. Actividad de la enzima ureasa del suelo ($\mu\text{g NH}_4^+$ liberado $\cdot\text{g}^{-1}$ suelo) bajo cinco tratamientos: T1 (agua), T2 (agua + melaza), T3–TSA (inóculo de suelo de núcleo), T4–TSA (inóculo de suelo de bosque) y T5–TSA (inóculo de suelo de pradera). T2 (agua + melaza) presentó actividad mayor que T1, con T3–T5 en rangos intermedios. Letras distintas indican diferencias significativas cuando corresponde ($\alpha = 0,05$) según prueba post-hoc de Tuckey.

En contraste, todos los tratamientos con adición de carbono o microbiota (T2–T5) mostraron incrementos significativos de la actividad ureasa respecto al control T1, sin diferencias significativas entre ellos (letras iguales; Figura 3.2). En particular, el tratamiento agua + melaza (T2) alcanzó valores elevados de actividad ureasa, aunque con una mayor dispersión entre réplicas. Este patrón es consistente con un efecto de estimulación rápida asociado al aporte de carbono fácilmente disponible, característico de fenómenos de *priming*, donde la

activación metabólica puede ser intensa pero heterogénea entre microambientes y réplicas (Zhang et al., 2017; Wang & Xiang, 2022; Li et al., 2023).

Por su parte, los tratamientos inoculados con microbiota de suelos nativos (T3, T4 y T5) presentaron niveles de actividad ureasa comparables en magnitud a T2, pero con una menor dispersión de los valores. Si bien este estudio no evalúa estabilidad ni dinámica temporal, esta menor variabilidad sugiere un comportamiento funcional más consistente entre réplicas, potencialmente asociado a comunidades microbianas más integradas funcionalmente. En este sentido, diversos estudios han señalado que comunidades microbianas diversas y adaptadas pueden sostener funciones del suelo de manera más coordinada, aun cuando la magnitud instantánea de la actividad enzimática sea similar a la inducida por fuentes de carbono simple (Klose & Tabatabai, 2000; Han et al., 2021; Pei et al., 2024).

En conjunto, estos resultados indican que tanto la adición de carbono simple como la inoculación con microbiota nativa incrementan la actividad ureasa respecto al control sin intervención. No obstante, mientras el tratamiento con melaza tiende a mostrar respuestas más variables, los tratamientos con microbiota nativa exhiben respuestas comparables en magnitud y más homogéneas entre réplicas. Este patrón es consistente con la idea de que comunidades microbianas diversas pueden contribuir a un funcionamiento

microbiano más integrado, lo que resulta particularmente relevante para sostener procesos del ciclo del nitrógeno en contextos de estrés ambiental (Klose & Tabatabai, 2000; Li et al., 2023; Han et al., 2021).

3.2.2. Recuento de unidades formadoras de colonias

El recuento de unidades formadoras de colonias (UFC, por sus siglas en inglés) permitió estimar la fracción bacteriana cultivable asociada a los tratamientos con microbiota de suelos nativos (T3–T5). Se observaron diferencias en la magnitud de los recuentos entre tratamientos. En el tratamiento Núcleo (T3), la densidad microbiana fue del orden de 3×10^6 UFC·g⁻¹, mientras que en los tratamientos Bosque (T4) y Pradera (T5) los valores alcanzaron órdenes de magnitud superiores, cercanos a $\sim 6 \times 10^7$ UFC·g⁻¹ (Figura 3.3).

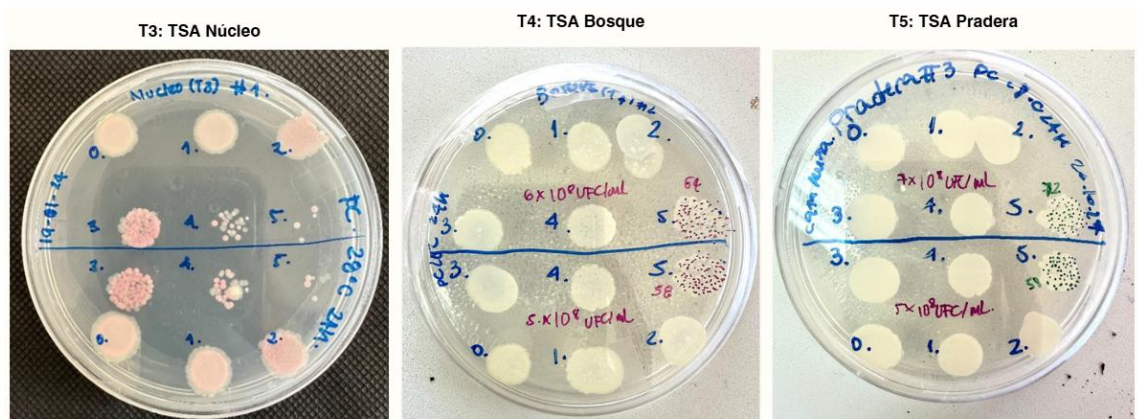


Figura 3.3. Comparación visual del recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) placas de Petri inoculadas con diluciones de TSA para T3 (inóculo de suelo de núcleo), T4 (inóculo de suelo de bosque) y T5 (inóculo de suelo de pradera). Se observan diferencias en abundancia y morfotipos entre tratamientos (del orden de 3×10^6 UFC/g en T3 y de $\sim 6 \times 10^7$ UFC/g en T4 y T5; orden de izquierda a derecha: T3, T4, T5).

Desde un punto de vista cualitativo, en T3 predominaron colonias rosadas, convexas y de aspecto mucoso (Figura 3.3, izquierda), compatibles con morfotipos asociados a géneros como *Rhodococcus* o *Micrococcus*. Estos grupos bacterianos han sido descritos por su capacidad para persistir en condiciones oligotróficas y metabolizar una amplia gama de compuestos orgánicos e inorgánicos, lo que les confiere un rol potencial en procesos de biorremediación (Nazari et al., 2022). En este contexto, su predominio en T3 podría asociarse a comunidades microbianas adaptadas a ambientes edáficos con menor disponibilidad de recursos. En contraste, en los tratamientos T4 y T5 se observó una distribución más homogénea de colonias en la superficie del medio de cultivo, sin diferencias pigmentarias ni morfológicas evidentes entre

ambos tratamientos (Figura 3.3, centro y derecha). Dado que el cultivo en placa permite acceder solo a una fracción de la microbiota total del suelo, estas observaciones se interpretan principalmente como variaciones en la abundancia relativa de microorganismos cultivables, más que como evidencia directa de diversidad taxonómica o identidad microbiana específica.

Este patrón es consistente con antecedentes locales obtenidos en la Península de Hualpén. En un estudio realizado en suelos de pradera, núcleos de vegetación y bosque adulto, Coronil (2023) reportó recuentos de bacterias cultivables del orden de 10^7 – 10^8 UFC·g⁻¹ de suelo seco, sin detectar diferencias estadísticamente significativas entre tipos de cobertura vegetal, a pesar de variaciones numéricas entre tratamientos. Estos resultados refuerzan la idea de que la fracción cultivable puede variar en magnitud sin reflejar necesariamente cambios proporcionales en la estructura total de la comunidad microbiana.

Aunque los métodos de cultivo presentan limitaciones inherentes, continúan siendo herramientas útiles para caracterizar la porción viable y metabólicamente activa de la microbiota edáfica. La abundancia de microorganismos cultivables se ha vinculado con procesos funcionales relevantes, como la descomposición de materia orgánica y el ciclado de nutrientes, particularmente en suelos con elevada actividad biológica o aportes constantes de residuos vegetales (Vieira & Nahas, 2005; Waring et al., 2022; Mir et al., 2023). En este contexto, los

recuentos de UFC constituyen un indicador complementario que permite contextualizar el impacto funcional potencial de los distintos inoculantes microbianos, especialmente cuando se interpretan en conjunto con métricas enzimáticas y respiratorias.

3.2.3. Respiración total de suelos

La respiración basal del suelo, cuantificada como CO_2 atrapado en NaOH y valorado por titulación con HCl, no mostró diferencias significativas entre tratamientos (Kruskal–Wallis, $p = 0.3899$; Fig. 3.4). El método de incubación cerrada con trampa alcalina —que incluye la precipitación con BaCl_2 y la valoración del NaOH remanente— corresponde a un procedimiento estándar y ampliamente validado para estimar la respiración microbiana bajo condiciones controladas (Isermeyer, 1952; Schinner et al., 1996). Durante las 72 h de incubación, los frascos con suelo (T1–T5) consumieron menos ácido que los blancos, debido a la neutralización parcial del NaOH por el CO_2 de origen biológico, tal como establece el protocolo.

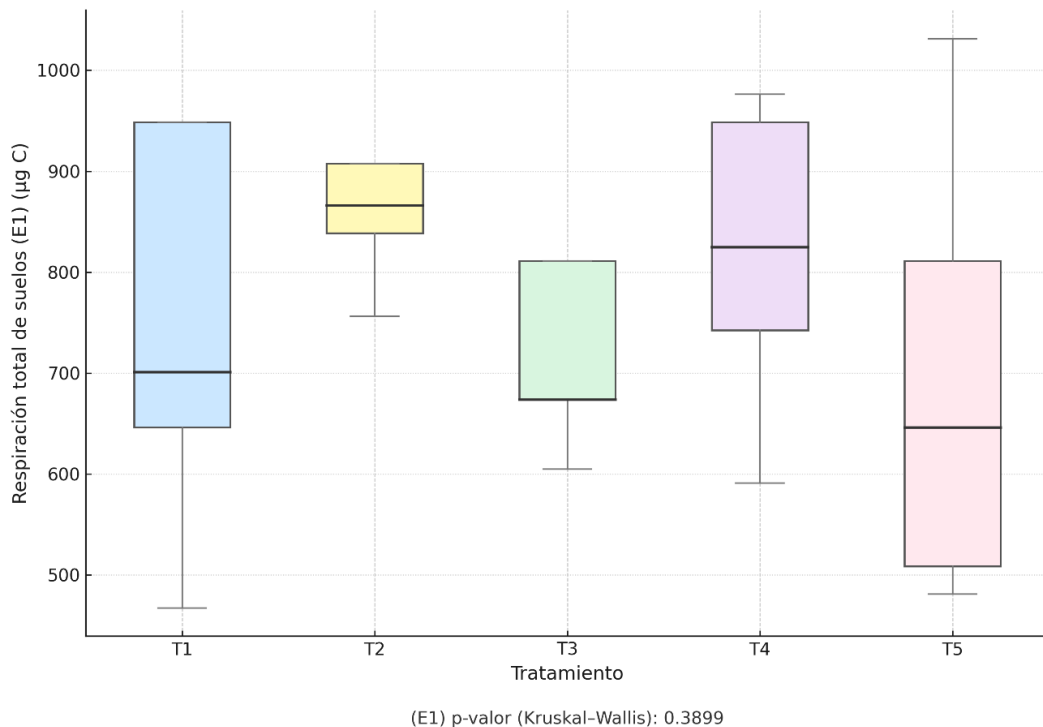


Figura 3.4. Respiración total de suelos en pre-ensayo exploratorio (E1) en *C. alba*, expresada como $\mu\text{g C}$, bajo cinco tratamientos: T1 (agua), T2 (agua + melaza), T3–TSA (inóculo de suelo de núcleo), T4–TSA (inóculo de suelo de bosque) y T5–TSA (inóculo de suelo de pradera). Los puntos corresponden a valores atípicos. No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos (Kruskal–Wallis, $p = 0.3899$).

Si bien se observó variabilidad en los valores de respiración entre tratamientos, esta no se tradujo en diferencias estadísticamente significativas a la escala temporal evaluada. En consecuencia, los resultados indican que, bajo las condiciones del pre-ensayo exploratorio y en un único punto temporal (72 h), la adición de microbiota o de fuentes de carbono no modificó de manera detectable la respiración total del suelo respecto al control.

Este comportamiento es consistente con estudios que, al comparar inóculos de distinta procedencia o tratamientos con adición orgánica, reportan variabilidad en las tasas respiratorias sin diferencias significativas en el corto plazo, particularmente cuando las mediciones se realizan en ventanas temporales acotadas (Pardo-Plaza et al., 2019; Dadzie et al., 2023b). En este contexto, la respiración basal refleja una respuesta integrada de la comunidad microbiana, que puede no discriminar entre tratamientos cuando se evalúa como una medición puntual.

Por lo tanto, para profundizar en los mecanismos subyacentes y discriminar posibles diferencias funcionales entre tratamientos, sería necesario complementar este indicador con métricas adicionales, tales como biomasa microbiana, respiración específica (qCO_2) o estimaciones directas de eficiencia en el uso del carbono mediante trazadores isotópicos, tal como ha sido propuesto en estudios previos (Dove et al., 2021; Wang et al., 2021).

3.3. Mediciones de estructura aérea en pre-ensayo exploratorio

En el pre-ensayo exploratorio (Figura 3.5), las variables de estructura aérea mostraron una respuesta limitada frente a la inoculación con microbiota de distintos orígenes. La mayoría de los rasgos evaluados no presentó diferencias

significativas entre tratamientos (ver anexo), lo que indica que, durante el periodo considerado, estos atributos no fueron sensibles a la inoculación microbiana.

Este patrón es coherente con antecedentes que indican que los efectos del microbioma sobre rasgos aéreos suelen ser dependientes del tiempo y del estadio de desarrollo de la planta, y que en fases tempranas de crecimiento las diferencias fenotípicas pueden ser poco evidentes, aun cuando existan contrastes funcionales entre tratamientos (Berendsen et al., 2012; Noman et al., 2021; Trivedi et al., 2020).



Figura 3.5. Comparación visual del pre-ensayo exploratorio sobre el crecimiento de plántulas de *C. alba* sometidas a cinco tratamientos. Las columnas presentan de izquierda a derecha los tratamientos: T1 (control negativo: agua), T2 (control positivo: agua + melaza), T3-TSA (inóculo de suelo de núcleo), T4-TSA (inóculo de suelo de bosque) y T5-TSA (inóculo de suelo de pradera). con sus réplicas. El panel muestra variación en el tamaño y la cobertura foliar posterior a la inoculación.

En contraste, el peso seco aéreo (PSA) evidenció diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA, $p < 0.05$; Figura 3.6a), mostrando un incremento desde el control negativo hacia los tratamientos con microbiota nativa. En particular, el tratamiento T5 (Pradera) presentó el valor medio más alto, superando significativamente al control T1. De forma complementaria, el contenido de agua

aérea (CAA%) también mostró diferencias entre tratamientos (ANOVA, $p = 0.0465$; Figura 3.6b), reflejando estrategias contrastantes entre tratamientos en términos de asignación de biomasa y contenido hídrico. Aunque CMSF resultó significativo en el análisis global (ANOVA, $p = 0.02$), las comparaciones múltiples no detectaron diferencias, probablemente por variabilidad intra-tratamiento y tamaño muestral. Para mantener la consistencia interpretativa y el uso eficiente del espacio, el gráfico no se presenta.

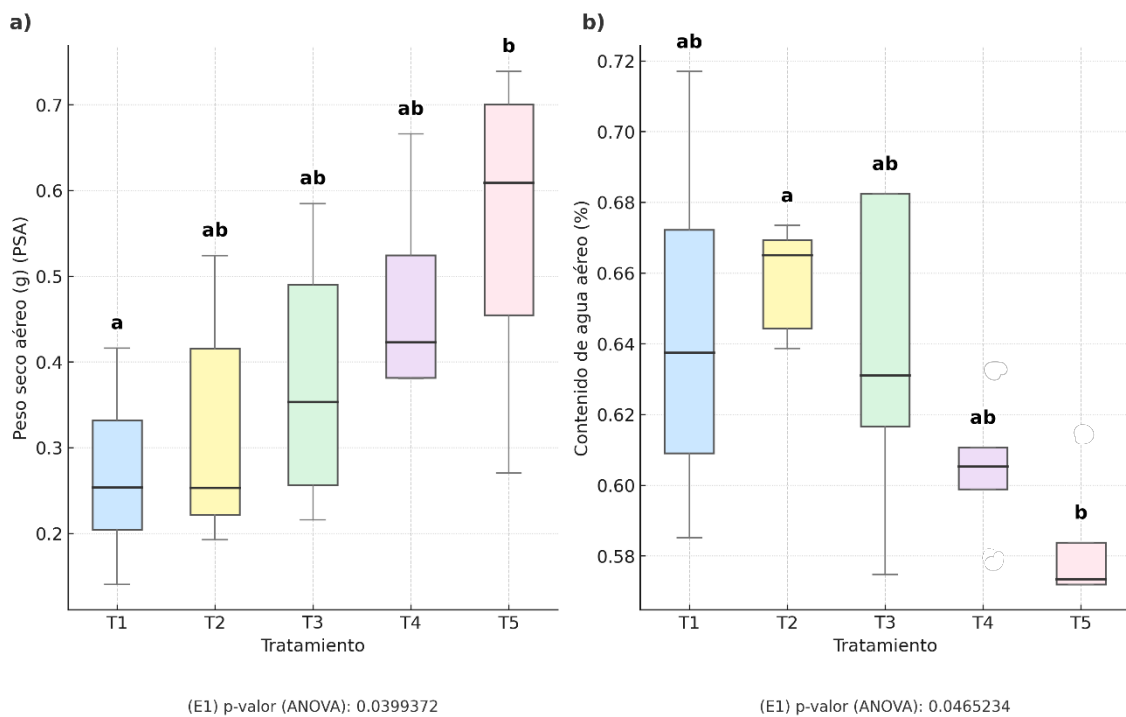


Figura 3.6. Peso seco aéreo (PSA) (a) y Contenido de agua aéreo (CAA%) (b) en pre-ensayo exploratorio (E1) para *C. alba* bajo cinco tratamientos T1 (control negativo: agua), T2 (control positivo: agua + melaza), T3-TSA (inóculo de suelo de núcleo), T4-TSA (inóculo de suelo de bosque) y T5-TSA (inóculo de suelo de pradera). Letras distintas indican diferencias significativas (post hoc de Tukey, $\alpha = 0,05$).

En conjunto, estos resultados confirman que los tratamientos no fueron funcionalmente equivalentes, ya que afectaron de manera diferencial la acumulación de biomasa aérea y el contenido de agua de los tejidos, sin generar respuestas generalizadas en el resto de los rasgos evaluados. Este patrón es coherente con el carácter exploratorio del ensayo, orientado a identificar contrastes funcionales iniciales entre tratamientos y a informar el diseño y la interpretación del ensayo principal.

3.4. Mediciones de estructura radicular en pre-ensayo exploratorio

El análisis de la arquitectura radicular mediante WinRhizo® evidenció respuestas diferenciadas entre tratamientos durante el pre-ensayo exploratorio (Figuras 3.7–3.11). En este contexto, las variables asociadas a la estructura del sistema radicular mostraron mayor sensibilidad a la inoculación microbiana que los rasgos aéreos evaluados en esta fase.



Figura 3.7. Comparación visual de la morfología aérea de plántulas de *C. alba* en pre-ensayo (sustrato 50% compost: 50% corteza de pino) bajo T1–T5 (de izquierda a derecha): T1 (agua), T2 (agua + melaza), T3–TSA (inóculo de suelo de núcleo), T4–TSA (inóculo de suelo de bosque) y T5–TSA (inóculo de suelo de pradera). Se aprecian diferencias en vigor y desarrollo radicular en tratamientos inoculados (T3–T5).



Figura 3.8. Comparación visual de la morfología radicular en pre-ensayo de *C. alba* generado con el software Winrhizo© (25 individuos; cinco por tratamiento) bajo T1–T5: T1 (agua), T2 (agua + melaza), T3–TSA (inóculo de suelo de núcleo), T4–TSA (inóculo de suelo de bosque) y T5–TSA (inóculo de suelo de pradera). Los tratamientos inoculados (T3–T5) exhiben raíces más extensas y ramificadas que los controles, sugiriendo una arquitectura de exploración más desarrollada.

En particular, se observaron diferencias significativas en AR, VR, ARE y PFR (Figura 3.9). Si bien no todos los tratamientos inoculados difirieron del control, emergió un patrón consistente en el que el tratamiento T5 (Pradera) presentó los valores más altos en AR, VR y PFR, diferenciándose del control negativo T1. Los tratamientos T3 (Núcleo) y T4 (Bosque) mostraron respuestas positivas, aunque más variables y sin diferenciarse sistemáticamente de los controles. Este patrón sugiere que, bajo condiciones primaverales relativamente benignas, *C. alba* prioriza la inversión subterránea y expresa tempranamente diferencias fenotípicas en respuesta a la microbiota, coherente con la plasticidad de la arquitectura radicular (RSA) descrita para ambientes moderados (Karlova et al., 2021).

En contraste, el tratamiento T2 (Agua + melaza) no reprodujo el patrón observado en los tratamientos con microbiota nativa, lo cual confirma que la adición de melaza induce un pulso de C lábil que favorece microbiota heterótrofa no simbiótica, con inmovilización temporal de N y alta demanda respiratoria de O₂ en la rizósfera (Baños et al., 2010; Expósito et al., 2022), coherente con los análisis microbiológicos anteriores. Este escenario promueve competencia más que cooperación: las bacterias desvían recursos hacia su propio metabolismo, reduciendo la ganancia neta de la planta (Nugroho et al., 2023).

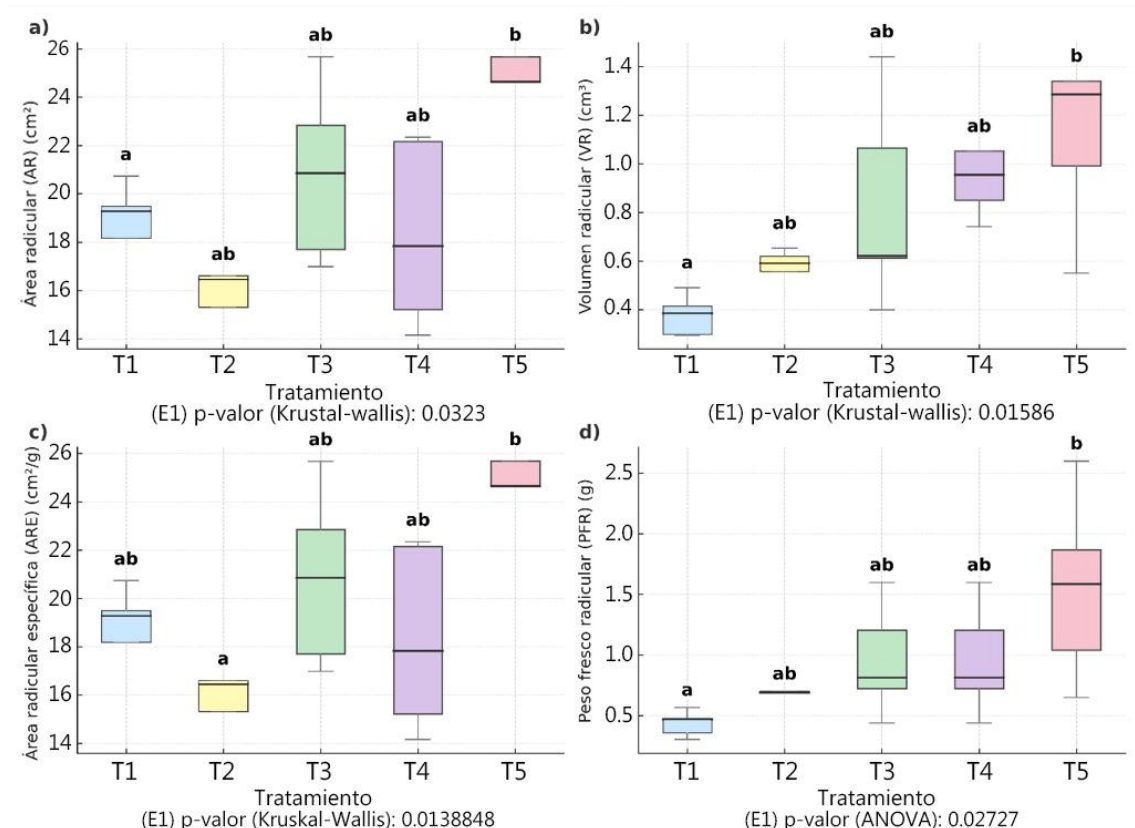


Figura 3.9. Cuatro variables de la estructura radicular en pre-ensayo (E1) de *C. alba* bajo T1–T5: T1 (agua), T2 (agua + melaza), T3–TSA (inóculo de suelo de núcleo), T4–TSA (inóculo de suelo de bosque) y T5–TSA (inóculo de suelo de pradera). Área radicular (AR) (a), volumen radicular (VR) (b), área radicular específica (ARE) (c) y peso fresco radicular (PFR) (d). En general, T3–T5 superaron a los controles en mediana y dispersión. Letras distintas sobre las cajas indican diferencias significativas entre tratamientos (post hoc de Dunn o Tukey, según supuestos; $\alpha = 0,05$).

Desde una perspectiva exploratoria, estos resultados indican que la inoculación con microbiota nativa puede influir tempranamente en la arquitectura radicular de *C. alba*, manifestándose en incrementos de variables estructurales asociadas a la exploración del sustrato, particularmente en el tratamiento de pradera. En este sentido, el aumento de ARE observado en los tratamientos inoculados sugiere

cambios en la relación superficie/biomasa de las raíces, coherentes con respuestas tempranas en rasgos de arquitectura radicular bajo condiciones favorables (Karlova et al., 2021; Upadhyay et al., 2022).

Además de esto, el comportamiento de las variables de eficiencia radicular (Fig. 3.10) aporta matices mecanísticos. Aunque T1 exhibió la DR más alta, los tratamientos inoculados—especialmente T5—alcanzaron CAR% más elevados, señalando mayor eficiencia en absorción/retención hídrica. Esto sugiere dos estrategias contrastantes:

1. T1 compensa la ausencia de simbioses con un sistema más denso, pero menos eficiente (raíces relativamente más gruesas/compactas, menor superficie exploratoria por unidad de biomasa).
2. T5 expresa un sistema menos denso, pero más eficiente, optimizado por la microbiota (mayor captación por unidad de biomasa/volumen).

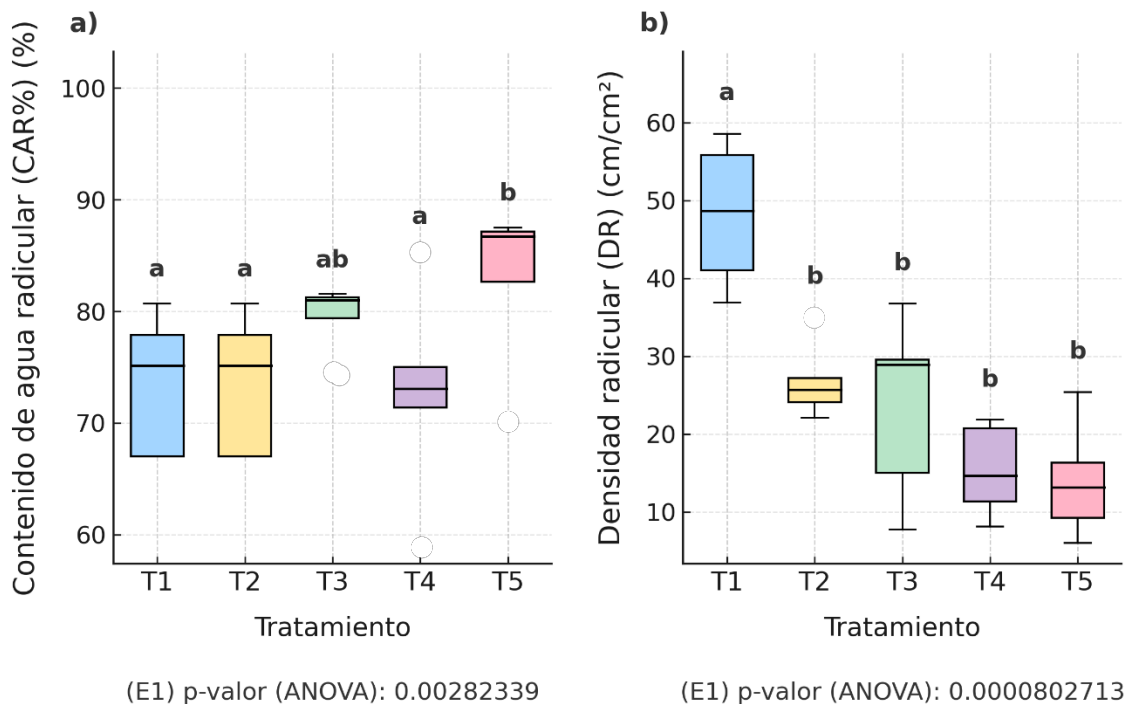


Figura 3.10. Contenido de agua radicular (CAR, %) (a) y Densidad radicular (DR, cm/cm⁻²) (b) en pre-ensayo exploratorio (E1) de *C. alba* bajo T1–T5: En el pre-ensayo exploratorio, los tratamientos con inoculación microbiana (T3–T5) mostraron mayores valores de densidad radicular y contenido de agua en las raíces en comparación con los controles. En particular, el tratamiento T5 (TSA pradera) presentó el mayor contenido de agua y la mayor densidad radicular, sugiriendo que la microbiota nativa puede promover una mayor exploración del sustrato y mayor retención de agua en las raíces. Sin embargo, los tratamientos con carbono simple (T2) no mostraron diferencias significativas en la asignación de agua radicular. Estos resultados indican que los tratamientos microbianos influyen de manera diferenciada en la estructura y funcionalidad del sistema radicular de *C. alba*, lo que será evaluado más detalladamente en el ensayo experimental posterior.

El contenido de materia seca radicular (CMSR) también presentó diferencias significativas entre tratamientos (Figura 3.11). El tratamiento T5 alcanzó los valores más altos, mientras que T2 presentó los más bajos, reflejando una menor inversión estructural y posible predominio de procesos heterótrofos vinculados al

carbono lábil de la melaza (Baños et al., 2010; Expósito et al., 2022); los tratamientos restantes se ubicaron en una posición intermedia. Este patrón refuerza la idea de que los tratamientos influyeron en la asignación de biomasa a nivel radicular durante la fase exploratoria, sin evidenciar respuestas homogéneas entre todos los tratamientos inoculados.

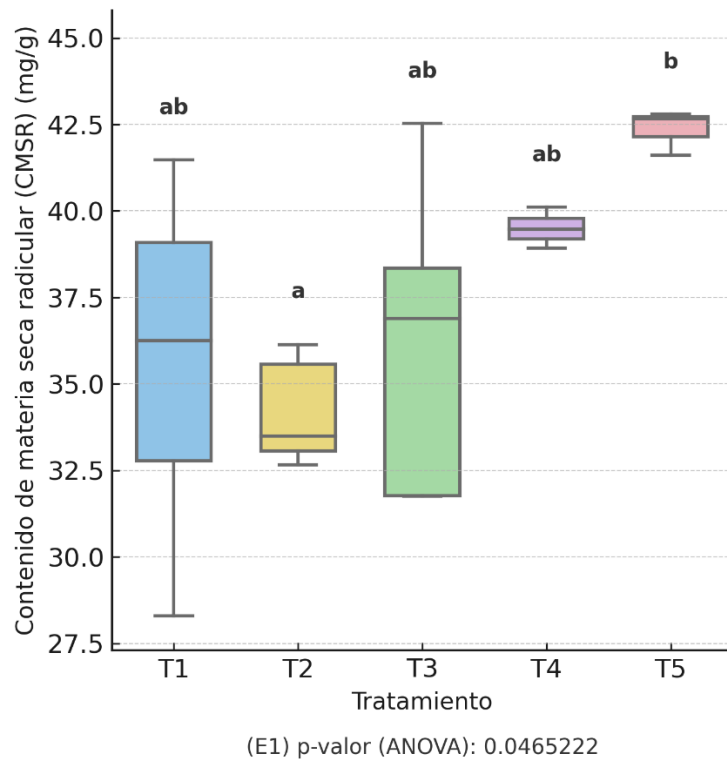


Figura 3.11. Contenido de materia seca radicular (CMSR, mg/g) en plántulas de *C. alba* bajo tratamientos T1–T5 en pre-ensayo (E1): El contenido de materia seca radicular presentó diferencias significativas entre tratamientos en el pre-ensayo exploratorio. El tratamiento T5 mostró los valores más altos de CMSR, mientras que T2 presentó los valores más bajos. Los tratamientos restantes se ubicaron en una posición intermedia. Estos resultados indican que los tratamientos influyen en la asignación de biomasa a nivel radicular, reforzando la idea de que la inoculación con microbiota nativa genera respuestas estructurales diferenciadas en *C. alba* durante la etapa exploratoria.

La ventana de evaluación de la Fase 1 fue suficiente para evidenciar respuestas tempranas a nivel radicular asociadas a la inoculación con consorcios microbianos nativos, sin requerir aún divergencias marcadas en la parte aérea. En condiciones primaverales, caracterizadas por menores limitaciones abióticas, las plantas de *C. alba* tienden a priorizar el establecimiento del sistema radicular, observándose en los tratamientos con inoculación patrones consistentes de mayor desarrollo estructural (\uparrow AR, \uparrow VR, \uparrow ARE, \uparrow CMSR). Estos resultados sugieren que la interacción planta–microbiota puede manifestarse tempranamente en rasgos de arquitectura radicular bajo condiciones favorables, en concordancia con estudios que describen una maduración progresiva de la comunidad microbiana asociada a la raíz a medida que avanza el desarrollo de la planta (Edwards et al., 2018; Vidal et al., 2022).

Por último, no todas las variables radiculares respondieron significativamente a los tratamientos. PSR, LR y los índices de asignación (RBA/RF, RBA/RS y RA/LR) no mostraron diferencias entre tratamientos. Estas variables suelen ser más conservadoras o menos sensibles en fases tempranas del desarrollo, pudiendo mantenerse relativamente estables por mecanismos de balance interno de la planta, aun cuando se detecten cambios en otros componentes estructurales del sistema radicular (Poorter et al., 2012).

3.5. Mediciones de estructura aérea para ensayo principal

Durante el ensayo principal (verano 2025), la inoculación con microbiota nativa se asoció a diferencias significativas en la arquitectura aérea de *C. alba*, evidenciadas en varias de las variables evaluadas (Figura 3.12). En particular, los tratamientos T3, T4 y T5 presentaron valores superiores a los controles (T1–T2) en NH y AF, así como incrementos significativos en %CT, con aumentos del orden de 50–160% respecto a los controles (Tabla 3.1).

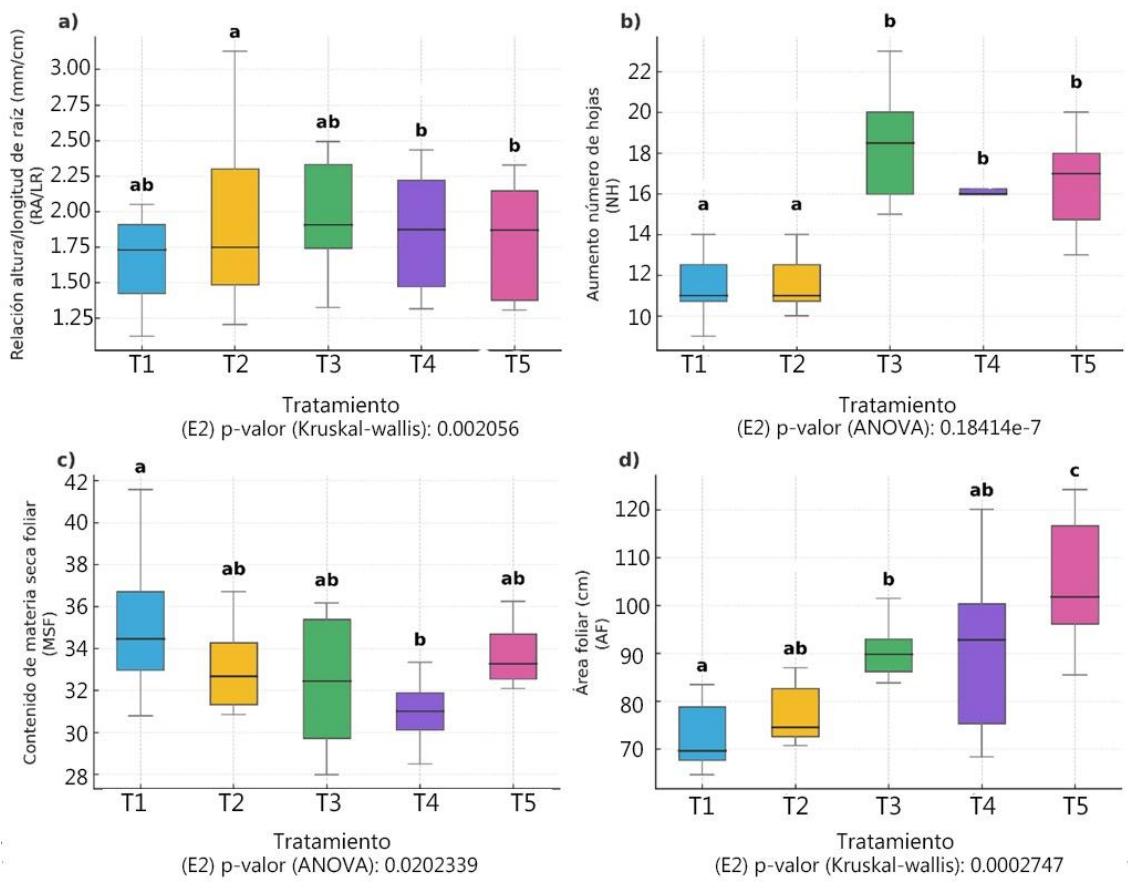


Figura 3.12. Cuatro variables aéreas en ensayo principal (E2) (verano 2025) de *C. alba* bajo T1–T5: T1 (agua), T2 (agua + melaza), T3–TSA (inóculo de suelo de núcleo), T4–TSA (inóculo de suelo de bosque) y T5–TSA (inóculo de suelo de pradera). Relación altura/longitud de raíz (RA/LR) (a), aumento de número de hojas (NH) (b), materia seca foliar (MSF) (c) y área foliar (AF) (d). Letras distintas sobre las cajas indican diferencias significativas (post hoc de Dunn para RA/LR y NH; post hoc de Tukey para MSF y AF; $\alpha = 0,05$).

Tabla 3.1. Media de parámetros de crecimiento y desarrollo aéreo en plantas de *C. alba* pertenecientes al ensayo principal bajo diferentes tratamientos en verano del 2025.

Tratamiento	%CT	NH	AF	CAA%
T1	80,3% (ab)	11 (a)	72,6 (a)	64,7% (a)
T2	63% (a)	11 (a)	81,1 (ab)	68,2% (ab)
T3	108,2% (b)	18 (b)	87,2 (b)	67,7% (ab)
T4	121,7% (b)	16 (b)	90,9 (ab)	68,5% (ab)
T5	125,5% (b)	17 (b)	104,5 (c)	66,2% (b)

*Abreviaturas: %CT: tasa de crecimiento del tallo (%); NH: número de hojas; AF: área foliar (cm); CAA%: contenido de agua aéreo (%). Letras diferentes representan diferencias significativas (Dunn/Tukey, $p \leq 0,05$).

Estos resultados se observaron bajo condiciones estivales caracterizadas por mayores demandas atmosféricas, lo que sugiere que el efecto de la inoculación microbiana puede expresarse con mayor claridad en contextos ambientales más exigentes, aun cuando estas condiciones no fueron evaluadas explícitamente como factor experimental, la literatura sugiere que los efectos asociados a consorcios microbianos funcionales pueden expresarse con mayor claridad en contextos de mayor demanda hídrica y nutricional, sin que ello implique una relación causal directa demostrada en este estudio (Berendsen et al., 2012; Koziol et al., 2022; Yu et al., 2022; Dadzie et al., 2023a). En este sentido, el patrón

observado concuerda con reportes a escala de vivero y campo, donde biostimulantes microbianos diversificados se asocian a mejoras en la adquisición de recursos y en el crecimiento vegetal (Wei et al., 2024).

De manera complementaria, la respuesta no fue homogénea entre todos los rasgos aéreos evaluados: mientras algunas variables, como CMSF y RA/LR, mostraron diferencias entre tratamientos, otros indicadores no respondieron significativamente. Este comportamiento es consistente con una expresión diferencial de rasgos morfofuncionales a lo largo del desarrollo, más que con una respuesta uniforme de la arquitectura aérea.

En conjunto, los resultados del ensayo principal indican que la inoculación con consorcios microbianos nativos se asoció a patrones de crecimiento aéreo diferenciados respecto a los controles, en coherencia con lo observado en la fase exploratoria. Para profundizar en los mecanismos subyacentes a estas respuestas, futuros estudios deberían integrar métricas complementarias —como biomasa microbiana, respiración específica (qCO_2) y eficiencia en el uso del carbono (CUE)— y considerar diseños experimentales que permitan desagregar explícitamente los efectos del tiempo y del ambiente (Poorter et al., 2012; Freschet et al., 2015; Noman et al., 2021).

3.6. Mediciones de estructura radicular para ensayo principal

En el ensayo principal, el análisis del sistema radicular a partir de imágenes obtenidas mediante escáner y procesadas con WinRhizo® (Figura 3.13) mostró que ninguna de las variables radiculares evaluadas presentó diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 3.2), en contraste con los patrones observados en la fase exploratoria.



Figura 3.13. Comparación visual de la morfología del sistema radicular generada por software Winrhizo© en ensayo principal de *C. alba* (40 individuos; ocho por tratamiento) bajo T1–T5. Los tratamientos con microbiota nativa (T3–T5) sugieren visualmente raíces más largas y ramificadas que los controles T1 y T2.

Este resultado indica una convergencia en la respuesta subterránea de *C. alba* durante el periodo evaluado, sugiriendo que, bajo las condiciones del ensayo principal, la variabilidad entre tratamientos fue menor a la detectada en etapas tempranas. En este contexto, factores ambientales propios del periodo estival — como mayores temperaturas, mayor radiación y una demanda atmosférica más elevada— podrían actuar como filtros abióticos que atenúan la expresión de diferencias estructurales en el sistema radicular, favoreciendo respuestas más homogéneas entre tratamientos (Freschet et al., 2015; Galindo-Castañeda et al., 2024).

Tabla 3.2. Valores de p-valor obtenidos mediante ANOVA o prueba de Kruskal–Wallis, según correspondió, para las variables de crecimiento y desarrollo radicular evaluadas en plantas de *C. alba* del ensayo principal (verano 2025). Se utilizó ANOVA para variables que cumplieron supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, y Kruskal–Wallis en caso contrario. Umbral de significancia: $\alpha = 0.05$.

Variable radicular	ANOVA (p-valor)	Kruskal-Wallis (p-valor)
LR	-	0.065
VR	0.637	
AR	0.278	-
ARE	0.148	-
PFR	0.806	-
PSR	0.936	-
DR	-	0.62
CAR%	0.880	-
CMSR	-	0.976
RBA/RF	-	0.122
RBA/RS	0.933	-
RA/LR	-	0.002

* El símbolo “–” indica que la prueba estadística no fue aplicada a esa variable. Abreviaturas: LR: longitud de raíz (cm); VR: volumen radicular (cm³); AR: área radicular (cm²); ARE: área radicular específica (mm²/mg); PFR: peso fresco radicular (g); PSR: peso seco radicular (g); DR: densidad radicular (cm/cm²); CAR%: contenido de agua radicular (%); CMSR: contenido de materia seca radicular (%); RBA/RF: relación biomasa aérea/raíz fresca; RBA/RS: relación biomasa aérea/raíz seca; RA/LR: relación altura/longitud de raíz (mm/cm).

En este escenario, los efectos de los inóculos microbianos persisten de forma más sutil y funcional —por ejemplo, en índices de acoplamiento aéreo-subterráneo como RA/LR— más que en magnitudes estructurales de raíz. Ello concuerda con una plasticidad inducida por el ambiente y con la acción de filtros

abióticos que seleccionan consorcios microbianos relativamente más tolerantes, atenuando los contrastes a escala de tratamiento (Freschet et al., 2015; Edwards et al., 2018; Amitrano et al., 2019; Hartman et al., 2019; Trivedi et al., 2020).

En conjunto, los hallazgos de este ensayo indican que la plasticidad ambiental y la escala temporal fueron los factores dominantes de la respuesta radicular de *C. alba*, mientras que los consorcios microbianos ejercieron efectos puntuales sobre rasgos de ajuste funcional (p. ej., RA/LR). Este patrón coincide con lo planteado por Galindo-Castañeda et al. (2024): bajo condiciones de mayor demanda atmosférica, las respuestas tienden a converger, aunque la influencia microbiana persiste en atributos clave de acoplamiento morfo-funcional.

IV. CONCLUSIONES

- La caracterización microbiológica realizada en la Fase 1 permitió confirmar que los tratamientos con microbiota nativa presentan actividad biológica diferenciada y funcional. Los TSA exhibieron niveles estables de actividad ureasa y densidades microbianas cultivables, lo que indica una comunidad microbiana metabólicamente activa y con potencial de interacción beneficiosa con la planta. En contraste, el tratamiento con melaza estimuló respuestas enzimáticas inestables y menor eficiencia funcional, sugiriendo competencia microbiana más que cooperación. Estos resultados validan la pertinencia biológica de los inoculantes nativos y respaldan su uso en el ensayo principal.

- La inoculación con microbiota nativa se asoció a mejoras significativas en el desempeño de *C. alba* bajo condiciones de vivero, especialmente durante el verano, cuando las plantas enfrentan mayor estrés hídrico-atmosférico. Los tratamientos con consorcios provenientes de pradera, bosque maduro y bosque joven promovieron mayor elongación del tallo, aumento en número de hojas, mayor área foliar y ajustes funcionales coherentes con mejor adquisición de recursos. En primavera (Fase 1), el efecto microbiano se manifestó principalmente en la raíz, indicando una secuencia funcional donde la microbiota primero fortalece la arquitectura subterránea y luego sostiene el crecimiento

aéreo bajo condiciones más demandantes. Entre los inoculantes, la microbiota de pradera mostró el efecto más robusto y consistente.

- El conjunto de resultados demuestra que los consorcios microbianos autóctonos provenientes de ecosistemas nativos no degradados mejoran la fisiología, la asignación de biomasa y el rendimiento temprano de *C. alba* en vivero. La magnitud y el tipo de respuesta dependen tanto del origen del inóculo como de las condiciones ambientales en que se desarrolla la plántula, reflejando un acoplamiento dinámico entre planta y microbioma.

- Los hallazgos respaldan la aplicación de inoculantes microbianos nativos como herramienta biotecnológica para optimizar la producción de plantas nativas en vivero y fortalecer programas de restauración ecológica. Se recomienda avanzar hacia ensayos de campo, caracterización taxonómica y funcional de los consorcios microbianos, y pruebas de optimización de dosis y frecuencia de aplicación para su implementación operativa a mayor escala.

- Finalmente, se reconoce que la evaluación microbiológica se realizó únicamente en la Fase 1 y que el diseño exploratorio con una bandeja por fase implica limitaciones en la extrapolación de los resultados; no obstante, estas restricciones orientan de manera clara las líneas futuras de investigación y fortalecen la interpretación de los patrones observados.

V. ANEXO

Tabla A1: Valores de p-valor obtenidos mediante ANOVA o prueba de Kruskal–Wallis, según correspondió, para las variables aéreas e índices morfofuncionales evaluados en el pre-ensayo exploratorio. Se utilizó ANOVA para variables que cumplieron supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, y Kruskal–Wallis en caso contrario. Umbral de significancia: $\alpha = 0.05$.

Variable aérea	ANOVA (p-valor)	Kruskal-Wallis (p-valor)
%CT	-	0.472
NH	0.444	-
PSA	0.039	-
PFA	0.179	-
CAA%	0.046	-
CMSF	0.046	-
AF	0.323	-
AFE	-	0.135
RBA/RF	-	0.369
RBA/RS	0.456	-
RA/LR	0.248	-

* El símbolo “–” indica que la prueba estadística no fue aplicada a esa variable. Abreviaturas: %CT: tasa de crecimiento del tallo (%); NH: número de hojas; PSA: peso seco aéreo (g); PFA: peso fresco aéreo (g); CAA%: contenido de agua aérea (%); CMSF: contenido de materia seca foliar (%); AF: área foliar (cm²); AFE: área foliar específica (mm²/mg); RBA/RF: relación biomasa aérea/raíz fresca; RBA/RS: relación biomasa aérea/raíz seca; RA/LR: relación altura del tallo/longitud de raíz (mm/cm).

VI. GLOSARIO

1. Variables de crecimiento aéreo

- %CT (Tasa de aumento de longitud del tallo): Porcentaje de incremento en la altura del tallo con respecto al valor inicial; refleja el crecimiento vertical desde la base hasta el ápice de la planta.

- NH (Aumento en el número de hojas): Resultado total del aumento de hojas por planta al restar la cantidad de hojas iniciales de las finales; indicador del desarrollo vegetativo.

- PFA (Peso fresco aéreo): Masa de la parte aérea recién cosechada (tallos + hojas), expresada en gramos.

- PSA (Peso seco aéreo): Masa de la parte aérea tras secado a peso constante; refleja biomasa acumulada.

- AF (Área foliar): Superficie total de las hojas, expresada en cm^2 ; se asocia con la capacidad fotosintética.

- AFE (Área foliar específica): Relación entre el área foliar y el peso seco de las hojas ($\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$); evalúa la eficiencia en el uso de recursos.

- RBA/RF y RBA/RS (Relación biomasa aérea/raíz fresca o seca): Relación entre la biomasa aérea y la biomasa radicular, indica la asignación de recursos en la planta.

- RA/LR (Relación altura/longitud de raíz): Proporción entre altura aérea y longitud radicular; balance morfofuncional de la planta.

- MSF (Contenido de materia seca foliar): Porcentaje de materia seca respecto al peso fresco foliar, indicador de densidad tisular.

- CAA% (Contenido de agua aéreo): Proporción de agua en la parte aérea; calculada a partir de la diferencia entre peso fresco y seco.

2. Variables radiculares

- LR (Longitud de raíz): Longitud total del sistema radical principal y secundario, en cm.

- VR (Volumen de raíz): Volumen ocupado por el sistema radicular en cm^3 .

- PFR (Peso fresco radicular): Masa total de raíces sin deshidratar, en gramos.

- PSR (Peso seco radicular): Masa total de raíces tras secado a peso constante.

- CAR% (Contenido de agua radicular): Porcentaje de agua en las raíces, calculado por la diferencia entre peso fresco y seco.

- MSR (Contenido de materia seca radicular): Porcentaje de materia seca respecto al peso fresco del sistema radicular.

- AR (Área radicular): Superficie total del sistema de raíces, expresada en cm^2 .

- ARE (Área radicular específica): Relación entre el área radicular y el peso seco de la raíz ($\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$); refleja eficiencia exploratoria.

- DR (Densidad radicular): Masa radicular por volumen de suelo o sustrato, útil para evaluar ocupación edáfica.

- RSA (Root System Architecture): Configuración espacial del sistema radicular, que incluye la distribución, profundidad, ramificación y finesa de las raíces. La

RSA determina cómo la planta explora el suelo y cómo interactúa con la microbiota en distintos estratos.

3. Tratamientos e inoculantes

- T1 (Control negativo): Riego exclusivo con agua corriente (C1).

- T2 (Control positivo): Riego con agua más melaza como fuente de carbono para microbiota (C2).

- T3 (Núcleo): Té de suelo preparado a partir de suelo de un núcleo de bosque joven no degradado de peumo junto con agua corriente y melaza.

- T4 (Bosque): Té de suelo proveniente de un bosque antiguo no degradado de peumo junto con agua corriente y melaza.

- T5 (Pradera): Té de suelo obtenido desde una pradera natural adyacente junto con agua corriente y melaza.

- C1 / C2: Nombres alternativos usados para T1 y T2, respectivamente.

4. Conceptos ecológicos y microbiológicos

- *Cryptocarya alba*: Especie arbórea nativa de los bosques esclerófilos de Chile central, conocida como peumo. Presenta lento crecimiento inicial y alta sensibilidad a condiciones edafoclimáticas.

- Condiciones edafoclimáticas: Factores combinados del suelo (estructura, nutrientes, humedad) y clima (temperatura, precipitaciones) que afectan directamente a las plantas y microorganismos.

- Inoculación: Introducción intencional de microorganismos beneficiosos al sustrato o sistema radicular de una planta con fines de mejora del crecimiento o salud.

- Microbiota del suelo: Conjunto de microorganismos presentes en el suelo, como bacterias y hongos, fundamentales para la fertilidad, estructura del suelo y relaciones simbióticas.

- PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria): Bacterias rizosféricas que estimulan el crecimiento vegetal a través de fijación de nitrógeno, solubilización de nutrientes y producción de fitohormonas.

- Té de suelo: Solución líquida obtenida mediante la mezcla aireada de suelo nativo con agua y una fuente de carbono (melaza), que permite transferir microbiota activa al sustrato.
- Sustrato: Medio físico que soporta el crecimiento vegetal en vivero, generalmente mezcla de componentes orgánicos e inorgánicos como compost, turba, perlita o tierra.
- Variables edafoclimáticas: Parámetros físicos y ambientales que combinan condiciones del suelo y del clima y que modulan los procesos biológicos y ecológicos.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Altamirano, T. (2008). *Restauración de los sistemas naturales mediterráneos de Chile central, estudio de casos de restauración del bosque esclerófilo*.
- Bai, Y.-C., Chang, Y.-Y., Hussain, M., Lu, B., Zhang, J.-P., Song, X.-B., Lei, X.-S., & Pei, D. (2020). Soil Chemical and Microbiological Properties Are Changed by Long-Term Chemical Fertilizers That Limit Ecosystem Functioning. *Microorganisms*, 8(5), 694.
- Bannister, J. R., Vargas-Gaete, R., Ovalle, J. F., Acevedo, M., Fuentes-Ramirez, A., Donoso, P. J., Promis, A., & Smith-Ramírez, C. (2018). Major bottlenecks for the restoration of natural forests in Chile. *Restoration Ecology*, 26(6), 1039–1044.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/rec.12880>
- Baños, Y. (2010). Efecto de enmiendas orgánicas y Trichodermaspp. en el manejo de Meloidogyne spp. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 5, 224–233.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., & Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17(8), 478–486.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Bustamante Sánchez, M., Armesto, J. J., & Halpern, C. (2011). Biotic and abiotic controls on tree colonization in three early successional communities of Chiloé Island, Chile. *Journal of Ecology*, 99, 288–299.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01737.x>
- Calvo Vélez, P., Nelson, L., & Kloepper, J. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, 383. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>

- Cordero, I., Leizeaga, A., Hicks, L. C., Rousk, J., & Bardgett, R. D. (2023). High intensity perturbations induce an abrupt shift in soil microbial state. *The ISME Journal*, 17(12), 2190–2199. <https://doi.org/10.1038/s41396-023-01512-y>
- Coronil, J. (2023). *MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS ASOCIADOS A UNA CRONOSECUENCIA SUCESIONAL DEL BOSQUE ESCLERÓFILO DE HUALPÉN*. Universidad de Concepción, Chile. Memoria de Título.
- Crouzeilles, R., Ferreira, M. S., Chazdon, R. L., Lindenmayer, D. B., Sansevero, J. B. B., Monteiro, L., Iribarrem, A., Latawiec, A. E., & Strassburg, B. B. N. Ecological restoration success is higher for natural regeneration than for active restoration in tropical forests. *Science Advances*, 3(11), e1701345. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1701345>
- Cueto, D., Alaniz, A., Hidalgo-Corrotea, C., Vergara, P., Carvajal, M., & Barrios-Saravia, A. (2025). Chilean Mediterranean forest on the verge of collapse? Evidence from a comprehensive risk analysis. *The Science of the total environment*, 968, 178557. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.178557>
- Dadzie, F. A., Moles, A. T., Erickson, T. E., Machado de Lima, N., & Muñoz-Rojas, M. (2023a). Inoculating native microorganisms improved soil function and altered the microbial composition of a degraded soil. *Restoration Ecology*, 32(2), e14025. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/rec.14025>
- Dadzie, F. M.-R., Miriam; Slavich, Eve; Pottier, Patrice; Zeng, Karen; Moles, Angela. (2023b). Native and commercial microbial inoculants show equal effects on plant growth in dryland ecosystems. *Authorea*. <https://doi.org/10.22541/au.167785097.78920686/v1>
- Davis, A. S., & Pinto, J. R. (2021). The Scientific Basis of the Target Plant Concept: An Overview. *Forests*, 12(9).

- Day, C. E. (2023). *Soil and Compost Tea: A New Restoration Technique?* ProQuest Dissertations & Theses]. <https://commons.emich.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=2579&context=theses>
- Docherty, K. M., & Gutknecht, J. L. M. (2019). Soil microbial restoration strategies for promoting climate-ready prairie ecosystems. *Ecological Applications*, 29(3), e01858. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/eap.1858>
- Dove, N. C., Torn, M. S., Hart, S. C., & Taş, N. (2021). Metabolic capabilities mute positive response to direct and indirect impacts of warming throughout the soil profile. *Nature Communications*, 12(1), 2089. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22408-5>
- Edwards, J. A., Santos-Medellín, C. M., Liechty, Z. S., Nguyen, B., Lurie, E., Eason, S., Phillips, G., & Sundaresan, V. (2018). Compositional shifts in root-associated bacterial and archaeal microbiota track the plant life cycle in field-grown rice. *PLOS Biology*, 16(2), e2003862. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003862>
- Emam, T. (2016). Local soil, but not commercial AMF inoculum, increases native and non-native grass growth at a mine restoration site. *Restoration Ecology*, 24(1), 35–44. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/rec.12287>
- Expósito, A., García, S., Giné, A., Escudero, N., Herranz, S., Pocerull, M., Lacunza, A., & Sorribas, F. J. (2022). Effect of Molasses Application Alone or Combined with *Trichoderma asperellum* T-34 on *Meloidogyne* spp. Management and Soil Microbial Activity in Organic Production Systems. *Agronomy*, 12(7).
- Franz Schinner, R. Ö., Ellen Kandeler, Rosa Margesin. (1996). *Methods in Soil Biology* (Vol. I. Soil biology- Methodology. 1. Schinner Franz, 1947. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-60966-4>
- Freschet, G. T., Swart, E. M., & Cornelissen, J. H. C. (2015). Integrated plant phenotypic responses to contrasting above- and below-ground resources:

- key roles of specific leaf area and root mass fraction. *New Phytologist*, 206(4), 1247–1260. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/nph.13352>
- Galindo-Castañeda, T., Hartmann, M., & Lynch, J. P. (2024). Location: root architecture structures rhizosphere microbial associations. *Journal of Experimental Botany*, 75(2), 594–604. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad421>
- Gann, G. D., McDonald, T., Walder, B., Aronson, J., Nelson, C. R., Jonson, J., Hallett, J. G., Eisenberg, C., Guariguata, M. R., Liu, J., Hua, F., Echeverría, C., Gonzales, E., Shaw, N., Decler, K., & Dixon, K. W. (2019). International principles and standards for the practice of ecological restoration. Second edition. *Restoration Ecology*, 27(S1), S1–S46. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/rec.13035>
- Glick, B. (2012). Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica*, 2012, 963401. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Han, S., Luo, X., Hao, X., Ouyang, Y., Zeng, L., Wang, L., Wen, S., Wang, B., Van Nostrand, J. D., Chen, W., Zhou, J., & Huang, Q. (2021). Microscale heterogeneity of the soil nitrogen cycling microbial functional structure and potential metabolism. *Environmental Microbiology*, 23(2), 1199–1209. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1462-2920.15348>
- Hartman, K., & Tringe, S. G. (2019). Interactions between plants and soil shaping the root microbiome under abiotic stress. *Biochemical Journal*, 476(19), 2705–2724. <https://doi.org/https://doi.org/10.1042/BCJ20180615>
- Iliev, I., Apostolova, E., Hadjieva, N., Kostadinov, K., Filipov, S., Kostadinova, S., Baev, V., & Gozmanova, M. (2021). Bacterial diversity and physiological activity of lettuce (*Lactuca sativa*) rhizosphere under bio-organic greenhouse management strategies. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03831-z>
- Isermeyer, H. (1952). Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate im Boden. *Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde*, 56(1-3), 26–38. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jpln.19520560107>

- Karlova, R., Boer, D., Hayes, S., & Testerink, C. (2021). Root plasticity under abiotic stress. *Plant Physiology*, 187(3), 1057–1070. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab392>
- Klose, S., & Tabatabai, M. (2000). Urease activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems. *Biology and Fertility of Soils*, 31, 191–199. <https://doi.org/10.1007/s003740050645>
- Koziol, L., Bauer, J. T., Duell, E. B., Hickman, K., House, Geoffrey L., Schultz, P. A., Tipton, A. G., Wilson, G. W. T., & Bever, James D. (2022). Manipulating plant microbiomes in the field: Native mycorrhizae advance plant succession and improve native plant restoration. *Journal of Applied Ecology*, 59(8), 1976–1985. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1365-2664.14036>
- Li, J., Liu, Z.-F., Jin, M.-K., Zhang, W., Lambers, H., Hui, D., Liang, C., Zhang, J., Wu, D., Sardans, J., Peñuelas, J., Peticord, D. F., Frey, D. W., & Zhu, Y.-G. (2023). Microbial controls over soil priming effects under chronic nitrogen and phosphorus additions in subtropical forests. *The ISME Journal*, 17(12), 2160–2168. <https://doi.org/10.1038/s41396-023-01523-9>
- López-Bucio, J., Campos-Cuevas, J. C., Hernández-Calderón, E., Velásquez-Becerra, C., Farías-Rodríguez, R., Macías-Rodríguez, L. I., & Valencia-Cantero, E. (2007). *Bacillus megaterium* Rhizobacteria Promote Growth and Alter Root-System Architecture Through an Auxin- and Ethylene-Independent Signaling Mechanism in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(2), 207–217. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-2-0207>
- Martínez-Yáñez, M., Silva-Ortega, C., Hernández, A., Vallejo Pérez, M. R., Alcalá-Briseño, R., Vega-Manriquez, X., Aguilar, G., Gálvez, R., & Lara-Ávila, J. (2022). Analysis of Bacterial Microbiota of Aerated Compost Teas and Effect on Tomato Growth. *Microbial Ecology*, 86. <https://doi.org/10.1007/s00248-022-02156-9>
- Mir, Y. H., Ganie, M. A., Shah, T. I., Bangroo, S. A., Mir, S. A., Shah, A. M., Wani, F. J., Qin, A., & Rahman, S. U. (2023). Soil microbial and enzyme activities

in different land use systems of the Northwestern Himalayas. *PeerJ*, 11, e15993. <https://doi.org/10.7717/peerj.15993>

Nazari, M. T., Simon, V., Machado, B. S., Crestani, L., Marchezi, G., Concolato, G., Ferrari, V., Colla, L. M., & Piccin, J. S. (2022). Rhodococcus: A promising genus of actinomycetes for the bioremediation of organic and inorganic contaminants. *Journal of Environmental Management*, 323, 116220. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116220>

Noman, M., Ahmed, T., Ijaz, U., Shahid, M., Azizullah, Li, D., Manzoor, I., & Song, F. (2021). Plant–Microbiome Crosstalk: Dawning from Composition and Assembly of Microbial Community to Improvement of Disease Resilience in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 6852.

Nugroho, P., Prettl, N., Kotrocó, Z., & Juhos, K. (2023). The Effect of Molasses Application on Soil Biological Indicators and Maize Growth of Different Tillage Soil: A Pot Experiment. *Journal of Environmental Geography*, 16, 119–124. <https://doi.org/10.14232/jengeo-2023-44670>

Osorio-Vega, W. (2009). Microorganismos del suelo y su efecto sobre la disponibilidad y absorción de nutrientes por las plantas. In (pp. 43–71). https://doi.org/10.38141/10791/0003_3

Pardo-Plaza, Y. J., Paolini Gómez, J. E., & Cantero-Guevara, M. E. (2019). Biomasa microbiana y respiración basal del suelo bajo sistemas agroforestales con cultivos de café. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 22(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n1.2019.1144>

Pei, P., Aslam, M., Wang, H., Ye, P., Li, T., Liang, H., Lin, Q., Chen, W., & Du, H. (2024). Diversity and ecological function of urease-producing bacteria in the cultivation environment of *Gracilariopsis lemaneiformis*. *Microbial Ecology*, 87(1), 35. <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02339-y>

Poorter, H., Niklas, K. J., Reich, P. B., Oleksyn, J., Poot, P., & Mommer, L. (2012). Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of

interspecific variation and environmental control. *New Phytologist*, 193(1), 30–50. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03952.x>

Rubio-Camacho, E., Tagle, M. A., Rodríguez, E., Chávez-Durán, Á., & Aguirre Calderon, O. A. (2015). Analysis of the structure and diameter distribution in temperate forests under the perspective of the potential fire regime. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, XXI, 281–294. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2014.10.053>

Ruzzi, M., & Aroca, R. (2015). Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.042>

Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G., Sa, T., & Singh, B. K. (2020). Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology*, 18(11), 607–621. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>

Upadhyay, S. K., Srivastava, A. K., Rajput, V. D., Chauhan, P. K., Bhojiya, A. A., Jain, D., Chaubey, G., Dwivedi, P., Sharma, B., & Minkina, T. (2022). Root Exudates: Mechanistic Insight of Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Crop Production [Review]. *Frontiers in Microbiology*, Volume 13 - 2022.

Van Der Heijden, M. G. A., Bardgett, R. D., & Van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11(3), 296–310. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>

Vidal, C., González, F., Santander, C., Pérez, R., Gallardo, V., Santos, C., Aponte, H., Ruiz, A., & Cornejo, P. (2022). Management of Rhizosphere Microbiota and Plant Production under Drought Stress: A Comprehensive Review. *Plants*, 11(18).

Vieira, F. C. S., & Nahas, E. (2005). Comparison of microbial numbers in soils by using various culture media and temperatures. *Microbiological Research*,

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micres.2005.01.004>

- Vurukonda, S. S. K. P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., & SkZ, A. (2016). Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, *184*, 13–24. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.12.003>
- Wang, C., Qu, L., Yang, L., Liu, D., Morrissey, E., Miao, R., Liu, Z., Wang, Q., Fang, Y., & Bai, E. (2021). Large-scale importance of microbial carbon use efficiency and necromass to soil organic carbon. *Global Change Biology*, *27*(10), 2039–2048. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/gcb.15550>
- Waring, B., Gee, A., Liang, G., & Adkins, S. (2022). A quantitative analysis of microbial community structure-function relationships in plant litter decay. *iScience*, *25*(7). <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104523>
- Wei, X., Xie, B., Wan, C., Song, R., Zhong, W., Xin, S., & Song, K. (2024). Enhancing Soil Health and Plant Growth through Microbial Fertilizers: Mechanisms, Benefits, and Sustainable Agricultural Practices. *Agronomy*, *14*(3).
- Xie, J., Dawwam, G. E., Sehim, A. E., Li, X., Wu, J., Chen, S., & Zhang, D. (2021). Drought Stress Triggers Shifts in the Root Microbial Community and Alters Functional Categories in the Microbial Gene Pool [Original Research]. *Frontiers in Microbiology*, Volume 12 - 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.744897>
- Yu L, Z. H., Zhang W, Liu K, Liu M, Shao X. 2022. (2022). Cooperation between arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting bacteria and their effects on plant growth and soil quality. *PeerJ*, *10*:e13080. <https://doi.org/https://doi.org/10.7717/peerj.13080>
- Zhang, X., Han, X., Yu, W., Wang, P., & Cheng, W. (2017). Priming effects on labile and stable soil organic carbon decomposition: Pulse dynamics over two years. *PLOS ONE*, *12*(9), e0184978. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184978>