

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
CAMPUS LOS ÁNGELES  
ESCUELA DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA VEGETAL**



**CONTRIBUCIÓN DE LA INOCULACIÓN COMBINADA DE HONGOS MICORRÍCICOS  
ARBUSCULARES (HMA) Y HONGOS ENDÓFITOS (HE) EN PLANTAS DE *ARAUCARIA*  
*ARAUCANA* ESTABLECIDAS EN SUELOS CON DIFERENTES NIVELES DE AFECTACIÓN  
POR FUEGO.**

**PROYECTO DE TÍTULO PARA OPTAR AL  
TÍTULO DE INGENIERO EN  
BIOTECNOLOGÍA VEGETAL.**

**ANGEL ALEXYS PULIDO RAMOS**

**LOS ÁNGELES – CHILE**

**2024**

**“CONTRIBUCIÓN DE LA INOCULACIÓN COMBINADA DE HONGOS MICORRÍDICOS ARBUSCULARES (HMA) Y HONGOS ENDÓFITOS (HE) EN PLANTAS DE ARAUCARIA ARAUCANA ESTABLECIDAS EN SUELOS CON DIFERENTES NIVELES DE AFECTACIÓN POR FUEGO”.**

**Alumno**

**Angel Pulido Ramos  
Ingeniero en Biotecnología Vegetal**

**Profesor Guía**

**Dr. Daniel Chávez Matamala  
Profesor Asociado  
Ingeniero Forestal**

**Profesor Co-guía**

**Dra. Ángela Machuca H.  
Profesora Asociada  
Bioquímico**

**Evaluador externo**

**Dr. Pablo Cornejo Rivas  
Profesor Asociado (PUCV)  
Ingeniero Agrónomo**

**Jefe Carrera**

**Pedro Quiroz Hernández  
Profesor Instructor  
Ingeniero Forestal**

**Director de Departamento**

**Dr. Mauricio Rondanelli Reyes  
Profesor Asociado  
Biólogo**

## Agradecimientos

A Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera y por permitirme llegar hasta esta etapa.

A mis padres, Segundo y Berta y a mis hermanos por su apoyo moral, consejos y muestras de cariño que durante todos estos años han demostrado que cuando existe el amor y unión familiar todo se puede lograr.

A mi pareja y compañera Cinthia Abigail, por su amor y apoyo incondicional demostrado que en tiempo de flaqueza me permitió seguir adelante.

A mi profesor guía Dr. Daniel Chávez Matamala, por mostrarme y enseñarme de este maravilloso mundo de los hongos, su infinita paciencia, comprensión y tiempo empleado en ayudarme en mi desarrollo profesional.

A Don Christian Deramond, Ingeniero en Biotecnología Vegetal, Asistente de Investigación, por todo su tiempo empleado en enseñarme y ayudarme en gran parte del desarrollo de esta tesis.

A la profesora Yudith Guillén, por su paciencia en enseñarme gran parte del trabajo en laboratorio y por estar siempre dispuesta en ayudarme en lo que necesitara.



Tesis Financiada por Proyecto Fondecyt de Iniciación n°11220305:  
Tripartite interaction between arbuscular mycorrhizal fungi, endophytic fungi and *Araucaria araucana* plants: Effect on plant performance and its establishment capacity in soils affected by recent forest fires.

## Índice

I.	<b>Introducción</b> .....	1
II.	<b>Marco teórico</b> .....	4
	2. <i>Araucaria araucana</i> .....	4
	2.1.    Problemas de conservación.....	5
	2.2.    Sequia.....	6
	2.3.    Incendios forestales.....	7
	2.4.    Planes de restauración forestal.....	8
	2.5.    Hongos micorrícicos arbusculares (HMA).....	8
	2.6.    Hongos endófitos (HE).....	10
III.	<b>Hipótesis</b> .....	11
IV.	<b>Objetivos</b> .....	11
	4.1.    Objetivo general.....	11
	4.2.    Objetivos específicos.....	11
V.	<b>Metodología</b> .....	12
	5.1.    Material vegetal.....	12
	5.2.    Activación de hongos arbusculares y endófitos e inoculación de <i>A. araucana</i> .....	12
	5.3.    Recolección, preparación y análisis de suelos afectados por fuego..	13
	5.4.    Trasplante de <i>A. araucana</i> a suelos con diferentes grados de afectación por fuego.....	15
	5.5.    Porcentaje de colonización de HMA y HE.....	16
	5.6.    Análisis morfológicos de las plantas de <i>A. araucana</i> .....	16
	5.7.    Contenido relativo de agua (CRA).....	17
	5.8.    Pigmentos fotosintéticos.....	17
	5.9.    Máxima eficiencia cuántica del fotosistema II (Fv/Fm).....	18
	5.10.    Enzimas Oxidativas (CAT, APX, GPX).....	18
	5.11.    Prolina.....	19
	5.12.    Glomalina total y de fácil extracción.....	20
	5.13.    Cantidad de esporas (100g).....	20
	5.14.    Análisis estadísticos.....	20

VI.	<b>Resultados</b> .....	21
	6.1. Análisis químico de Suelos.....	21
	6.2. Evaluación de las plantas de Araucaria previo al trasplante a suelos con diferentes grados de afectación por fuego.....	21
	6.3. Determinación de la colonización de plantas de araucaria por HMA y HE establecidas en suelos con diferentes grados de afectación por fuego.....	22
	6.4. Parámetros morfológicos de plantas de araucaria establecidas en suelos con diferentes grados de afectación por fuego.....	23
	6.5. Parámetros fisiológicos de plantas de araucaria establecidas en suelos con diferentes grados de afectación por fuego .....	27
	6.6. Enzimas oxidativas (CAT, GPX, APX):.....	32
	6.7. Análisis de parámetros bioquímicos en suelo.....	33
	6.8. Glomalina total y de fácil extracción (GFE) y Cantidad de esporas en suelos.....	34
	6.9. Permeabilidad de los suelos.....	35
VII.	<b>Análisis multivariado</b> .....	36
VIII.	<b>Discusión</b> .....	37
IX.	<b>Conclusión</b> .....	45
X.	<b>Referencias</b> .....	46

## Índice de figuras

Figura 1 .....	12
Figura 2 .....	14
Figura 3 .....	15
Figura 4 .....	21
Figura 5 .....	22
Figura 6 .....	23
Figura 7 .....	24
Figura 8 .....	24
Figura 9 .....	25
Figura 10 .....	26
Figura 11 .....	27
Figura 12 .....	28
Figura 13 .....	30
Figura 14 .....	31
Figura 15 .....	32
Figura 16 .....	33
Figura 17 .....	34
Figura 18 .....	35
Figura 19 .....	37

## Índice de tablas:

Tabla 1 .....	15
Tabla 2 .....	22
Tabla 3 .....	27
Tabla 4 .....	29
Tabla 5 .....	36

## Lista de abreviaturas

**HMA:** Hongos Micorrícicos Arbusculares.

**HE:** Hongos Endófitos.

**DAC:** Diámetro a la altura del cuello.

**CRA:** Contenido relativo de agua.

**Fv/Fm:** Rendimiento Cuántico Máximo del fotosistema II.

**PF:** Peso fresco.

**PT:** Peso total.

**PII:** Fotosistema II.

**CAT:** Enzima Catalasa.

**APX:** Enzima Ascorbato peroxidasa.

**GPX:** Enzima Guayacol peroxidasa.

**PA:** Enzima Fosfatasa ácida.

**BG:** Enzima  $\beta$ -Glucosidasa.

**NBG:** Enzima N-acetil-  $\beta$ -Glucosaminidasa.

**GFE:** Glomalina facil extraccion.

**GT:** Glomalina total.

### **SUELOS:**

**ctSP:** Control sustrato de pino.

**SP:** Sustrato de pino.

**ctALTA:** Control suelo alta afectación por fuego.

**ALTA:** Suelo alta afectación por fuego.

**ctBAJA:** Control suelo baja afectación por fuego.

**BAJA:** Suelo baja afectación por fuego.

**ctCONS:** Control suelo conservado (sin afectación por fuego).

**CONS:** Suelo conservado (sin afectación por fuego).

**“control”:** Sin inoculación de consorcio fúngico.

## Resumen:

*Araucaria araucana* es una conífera nativa endémica de Chile, perteneciente a la familia Araucariaceae. Actualmente se encuentra en peligro de extinción debido a varios factores como pastoreo, cosecha de sus semillas, tala ilegal, vulcanismo, sequía e incendios forestales, por tanto, es imperativo contar con un plan de restauración forestal que sea eficiente y eficaz, el cual considere microorganismos presentes en el suelo, como hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y hongos endófitos (HE) como potenciadores del crecimiento vegetal. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta de las plantas de *A. araucana* inoculadas o no con consorcio fúngico (HMA + HE) al ser establecidas (bajo condiciones de vivero) en suelos con distintos grados de afectación por fuego estudiando variables morfológicas, fisiológicas y bioquímicas para ser considerados en planes de restauración forestal, en ambientes afectados por fuego. Las plantas previamente inoculadas y con un porcentaje de colonización sobre el 35% (HMA y HE) fueron establecidas en suelos nativos afectados por fuego, de alta afectación, baja afectación y sin afectación (conservado), además, en sustrato de corteza de pino, cada uno de ellos con sus respectivos controles sin inoculación. El ensayo duró 8 meses, durante el cual se mantuvo riego a capacidad de campo y fertilización baja en fósforo (medio Hoagland modificado). Los resultados mostraron un impacto positivo en las plantas inoculadas v/s las no inoculadas, en variables morfológicas existió un aumento en la altura, longitud radicular, DAC y en cuanto a la biomasa aérea y radicular hubo un aumento del 30% en promedio. En parámetros fisiológicos, aumentó la producción de pigmentos fotosintéticos, además, disminuyó el contenido de prolina y enzimas oxidativas. En cuanto a los parámetros bioquímicos de suelos, la presencia del consorcio fúngico aumentó la cantidad de glomalina presente y de enzimas relacionadas al ciclo de nutrientes ( $\beta$ -glucosidasa y fosfatasa ácida). Finalmente, las plantas inoculadas en todos los tratamientos presentaron un 100% de sobrevivencia, en cambio las que no fueron inoculadas presentaron sobre un 70 % de mortalidad. Por tanto, se concluyó que la utilización del consorcio fúngico (HMA+HE) para programas de restauración forestal es una herramienta efectiva y que debe ser considerada, ya que promueve el establecimiento de las plantas en suelos quemados con un alto grado de repelencia al agua, mejorando su capacidad para tolerar ambientes perturbados, mejorando su desarrollo, así como también mejorando sus propiedades fisicoquímicas.

## Abstract

*Araucaria araucana* is a native conifer endemic to Chile, belonging to the Araucariaceae family. It is currently in danger of extinction due to several factors such as grazing, seed harvesting, illegal logging, volcanism, drought, and forest fires, therefore, it is imperative to have an efficient and effective forest restoration plan, that considers microorganisms present in the soil, such as arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and endophytic fungi (EF) as enhancers of plant growth. The objective of this work was to evaluate the response of *A. araucana* plants inoculated or not with the fungal consortium (AMF + EF) when established (under nursery conditions) in soils with different degrees of fire damage, studying morphological, physiological, and biochemical variables to be considered in forest restoration plans in environments affected by fire. The previously inoculated plants with a colonization percentage of over 35% (AMF and EF) were established in native soils affected by fire, highly affected, low affected, and unaffected (preserved), in addition, in pine bark substrate, each of them with their respective controls without inoculation, the trial lasted 8 months, during which irrigation was maintained at field capacity and low phosphorus fertilization (modified Hoagland). The results showed a positive impact on the inoculated plants vs. non-inoculated plants, in morphological variables, there was an increase in height, root length, and DAC, and in aerial and root biomass there was an increase of 30% on average. In physiological parameters, photosynthetic pigment production increased and proline and oxidative enzyme content decreased. In soil enzymatic parameters, the presence of the fungal consortium increased the amount of glomalin and enzymes related to nutrient cycling ( $\beta$ -glucosidase and acid phosphatase). Finally, the inoculated plants in all treatments showed 100% survival, while those that were not inoculated showed over 70% mortality. Therefore, it was concluded that the use of the fungal consortium (AMF+EF) for forest restoration programs is an effective tool that should be considered, since it promotes the establishment of plants in burned soils with a high degree of water repellency, improving their ability to tolerate disturbed environments, improving their development, as well as improving their physicochemical properties.

## I. Introducción:

Los incendios forestales son un fenómeno actual que sucede de forma reiterada por todo el mundo (González et al., 2011; ONU, 2023) En Chile, los incendios forestales han ocurrido desde siempre, incluso antes de la época de los pueblos originarios, en los bosques de *Araucaria araucana* (Molina & Koch) esto incide como factor importante en la estructura y dinámica de sus bosques, la cual es una especie endémica de Chile, además es un árbol con un alto valor ecológico, económico y cultural ya que son parte importante del pueblo Mapuche y Pehuenche (Aguilera et al., 2017). Esta especie alcanza alturas de hasta 50 metros y diámetros de 2,5 metros de tronco, con una gruesa capa de corteza la cual la protege del fuego, pudiendo soportar incendios de gravedad baja a moderada (Fuentes et al., 2019; Kutchartt et al., 2021). La ocurrencia de estos eventos ha sido influenciada tanto por la actividad humana como por el clima, por tanto, el aumento de los incendios se debe a las mejoras en las condiciones que los favorecen, como la sequía, causada por el cambio climático (McWethy et al., 2018). En consecuencia, se espera que la frecuencia de las sequías, así como su magnitud proyectada en el contexto del calentamiento global, propicien la ocurrencia de incendios más severos y frecuentes extendiendo la duración de la temporada de incendios (Lestienne et al., 2022).

Los bosques de *A. araucana* se han visto afectados por incendios sucesivos de gran severidad y extensión, tanto de origen natural como antrópico afectando extensas superficies, incluyendo parques y reservas protegidas. Como el del 2015 en el Parque Nacional Tolhuaca, la Reserva Nacional Malleco y la Reserva Nacional China Muerta los cuales generaron daños irremediables a corto y mediano plazo, considerando una gran pérdida de biodiversidad y además, su restauración a nivel ecológico tardará cientos de años (Figueroa & Vergara, 2018; Gonzales et al., 2020).

Por otra parte, es necesario considerar la severidad de quema asociada a un incendio, ya que este determina cambios en la estructura y composición del suelo y la disponibilidad de nutrientes (Adkins et al., 2019). A mayor escala, la distribución espacial de estos efectos puede generar reemplazo de especies o tipos de vegetación y alterar la dinámica del paisaje, por lo que el efecto de la intensidad del incendio es un factor importante para tener en cuenta (Keeley, 2016).

Al ver afectadas las propiedades y composición del suelo es necesario la utilización de microorganismos que ayuden al establecimiento de las plantas bajo estas condiciones, especialmente hongos, ya que mejoran las propiedades del suelo dañado por incendios al aumentar la actividad microbiana, descomponer la materia orgánica transformándola en nutrientes, aumentando su concentración pudiendo ser absorbidos por las plantas (Acuña, et al. 2020).

Estudios han demostrado que *A. araucana* logra establecer asociaciones mutualistas con microorganismos presentes en el suelo, otorgándoles beneficios para su salud, estos pueden ser hongos micorrícicos arbusculares (HMA) u hongos endófitos (HE). El primero de ellos, establece asociación con sus raíces permitiéndole una mejor absorción de nutrientes y agua, ya que estos tienen la capacidad de poder solubilizar nutrientes y dejarlos a disposición de la planta, obteniendo un mejor establecimiento y un aumento en su crecimiento (Restrepo et al., 2019) y además otorga protección contra ataques de patógenos, a cambio el hongo recibe productos de la fotosíntesis de parte de la planta, formando una sociedad mutualista (Benedetti et al., 2018).

Por otra parte, están los hongos endófitos que viven al interior de la planta sin causar daño aparente, los cuales desarrollan una relación simbiótica que promueven el crecimiento, suprimen infecciones de patógenos, ayudan al estrés de las plantas y mejoran la eficiencia en el uso del agua (Yu et al., 2016). Estos pueden encontrarse en diferentes partes de la planta, como las hojas, tallos, raíces, semillas y frutos. Estos hongos tienen la capacidad de mejorar la absorción de nutrientes y el desarrollo de las plantas (Lee et al., 2021). Sin embargo, los beneficios proporcionados por estos organismos pueden variar según las condiciones ambientales y nutricionales. Pudiendo cambiar el tipo de relación de mutualismo a parasitismo, debido a que estos microorganismos son particularmente sensibles a dichos cambios. Los efectos negativos ocasionados por factores ambientales adversos o la presencia de hongos endófitos podrían mitigarse o regularse con la presencia de hongos micorrícicos arbusculares (Aristizabal, 2021).

A pesar de que la literatura señala que post incendio se reduce la riqueza de especies de hongos y la colonización de micorrizas *in situ*, este se puede recuperar si las condiciones así lo permiten (por ejemplo, sin perturbaciones posteriores, condiciones de crecimiento

favorables). Los hongos del suelo son resilientes en escalas de tiempo de décadas y esta resiliencia de los hongos del suelo probablemente contribuya a la rápida recuperación general del ecosistema después de un incendio (Dove & Hart, 2017).

Por lo tanto, el poder manipular y manejar los hongos micorrícicos arbusculares como los hongos endófitos (nativos y aislados directamente de *Araucaria*) tiene el potencial de poder permitir una mejor restauración de los ecosistemas naturales (Koziol et al. 2018; Chávez et al. 2023). Por lo anterior el objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta de las plantas de *A. araucana* inoculadas o no con un consorcio fúngico (hongos micorrícicos arbusculares y hongos endófitos) al ser establecidas (bajo condiciones de vivero) en suelos con distintos grados de afectación por fuego estudiando variables morfológicas, fisiológicas y bioquímicas para ser considerados en planes de restauración forestal, en ambientes afectados por fuego.

## II. Marco teórico:

### 2. *Araucaria araucana*:

*Araucaria araucana* (Molina) K. Koch (araucaria, pehuén, “monkey puzzle tree”) es una conífera nativa endémica perteneciente a la familia de las Araucariaceae, presente en los bosques templados del centro-sur de Chile, es un árbol siempreverde de larga vida que puede vivir más de 1.000 años (Aguilera et al, 2017). Es reconocida alrededor del mundo por su alto valor ecológico, económico y cultural, ya que los bosques de *A. araucana* son parte importante de la cosmovisión del pueblo mapuche-pehuenche que habita el sur de Chile, los que la consideran un árbol sagrado (Sedrez dos Reis et al., 2014).

Puede alcanzar alturas de hasta 50 metros y 2,5 metros de diámetro del tronco, el tronco es cilíndrico y posee una corteza rugosa y gruesa, de color gris oscuro o rojizo de hasta 20 centímetros de espesor la cual la protege del fuego, además que concentra el 14% de su biomasa total aérea (Kutchartt et al., 2021). El perfil vertical de la copa es cóncavo en su estado juvenil, plana en estado adulto y convexa en su estado senil. Las hojas son de color verde oscuro y provistas de mucrón en el ápice, son coriáceas en forma triangular de 3 a 4 cm (Hernández et al., 2022). Es una especie dioica, por tanto, hay individuos masculinos y femeninos estos últimos son quienes producen los frutos, los conos masculinos son amentiformes cilíndricos, están ubicados en la zona terminal de las ramas, de color castaño oscuro, de 8 a 12 cm de largo y 4 a 5 cm de diámetro, con numerosas escamas punzantes, espiraladas, densamente imbricadas que al abrir liberan el polen, estos se desarrollan entre agosto y septiembre. Los conos femeninos son esféricos de color verde, de unos 15 a 20 cm de diámetro, compuestos por numerosas escamas coriáceas y punzantes, se localizan en los extremos de las ramas nuevas y comienzan a desarrollarse hacia fines de noviembre (Chilebosque, 2016).

Los conos femeninos donde se encuentran las semillas de *A. araucana* se encuentran entre los más grandes y pesados de entre todas las coníferas, llegando a pesar hasta diez kilogramos. Están formados por numerosos y complejas secciones (brácteas/escala) de semillas, donde cada uno contiene un único óvulo invertido. La bráctea del complejo bráctea/escala de semilla es más grande y está más desarrollada, mientras que la escama de semilla está fusionada congénitamente a la primera y sólo queda libre su

extremo (Herting & Stützel, 2020). La producción de sus semillas (piñones) es inducida por los periodos de sequía (Franco et al. 2022) y la maduración de las estructuras reproductivas (conos femeninos) demora aproximadamente 2 años (Hadad et al. 2021).

En Chile, está presente en la Cordillera de los Andes y en la Cordillera de Nahuelbuta, teniendo una distribución desde la Región del Biobío hasta el sur del Volcán Villarrica en la Región de Los Lagos, en dos zonas delimitadas: la primera en la Cordillera de Nahuelbuta 37°40'-38° 40'S y la segunda en la Cordillera de Los Andes 37° 03'- 40° 03 'S, los límites en la Cordillera de los Andes son desde el sur (37° 20'S) de la Región del Biobío hasta el norte de la Región de Los Lagos (40°00'S). En la Cordillera de Nahuelbuta (costa) se pueden encontrar dos subpoblaciones, una desde 37°40' hasta 38°29'S, a los 1.400 m de altitud y la segunda, más costera, se ubica más al sur, encontrándose entre los 38°26' a 38°29'S (Ruiz et al., 2007). Los suelos sobre los cuales crece son de tipo arcillosos o volcánicos, habitando lugares poco favorables de suelo rocoso y deficientemente drenados, lo cual es habitual en las coníferas chilenas (Donoso, 2008).

## **2.1 Problemas de conservación:**

Su distribución se ha visto reducida debido a que ha sufrido diferentes perturbaciones naturales y antropogénicas como el pastoreo de ganado doméstico, cosecha de sus semillas y tala ilegal (González et al., 2006), utilizando su madera para la construcción de durmientes de ferrocarril, vigas de túneles, mástiles de buque, fabricación de muebles, puertas, ventanas, tableros (Conaf, 2017).

La semilla de *A. araucana* (piñón) suele ser recolectada con el fin de consumo alimenticio ya que tiene propiedades antioxidantes, es regulador del azúcar en la sangre, y contiene compuestos como ácido benzoico, procianidinas, fenilpropanoides, flavonoides y lignanos (Schmeda et al, 2021), además de promover el turismo de naturaleza (etno-turismo) y el intercambio comercial. Sin embargo, las posibilidades económicas contemporáneas basadas en el piñón varían ampliamente, debido básicamente a las posibilidades de acceso a los bosques y al mercado por parte de las comunidades (Cortes, 2019).

Se estima que la superficie original de *A. araucana* antes de la llegada de los españoles era alrededor de 500.000 hectáreas, la cual se ha ido reduciendo drásticamente hasta las 261.000 hectáreas en el transcurso del siglo XX debido a la actividad humana, encontrándose la mayoría de estos bosques protegidos en la Cordillera de los Andes, dentro de parques y reservas nacionales. En tanto, de las 7.453 hectáreas de los bosques costeros, solamente 2.537 hectáreas se encuentran protegidas en el Parque Nacional Nahuelbuta. (Hechenleitner et al. 2005; Conaf, 2017).

Esta explotación y talas incontroladas (algunas de ellas concesionadas por el Estado de Chile entre la década de 1940-1960) causaron que esta especie fuera declarada Monumento Natural en el año 1990, lo cual prohíbe su explotación y la clasifica en estado 'vulnerable' en el año 2008 (D.S N°43 & D.S. N° 51); además, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) la ha clasificado en la categoría de especie "En peligro" (Premoli et al. 2013).

## **2.2 Sequia:**

Los periodos de extrema sequía actúan como elementos que perturban la configuración de la dinámica del bosque a través de cambios en el crecimiento de los árboles (Piraino, 2020), éstos enfrentan la sequía gracias a distintos mecanismos de tolerancia morfológica, anatómica y fisiológica, como el cierre estomático, disminución de la absorción de carbono, etc. (Choat et al., 2018). La resistencia de los árboles a la sequía extrema es el resultado de varias interacciones complejas entre factores abióticos y factores bióticos interviniendo simultáneamente a diferentes escalas espaciales y temporales (Carnicer et al., 2021).

Las plantas pueden cerrar temporalmente sus estomas para reducir la pérdida de agua por transpiración, lo que limita la entrada de CO<sub>2</sub> y las tasas de carboxilación al aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). Las coníferas responden ajustando su sistema hidráulico para reducir el riesgo de cavitación del xilema, lo que se logra mediante traqueidas más estrechas y una pared celular más gruesa (Varas et al., 2022). Esto se logra ver en algunas especies del género *Araucaria* las cuales son muy resistentes a la sequía debido a sus altos niveles de ácido abscísico (ABA), lo que les permite tener un cierre estomático eficiente. Sin embargo, *A. araucana* tiene características

típicas de una especie primitiva, como estomas grandes y baja densidad estomática, lo que resulta en una baja conductancia y una respuesta estomática lenta a los cambios en las condiciones ambientales (Chávez et al, 2023), lo que la vuelve una especie con una capacidad reducida para resistir sequías extremas (Puchi et al, 2021).

### **2.3 Incendios forestales:**

Sumado a todos estos factores antrópicos donde *A. araucana* está expuesta, también existen eventos naturales como: viento, vulcanismo e incendios, la extensión de periodos cálidos y las graves sequías que desde el año 2000 se han estado experimentado en Chile, los que han dado lugar a incendios forestales de gran magnitud que han quemado ecosistemas templados, incluidos los bosques de *A. araucana* (Garreaud et al. 2017; Fernández et al. 2018; Valderrama et al. 2018).

Esta especie es conocida por su gran resistencia al fuego debido a que presenta atributos que le permiten sobrevivir a incendios de diversa severidad, como su gruesa corteza de hasta 14 cm de espesor, sus yemas terminales protegidas, su capacidad de rebrote y su desrame natural, lo que produce una elevación de la base de la copa. Aunque posee estas cualidades para la resistencia al fuego, sus características reproductivas, como la regeneración post-incendio por medio de semillas es espacialmente limitado y depende de la supervivencia de suficientes individuos femeninos, frente a este tipo de perturbaciones *A. araucana* logra colonizar y prosperar mediante rebrotes (Fuentes et al., 2019).

Chile ha experimentado múltiples incendios forestales en diferentes territorios, tanto así que en el periodo que comprende entre 2015 al 2017 se quemaron aproximadamente 640.000 hectáreas de bosques (CONAF, 2017). Estos incendios afectaron áreas silvestres protegidas, como el Parque Nacional Conguillío, el Parque Nacional Tolhuaca y la Reserva Nacional China Muerta, la más afectada de las tres, con más de 3.600 hectáreas (Conaf, 2017), de las cuales 1.550 se localizaron en la Reserva Nacional China Muerta, afectando principalmente a *A. araucana* (Figueroa & Vergara, 2018).

Los incendios forestales pueden tener un impacto significativo en la composición del suelo, los principales afectados son los nutrientes totales que se mineralizan instantáneamente y además son lixiviados y afectados por acción de la lluvia. Otros

impactos del fuego en los suelos incluyen cambios en sus propiedades físicas, como en estabilidad y repelencia al agua, en las propiedades químicas, elevando el pH, y biológicas, eliminando la actividad y composición microbiana (Gómez, et al. 2014).

#### **2.4 Planes de restauración forestal:**

Actualmente, hay un interés creciente en la restauración de estos ecosistemas y una decisión importante es la elección correcta del material de propagación adecuado. La práctica más común es utilizar fuentes de material geográficamente cercanas al sitio que se va a restaurar (Atkinson et al. 2021). El uso de genotipos locales aumenta la probabilidad de supervivencia, establecimiento y crecimiento de los propágulos y, por lo tanto, aumenta la probabilidad de éxito del programa de restauración, por tanto, el uso de material genético no local puede sufrir mala adaptación, lo que lleva a un establecimiento deficiente, por lo que se considera necesario el uso de microorganismos presentes en el sitio (Rojas et al, 2023).

#### **2.5 Hongos micorrícicos arbusculares (HMA):**

Los Hongos micorrícicos arbusculares (HMA) son organismos que están presentes en todos los ecosistemas terrestres (Cofré et al., 2019; Stürmer & Kemmelmeier, 2021), y entre los cuatro tipos principales de micorrizas, los HMA son los más importantes a nivel mundial dentro del sistema suelo-planta y están considerados simbioses universales, debido a que están presentes de manera natural en más del 80% de las especies vegetales (Carrillo et al., 2022).

Los HMA se caracterizan por tener un crecimiento inter e intracelular en la raíz de la planta, generando dos tipos de estructuras, arbusculos y vesículas. Y la relación entre la planta y el hongo se llama asociación "micorrícica arbuscular" con "arbuscular" que significa similar a un árbol, refiriéndose a estructuras fúngicas especializadas que interactúan con el contenido de las células corticales de la raíz y "micorrícica" que se refiere a la interacción hongo (mico) - raíz (rhizo) (Barrera & Silvia, 2009). Entre los microorganismos que se encuentran en el suelo, los HMA se destacan por su función ecológica y pueden tener una alta incidencia en la estabilidad de los ecosistemas, donde las condiciones edáficas son extremas. La función más importante de las micorrizas es solubilizar los nutrientes del suelo

relativamente inmóviles, tales como el zinc (Zn) y el fósforo (P), e igualmente poner los elementos minerales a disposición de la planta para obtener un aumento en su crecimiento. Además, le brinda protección contra patógenos, y a cambio de ello la planta le cede carbohidratos para su sostenimiento metabólico (Restrepo et al., 2019). La mayor absorción de nutrientes por las plantas micorrizadas se debe al aumento del volumen de suelo explorado por las raíces micorrizadas debido al micelio extraradical de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) el cual tiene acceso al fósforo más allá de la zona de agotamiento. La simbiosis es del tipo mutualista y obligada para los HMA, ya que reciben los fotoasimilados de la planta hospedadora a cambio de nutrientes (Allen et al., 2020).

La glomalina es una glicoproteína recalcitrante producida por los HMA, con elevada estabilidad, vida media entre seis y 42 años, lenta velocidad de degradación que depende del suelo de origen y se ha señalado que constituye el mayor componente de la materia orgánica del suelo. Esta proteína puede influir en la fertilidad del suelo al acomplejarse con el hierro (Fe), así como en la remediación de suelos dañados (Rodríguez et al., 2020). Esta glicoproteína está altamente relacionada con la estabilidad de los agregados, funciona como un pegamento de las partículas del suelo al mejorar la estructura e influir en la aptitud frente a la erosión y pérdida de agua (Arzuaga et al., 2022). Por lo tanto, la glomalina es una glicoproteína del suelo que se encuentra en abundancia en las hifas y las esporas de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), en la materia orgánica del suelo y en las raíces, es muy estable con una alta capacidad de humectación, lo que permite disminuir la erosión y pérdida de nutrientes en el suelo. Además, su aparente característica hidrófoba protege las hifas de las pérdidas de nutrientes y agua (Rodríguez et al., 2020).

Los HMA logran una mayor tolerancia al estrés mediante el control de ciertas características en la planta como; morfológicas (desarrollo de raíces adventicias), fisiológicas (producción de fitohormonas), genéticas (producción de acuaporinas) y bioquímicas (producción de enzimas antioxidantes) (Bahadur et al. 2019; Bahmani et al. 2018; Ruiz-Lozano et al. 2016; Li et al. 2013).

## **2.6 Hongos endófitos (HE):**

Los hongos endófitos son un grupo polifilético de organismos que tienen la capacidad de colonizar cualquier órgano y tejido vegetal, y que aparentemente no causan síntomas de enfermedades. Se ha demostrado que pueden mejorar el crecimiento de las plantas sometidas a condiciones desfavorables ya sea por factores bióticos como abióticos (Parada et al., 2018). Por tanto, estos hongos desarrollan una relación simbiótica con la planta, promoviendo el crecimiento vegetal mediante la producción de (fito)hormonas, suprimiendo las infecciones de patógenos fúngicos, ayudando a la resistencia sistemática a enfermedades y estrés de las plantas, a la mejora de la eficiencia en el uso de del agua y los nutrientes (Yu et al., 2016).

La relación entre los hongos endófitos y su planta hospedera puede variar de mutualismo a patogénesis. En estas interacciones, ambos organismos generan metabolitos secundarios potencialmente tóxicos. El hongo endófito produce factores de virulencia, como exoenzimas y metabolitos fitotóxicos, mientras que la planta desarrolla defensas mecánicas y bioquímicas. Para permitir la coexistencia, se establece una relación de antagonismo balanceado entre ellos, dependiendo de la virulencia del hongo y las defensas de la planta. Estas defensas y la virulencia del hongo varían y se ven influenciadas por factores ambientales y etapas de desarrollo. Cuando los factores de virulencia del hongo y las defensas de la planta están equilibrados, se forma una relación endofítica. Sin embargo, si el hospedero sufre senescencia o está bajo estrés, el equilibrio se inclina a favor del hongo y éste se expresa como patógeno, lo que se manifiesta en síntomas de enfermedad (Rodríguez et al., 2021).

### III. Hipótesis:

La inoculación de consorcios fúngicos (hongos micorrícicos arbusculares y hongos endófitos), ayudará al establecimiento de plántulas de *Araucaria araucana* en suelos afectados por distintas intensidades de fuego, permitiendo un mayor desarrollo vegetativo (aéreo y radicular), fisiológicos y bioquímicos que las plantas no inoculadas.

### IV. Objetivos:

#### 4.1 Objetivo general:

Evaluar la respuesta de las plantas de *A. araucana* inoculadas o no con consorcio fúngico (hongos micorrícicos arbusculares y hongos endófitos) al ser establecidas (bajo condiciones de vivero) en suelos con distintos grados de afectación por fuego, estudiando variables morfológicas, fisiológicas y bioquímicas para ser considerados en planes de restauración forestal, en ambientes afectados por fuego.

#### 4.2 Objetivos específicos:

1) Evaluar el grado de colonización de las plántulas de *Araucaria araucana* inoculadas con consorcio fúngico (HMA y HE), previo al establecimiento en suelos con diferentes niveles de afectación por fuego.

2) Comparar química y enzimáticamente ( $\beta$ -glucosidasa, N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa y fosfatasa ácida) los suelos recolectados de zonas con diferentes niveles de afectación por fuego, pre y post al trasplante de *Araucaria araucana*.

3) Estudiar la respuesta de las plántulas de *Araucaria araucana* colonizadas o no con HMA y HE al ser trasplantadas a suelos con distintos grados de afectación por fuego, evaluando parámetros morfo-fisiológicos y bioquímicos.

## V. Metodología:

### 5.1 Material vegetal

Se utilizaron plantas de *Araucaria araucana* obtenidas a partir de semillas (piñones) los cuales fueron recolectados en la Reserva Nacional China Muerta, Región de la Araucanía (Fig. 1), se realizó la prueba de flotación para determinar la viabilidad de la semilla y se sembraron en bandejas de poliestireno expandido (plumavit) de 300 cc con sustrato de corteza de pino (grado G12) compostado estéril hasta su germinación. Dichas plantas fueron mantenidas bajo condiciones de invernadero en la Universidad de Concepción, Campus Los Ángeles.

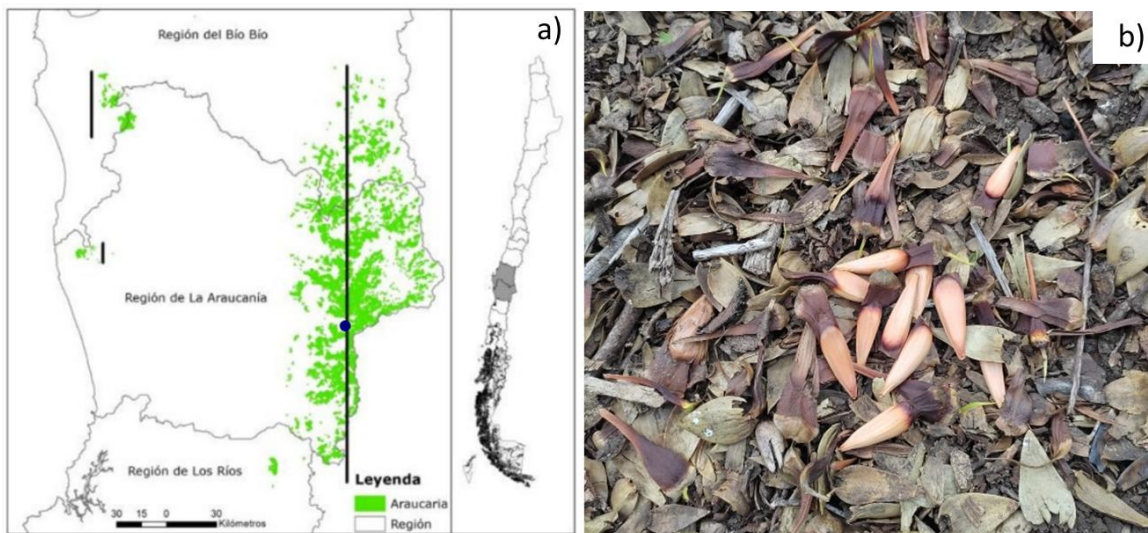


Fig. 1. a) Distribución de *A. araucana* (en verde) en territorio chileno en la Cordillera de los Andes (derecha) y sus dos subpoblaciones en la cordillera de Nahuelbuta (izquierda). Punto azul indica el área de toma de muestras vegetales (Muñoz & Serra, 2006). b) Colecta de semillas de *A. araucana*.

### 5.2 Activación de hongos arbusculares y endófitos e inoculación de *A. araucana*

La activación de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) se realizó mediante la técnica de plantas trampa utilizando alfalfa (*Medicago sativa*) y suelo proveniente de sitios conservados de la Reserva Nacional China Muerta, para lo cual durante 4 meses y bajo condiciones de invernadero se mantuvieron las plantas con riego a capacidad de campo periódicamente y fertilización baja en fósforo (solución de Hoagland modificada). Posteriormente se quitó el riego con la finalidad de generar una mayor colonización de las raíces y una mayor esporulación de los HMA en el sustrato. Finalmente, se utilizó una

mezcla del sustrato y raíces trituradas (2,5 g) como fuente de inóculo, el cual contenía esporas de HMA para las plantas de *A. araucana*.

Los hongos endófitos que se utilizaron para la inoculación fueron; *Penicillium melinii*, *Preusia cimatomera*, *Umbelopsis dimorfa* y *Phialocephala fortinii*, los cuales se aislaron anteriormente desde raíces de *A. araucana* (Rivas, 2020). La activación de las cepas se realizó mediante replique de material stock en medio líquido extracto de malta 1% en matraces Erlenmeyer de 250 ml e incubado durante 1 mes bajo condiciones estáticas a  $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Luego se extrajo la biomasa y se mezcló con agua destilada estéril para ser usados como inóculo micelial líquido (1,5 g de micelio en 10 mL de agua).

La inoculación de *A. araucana* con HMA (2,5 g) y Mix de HE (10 ml) se realizó en el momento que fueron trasplantadas desde las bandejas de plumavit a contenedores de 1L con sustrato de corteza de pino. Dichas plantas fueron mantenidas durante ocho meses bajo condiciones de invernadero, cuidando el riego para garantizar la colonización del consorcio fúngico en las plantas.

### **5.3 Recolección, preparación y análisis de suelos afectados por fuego**

Se recolectaron suelos de la base de árboles de *Araucaria araucana*, en profundidades de 10 cm y 20cm en 3 puntos distintos y que tuvieran presencia de raíces, los cuales fueron afectados por incendios forestales durante la temporada 2015 en la Reserva Nacional China Muerta, estos se categorizaron en función del grado de afectación que tuvieron, siendo las categorías: AA) alta afectación (aquellos incendios de copa y de sotobosque, con ejemplares de *Araucaria* muertos; coordenadas S  $38^{\circ} 45' 02,27''$  W  $71^{\circ} 30' 31,7''$ , 1605 msnm), BA) baja afectación (fuego a nivel de sotobosque, pero con ejemplares de *Araucaria* vivos; coordenadas S  $38^{\circ} 43' 55,7''$  W  $71^{\circ} 30' 26''$ , 1525 msnm) y sitio SA) sin afectación por fuego (conservado; coordenadas S  $38^{\circ} 44' 52,9''$  W  $71^{\circ} 30' 21,2''$ , 1488 msnm) (Fig. 2 a-c). Los suelos fueron trasladados a la Universidad de Concepción, Campus Los Ángeles, donde se estableció el ensayo, después prepararon las muestras por tamizaje y se realizaron análisis enzimáticos ( $\beta$ -glucosidasa, N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa y fosfatasa

ácida) y permeabilidad de los suelos. Los análisis químicos completos se realizaron en el Laboratorio de Suelos de la Universidad de Concepción Campus Chillán.

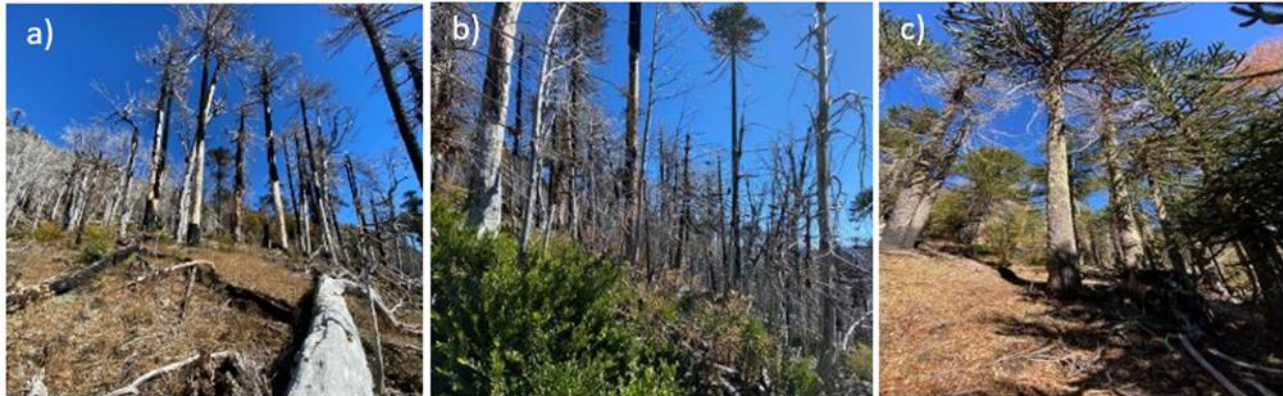


Fig. 2 Sitios con diferentes niveles de afectación por fuego a) alta afectación, b) baja afectación, y c) sitio conservado (sin afectación por fuego).

La actividad enzimática de  $\beta$ -glucosidasa (BG; EC 3.2.1.21; Eivazi & Tabatabai, 1988), que está asociada al ciclo del C, y de N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa (NGA; EC 3.2.1.52; Parham & Deng, 2000), relacionada con los ciclos del C y N, se determinaron en 1 g de suelo fresco utilizando p-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranosido y p-nitrofenil-N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminido, respectivamente. El p-nitrofenol (p-NP) liberado de la reacción después de 1 h de incubación se midió a 410 nm usando un espectrofotómetro TU-1810 split beam (Tabatabai & Bremner, 1969). La fosfatasa ácida (PA; EC 3.1.3.2), principalmente relacionada con el ciclo del P, también se midió en 1 g de suelo usando fosfato de p-nitrofenilo, y la p-NP liberada después de 1 h de incubación se midió a 400 nm (Tabatabai & Bremner, 1969). La actividad enzimática se cuantificó utilizando como referencia una curva de calibración con p-NP. Dichas actividades se midieron directamente de los suelos provenientes de campo (“Antes”) y al finalizar los ensayos en vivero “Después”.

En cuanto a la permeabilidad de los suelos se siguió la metodología propuesta por Dekker & Ritsema (1994). Los distintos tipos de suelo fueron secados a 65° C en una estufa por 48 h, luego se depositaron en placas de vidrio, se aliso la superficie y se dejaron estabilizando a 20° C por 48 h. Se colocaron tres gotas de agua destilada sobre la superficie alisada con ayuda de un gotario. Se tomó como valor WDTP (“water drop penetration time”) el tiempo que demora la segunda gota en ser absorbida por el suelo y se clasificó según la clasificación propuesta por Dekker & Jungerius (1990) (Tabla 1).

Tabla 1: Clasificación WDTP propuesta por Dekker y Jungerius (1990).

Clase de Persistencia	Nivel de la persistencia de la repelencia del agua	Valores de WDPT(s)
0	No repelente al agua	<5
1	Ligeramente repelente al agua	5- 60
2	Fuertemente repelente al agua	60 - 600
3	Severamente repelente al agua	600 - 3600
4	Extremadamente repelente al agua	>3600

**5.4 Trasplante de *A. araucana* a suelos con diferentes grados de afectación por fuego**

Después de seis meses de inoculadas las plantas de *A. araucana* con los consorcios de HMA y HE, se evaluó el porcentaje de colonización de acuerdo con Chávez et al. (2023) y se procedió a trasplantar a suelos con diferentes niveles de afectación por fuego sin esterilizar y en sustrato de corteza de pino como control. Para ello, se utilizaron macetas de 3 L donde se pusieron las plantas inoculadas y control (sin inoculación) en forma individual y se rellenaron con los diferentes suelos según se detalla en la Fig. 3.

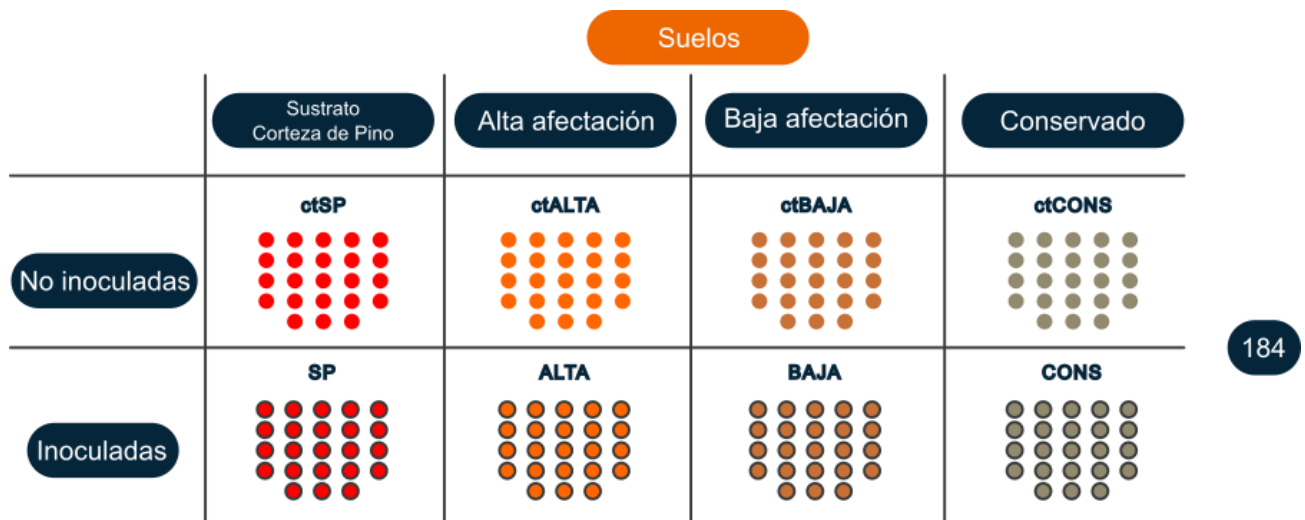


Fig. 3. Diseño del ensayo general con el trasplante de plantas inoculadas y no inoculadas en los suelos con diferentes niveles de afectación por fuego con su respectivo control en corteza de pino como sustrato base en viverización.

## 5.5 Porcentaje de colonización de HMA y HE

Para calcular el porcentaje de colonización de HMA y HE se inició con un lavado de las raíces con agua del grifo para eliminar todo el sustrato, luego se diseccionaron en trozos y se dispusieron en tubos Falcón con KOH al 10%. Posteriormente se dejaron en un calefactor durante 1 h a 95°C, pasado el tiempo, se lavaron con agua destilada más hipoclorito de sodio para eliminar el exceso de KOH. Luego la raíz se cortó en trozos de aproximadamente 1cm y se agregó HCl al 10% durante 3 min, luego se eliminó el HCl y se agregó azul de tripano, se calentó durante 1 h a 95°C en baño de agua. Finalmente se eliminó el exceso de azul de tripano adicionado lactoglicerol y se dejó reposar durante 48 h para poder observar en microscopio Motic BA 310 (Phillips & Hayman 1970). El porcentaje de colonización de HMA se estimó observando vesículas, arbusculos y micelio, y la presencia de los hongos endófitos se calculó identificando la cantidad de micelio de septos oscuros y microesclerocios, mediante el método de intercepción de línea (Giovannetti & Mosse, 1980).

## 5.6 Análisis morfológicos de las plantas de *A. araucana*

Terminado el periodo de los ensayos se comenzó con la evaluación de las variables respuestas. Las variables morfológicas que se midieron fueron el alto total (cm), el cual se consideró desde la primera proyección del tallo (cuello) hasta el meristema apical; el largo de la raíz que se consideró desde la primera proyección de la raíz hasta la punta del ápice de la raíz más larga (cm), y, además, con pie de metro se midió el diámetro a la altura del cuello (DAC) en mm. La biomasa se midió pesando la parte aérea y radicular por separado, las cuales fueron cortadas con bisturí, la raíz se consideró desde su primera proyección en el tallo. El tallo se consideró entre el meristema apical hasta la primera proyección de la raíz. Se calculó el peso fresco y posteriormente el peso seco, el cual se realizó luego de secar en estufa ambas partes a 72° C por 48 h. Con base en los rasgos medidos, se calculó el índice de calidad de Ritchie (Rueda-Sánchez et al., 2018). Para obtener la mortalidad de las plántulas se calculó como la frecuencia de plántulas que murieron al finalizar el experimento, expresado en %.

$$\text{Índice de Ritche} = \frac{\text{Peso seco total de la planta (g)}}{\frac{\text{Longitud del brote (cm)}}{\text{DAC (cm)}} + \frac{\text{Peso fresco del brote (g)}}{\text{Peso fresco de la raíz (g)}}}$$

### 5.7 Contenido relativo de agua (CRA)

Para obtener el CRA, se recolectaron hojas de la sección media de la planta, se pesaron inmediatamente obteniendo el peso fresco (PF). Se pesó un mínimo de 0,5 g peso fresco de cada muestra. Para la obtención del peso turgente (PT) se colocaron las hojas en agua destilada durante 24 h dentro de placas Petri cerradas. Luego se pesaron periódicamente hasta tener un peso constante y finalmente las hojas fueron secadas en horno durante 48 h a 72°C obteniéndose el peso seco (PS) (Yamasaki & Dillenburg, 1999; Rivas, 2020). La ecuación utilizada para el cálculo fue:

$$\text{CRA (\%)} = [ (\text{PF-PS}) / (\text{PT-PS}) ] * 100$$

### 5.8 Pigmentos fotosintéticos

La obtención de los pigmentos fotosintéticos se realizó extrayendo discos foliares de 5 mm de hojas desde la sección media de la planta, los cuales se sumergieron en acetona al 80% v/v. Luego fueron calentadas en baño de agua a 80°C durante 10 min logrando extraer los pigmentos. Luego se midió la absorbancia de los pigmentos fotosintéticos a 470, 646,8 y 663,2 nm en espectrofotómetro (Aroca, 2001). Los coeficientes de extinción y las ecuaciones utilizadas fueron reportados por Lictenthaler (1977).

$$C_a = 12.25A_{663.2} - 2.79A_{646.8}$$

$$C_b = 21.50A_{646.8} - 5.10A_{663.2}$$

$$C_{a+b} = 7.15A_{663.2} + 18.71A_{646.8}$$

$$C_{x+c} = (1000A_{470} - 1.82C_a - 85.02C_b) / 198$$

### **5.9 Máxima eficiencia cuántica del fotosistema II (Fv/Fm)**

Se midió la fluorescencia de la clorofila II utilizando un fluorímetro Hansatech modelo pocket PEA Chlorophyll fluorimeter. Las mediciones se realizaron adaptando las hojas a la oscuridad con clips de hojas durante 20 min. El cálculo se realizó por el instrumento a partir de la relación de fluorescencia de clorofila (Fv/Fm) que refleja la eficiencia cuántica máxima del PSII (Aghai et al. 2019).

### **5.10 Enzimas Oxidativas (CAT, APX, GPX)**

Para determinar la actividad enzimática de catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX) y guayacol peroxidasa (GPX), primero se obtuvo un extracto enzimático de las plantas que se utilizaron. Se inició pesando 150 mg de tejido vegetal fresco y se depositó en un crisol, luego se vertió nitrógeno líquido para con el mortero realizar la molienda, asegurándose que el material quedara bien pulverizado, esto se repitió de 1 a 2 veces por tratamiento. Luego el material pulverizado se depositó en tubos eppendorf de 1,5 ml a los cuales se les adicionó 1,5 ml de buffer fosfato de potasio pH 7,4 y se homogenizó con Vortex 10 s, para posteriormente proceder a centrifugar las muestras en un centrifuga refrigerada a 10.000 g a 4 °C durante 20 min, procurando dejar los tubos de forma que la bisagra del tubo apunte hacia afuera, para facilitar la extracción del precipitado. Finalmente se recuperó el extracto con micropipeta evitando resuspender el pellet y se transfirió a un nuevo tubo eppendorf limpio y estéril. Éste se almacenó a -20 °C para su posterior uso.

Para determinar la actividad enzimática primero fue necesario determinar la cantidad de proteínas totales de los extractos enzimáticos mediante el método de Bradford. La cuantificación de proteínas se realizó agregando 1 ml de reactivo Bradford en tubos de vidrio a los cuales se agregó 30 µl del extracto enzimático y al blanco 30 µl de agua desionizada, se dejó incubar la reacción a temperatura ambiente durante 2 min, se realizó una curva de calibración utilizando seroalbúmina bovina (BSA) en concentraciones desde 0 a 10 µg/ml y se midió la absorbancia a 595 nm (Bradford, 1976).

La actividad enzimática de catalasa se determinó agregando en cubetas de cuarzo de 2 ml, 1700 µl de buffer fosfato de potasio pH 6.5, 200 µl de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 100 mM y 100 µl del extracto enzimático. Se mezcló dos veces en la cubeta por inversión e

inmediatamente se llevó al espectrofotómetro donde se realizó la lectura de absorbancia a 240 nm en intervalos de 10 s, durante 5 min. En el blanco se reemplazó el extracto enzimático por 100  $\mu$ l de agua desionizada (Frery et al. 2010; Bertini et al. 2019). La actividad enzimática se expresó en  $\mu$ moles de  $H_2O_2$  oxidado  $mg^{-1}$  PF  $min^{-1}$ .

La actividad enzimática de la Ascorbato peroxidasa se determinó agregando en cubetas de cuarzo de 2 ml, 1750  $\mu$ l de buffer fosfato de potasio pH 7, 200  $\mu$ l de  $H_2O_2$  100 mM, 20  $\mu$ l de ácido ascórbico 100 mM y 30  $\mu$ l del extracto enzimático. Se mezcló dos veces en la cubeta por inversión e inmediatamente se llevó al espectrofotómetro donde se realizó lectura de absorbancia a 290 nm en intervalos de 10 s, durante 5 min. En el blanco utilizado se reemplazó el extracto enzimático por 100  $\mu$ l de agua desionizada (Hodges et al., 2000; Lester et al., 2004 & Bertini et al., 2019). La actividad enzimática se expresó en  $\mu$ moles de ascorbato oxidado  $mg^{-1}$  PF  $min^{-1}$ .

La actividad enzimática de guayacol peroxidasa se determinó agregando en cubetas de cuarzo de 2 ml, 1.890  $\mu$ L de buffer fosfato de potasio 100 mM pH 6.5, 50  $\mu$ l de  $H_2O_2$  100 mM, 50  $\mu$ l de guayacol 12 mM y 10  $\mu$ l del extracto enzimático. Se mezcló dos veces en la cubeta por inversión e inmediatamente se llevó al espectrofotómetro donde se realizó la lectura de absorbancia a 470 nm en intervalos de 10 s, durante 10 min. En el blanco utilizado se reemplazó el extracto enzimático por 10  $\mu$ l de agua desionizada (Mazhoudi et al., 1997; Bertini et al., 2019). La actividad enzimática se expresó en  $\mu$ moles de guayacol oxidado  $mg^{-1}$  PF  $min^{-1}$ .

### **5.11 Prolina**

La determinación de prolina se realizó basándose en la reacción con ninhidrina, para lo cual se pesaron muestras de 0,25 g de hojas de la sección media de la planta, las cuales se molieron usando nitrógeno líquido, luego se homogenizaron con 1,25 ml de ácido sulfosalicílico al 3%, se filtró el contenido y se depositó en tubos eppendorf. Además, se adicionó 0,5ml de ácido acético glacial y 0,5 ml de reactivo de ninhidrina en cada tubo y fueron agitados en vortex. Posterior a eso, las muestras se incubaron en baño de agua a 100 °C durante 1 h, luego se enfriaron durante 15 min en agua fría, y finalmente se adicionó 1 ml de tolueno y se agitó en vortex durante 30 s. Se midió absorbancia a la fase superior de la reacción a 520 nm utilizando tolueno como blanco (Bates et al., 1973).

### **5.12 Glomalina total y de fácil extracción**

Se obtuvo la fracción de glomalina de fácil extracción (EE-GRSP), pesando 3 g de suelo en tubos Falcon, se adicionó 20 ml de buffer citrato 20 mM, pH 7,0 y la solución fue autoclavada por 30 min a 121°C y luego centrifugada a 3000 rpm por 15 min. Para la glomalina total (GRSP) se pesaron 3 g de suelo en tubos Falcon, se adicionó 20 ml de buffer citrato 50 mM, pH 8,0, se autoclavó por 60 min a 121°C se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min y se extrajo el buffer, este proceso se repitió 4 veces consecutivas, la solución se midió en espectrofotómetro a 595 nm (Wright & Upadhyaya, 1998).

### **5.13 Cantidad de esporas (100 g)**

La cantidad de esporas de HMA en los suelos se obtuvo mediante la técnica de tamizado, para lo cual se pesaron 20 g de suelo y se tamizaron en tamices de 500, 250, 150 y 53  $\mu\text{m}$  el material retenido en el tamiz de 53  $\mu\text{m}$  se depositó en un tubo Falcón y se rellenó con agua destilada hasta los 45 ml, luego se centrifugo a 2500 rpm durante 5 min, el sobrenadante se eliminó dejando el pellet del fondo y posteriormente se adicionó una solución de sacarosa al 70% con agua destilada, se realizó una segunda centrifugación con los mismos parámetros, se extrajo el sobrenadante el cual contendrá las esporas y se vertió en un tamiz de 53  $\mu\text{m}$ , finalmente se lavó con agua de grifo para eliminar el exceso de sacarosa y se dispuso en una placa Petri para su contabilización ajustando la cantidad a 100g de suelo seco (Trejo-Aguilar & Banuelos, 2020).

### **5.14 Análisis estadísticos**

Los datos se analizaron buscando la normalidad de estos y la homogeneidad de la varianza mediante pruebas de análisis estadísticos, Shapiro-Wilk y Levene respectivamente, la significancia de los datos se determinó utilizando el Test de Tukey con un nivel de confianza del 95% ( $p < 0,05$ ), los análisis ANOVA de una vía se realizaron en el programa de análisis estadístico StatSoft (Statistica) V.10.0. Además, los conjuntos de datos se sometieron a análisis de componentes principales (PCA), que permite resumir los resultados obtenidos con todas las variables respuesta. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando los paquetes de software de libre acceso Past 4.1.

## VI. Resultados

### 6.1 Análisis químico de suelos

Los suelos analizados de los sectores conservado, y con baja y alta afectación por fuego presentaron características químicas diferentes, siendo más semejantes los suelos de los sectores que presentan algún grado de afectación por fuego (alta y baja afectación). El sitio conservado presentó una mayor cantidad de Fe, K disponible como también un mayor contenido de materia orgánica, nitrógeno disponible, y Ca, entre otros (Fig. 4).

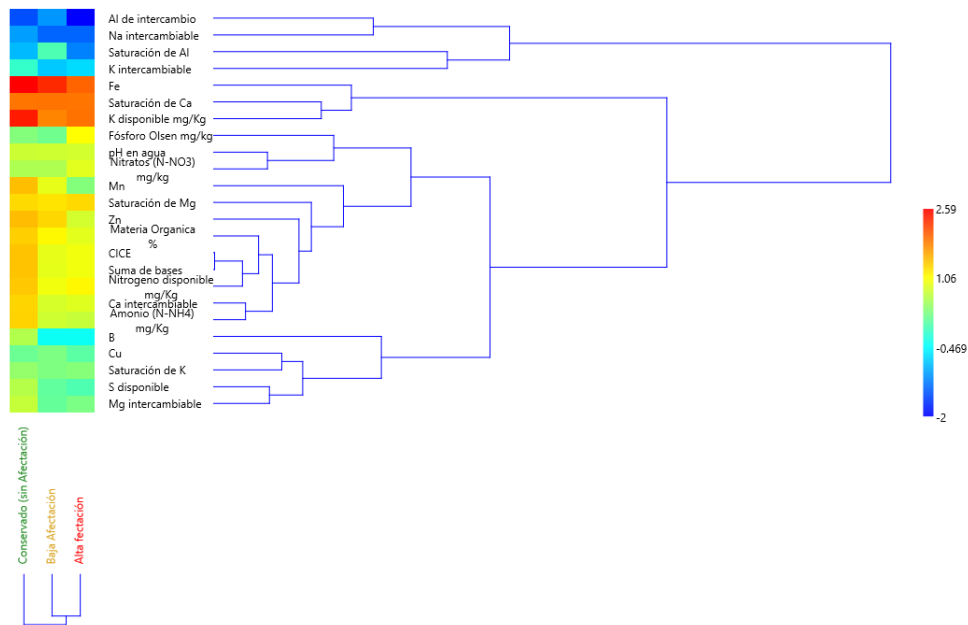


Fig. 4. Agrupación jerárquica de muestras basada en análisis químico de suelos provenientes de sitios conservado y afectados por fuego.  $R^2$ : 0,86.

### 6.2 Evaluación de las plantas de araucaria previo al trasplante a suelos con diferentes grados de afectación por fuego.

Previo al trasplante de las plantas a los distintos suelos afectados por incendio, se evaluó distintos parámetros morfológicos y fisiológicos de las plantas de araucaria (Tabla 2), donde se observó un 35% de colonización micorrícica en las raíces, además de una altura promedio de 9,60 cm de alto con un DAC de 0,57 cm y 1,41 gr de biomasa total. Los parámetros fisiológicos fueron normales, con un valor de  $F_v/F_m$  de 0,82 y 3,21 de clorofila relativa.

Tabla 2: Parámetros morfológicos y fisiológicos de plantas de *A. araucana* previo trasplante a suelos afectados por incendio.

% de colonización Total (HMA+HE)	Altura [cm]	DAC [cm]	Fv/Fm	Clorofila relativa	Biomasa total [gr]
35 ± 13	9,60 ± 1,38	0,57 ± 0,41	0,82 ± 0,02	3,21 ± 0,41	1,41 ± 0,13

El símbolo ± representa la desviación estándar con un n=3 para los parámetros fisiológicos y % de colonización y un n= 30 para parámetros morfológicos (altura y DAC).

### 6.3 Determinación de la colonización de plantas de araucaria por HMA y HE establecidas en suelos con diferentes grados de afectación por fuego.

La colonización en las plantas de araucaria (Fig. 5-a.) fue alta, bordeando un 80% para todos los tratamientos inoculados y sin diferencia significativa entre ellos, en tanto que las plantas no inoculadas alcanzaron una colonización alrededor de un 45%, siendo menor a las plantas previamente inoculadas (con suelos no estériles y sin previa inoculación). En las raíces de estas plantas se observaron distintas estructuras de HMA predominando la formación de hifas y vesículas dentro de las raíces. En cuanto a las estructuras de HE, se observaron microesclerosios, hifas de septo oscuro y conidias (Fig. 5-b.).

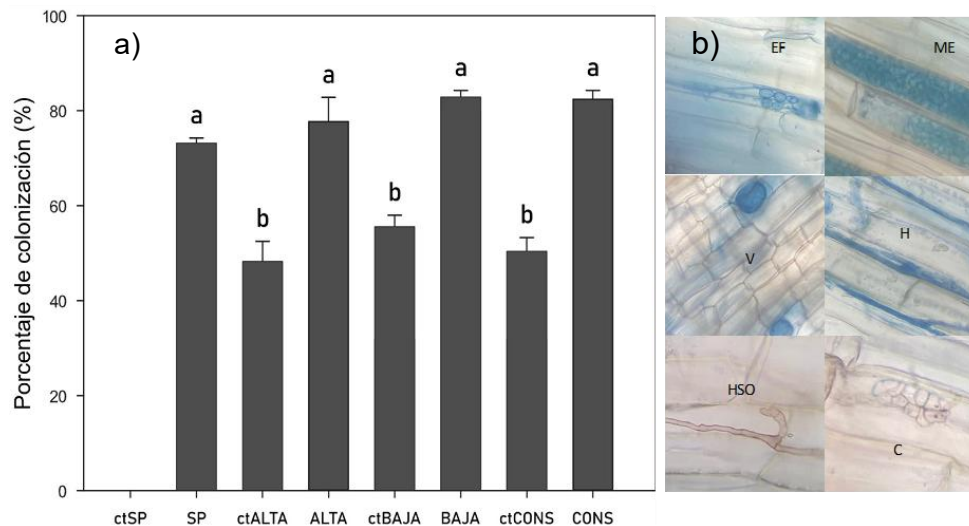


Fig. 5. Colonización en plántulas de *A. araucana* por HMA (%), luego de 8 meses de tratamiento con el consorcio fúngico (derecha). Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey). Observaciones microscópicas (izquierda) mostrando las distintas estructuras micorrícicas y endofíticas dentro de las raíces de plantas de araucaria donde, EF: esporas en formación; H: hifas; V: vesículas; C: conidia; ME: microesclerocios.

#### 6.4 Parámetros morfológicos de plantas de araucaria establecidas en suelos con diferentes grados de afectación por fuego.

Las plántulas inoculadas con el consorcio fúngico y establecidas en suelos nativos con distinta afectación por fuego y conservado mostraron una diferencia significativa en la altura, siendo las más altas (ALTA, BAJA, CONS) (Fig. 6a.). Por su parte las plántulas no inoculadas y establecidas en los suelos nativos afectados por fuego y conservado (ctALTA, ctBAJA, ctCONS), presentaron una altura menor a las inoculadas pero significativamente mayor a los tratamientos control sustrato pino (ctSP) y sustrato pino (SP) inoculado. En el largo de la raíz los tratamientos que mostraron un desarrollo mayor fueron los tratamientos CONS, BAJA y SP, superando los 30 cm (Fig. 6-b.; Fig. 7.), existiendo diferencias significativas con los demás tratamientos. Los tratamientos ctALTA, ALTA, ctCONS, tuvieron largos similares y los tratamientos con un menor desarrollo radicular fueron ctSP, ctBAJA.

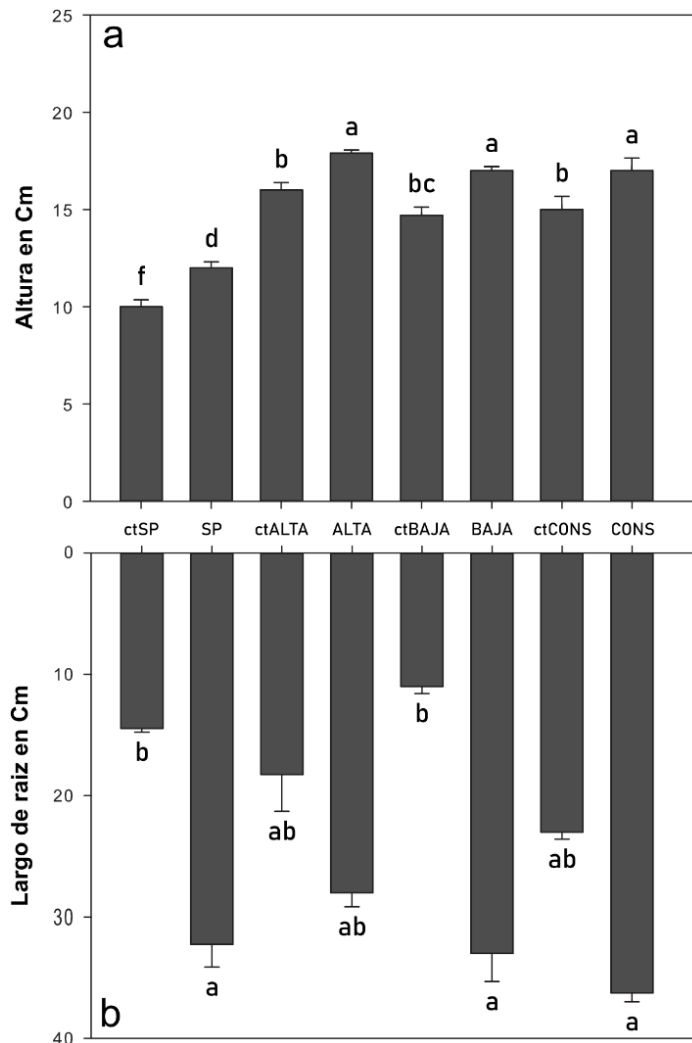


Fig. 6. Altura (a) y largo de raíz (b) de plántulas de *A. araucana* establecidas en suelos nativos con distintos grados de afectación por fuego y en suelos control de sustrato de pino, inoculadas y no inoculadas con consorcio fúngico. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey).

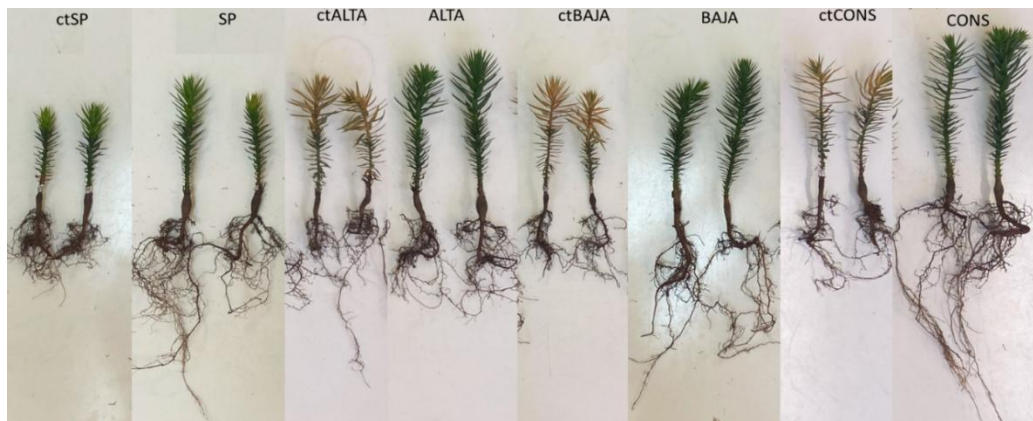


Fig. 7. Características morfológicas de las plantas sometidas a los diferentes tratamientos, que evidencian diferencias en tamaño tanto de la parte aérea como radicular, así como también en el color de las plantas.

Los datos obtenidos muestran que las plántulas inoculadas y establecidas en suelos de baja afectación y conservado presentaron los mayores DAC en las plantas de araucaria (Fig. 8), siendo estas diferencias significativas si se compara con las plantas no inoculadas establecidas en las mismas condiciones, a excepción de la condición alta donde no se observaron estas diferencias. Sin embargo, estas diferencias, no fueron significativas si se comparan con las plantas control inoculadas y no inoculadas (ctSP y SP).

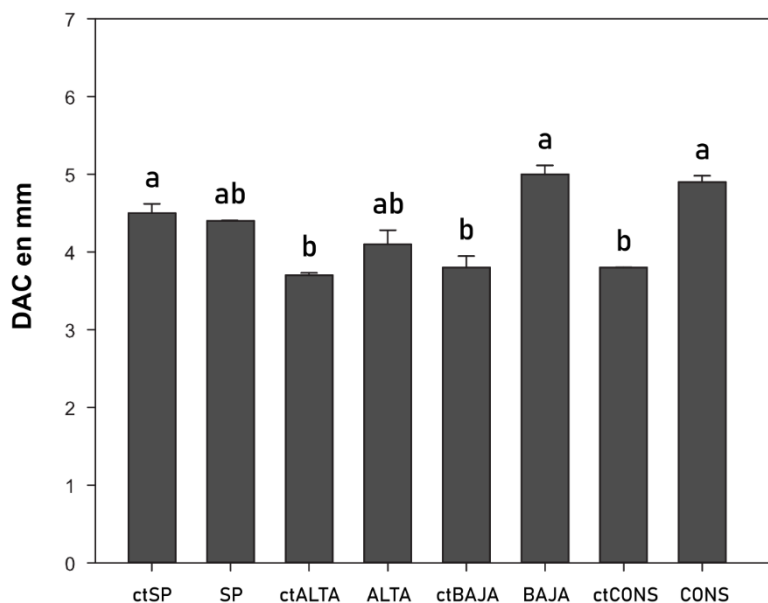


Fig. 8. Diámetro a la altura del cuello (DAC) de plántulas de *A. araucana* establecidas en suelos con distintos grados de afectación por fuego y en suelos control de sustrato de corteza de pino, inoculadas y no inoculadas con consorcio fúngico. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey).

Los datos de biomasa total tanto aérea como radicular mostraron que las plántulas de araucaria inoculadas con el consorcio fúngico y establecidas en los diferentes suelos sin afectación por fuego (CONS) mostraron la mayor cantidad de biomasa total (Fig. 9), siendo significativamente mayor a todos los demás tratamientos, seguido por las plantas inoculadas establecidas en suelos afectados por fuego (ALTA, BAJA). Para el caso de plantas inoculadas o no en sustrato de pino no se observaron diferencias significativas para biomasa aérea (a), pero si para la biomasa radicular (b) donde las plantas inoculadas presentaron el doble de biomasa en comparación con ctSP (plantas no inoculadas). Finalmente, las plántulas que mostraron la menor cantidad de biomasa radicular fueron las establecidas en suelo de alta afectación sin inoculación (ctALTA).

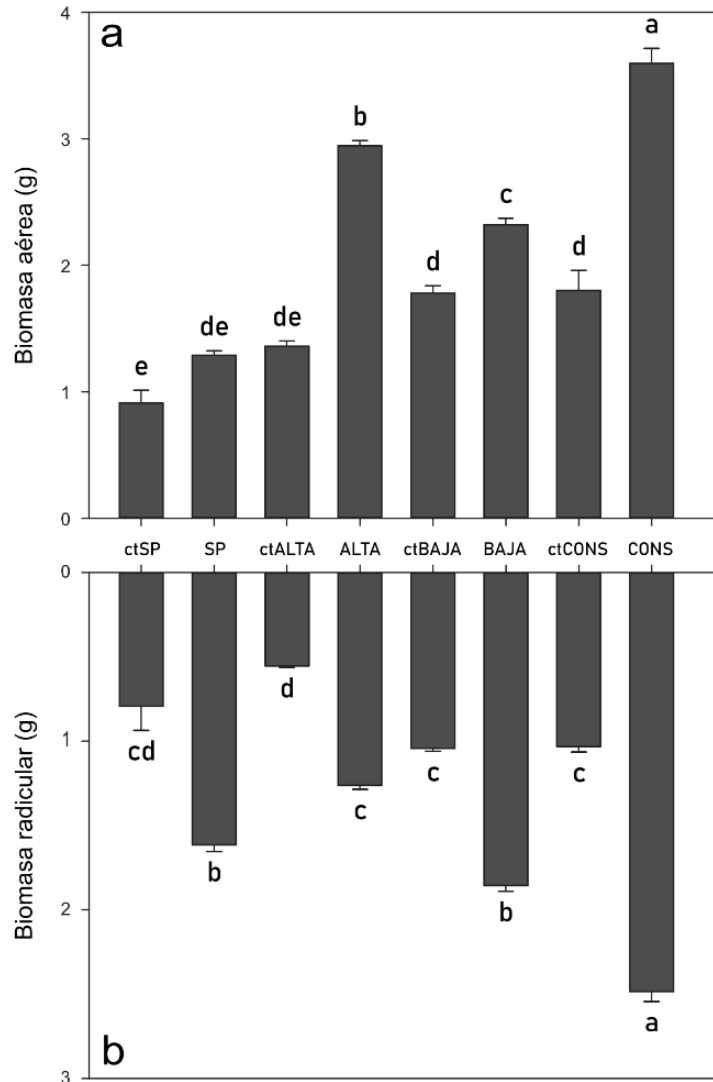


Fig. 9. Biomasa aérea (a) y radicular (b) de plántulas de *A. araucana* establecidas en suelos con distintos grados de afectación por fuego y en suelos control de sustrato de corteza de pino, inoculadas y no inoculadas con consorcio fúngico. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey).

Los datos sobre índice de calidad de la planta (Índice de Ritchie) indican que las plantas establecidas en suelo CONS presentan la mejor calidad, siendo significativamente diferentes a los demás grupos, seguido por las establecidas en suelo de BAJA afectación, luego los tratamientos ctSP, SP y ALTA, finalmente las plantas establecidas en suelos afectados, sin presencia del consorcio fúngico presentaron los niveles más bajos (Figura 10).

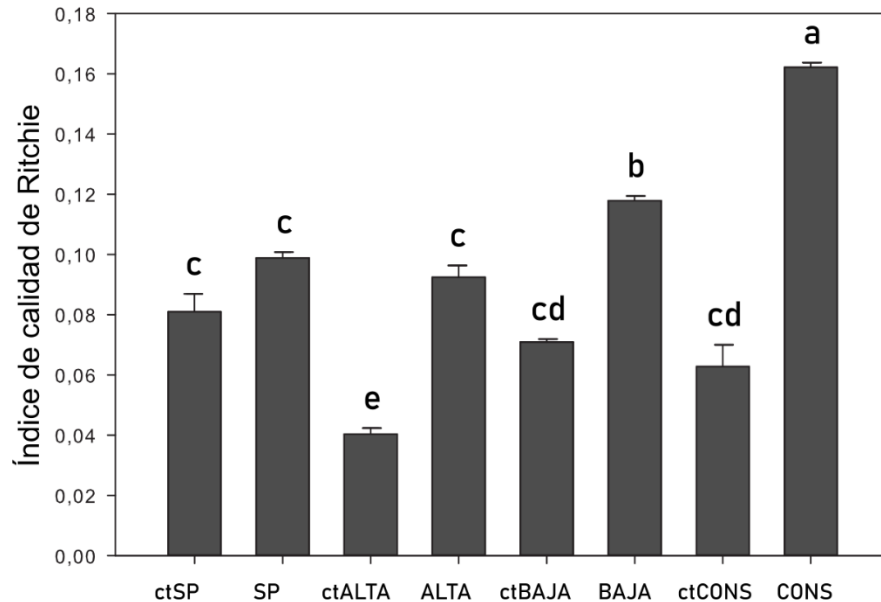


Fig. 10. Índice de calidad de la planta (Ritchie) de plántulas de *A. araucana* establecidas en suelos con distintos grados de afectación por fuego y en suelos control de sustrato de corteza de pino inoculadas y no inoculadas con consorcio fúngico. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey).

La tasa de mortalidad obtenida al finalizar el experimento mostró que las plántulas inoculadas con el consorcio fúngico tuvieron 100 % de sobrevivencia, independiente de la procedencia del suelo donde fueron establecidas, además, de las plantas que fueron trasplantadas a sustrato de pino sin inoculación previa. Sin embargo, las plantas no inoculadas y que fueron trasplantadas a los sitios ctCONS, ctBAJO y ctALTA presentaron más de un 70% de mortalidad (Tabla 3).

Tabla 3: Tasa de mortalidad en porcentaje para plántulas de *Araucaria araucana* después de 8 meses trasplantadas a suelos con diferentes grados de afectación por fuego.

Tratamiento	Total plantas	Plantas vivas	Plantas muertas	Tasa mortalidad (%)
ctSP	23	23	0	0
SP	23	23	0	0
ctALTA	23	2	21	91
ALTA	23	23	0	0
ctBAJA	23	6	17	74
BAJA	23	23	0	0
ctCONS	23	7	16	70
CONS	23	23	0	0

### 6.5 Parámetros fisiológicos de plantas de araucaria establecidas en suelos con diferentes grados de afectación por fuego.

Las mediciones del rendimiento cuántico máximo del fotosistema PII después de 8 meses de inoculación y trasplante a los suelos en estudio, mostraron que los grupos que no estaban previamente inoculados (controles) y con suelos con distintos grados de afectación por fuego y conservado (ctALTA, ctBAJA y ctCONS), mostraron valores de Fv/Fm menores a 0,4 (Fig. 11), presentando diferencias significativas con los otros tratamientos estudiados. Los valores de Fv/Fm para las plantas inoculadas (ALTA, BAJA y CONS) y las plantas en sustrato de corteza de pino (ctSP y SP) estuvieron cercanos a 0,8 y sin diferencias significativas entre ellos.

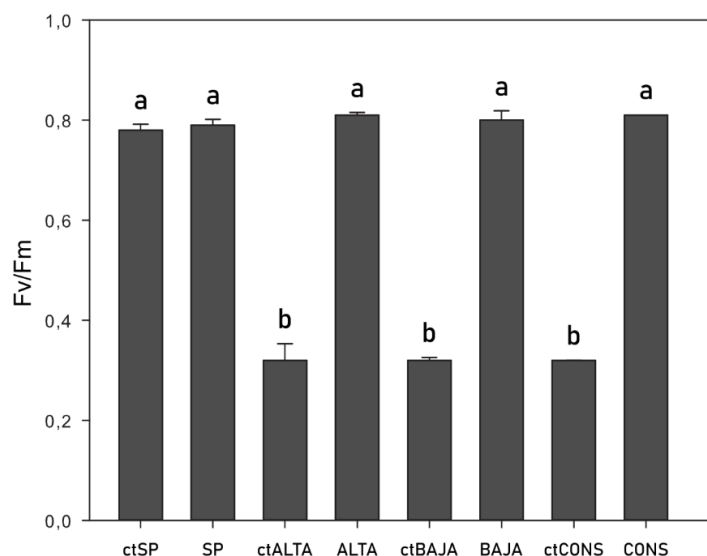


Fig. 11. Rendimiento cuántico máximo del fotosistema PII de plántulas de *A. araucana* establecidas en suelos con distintos grados de afectación por fuego y en suelos control de sustrato de corteza de pino, inoculadas y no inoculadas con consorcio fúngico. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey).

Los resultados obtenidos para los pigmentos fotosintéticos mostraron que las plántulas establecidas en el suelo sin afectación por fuego (CONS) e inoculadas con el consorcio fúngico, presentaron la mayor concentración de clorofila total (Fig. 12), siendo significativamente mayor a los demás tratamientos, seguido por los suelos afectados por fuego (ALTA, BAJA) inoculados. Las plántulas establecidas en sustrato de corteza de pino, inoculadas y no inoculadas, no presentaron diferencias significativas entre ellas. Finalmente, las plántulas que mostraron la menor concentración de pigmentos fotosintéticos fueron las establecidas en suelos afectados por fuego, no inoculadas (ctALTA, ctBAJA) y las establecidas en suelos no afectados por fuego y no inoculadas (ctCONS).

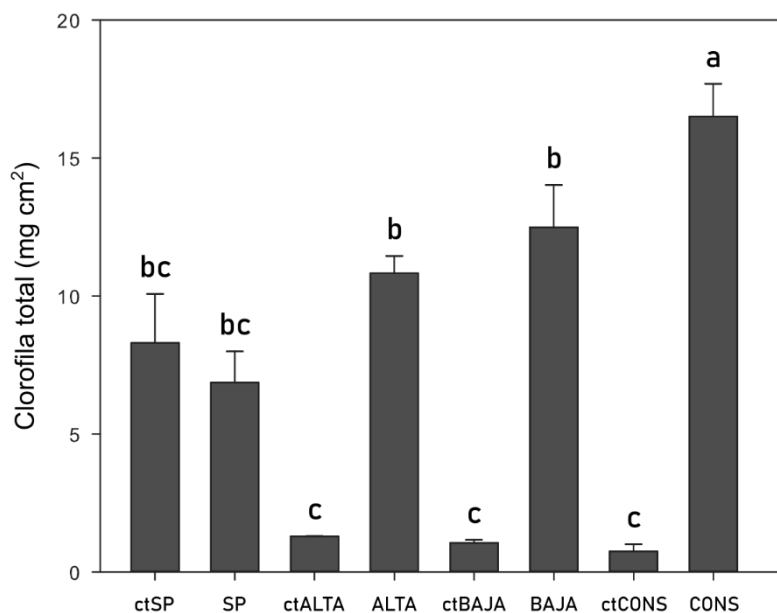


Fig. 12. Contenido de clorofila total en hojas de plántulas de *A. araucana* establecidas en suelos con distintos grados de afectación por fuego y en suelos control de sustrato de corteza de pino, inoculadas y no inoculadas con consorcio fúngico. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey).

Los resultados para clorofila a, b y carotenos (Tabla 4), muestran que los tratamientos CONS y BAJA presentan los valores más altos en estos parámetros, con diferencias significativas con los demás tratamientos, seguidos por los tratamientos ctSP, SP y ALTA. En tanto los tratamientos que presentaron los menores valores fueron ctALTA, ctBAJA y ctCONS (Tabla 4).

Tabla 4: Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ ) de pigmentos fotosintéticos en plantas de *A. araucana* establecidas en suelos con distintos grados de afectación por fuego y en suelos control de corteza de pino, inoculadas y no inoculadas con consorcio fúngico.

Trat	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila Total	Relación Chla/Chlb	Carotenos
ctSP	4,16 $\pm$ 0,78 ab	4,85 $\pm$ 1,08 abc	8,77 $\pm$ 1,80 ab	0,86 $\pm$ 0,04 bc	5,04 $\pm$ 0,21 a
SP	3,91 $\pm$ 1,37 ab	2,96 $\pm$ 1,39 abc	6,70 $\pm$ 2,68 ab	1,36 $\pm$ 0,18 abc	5,48 $\pm$ 0,00 a
ctALTA	0,6 $\pm$ 0,34 c	0,40 $\pm$ 0,20 d	0,97 $\pm$ 0,52 bc	1,44 $\pm$ 0,25 ab	1,33 $\pm$ 0,62 b
ALTA	6,25 $\pm$ 1,39 a	3,95 $\pm$ 0,79 abc	9,97 $\pm$ 2,12 ab	1,58 $\pm$ 0,08 ab	5,14 $\pm$ 0,80 a
ctBAJA	0,43 $\pm$ 0,22 c	0,67 $\pm$ 0,21 cd	1,08 $\pm$ 0,10 bc	0,75 $\pm$ 0,53 c	0,21 $\pm$ 0,26 c
BAJA	7,03 $\pm$ 1,84 a	4,33 $\pm$ 1,48 a	11,09 $\pm$ 3,22 a	1,65 $\pm$ 0,17 a	5,96 $\pm$ 0,68 a
ctCONS	0,27 $\pm$ 0,01 c	0,60 $\pm$ 0,24 d	0,84 $\pm$ 0,23 bc	0,49 $\pm$ 0,16 c	1,92 $\pm$ 0,42 b
CONS	9,73 $\pm$ 2,50 a	5,05 $\pm$ 1,08 a	14,46 $\pm$ 3,50 a	1,91 $\pm$ 0,09 a	6,34 $\pm$ 0,96 a

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey).

Los contenidos del aminoácido prolina en las plántulas de *A. araucana* de los distintos tratamientos con inoculación con el consorcio fúngico (SP, ALTA, BAJA y CONS) fueron bajos ( $<1 \mu\text{moles} \times \text{gr de PF}$ ) y sin diferencias significativas entre ellos (Fig.13). En cambio, en los tratamientos con suelos control no inoculados (ctALTA, ctBAJA, ctCONS), se detectaron los valores más altos de prolina, en un rango de 3,9 – 6,2 ( $\mu\text{moles} \times \text{gr de PF}$ ). Sin embargo, el tratamiento control con sustrato de corteza de pino (ctSP) fue el que presentó la mayor concentración de prolina, con 7,7  $\mu\text{moles g de PF}$ .

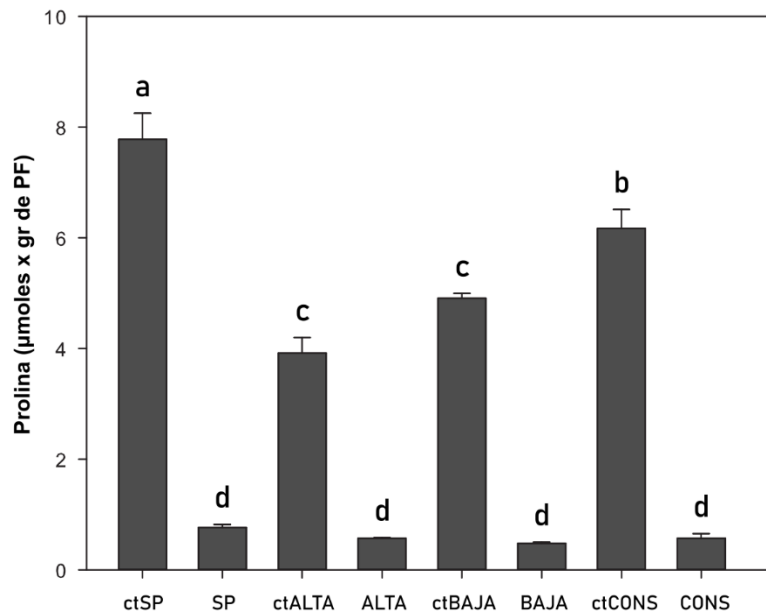


Fig. 13. Contenido de prolina en plántulas de *A. araucana* establecidas en suelos con distintos grados de afectación por fuego y en suelos control de sustrato de corteza de pino, inoculadas y no inoculadas con consorcio fúngico. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey).

El contenido relativo de agua (CRA) obtenido de las hojas de las plántulas de araucaria establecidas en el sustrato de corteza de pino, inoculadas y no inoculadas con el consorcio fúngico, además, de las plántulas establecidas en el suelo CONS inoculadas, presentó la menor pérdida de agua foliar (Fig. 14), seguido por los tratamientos establecidos en los suelos afectados (ALTA y BAJA). Los tratamientos que presentaron la mayor pérdida de agua foliar fueron los establecidos en suelos afectados por fuego y conservado sin inoculación con el consorcio fúngico

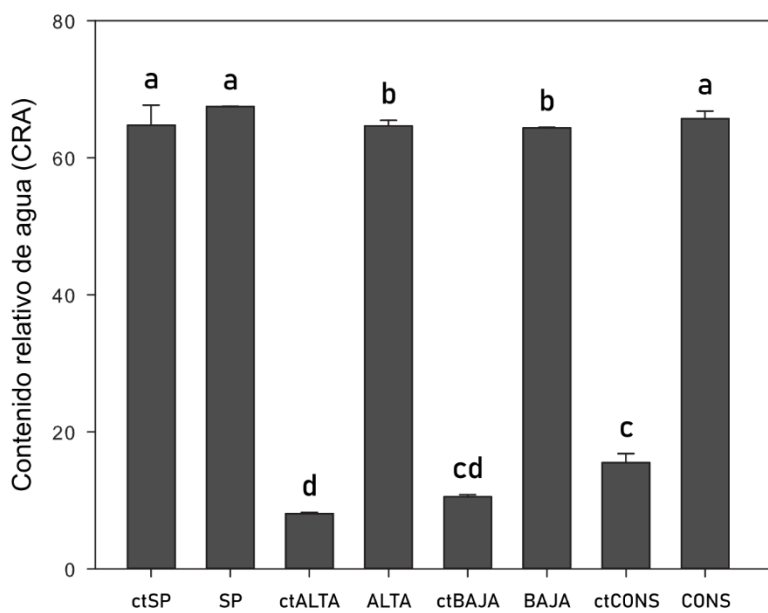


Fig. 14. Contenido relativo de agua (CRA) de plántulas de *A. araucana* establecidas en suelos con distintos grados de afectación por fuego y en suelos control de sustrato de corteza de pino, inoculadas y no inoculadas con consorcio fúngico. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey).

## 6.6 Enzimas oxidativas (CAT, GPX, APX):

La enzima CAT (Fig. 15-a.) presente en las plantas de araucaria, mostro una mayor actividad en los suelos no inoculados, con una mayor actividad en las plantas del tratamiento ctALTA, seguido de los tratamientos ctBAJA y ctCONS que no presentaron diferencia estadística entre ellas (5,406, 2,665 y 2,403  $\mu\text{moles H}_2\text{O}_2$  oxidado  $\text{mg}^{-1}$  PF  $\text{min}^{-1}$  respectivamente). La enzima GPX (Fig. 15-b.), mostro una mayor actividad en el tratamiento SP, seguido a tratamiento ctALTA mostrando diferencia significativa entre ambas (0,548 y 0,192  $\mu\text{moles guayacol oxidado mg}^{-1}$  PF  $\text{min}^{-1}$  respectivamente). La enzima APX (figura 15-c.) tiene una alta actividad en los tratamientos sin inoculación previa, siendo mayor el tratamiento ctALTA, seguido ctBAJA y ctCONS (3,702, 2,847 y 2,338  $\mu\text{mol de ascorbato oxidado mg}^{-1}$  PF  $\text{min}^{-1}$ , respectivamente). En general los tratamientos con inculo previo se observó una baja actividad de enzimas oxidativas, a diferencia de las plantas no inoculadas.

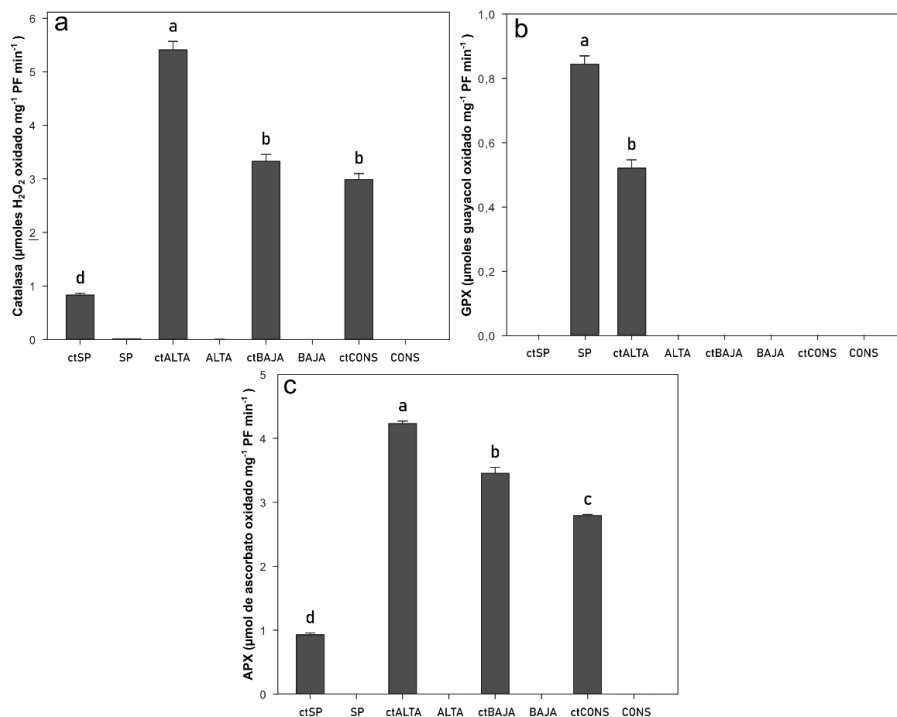


Fig. 15. Actividad de distintas enzimas oxidativas presentes en plántulas de *A. araucana* establecidas en suelos nativos con distintos grados de afectación por fuego y en suelos control de sustrato de pino inoculadas y no inoculadas con consorcio fúngico. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey).

## 6.7 Análisis de parámetros bioquímicos en suelos.

Los análisis enzimáticos de los suelos se realizaron solamente en los tratamientos que contemplaron inoculación con el consorcio fúngico antes y al finalizar los ensayos de vivero. La enzima fosfatasa ácida (PA) (Fig.16-a.) “Antes” presentó la mayor actividad en el suelo de sustrato de corteza de pino y conservado, y “después” en conservado muestran una disminución respecto al tratamiento corteza de pino. En tanto que los suelos con una alta afectación por fuego mostraron la menor actividad de la enzima PA, respecto a los otros suelos. La actividad de la enzima  $\beta$ -glucosidasa (BG) (Fig. 16-b) fue estadísticamente mayor en los suelos conservados, siendo aproximadamente 2 veces mayor respecto a los otros suelos. La actividad de la enzima NGA (Fig. 16-c) al finalizar los ensayos no mostró diferencias estadísticas entre los suelos con alta y baja afectación y conservado, siendo los valores significativamente menores que en los suelos de sustrato de corteza de pino.

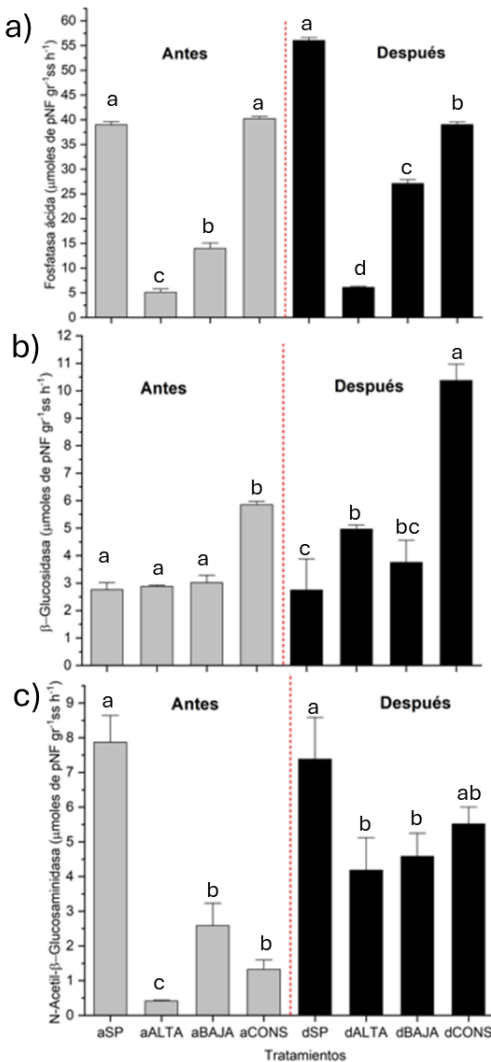


Fig. 16. Actividad enzimática de los suelos nativos con distintos grados de afectación por fuego y suelos control de sustrato de corteza de pino con plántulas de *A. araucana* inoculadas con consorcio fúngico. a) Enzima fosfatasa ácida (PA) b) enzima  $\beta$ -glucosidasa (BG) y c) enzima N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa (NGA). Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey).

### 6.8 Glomalina total y de fácil extracción (GFE) y Cantidad de esporas en suelos.

La determinación del contenido de glomalina total (Fig. 17-a) “Antes” del trasplante muestra un mayor contenido en sitio conservado, sin embargo, al finalizar los ensayos de vivero en los suelos de los distintos tratamientos no mostró diferencias significativas entre ellos. Por otra parte, los resultados de la cantidad de glomalina de fácil extracción (Fig. 17-b.) presente en los suelos de los distintos tratamientos mostraron que el sustrato de pino (SP) presentó la concentración más baja de glomalina “Antes y Después”, y los de alta afectación por fuego la mayor cantidad al finalizar los ensayos de vivero, con diferencias significativas entre los tratamientos.

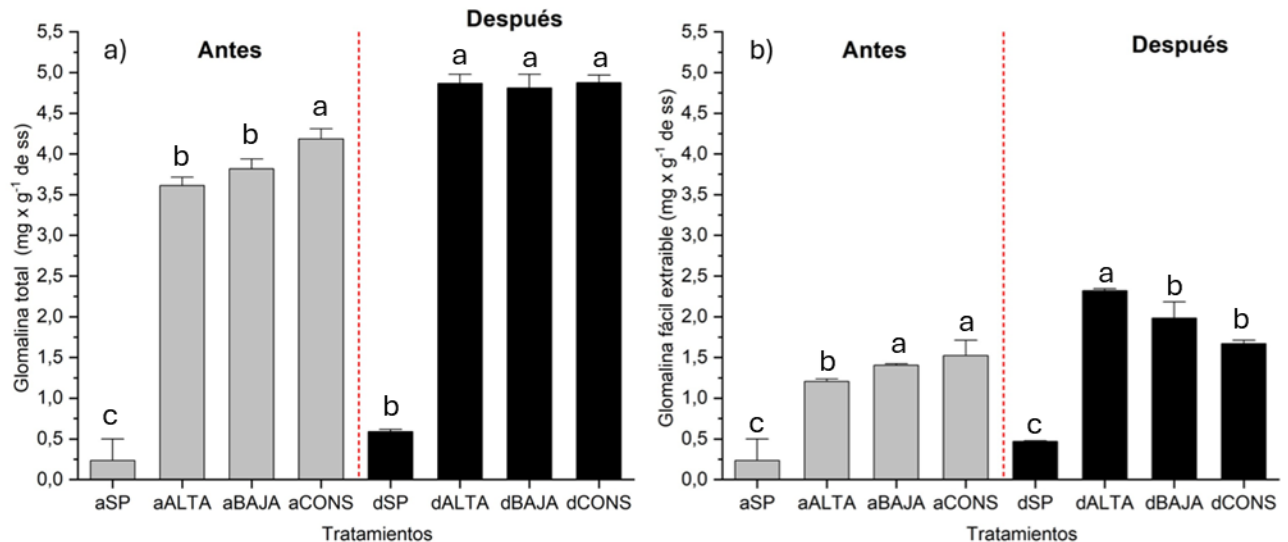


Fig. 17. Cantidad de glomalina total (a) y de fácil extracción (b) presente en los suelos con distintos grados de afectación por fuego y en suelos control de sustrato de corteza de pino con plántulas de *A. araucana* inoculadas con consorcio fúngico. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey).

Los datos obtenidos de la cantidad de esporas de HMA presentes cada 100 g de suelo en los distintos tratamientos demostraron que en el suelo con sustrato de corteza de pino (SP) se observó la menor cantidad de esporas, seguido por el suelo de alta afectación por fuego. Por otro lado, los suelos conservados mostraron la mayor cantidad de esporas “Antes y Después”, presentando diferencias significativas entre los tratamientos (Fig. 18).

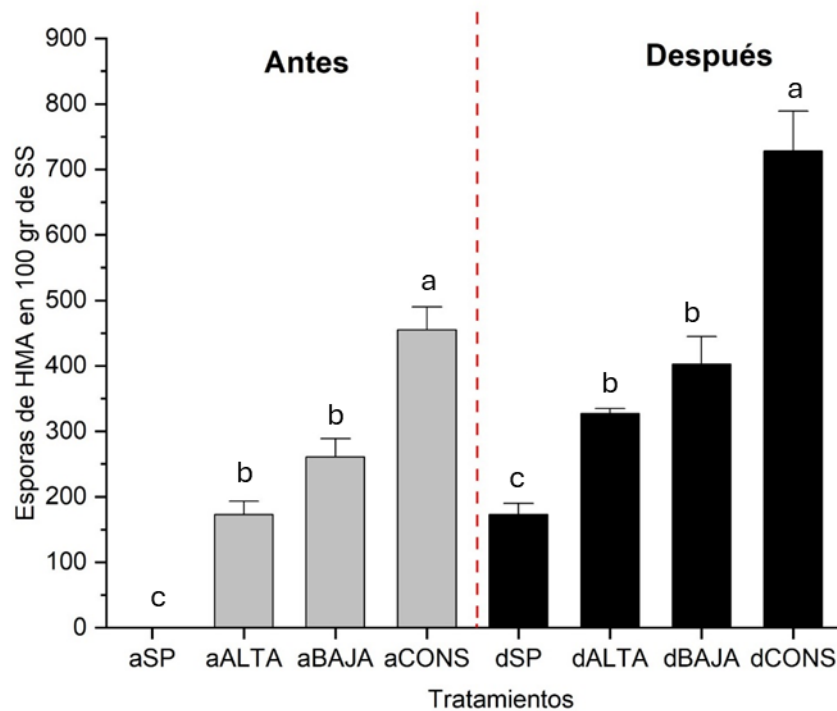


Fig. 18. Cantidad de esporas presentes en 100 g de suelos con distintos grados de afectación por fuego y en suelos control de sustrato de corteza de pino con plántulas de *A. araucana* inoculadas con consorcio fúngico. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre tratamientos con un  $P < 0.05$  (Anova, Test Tukey).

### 6.9 Permeabilidad de los suelos.

El parámetro indicador del estado de permeabilidad de los suelos (WDPT), mostró que el suelo conservado tiene una clase de persistencia de 1 “Antes y Después” de finalizados los ensayos de vivero, indicando que es ligeramente repelente al agua (25 y 21 s, respectivamente en absorber la segunda gota de agua). Por otro lado el suelo con una baja afectación por fuego “Antes y Después” tiene una clase de persistencia de 3 severamente repelente al agua (2640 y 2263 s en absorber la segunda gota de agua) y el suelo con una alta afectación por fuego al inicio de los ensayos tubo una clase de persistencia de 4, lo que lo hace extremadamente repelente al agua (5200 s en absorber la segunda gota de agua). Sin embargo, al finalizar los ensayos de vivero se observó una

disminución de la repelencia al agua de 4 a 3 de “extremadamente repelente al agua” a “severamente repelente al agua”.

Tabla 5: Permeabilidad de los suelos de acuerdo con el indicador WDPT, en los distintos suelos con distintos grados de afectación por fuego, antes y al finalizar los ensayos. El símbolo  $\pm$  representa la desviación estándar con un  $n=3$ .

Sitio	Antes			Después		
	Tiempo [s]	Clase de persistencia	Grado de persistencia	Tiempo [s]	Clase de persistencia	Grado de persistencia
SA	25 $\pm$ 2	1	Ligeramente repele el agua	21 $\pm$ 2	1	Ligeramente repele el agua
BA	2640 $\pm$ 216	3	Severamente repele el agua	2263 $\pm$ 121	3	Severamente repele el agua
AA	5200 $\pm$ 434	4	Extremadamente repele el agua	3386 $\pm$ 380	3	Severamente repele el agua

## VII. Análisis multivariado.

El análisis de componentes principales (CP) reflejó la formación de grupos altamente homogéneos de variables experimentales (Fig. 19), donde el CP1 explica el 54,8% y CP2 el 25,7%, explicando entre ambos componentes un 80,5 % de la varianza experimental total. Se observó un claro agrupamiento de las plantas que fueron inoculadas (SP, ALTA, BAJA, CONS) en comparación a las que no fueron inoculadas (ctSP, ctALTA, ctBAJA, ctCONS) con el consorcio fúngico. Además, se observó que las plantas no inoculadas presentaron un mayor porcentaje de mortalidad y alta presencia de enzimas oxidativas como APX, CAT y GPX y un mayor contenido de prolina. En cambio, las plantas inoculadas, a pesar de estar expuestas a suelos con alta afectación por fuego, presentaron una mayor tasa de sobrevivencia, actividad fotosintética ( $F_v/F_m$ ), contenido de pigmentos fotosintéticos (clorofila a y b, y carotenos), parámetros morfológicos (altura, DAC, largo radicular, biomasa aérea y radicular), índice de vitalidad, contenido de agua (CRA), número de esporas y una mayor actividad enzimáticas en los suelos.



acción urgente y los hongos desempeñan un papel importante, permitiéndoles a las plantas tolerar ambientes extremos al mejorar sus capacidades para resistir el estrés (Guadarrama et al., 2014). Por esto aquí se inocularon plantas de *Araucaria araucana* con un consorcio fúngico (HMA + HE) y posteriormente las plantas fueron establecidas en suelos con diferentes grados de afectación por fuego, durante 8 meses en invernadero. En cuanto a los rasgos morfológicos de las plántulas de araucaria se puede inferir que la inoculación con el consorcio HMA+HE tuvo un efecto significativo en el crecimiento, ya que las plantas establecidas en suelos nativos afectados con fuego y conservado mostraron las mayores alturas con diferencias significativas respecto a los otros tratamientos, esto sugiere que la inoculación con el consorcio mejoró la adaptabilidad de las plantas a las condiciones del suelo. Tal como describen otros autores (Quiñoes-Aguilar et al., 2014; Leos-Escobedo et al., 2022) donde destacan que los consorcios fúngicos de HMA promueven el crecimiento de papaya bajo condiciones de pocos nutrientes especialmente fósforo. En cuanto a la longitud de raíz de las plantas de araucaria los tratamientos de sustrato de corteza de pino, baja afectación por fuego y conservado mostraron la mayor longitud superando los 30 cm, lo cual es consistente con estudios previos donde se ha demostrado que los HMA pueden mejorar la absorción de nutrientes lo que a su vez promueve y obliga a desarrollar un crecimiento radicular mayor (Carrillo et al., 2022). Resultados similares son reportados por Cauch-Cauch et al. (2018), donde la inoculación de un consorcio de HMA y HE proporcionó una mayor longitud radicular en plantas de *Stevia rebaudiana*, la cual fue 50% mayor a las no inoculadas. Un factor importante a tener en consideración es lo relacionado al estado nutricional de las plantas, donde la inoculación y un buen desarrollo radicular estimulan la producción de fitohormonas, que las ayudan en su establecimiento (Oliveira et al., 2016). Por otra parte, se ha observado en los hongos endófitos una alta producción de ácido indolacético (AIA) y solubilización de fósforo, lo que podría estar influyendo en el aumento del crecimiento de las plantas de araucaria (Petigrosso et al., 2022). En cuanto al diámetro a la altura del cuello (DAC), las plantas inoculadas y establecidas en suelo de baja afectación y conservado presentaron mayores DAC, sugiriendo que la inoculación tiene efectos beneficiosos en el desarrollo del tallo, siendo importante en condiciones de baja afectación. En este sentido, el diámetro del tallo representa un parámetro indispensable en el rendimiento de las plantas, a mayor grosor del tallo, es mayor el área del parénquima

vascular, permitiendo una mayor reserva de asimilados, además, una mayor área del xilema posibilita un mayor transporte de nutrientes (Holbrook & Zwieniecki, 2011).

Los resultados de biomasa de las plantas de araucaria indicaron que la inoculación con el consorcio HMA+HE, tiene un impacto significativo en la biomasa total de las plantas ya que las que fueron establecidas en suelos sin afectación mostraron una mayor cantidad de biomasa total, sugiriendo que la inoculación puede mejorar la adaptabilidad de las plantas a las condiciones del suelo, promoviendo el crecimiento. Esto mismo se puede ver en un estudio realizado con *Calopogonium mucunoides* y *Stegolepis guianensis* en suelos altamente afectados por agricultura extensiva donde las plantas inoculadas con consorcio fúngico de HMA muestran un incremento significativo en la biomasa total (Trejo et al., 2021). En cuanto a la biomasa aérea, no se observaron diferencias significativas entre las plantas en los diferentes tratamientos. Sin embargo, en la biomasa radicular las plantas inoculadas presentaron el doble de biomasa que las no inoculadas, confirmando lo que describe Soteras et al. (2013), que los HMA y HE estimulan el desarrollo radicular para una mejor absorción de nutrientes. Las plantas que mostraron un menor desarrollo radicular fueron las de alta afectación, esto coincide con la teoría de asignación de biomasa, la cual sugiere que la colonización micorrícica disminuye la relación raíz/tallo debido a que las plantas asignan menos fotosintatos al crecimiento radical al adquirir los nutrientes principalmente por el micelio extraradical de los HMA asociados (Johnson, 2010; Veresoglou et al., 2011).

El índice de Ritchie es una medida que se utiliza para evaluar la calidad de las plantas basándose en indicadores de crecimiento y desarrollo, proporcionando una visión integral del vigor de las plantas. Su importancia radica en la capacidad de proporcionar información valiosa de la salud y el potencial de crecimiento, ayudando a entender mejor las condiciones de crecimiento óptimas y poder identificar cualquier problema en etapas tempranas de crecimiento (Ritchie et al., 2000). Según los resultados en este ensayo, las plantas establecidas en suelo conservado presentan la mejor calidad y las que presentaron la peor calidad fueron las establecidas en suelos de sustrato de corteza de pino y alta afectación por fuego. Este resultado puede indicar que el funcionamiento fúngico efectivo tuvo una estrecha relación con las propiedades del suelo. Al respecto, se ha reportado que, en presencia de una alta disponibilidad de nutrientes, la respuesta de las plantas a la inoculación micorrícica se ve limitada, aunque esta respuesta va a depender de muchos

factores, entre ellos, la posible disponibilidad de un elemento presente versus la presencia en alta o baja cantidad de otro elemento químico que puede afectar la absorción de nutrientes por la planta (Martín et al., 2017).

En los tratamientos con inoculación del consorcio fúngico se observa un aumento en la cantidad de clorofila en las plantas, esto puede estar relacionado a que existe una mayor demanda de productos de la fotosíntesis como consecuencia de la colonización (Moreno, 2022). Esto también se puede ver en otros estudios donde se sugiere que la colonización de HMA, aumenta la producción de pigmentos fotosintéticos (Almaraz et al., 2022). Al respecto, Rodríguez et al. (2016), señalan que al haber colonización efectiva de HMA, estos promueven la actividad fotosintética al aumentar la carboxilación de la RuBisCo y la regeneración de RuBP (ribulosa-1,5-bis-fosfato). Además, que existan valores altos de Fv/Fm posiblemente se relacionen con que las plántulas inoculadas no hayan sufrido estrés y tengan un adecuado estado nutricional (Moreno et al., 2008).

La clorofila es una molécula verde presente en las células vegetales que juega un papel importante en el proceso de fotosíntesis, que absorbe luz solar y de esta forma permite que la planta utilice la energía para sintetizar carbohidratos a partir de CO<sub>2</sub> y agua. Hay dos tipos de clorofila en las plantas, clorofila a y b, y ambas funcionan como captando energía en los fotosistemas (Khaleghi et al., 2012). Los fotosistemas son altamente sensibles al estrés afectando la fotosíntesis y el contenido de clorofila (Falks et al., 1996), además se ha informado que la clorofila total y la fluorescencia pueden ayudar a estimar el impacto del estrés ambiental en las plantas (Araus et al., 1998). En cuanto a este estudio los contenidos de clorofila total mostraron diferencias significativas entre las plantas inoculadas y las no inoculadas, por lo tanto la inoculación mostró un efecto positivo en las plantas de araucaria. Las concentraciones más altas de clorofila se obtuvieron en los tratamientos CONS y BAJA seguido de los tratamientos ALTA, SP y ctSP. Estudios realizados por Begum et al. (2022), co-inoculando plantas de *Nicotiana tabacum* con HMA y bacterias promotoras del crecimiento vegetal bajo condiciones de estrés hídrico, mostraron un aumento considerable de clorofila a y b, clorofila total y carotenoides de un 96,99%, 76,90% y 67,96% y 56,88%, respectivamente, comparando con las plantas no inoculadas. Finalmente, los autores concluyeron que la inoculación de HMA junto a las bacterias es una fuente valiosa para la

agricultura, mejorando su producción bajo distintos estreses ambientales, aunque todavía se debe evaluar en condiciones de campo.

El trasplante de plántulas en general es un proceso crítico para las plantas porque desarrollan un desequilibrio entre la absorción de agua y la transpiración, debido a esto las hojas se marchitan o mueren por un estrés hídrico (Yamamoto, 1989; Yamamoto & Hisano, 1990). Este estrés conduce a un intenso cierre de estomas que afecta el intercambio de gases y dificulta el flujo de electrones durante la fase luminosa de la fotosíntesis, por lo que aumenta la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS). Entre los mecanismos de defensa que tienen las plantas está la activación de enzimas oxidativas como la APX, GPX y CAT, que tienen el mecanismo para degradar estos radicales (Jahan et al., 2023; Wang et al., 2024). Los resultados demostraron que las especies no inoculadas previamente al trasplante no toleraron el déficit hídrico producido por los suelos que son altamente impermeables según los ensayos de WDPT, además, de tener menos retención de agua en las hojas, estos resultados se correlacionaron con la actividad oxidativa de enzimas. En ensayos similares se reporta que el trasplante de *Olea europaea* L. al estar previamente inoculada con dos cepas de *Rhizophagus irregularis* (HMA), reduce el estrés oxidativo, observando menor actividad enzimática de CAT y GPX en plantas previamente inoculadas, esto se debe a que los HMA protegen las raíces del estrés medioambiental, reduciendo los gastos energéticos y la generación de ROS dentro de las células de la planta (Bompadre et al., 2014). Otro estudio en *Oryza sativa* L. inoculadas con un hongo endofítico de septo oscuro (EF0801) y sometidas a estrés hídrico, mostró una reducción de peróxido de hidrógeno y de enzimas anti oxidativas APX y GHS al estar inoculadas previamente. Estos resultados sugieren que la infección endofítica promovió el ciclo del ácido ascórbico-glutación, inhibiendo así el estrés oxidativo en las plantas de arroz (Li et al., 2023).

En los resultados de prolina se puede ver que los tratamientos inoculados con el consorcio fúngico presentaron bajos niveles de este aminoácido, indicando que estas plantas no presentaban alguna condición de estrés. Por otro lado, los tratamientos no inoculados presentaron mayores concentraciones de prolina sugiriendo que estaban bajo algún tipo de estrés. Al respecto Garcia-Sánchez et al. (2007) menciona que la prolina es un aminoácido que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas cuando estas no están bajo ningún tipo de estrés y al encontrarse estresadas el contenido de prolina aumenta

para actuar como un agente osmótico protegiendo a las plantas de la deshidratación (estrés por sequía).

En cuanto al contenido relativo de agua (CRA), los datos obtenidos indican que la inoculación con el consorcio HMA+HE puede tener un impacto positivo en el contenido relativo de agua presente en las hojas, ya que las plántulas inoculadas presentaron una menor pérdida de agua, sugiriendo que la inoculación mejora la adaptabilidad a las condiciones del suelo y promueve una mayor retención de agua en las hojas. Por otro lado, los tratamientos que presentaron una mayor pérdida de agua foliar fueron los establecidos en suelos afectados por fuego, pero sin inoculación. Según Lui et al. (2017) las micorrizas pueden mejorar la absorción de agua a través de las hifas, las que se logran extender más allá de la propia raíz, logrando generar cambios a nivel morfológico en la raíz de las plantas. Calvo et al. (2013) afirmaron que los HMA aumentan la producción de ácido abscísico (ABA), fitohormona involucrada en el proceso de cierre estomático, regulando de manera eficiente la evapotranspiración.

Las enzimas de suelo son secretadas por microorganismos que interactúan con la rizosfera, además son las encargadas de dar función a los distintos ciclos bio-geoquímico como el ciclo del carbono, fósforo, nitrógeno, entre otros (Zuccarini et al. 2023). Este parámetro nos indica que tan saludables están los suelos, como también cuantos nutrientes están disponibles para ser absorbidos por las plantas (Prakash et al. 2023). En este estudio los suelos altamente afectados presentaron una disminución de la actividad enzimática (PA y BG) al comparar con los suelos conservados (sin afectación), la enzima NGA que se presente en el ciclo del C y N, (Turner et al. 2002) también fue estudiada y no presentó diferencia significativa con los distintos suelos nativos estudiados. Pocos estudios se han realizado sobre enzimas de suelos en la Reserva nacional China Muerta, uno de ellos es la investigación realizada por Chávez et al., (2020), donde compararon suelos de distintas reservas y parques nacionales entre ellas La reserva Nacional China Muerta, las cuales mostraron resultados similares con una disminución de la actividad en los suelos afectados por fuego, en las actividades de las enzimas PA y BG, los autores mencionan que la actividad de los suelos es moderada y se relaciona con una tasa intermedia de descomposición de detritos vegetales. A su vez la actividad enzimática después de un hecho catastrófico como incendios forestales es difícil de recuperar en corto tiempo ya que la

recuperación de los procesos bioquímicos es lenta, esto lleva a un impacto en la disponibilidad de nutrientes y en el reciclaje de MO. Otro estudio realizado en el Parque Nacional Conguillio, donde compararon la actividad enzimática de suelos de distintos bosques, entre ellos uno de Araucaria-Lenga, mostro resultados en la actividad de PA con  $42,7 \mu\text{mol PF g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$  y  $3,38 \mu\text{mol PF g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$  de BG, similares a los suelos CONS. Estos autores mencionan que la actividad enzimática de suelos depende de la cantidad de microorganismos y de las especies vegetales que se encuentran en el sitio (Lillo et al. 2011). Otro estudio realizado por Machuca et al. 2018, mostro resultados similares en el sitio Las nieves en la actividad enzimática NGA con un promedio de  $6,59 \mu\text{moles PF g}^{-1} \text{ ss h}^{-1}$ .

Los resultados de glomalina total presente en los suelos tratados mostraron que no existe una diferencia significativa entre ellos, pudiendo deberse a una característica común de los suelos tratados independiente de las condiciones específicas de perturbación. Autores como Rillig et al. (2006) y Borie et al. (2006), reportan que la glomalina total no solo está presente en el horizonte superficial, sino que también en profundidad, por tanto, se puede inferir que la cantidad de glomalina presente en los suelos medidos es producto de las esporas que se desarrollaron durante el ensayo. Por otra parte, los resultados de la cantidad de glomalina de fácil extracción presente en los suelos mostraron que el tratamiento sustrato de corteza de pino obtuvo la más baja y el tratamiento de alta afectación la más alta, esto indica que las condiciones en las que el fuego afecta de gran manera el suelo y en donde no hay disponibilidad de nutrientes, promueven la producción de glomalina, posiblemente como una respuesta a las condiciones de estrés (Rivas et al., 2016).

La cantidad de esporas presentes en 100 g de suelo varió dependiendo del tratamiento, en sustrato de corteza de pino la cantidad de esporas fue menor y la mayor en los suelos de baja afectación y conservado, estas diferencias de la cantidad de esporas pueden estar relacionada con varios factores. Uno de ellos, está relacionado con el pH, al haber un incendio forestal este aumenta el pH del suelo, al respecto, Vilcatoma-Medina et al., (2018) señala que el pH del suelo es un factor importante que altera la diversidad de los HMA, donde a niveles altos de pH se limita la producción de esporas.

El “water drop penetration time” (WDPT) es un indicador que mide el tiempo que tarda en infiltrarse completamente una gota de agua destilada colocada sobre la superficie del suelo, utilizado para determinar la repelencia al agua del suelo, ya que esta puede afectar una amplia gama de procesos hidrológicos como la infiltración, el flujo preferencial y la distribución de agua en el suelo (Caltabellotta et al., 2022). En este estudio los resultados de WDPT varían entre tratamientos, donde el suelo conservado presentó una persistencia de 1 donde se indica que es ligeramente repelente al agua, según Bodi et al., (2011), los suelos no afectados por el fuego tienden a retener más agua y permanecer húmedos por más tiempo debido a su menor hidrofobicidad, mayor estabilidad de los agregados del suelo, y una biota del suelo más saludable que ayuda a mantener la estructura del suelo y promover la infiltración de agua. Por otra parte, el suelo de alta afectación al inicio de los ensayos “Antes” presentó una persistencia de 4 lo que indica que es extremadamente repelente al agua. Según Doerr et al. (2009), los suelos altamente afectados por fuego se modifican formando poros y microporos en su estructura haciendo que se modifique la reorientación de las moléculas anfifílicas, haciendo más lenta su reorganización por tanto más lenta la interacción suelo-agua. Sin embargo, al finalizar los ensayos “Después” del trasplante de plantas inoculadas con consorcio fúngico presentó una disminución de la repelencia al agua de 4 para 3, lo que indicaría la importancia de los microorganismos para la recuperación de suelos.

Los resultados de la colonización en las plantas de araucaria fueron altos, aproximadamente un 80% para todos los tratamientos inoculados, por otro lado, las plantas no inoculadas obtuvieron una colonización alrededor de un 45%, lo que es significativamente menor que las plantas inoculadas, esta diferencia se debe principalmente a la inoculación previa antes del trasplante. Sin embargo, la baja colonización presentada en araucarias no inoculadas se debe posiblemente a la mortalidad de microorganismos debido a las altas temperaturas durante el incendio, el nivel de afectación (Ebrecht et al., 2022) y a la capacidad de retención de humedad durante la fase de establecimiento de la planta (Massone et al., 2023).

## IX. Conclusión

A partir de los resultados obtenidos en este estudio se concluye que la utilización de consorcio fúngico HMA+HE nativos obtenidos desde *Araucaria araucana*, proporcionan a la planta una mayor resistencia al ser trasplantadas a suelos con diferentes grados de afectación por fuego, en este caso a suelos de alta afectación (afectación aérea y a nivel de sotobosque/arboles muertos) y baja afectación (solo a nivel de sotobosque con árboles vivos), permitiendo una mayor sobrevivencia en vivero y mejoras en parámetros morfofisiológicos y enzimáticos.

Además, la inoculación del consorcio fúngico aumentó la actividad enzimática (BG y PA) y aportó glomalina al suelo, la cual puede mejorar las propiedades fisicoquímicas de estos.

Por tanto, se aprueba la hipótesis de que la inoculación de consorcios fúngicos micorrícicos (HMA+HE), en plántulas de *Araucaria araucana* ayudan a su establecimiento en suelos afectados por fuego.

Si bien estos resultados son significativos a nivel de vivero, son necesarios estudios de campo para evaluar *in situ* el desempeño de las plantas inoculadas con los consorcios fúngicos con las variables ambientales, como radiación, periodos prolongados de sequía, nieve, pastoreo, entre otros.

## X. Referencias

- Acuña, A., Cambarieri, L., Pucci, G. (2020). Impacto sobre la biota microbiana del suelo por contaminantes provenientes de estaciones de servicio. *Revista Peruana de Biología*, 27(3), 417-422. <https://dx.doi.org/10.15381/rpb.v27i3.17387>
- Adkins J, Sanderman J, Miesel J (2019) Soil carbon pools and fluxes vary across a burn severity gradient three years after wildfire in Sierra Nevada mixed-conifer forest. *Geoderma* 333:10–22. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.07.009>.
- Aghai, M., Khan, Z., Joseph, M., et al. (2019). The effect of microbial endophyte consortia on *pseudotsuga menziesii* and *thuja plicata* survival, growth, and physiology across edaphic gradients. *Front. Microbiol.* 10:1353.
- Aguilera, I., Muñoz, A., Stahle, D., Figueroa, G., Duarte, F., GonzálezReyes, Á., Christie, D., Lara, A., González, M., y Fernández, A. (2017). The first millennium-age *Araucaria araucana* in Patagonia. *Tree-Ring Research*, 73(1), 53-56. <https://doi.org/10.3959/1536-1098-73.1.53>.
- Allen, E. B., Allen, M. F., Egerton-Warburton, L., Corkidi, L., & Gomez-Pompa, A. (2020). *Mycorrhizae in Ecosystems of the Western Hemisphere*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-14147-1>.
- Almaraz, J., Ferrera, R., Gonzalez, A., Mancillas, R., Orona-, I., Gutiérrez, U., Preciado, Pablo. (2023). Eficiencia fotoquímica y crecimiento de chile poblano inoculados con rizobacteria y hongos micorrizicos arbusculares Photochemical efficiency and growth of chile poblano inoculated with rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 9. e3126. 10.19136/era.a9n3.3126.
- Araus J, Amaro T, Voltas J, Nakkoul H, Nachit M. (1998). Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. *Field Crops Research*, 55, 209-223 pp.
- Aristazabal, C. Diversidad de hongos endófitos asociados al frailejón (*Espeletia hartwegiana*) en un marco de cambio climático, páramo de Romerales, Quindío, Colombia. Tesis de maestría. Universidad Andina Simón Bolívar.
- Aroca, R., Irigoyen, J., Sanchez, M. (2001). Photosynthetic characteristics and protective mechanisms against oxidative stress during chilling and subsequent recovery in two maize varieties differing in chilling sensitivity. *Plant Sci* 161: 719–726.
- Arzuaga, S. et al. (2022). Metodologías microbiológicas de indicadores ambientales de suelo. Editorial de la Universidad Nacional del Nordeste EUDENE ; Instituto Agrotécnico Pedro M. Fuentes Godo.
- Atkinson, R., Thomas, E., Roscioli, F., Cornelius, JP., Zamora, R., Franco, M., Alcázar, C., Mesén, F., López, H., Ipinza, R., Donoso, PJ., Gallo, L., Nieto, V., Ugarte, J., Sáenz-Romero, C., Fremout, T., Jalonen, R., Gaisberger, H., Vinceti, B., Kettle, C. (2021).

- Seeding resilient restoration: an indicator system for the analysis of tree seed systems. *Diversity*. <https://doi.org/10.3390/d13080367>
- Bahadur, A., Batool, A., Nasir, F., Jiang, S., Mingsen, Q., Zhang, Q., Feng, H. (2019). Mechanistic Insights into Arbuscular Mycorrhizal Fungi-Mediated Drought Stress Tolerance in Plants. *Int J Mol Sci*, 20(17): 4199.
- Barrera, B., Silvia, E. (2009). El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 7(1), 123-132.
- Bates L.S, Waldren R.P, Teare I.D (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*. 39: 205–207
- Begum, N., Wang, L., Ahmad, H. et al. (2022). Co-inoculation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and the Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Improve Growth and Photosynthesis in Tobacco Under Drought Stress by Up-Regulating Antioxidant and Mineral Nutrition Metabolism. *Microb Ecol* 83, 971–988. <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01815-7>.
- Benedetti, S., Balocchi, F., Hormazábal, Marco. (2018). Hongos micorrízicos arbusculares (HMA) asociados a poblaciones naturales de *Peumus boldus* en Chile Central. *Gayana. Botánica*, 75(1), 431-437. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432018000100431>.
- Bertini L., Focaracci F., Proietti S., Papetti P., Caruso C. (2019) Physiological response of *Posidonia oceanica* to heavy metal pollution along the Tyrrhenian coast. *Functional Plant Biology*, 46, 933-941. <https://doi.org/10.1071/FP18303>.
- Bodí, M.B., Mataix-Solera, J., Doerr, S.H., Cerdà, A., (2011). The wettability of ash from burned vegetation and its relationship to Mediterranean plant species type, burn severity and total organic carbon content. *Geoderma*, 160, 3, 599–607.
- Bompadre, M. J., Pérgola, M., Fernández Bidondo, L., Colombo, R. P., Silvani, V. A., Pardo, A. G., Ocampo, J. A., & Godeas, A. M. (2014). Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungi capacity to alleviate abiotic stress of olive (*Olea europaea* L.) plants at different transplant conditions. *TheScientificWorldJournal*, 2014, 378950. <https://doi.org/10.1155/2014/378950>.
- Borie, F., Rubio, R., Rouanet, J.L., Morales, A., Borie, G., Rojas, C. (2006). Effect of tillage systems on soil characteristics, glomalin and mycorrhizal propagules in a Chilean Ultisol. *Soil Till. Res.* (en prensa).
- Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72, 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

- Cadena, D., Flores, J., Flores, A., & Lomelí, M. (2020). Effect of fires on understory vegetation and chemical properties of temperate forest soil. *Agro Productividad*, 13(4). <https://doi.org/10.32854/agrop.vi.1684>
- Caltabellotta, G., Iovino, Massimo., Bagarello, V. (2022). Intensity and persistence of water repellency at different soil moisture contents and depths after a forest wildfire. *Journal of Hydrology and Hydromechanics*. 70. 410-420. 10.2478/johh-2022-0031.
- Calvo, M., Sánchez, B., Aroca, R. (2013) Arbuscular Mycorrhizal Fungi and the Tolerance of Plants to Drought and Salinity. *Symbiotic Endophytes* pp 271-288.
- Carnicer, J., Vives, M., Blanquer, L., Méndez, X., Rosell, C., Sabaté, S., Gutiérrez, E., Sauras, T., Peñuelas, J., Barbeta, A. (2021). Forest resilience to global warming is strongly modulated by local-scale topographic, microclimatic and biotic conditions. *J. Ecol.*, 109 (9), 10.1111/1365-2745.13752
- Carrillo, S., Puente, J., Montes, S., & Cruz, R. (2022). Las micorrizas como una herramienta para la restauración ecológica. *Acta botánica mexicana*, (129), e1932.
- Cauich, R., Pérez, A., Lozano, G., Garruña, R., Ruíz, E. (2018). Productividad de *Stevia rebaudiana* Bertoni con diferentes láminas de riego e inoculantes microbianos. *Nova Scientia*. 10(20): 30-46.
- Cauich, R., Tun, J.M., Cristóbal, J., Herrera, E., Andueza, R., Lozano, M. (2023). Evaluación de consorcios micorrícicos arbusculares nativos en interacción con niveles de fósforo en la promoción del crecimiento y fotosíntesis de *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Biotecnia*, 25(1), 67-80. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v25i1.1765>
- Chávez, D., Machuca, A., Fuentes, A., Fernandez, N., Cornejo, P. (2020). Shifts in soil traits and arbuscular mycorrhizal symbiosis represent the conservation status of *Araucaria araucana* forests and the effects after fire events. *Forest Ecology and Management* 458: 117806. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117806>
- Chávez, D., Rivas, G., Machuca, Á., Santos, C., Deramond, C., Aroca, R., Cornejo, P. (2023). Contribution of Arbuscular Mycorrhizal and Endophytic Fungi to Drought Tolerance in *Araucaria araucana* Seedlings. *Plants*; 12(11):2116. <https://doi.org/10.3390/plants12112116>.
- Chilebosque. (2016). Ficha de descripción de *Araucaria araucana*.
- Choat, B., Brodribb, T., Brodersen, C., Duursma, R., López, R. Medlyn, B. (2018). Triggers of tree mortality under drought. *Nature*, 558 (7711), pp. 531-539
- Cofré, M., et al. (2019). Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in south america: a review. Springer international publishing, 2019, p. 4-72.
- Corporación Nacional Forestal (CONAF). (2017). El gran incendio de 2017, descripción e impactos. Seminario CEP: Los incendios forestales y sus consecuencias en los ecosistemas.

- Corporación Nacional Forestal (CONAF). (2017). Determinación del daño sanitario de Araucaria araucana y medidas de acción. Comisión de Agricultura del Senado.
- Cortés, J., Ugalde, I., Caviedes, J., & Ibarra, J. T. (2019). Semillas de montaña: recolección, usos y comercialización del piñón de la araucaria (*Araucaria araucana*) por comunidades Mapuche-Pewenche del sur de los Andes. *Pirineos*, 174, e048. <https://doi.org/10.3989/pirineos.2019.174008>
- Decreto Supremo N.º 43-1990. Declara Monumento Natural a la Araucaria araucana. Ministerio de Agricultura de Chile.
- Decreto Supremo N.º 51-2008. Aprueba y oficializa nómina para el tercer proceso de clasificación de especies según su estado de conservación. Ministerio Secretaría General de la Presidencia de Chile.
- Dekker, L.W. and C.J. Ritsema. 1994. How water moves in a water repellent sandy soils. I. Potential and actual water repellency. *Water Resour. Res.* 30(9):2507-2517., F., Hou, J., Kang, Y., & Yu, Z. (2016). A more improved growth and suppressed *Fusarium* infection in sweet corn. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(12), 192. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2151-z>.
- Dekker, L.W. and Jungerius, P.D. (1990) Water Repellency in the Dunes with Special Reference to the Netherlands. *Catena Supplement*, 18, 173-183.
- Doerr, S., Shakesby, R., MacDonald, L., (2009). Soil water repellency: A key factor in post-fire erosion. In: Cerda, A., Robichaud, P.R. (Eds.): *Fire Effects on Soil and Restoration Strategies*. CRC Press, Boca Raton, pp. 197–223.
- Donoso, C., González, M., Cortés, M., González, C., Donoso, P., Hernández, M. (2008). Poblaciones de araucaria enana (*Araucaria araucana*) en la Cordillera de Nahuelbuta, Chile. *Bosque (Valdivia)*, 29(2), 170-175. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002008000200010>
- Dove, N.C., Hart, S.C. Fire Reduces Fungal Species Richness and In Situ Mycorrhizal Colonization: A Meta-Analysis. *fire ecol* 13, 37–65 (2017). <https://doi.org/10.4996/fireecology.130237746>.
- Driver, J.D., Holben, W.E., Rillig, M.C. (2005). Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.* 37: 101-106.
- Ebrecht, A., Fernandez, N., El Mujtar, V. (2022). ¿Qué efectos tienen los incendios en los suelos? : Primeros resultados de un estudio en el incendio forestal de Cuesta del Ternero. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. [oai:localhost:20.500.12123/12221](https://oai.localhost:20.500.12123/12221).
- Eivazi, F., Tabatabai, M. (1988) Glucosidases and Galactosidases in Soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 20, 601-606. [http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717\(88\)90141-1](http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(88)90141-1).

- Fernandez, A., Muñoz, A., Gonzalez, A., Aguilera, I., Toledo, I., Puchi, P., Sauchyn, D., Crespo, S., Frene, C., Mundo, I., Gonzalez, M., Vignola, R. (2018). Dendrohydrology and water resources management in south-central Chile: lessons from the Río Imperial streamflow reconstruction. *Hydrology and Earth System Sciences* 22, 2921–2935. doi:10.5194/HESS-22-2921-2018
- Figuroa, N., Vergara, F. (2018). Reserva Nacional China Muerta: Consideraciones en torno a la conservación biocultural de la naturaleza, los incendios forestales y la herida colonial en territorios indígenas. *Cultura-hombre-sociedad*, 28(1), 102-127. <https://dx.doi.org/10.7770/0719-2789.3018.cuhso.03.a01>
- Franco, M., Mundo, I., Veblen, T. (2022). Burn severity in *Araucaria araucana* forests of northern Patagonia: tree mortality scales up to burn severity at plot scale, mediated by topography and climatic context. *Plant Ecol* 223, 811–828. <https://doi.org/10.1007/s11258-022-01241-w>
- Frary A., Göl D., Keleş D. et al. (2010) Salt tolerance in *Solanum pennellii*: antioxidant response and related QTL. *BMC Plant Biology*, 10, 58. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-58>.
- Fuentes, A., Arroyo, P., Fierro, A., Pérez, F. (2019). Post-fire response of *Araucaria araucana* (Molina) K. Koch: Assessment of vegetative resprouting, seed production and germination. *Gayana Botánica* 76:119–122. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432019000100119>.
- García, F., J. P. Syvertsen, V. Gimeno, P. Botia, J. G. Pérez P. (2007). Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. *Physiologia Plantarum*. 130:532-542.
- Garreaud, R., Alvarez, C., Barichivich, J., Boisier, J., Christie, D., Galleguillos, M., LeQuesne, C., McPhee, J., Zambrano, M. (2017). The 2010–2015 mega drought in Central Chile: impacts on regional hydroclimate and vegetation. *Hydrology and Earth System Sciences*. doi:10.5194/HESS-21-6307-2017.
- Giovannetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84, 489-500.
- Gómez, V., Tinoco, O., Terrón, A., Gómez, M. Tena, C., Garza, F. (2014). Efecto de los incendios forestales en la riqueza y composición de macromicetos. *Revista Mexicana de Micología*.
- González, M., Muñoz, A., González, Á., Christie, A., Sibold, J. (2020) Fire history in Andean *Araucaria–Nothofagus* forests: coupled influences of past human land-use and climate on fire regimes in north-west Patagonia. *International Journal of Wildland Fire* 29, 649-660.
- González, L., Acosta, M., Carrillo, F., Rueda, A. (2018). Simulación de los cambios de carbono orgánico del suelo en especies tropicales arbóreas con el modelo RothC 26.3. *Interciencia*, 43(4), 269-274.

- González, J., González, R., De La Rosa, J., González, F. (2011). El fuego y la materia orgánica del suelo. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (CSIC), 2 / 3, 8-14.
- González, M., Cortés, M., Izquierdo, F., Gallo, L., Echeverría, C., Bekessy, B., Montaldo, P. (2006). *Araucaria araucana* (Molina) K. Koch. *Araucaria* (o), Pehuén, Pino piñonero, Pino de Neuquén, Monkey Puzzle Tree. In Donoso C ed. *Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Autoecología*. Marisa Cuneo Ediciones. Valdivia, Chile. p. 36-53.
- González, Paco. (2017). Impacto de los incendios forestales en suelos, agua y vegetación. Departamento de estudios y publicaciones. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile.
- Guadarrama, P., Argüero, S., Ramos, J., Cuevas, L., Camargo, S. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungal communities in changing environments: The effects of seasonality and anthropogenic disturbance in a seasonal dry forest. *Pedobiologia*. 57. 10.1016/j.pedobi.2014.01.002.
- Hechenleitner, P, Gardner, M., Thomas, P., Echeverría, C., Escobar, B., Brownless, P., Martínez, C. (2005). Plantas amenazadas del centro-sur de Chile. Distribución, conservación y propagación. Primera edición. Universidad Austral de Chile y Jardín Botánico real de Edimburgo, Valdivia. 188p.
- Hernández, J., González, V., Promis, A., Corvarvalán, P., Kutchartt, E., Pirotti, F., Carrer, M. (2022). Los bosques de *Araucaria-Lenga*. Curacautín, Lonquimay y Melipeuco. Alteraciones de hábitat. Alteraciones de hábitat. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza.
- Herting, J., Stützel, T., (2020). Morphogenesis of the seed cone of *Araucaria araucana* (Molina) K. Koch and the evolution of the coniferous seed scale, *Flora*, Volume 273,151719,ISSN 0367-2530. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2020.151719>.
- Hodges D., Forney C. (2000) The effects of ethylene, depressed oxygen and elevated carbon dioxide on antioxidant profiles of senescing spinach leaves. *Journal of Experimental Botany*, 51(344), 645-655. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.344.645>.
- Jahan, S., Tamta, S., Shankhdhar, S., Shankhdhar, D. (2023). Salicylic acid potential to reversing drought induced oxidative stress in *Bacopa monnieri* (L.) through enhancement of bioactive compound (Bacoside-A) and antioxidants including physio-biochemical attributes. *South African Journal of Botany*. 161. 10.1016/j.sajb.2023.08.050.
- Johnson, N. C. (2010). Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales. *New Phytologist*. 185: 631-647.
- Keeley, J., Syphard, A. (2016) Climate Change and Future Fire Regimes: Examples from California. *Geosciences* 6: <https://doi.org/10.3390/geosciences6030037>.

- Khaleghi, E., Arzani, K., Moallemi, N., Barzegar, M. (2012). Evaluation of Chlorophyll Content and Chlorophyll Fluorescence Parameters and Relationships between Chlorophyll a, b and Chlorophyll Content Index under Water Stress in *Olea europaea* cv. Dezful. *Engineering Technology* 68, 1154-1157 pp.
- Koziol, L., Schultz, P., House, G., Bauer, J., Middleton, E., Bever, J. (2018). The plant microbiome and native plant restoration: the example of native mycorrhizal fungi. *BioScience*, 68(12), 996-1006.
- Kutchartt, E., Gayoso, J., Pirotti, F., Bucarey, Á., Guerra, J., Hernández J., Corvalán, C., Drápela, K., Olson, M. & Zwanzig, M. (2021). Aboveground tree biomass of *Araucaria araucana* in southern Chile: measurements and multi-objective optimization of biomass models. *Biogeosciences and Forestry*. 14(1), 61-70. <https://doi.org/10.3832/ifor3492-013>
- Lee, K., Missaoui, A., Mahmud, K., Presley, H. & Lonnee, M. (2021). Interaction between Grasses and *Epichloë* Endophytes and Its Significance to Biotic and Abiotic Stress Tolerance and the Rhizosphere. *Microorganisms*, 9, 2186-2213.
- Leos, L., García, M., Delgadillo, J., Valenzuela, A., Angulo, A., Preciado, P. Rueda, E. (2022). Consorcios de hongos micorrízicos y rizobacterias en el control biológico de *Phytophthora capsici* en cultivares de *Capsicum annum*. *Biotecnia*. 24(1): 30-37.
- Lester, E., Hodges, D., Meyer, R., Munro K. (2004) Pre-extraction preparation (fresh, frozen, freeze-dried, or acetone powdered) and long-term storage of fruit and vegetable tissues: Effects on antioxidant enzyme activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(8), 2167-2173. <https://doi.org/10.1021/jf030713b>.
- Lestienne, M., Vannièrè, B., Curt, T., Jouffroy, I., Hély, C. (2022) Climate-driven Mediterranean fire hazard assessments for 2020–2100 on the light of past millennial variability. *Climatic Change Journal* 170:1–18. <https://doi.org/10.1007/S10584-021-03258-Y/FIGURES/4>
- Li T, Hu., J, Hao Z P, Li H, Wang., S, Chen B D (2013). First cloning and characterization of two functional aquaporin genes from an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytologist*, 197(2): 617–630.
- Li, X., Sun, H. F., Fan, J. H., Li, Y. Y., Ma, L. J., Wang, L. L., Li, X. M. (2023). Endophyte Enhanced the Antioxidant Capacity of Rice (*Oryza sativa* L.) under Drought Stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 32(2), 1231-1238. <https://doi.org/10.15244/pjoes/156356>.
- Lichtenthaler, H. K., Karunen, P., Grumbach, K. H. (1977). Determination of prenylquinones in green photosynthetically active moss and liver moss tissues. *Physiologia Plantarum*, 40(2), 105-110.
- Lillo, A., Ramírez, H., Reyes, F., Ojeda, N., Alvear, M. (2011). Actividad biológica del suelo de bosque templado en un transecto altitudinal, Parque Nacional Conguillío (38° S),

- Chile. *Bosque (Valdivia)*, 32(1), 46-56. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002011000100006>.
- Liu, C., Srivastava A., Wu, Q. (2017) Mycorrhizal fungi regulate root responses and leaf physiological activities in trifoliolate orange. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 45(1): 17–21.
- Machuca, Á., Córdova, C., Stolpe, N., Barrera, J.A., Chávez, D., Almendras, K., Bonilla, A.M., (2018). In vitro sensitivity of forest soil enzymes to temperature increase in Western Patagonia. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 18 (1), 202–219
- Martín, G., Tamayo, Y., Ramírez, J., Varela Nualles, M., & Rivera Espinosa, R. (2017). Relación entre la respuesta de *Canavalia ensiformis* a la inoculación micorrízica y algunas propiedades químicas del suelo. *Cultivos Tropicales*, 38(3), 24-29.
- Massone, D., Martucci, A., Askenazi, J., Pastorino, M., Bartoli, C. (2023). Colonización micorrízica de los plantines de ciprés de la cordillera en relación con la disponibilidad de fósforo y agua en vivero. *Bosque (Valdivia)*, 44(1), 191-200. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002023000100191>
- Mazhoudi S., Chaoui A., Ghorbal M. H. & El Ferjani E. (1997) Response of antioxidant enzymes to excess copper in tomato (*Lycopersicon esculentum*, Mill.). *Plant Science*, 127(2), 129-137. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(97\)00116-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(97)00116-7).
- McWethy, D., Pauchard A., García, R., Holz, A., González, M., et al. (2018). Factores paisajísticos de la actividad de incendios recientes (2001-2017) en el centro-sur de Chile. *PLOS ONE* 13(10): e0205287. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205287>.
- Moreno, M. (2022). Inoculación de Hongo micorrízico arbuscular (*Glomus intraradices*) durante la aclimatación de plántulas de caña de azúcar. *Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas, Campus Córdoba*.
- Moreno, S., Vela, H., Álvarez, M., (2008). La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica* 27:119-29
- Muñoz, M., Serra, M. (2006). Estado de Conservación de las Plantas de Chile. MNHN-CONAMA
- Oliveira, R., Ma, Y., Rocha, I., Carvalho, M., Vosátka, M., Freitas, H. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi are an alternative to the application of chemical fertilizer in the production of the medicinal and aromatic plant *Coriandrum sativum* L. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 79(7): 320-328.
- Organización de las Naciones Unidas Chile (ONU). (2023). Chile: Incendios forestales, 2023, Sistema de Naciones Unidas, Reporte de Situación No.5. Oficina de la Coordinadora Residente en Chile.

- Parada, R., Barros, D., Cotoras, M., Ortiz, C. (2018). Colonización de *Lolium perenne* y *Polypogon australis* por hongos endófitos obtenidos de Poáceas provenientes de un relave minero de Puerto Cristal, Chile.
- Parham, J. A., & Deng, S. P. (2000). Detection, Quantification and Characterization of  $\beta$ -Glucosaminidase Activity in Soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 1183-1190. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00034-1](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00034-1)
- Petigrosso, L., Commatteo, J., Fuertes, G., Covacevich, F. (2022). Interacción entre hongos endofitos y micorrizicos en *Festuca arundinacea* en respuesta a la fertilización fosfatada. *Ciencia del suelo*, 40(2), 159-166.
- Phillips, J., Hayman D. (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit.*, 55:158-160.
- Piraino, S. (2020). Assessing *Pinus pinea* L. resilience to three consecutive droughts in central-western Italian Peninsula *iForest-Biogeosciences For.*, 13 (3), p. 246
- Prakash, J., Agrawal, S.B., Agrawal, M. (2023). Global Trends of Acidity in Rainfall and Its Impact on Plants and Soil. *J Soil Sci Plant Nutr* 23, 398–419 <https://doi.org/10.1007/s42729-022-01051-z>
- Premoli, A., Quiroga, P., Gardner, M. (2013). *Araucaria araucana*. The IUCN red list of threatened species.
- Puchi, P. F., Camarero, J. J., Battipaglia, G., Carrer, M. (2021). Retrospective analysis of wood anatomical traits and tree ring isotopes suggests site specific mechanisms triggering *Araucaria araucana* drought induced dieback. *Global Change Biology*, 27(24), 6394-6408. <https://doi.org/10.1111/gcb.15881>.
- Puchi, P., Camarero, J. J., Battipaglia, G., Carrer, M. (2021). Retrospective Analysis Of Wood Anatomical Traits and Tree-ring Isotopes Suggests Site-specific Mechanisms Triggering *araucaria Araucana* Drought-induced Dieback. *Global Change Biology*, 24(27), 6394-6408. <https://doi.org/10.1111/gcb.15881>
- Quiñones, E., López, L., Rincón, G. (2014). Dinámica del crecimiento de papaya por efecto de la inoculación micorrízica y fertilización con fósforo. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*. 20(2): 223-237.
- Restrepo, G., Montoya, K., Henao, M., Gutiérrez, P., Lina, A., Molina, L. (2019). Characterization of arbuscular mycorrhizal fungi of livestock soils in tropical lowlands and tropical highlands in the department of Antioquia, Colombia. *Idesia (Arica)*, 37(1), 35-44. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292019005000301>
- Rillig MC,. Mummey DL. (2006.) Mycorrhizas and soil structure. *New Phytol* 171:41–53.
- Ritchie, G. (2000). The informed buyer: understanding seedling quality. Pages 51-56 In: *Advances and Challenges in Forest Regeneration*, (Eds.) R. Rose and D.L. Haase,

- Conference Proceedings, Nursery Technology Cooperative, Oregon State University and Western Forestry and Conservation Association.
- Rivas, G. (2020). Efecto de la inoculación de hongos micorrícicos arbusculares y endófitos en la tolerancia al estrés por sequía en plántulas de *Araucaria araucana*. Memoria de título para optar al título de Ingeniero en Biotecnología Vegetal. Universidad de Concepción.
- Rivas, Y., Canseco, M., Knicker, H., Etcheverría, P., Godoy, R., Matus, F., Valenzuela, E., Gallardo, R. (2016). Variación en el contenido de glomalina relacionada a las proteínas del suelo, después de un incendio forestal en un Andisol en bosques de *Araucaria araucana* del centro-sur de Chile. *Bosque (Valdivia)*, 37(2), 409-417. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002016000200019>
- Rodríguez, C., Hernández, L., Armendáriz, B. Juárez, Z. (2021). Bacterias y hongos endófitos de la familia Cactaceae y sus aplicaciones. *Revista Especializada en Ciencias-Químico-Biológicas*, 24:1-14. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.328>.
- Rodríguez, Y., Chiriboga, R., Concha, E., Lara, R. (2016). Anhydrase carbonic activity in arbuscular mycorrhiza. *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Cultivos Tropicales*, vol. 37, núm. 3, pp. 60-65, 2016.
- Rodríguez, Y., Chiriboga, R., Concha, T., Ponce de León, D. (2020). Caracterización de las fracciones de glomalina en suelos Ferralíticos Rojos con diferente uso. *Cultivos Tropicales*, 41(4), e04.
- Rojas, M., Castillo, R., González, J. (2023). Phylogeographic origin authentication of *Araucaria araucana* (Mol.) K Koch seedlings through the application of spectroscopy techniques in different infrared ranges and chemometric methods. *New Forests* 54, 467–489. <https://doi.org/10.1007/s11056-022-09933-x>
- Rubio, R., Borie, F., Schalchli, C., Castillo, C., Azcón, R. 2003. Occurrence and effect of arbuscular mycorrhizal propagules in wheat as affected by source and amount of phosphorus fertilizer and fungal inoculation. *Applied Soil Ecology* 23:245-255.
- Ruiz E., González, F., Torres, C., (2007). “Genetic Diversity and Differentiation within and among Chilean Populations of *Araucaria Araucana* (Araucariaceae) Based on Allozyme Variability”. *TAXON* 56 (4): 1221–28. <https://doi.org/10.2307/25065913>.
- Ruiz J., Aroca, R., Zamarreño Á., Molina, S., Andreo, B., Porcel, J. (2016). Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato. *Plant Cell Environ* 39(2):441– 452.
- S. Falk, D. P. Maxwell, D. E. Laudenbach, N. P.A. Huner, and N. R. Baker,. (1996). “In *Advances in Photosynthesis, V.5, Photosynthesis and the Environment*”. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht Boston London., pp. 367-385.

- Schmeda, G., Antileo, J., Theoduloz, C., Jiménez, F., Avila, F., Burgos, A., Olate, V. (2021). Phenolic composition, antioxidant capacity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of raw and boiled Chilean *Araucaria araucana* kernels, *Food Chemistry*, Volume 350, 129241, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129241>.
- Sedrez dos Reis, M., Ladio, A., Peroni, N. (2014). Landscapes with *Araucaria* in South America: evidence for a cultural dimension. *Ecology and Society* 19(2), 43.
- Soteras F., D. Renison & A. G. Becerra. (2013). Growth response, phosphorus content and root colonization of *Polylepis australis* Bitt. seedlings inoculated with different soil types. *New Forests* 44: 577-589
- Stürmer, S., Kimmelmeier, K. (2021). The glomeromycota in the neotropics. *Frontiers in microbiology*, v. 11.
- Tabatabai, M., Bremner, J. (1969) Use of p-nitrofenol phosphate for the assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology Biochemistry*, 1, 301-307. [http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717\(69\)90012-1](http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(69)90012-1).
- Tabatabai, M. 1994. Soil enzymes. *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties*. Ed. A. Klute. Second Edition. SSSA, Madison, Pp. 788-826.
- Trejo, D., Hernández, E., Baeza, Y., Pérez, G., Morgado, E., Bañuelos, J. (2021). Efectividad de los hongos micorrízicos arbusculares introducidos y nativos en seis leguminosas coberteras. *Scientia fungorum*, 51, e1320. Epub 28 de febrero de 2022. <https://doi.org/10.33885/sf.2021.51.1320>
- Trejo, D., Banuelos, J. (2020). Isolation and Culture of Arbuscular Mycorrhizal Fungi from Field Samples. In: Ferrol, N., Lanfranco, L. (eds) *Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Methods in Molecular Biology*, vol 2146. Humana, New York, NY.
- Turner, B., Hopkins, D., Haygarth, P., Ostle, N. (2002). [beta]-Glucosidase activity in pasture soils. *Appl. Soil Ecol.* 20, 157–162.
- Valderrama, L., Contreras, J., Carrasco, R. (2018). Ecological Impact of Forest Fires and Subsequent Restoration in Chile. *Resources* 7(2), 26.
- Varas, A., Sepúlveda, F., Fajardo, A., Alarcón, D., Toro, O., Castro, E., Hasbún, R. (2022). Predicting climate change-related genetic offset for the endangered southern South American conifer *Araucaria araucana*, *Forest Ecology and Management*, Volume 504, 119856, ISSN 0378-1127, <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119856>.
- Veresoglou, S. D., G. Menexes & M. C. Rillig. (2012). Do arbuscular mycorrhizal fungi affect the allometric partition of host plant biomass to shoots and roots? A meta-analysis of studies from 1990 to 2010. *Mycorrhiza* 22: 227-235
- Vilcatoma-Medina, C., Kaschuk, G., Zanette, F. (2018). Colonization and spore richness of arbuscular mycorrhizal fungi in *Araucaria* nursery seedlings in Curitiba, Brazil. *International Journal of Agronomy* 2018: 5294295.

- Wang, J., Liu, W., Wang, X., Zeb, A., Wang, Q., Mo, F., Shi, R., Liu, J., Yu, M., Li, J., Zheng, Z., & Lian, Y. (2024). Assessing stress responses in potherb mustard (*Brassica juncea* var. *multiceps*) exposed to a synergy of microplastics and cadmium: Insights from physiology, oxidative damage, and metabolomics. *The Science of the total environment*, 907, 167920. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167920>.
- Wright, S., Upadhyaya, A. (1998) A Survey of Soils for Aggregate Stability and Glomalin, a Glycoprotein Produced by Hyphae of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Plant and Soil*, 198, 97-107. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1004347701584>.
- Yamamoto, Y. (1989). Studies on transplanting injury in rice plant. III. Effects of root pruning treatment on the organic constituents in each organ and rooting of seedlings after transplanting. *Jpn. J. Crop Sci.* 58, 535–540. doi: 10.1626/jcs.58.535
- Yamamoto, Y., Hisano, K. (1990). Studies on transplanting injury in rice plants.V. Effects of shoot pruning on early growth after transplanting. *Jpn. J. Crop Sci.* 59, 312–320. doi: 10.1626/jcs.59.312.
- Yamasaki S, Dillenburg L (1999) “Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*,” *Rev. Bras. Fisiol. Veg* vol. 11, no. 5, pp. 69–75.
- Yu, D., Bu, F., Hou, J., Kang, Y., Yu, Z. (2016). A more improved growth and suppressed *Fusarium* infection in sweet corn. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(12), 192. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2151-z>.
- Zhang, S.B., Wang, Y.S., Yin, X.F., Liu, J.B., Wu, F.X. (2017). Desarrollo de hongos micorrízicos arbusculares (AM) y sus influencias en la absorción de N y P del maíz a diferentes niveles de aplicación de fósforo en el suelo. *Journal of Plant Nutrition* 23, 649-657.
- Zuccarini, P., Sardans, J., Asensio, L., Peñuelas, J. (2023). Altered activities of extracellular soil enzymes by the interacting global environmental changes. *Global Change Biology*, 29, 2067–2091. <https://doi.org/10.1111/gcb.16604>.