

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS**

**FUNGAL DIVERSITY ASSOCIATED TO
BIOWEATHERING PROCESSES IN A
CHRONOSEQUENCE OF TEMPERATE
RAINFORESTS IN SOUTHERN CHILE**

DOCTORAL THESIS

**CESAR ANDRES MARIN DAZA
VALDIVIA - CHILE**

2018

FUNGAL DIVERSITY ASSOCIATED TO BIOWEATHERING PROCESSES IN A CHRONOSEQUENCE OF TEMPERATE RAINFORESTS IN SOUTHERN CHILE

Thesis submitted to the Facultad de Ciencias de la Universidad Austral de Chile in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor en Ciencias mención Ecología y Evolución

by

CESAR ANDRES MARIN DAZA

Valdivia - Chile

2018

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS**

Dedicatoria

A la integridad, fortaleza, convicción, y bondad de mi madre, Sara

A la memoria y lucha campesina de mi padre, César

A millones de otras víctimas del conflicto armado colombiano

“Breve et irreparabile tempus omnibus est vitae” - Virgilio

Agradecimientos

Agradezco el apoyo financiero otorgado por la Beca de Doctorado del Proyecto MECESUP3 AUS1203 (Universidad Austral de Chile), por la Beca de Doctorado Nacional No. 21150047 de CONICYT, y por el proyecto FONDECYT No. 1141060 (R. Godoy). En la Universidad Austral de Chile agradezco el apoyo incondicional del programa de Doctorado en Ciencias mención Ecología y Evolución, de la Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias, de la Dirección de Estudios de Postgrado, y de la Vicerrectoría de Investigación, Desarrollo y Creación Artística.

Agradezco principalmente a mi profesor patrocinante, Roberto Godoy, quien más allá de sus indiscutibles méritos científicos, ha marcado una impronta de integridad, dedicación, holismo, y trabajo en equipo, para hacer una ciencia más allá de la competencia, una ciencia entre seres humanos. Gracias a Jens Boy (Alemania) por su enorme aporte intelectual y logístico a esta tesis y por acogerme en su laboratorio. Gracias igualmente a Maarja Õpik (Estonia), por su apoyo científico, intelectual, y logístico a esta tesis, por acogerme en su laboratorio, y por ser un referente sobre cómo hacer (y escribir) ciencia.

En Chile, agradezco el apoyo académico y de laboratorio, colaboración, y/o amistad de Guillermo D'Elía, Roberto Nespolo, Ana María Zárraga, Eduardo Valenzuela (Q.E.P.D.), Olga Barbosa, Leandro Paulino, Götz Palfner, Francisco Matus, Paula Aguilera, Mónica Barrientos, Juan Fuentealba, Patricio Ojeda González, y Natali Hurtado Miranda. Gracias a Emily Giles por su enorme trabajo de edición de inglés en muchos de mis artículos científicos publicados. Agradezco particularmente la pasión por su trabajo y apoyo en terreno a los guardaparques de CONAF Nicolás Pacheco, Isaías Cofré, Álvaro Marín, Marcelo Delgado, Jaime Cárcamo, y a don Juan Ávila del predio de San Pablo de Tregua.

En Alemania, agradezco el apoyo logístico y de laboratorio brindado durante mi tiempo allá por Georg Guggenberger, Leopold Sauheitl, Elke Eichmann-Prusch, Annika Dechêne, Alberto Andrino, Mauricio Aguirre, Christine Poggenburg, y Carla Novoa. Agradezco al Proyecto EarthShape DFG-SPP 1803 por invitarme a ser parte de sus actividades académicas y de difusión.

En Estonia, agradezco el apoyo de David García de León, Sirli Sipp Kulli, Teele Jairus, Martti Vasar, y muy especialmente de C. Guillermo Bueno.

INDEX OF CONTENTS

GENERAL INDEX.....	I
TABLES INDEX.....	III
FIGURES INDEX.....	V
ANNEXES INDEX.....	XI
ABSTRACT.....	XII
RESUMEN.....	XIII

GENERAL INTRODUCTION.....	1
----------------------------------	----------

CHAPTER 1.....	17
-----------------------	-----------

Bioweathering of phyllosilicates depends on mycorrhizal type and ecosystem age but not on soil cations contents

INTRODUCTION.....	20
MATERIALS AND METHODS.....	22
RESULTS.....	26
DISCUSSION.....	29
CONCLUSIONS.....	33

CHAPTER 2.....	34
Patterns of soil leaching and ecosystem nutritional estate on temperate rainforests of southern Chile	
INTRODUCTION.....	37
MATERIALS AND METHODS.....	39
RESULTS.....	45
DISCUSSION.....	55
CONCLUSIONS.....	60
CHAPTER 3.....	61
Soil fungal assemblages in chilean temperate rainforests: geological history, forest mycorrhizal dominance, and altitude effects on taxonomical, functional, and phylogenetic diversity	
INTRODUCTION.....	65
MATERIALS AND METHODS.....	68
RESULTS.....	78
DISCUSSION.....	87
CONCLUSIONS.....	93
GENERAL DISCUSSION AND CONCLUSIONS.....	95
REFERENCES.....	105
ANNEXES.....	133

ABSTRACT

In terrestrial ecosystems, bioweathering is the mechanism by which, through direct and indirect physicochemical processes, soil organisms transform parent material and soil rocks into smaller particles up to reach the molecular level. Mycorrhizal fungi have a great bioweathering potential, since they represent the most direct connection between photosynthetic products and weatherable mineral surfaces. Despite this, the role of biota in the weathering processes has been largely ignored. The biogeochemical role of bioweathering as a nutrient input to the ecosystem has been not studied. Furthermore, the effects of ecosystem age (=total weathering), mycorrhizal type, nutrient ecosystem dynamics, and of the diversity of soil fungi on bioweathering have not been evaluated. This thesis aimed at elucidate the role of bioweathering as an edaphic input of nutrients in southern Chilean temperate rainforest ecosystems. The ecosystems evaluated have different atmospheric (Coast-Andes mountain ranges) and edaphic inputs (chronosequences) as well as contrasting nutrient cycling, variable plant/fungal symbioses, and diverse evolutionary histories. A mesocosm experiment was implemented across 13 plots in the region: 52 bags containing Biotite and Muscovite were buried at a 15 cm soil depth, collected after one year, and the degree of bioweathering analyzed through confocal laser scanning microscopy on 1560 mineral particles. Chemical analysis of the plots soils, roots, and leaves of the five most common plant species was implemented. A total of 110 self-integrating accumulators, were installed over seven months to measure soil nutrient leaching. ITS2 Illumina

sequencing of soil samples was implemented to determine fungal diversity. The dominant mycorrhizal type of the forests significantly affected bioweathering, which in turn did not affected the ecosystem nutritional estate. Muscovite fungal colonization was significantly affected by the phylogenetic diversity of ectomycorrhizal fungi. Bioweathering was higher on middle-age ecosystems dominated by ectomycorrhizal trees and fungi, where base cations leaching was also higher. In contrast, lower levels of bioweathering were registered on forests dominated by arbuscular mycorrhizal-plants and recycling saprophytic fungi, where soil base cation leaching was lower. Further and global-scale studies are needed to understand the ecological controls and role of bioweathering on biogeochemical cycles.

RESUMEN

En ecosistemas terrestres, la biometeorización es el mecanismo mediante el cual, a través de procesos fisicoquímicos directos e indirectos, los organismos del suelo transforman el material parental y las rocas del suelo en partículas más pequeñas hasta alcanzar el nivel molecular. Los hongos micorrízicos tienen un gran potencial de biometeorización, ya que representan la conexión más directa entre los productos fotosintéticos y las superficies minerales meteorizables. A pesar de esto, el papel de la biota en los procesos de meteorización ha sido largamente ignorado. El rol biogeoquímico de la biometeorización como una entrada de nutrientes para el ecosistema ha sido poco estudiado. Además, los efectos de la edad del ecosistema (=

meteorización total), del tipo de micorrizas, de la dinámica de nutrientes en el ecosistema, y de la diversidad de hongos del suelo en la meteorización no han sido evaluados. Esta tesis tuvo como objetivo dilucidar el papel de la biometeorización como entrada edáfica de nutrientes en ecosistemas de bosques templados lluviosos del sur de Chile. Los ecosistemas evaluados tienen diferentes entradas atmosféricas (Cordilleras de los Andes y de la costa) y edáficas (cronosecuencias), así como ciclos de nutrientes contrastantes, simbiosis vegetales/fúngicas variables, y diversas historias evolutivas. Se implementó un experimento de mesocosmos en 13 parcelas de la región: se enterraron 52 bolsas que contenían Biotita y Moscovita a 15 cm de profundidad en el suelo, se colectaron después de un año y se analizó el grado de biometeorización mediante microscopia confocal láser de barrido en 1560 partículas minerales. En las parcelas se implementó análisis químico de suelos, raíces, y de las hojas de las cinco especies más comunes de plantas. Un total de 110 resinas auto-acumuladoras se instalaron durante siete meses para medir la lixiviación de nutrientes del suelo. Se implementó la secuenciación Illumina de la región ITS2 de muestras de suelo para determinar la diversidad fúngica. El tipo dominante de micorrizas de los bosques afectó significativamente la biometeorización, que a su vez no afectó el estado nutricional del ecosistema. La colonización de Moscovita por hongos se vio significativamente afectada por la diversidad filogenética de los hongos ectomicorrízicos. La biometeorización fue mayor en ecosistemas de mediana edad dominados por árboles y hongos ectomicorrízicos, donde la lixiviación de cationes base también fue mayor. Por el contrario, se registraron niveles más bajos de biometeorización en bosques

dominados por plantas asociadas con micorrizas arbusculares y por hongos saprófitos que reciclan nutrientes, donde la lixiviación de cationes base del suelo fue menor. Se necesitan más estudios a escala global para comprender los controles ecológicos y el papel de la biometeorización en los ciclos biogeoquímicos.



Global comparison reveals biogenic weathering as driven by nutrient limitation at ecosystem scale

Jens Boy (1), Roberto Godoy (2), Annika Dechene (1), Olga Shibistova (1), Hamid Amir (3), Issi Iskandar (4), Bruno Fogliano (5), Diana Boy (1), Robert McCulloch (6), Alberto Andriano (1), Silvia Gschwendtner (7), Cesar Marin (2), Leopold Sauheitl (1), Stefan Dultz (1), Robert Mikutta (8), and Georg Guggenberger (1)

(1) Institute of Soil Science, Leibniz Universität Hannover, Hannover, Germany, (2) Instituto de Ciencias Ambientales & Evolutivas, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile, (3) Laboratoire Insulaire du Vivant et de l'Environnement, Université de la Nouvelle-Calédonie, Noumea, New Caledonia, (4) Department of Soil Science and Land Resources, Bogor Agricultural University, Kampus IPB Dramaga, Bogor, Indonesia, (5) Institut Agronomique Néo Calédonien, Axe II, Paita, New Caledonia, (6) Biological and Environmental Sciences, University of Stirling, Stirling, Scotland, (7) Environmental Genomics, German Research Center for Environmental Health, Munich, Germany, (8) Institute of Agriculture, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg, Germany

A substantial contribution of biogenic weathering in ecosystem nutrition, especially by symbiotic microorganisms, has often been proposed, but large-scale *in vivo* studies are still missing. Here we compare a set of ecosystems spanning from the Antarctic to tropical forests for their potential biogenic weathering and its drivers.

To address biogenic weathering rates, we installed mineral mesocosms only accessible for bacteria and fungi for up to 4 years, which contained freshly broken and defined nutrient-bearing minerals in soil A horizons of ecosystems along a gradient of soil development differing in climate and plant species communities. Alterations of the buried minerals were analyzed by grid-intersection, confocal laser scanning microscopy, energy-dispersive X-ray spectroscopy, and X-ray photoelectron spectroscopy on the surface and on thin sections. On selected sites, carbon fluxes were tracked by ¹³C labeling, and microbial community was identified by DNA sequencing.

In young ecosystems (protosoils) biogenic weathering is almost absent and starts after first carbon accumulation by aeolian (later litter) inputs and is mainly performed by bacteria. With ongoing soil development and appearance of symbiotic (mycorrhized) plants, nutrient availability in soil increasingly drove biogenic weathering, and fungi became the far more important players than bacteria. We found a close relation between fungal biogenic weathering and available potassium across all 16 forested sites in the study, regardless of the dominant mycorrhiza type (AM or EM), climate, and plant-species composition.

We conclude that nutrient limitations at ecosystem scale are generally counteracted by adapted fungal biogenic weathering. The close relation between fungal weathering and plant-available nutrients over a large range of severely contrasting ecosystems points towards a direct energetic support of these weathering processes by the photoautotrophic community, making biogenic weathering a directional on-demand process common in all types of ecosystems.