

GRADO EN BIOLOGÍA Curso Académico 2023-2024 Trabajo de Fin de Grado

# COLONIZACIÓN POR HONGOS Y BACTERIAS DE COLADAS VOLCÁNICAS DE LA ISLA DECEPCIÓN (ANTÁRTIDA) Y PROCESOS DE SUCESIÓN PRIMARIA

Autora: Regina Costilla-Legaz

Directora: Asunción de los Ríos Tutora académica: Natalia González Benítez

## Índice

1.	Resumen	2		
2.	Introducción	2		
3.	Material y métodos	5		
4.	Resultados	8		
5.	Discusión1	3		
6.	Conclusiones 1	7		
7.	Líneas futuras de investigación 1	8		
8.	Agradecimientos 1	8		
9.	Bibliografía 1	9		
Apéndice I: tablas suplementarias				
Apéndice II: figuras suplementarias				

## 1. Resumen

En este trabajo se realizó un análisis de la estructura de las comunidades bacteriana y fúngica en lavas a lo largo de una cronosecuencia, a través del análisis en coladas formadas en 1842 y 1969, de la Isla Decepción (Antártida). La comunidad bacteriana no presentó cambios significativos en la estructura de su comunidad a lo largo de la cronosecuencia, mostrando continuidad de los taxones y siendo los filos bacterianos más abundantes Proteobacteria, Bacteroidota, Acidobacteriota, Actinobacteriota, Verrucomicrobiota y Firmicutes, donde los géneros Dyella, Bryocella y Endobacter explicaban la estructura de esta comunidad bacteriana. La comunidad de hongos estuvo dominada por Ascomycota, mostrando diferencias entre lavas de distinta edad, con una tendencia a reducir la biodiversidad a lo largo del tiempo y revelándose un posible reemplazamiento de taxones. Las familias de hongos más abundantes fueron Herpotrichiellaceae, Lecanoraceae, Acarosporaceae y Porpidiaceae en la colada de 1842 y Stereocaulaceae, Acarosporaceae, Trapeliaceae y Herpotrichiellaceae en lavas de la colada de 1969. Los géneros que mejor explicaban la estructura de la comunidad de hongos estudiada eran Lecidella, Bellemerea, Lepraria, Micarea, Cyathicula, Epithamnolia y Gorgomyces en 1842 y Plaxopsis y Stereocaulon en 1969, todos géneros de hongos formadores de líquenes que a su vez dominan la comunidad. Por todo ello podemos concluir que las dinámicas de colonización de las lavas por bacterias y hongos son diferentes, siendo la aparición de ciertos taxones fúngicos más dependientes del tiempo de exposición de las lavas, que la de bacterias.

## 2. Introducción

Desde 1960 la ecología microbiana y la microbiología ambiental han ido cobrando cada vez más importancia y aumentando su número de estudios, en paralelo al incremento de interés general sobre el conocimiento de los entornos, la ecología. Estos estudios ambientales se clasifican en función de los entornos donde están presentes los microorganismos, distinguiéndose así estudios de sistemas terrestres, acuáticos, atmosféricos y otros organismos como sistema; aunque en estudios de microbiología ambiental es necesario definir también el concepto de microhábitat o microambiente, puesto que es lo que verdaderamente determinante en el establecimiento y funcionamiento de los ecosistemas microbianos (Atlas y Bartha, 2002; Brock *et al.*, 2003; Madsen, 2015; McArthur, 2006; Pepper *et al.*, 2015). Así, encontramos autoras que consideran los ambientes extremos como

ambiente propio a la misma escala que los terrestre, acuático y atmosférico, como es el caso de (Pepper *et al.*, 2015), aunque la tendencia general de los estudios de microbiología ambiental, como los realizados por (Atlas y Bartha, 2002; Brock *et al.*, 2003), consiste en dividir los sistemas en terrestre, acuático y atmosférico, y estudiar aparte otros organismos como sistema, hábitat o ambiente de los microorganismos.

Los ecosistemas microbianos de ambientes extremos son de gran interés debido al desconocimiento de su diversidad y composición y su potencial biotecnológico, haciendo que haya organizaciones interesadas en la producción científica a favor de la comprensión de estos ambientes para su conservación, protección y manejo, algo que cobra mayor importancia en el actual marco de Cambio Global (Maier y Neilson, 2015). Estos ambientes pueden considerarse extremos por temperaturas muy altas o muy bajas, por baja disponibilidad de agua o de luz, por falta de nutrientes, pHs extremos, entre otros...

Los ecosistemas en los que se desarrollan las comunidades microbianas contienen una variedad de nichos en los que las poblaciones pueden desarrollar papeles funcionales específicos (Wei *et al.*, 2014). Las poblaciones que componen estas comunidades se van adaptando e interrelacionando y cambiando a lo largo del tiempo, pudiendo alcanzar un estado de equilibrio. Dentro de esta dinámica del sistema, las comunidades sufren de reemplazos de taxones, conocidas como sucesiones ecológicas. Tras la colonización inicial de las rocas, las comunidades presentan cambios de abundancia y reemplazo de taxones que juegan un papel fundamental en el funcionamiento del ecosistema, llegando rara vez a un clímax. Las sucesiones ecológicas se pueden clasificar en: A) primarias, sucesión de cambios en hábitats que no han sido colonizados previamente, y B) secundarias, procesos de cambios en hábitats con colonización e historia sucesional previas (Atlas y Bartha, 2002).

Los zonas descubiertas tras el retroceso glaciar son áreas sin colonización previa y sistemas de elevado interés científico, porque no sólo permiten conocer cómo afecta en cambio climático en los sistemas sino que, además, permiten observar la génesis de nuevos ecosistemas y la adaptación de especialistas a nuevos ambientes, que permiten comprender cómo se produce la colonización y los procesos de sucesión ecológica primaria, donde los microorganismos son los colonizadores pioneros y generadores de condiciones para el establecimiento de comunidades más complejas (Fernández-Martínez *et al.*, 2017; Llambí *et al.*, 2021; Muggia y Grube, 2018; Ortiz-Rivero *et al.*, 2023).

En los estudios de sucesión ecológica primaria, los ecosistemas volcánicos son probablemente uno de los sistemas menos estudiados. En estos sistemas, aunque sea cuestión de meses que las comunidades pioneras comiencen la colonización del material (Bergsten *et al.*, 2021), la sucesión primaria es lenta, en especial en sus primeras fases incluso cuando ya es colonizada por plantas (del Moral, R., 1993).

La Isla Decepción, en la Antártida, supone un entorno poco alterado por la actividad humana y con condiciones climáticas adversas (clima polar marítimo) que oscilan entre los 11°C y - 28°C y precipitaciones elevadas, de 500mm de media anual (Departamento de Comunicación del Ejército de Tierra, 2021) y con condiciones de oligotrofia (Llames y Vinocur, 2007), lo que constituye un entorno de especial interés para estudios básicos de sucesión ecológica en volcanes. Además, dado que la macroecología de las islas circumantárticas está poco estudiada (Lebre *et al.*, 2023), este estudio trata de aportar mayor conocimiento sobre los procesos ecológicos a escala temporal que pueda ayudar a continuar ampliando el conocimiento de la ecología microbiana de estos ambientes.

Las lavas volcánicas en ambientes polares pueden contener unas comunidades de microorganismos muy específicas (Noell *et al.*, 2022). A pesar de la tendencia creciente de estudios sobre diversidad microbiana en regiones polares, hasta lo que nosotras sabemos son escasos los estudios de diversidad microbiológica en coladas de lavas la Antártida, y la macroecología de las islas circumantárticas está mal caracterizada (Lebre *et al.*, 2023). En la zona de estudio de este trabajo en Isla Decepción, se conoce la diversidad en cenizas depositadas en un glaciar de la isla (Martínez Alonso *et al.*, 2019) y recientemente de algunas muestras de lava en las proximidades de la Base Gabriel de Castilla (Hidalgo-Arias *et al.*, 2023), pero no se ha analizado la cronosecuencia de colonización. Por ello, este estudio se propone caracterizar la estructura de la comunidad bacteriana y fúngica de lavas de Isla Decepción para conocer su singularidad y contribuir a las estimas de diversidad globales, pero a su vez al estudiar coladas volcánicas en esta isla procedentes de dos distintas erupciones datadas es posible analizar procesos de sucesión primaria a través de la comparación de la estructura de la comunidad microbiana en ambas.

Nuestra hipótesis de trabajo es que la estructura de la comunidad de lavas en Isla Decepción (Antártida) depende de los años de exposición de las lavas a condiciones ambientales y es resultado de procesos de sucesión primaria. Para demostrar esta hipótesis nos proponemos los siguientes objetivos: 1) conocer la diversidad fúngica y bacteriana de lavas en la Isla

Decepción de dos erupciones diferentes, 2) evaluar si se han producido reemplazo de taxones 3) caracterizar las dinámicas de colonización.

## 3. Material y métodos

#### Zona de estudio

La zona de estudio se trata de dos coladas volcánicas sitas en la Isla Decepción, en la Antártida, cuyas formaciones se datan en 1842 y 1969. La Isla Decepción es una isla volcánica con forma de herradura, localizada en el archipiélago de las Islas Shetland del Sur, resultado de distintas erupciones de un volcán activo. En los años 1967, 1969 y 1970 se detectó actividad volcánica de conos piroclásticos y lavas andesíticas, y anteriormente, en las erupciones de 1829 a 1912 resultaron en lavas y tefras basálticas (Rey *et al.*, 1995).

#### Toma de muestras

En 2022, se recogieron 40 fragmentos de lava de dos coladas volcánicas sitas en la Isla Decepción, datadas en 1842 y 1969. En cada colada se establecieron 5 zonas de muestreo en función de su cercanía al origen de las coladas y se recogieron 2 fragmentos de cada zona de muestreo con la misma orientación, con el objeto de minimizar las diferencias ambientales que puedan afectar a las comunidades microbianas, consiguiendo que la diferencia principal entre las zonas sea el tiempo de exposición a la colonización. Las coordenadas de los lugares donde se recogieron las muestras fueron tomadas por un GPS Garmin (Fig. 1).



Figura 1. Mapa de la Isla Decepción (D), en la Antártida (C), donde se muestran en rosa las muestras tomadas en la colada de 1842 (detalle en B) y en verde las tomadas en la colada de 1969 (detalle en A). Además, en C) se muestra en rosa la localización de la Isla Decepción en la Antártida.

#### Extracción de DNA y PCR

Para este proceso, en este estudio se sigue el procedimiento descrito en (Garrido-Benavent et al., 2020). El DNA genómico se extrajo a partir de 0,35 g de muestra de lava utilizando y siguiendo el protocolo del fabricante del kit de aislamiento de DNA PowerSoil (MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA, Estados Unidos). Posteriormente, para la amplificación del DNA bacteriano por PCR se usaron los cebadores universales de código de barras 27F y 338R, que abarcan las regiones hipervariables V1-V2 de los genes 16S rRNA bacterianos (Lane, 1991; Fierer et al., 2008), mientras que para la amplificación del DNA fúngico se usaron los cebadores ITS1F KYO2 e ITS2 KYO2 (Toju et al., 2012) que abarca la región de la región espaciadora transcrita interna ITS1 del ARNr fúngico. Las PCRs se realizaron utilizando microesferas de PCR GE Healthcare illustra<sup>TM</sup> PuReTag Ready-To-Go<sup>TM</sup> (Amersham Biosciences) que se añadieron a mezclas de reacción que contenían: 3 µl de DNA, 1,5 µl de cada cebador (10 µM) y 19 µl de H2O estéril (Sigma<sup>TM</sup>). Los cebadores tenían las etiquetas universales CS1 y CS2 unidas a sus extremos. Las condiciones de reacción fueron las siguientes: desnaturalización a 95°C durante 5 min, seguida de 35 ciclos (30 para bacterias) de desnaturalización a 94°C durante 1 min, alineamiento a 52°C (hongos) y 54°C (bacterias durante 1 min, y extensión a 72°C durante 1 min, más una extensión final a 72°C durante 7 min. La secuenciación por pares se realizó en un secuenciador Illumina MiSeq  $(2 \times 250 \text{ pb}, \text{San Diego}, \text{CA}, \text{Estados Unidos})$  utilizando el kit de reactivos MiSeq (v3). El centro de secuenciación desmultiplexó las lecturas sin procesar y eliminó las secuencias de código de barras.

#### Procesamiento de datos de DNA

Las secuencias obtenidas de los amplicones de un fragmento del gen bacteriano 16S ARNr obtenidas a través de la tecnología MiSeq® de IIlumina® fueron procesadas bioinformáticamente para inferir ASVs (del inglés, *amplicon sequence variant*, se trata de secuencias que difieren al menos en un solo nucleótido) utilizando el paquete R *dada2* v.1.8.0 (Callahan *et al.*, 2016) y siguiendo el flujo de trabajo publicado en (Neilson *et al.*, 2017) y adaptado para este estudio. Este flujo de trabajo consiste en realizar un análisis taxonómico y filogenético de los conjuntos de muestras. Para ello las secuencias recibidas por Illumina se transformaron en archivos legibles por el software (artefactos), y se realizó un análisis de la calidad de los *reads*, que se usa para determinar los valores de filtrado y truncamiento de *dada2* (en este estudio se establecen límites de 0 a 250 para bacterias y

ningún límite para hongos), eliminando así las regiones o *reads* con baja calidad. Posteriormente se realizó una filtración para reducir el número de ASVs, estableciendo un mínimo de presencia en 2 muestras y eliminación de las no clasificadas. Después, se asignaron taxones a las ASVs utilizando la aproximación de Naive-Bayes (Buitinck *et al.*, 2013; Pedregosa *et al.*, 2011) implementada en la librería "scikit learn" de Python (*https://scikit-learn.org/stable/modules/naive\_bayes.html*) y la Base de Datos "SILVA" (Quast *et al.*, 2012; Yilmaz *et al.*, 2014). Tras esto, se evaluaron los conjuntos de asignación taxonómica con BLAST, para realizar una comprobación de las asignaciones con mayor calidad de las ASVs. Después, se eliminaron las asignaciones de contaminantes o identificaciones que no son relevantes para este estudio, tales como cloroplastos, mitocondrias, Archaea y Eukaryota, así como aquellas no asignadas a nivel de filo, llamadas secuencias "quimera", ya que sólo generan ruido. Las ASVs se agruparon para determinar el árbol filogenético. Finalmente, estos datos se exportaron los ficheros de secuencia, perfil y abundancia.

Para el estudio de la estructura de la comunidad fúngica se trataron las secuencias de Illumina de la región ITS1 del DNA que codifica al ARN ribosomal nuclear fúngico y se realizó el mismo procedimiento que en el análisis bacteriano, aunque se utilizó la base de datos "UNITE" (Abarenkov *et al.*, 2024; Kõljalg *et al.*, 2020), exportada a fecha 31 de marzo de 2023 y sin recortar, dado que no se ha probado sistemáticamente que recortarla sea mejor para la clasificación. De esta manera se usa la base de datos de los desarrolladores sin recortar. Además, se utilizó clasificador de Qiime2 "Naive-Bayes" (Pedregosa *et al.*, 2011). La región ITS1 se extrajo con ITSx (Bengtsson-Palme *et al.*, 2013).

#### Análisis de los datos

Los datos exportados de hongos y bacterias se visualizaron con la aplicación "Microbiomeanalyst" (*https://www.microbiomeanalyst.ca/*). En esta plataforma se realizó un filtrado mínimo de los datos, pero no se hizo ni rarefración, ni transformación de los datos, siguiendo como modelo de trabajo el publicado en (Garrido-Benavent *et al.*, 2020) y se escalaron los datos mediante escalado de sumas acumuladas. Posteriormente se analizaron las abundancias de filos en bacterias y de familias en hongos y se calculó la  $\alpha$  diversidad mediante los índices Simpson y Shannon, dado que el índice de Simpson da más peso a la abundancia de los grupos más comunes mientras que el índice de Shannon se lo da la riqueza. La  $\beta$  diversidad se calculó en base al índice Bray-Curtis y se visualizó a través del

escalamiento multidimensional no métrico (NMDS, por sus siglas del término en inglés *Nonmetric Multidimensional Scaling*) y el ordenamiento en el análisis de componentes principales (PCoA, por sus siglas del término en inglés *Principal Coordinates Analysis*) en (Figuras 3C y 3D para bacterias y 3G y 3F para hongos), dado que los ordenamientos utilizan métricas y asunciones diferentes: el PCoA usa métricas de distancias euclídicas y asume que las variables son independientes mientras que el NMDS no tiene estas asunciones. Además, se desarrolló un análisis discriminante lineal (LDA) cuyo tamaño de efecto (LEfSe) permitió evaluar qué grupo de organismos explicaba mejor los cambios en la comunidad.

Mediante el paquete R "biomformat" (McMurdie y Paulson, 2023), se calculó la uniformidad de ASVs en las comunidades fúngicas y bacterianas en las muestras de las dos coladas estudiadas, mediante el Índice de Pielou.

Finalmente, para analizar el número de ASVs compartidos entre las comunidades de las dos coladas (1842 y 1969), se crearon listados de ASVs a partir de los archivos que teníamos en formato *Biological Observation Matrix* (BIOM). Estos datos fueron visualizados por diagramas de Venn realizados mediante la aplicación jvenn (Bardou *et al.*, 2014).

## 4. Resultados

#### Estructura de las comunidades fúngica y bacteriana de lavas en Isla Decepción

Se logró obtener amplicones de bacterias a partir de 21 muestras de lava y de hongos de 22 muestras de lava. La secuenciación consiguió 238667 secuencias bacterianas, con una media de 11933,4  $\pm$  4754,4 secuencias por muestra y 610213 secuencias fúngicas y una media de 30510,7  $\pm$  19835,6 secuencias por muestra (Tabla Suplementaria 1 del <u>Apéndice I</u>). En bacterias se consiguieron 870 UTO y en hongos, 180.

La estructura de la comunidad bacteriana de ambas lavas antárticas estudiadas se caracteriza una dominancia en todas las muestras del filo Proteobacteria, a la que le siguen los filos Bacteroidota, Acidobacteriota y Actinobacteriota (Figura Suplementaria 1 del <u>Apéndice II</u>). Con respecto a la diversidad fúngica el filo Ascomycota fue el más abundante, con dominancia de las familias Stereocaulaceae, seguida por Acarosporaceae, Herpotrichiellaceae y Lecanoraceae (Figura Suplementaria 2 del <u>Apéndice II</u>). Es de destacar que en el estudio de hongos una gran cantidad de secuencias no pudieron asignarse a ningún taxón por falta de secuencias próximas en las bases de datos.

## Comparación de la estructura de las comunidades fúngica y bacteriana en lavas de 1969 y 1842

Como se muestra en la Figura 2A, los ASVs bacterianos inferidos se segregan en 20 familias para lavas de la colada de 1842 y 23 familias para lavas de la colada de 1969. En lavas de 1842 las familias con mayor abundancia relativa fueron Proteobacteria, Bacteroidota, Acidobacteriota, Actinobacteriota, Verrucomicrobiota y Firmicutes, con  $37,6 \pm 7,3 \%$ , 14,5  $\pm 4,8 \%$ ,  $11,4 \pm 7,3 \%$ ,  $9,6 \pm 4,8 \%$ ,  $9,3 \pm 7,6 \%$  y  $7,05 \pm 11,5 \%$  respectivamente. Estas mismas familias, en lavas de 1969, tenían una abundancia relativa de 40,0  $\pm 8,0 \%$ , 12,8  $\pm 3,9 \%$ ,  $7,3 \pm 7,4 \%$ ,  $8,1 \pm 4,8 \%$ ,  $7,2 \pm 8,8 \%$  y  $15,1 \pm 14,9 \%$  respectivamente, manteniéndose Proteobacteria como el filo más abundante (Tabla Suplementaria 2 del <u>Apéndice I</u>).



*Figura 2.* Abundancia relativa de fílos (A) y géneros (B) bacterianos calculada como la media aritmética de las muestras, y utilizando la base de datos "SILVA" (Quast *et al.*, 2012; Yilmaz *et al.*, 2014) y fusionando los taxones pequeños con recuentos menores que 5000 ASV.

En la Figura 3A se puede ver cómo las ASVs fúngicas inferidas se segregan en 22 familias en lavas de 1842 y 23 familias en las de 1969. Es de destacar el alto porcentaje de secuencias no idnetificadas, un  $65,9 \pm 12,1$  % para la colada de 1842 y un  $42,8 \pm 35,0$  % no identificado para la colada de 1969. En 1842 las familias más abundantes fueron Herpotrichiellaceae, Lecanoraceae, Acarosporaceae y Porpidiaceae, con abundancias relativas de  $9,71 \pm 4,8$  %,  $7,3 \pm 13,3$  %,  $6,9 \pm 6,6$  % y  $6,8 \pm 11,9$  % respectivamente. Estas mismas familias, en lavas de 1969 tiene unas abundancias relativas de  $3,8 \pm 4,0$  %,  $0,03 \pm 0,04$  %,  $10,3 \pm 16,0$  % y  $0,2 \pm 0,5$  % respectivamente, pasando a ser la más abundante Stereocaulaceae ( $36,0 \pm 39,3$  %), seguida de Acarosporaceae, Trapeliaceae ( $6,1 \pm 19,0$  %) y Herpotrichiellaceae ( $3,8 \pm 4,0$  %).

Todas estas familias pertenecen al filo Ascomycota, que representa el  $67,4 \pm 28,3$  % en 1842 y 77,5 ± 32,0 % de la abundancia relativa en lavas 1969.



*Figura 3.* Abundancias relativas de familias (A) y géneros (B) de hongos calculadas como medias aritméticas de las muestras y utilizando las secuencias exportadas con fecha 31 de marzo de 2023 de la base de datos "UNITE" (Abarenkov *et al.*, 2024; Kõljalg *et al.*, 2020) y fusionando los taxones pequeños con recuentos menores que 2000 ASVs. Además, aparecen tres grupos especiales: "No asignado", que son ASVs interpretados como hongos pero que no se puede asignar a ninguna de las familias de las bases de datos; "Indefinido", que son ASVs ue el programa no identifica y "Otra", que son grupos minoritarios.

#### Géneros más característicos según el análisis LEfSe

El análisis discriminante lineal (LDA), cuyo tamaño de efecto (LEfSe) fue analizado, reveló que los géneros que mejor explicaban los cambios observados en la comunidad fúngica eran *Lecidella, Bellemerea, Lepraria, Micarea, Cyathicula, Epithamnolia* y *Gorgomyces* en 1842 y *Placopsis* y *Stereocaulon* en 1969 (Fig. 4A) y que, en la comunidad bacteriana, eran *Dyella, Bryocella* y *Endobacter* en 1842, mientras que ningún género explicó los cambios en la comunidad en 1969 (Fig. 4B).



Figura 4. Tamaño del efecto (LEfSe) del análisis discriminante lineal (LDA) de los géneros de A) hongos y B) bacterias.

#### Alfa diversidad de las comunidades fúngica y bacteriana a lo largo de la sucesión

No se detectaron diferencias significativas para los índices Simpson y Shannon entre comunidades bacterianas (Figura 5A-B) y fúngicas (Fig. 5E-F) de lavas de las dos coladas. Sin embargo, en comunidades fúngicas, si se observa una tendencia a la disminución de la diversidad con el paso del tiempo (Fig. 5E-F). Además, la dispersión de los datos de los índices de  $\alpha$  diversidad para bacterias es menor en 1969, mientras que en hongos lo es en lavas de 1842.

#### Beta diversidad de las comunidades fúngica y bacteriana a lo largo de la sucesión

Las ordenaciones de PCoA y NMDS que utilizan como base las disimilitudes de Bray-Curtis no mostraron agrupaciones claras en las comunidades bacterianas por tiempo de colonización (Fig. 5: C, D, G y H). Sin embargo, sí se aprecia una tendencia segregativa en las comunidades fúngicas de las dos edades, especialmente en el NMDS (Fig. 5: G y H).



Figura 5. Índices de diversidad. A)  $\alpha$  diversidad bacteriana usando el índice de  $\alpha$  diversidad de Simpson. B)  $\alpha$  diversidad bacteriana usando el índice de  $\alpha$  diversidad Shannon. C)  $\beta$  diversidad bacteriana basándose en el escalamiento multidimensional no métrico (NMDS, por sus siglas del término en inglés *Nonmetric Multidimensional Scaling*). D)  $\beta$  diversidad bacteriana basándose en el análisis de componentes principales (PCoA, por sus siglas del término en inglés *Principal Coordinates Analysis*). E)  $\alpha$  diversidad fúngica usando el índice de  $\alpha$  diversidad de Simpson. F)  $\alpha$  diversidad fúngica usando el índice de  $\alpha$  diversidad fúngica basándose en el escalamiento multidimensional no métrico (NMDS, por sus siglas del término en inglés *Nonmetric Multidimensional Scaling*). H)  $\beta$  diversidad fúngica basándose en el análisis de componentes principales (PCoA, por sus siglas del término multidimensional no métrico (NMDS, por sus siglas del término en inglés *Nonmetric Multidimensional Scaling*). H)  $\beta$  diversidad fúngica basándose en el análisis de componentes principales (PCoA, por sus siglas del término en inglés *Nonmetric Multidimensional Scaling*). H)  $\beta$  diversidad fúngica basándose en el análisis de componentes principales (PCoA, por sus siglas del término en inglés *Nonmetric Multidimensional Scaling*). H)  $\beta$  diversidad fúngica basándose en el análisis de componentes principales (PCoA, por sus siglas del término en inglés *Principal Coordinates Analysis*).

#### Uniformidad calculada mediante el índice de diversidad de Pielou (Alfa diversidad)

Se utilizó el Índice de Pielou para evaluar la uniformidad de ASVs en las comunidades bacteriana (Fig. 6A) y fúngica (Fig. 6B). Mientras en la comunidad bacteriana, no se

detectaron diferencias significativas en uniformidad entre lavas de las dos coladas, en la comunidad fúngica se apreció una uniformidad mayor en lavas más antiguas.



Figura 6. Índice de Pielou (uniformidad) calculada para las ASVs de las comunidades bacteriana (A) y fúngica (B) de lavas de distinta edad.

#### Especificidad de la comunidad fúngica y bacteriana a lo largo de la sucesión

En la Figura 7 se puede observar el número de ASVs específicas y compartidas de bacterias y hongos para las lavas de distinta edad. El número de ASVs compartidas de bacterias (48,6%), es mucho mayor que el de hongos (13,1%), lo que lleva asociado un mayor porcentaje de ASVs específicas a cada edad de lava para hongos (56,54% de ASVs específicas en 1842 y 30,38% en 1969). En bacterias, por su parte, número similar de ASVs específicas en 1842 y 1969, con un 20,57% y 30,80% respectivamente.



Figura 7. Diagrama de Venn donde se muestras las ASVs de cada edad de las muestras y el número de ASVs compartidas entre las muestras clasificadas por su edad.

## 5. Discusión

Los filos bacterianos más abundantes en lavas de la Isla Decepción son Proteobacteria, Bacteroidota, Acidobacteriota, Actinobacteriota, Verrucomicrobiota y Firmicutes (Fig. 2A), lo que coincide con los resultados de artículos que han investigado la sucesión primaria en suelos volcánicos y polares (Dragone et al., 2023; Fernández-Martínez et al., 2017; Garrido-Benavent et al., 2020; Hu et al., 2021; Liu et al., 2022; Ortiz-Rivero et al., 2023). Sin embargo, otras autoras detectaron mayores abundancias en otros grupos taxonómicos (Coleine et al., 2024; del Moral, A. et al., 2021; Vimercati et al., 2022), algo esperable dada la heterogeneidad de comunidades microbianas que se pueden encontrar en un mismo entorno (Lebre et al., 2023). Por su parte, la diversidad en estas comunidades de bacterias se muestra poco diferente entre lavas de distintas edades (Fig. 5), compartiendo un gran número de ASVs entre ambas coladas volcánicas estudiadas (Fig. 7), y mostrando pocas ASVs específicas de cada tiempo estudiado, lo que se respalda con los resultados mostrados en la Figura 5: C y D. Esto podría indicar que se producen pocos reemplazamientos de taxones bacterianos con el tiempo. Algunas autoras han detectado una cantidad significativa de reemplazamientos en sus estudios sobre sucesión ecológica (Liu et al., 2022). Sin embargo, otros trabajos muestran que, dada la alta presión selectiva que se encuentra en la Antártida, los clados bacterianos sometidos a selección homogénea cuentan con fuertes adaptaciones a estos entornos que los hace prevalecer en estas zonas y tener adaptaciones bien conservadas para ocupar los nichos disponibles y llevar a cabo una microdiversificación (Quiroga et al., 2024). Por otro lado, la uniformidad calculada mediante el índice de Pielou (Fig. 6A) reveló que no hay una variación a lo largo de la cronosecuencia, algo coherente con los resultados expuestos en la Figura 5: A y B, dado que todas son medidas de la α diversidad. La uniformidad calculada mediante el índice de Pielou mostró una proximidad al valor 1 en ambas coladas, lo que parece indicar una dominancia de algún grupo que condicionaba la estructura de la comunidad.

Las Proteobacterias son un filo muy abundante en suelos que muestra una alta diversidad metabólica, la cual puede ser la responsable de su gran abundancia en los suelos (Brock *et al.*, 2003; Fernández-Martínez *et al.*, 2017). Dentro de la comunidad bacteriana, la clase más abundante fue Alfaproteobacteria (Fig. 2B). Las especies de esta clase son mayoritariamente aerobias o aerobias facultativas y oligotróficas (Brock *et al.*, 2003), algo que coincide con las condiciones ambientales, en especial la oligotrofia, que se encuentran en las coladas de

la Isla Decepción (Llames y Vinocur, 2007). La siguiente clase más abundante fue Gammaproteobacterias (Fig. 2B), tratándose de la clase más grande y diversa, compuesta por especies fototróficas de metabolismos quimioorganotróficos y quimiolitotróficos tanto respiratorios como fermentativos (Brock et al., 2003), que la confiere una capacidad de supervivencia en suelos volcánicos helados (Northup y Lavoie, 2015). Como ya se ha comentado, el siguiente filo más abundante fue Bacteridota (Fig. 2A), compuesto típicamente por organismos sacarolíticos aerobios o fermentativos (Brock et al., 2003), aunque en la comunidad se da la clase de Bacteroidales (Fig. 2B), el cual se compone de especies principalmente anaerobias fermentativas, las cuales se encuentran, sobre todo, como parásitas intestinales humanas (Brock et al., 2003). A este le siguió en abundancia el filo Acidobacteriota (Fig. 2A), el cual es muy abundante en la naturaleza, sobre todo en suelos, particularmente ácidos (Brock et al., 2003). El siguiente filo más abundante fue Actinobacteriota (Fig. 2A), compuesto principalmente por bacterias filamentosas del suelo con un metabolismo que puede ofrecer unas condiciones clave para la posterior colonización en suelos oligotróficos (Brock et al., 2003; Fernández-Martínez et al., 2017). El penúltimo de los filos que se destaca por abundancia en este trabajo es Verrucomicrobiota (Fig. 2A), compuesto por bacterias aerobias o aerobias facultativas, que habitan de forma generalizada en medios marinos y de agua dulce, así como en suelos forestales y agrícolas (Brock et al., 2003), también comunes en suelos oligotróficos con condiciones anóxicas bajo cubiertas criptogámicas (Op den Camp et al., 2009). Finalmente, destacamos Firmicutes (Fig. 2A), filo compuesto por bacterias formadoras de endosporas (Brock et al., 2003) con gran capacidad de adaptación a condiciones adversas, con prevalencia en los sistemas a través de hábitos psicrófilos, reductores de azufre o a través de endosporas (Filippidou *et al.*, 2016); en concreto, la clase Clostridia juega este papel en la comunidad estudiada en este trabajo (Fig. 2B).

El análisis LEfSe mostró que los géneros *Dyella*, *Bryocella* y *Endobacter* explicaban la estructura de la comunidad bacteriana (Fig. 4B). Por un lado, *Dyella* es un género que parece asociado a entornos ácidos, aunque prolifera en ambientes neutros (Giddings *et al.*, 2022), y el cual puede funcionar como especie clave en las comunidades (Ji *et al.*, 2021), y con capacidad de degradación de compuestos orgánicos del suelo (Gui *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2022), y contaminantes (Zhao *et al.*, 2023). Por otro lado, *Bryocella* es un género con capacidad degradativa del carbono orgánico disuelto recalcitrante mediante una estrategia de crecimiento K (Mastný *et al.*, 2021). Finalmente, *Endobacter* es un género mal

caracterizado propio de ambientes ácidos que parece tolerar bien aumentos en las temperaturas de las tundras donde ha sido estudiado (Klarenberg *et al.*, 2020).

Por su parte, los taxones fúngicos encontrados muestran una clara dominancia del filo Ascomycota, las familias más abundantes fueron Herpotrichiellaceae, Lecanoraceae, Acarosporaceae y Porpidiaceae en la colada de 1842 y Stereocaulaceae, Acarosporaceae, Trapeliaceae y Herpotrichiellaceae en la colada de 1969 (Fig. 3A). Como se aprecia en la Figura 7B, la comunidad de hongos ha podido tener reemplazamientos, ya que solo hay un 13,1% de ASVs compartidas entre las dos coladas volcánicas. El porcentaje de ASVs fúngicas específicas en las fases iniciales de colonización de las coladas es un 86,08% mayor que en 1969, lo que reveló una tendencia a la reducción de la biodiversidad a lo largo del tiempo (Fig. 5: E y F). Además, la estructura de comunidad de hongos también difirió entre lavas de las dos coladas estudiados (Fig. 5: G y H), como se puede apreciar de forma más evidente en el ordenamiento NMDS.

La familia Herpotrichiellaceae se ha descrito asociada al suelo y plantas, dada su capacidad de capacidad de crecer en ambientes oligotróficos y hábitos saprófitos permiten que esta familia se desarrolle en climas adversos (Costa et al., 2020; Huang et al., 2023). Dentro de esta familia, el género más abundante fue Cladophialophora (Fig. 3B) cuya abundancia relativa disminuye levemente con la edad de las lavas. Se trata de un género donde se encuentran algunos de los denominados black fungi, hongos muy melanizados y resistentes a condiciones extremas y en ocasiones parásitos de líquenes (Chang et al., 2023). La familia Lecanoraceae reúne hongos que forman líquenes al asociarse con fotobiontes (Medeiros et al., 2021). Dentro de esta familia, el género Lecidella (Fig. 3B) se establece en 1969 (Zhao, et al., 2015). Dentro de la familia Acarosporaceae, el género Myriospora aparece en similar abundancia en ambos puntos de la cronosecuencia (Fig. 3B), siendo un género de hongos formadores de líquenes citado previamente en la Antártida (Purvis et al., 2018). En la familia Stereocaulaceae encontramos el género Stereocaulon, un tipo de hongo formador de líquenes que entra en simbiosis con varias especies de fotobionte de forma específica para poder adaptarse a una gran variedad de nichos en la comunidad (Vančurová et al., 2021), aunque se puede observar cómo disminuye notablemente con la edad de las lavas (Fig. 3B). También encontramos el género de líquenes Lepraria, el cual tiene mayor presencia en lavas de 1969 aunque con valores bajos de abundancia (Fig. 3B), que estabiliza los sustratos colonizados (Lázaro et al., 2023). Dentro de la familia Porpidiaceae (también conocida como Lecideaceae) tenemos como género mayoritario Bellamerea, tratándose otro hongo formador de líquenes (Hafellner, 2007) el cual fue más abundante en lavas de 1969 (Fig. 3B). De las familias destacadas en este trabajo, dentro de Trapeliaceae encontramos el género *Placopsis*, tratándose de otro tipo de hongo formador de líquenes (Torres-Benítez *et al.*, 2023) que parece más abundante en lavas más jóvenes, lo cual concuerda con su capacidad de primocolonizador (De los Ríos *et al.*, 2011). Aunque no es una de las familias más abundantes que se destacan en este trabajo, debido a la resolución utilizada para destacar los géneros de hongos merece una mención el género *Cyathicula*, perteneciente a la familia Helotiaceae y el cual aparece solo en lavas del 1969 (Fig. 3B).

El análisis LEfSe mostró que los géneros que mejor explicaban las diferencias en estructura de la comunidad de hongos eran la abundancia de *Lecidella*, *Bellemerea*, *Lepraria*, *Micarea*, *Cyathicula*, *Epithamnolia* y *Gorgomyces* en lavas de 1842 y *Placopsis* y *Stereocaulon* en las de 1969 (Fig. 4A), tratándose de géneros de hongos formadores de líquenes, lo que concuerda con los estudios realizados sobre suelos de la Antártida marítima por otros autores que proponen también una dominancia de los hongos formadores de líquenes en suelos y les atribuyen un papel impulsor en la ecología microbiana de los suelos (Lebre *et al.*, 2023).

El cálculo de la uniformidad nos reveló que en la comunidad de bacterias los mismos taxones eran dominantes en lavas de distinta edad lo cual condicionaba la estructura de la comunidad (Fig. 6A). Por el contrario, la uniformidad de comunidades de hongos era menor en lavas de menor edad (Fig. 6B), lo que podría relacionarse con los procesos de sucesión y establecimiento de comunidades más estables con el tiempo (Fernández-Martínez *et al.*, 2017; Llambí *et al.*, 2021; Muggia y Grube, 2018; Ortiz-Rivero *et al.*, 2023).

Como se demuestra en este trabajo, los hongos y las bacterias podrían tener diferentes dinámicas de colonización. Los patrones biogeográficos y los factores que influyen en la presencia y la ausencia de ciertos taxones bacterianos son distintos que los que influyen en la de los hongos (Quiroga *et al.*, 2024), y su papel en el sistema con respecto a las funciones que desarrollan sobre los suelos difieren (Ortiz-Rivero *et al.*, 2023). Las comunidades bacterianas son menos variables, e incluso reducen su diversidad con el tiempo, por ser pioneras en los suelos, adaptándose rápidamente a los nichos y desarrollando una microdiversificación de sus clados (Quiroga *et al.*, 2024), con una mayor complejidad de la comunidad con el paso del tiempo (Atlas y Bartha, 2002), aunque sin poder asignarles una especificidad ecológica (Ortiz-Rivero *et al.*, 2023). Sin embargo, el establecimiento de ciertos taxones fúngicos, en este estudio especialmente de hongos formadores de líquenes,

podría requerir más tiempo y por eso aparecer más tarde en los procesos de sucesión primaria. En este establecimiento es fundamental las actividades previas de comunidades bacteria pioneras y aquellos hongos primocolonizadores más resistentes a condiciones oligotróficas que fueron más abundantes en lavas de 1969 (Fernandez-Martinez *et al.*, 2017; Garrido-Benavent *et al.*, 2020).

Finalmente, debido a la multitud de variables ambientales que influyen en la colonización microbiana, los suelos son uno de los sistemas más complejos de estudiar (McArthur, 2006). En este estudio, se analiza la colonización en dos coladas volcánicas de distinta edad a lo que atribuimos las principales diferencias detectadas, pero no se puede descartar que diferencias en textura y composición de las lavas pudiera tener también cierta influencia (Rey *et al.*, 1995), que condicionaría las dinámicas de colonización. Además, dado que se pretende estudiar la sucesión ecológica, lo ideal habría sido contar con más puntos en la cronosecuencia y poder estudiar la evolución del suelo probablemente, pero eran las únicas erupciones datadas en la isla. Estos resultados pueden compararse con otros del grupo realizados en Islandia donde si se ha podido establecer una cronosecuencia con más puntos, que está revelando información más esclarecedora sobre los procesos de sucesión ecológica primaria.

## 6. Conclusiones

Los filos bacterianos más abundantes en lavas de la Isla Decepción son Proteobacteria, Bacteroidota, Acidobacteriota, Actinobacteriota, Verrucomicrobiota y Firmicutes.

La diversidad en bacterias de las lavas de la Isla Decepción se muestra poco variable con el tiempo, lo que muestra una continuidad de los grupos taxonómicos bacterianos, con pocos reemplazamientos y similar uniformidad. Es de esperar que estas comunidades bacterianas no varíen tanto, incluso reduzcan su diversidad, por ser pioneras en los suelos, adaptándose rápidamente a los nichos y desarrollando una microdiversificación de sus clados con una mayor complejidad de la comunidad con el paso del tiempo.

En las lavas estudiadas, dentro de la clara dominancia del filo Ascomycota, las familias más abundantes fueron Herpotrichiellaceae, Lecanoraceae, Acarosporaceae y Porpidiaceae en la colada de 1842 y Stereocaulaceae, Acarosporaceae, Trapeliaceae y Herpotrichiellaceae en la colada de 1969, en su mayoría hongos formadores de líquenes.

En las comunidades de hongos parece haber reemplazamiento de taxones a través de los procesos de sucesión primaria, con una tendencia a la reducción de la biodiversidad a lo largo del tiempo y un incremento de uniformidad.

Los géneros que mejor explicaban la estructura de la comunidad de hongos estudiada eran *Lecidella, Bellemerea, Lepraria, Micarea, Cyathicula, Epithamnolia* y *Gorgomyces* en 1842 y *Plaxopsis* y *Stereocaulon* en 1969, tratándose de géneros de hongos formadores de líquenes, los cuales suelen ser dominantes y pueden ser los principales impulsores de los procesos de colonización primaria en lavas.

Las dinámicas de colonización de bacterias y hongos son diferentes, siendo la aparición de ciertos taxones fúngicos más dependientes del tiempo de exposición de las lavas, que la de bacterias.

## 7. Líneas futuras de investigación

Para obtener información más detallada sobre la diversidad microbiana en distintos ambientes, en particular sobre la sucesión ecológica primaria en suelos, sería conveniente realizar estudios geológicos, edafológicos y microbiológicos combinados en sistemas de información geográfica que permitan realizar análisis más precisos sobre las correlaciones que existen entre diversidades biológica y ambiental.

Además, los estudios de metagenómica para conocer la diversidad taxonómica y funcional de los colonizadores, en combinación con análisis por microscopía electrónica están demostrando ser muy efectivos para mejorar la comprensión sobre la explotación de nichos y desarrollo de los suelos, evolución de las comunidades y relación entre taxones microbianos (Garrido-Benavent *et al.*, 2020).

## 8. Agradecimientos

En primer lugar, como no podía ser de otra manera, me gustaría agradecer a Asunción de los Ríos el haberme dado la posibilidad de trabajar con ella y dejarme formar parte de su equipo, integrándome en el bioma MNCN. El trabajo contigo, Asun, ha sido fácil, no porque las tareas lo fueran, sino por la enorme ayuda que me has ofrecido, por todo el tiempo que me has dedicado y por lo comprensiva que has sido conmigo (incluso cuando mi segundo día rompí todos los instrumentos de vidrio que se estaban secando) ... Hacer este TFG contigo

me ha dado vértigo, porque el detalle en cada palabra, cada matiz, cada cifra de este trabajo..., no lo pasabas por alto. Por último, te agradezco lo comprensiva que has sido, incluso cuando he tenido que desaparecer para centrarme en mi salud y sólo tenías una ligera idea de lo que estaba pasando. Gracias, Asun; ojalá pueda volver a trabajar contigo.

En segundo lugar, me encantaría agradecer a Mar Villar la ayuda que me ha dado, el tiempo que me ha dedicado y lo que me ha facilitado aprender las técnicas bioinformáticas. Y por lo personal, por ser mi aliento.

En tercer lugar, mi círculo URJC-*staff*: Natalia, Diana, Pilar T., María Carmen, Luis, Pilar M. Qué decir, que gracias por aguantarme... He disfrutado y aprendido muchísimo estos 4,25 años con vosotras. Sois maravillosas.

En cuarto lugar, mi último párrafo es para mi familia y amigas (a todas y en especial a vosotras: M, Ix2, E, D, P), porque sin vosotras no sé si hubiera sobrevivido estos años, sobre todo estos dos últimos. Y no lo desarrollo, porque mantener ciertas cosas en privado ha sido una herramienta que me ha permitido no dejarlo todo y que me ha protegido. Lo que no está escrito es a veces lo más importante. [P.D.: gracias, MN. A ti sé que no te tengo que decir el por qué. Pero gracias. Te quiero.]

## 9. Bibliografía

- Abarenkov K, Nilsson RH, Larsson KH, Taylor AFS, May TW, Frøslev TG, Pawlowska J, Lindahl B, Põldmaa K, Truong C, Vu D, Hosoya T, Niskanen T, Piirmann T, Ivanov F, Zirk A, Peterson M, Cheeke TE, Ishigami Y, Jansson AT, Jeppesen TS, Kristiansson E, Mikryukov V, Miller JT, Oono R, Ossandon FJ, Paupério J, Saar I, Schigel D, Suija A, Tedersoo L, Kõljalg U. (2024). The UNITE database for molecular identification and taxonomic communication of fungi and other eukaryotes: Sequences, taxa and classifications reconsidered. *Nucleic Acids Research*, *52*(D1), D791-D797.
- Atlas, R. M., y Bartha, R. (2002). *Ecología microbiana y microbiología ambiental.* (4th ed.) Pearson-Addison Wesley.
- Bardou, P., Mariette, J., Escudié, F., Djemiel, C., y Klopp, C. (2014). Jvenn: An interactive venn diagram viewer. *BMC Bioinformatics*, *15*(1), 1-7.

- Bengtsson-Palme, J., Ryberg, M., Hartmann, M., Branco, S., Wang, Z., Godhe, A., De Wit, P., Sánchez-García, M., Ebersberger, I., de Sousa, F., Amend, A., Jumpponen, A., Unterseher, M., Kristiansson, E., Abarenkov, K., Bertrand, Y.J.K., Sanli, K., Eriksson, K.M., Vik, U., Veldre, V. and Nilsson, R.H. (2013). Improved software detection and extraction of ITS1 and ITS 2 from ribosomal ITS sequences of fungi and other eukaryotes for analysis of environmental sequencing data. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(10), 914-919.
- Bergsten, P., Vannier, P., Klonowski, A. M., Knobloch, S., Gudmundsson, M. T., Jackson, M. D., y Marteinsson, V. T. (2021). Basalt-hosted microbial communities in the subsurface of the young volcanic island of surtsey, iceland. *Frontiers in Microbiology*, 12, 728977. doi:10.3389/fmicb.2021.728977
- Brock, T. D., Madigan, M. T., Martinko, J. M., y Parker, J. (2003). *Brock biology of microorganisms* Upper Saddle River (NJ): Prentice-Hall, 2003.
- Buitinck, L., Louppe, G., Blondel, M., Pedregosa, F., Mueller, A., Grisel, O., Niculae, V.,
  Prettenhofer, P., Gramfort, A., Grobler, J., Layton, R., Vanderplas, J., Joly, A., Holt,
  B., Varoquaux, G. (2013). API design for machine learning software: Experiences from the scikit-learn project. *arXiv Preprint arXiv:1309.0238*,
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., y Holmes, S.
  P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from illumina amplicon data. *Nature Methods*, (13), 581-583. doi:<u>https://doi.org/10.1038/nmeth.3869</u>
- Chang, R., Wang, Y., Liu, Y., Wang, Y., Li, S., Zhao, G., Zhang, S., Dai, M., Zheng, X., Bose, T., Si, H. (2023). Nine new species of black lichenicolous fungi from the genus *cladophialophora* (chaetothyriales) from two different climatic zones of china. *Frontiers in Microbiology, 14*, 1191818. doi:10.3389/fmicb.2023.1191818
- Coleine, C., Albanese, D., Ray, A. E., Delgado-Baquerizo, M., Stajich, J. E., Williams, T. J., Larsen, S., Tringe, S., Pennacchio, C., Ferrari, B. C., Donati, C., Selbman, L. (2024).
  Metagenomics untangles potential adaptations of antarctic endolithic bacteria at the fringe of habitability. *Science of the Total Environment*, , 170290.

- Costa, F.F., da Silva, N.M., Voidaleski, M.F., Weiss, V.A., Moreno, L.F., Schneider, G.X., Najafzadeh, M.J., Sun, J., Gomes, R.R., Raittz, R.T., Castro, M.A.A., de Muniz, G.B.I., de Hoog, G.S., Vicente, V.A. (2020). Environmental prospecting of black yeast-like agents of human disease using culture-independent methodology. *Scientific Reports*, *10*(1), 14229.
- de los Ríos, A., Raggio, J., Pérez-Ortega, S., Vivas, M., Pintado, A., Green, T. A., Ascaso, C., Sancho, L. G. (2011). Anatomical, morphological and ecophysiological strategies in placopsis pycnotheca (lichenized fungi, ascomycota) allowing rapid colonization of recently deglaciated soils. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 206*(10), 857-864.
- del Moral, A., Garrido-Benavent, I., Duran, J., Lehmann, J. R., Rodriguez, A., Heidmarsson,
  S., y de los Rios, A. (2021). Are recently deglaciated areas at both poles colonised by
  the same bacteria? *FEMS Microbiology Letters*, 368(3), fnab011.
  doi:10.1093/femsle/fnab011
- del Moral, R. (Ed.). (1993). Mechanisms of primary succession on volcanoes: A view from mount st helens (12th ed.). Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Departamento de Comunicación del Ejército de Tierra. (2021). Base antártica española gabriel de castilla. Retrieved from <u>https://ejercito.defensa.gob.es/unidades/Antartica/basegabrieldecastilla/Informacion-</u> <u>general/index.html</u>
- Dragone, N.B., Whittaker, K., Lord, O.M., Burke, E.A., Dufel, H., Hite, E., Miller, F., Page, G., Slayback, D., Fierer, N. (2023). The Early Microbial Colonizers of a Short-Lived Volcanic Island in the Kingdom of Tonga. *mBio*. Feb 28;14(1):e0331322. doi: 10.1128/mbio.03313-22. Epub 2023 Jan 11. PMID: 36629429; PMCID: PMC9972954.
- Fernández-Martínez, M.A., Pérez-Ortega, S., Pointing, S.B., Allan Green, T.G., Pintado, A., Rozzi, R., Sancho, L.G., de los Ríos, A. (2017). Microbial succession dynamics along glacier forefield chronosequences in tierra del fuego (chile). *Polar Biology*, 40, 1939-1957.

- Fierer, N., Hamady, M., Lauber, C. L., y Knight, R. (2008). The influence of sex, handedness, and washing on the diversity of hand surface bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(46), 17994-17999. doi: 10.1073/pnas.0807920105
- Filippidou, S., Wunderlin, T., Junier, T., Jeanneret, N., Dorador, C., Molina, V., Johnson, D.R., Junier, P. (2016). A combination of extreme environmental conditions favor the prevalence of endospore-forming firmicutes. *Frontiers in Microbiology*, 7 doi:10.3389/fmicb.2016.01707
- Garrido-Benavent, I., Pérez-Ortega, S., Durán, J., Ascaso, C., Pointing, S. B., Rodríguez-Cielos, R., Navaro, F., de Los Ríos, A. (2020). Differential colonization and succession of microbial communities in rock and soil substrates on a maritime antarctic glacier forefield. *Frontiers in Microbiology*, 11, 126.
- Giddings, L., Kunstman, K., Moumen, B., Asiama, L., Green, S., Delafont, V., Brockley, M., Samba-Louaka, A. (2022). Isolation and genome analysis of an amoeba-associated bacterium dyella terrae strain ely copper mine from acid rock drainage in vermont, united states. *Frontiers in Microbiology*, 13, 856908.
- Gui, H., Purahong, W., Hyde, K. D., Xu, J., y Mortimer, P. E. (2017). The arbuscular mycorrhizal fungus funneliformis mosseae alters bacterial communities in subtropical forest soils during litter decomposition. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1120.
- Hafellner, J. (2007). Lichenicolous biota (nos 1-20). Fritschiana, 60, 35-49.
- Hidalgo-Arias, A., Muñoz-Hisado, V., Valles, P., Geyer, A., Garcia-Lopez, E., y Cid, C. (2023). Adaptation of the endolithic biome in antarctic volcanic rocks. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(18), 13824.
- Hu, W., Schmidt, S. K., Sommers, P., Darcy, J. L., y Porazinska, D. L. (2021). Multipletrophic patterns of primary succession following retreat of a high-elevation glacier. *Ecosphere*, 12(3), e03400.
- Huang, T., Wang, Y., Wang, X., Ma, L., y Yang, X. (2023). Discrepant diversity patterns and function of bacterial and fungal communities on an earthquake-prone mountain gradient in northwest sichuan, china. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1217925.

- Ji, L., Nasir, F., Tian, L., Chang, J., Sun, Y., Zhang, J., Li, X., Tian, C. (2021). Outbreaks of root rot disease in different aged american ginseng plants are associated with field microbial dynamics. *Frontiers in Microbiology*, 12, 676880.
- Klarenberg, I. J., Keuschnig, C., Warshan, D., Jónsdóttir, I. S., y Vilhelmsson, O. (2020). The total and active bacterial community of the chlorolichen cetraria islandica and its response to long-term warming in sub-arctic tundra. *Frontiers in Microbiology*, 11, 3299.
- Kõljalg, U., Nilsson, H. R., Schigel, D., Tedersoo, L., Larsson, K.-H., May, T. W., Taylor, A. F. S., Jeppesen, T. S., Frøslev, T. G., Lindahl, B. D., Põldmaa, K., Saar, I., Suija, A., Savchenko, A., Yatsiuk, I., Adojaan, K., Ivanov, F., Piirmann, T., Pöhönen, R., y Zirk, A. (2020). The taxon hypothesis paradigm—on the unambiguous detection and communication of taxa. *Microorganisms*, 8(12), 1910.
- Lane, D. J. (1991). "16S/23S rRNA sequencing," in Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics, eds E. Stackebrandt and M. Goodfellow, (Chichester: Wiley and Sons), 115–175.
- Lázaro, R., Gascón, C., y Rubio, C. (2023). Runoff and soil loss in biocrusts and physical crusts from the tabernas desert (southeast spain) according to rainfall intensity. *Frontiers in Microbiology, 14*, 1171096.
- Lebre, P. H., Bosch, J., Coclet, C., Hallas, R., Hogg, I. D., Johnson, J., Moon, K. L., Ortiz, M., Rotimi, A., Stevens, M. I., Varliero, G., Convey, P., Vikram, S., Chown, S. L., y Cowan, D. A. (2023). Expanding antarctic biogeography: Microbial ecology of antarctic island soils. *Ecography*, 2023(9), e06568.
- Lee, S., Chiang, M., Hseu, Z., Kuo, C., y Liu, C. (2022). A photosynthetic bacterial inoculant exerts beneficial effects on the yield and quality of tomato and affects bacterial community structure in an organic field. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 959080.
- Liu, Y., Xu, Y., Cui, X., Zhang, B., Wang, X., Qin, X., Wang, J., Li, Y., Zhang, W., Liu, G., Chen, T., y Zhang, G. (2022). Temporary survival increasing the diversity of culturable heterotrophic bacteria in the newly exposed moraine at a glacier snout. *Biology*, 11(11), 1555.

- Llambí, L. D., Melfo, A., Gámez, L. E., Pelayo, R. C., Cárdenas, M., Rojas, C., Torres, J.E., Ramírez, N., Huber, B., Hernández, J. (2021). Vegetation assembly, adaptive strategies and positive interactions during primary succession in the forefield of the last venezuelan glacier. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9, 657755.
- Llames, M. E., y Vinocur, A. (2007). Phytoplankton structure and dynamics in a volcanic lake in deception island (south shetland islands, antarctica). *Polar Biology*, 30(7), 849-857. doi:10.1007/s00300-006-0245-z
- Madsen, E. L. (2015). *Environmental microbiology: From genomes to biogeochemistry* (2nd ed.) John Wiley y Sons.
- Maier, R. M., y Neilson, J. W. (2015). Extreme environments. *Environmental microbiology* (pp. 139-153) Elsevier.
- Martinez-Alonso, E., Pena-Perez, S., Serrano, S., Garcia-Lopez, E., Alcazar, A., y Cid, C. (2019). Taxonomic and functional characterization of a microbial community from a volcanic englacial ecosystem in Deception Island, Antarctica. *Scientific reports*, 9(1), 12158.
- Mastný, J., Bárta, J., Kaštovská, E., y Picek, T. (2021). Decomposition of peatland DOC affected by root exudates is driven by specific r and K strategic bacterial taxa. *Scientific Reports*, *11*(1), 18677.
- McArthur, J. V. (2006). Microbial ecology: An evolutionary approach Elsevier.
- McMurdie PJ, Paulson JN (2023). biomformat: An interface package for the BIOM file format. doi:10.18129/B9.bioc.biomformat, R package version 1.30.0, https://bioconductor.org/packages/biomformat.
- Medeiros, I. D., Mazur, E., Miadlikowska, J., Flakus, A., Rodriguez-Flakus, P., Pardo-De la Hoz, C. J., Cieslak, E., Sliwa, L., Lutzoni, F. (2021). Turnover of lecanoroid mycobionts and their trebouxia photobionts along an elevation gradient in bolivia highlights the role of environment in structuring the lichen symbiosis. *Frontiers in Microbiology*, 12, 774839.

- Muggia, L., y Grube, M. (2018). Fungal diversity in lichens: From extremotolerance to interactions with algae. *Life*, 8(2), 15.
- Neilson, J.W., Califf, K., Cardona, C., Copeland, A., van Treuren, W., Josephson, K.L., Knight, R., Gilbert, J.A., Quade, J., Caporaso, J.G., Maier, R.M. (2017). Significant impacts of increasing aridity on the arid soil microbiome. *MSystems*, 2(3), 195.
- Noell, S. E., Baptista, M. S., Smith, E., McDonald, I. R., Lee, C. K., Stott, M. B., Amend, J.P., Cary, S. C. (2022). Unique geothermal chemistry shapes microbial communities on mt. erebus, antarctica. *Frontiers in Microbiology*, 13, 836943.
- Northup, D. E., y Lavoie, K. H. (2015). Microbial diversity and ecology of lava caves. *Microbial Life of Cave Systems; Walter De Gruyter: Berlin, Germany*, 161-191.
- Op den Camp, H. J. M., Islam, T., Stott, M. B., Harhangi, H. R., Hynes, A., Schouten, S., Jetten, M.S., Birkeland, N.K., Pol, A., Dunfield, P. F. (2009). Environmental, genomic and taxonomic perspectives on methanotrophic verrucomicrobia. *Environmental Microbiology Reports*, 1(5), 293-306. doi:10.1111/j.1758-2229.2009.00022.x
- Ortiz-Rivero, J., Garrido-Benavent, I., Heiðmarsson, S., y de Los Ríos, A. (2023). Moss and liverwort covers structure soil bacterial and fungal communities differently in the icelandic highlands. *Microbial Ecology*, , 1-16.
- Pedregosa, F., Varoquaux, G., Gramfort, A., Michel, V., Thirion, B., Grisel, O., Blondel, M., Prettenhofer, P., Weiss, R., Dubourg, V., Vanderplas, J., Passos, A., Cournapeau, D., Brucher, M., Perrot, M., y Duchesnay, É. (2011). Scikit-learn: Machine learning in python. *The Journal of Machine Learning Research*, *12*, 2825-2830.
- Pepper, I. L., Gerba, C. P., y Gentry, T. J. (2015). Introduction to environmental microbiology. *Environmental microbiology* (pp. 3-8) Elsevier.
- Purvis, O. W., Fernández-Brime, S., Westberg, M., y Wedin, M. (2018). Myriospora, a genus newly reported for antarctica with a worldwide key to the species. *The Lichenologist*, 50(1), 101-112.

- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner,
  F. O. (2012). The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D590-D596.
- Quiroga, M. V., Stegen, J. C., Mataloni, G., Cowan, D., Lebre, P. H., y Valverde, A. (2024). Microdiverse bacterial clades prevail across antarctic wetlands. *Molecular Ecology*, 33(1), e17189.
- Rey, J., Somoza, L., y Martínez-Frías, J. (1995). Tectonic, volcanic, and hydrothermal event sequence on deception island (antarctica). *Geo-Marine Letters*, *15*, 1-8.
- Toju, H., Tanabe, A. S., Yamamoto, S., y Sato, H. (2012). High-coverage ITS primers for the DNA-based identification of ascomycetes and basidiomycetes in environmental samples. *PloS one*, *7*(7), e40863.
- Torres-Benítez, A., Ortega-Valencia, J. E., Vargas-Arana, G., Gómez-Serranillos, M. P., y Simirgiotis, M. J. (2023). Antioxidant and antidiabetic activity and phytoconstituents of lichen extracts with temperate and polar distribution. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1251856.
- Vančurová, L., Malíček, J., Steinová, J., y Škaloud, P. (2021). Choosing the right life partner: Ecological drivers of lichen symbiosis. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 769304.
- Vimercati, L., Bueno de Mesquita, C. P., Johnson, B. W., Mineart, D., DeForce, E., Vimercati Molano, Y., Ducklow, H., Schmidt, S. K. (2022). Dynamic trophic shifts in bacterial and eukaryotic communities during the first 30 years of microbial succession following retreat of an antarctic glacier. *FEMS Microbiology Ecology*, 98(12), fiac122.
- Wei, S. T. S., Fernandez-Martinez, M.-A., Chan, Y., Van Nostrand, J. D., de los Rios-Murillo, A., Chiu, J. M. Y., Ganeshram, A. M., Cary, S. C., Zhou, J., y Pointing, S. B. (2015). Diverse metabolic and stress-tolerance pathways in chasmoendolithic and soil communities of Miers Valley, McMurdo Dry Valleys, Antarctica. *Polar Biology*, 38, 433-443.

- Yilmaz, P., Parfrey, L. W., Yarza, P., Gerken, J., Pruesse, E., Quast, C., Schweer, T., Peplies, J., Ludwig, W., Glöckner, F. O. (2014). The SILVA and "all-species living tree project (LTP)" taxonomic frameworks. *Nucleic Acids Research*, 42(D1), D643-D648.
- Zhao, X., Zhang, L. L., Zhao, Z. T., Wang, W. C., Leavitt, S. D., y Lumbsch, H. T. (2015). A molecular phylogeny of the lichen genus lecidella focusing on species from mainland china. *Plos One*, *10*(9), e0139405.
- Zhao, Y., Li, X., Li, Y., Bao, H., Nan, J., y Xu, G. (2023). Rapid biodegradation of atrazine by a novel paenarthrobacter ureafaciens ZY and its effects on soil native microbial community dynamic. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1103168.

## Apéndice I: tablas suplementarias

Tabla Suplementaria 1. Número de secuencias por muestra, nombradas con formato: nombre de expedición ("ANT" de Antártida y 22 porque las muestras se tomaron el año 2022), número de colada volcánica (1 para la colada de 1842 y 2 para la de 1969), número de zona de muestreo de la colada (1-5) y réplica (A y B).

Muestra	Bacteria	Fungi	Bacterias (filtradas)
ANT22-1-1A	7463	18838	10595
ANT22-1-1B	15494	51669	16382
ANT22-1-2A	23105	33095	25031
ANT22-1-2B	9874	54259	12153
ANT22-1-3A	11516	37902	12905
ANT22-1-3B	13972	12090	19686
ANT22-1-4A	11003	38961	11644
ANT22-1-4B	14035	34785	15671
ANT22-1-5A	7624	14146	16564
ANT22-1-5B	9340	20751	9622
ANT22-2-1A	8768	30768	10856
ANT22-2-1B	13173	25257	13415
ANT22-2-2A	4610	10211	4778
ANT22-2-2B	7738	23224	8121
ANT22-2-3A	6627	13211	6708
ANT22-2-3B	19513	31985	19938
ANT22-2-4A	12012	16731	14260
ANT22-2-4B	19917	95470	23243
ANT22-2-5A	11781	14206	14673
ANT22-2-5B	11102	32654	12456
Total	238667,0	610213,0	278701,0
Media	11933,4	30510,7	13935,1
Desviación Estándar	4754,4	19835,6	5213,8

	1842		1969	
Filo	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
Otra	0,000%	0,000%	0,005%	0,007%
Abditibacteriota	1,207%	1,535%	0,245%	0,312%
Acidobacteriota	8,805%	5,174%	6,441%	6,479%
Actinobacteriota	8,088%	4,220%	7,326%	4,247%
Armatimonadota	2,788%	1,799%	1,389%	2,609%
Bacteroidota	12,403%	5,355%	11,654%	2,920%
Bdellovibrionota	0,051%	0,055%	0,036%	0,049%
Campilobacterota	0,106%	0,210%	0,212%	0,282%
Chloroflexi	0,861%	1,007%	0,992%	1,121%
Cyanobacteria	1,696%	1,685%	3,212%	1,283%
Deinococcota	0,028%	0,030%	0,089%	0,235%
Desulfobacterota	0,682%	1,106%	1,320%	1,395%
Euryarchaeota	0,029%	0,055%	0,054%	0,082%
Firmicutes	6,203%	10,714%	14,107%	14,209%
Fusobacteriota	0,158%	0,293%	0,271%	0,311%
Gemmatimonadota	0,713%	0,659%	0,275%	0,294%
Myxococcota	0,052%	0,089%	0,206%	0,377%
Nitrospirota	0,000%	0,000%	0,019%	0,053%
Patescibacteria	0,115%	0,183%	0,193%	0,189%
Planctomycetota	1,437%	1,126%	0,450%	0,358%
Proteobacteria	46,428%	13,322%	43,863%	9,037%
Spirochaetota	0,108%	0,183%	0,221%	0,250%
Sumerlaeota	0,000%	0,000%	0,007%	0,017%
Verrucomicrobiota	8,005%	6,851%	6,547%	8,394%
WPS 2	0,039%	0.052%	0.865%	1,587%

Tabla Suplementaria 2. Porcentajes de la abundancia relativa correspondientes a cada filo de los datos filtrados de bacterias.

## Apéndice II: figuras suplementarias



Figura Suplementaria 1. Abundancia relativa de filos bacterianos utilizando la base de datos "SILVA" (Quast *et al.*, 2012; Yilmaz *et al.*, 2014) para las muestras tomadas en la Isla Decepción. En el eje de abscisas se muestran las muestras, nombradas como ANT (de Antártida), el número 22 por la fecha de la campaña de recogida de muestras (año 2022), un guion, el número 1 o 2 en función de si se trata de la colada con formación en 1842 (1) o 1969 (2), otro guion y, finalmente, un número del 1 al 4 en función del punto de muestreo de esa colada acompañado de la letra A o B, dado que se tomaban dos muestras por cada punto de muestreo.



rigura Suplementaria 2. Abundancia relativa de familias de nongos utilizando las secuencias exportadas con fecha 31 de marzo de 2023 de la base de datos "UNITE" (Abarenkov *et al.*, 2024; Kõljalg *et al.*, 2020) para las muestras tomadas en la Isla Decepción. Además, aparecen tres grupos especiales: "No asignado", que son OTU interpretados como hongos pero que no se puede asignar a ninguna de las familias de las bases de datos; "Indefinido", que son OTU que el programa no identifica y "Otra", que son grupos minoritarios. En el eje de abscisas se muestran las muestras, nombradas como ANT (de Antártida), el número 22 por la fecha de la campaña de recogida de muestras (año 2022), un guion, el número 1 o 2 en función de si se trata de la colada con formación en 1842 (1) o 1969 (2), otro guion y, finalmente, un número del 1 al 4 en función del punto de muestreo de esa colada acompañado de la letra A o B, dado que se tomaban dos muestras por cada punto de muestreo.



A) Bacteria

Figura Suplementaria 3. A) Abundancia relativa por fechas de filos de bacterias calculada como la media aritmética de las muestras, y utilizando la base de datos "SILVA" (Quast *et al.*, 2012; Yilmaz *et al.*, 2014). B) Abundancia relativa de familias de hongos calculada como la media aritmética de las muestras y utilizando las secuencias exportadas con fecha 31 de marzo de 2023 de la base de datos "UNITE" (Abarenkov *et al.*, 2024; Kõljalg *et al.*, 2020). Además, aparecen tres grupos especiales: "No asignado", que son OTU interpretados como hongos pero que no se puede asignar a ninguna de las familias de las bases de datos; "Indefinido", que son OTU que el programa no identifica y "Otra", que son grupos minoritarios.