

Estudio metagenómico comparativo de comunidades microbianas presentes en suelos asociados
y no asociados al frailejón (*Espeletia* spp.) en el páramo de Santurbán, Santander

Daniela Rangel Ibáñez

Trabajo de Grado para Optar al Título de Magíster en Microbiología

Director

German Alexis Zafra Sierra

PhD. en Ciencias en Biotecnología

Codirector

Mónica Fajardo López

PhD. en Ciencias Naturales Dr.Rer.Nat

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Salud

Escuela de Microbiología

Maestría en Microbiología

Bucaramanga

2025

Dedicatoria

A mi querida familia:

Este logro no hubiera sido posible sin el apoyo incondicional y el amor constante que me han brindado a lo largo de mi vida. A mis padres, Alex y Sandra, les debo todo lo que soy. Su esfuerzo, sacrificio y enseñanzas me han guiado en cada paso de este camino. Gracias por creer en mí incluso en los momentos en que yo dudé de mis capacidades.

A mis hermanas, Isabella y Luciana porque su confianza en mí ha sido una fuente constante de motivación y su compañía una fuente de alegría.

A mis abuelos, Martha, Evelio y Carmen, que con su sabiduría y cariño me han mostrado la importancia de la perseverancia. Sus consejos han sido una inspiración constante.

A mi pareja Carlos Álvarez, por su paciencia y comprensión. Gracias por estar a mi lado en las noches de estudio y en los días de estrés, por celebrar cada pequeño logro y por animarme a seguir adelante cuando las cosas se ponían difíciles.

Finalmente, a toda la familia extendida, amigos y seres queridos que de una u otra forma han contribuido a este logro. A todos ustedes, les dedico este trabajo con profundo agradecimiento y amor.

Agradecimientos

Teniendo en cuenta que la investigación es un trabajo en equipo:

Agradezco a la Universidad Industrial de Santander y COLFUTURO por abrirme las puertas y brindarme la oportunidad de avanzar en mi carrera profesional. La beca concedida fue fundamental para alcanzar mis objetivos académicos y profesionales.

Al Grupo de Investigación en Bioquímica y Microbiología (GIBIM), sus docentes y compañeros fueron indispensables para la culminación de este proyecto. Especialmente a Mabel Barrera y Daniela Rey, por su compañía, consejos y ayuda a lo largo de todo el desarrollo de mi trabajo, su apoyo y amistad incondicional hizo de este proceso una experiencia más enriquecedora y significativa.

A mis directores, Dr. German Alexis Zafra Sierra y Dra. Mónica Fajardo López por haberme guiado en este proceso. Sin su dedicación, paciencia, consejos y apoyo permanente no hubiese sido posible alcanzar este logro.

Al personal de la Corporación Autónoma Regional para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga (CDMB) por su acompañamiento y asesoría en las salidas de campo.

En general, infinitas gracias a todos aquellos que de alguna forma hicieron parte de este proceso.

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	12
1. Marco conceptual y estado del arte.....	16
1.1 Ecosistemas de alta montaña y páramos	16
1.1.1 Biodiversidad de flora y fauna en los páramos	18
1.1.1.1 <i>Espeletia</i> spp. cumple un papel clave en el ecosistema de páramo.	19
1.1.2 Páramo de Santurbán	20
1.2 Diversidad y adaptación de los microorganismos en los páramos a condiciones extremas	21
1.2.1 Interacciones planta - microorganismo en la rizósfera	23
1.3 Metagenómica y su aplicación en estudios de biodiversidad	25
2. Objetivos	28
2.1 Objetivo General.....	28
2.2 Objetivos Específicos.....	28
3. Metodología	29
3.1 Tipo de estudio.....	29
3.2 Área de estudio y colecta de muestras	29
3.3 Determinación de las propiedades fisicoquímicas del suelo.....	31
3.4 Extracción de ADN metagenómico total a partir de muestras de suelo	31
3.5 Secuenciación de ADN metagenómico	32
3.6 Asignaciones taxonómicas y análisis de datos.....	32
3.7 Análisis estadístico.....	33

4. Resultados y Discusión.....	34
4.1 Propiedades fisicoquímicas del suelo	34
4.2 Estructura y diversidad de las comunidades microbianas en suelos del Páramo de Santurbán	37
4.2.1 Estructura y diversidad de las comunidades microbianas procariotas en suelos del Páramo de Santurbán.....	38
4.2.1.1 Estructura y diversidad de las comunidades microbianas bacterianas en suelos del Páramo de Santurbán.....	38
4.2.1.2 Estructura y diversidad de las comunidades microbianas arqueales en suelos del Páramo de Santurbán.....	46
4.2.2 Estructura y diversidad de las comunidades microbianas eucariotas en suelos del Páramo de Santurbán.....	52
4.3 Análisis de la diversidad beta (β) de las comunidades microbianas presentes en los diferentes tipos de suelo del Páramo de Santurbán.	59
4.4 Potenciales asociaciones de las comunidades microbianas en la rizósfera de <i>Espeletia</i> spp..	62
5. Conclusiones	69
6. Recomendaciones	71
Referencias Bibliográficas	73
Apéndices.....	103

Lista de Tablas

Tabla 1 <i>Ubicación geográfica y tipo de suelo de los puntos de muestreo en el páramo de Santurbán, Santander.</i>	30
Tabla 2 <i>Propiedades fisicoquímicas de las muestras de suelo evaluadas.</i>	35

Lista de Figuras

Figura 1 *Abundancia relativa de las comunidades microbianas presentes en las muestras de suelo evaluadas a nivel taxonómico de dominio.* 37

Figura 2 *Abundancia relativa de las comunidades bacterianas presentes en las muestras de suelo evaluadas a nivel taxonómico de A) filo, B) familia, C) género.* 39

Figura 3 *Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades bacterianas presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de género.* 43

Figura 4 *Índices de diversidad alfa A) Shannon y B) Simpson para las comunidades bacterianas de los suelos del páramo de Santurbán.* 45

Figura 5 *Abundancia relativa de las comunidades arqueales presentes en las muestras de suelo evaluadas a nivel taxonómico de A) filo, B) familia, C) género.* 48

Figura 6 *Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades arqueales presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de género.* 49

Figura 7 *Índices de diversidad alfa A) Shannon y B) Simpson para las comunidades arqueales de los suelos del páramo de Santurbán.* 50

Figura 8 *Abundancia relativa de las comunidades eucariotas presentes en las muestras de suelo evaluadas a nivel taxonómico de A) filo, B) familia, C) género.* 54

Figura 9 *Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades eucariotas presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de género.* 56

Figura 10 *Índices de diversidad alfa A) Shannon y B) Simpson para las comunidades eucariotas de los suelos del páramo de Santurbán.* 58

Figura 11 *Análisis de coordenadas principales (PCoA) a nivel taxonómico de género según A) tipo de suelo, B) subpiso de páramo evaluados.*..... 61

Figura 12 *Microbioma central presente en los suelos totales y rizosféricos del páramo de Santurbán.*..... 63

Figura 13 *Red de Co Ocurrencia de los géneros microbianos presentes en las A) muestras de suelo rizosférico y B) muestras de suelo total.*..... 65

Lista de Apéndices

Apéndice A <i>Mapa de calor de los coeficientes de correlación de Pearson entre las variables fisicoquímicas evaluadas en las muestras de suelo del páramo de Santurbán.</i>	103
Apéndice B <i>Curvas de rarefacción estimadas para cada muestra analizada según el tipo de suelo rizosférico o total.</i>	104
Apéndice C <i>Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades bacterianas presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de filo.</i>	105
Apéndice D <i>Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades bacterianas presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de familia.</i>	106
Apéndice E <i>Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades arqueales presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de filo.</i>	107
Apéndice F <i>Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades arqueales presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de familia.</i>	108
Apéndice G <i>Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades eucariotas presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de filo.</i>	109
Apéndice H <i>Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades eucariotas presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de familia.</i>	110
Apéndice I <i>Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades microbianas presentes en las muestras de suelo rizosféricas de Espeletia conglomerata y Espeletia santanderensis.</i>	111

Resumen

Título: Estudio metagenómico comparativo de comunidades microbianas presentes en suelos asociados y no asociados al frailejón (*Espeletia* spp.) en el páramo de Santurbán, Santander *

Autor: Daniela Rangel Ibáñez **

Palabras Clave: Páramo, *Espeletia* spp., rizósfera, biodiversidad, asociación planta-microorganismo, metagenómica.

Descripción: El páramo de Santurbán destaca por su importancia ecológica y socioeconómica al nororiente colombiano, donde su estabilidad y conservación está ligada a las propiedades fisicoquímicas y biológicas de sus suelos. Plantas endémicas, tales como los frailejones (*Espeletia* spp.), son fundamentales para mantener la regulación hídrica del páramo y dependen de asociaciones planta-microorganismo que no han sido estudiadas en profundidad. Por tanto, este estudio caracterizó por primera vez la diversidad microbiana presente en los suelos del páramo de Santurbán y sus potenciales relaciones con *Espeletia* mediante el análisis fisicoquímico y metagenómico con la tecnología Oxford Nanopore de 12 muestras compuestas de suelo (6 de rizósfera de *Espeletia* y 6 de suelo total) en el Parque Natural Regional Páramo de Santurbán, Vetas, Santander. Se identificaron microorganismos de los dominios Bacteria, seguido de Eukaryota y Archaea, resaltando microorganismos con las mayores abundancias relativas, tales como la bacteria fijadora de nitrógeno *Bradyrhizobium*, hongos solubilizadores de fosfato como *Penicillium* y arqueas metanógenas. Además, los géneros *Hyphodiscus*, *Pedosphaera* y *Mesorhizobium* estuvieron asociados significativamente a la rizósfera de *Espeletia*, estableciendo redes de coocurrencia más complejas en este microambiente, promoviendo interacciones planta – microorganismo al participar en ciclos biogeoquímicos, ejerciendo biocontrol en zonas clave de la planta y/o contando con mecanismos de adaptación frente a estas condiciones extremas de los páramos. Finalmente, fue posible establecer un microbioma central en estos suelos, un paso clave para comprender la dinámica microbiana en este ecosistema. Estos microorganismos pueden influir en el ciclado de nutrientes, la salud del suelo y la resiliencia del ecosistema frente a factores ambientales extremos, lo cual es fundamental para el diseño de planes de manejo y conservación para estos ecosistemas estratégicos.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Salud. Escuela de Microbiología. Maestría en Microbiología. Director: German Alexis Zafra Sierra. PhD. en Ciencias en Biotecnología. Codirector: Mónica Fajardo López. PhD. en Ciencias Naturales Dr.Rer.Nat.

Abstract

Title: Comparative metagenomic study of microbial communities present in soils associated and not associated with frailejon (*Espeletia* spp.) in the Paramo de Santurban, Santander *

Author(s): Daniela Rangel Ibáñez **

Key Words: Paramo, *Espeletia* spp., rhizosphere, biodiversity, plant-microorganism association, metagenomics.

Description: The Santurban paramo stands out for its ecological and socioeconomic importance in northeastern Colombia, where its stability and conservation are linked to the physicochemical and biological properties of its soils. Endemic plants, such as frailejones (*Espeletia* spp.), are essential to maintain the water regulation of the paramo and depend on plant-microorganism associations that have not been studied in depth. Therefore, this study characterized for the first time the microbial diversity present in the soils of the Santurban paramo and its potential relationships with *Espeletia* through physicochemical and metagenomic analysis with Oxford Nanopore technology of 12 composite soil samples (6 *Espeletia* rhizosphere and 6 total soil) in the Paramo de Santurban Regional Natural Park, Vetas, Santander. Microorganisms from the Bacteria domains were identified, followed by Eukaryota and Archaea, highlighting microorganisms with the highest relative abundances, such as the nitrogen-fixing bacteria *Bradyrhizobium*, phosphate-solubilizing fungi such as *Penicillium* and methanogenic archaea. In addition, the genera *Hyphodiscus*, *Pedosphaera* and *Mesorhizobium* were significantly associated with the rhizosphere of *Espeletia*, establishing more complex co-occurrence networks in this microenvironment, promoting plant-microorganism interactions by participating in biogeochemical cycles, exerting biocontrol in key areas of the plant and/or having adaptation mechanisms against these extreme conditions of the paramos. Finally, it was possible to establish a core microbiome in these soils, a key step to understand the microbial dynamics in this ecosystem. These microorganisms can influence nutrient cycling, soil health and ecosystem resilience to extreme environmental factors, which is essential for the design of management and conservation plans for these strategic ecosystems.

* Degree Work

**Faculty of Health. School of Microbiology. Master in Microbiology. Director: German Alexis Zafra Sierra. PhD. in Sciences in Biotechnology. Co-director: Mónica Fajardo López. PhD. In Natural Sciences Dr.Rer.Nat.

Introducción

En América Central y los Andes tropicales, se localizan unos ecosistemas estratégicos denominados páramos, entre 3.200 y 4.500 m.s.n.m., los cuales cumplen un papel crucial en la regulación natural del suministro hídrico, debido a su capacidad de almacenar y liberar agua, un recurso vital para las comunidades cercanas y para suplir fines industriales, agrícolas y recreativos (Mosquera et al., 2023).

Los páramos, caracterizados por su ubicación en altitudes elevadas y sus condiciones ambientales extremas, son considerados hábitats hostiles para el desarrollo y mantenimiento de la vida (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2002; Rojas, Varela y Osher, 2018; Ruíz et al., 2008). Sin embargo, estas áreas son reconocidas por su biodiversidad única, con una gran variedad de especies vegetales endémicas adaptadas (Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 2021; Llambí et al., 2012). En general, los páramos cuentan con vegetación abierta de tipo arbustivo y herbáceo, siendo las rosetas y arbustos las formas de crecimiento típicas de este ecosistema (Rojas, Varela y Osher, 2018). En el caso de *Espeletia* spp., la especie vegetal emblema de este hábitat, conocida popularmente como “frailejón”, posee un papel importante en la estabilidad de esta área natural al constituir la mayor parte de la biomasa presente, influir en la regulación hídrica mediante la captación de la humedad del ambiente para posteriormente abastecer los ríos que nacen de los páramos, además de regular el almacenamiento del carbono (Mavárez, 2019; Cárdenas, et al., 2018; Beltrán, 2018; Zomer y Ramsay, 2018).

Colombia cuenta con casi el 50% de los páramos del mundo, siendo un ecosistema distintivo y estratégico de la geografía del país por su contribución a la sostenibilidad ambiental y

provisión de servicios ecosistémicos a las comunidades cercanas (Sarmiento et al., 2017). El páramo de Santurbán corresponde a un sistema biológico indispensable para la región nororiental del país. Se encuentra ubicado entre 2.800 y 4.290 m.s.n.m. y se extiende en 15 municipios de los departamentos de Norte de Santander y Santander, abasteciendo a más de 2.200.000 habitantes que se distribuyen tanto en las cabeceras municipales como en el área rural, cuyo sustento se genera a partir de la actividad agrícola tradicional, la ganadería y la explotación de carbón en la zona (Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt, 2010; López et al., 2012).

Si bien es cierto que los ecosistemas paramunos albergan una gran diversidad biológica, los reportes disponibles a la fecha se limitan en describir su flora y fauna (Zapata, 2021). En el páramo de Santurbán, las comunidades microbianas aún no han sido exploradas a pesar de que su diversidad y función son esenciales para el equilibrio ecológico del mismo (Ortíz y Sansinenea, 2022). Los microorganismos del suelo, incluyendo bacterias, hongos, arqueas y otros organismos unicelulares, son esenciales para el funcionamiento y balance de los ecosistemas terrestres al participar en procesos que impactan directamente su fertilidad, la disponibilidad de nutrientes y la promoción del crecimiento vegetal (Ortíz y Sansinenea, 2022; Sansinenea, 2021; Hayat et al., 2010; Sansinenea, 2019). Adicionalmente, es conocido que las condiciones geográficas y medio ambientales particulares, tales como los valores de temperatura, vegetación y propiedades fisicoquímicas del suelo, determinan la estructura y el funcionamiento ecológico de las comunidades microbianas presentes de manera diferencial, que puedan estar realizando procesos locales importantes para el ecosistema al desarrollar estrategias de adaptación a estos entornos únicos (Vélez et al., 2023). La distribución exclusiva de *Espeletia* spp. en los páramos sugiere que

ha desarrollado mecanismos propios de supervivencia, incluyendo interacciones entre la planta y microorganismos del entorno que favorecen su crecimiento y adaptabilidad a las adversas condiciones medioambientales del ecosistema (Ortíz y Sansinenea, 2022), destacando especialmente la rizósfera como una posible zona de alta diversidad biológica debido a la disponibilidad de nutrientes provenientes de exudados radiculares (Sun et al., 2023).

Aportar al entendimiento parcial de este sistema es posible mediante el uso de herramientas capaces de suministrar y analizar grandes cantidades de información biológica. Así, la metagenómica es una tecnología de última generación para la secuenciación de genomas completos que permite analizar de manera global todas las comunidades microbianas presentes en una muestra de suelo en un momento determinado, descubrir nuevos genes y potenciales funciones relevantes para, por ejemplo, su adaptación al entorno (Bleidorn, 2015). Adicionalmente, relacionar esta información con la caracterización fisicoquímica del entorno permitiría comprender la dinámica del microbioma, con la finalidad última de preservar las especies vegetales emblemáticas y el ecosistema mismo.

A nivel mundial, las investigaciones centradas en la biodiversidad microbiana en suelos de alta montaña se han llevado a cabo principalmente en países asiáticos por sus grandes complejos montañosos. En el caso de los páramos, al estar localizados mayoritariamente en la región de los Andes, las investigaciones han sido realizadas a nivel local en Ecuador, Colombia y Venezuela principalmente, evaluando la diversidad microbiana con relación a gradientes altitudinales (Arguello, 2022) y caracterizando fisicoquímica y microbiológicamente los suelos rizosféricos de algunas especies vegetales (Arcos, Erazo y Quishpe, 2022). Además, a pesar de que el frailejón sea reconocido como eje central de estos ecosistemas, su relación con las comunidades

microbianas en el suelo aún no ha sido completamente explorada. A nivel nacional se han identificado microorganismos asociados a *Espeletia* spp. en los departamentos de Boyacá, Tolima, Quindío y Cundinamarca (Rojas, Varela y Osher, 2018). Si bien los procariotas predominan en todos los estudios realizados, especialmente los filos Pseudomonadota y Acidobacteriota, también se han aislado e identificado especies fúngicas en el frailejón, principalmente de las clases Sordariomycetes, Dothideomycetes y Eurotiomycetes, entre otros (Rangel y Zafra, 2022).

No obstante, los estudios realizados en esta materia aún son escasos y, particularmente en el Páramo de Santurbán, no existen reportes disponibles acerca de la estimación de su diversidad microbiana. Además de la valiosa información que suministraría el conocer qué microorganismos están presentes como un indicador de la calidad del suelo o por su interés biotecnológico, también permitiría comprender cómo estas comunidades se pueden estar asociando y beneficiando a las especies vegetales del ecosistema, dilucidando nuevas estrategias de adaptación a condiciones ambientales extremas, así como de conservación y manejo sostenible del mismo.

Explorar la diversidad de las comunidades microbianas presentes en suelos del páramo de Santurbán mediante enfoques basados en análisis de metagenomas, permitirá realizar un aporte novedoso al conocimiento actual de estos ecosistemas, incluyendo poblaciones poco abundantes o que aún no pueden ser aisladas con facilidad, así como también las posibles interacciones que se podrían estar llevando a cabo entre estos microorganismos y plantas endémicas de la región. En este contexto, surge la pregunta de investigación: ¿Cuál es la diversidad taxonómica, abundancia y potencial relación de las comunidades microbianas rizosféricas con *Espeletia* spp. en el páramo de Santurbán? Esta información es fundamental para promover la conservación efectiva del ecosistema, así como su gestión sostenible frente a las amenazas actuales.

1. Marco conceptual y estado del arte

1.1 Ecosistemas de alta montaña y páramos

Los ecosistemas de montaña son fundamentales para el desarrollo y conservación de la vida en el planeta, comprenden aproximadamente el 25% de su superficie, albergan una cuarta parte de la biodiversidad terrestre y proveen el 70% de la demanda de agua para el sector agrícola, industrial y consumo humano (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2002; Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014). A su vez, estos ecosistemas están constituidos por subregiones, dentro de las cuales resaltan los páramos (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2002).

Los ecosistemas paramunos comprenden grandes extensiones de terreno desprovisto de árboles, localizados entre el límite inferior de las zonas nevadas y el límite superior de los bosques altoandinos, por encima de los 3.200 m.s.n.m. en el caso del territorio colombiano (Cuatrecasas, 1958; Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2002; Rojas, Varela y Osher, 2018). Presentan una variedad de condiciones medioambientales particular, tales como precipitaciones frecuentes, alto nivel de radiación ultravioleta, fuertes vientos, temperaturas medias inferiores a 10°C, presencia de niebla, baja presión atmosférica y cambios abruptos de temperatura durante el día (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2002; Rojas, Varela y Osher, 2018; Ruíz et al., 2008). Con respecto al suelo, se caracteriza por su color negro, turboso, ácido y en su mayor parte saturado de agua (Cuatrecasas, 1958).

Los páramos pueden ser considerados un bioma terrestre que se divide en tres subpisos según la distribución espacial de su biodiversidad, características edáficas y la realización de actividades antrópicas (Cuatrecasas, 1958; Rangel, 2000; Rivera y Rodríguez, 2011):

a) El subpáramo, localizado entre 3.000 y 3.200 m.s.n.m., es la zona de transición entre los bosques montanos y el páramo propiamente dicho, se caracteriza por la presencia de una mezcla entre matorrales, arbustos y algunos árboles característicos de los bosques andinos.

b) El páramo propiamente dicho, ubicado entre 3.200 y 4.000 m.s.n.m. está dominado por arbustos, pajonales y rosetas, alberga un gran número de plantas con inflorescencias lanosas como *Espeletia* spp. y *Lupinus* spp., entre otras.

c) El superpáramo, localizado sobre 4.000 m.s.n.m. en la parte más alta de estos ecosistemas, alcanza hasta el nivel de las zonas nevadas y comprende escasa vegetación, dispersa y presente sobre suelos rocosos, desaparece *Espeletia* spp. y resalta la presencia de especies del género *Senecio*, *Cerastium* y *Agrostis*, entre otras.

Además de su biodiversidad, los páramos prestan importantes servicios ecosistémicos, tales como la regulación natural del ciclo hídrico, mitigación del impacto ambiental mediante el almacenamiento y captura de CO₂ atmosférico, contribuyen con la regulación climática de su región, son hábitat de varias especies polinizadoras y dispersoras de semillas, y son considerados como sitios sagrados para la mayoría de las culturas ancestrales, entre otros (Rivera y Rodríguez, 2011).

1.1.1 Biodiversidad de flora y fauna en los páramos

En estos ecosistemas se ha reportado una gran diversidad de flora y fauna. En los suelos paramunos, la vida animal incluye insectos artrópodos de pequeño tamaño como ácaros y colémbolos, así como anélidos incluyendo la lombriz de tierra. Además, se han registrado hormigas, especies de dípteros, coleópteros y lepidópteros, así como saltamontes y anfibios tales como salamandras y sapos. Dentro de la fauna paramuna, las aves destacan especialmente, con especies como el cóndor (*Vultur gryphus*) y el gavián negro (*Buteo leucorrhous*), entre otros. En cuanto a los mamíferos, se encuentran marsupiales, musarañas y mustélidos como la mustela (*Mustela frenata*). Entre los mamíferos de mayor tamaño es posible encontrar el venado de páramo (*Mazama rufina*), el puma (*Felis concolor*) y el oso de anteojos (*Tremarctos ornatus*) (Péfaur, 1997).

La vegetación de los páramos es un componente fundamental de estos ecosistemas de alta montaña, siendo el frailejón (*Espeletia spp.*), miembro de la familia Asteraceae, el representante más emblemático de la flora del páramo. Las gramíneas también son un componente esencial de esta vegetación, especialmente en la forma de extensos pajonales dominados por géneros como *Calamagrostis* y *Festuca*. Estas plantas están adaptadas a condiciones climáticas severas mediante hojas duras y delgadas que reducen la transpiración. Su resistencia a los cambios bruscos de temperatura les permite proteger el suelo contra la erosión y favorecer el almacenamiento de materia orgánica, un proceso vital en suelos pobres en nutrientes. Por su parte, los arbustos paramunos son pequeños, ramosos y con hojas coriáceas, como *Vaccinium* (Cuatrecasas, 1958; Rojas, Varela y Osher, 2018).

1.1.1.1 *Espeletia* spp. cumple un papel clave en el ecosistema de páramo. Dentro de la vegetación característica del ecosistema de páramo predominan las rosetas, tales como especies de *Espeletia*, caracterizadas por sus hojas de gran tamaño, alargadas, lanudas y blanquecinas, dispuestas en forma de roseta alrededor de un tallo recto y erguido, pubescencia abundante y cubierto por una capa de hojas secas, conocidas como necromasa. Dependiendo de la especie, pueden alcanzar hasta 10 metros de altura y presentar o no inflorescencias (Cuatrecasas, 1958; Ministerio de Ambiente, 2016).

Es importante mencionar que, como resultado de la influencia de las fuerzas selectivas ejercidas por las condiciones medioambientales particulares de este entorno, varias de estas características en las plantas fueron desarrolladas como estrategias evolutivas de adaptación. La presencia de hojas endurecidas y gruesas, en posición evasora de la insolación evitan el sobrecalentamiento, mientras que el aumento de la concentración de carbohidratos en sus tejidos aumenta la tolerancia a la congelación. Además, las plantas que acumulan hojarasca alrededor del tallo, como el frailejón, obtienen un aislante térmico debido a la lenta descomposición de las hojas. Otros ejemplos se basan en la presencia de pigmentos antociánicos y órganos subterráneos de reserva, así como la secreción de resinas gelatinosas para protección térmica y un interior del tallo con médula o tejidos con capacidad para almacenar agua (Monasterio y Sarmiento, 1991).

El frailejón posee un papel importante en la estabilidad del suelo de estos ecosistemas debido a que constituye la mayor parte de la biomasa presente, influye en la regulación hídrica mediante la captación de la humedad del ambiente, para así almacenar el agua y posteriormente abastecer los ríos que nacen en los páramos (Cárdenas et al., 2018; Beltrán, 2018; Zomer y Ramsay, 2018), previene la erosión del suelo y tienen asociaciones clave con ciertas especies de

animales (Beltrán, 2018). A la fecha, *Espeletia* posee cerca de 135 especies distribuidas únicamente en el norte de América del Sur, en los páramos de Colombia, Venezuela y Ecuador, donde son consideradas como las especies con mayor adaptación a las condiciones medioambientales presentes en los páramos (Beltrán, 2018).

En el páramo de Santurbán se encuentran dos especies notables de frailejones, *Espeletia conglomerata* y *Espeletia santanderensis* (Originalmente registrado por el International Plant Names Index como *Espeletiopsis santanderensis*). *Espeletia conglomerata* es una especie de tallo erguido, lo que significa que su crecimiento es vertical, y desempeña un papel fundamental en la regulación hídrica del ecosistema. Por su parte, *Espeletia santanderensis*, un frailejón más pequeño sin una prolongación tipo tallo y con una estructura similar a la de un arbusto, es una especie endémica que crece únicamente en Santander, resaltando la singularidad biológica del páramo. Ambas especies son esenciales para la conservación del suelo y la captación de agua, funciones vitales para el equilibrio ecológico y el suministro hídrico de las comunidades locales (Mavárez, 2021).

1.1.2 Páramo de Santurbán

Uno de los 37 complejos de páramos de Colombia corresponde al de Jurisdicciones-Santurbán-Berlín, conocido popularmente como el páramo de Santurbán, un ecosistema ubicado en la cordillera oriental, específicamente entre los departamentos de Santander (28%) y Norte de Santander (72%), crucial para la regulación del ciclo hidrológico en la región nororiental de la nación, así como para la conservación de la biodiversidad. Cuenta con una extensión aproximada de 150.000 hectáreas, distribuidas en los municipios de Vetás, Tona, California, Suratá, Charta, El

Playón, Piedecuesta, Silos, Mutiscua, Cucutilla, Arboledas y Cáchira, dentro de las jurisdicciones de la Corporación Autónoma Regional para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga (CDMB) y la Corporación Autónoma Regional de la Frontera Nororiental (CORPONOR). Además, se estima que el páramo abastece a más de 2.200.000 habitantes, mediante el Acueducto Metropolitano de Bucaramanga (amb) y los acueductos de Pamplona, Pamplonita, Los Patios, Chinátoca, Rangovalia, entre otros (Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt, 2014).

Estudios realizados en la zona registran una alta diversidad biológica, representada en 457 especies vegetales y 293 especies de fauna vertebrada (Llambí et al., 2012; Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt, 2010). A pesar de su relevancia, el páramo de Santurbán está amenazado por diversas actividades humanas, tales como la minería, el turismo, la agricultura intensiva y el cambio climático, entre otros, factores que pueden alterar su biodiversidad, desencadenando en consecuencias negativas en la salud del ecosistema y su capacidad para proporcionar servicios ecosistémicos (Zárate, Beltrán y Murallas, 2022), razón por la cual es imprescindible conservar este ecosistema natural y salvaguardar su diversidad biológica frente a las amenazas a las que son expuestos tomando acciones de manera oportuna y basadas en el conocimiento del estado real del entorno.

1.2 Diversidad y adaptación de los microorganismos en los páramos a condiciones extremas

Los microorganismos, a pesar de su tamaño microscópico, desempeñan un papel fundamental en la estructura y funcionamiento de todos los ecosistemas. Su diversidad metabólica

y su capacidad para colonizar una amplia variedad de hábitats, los convierte en actores clave de una gran variedad de procesos que allí se presentan.

A pesar de que el conocimiento actual acerca de la diversidad microbiana en este tipo de ambientes, en especial en la región de los Andes, es limitado, diferentes autores han logrado identificar en ellos microorganismos pertenecientes a los 3 dominios de la vida, es decir, Bacteria, Eukaryota y Archaea (De Mandal y Pankaj, 2020), siendo los filos más frecuentes Proteobacteria (Actualmente Pseudomonadota), Acidobacteria (Acidobacteriota) y Actinobacteria (Actinomycetota). Dentro de las familias destacan Bradyrhizobiaceae, Acetobacteraceae y Burkholderiaceae, así como los géneros *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas* e *Hyphomicrobium* (Vélez et al., 2023; Arenas, Alzate y Lizarazo, 2015; Hernández y Lizarazo, 2015). Dentro de los taxones fúngicos informados sobresalen los pertenecientes a los filos Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota y Mortierellomycota, entre otros, junto con los géneros *Archaeorhizomyces*, *Clavulinopsis*, *Mortierrella* y *Geastrum*, principalmente (Vélez et al., 2023).

Investigaciones previas han demostrado que las comunidades microbianas asociadas al frailejón (*Espeletia* spp.) varían dependiendo de las distintas zonas de la planta, reportando microorganismos tanto en la filósfera como en la rizósfera de *Espeletia* (Rangel y Zafra, 2022; Mavárez, 2019). Un estudio realizado en el Parque Nacional Natural de los Nevados en Colombia describió índices de diversidad microbiana más altos en las regiones de necromasa y raíz en comparación con las otras zonas de *Espeletia hartwegiana*, destacando una mayor abundancia del filo Acidobacteria (Acidobacteriota) en estas zonas (Ruíz et al., 2016). Así mismo, un estudio llevado a cabo en el Páramo Cruz Verde en Colombia permitió aislar e identificar hongos endófitos presentes en las hojas de *Espeletia* spp, encontrando un predominio de hongos pertenecientes a las

clases Sordariomycetes, Dothideomycetes, Agaricomycetes, Leotiomycetes y Eurotiomycetes. Además, se identificaron aislados a nivel de especie, incluyendo *Nigrospora oryzae*, *Fusarium proliferatum*, *Scopulariopsis brevicaulis* y *Trichoderma asperellum* (Miles et al., 2012). Aunque escasos, los anteriores estudios a nivel de Colombia sugieren que la biodiversidad de microorganismos asociados a *Espeletia* podría ser alta.

Se han descrito diversos mecanismos de tolerancia al estrés abiótico en estos organismos, especialmente frente a las bajas temperaturas, tales como la producción de proteínas anticongelantes (CspA, CspC y CspE), exopolisacáridos y crioprotectores (Glicerol, la glicina betaína y trehalosa) para disminuir el impacto de la cristalización; la regulación de la fluidez de sus membranas, debido a que los psicrófilos poseen una mayor proporción de ácidos grasos insaturados, poliinsaturados y ramificados, así como la modificación de la cinética enzimática mediante un aumento en la flexibilidad estructural de sus enzimas (Rangel y Zafra, 2022).

1.2.1 Interacciones planta - microorganismo en la rizósfera

La rizósfera, entendida como la zona del suelo que está en contacto íntimo con las raíces de las plantas, es un área clave para los estudios sobre las interacciones planta – microorganismo, ya que es un microambiente dinámico donde se desarrollan diversas actividades biológicas y metabólicas que afectan directamente la salud y el crecimiento de las plantas, la adquisición de nutrientes y la prevención de plagas (Sun et al., 2023). Esta compleja interacción es fundamental para el funcionamiento de los ecosistemas terrestres. Partiendo de que los microorganismos presentes en los suelos promueven su sustentabilidad, las raíces de las plantas proporcionan un hábitat óptimo para su desarrollo, permitiendo una serie de interacciones que satisfacen

necesidades nutricionales tanto para las plantas como para las comunidades microbianas asociadas (De Maayer et al., 2017; Mhlongo et al., 2018; Atlas & Bartha, 2002; Ho et al., 2017).

Las poblaciones microbianas suelen ser más abundantes en la rizósfera que en el suelo circundante sin raíces debido a los exudados liberados por las raíces. Estos exudados incluyen compuestos orgánicos como aminoácidos, azúcares, vitaminas y fosfolípidos, entre otros, que cumplen la función de nutrientes y actúan como señales químicas que modulan la estructura de las comunidades microbianas (Vives et al., 2020). Este proceso es esencial para el establecimiento de relaciones simbióticas o antagónicas que influyen en el equilibrio de las poblaciones microbianas presentes en la rizósfera. Por su parte, las poblaciones microbianas de la rizósfera aportan múltiples beneficios a las plantas, favoreciendo el reciclaje y la solubilización de nutrientes, además de sintetizar vitaminas y aminoácidos que promueven su crecimiento. Sumado a esto, ciertos microorganismos producen fitohormonas, es decir, compuestos reguladores naturales, tales como las citoquininas, giberelinas, auxinas y etileno, las cuales participan en procesos como la germinación, el alargamiento celular, la floración y la respuesta al estrés (Mukherjee et al., 2022). De la misma forma, algunos grupos microbianos evidencian antagonismo hacia patógenos potenciales de las plantas mediante la competencia, así como el desarrollo de relaciones amensales basadas en la producción de antibióticos (Atlas y Bartha, 2002; Madigan et al., 2015).

Una de las asociaciones mutualistas más importantes entre microorganismos y plantas es la invasión de las raíces de ciertas plantas por microorganismos fijadores de nitrógeno, los cuales convierten el nitrógeno atmosférico en amoníaco, proporcionando el nitrógeno necesario para el crecimiento de la planta (Garrido et al., 2018). Adicionalmente, ciertos microorganismos descomponen formas no disponibles de fósforo orgánico e inorgánico en compuestos que las

plantas pueden utilizar, así como otros grupos microbianos producen sideróforos, agentes quelantes de hierro para las plantas (Garrido et al., 2018). Sin embargo, no todas las interacciones resultan positivas para las plantas. Microorganismos fitopatógenos, especialmente los hongos, representan una amenaza para la salud vegetal al utilizar los tejidos de las plantas como fuente energética, superando sus mecanismos de defensa para causar enfermedades (Schirawski et al., 2018).

Finalmente, es importante mencionar que las interacciones entre organismos son procesos complejos y variables, influenciados por múltiples factores, tales como las características de la comunidad microbiana, las condiciones ambientales y las plantas hospedadoras. Dada la diversidad de estos factores, el resultado de una interacción microbiana puede ser tanto beneficiosa como perjudicial para las plantas. En este contexto, resulta fundamental investigar el papel de la microbiota nativa en ecosistemas de alta montaña, tales como los páramos, y su influencia en el crecimiento de especies endémicas como *Espeletia*. En este campo, los estudios metagenómicos pueden ser de gran utilidad al permitir identificar diferentes tendencias que se establezcan en los microambientes del ecosistema, así como nuevas opciones de manejo para las enfermedades en plantas bajo las condiciones medioambientales propias del páramo, generando posibles nuevas vías para el manejo sostenible de estos ecosistemas.

1.3 Metagenómica y su aplicación en estudios de biodiversidad

La secuenciación metagenómica, entendida como el análisis genómico de múltiples organismos a partir de una única muestra, ha transformado el estudio de la biodiversidad microbiana en los ecosistemas al permitir el estudio directo y exhaustivo de grandes cantidades de

material genético de alta calidad presente en muestras ambientales complejas (Thomas, Gilbert y Meyer, 2012), revelando la existencia de una enorme diversidad microbiana previamente desconocida por las limitaciones de técnicas microbiológicas clásicas dependientes de cultivo, incluyendo las poblaciones menos abundantes, las de crecimiento lento o muy exigente, así como su potencial funcional.

Si bien el análisis del gen que codifica para el ARN ribosomal 16S (ARNr 16S) es capaz de proporcionar información relevante respecto a la diversidad y evolución de las comunidades microbianas, no abarca la complejidad de la diversidad microbiana y no revela el papel que los microorganismos cumplen dentro de la población natural (Steele y Streit, 2005). Por su parte, con la implementación de un análisis metagenómico típico, el cual implica el aislamiento del ADN metagenómico de las muestras, seguido de la secuenciación *shotgun* del metagenoma, el análisis de las lecturas y, por último, la determinación de la diversidad de la comunidad microbiana, es posible abarcar bacterias, arqueas y eucariotas, además de revelar la presencia de genes potencialmente activos, ofreciendo una aproximación de las posibles capacidades metabólicas de la comunidad, lo cual es indispensable en estudios ecológicos (Dash y Das, 2018), cuyos objetivos busquen vincular la identidad de diferentes tipos de microorganismos presentes en un hábitat con las posibles funciones que llevan a cabo en dicho entorno (Steele y Streit, 2005).

Oxford Nanopore Technologies (ONT) y Pacific Biosciences (PacBio) son las principales tecnologías de secuenciación de tercera generación que han surgido para superar las limitaciones de Illumina (Liu et al., 2022; Latorre et al., 2020). Estas nuevas tecnologías no cuentan con una longitud máxima, generando lecturas de ADN cortas hasta ultra largas, mejorando considerablemente la contigüidad de los ensamblajes genómicos, permitiendo analizar

microorganismos conocidos, nuevos y/o estrechamente relacionados de una forma más precisa (Oxford Nanopore Technologies, 2023). Específicamente, ONT es una plataforma que se ha destacado por su portabilidad y accesibilidad, comprendiendo secuenciadores como el MinION, que permite realizar experimentos de secuenciación en tiempo real y en cualquier lugar, lo cual ha ampliado sus aplicaciones, incluyendo estudios de campo y caracterización de microbiomas.

A la fecha, ya se han realizado estudios empleando esta tecnología (Reska et al., 2024; Hassan et al., 2022; Chavan et al., 2022). En el contexto del monitoreo de ecosistemas, resaltan los cuerpos de agua de mar, hábitat del cual se conoce muy poco acerca de su biodiversidad. En este caso, el uso de ONT ha permitido identificar miles de organismos hasta el nivel de especie, incluyendo bacteriófagos; además, se han ensamblado genomas con éxito debido a la presencia de contigs de hasta > 1Mpb en un período de tiempo relativamente corto (Liem et al., 2021). Con respecto a otras matrices ambientales, los estudios metagenómicos del suelo permitieron recuperar más de 1400 grupos de genes biosintéticos, relacionados principalmente a terpenos y bacteriocinas, presentes en los filos Acidobacteriota, Verrucomicrobiota, Gemmatimonadota y Actinomycetota en la Antártida, posicionando la secuenciación metagenómica de lectura larga como una herramienta prometedora para evaluar el reservorio genético de microorganismos no cultivables aún sin explorar (Waschulin et al., 2021).

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Describir la diversidad taxonómica de comunidades microbianas presentes en suelos del páramo de Santurbán, Santander y su relación con plantas del género *Espeletia* mediante el uso de herramientas metagenómicas.

2.2 Objetivos Específicos

Estimar la abundancia y diversidad de las comunidades microbianas presentes en suelo total y rizosférico del páramo de Santurbán mediante un abordaje metagenómico.

Describir potenciales asociaciones de las comunidades microbianas con *Espeletia* spp. mediante la comparación de la diversidad y estructura de las comunidades microbianas presentes en suelo total y rizosférico.

3. Metodología

3.1 Tipo de estudio

La investigación se realizó como un estudio descriptivo experimental. Fue una investigación básica sin fines comerciales, centrada en el estudio de la ecología molecular de los microorganismos presentes en los suelos del páramo y aquellos asociados a *Espeletia* spp.

3.2 Área de estudio y colecta de muestras

Se seleccionó como área de estudio el Parque Natural Regional Páramo de Santurbán. La recolección de muestras se realizó bajo la autorización y supervisión de la CDMB en el municipio de Vetas, Santander. Las zonas de estudio específicas fueron el complejo lagunar Cuntas, ubicado entre 3.900 a 4.100 m.s.n.m., correspondiente al subpiso superpáramo y el complejo lagunar Ciénaga y Pajarito – Las Calles, situado entre 3.550 a 3.900 m.s.n.m., correspondiente al subpiso páramo propiamente dicho.

Se realizaron dos salidas de campo para la recolección de las muestras de suelo. La primera visita se llevó a cabo en noviembre de 2022, abarcando el complejo lagunar Cuntas. Posteriormente, en agosto de 2023, se muestreó el complejo lagunar Ciénaga y Pajarito – Las Calles. Las diferentes muestras fueron colectadas mediante recorridos aleatorios en cada una de las zonas de estudio. Durante cada una de las salidas de campo se recolectaron muestras compuestas de suelo (Superficie, 15 cm y 30 cm de profundidad) en tres coordenadas diferentes. En cada una de estas coordenadas se tomaron dos muestras de suelo, una proveniente del suelo que rodea a las raíces de la planta (rizósfera de *Espeletia*) y la otra correspondiente al suelo más

allá de la proximidad inmediata de estas raíces, que no está en contacto con *Espeletia* pero que se encuentra en las mismas coordenadas que la muestra de rizósfera (Suelo total). Es importante resaltar que las muestras de rizósfera estaban asociadas a las especies nativas *Espeletia conglomerata* y *Espeletia santanderensis* en estado sano, sin muestras aparentes de clorosis o deformación foliar, cuyas poblaciones son predominantes en las zonas de estudio seleccionadas. En total, se analizaron seis muestras de rizósfera y seis muestras de suelo total, para un total de 12, tal como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1

Ubicación geográfica y tipo de suelo de los puntos de muestreo en el páramo de Santurbán, Santander.

Locación	Altitud (m.s.n.m.)	Coordenadas	Tipo de suelo
Complejo lagunar Cuntas	4.048	N 07° 16.660'	Rizósfera
		W 072° 52.233	Total
	3.990	N 07° 16.778'	Rizósfera
		W 072° 52.312	Total
Complejo lagunar Ciénaga – Pajarito Las Calles	3.978	N 07° 16.824'	Rizósfera
		W 072° 52.428	Total
	3.652	N 07° 20.062'	Rizósfera
		W 072° 50.685'	Total
3.594	N 07° 19.824'	Rizósfera	
	W 072° 50.891'	Total	
3.568	N 07° 19.844'	Rizósfera	
	W 072° 51.048'	Total	

En cada punto de muestreo se recolectaron los datos correspondientes a la altitud, especie de frailejón y coordenadas. Las muestras de suelo fueron transportadas bajo condiciones de refrigeración al laboratorio del Grupo de Investigación en Bioquímica y Microbiología (GIBIM) de la Universidad Industrial de Santander (UIS) para su posterior procesamiento.

3.3 Determinación de las propiedades fisicoquímicas del suelo

Cada muestra de suelo recolectada fue remitida al Laboratorio Químico de Consultas Industriales UIS para la determinación de los parámetros físicos y químicos de textura, pH, carbono orgánico total (COT), nitrógeno total (NT) y fósforo total (FT). El pH se determinó mediante el procedimiento operativo estándar de la FAO (FAO, 2021). La textura del suelo se determinó mediante el método de pipeta Bouyoucos adaptado (Mwendwa, 2022). El COT se determinó mediante el método de oxidación húmeda del ácido crómico, utilizando una solución de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) en ácido sulfúrico concentrado (Walkley y Black, 1934). El NT se determinó por el método de Kjeldal, luego de la mineralización de muestras a 400 °C con ácido sulfúrico y sulfato cúprico (Ostrowska et al., 1991). El FT se determinó espectrofotométricamente por el método del molibdovanadato, según lo describe la norma técnica colombiana NTC 234:1996. Los resultados se analizaron mediante correlación de Pearson realizada en R 4.4.1 (R Core Team, 2024).

3.4 Extracción de ADN metagenómico total a partir de muestras de suelo

Se realizaron extracciones de ADN metagenómico a partir de 250 mg de cada muestra compuesta de suelo utilizando el kit comercial DNeasy PowerSoil Pro Kit (QIAGEN), siguiendo

los procedimientos descritos por el fabricante. Este método tiene como ventaja la capacidad de extraer una alta cantidad de ADN libre de sustancias inhibidoras partiendo de muestras complejas. La cantidad, pureza y calidad del ADN obtenido fue verificada utilizando un nanofotómetro IMPLEN NP-80 (IMPLEN) mediante la medición de la absorbancia a 230, 260 y 280 nm, considerándose de adecuada calidad aquellas muestras que presentaron relaciones de absorbancia $260/280 \geq 1.8$ y absorbancia $260/230 \geq 1.8$. La integridad del ADN fue evaluada mediante electroforesis en geles de agarosa al 1% coloreados con SYBR®Safe (Life Technologies). Las muestras de ADN obtenidas fueron almacenadas a -20°C hasta su posterior uso en la secuenciación de metagenomas.

3.5 Secuenciación de ADN metagenómico

La secuenciación de los metagenomas se realizó directamente a partir del ADN extraído de las muestras compuestas de suelo. Las librerías de ADN fueron preparadas mediante el Rapid Sequencing DNA V14 - Barcoding Kit SQK-RBK114.24 (Oxford Nanopore), que permitió generar librerías separadas por códigos de barras para cada una de las muestras, sin el uso de PCR. La secuenciación monitorizada en tiempo real se llevó a cabo mediante la metodología *shotgun sequencing*, utilizando un minisequenciador MinION Mk1B equipado con una celda de flujo FLO-MIN114 (R.10.4.1), para cada una de las 12 muestras.

3.6 Asignaciones taxonómicas y análisis de datos

El análisis de datos se realizó con el software MinKNOW de la compañía Oxford Nanopore Technologies, iniciando con el llamador de bases en tiempo real Dorado que permitió remover

secuencias adaptadoras y aquellas con longitud y calidad inferior a 200 bp y $Q < 8$, respectivamente. Se generaron lecturas en archivos FASTQ, las cuales fueron demultiplexadas para los análisis posteriores. Las asignaciones taxonómicas se realizaron con SqueezeMeta 1.6.3 y el script `sqm_longreads.pl` (Tamames y Puente, 2019), el cual permite llevar a cabo las anotaciones a partir de lecturas de secuencia largas. Se utilizó DIAMOND como alineador, comparando contra la base de datos no redundante del GenBank (GenBank nr), considerando un porcentaje mínimo de identidad del 70%. Los resultados de los análisis taxonómicos fueron visualizados y analizados con R4.4.1 y RStudio 2024.09.0+375 (R Core Team, 2024). Las estimaciones de biodiversidad alfa para cada metagenoma y la distribución de los taxones se calcularon mediante los índices de Shannon y Simpson (Específicamente, Gini – Simpson) en el programa MicrobiomeAnalyst 2.0 (Lu et al., 2023). Para estimar la diversidad beta se utilizó un Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) basado en disimilitud de Bray-Curtis, también calculados con MicrobiomeAnalyst 2.0 (Lu et al., 2023). En cuanto a las posibles asociaciones de las comunidades microbianas y *Espeletia*, se establecieron redes de Co Ocurrencia en MEGAN6 Community Edition (Huson et al., 2016) basado en el índice de Jaccard. Para conocer el microbioma central se empleó el programa MicrobiomeAnalyst 2.0.

3.7 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos metagenómicos se llevó a cabo mediante Análisis de Varianza (ANOVA), los test post hoc de Tukey Kramer y Welch y como prueba de comparación múltiple, el test de Bonferroni. Estos análisis se llevaron a cabo con los programas STAMP v2.1.3 y MEGAN6 (Huson et al., 2016; Parks y Beiko, 2010).

4. Resultados y Discusión

4.1 Propiedades fisicoquímicas del suelo

Los análisis fisicoquímicos realizados a las 12 muestras de suelo revelaron que todas presentaban textura franco-arenosa, es decir, correspondían a suelos de textura gruesa, sugiriendo buen drenaje y aireación, propiedades reportadas en suelos de páramo (Vélez et al., 2023) al favorecer la infiltración del agua y la actividad biológica debido a la capacidad bacteriana de adherirse en la superficie de las paredes de los poros, sumado a la capacidad fúngica para crecer a través de la red porosa mediante procesos de elongación y ramificación de hifas (Jaskulska et al., 2020; Seaton et al., 2020).

Con respecto al pH, todas las muestras presentaron valores ácidos, oscilando entre 4.71 y 6.96, característico de los suelos de páramo debido a la alta cantidad de materia orgánica y la lixiviación de bases intercambiables, proceso común en suelos con alta precipitación y baja capacidad de retención de nutrientes (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2002; Ruíz et al., 2008). El pH del suelo influye directamente en los procesos biológicos que en él se llevan a cabo, incluyendo las comunidades microbianas y la translocación de nutrientes hacia las plantas (Neina, 2019). En general, en suelos ácidos los oligoelementos tienden a estar más solubles y disponibles debido a que se desprenden fácilmente de las superficies de las partículas que conforman el suelo (desorción) y hay menor fijación (adsorción) (Neina, 2019). Dentro de las muestras evaluadas se evidenció que en cuatro puntos de muestreo analizados (3.990 m.s.n.m., 3.978 m.s.n.m., 3.594 m.s.n.m. y 3.568 m.s.n.m.) se presentó un mayor valor de pH para el suelo rizosférico que en el suelo total, posiblemente asociado a la absorción de amonio y nitrato,

conllevando a una liberación de iones bicarbonato o hidroxilo para mantener la electroneutralidad de la rizósfera, en concordancia con lo reportado por Neina (2019).

Tabla 2

Propiedades fisicoquímicas de las muestras de suelo evaluadas.

Locación	Altitud (m.s.n.m.)	Tipo de suelo	Especie frailejón	pH	Textura	COT (%)	NT (%)	FT (%)
Complejo lagunar Cuntas	4.048	Rizósfera	<i>Espeletia conglomerata</i>	5,64	Franco- arenoso	15,023	0,575	0,817
	4.048	Total	-	6,00	Franco- arenoso	7,124	0,231	0,430
	3,990	Rizósfera	<i>Espeletia conglomerata</i>	5,65	Franco- arenoso	10,667	0,448	0,517
	3,990	Total	-	4,71	Franco- arenoso	16,677	0,506	0,647
	3,978	Rizósfera	<i>Espeletia conglomerata</i>	6,96	Franco- arenoso	11,484	0,563	0,178
	3,978	Total	-	4,90	Franco- arenoso	11,701	0,412	0,516
	3,652	Rizósfera	<i>Espeletia conglomerata</i>	5,75	Franco- arenoso	8,640	0,312	0,882
	3,652	Total	-	5,91	Franco- arenoso	7,784	0,286	0,843
	3,594	Rizósfera	<i>Espeletia santanderensis</i>	6,94	Franco- arenoso	6,782	0,338	0,640
	3,594	Total	-	6,79	Franco- arenoso	10,981	0,418	0,895
Las Calles	3,568	Rizósfera	<i>Espeletia santanderensis</i>	6,85	Franco- arenoso	14,940	0,427	0,404
	3,568	Total	-	6,20	Franco- arenoso	19,901	0,782	0,364

El contenido de Carbono Orgánico Total (COT) varió entre las muestras de la rizosfera y las muestras de suelo total, lo cual sugiere diferencias en la actividad biológica y en la acumulación de materia orgánica. En contraste a los valores obtenidos de pH, en las muestras de suelo rizosférico de las ubicaciones 3.990 m.s.n.m., 3.978 m.s.n.m., 3.594 m.s.n.m. y 3.568 m.s.n.m. se encontró un COT ligeramente más bajo en comparación con las muestras de suelo total, posiblemente debido a la mayor descomposición y uso del carbono por las raíces y microorganismos (Daunoras, Audrius y Renata, 2024). Por su parte, el contenido de Nitrógeno Total (NT) y Fósforo Total (FT) presentó valores que oscilaron entre 0.286% y 0.782% y 0.178% y 0.895%, respectivamente.

Aunque no se logró establecer una relación clara entre la concentración de estos nutrientes y un tipo específico de suelo, se observó una correlación positiva entre el COT y el NT, mientras que el COT y FT señalaron una correlación negativa (Apéndice A), sugiriendo que la materia orgánica es la principal fuente de nitrógeno en estos suelos. Los valores más altos de COT y NT se encontraron en muestras de suelo total, lo que puede reflejar una mayor acumulación de materia orgánica no descompuesta (Wang, Li y Li, 2023). Finalmente, el fósforo en los suelos de páramo está influenciado tanto por la materia orgánica como por los minerales del suelo; por tanto, los valores de FT, en algunos casos, podrían estar relacionados con la mineralización de la materia orgánica o con la presencia de minerales ricos en fósforo (Delgado, Roldán & Ramírez, 2009). Es conocido que el carbono y el nitrógeno del suelo provienen principalmente de la descomposición de la hojarasca y otros residuos vegetales, lo que genera una relación estrecha y bien definida entre el carbono orgánico del suelo y el nitrógeno total. Sin embargo, el fósforo tiene su origen en la meteorización de minerales del lecho rocoso, lo que explica la baja correlación con los demás

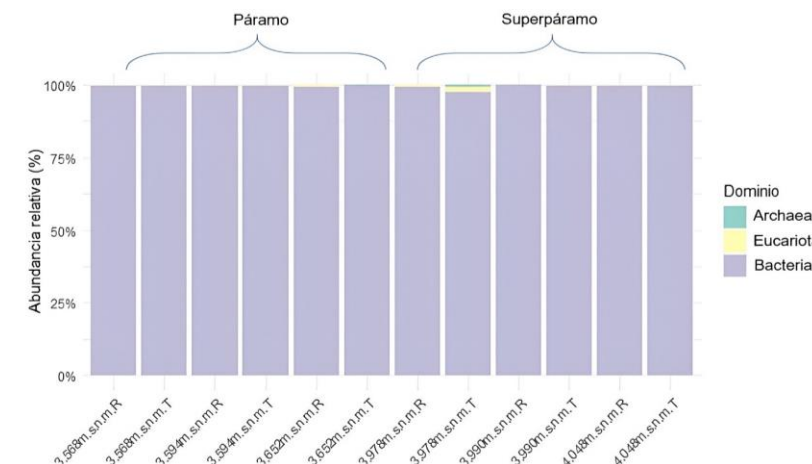
nutrientes, ya que la disponibilidad de fósforo depende más de factores geológicos que de procesos biológicos (Tong et al., 2023). Finalmente, no se encontró relación entre la variación del COT, NT y FT y la altitud en las muestras de suelo evaluadas, tal como se ha reportado en algunos estudios (Wu y Yu, 2023).

4.2 Estructura y diversidad de las comunidades microbianas en suelos del Páramo de Santurbán

A partir de la secuenciación de las 12 muestras de suelo se obtuvo un total de 2.726.290 lecturas crudas, de las cuales se conservaron 2.158.450 después del control de calidad inicial ($Q > 8$). Estas lecturas permitieron generar curvas de rarefacción para estimar el porcentaje de cobertura obtenido por muestra (Apéndice B), así como realizar las anotaciones taxonómicas y llevar a cabo sus respectivos análisis.

Figura 1

Abundancia relativa de las comunidades microbianas presentes en las muestras de suelo evaluadas a nivel taxonómico de dominio.



Nota. R: Suelo rizosférico. T: Suelo total.

El estudio de la composición de las comunidades microbianas permitió identificar microorganismos pertenecientes al dominio Bacteria principalmente, seguido de Eukaryota y en menor abundancia Archaea, para las muestras de suelo evaluadas (Figura 1).

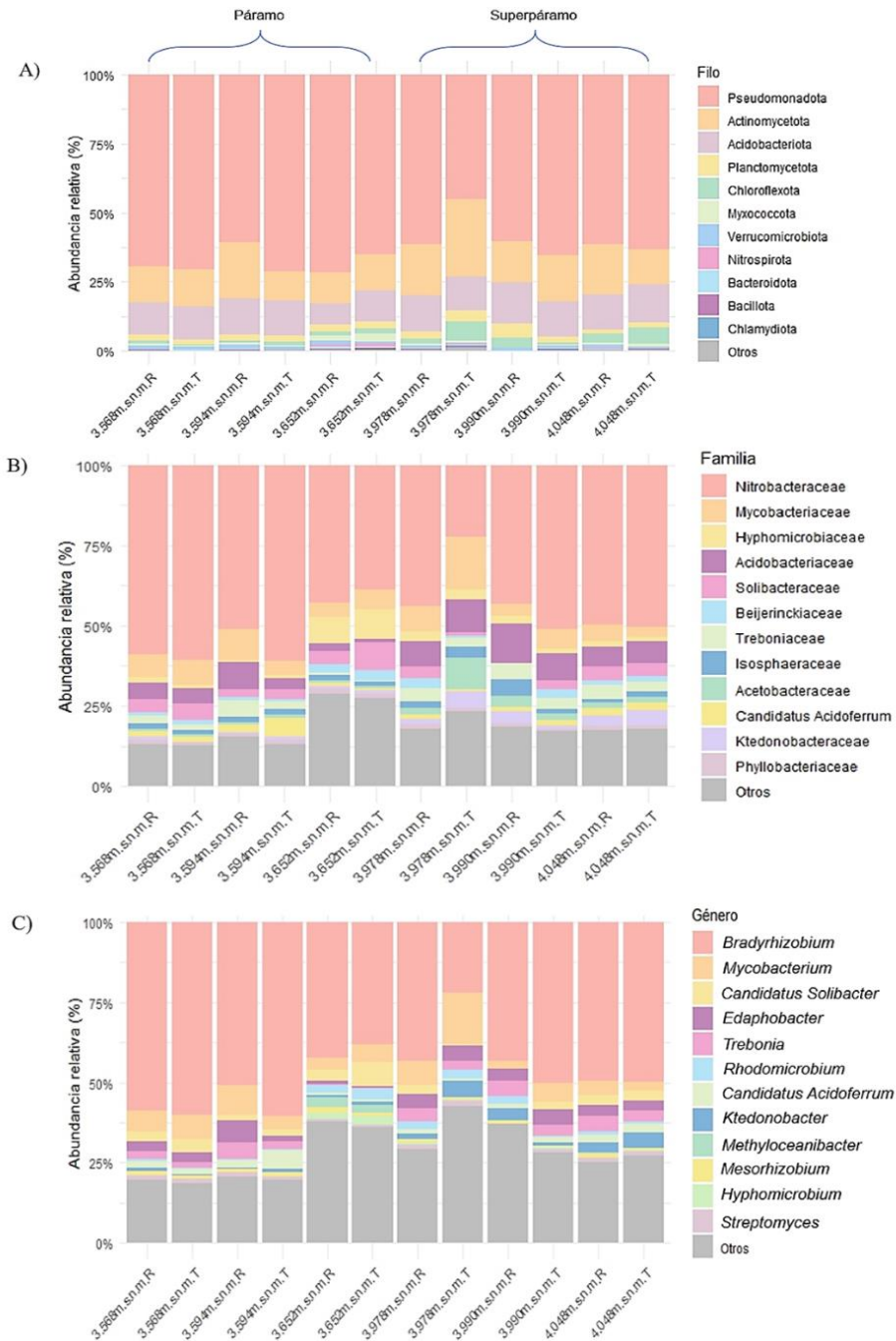
4.2.1 Estructura y diversidad de las comunidades microbianas procariotas en suelos del Páramo de Santurbán

4.2.1.1 Estructura y diversidad de las comunidades microbianas bacterianas en suelos del Páramo de Santurbán. El estudio de la composición de las comunidades microbianas permitió identificar microorganismos pertenecientes al dominio Bacteria principalmente, con abundancias relativas superiores al 98% en todas las muestras analizadas, lo cual corresponde con lo reportado en otros suelos de páramo en el territorio nacional (Lizarazo y Gómez, 2015). Dentro de las bacterias fue posible identificar diversos filos, principalmente Pseudomonadota, seguido de Actinomycetota, Acidobacteriota, Planctomycetota, Chloroflexota y Verrucomicrobiota, respectivamente (Figura 2A). Estos filos son los mismos que han sido dominantes en otros estudios de diversidad taxonómica de bacterias en suelos de páramo y forestales, entre otros (Vélez et al., 2023; Fierer et al., 2007).

Destaca la dominancia de Pseudomonadota, con abundancias relativas superiores al 40% en todas las muestras, especialmente en suelos rizosféricos aunque sin diferencias significativas entre las diferentes muestras (Apéndice B). Este filo de bacterias Gram negativas es reconocido por abarcar microorganismos metabólicamente diversos, lo cual les permite participar en procesos ecosistémicos importantes, tales como el ciclado de nutrientes (Ortúzar et al., 2024).

Figura 2

Abundancia relativa de las comunidades bacterianas presentes en las muestras de suelo evaluadas a nivel taxonómico de A) filo, B) familia, C) género.



Nota. R: Suelo rizosférico. T: Suelo total.

Dentro del filo Pseudomonadota se destacó la familia Nitrobacteraceae (Figura 2B), con el género *Bradyrhizobium* dominante en casi todas las muestras, con abundancias relativas entre 18% y 60% (Figura 2C), mayoritariamente en suelos rizosféricos (Figura 3). A pesar de que la abundancia relativa de la familia Nitrobacteraceae y del género *Bradyrhizobium* no presentaron diferencias significativas entre las diferentes muestras, *Bradyrhizobium* es un género de bacterias abundante e indispensable en suelos rizosféricos, ya reportado en la rizósfera de *Espeletia* spp. en el páramo de Santa Inés (Arenas, Alzate y Lizarazo, 2015) posiblemente relacionado a su capacidad de fijación de nitrógeno en simbiosis con plantas. Estas bacterias convierten el nitrógeno atmosférico en formas utilizables por las plantas, contribuyendo a su nutrición y el mantenimiento de la fertilidad del suelo en ecosistemas fríos y oligotróficos, tales como los páramos (Soratur et al., 2024).

Dentro de este filo, se han identificado otras familias tales como Hyphomicrobiaceae y Phyllobacteriaceae, con abundancias relativas entre 1% a 8% y del 1%, respectivamente (Figura 2B). A pesar de que Hyphomicrobiaceae cuenta con especies adaptadas a condiciones ambientales extremas, tales como las de ambientes paramunos (Payeur, 2014), no se encontró asociación alguna frente a los dos tipos de suelo evaluados, mientras que Phyllobacteriaceae se encontró significativamente más abundante en suelos rizosféricos ($p < 0.05$) (Apéndice C). El género *Mesorhizobium*, perteneciente a Phyllobacteriaceae, se asoció significativamente a suelos rizosféricos ($p = 0.026$) a pesar de tener abundancias inferiores al 1% (Figura 3). Este género es un reconocido promotor del crecimiento en las plantas (PGPB, por sus siglas en inglés), el cual participa en el metabolismo del nitrógeno a bajas temperaturas mediante enzimas, tales como nitrato reductasas responsables de la conversión del paso inicial en la vía de reducción de nitrato,

así como la presencia de una enzima de fijación de nitrógeno (Nif) que podría participar en la nodulación y en la conversión del nitrógeno atmosférico en amoníaco en condiciones de bajas temperaturas gracias a la producción de exopolisacáridos que actúan como crioprotectores (Khanal et al., 2024; Baba et al., 2021).

Con respecto al filo Actinomycetota, se identificaron abundancias entre el 11% y 28%, mayoritariamente en suelos rizosféricos, el cual corresponde a un filo de bacterias filamentosas Gram positivas, con alto contenido de guanina más citosina (G+C) en su genoma, caracterizado por un amplio metabolismo secundario que les permite producir más de la mitad de todos los antibióticos de origen natural (Barka et al., 2015). Dentro de este filo, se identificaron las familias Mycobacteriaceae y Treboniaceae como las más abundantes, con abundancias del 2% al 16% y del 1% al 5%, respectivamente, siendo los géneros más abundantes *Mycobacterium* y *Trebonia* (Figura 2B y Figura 2C). Las abundancias más altas de *Mycobacterium* fueron halladas en suelo total, donde este género de bacterias, conocido por su capacidad para sobrevivir en ambientes extremos, posiblemente contribuyan a la descomposición de compuestos orgánicos complejos característicos en suelos de páramo (Payeur, 2014). Por su parte, *Trebonia* se asoció principalmente a suelo rizosférico, siendo un actinomiceto poco estudiado pero que se ha reportado como acidófilo y posiblemente desempeña funciones relacionadas con el metabolismo de compuestos específicos en ambientes de baja temperatura y nutrientes limitados, características típicas de los suelos de páramo (Rapoport et al., 2020), por lo cual sería interesante estudiar sus potenciales roles en este ecosistema a profundidad.

El tercer filo más abundante en los suelos de páramo analizados fue Acidobacteriota, con abundancias relativas entre el 6% y 12% (Figura 2A), principalmente en suelo total (Apéndice B).

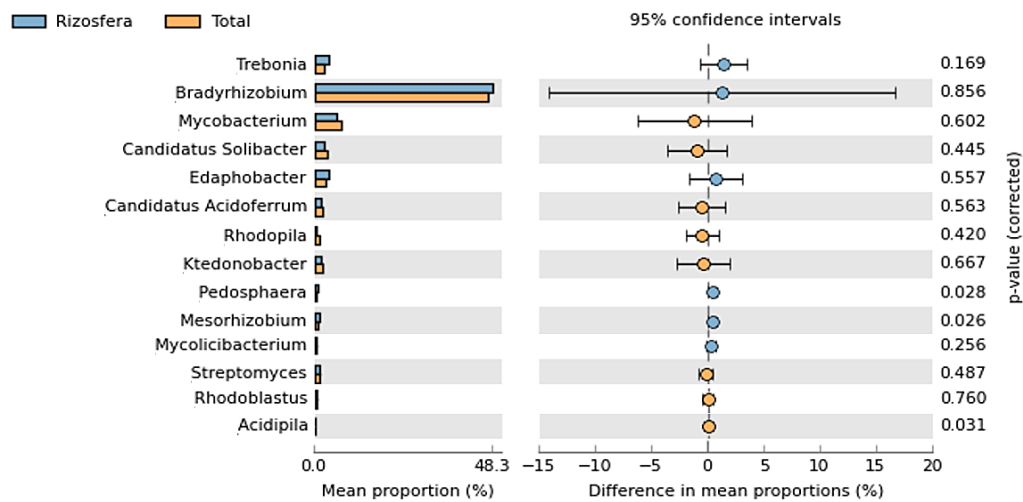
Este grupo comprende bacterias Gram negativas que participan activamente en la descomposición de materia orgánica y en ciclos biogeoquímicos; adicionalmente, pueden adaptarse a diversas condiciones ambientales, incluyendo los suelos de páramo caracterizados por condiciones climáticas extremas y alta acidez (Reyes et al., 2024). Las familias identificadas con mayores abundancias fueron Acidobacteraceae y Solibacteraceae, cuyos géneros dominantes correspondieron a *Edaphobacter* y *Candidatus Solibacter*, respectivamente (Figura 2C). *Edaphobacter* es un género de bacterias acidófilas, el cual se identificó principalmente en suelo rizosférico (Figura 3), asociado con la mineralización de compuestos orgánicos, siendo esta actividad crucial para el mantenimiento de la salud del suelo, facilitando la disponibilidad de nutrientes para las plantas como el frailejón en los ecosistemas de páramo (Kalam et al., 2020). *Candidatus Solibacter* es otro género común en suelos ácidos, reportado en estudios de suelos de páramo del Parque Nacional Natural Los Nevados y en el Distrito de Manejo Integrado Regional Las Domínguez del Valle del Cauca (Vélez et al., 2023; Ruíz et al., 2016). A pesar de no presentar diferencias estadísticamente significativas, sus mayores abundancias fueron detectadas en suelo total, probablemente debido a su versatilidad metabólica que incluye capacidad de reducir nitrato a nitrito, así como genes involucrados en la descomposición de materia orgánica compleja, tales como el almidón, la hemicelulosa y pectina, característico de suelo paramuno, contribuyendo a la estabilidad y fertilidad del suelo en el páramo (Kalam et al., 2020).

Finalmente, destaca el filo Verrucomicrobiota. A pesar de contar con abundancias inferiores al 1% (Figura 2A), junto a su familia Verrucomicrobiaceae y el género *Pedosphaera*, se lograron asociar significativamente con suelos rizosféricos de *Espeletia* ($p = 0.028$) en el páramo de Santurbán (Figura 3). A la fecha no existe reporte de este género bacteriano asociado a la raíz

del frailejón, sin embargo, si se ha asociado a la rizósfera del trigo, uno de los cultivos alimentarios más importantes a nivel mundial (Woliska et al., 2020). A pesar de la poca información disponible de este género, el filo Verrucomicrobiota ha sido reconocido por su importante papel en el metabolismo de compuestos de alto peso molecular, así como la presencia de genes de fucosidasa y sulfatasa, sugiriendo que estas enzimas podrían ser fundamentales en la descomposición de polisacáridos complejos, característicos de suelo de páramo (Fu et al., 2025).

Figura 3

Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades bacterianas presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de género.



Con respecto a los índices de diversidad para las comunidades bacterianas, el índice de Shannon obtuvo valores mayores a 2, mientras que el índice de Simpson fue superior a 0.6 en todas las muestras de suelo analizadas (Figura 4), lo cual refleja la presencia de comunidades bacterianas diversas en los suelos del páramo de Santurbán, incluso bajo las condiciones medioambientales adversas de estos ecosistemas (Vélez et al., 2023; Fierer et al., 2012). Los índices más altos se

encontraron en las ubicaciones de 3.652 y 3.978 m.s.n.m., especialmente en el suelo total. Esto sugiere que, además de géneros muy abundantes como *Bradyrhizobium* y *Mycobacterium*, existe una gran diversidad de otros géneros menos abundantes que también contribuyen al equilibrio del ecosistema. Una comunidad bacteriana diversa ofrece múltiples ventajas ecológicas, tales como una mayor estabilidad frente a cambios ambientales, una mejor eficiencia en el reciclaje de nutrientes y una mayor resiliencia ante perturbaciones, en comparación con aquellas comunidades dominadas por un número reducido de géneros (Hooper et al., 2005).

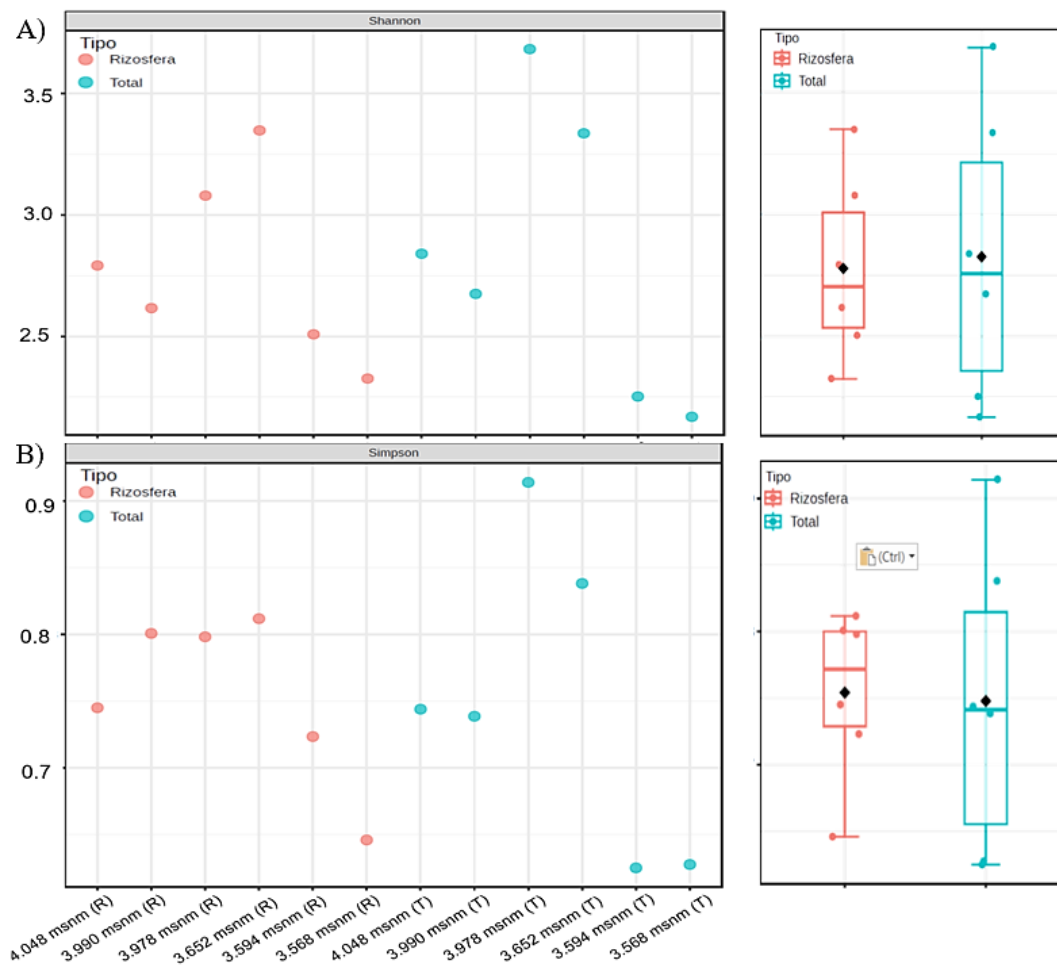
En las demás ubicaciones (3.568m.s.n.m., 3.594m.s.n.m., 3.990m.s.n.m. y 4.048m.s.n.m) los índices fueron ligeramente más bajos, es decir, las comunidades bacterianas fueron menos diversas, con *Bradyrhizobium* dominando en varios de estos suelos, alcanzando incluso abundancias relativas hasta del 60%. Este comportamiento podría estar relacionado con las características fisiológicas tan variadas propias de este género, favoreciendo su crecimiento en un amplio rango de condiciones ambientales y/o edáficas, mientras que en suelos que presentan propiedades fisicoquímicas diferentes, tales como pH más bajo, temperaturas más bajas, mayor grado de radiación UV, contenido de humedad y de otros nutrientes no determinados en este estudio, podrían favorecer el desarrollo de géneros bacterianos con requerimientos ambientales específicos, tal como *Rhodomicrobium*, sensible a la concentración de potasio en el suelo (Gao et al., 2021).

En general, el suelo total presentó una mayor dispersión de los datos, lo que sugiere una mayor variabilidad de las condiciones ambientales, explicada posiblemente por la cobertura vegetal general del ecosistema, mediando otros procesos gracias a sus exudados radiculares a pesar de la ausencia de una influencia directa de las raíces de *Espeletia*, facilitando el establecimiento

de comunidades bacterianas diferentes. (Bardgett y Van der Putten, 2014). En contraste, la rizósfera del frailejón podría tender a seleccionar comunidades con abundancias determinadas por los exudados radiculares que los favorezcan (Cárdenas, et al., 2018). indicando que estas ubicaciones presentan ciertas condiciones favorables, como mayor disponibilidad de algunos nutrientes, que permiten una mayor diversidad bacteriana (Fierer et al., 2012).

Figura 4

Índices de diversidad alfa A) Shannon y B) Simpson para las comunidades bacterianas de los suelos del páramo de Santurbán.



4.2.1.2 Estructura y diversidad de las comunidades microbianas arqueales en suelos del Páramo de Santurbán. Se detectó el dominio Archaea con abundancias menores al 1% en ocho de los doce suelos, excluyendo las muestras de suelo rizosférico y total de las ubicaciones 3.990m.s.n.m. y 3.568 m.s.n.m (Figura 1). Aunque los microorganismos de este dominio son abundantes en ambientes cercanos a los límites de la tolerancia biológica, no son el grupo más abundante y diverso en entornos de páramo (Ruíz et al., 2016). La evidencia reporta las arqueas como componentes indispensables para los ecosistemas terrestres, principalmente asociados a la raíz de las plantas, participando en la reducción de azufre, oxidación del amoníaco, producción de ácido indol acético, solubilización de fósforo y producción de sideróforos (Jung et al., 2020; Lima et al., 2019).

En este estudio fue posible detectar cuatro filos, siendo Nitrososphaerota el único presente en todas las muestras, con abundancias relativas que variaron entre el 6% y 100% (Figura 5), mayoritariamente en suelos rizosféricos aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa (Apéndice D). Dentro de Nitrososphaerota se detectó la familia Nitrososphaeraceae principalmente en suelo rizosférico, con abundancias relativas entre el 10% y 100%, siendo *Nitrososphaera* y *Candidatus Nitrosocosmicus* los géneros identificados. En la rizósfera de *Espeletia hartwegiana* se han reportado arqueas del filo Crenarchaeota, arqueas nitrificantes reconocidas por su capacidad para oxidar amonio a nitrito en varios ambientes (Lehtovirta-Morley et al., 2016; Zhalnina et al., 2013), promoviendo la elongación radicular y la adquisición de nutrientes, fortaleciendo la planta y haciéndola más resiliente ante condiciones adversas. Adicionalmente, las familias Nitrosopumilaceae y *Candidatus Nitrosotalea* reportaron sus mayores abundancias en suelo total (Apéndice E), identificando los géneros *Nitrosopumilus*,

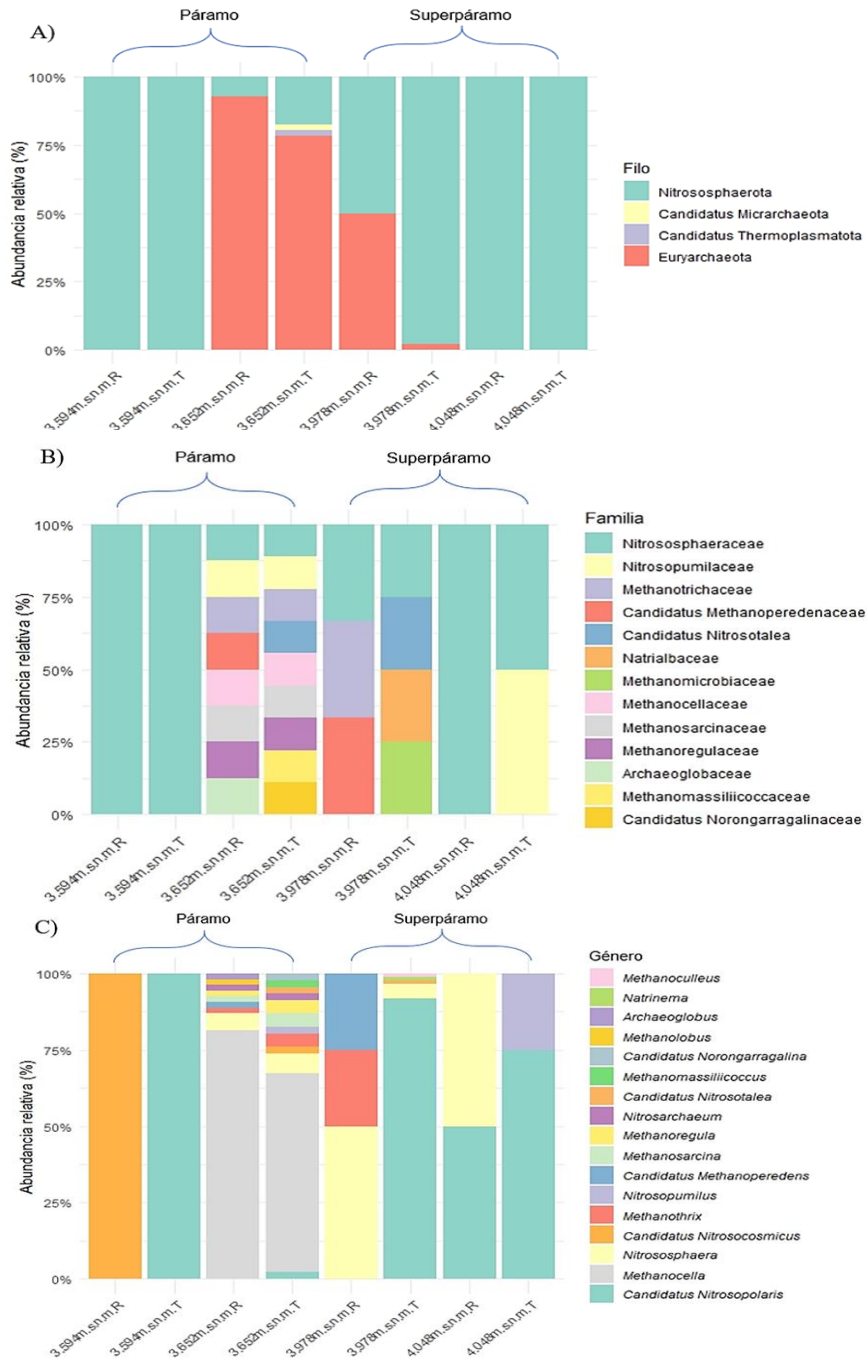
Nitrosarchaeum y *Candidatus Nitrosotalea*. Aunque ninguno ha sido reportado en suelos de páramo, estas arqueas también están especializadas en la oxidación del amonio en ecosistemas terrestres y acuáticos, resaltando *Candidatus Nitrosotalea* al ser un procariota acidófilo (Herbold et al., 2017), tal como los suelos del páramo de Santurbán.

Otro filo detectado fue Euryarchaeota (Methanobacteriota), con abundancias relativas entre 2% y 87%, mayoritariamente en suelos rizosféricos (Apéndice D). Este filo abarca organismos metanógenos, halófilos y oxidantes de amonio (Pesaro y Widmer, 2002). Se identificaron familias como Methanotrichaceae, Methanocellaceae y Methanoregulaceae, entre otras (Figura 5B), a partir de las cuales se detectaron los géneros *Methanocella* con abundancias relativas entre 60% y 80%, *Methanothrix* con abundancias relativas entre 2% y 12%, *Candidatus Methanoperedens* y *Methanoregula*, asociados tanto a suelos rizosféricos como suelos totales sin diferencias estadísticamente significativas (Figura 6), partícipes en diferentes procesos metanogénicos del suelo.

En general, en los suelos de páramo la metanogénesis es un proceso clave llevado a cabo por arqueas metanógenas en condiciones anóxicas, donde la materia orgánica rica en carbono se descompone parcialmente debido a la alta humedad y baja disponibilidad de oxígeno. Estos microorganismos utilizan compuestos como dióxido de carbono, hidrógeno y acetato para producir metano, especialmente en suelos saturados de agua (Prasitwuttisak et al., 2022). Aunque la baja temperatura limita su actividad, arqueas metanógenas psicrófilas pueden desarrollarse en estos ecosistemas de alta montaña, contribuyendo al ciclo global del carbono, liberando metano que puede ser consumido parcialmente por bacterias metanotróficas en capas superiores del suelo, reduciendo su impacto ambiental (McKeown et al., 2009; Lü y Lu, 2012; Zhou et al., 2023).

Figura 5

Abundancia relativa de las comunidades arqueales presentes en las muestras de suelo evaluadas a nivel taxonómico de A) filo, B) familia, C) género.

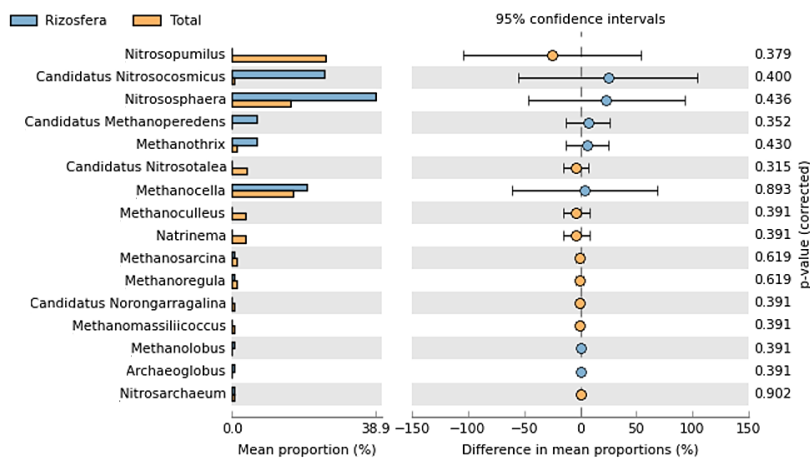


Nota. R: Suelo rizosférico. T: Suelo total.

Es importante mencionar que algunas especies de la familia Candidatus Methanoperedenaceae corresponden a arqueas anaerobias capaces de oxidar metano en presencia de nitratos o sulfatos, sugiriendo que esta familia podría estar contribuyendo a la autorregulación de la emisión de metano en ecosistemas de alta montaña (Haroon et al., 2013).

Figura 6

Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades arqueales presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de género.



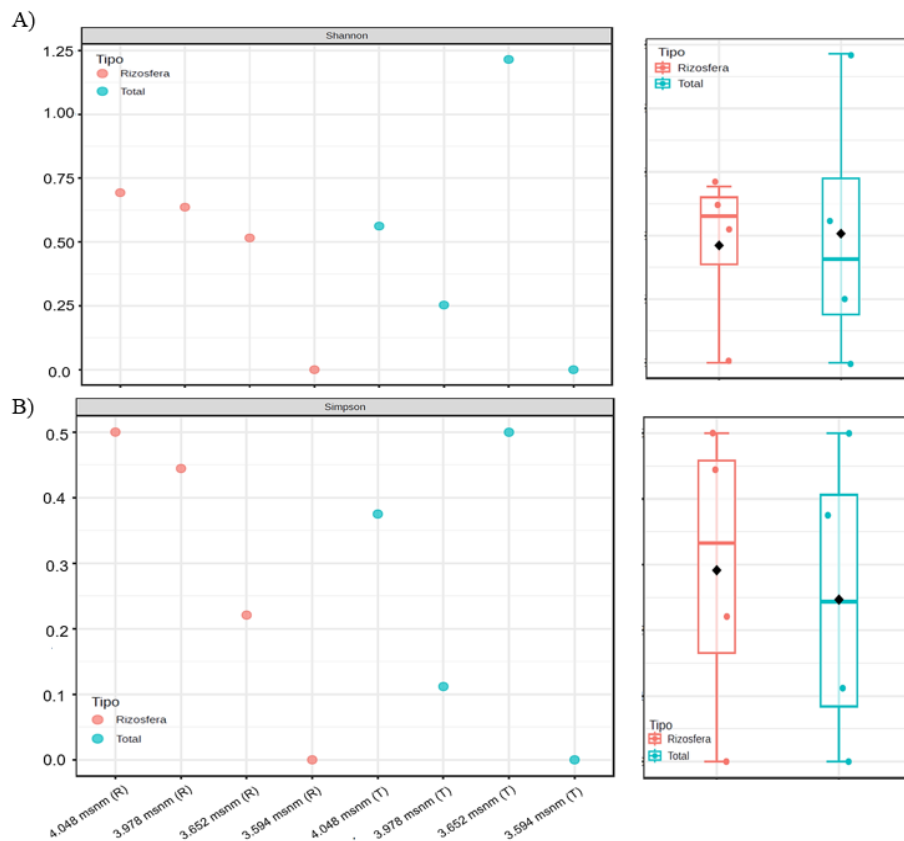
Finalmente, Candidatus Micrarchaeota y Candidatus Thermoplasmatota fueron los filos detectados menos abundantes (Aproximadamente del 2%), presentes exclusivamente en una única muestra (3.652 m.s.n.m. T). Candidatus Micrarchaeota se ha adaptado a una amplia gama de condiciones ambientales, desde suelos ácidos y turberas hasta sistemas de agua dulce y esteras hipersalinas (Golyshina et al., 2019), tal como pueden ser los suelos del páramo. Géneros de este filo, tal como *Candidatus* Norongarragalina ha sido reportado en muestras con presencia de compuestos radioactivos (Vázquez et al., 2021). Por otro lado, Candidatus Thermoplasmatota ha sido identificado principalmente en aguas marinas superficiales, aunque algunos clados se han

adaptado a vivir en aguas profundas y oscuras como heterótrofos. A pesar de su importancia ecológica, estos organismos aún son relativamente poco estudiados y ofrecen un gran potencial para futuras investigaciones (Zheng et al., 2022).

Con respecto a la diversidad alfa de las comunidades arqueales, los índices de Shannon y Simpson revelaron una menor diversidad en comparación con las comunidades bacterianas en todas las muestras de suelo (Figura 7), con valores que variaron entre 0 a 2 y 0 a 0.5, respectivamente.

Figura 7

Índices de diversidad alfa A) Shannon y B) Simpson para las comunidades arqueales de los suelos del páramo de Santurbán.



A pesar de su baja abundancia y poca riqueza de especies, probablemente su presencia se asocia a la naturaleza misma de los suelos de páramo, es decir, moderadamente ácidos, con alto contenido de sal y algunos nutrientes (Woese, Kandler y Wheelis, 1990). Resalta el hecho que tanto en la muestra de suelo rizosférico como la de suelo total de la ubicación 3.594 m.s.n.m., el valor de ambos índices fue 0, debido a la presencia de un único género arqueal, específicamente *Candidatus Nitrosocosmicus* y *Candidatus Nitrosopolaris*, grupos microbianos nitrificantes y oxidadores de amonio en suelos ácidos (Lehtovirta-Morley et al., 2016; Pessi, Rutanen y Hultman, 2022). Los valores estimados para ambos índices demuestran una dominancia moderada a alta, lo cual es consistente con la limitada diversidad característica de las arqueas en suelos, donde factores como la disponibilidad de nutrientes, las condiciones abióticas restrictivas, tales como bajas temperaturas o pH moderadamente ácidos, seleccionan taxones dominantes adaptados a condiciones específicas (Oliart, Manresa y Sánchez, 2016).

La muestra de suelo 3.652m.s.n.m T obtuvo el valor más alto para el índice de Shannon dentro de las comunidades de arqueas (Aproximadamente 1.20). Esta muestra, junto con 3.652m.s.n.m R, corresponden a una ubicación con bajo COT% y NT% (Tabla 2), lo cual se asocia a la presencia misma de arqueas metanogénicas que tienden a reducir el contenido de carbono orgánico disponible en el suelo al mineralizarlo (Lyu et al., 2018). También es el caso de los géneros que oxidan amonio, teniendo en cuenta que el método Kjeldahl permite detectar este compuesto, pero no nitritos y nitratos, explicando así los valores bajos en esta determinación (Ostrowska et al., 1991).

Finalmente, a pesar de no encontrar diferencias según la asociación del suelo o no a la rizósfera de *Espeletia*, este estudio corresponde a la primera descripción de las comunidades

microbianas arqueales en el páramo de Santurbán, destacando la importancia de estos microorganismos en la dinámica del ecosistema. La información obtenida no solo amplía el conocimiento sobre la diversidad microbiana en estos ambientes, sino que también resulta valiosa para comprender mejor la adaptación de las arqueas a condiciones extremas, lo cual podría tener aplicaciones en biotecnología, así como en estudios sobre la resiliencia de estos ecosistemas.

4.2.2 Estructura y diversidad de las comunidades microbianas eucariotas en suelos del Páramo de Santurbán

Para el dominio Eukaryota se estimaron abundancias relativas de aproximadamente el 1% en casi todos los suelos, exceptuando la muestra 3.990 m.s.n.m. rizosférica donde no se detectó ningún representante de este dominio (Figura 1). La menor abundancia de eucariotas con respecto a la bacteriana podría deberse al alto contenido de carbono característico de los ecosistemas de páramo, puesto que ya se ha reportado que, en ecosistemas con alto contenido de nutrientes, no es indispensable la autorregulación y renovación de nutrientes a través de vías biológicas del suelo mediadas por hongos (Lizarazo y Gómez, 2015; Bardgett y McAlister, 1999). Teniendo esto en cuenta, posiblemente los microorganismos eucariotas detectados en los suelos del páramo de Santurbán, tales como hongos, rotíferos, microalgas y nemátodos, desempeñan otras funciones esenciales para este ecosistema, incluyendo diversas asociaciones con plantas y contribuyendo con la estructura y estabilidad del suelo, favoreciendo procesos fundamentales, tales como la aireación, retención de agua y penetración de las raíces (Köninger et al., 2023; Aslani et al., 2022).

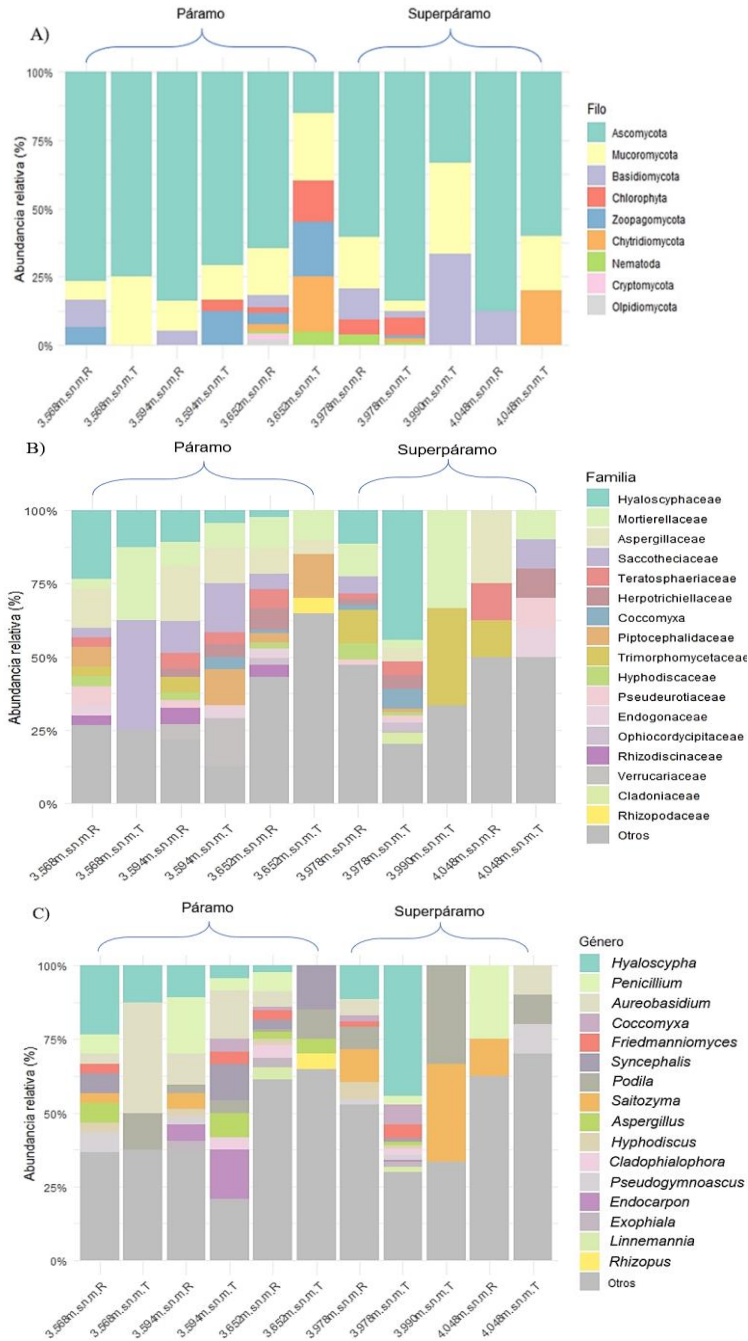
En las muestras evaluadas se identificaron nueve filos eucariotas, de los cuales siete corresponden a especies fúngicas (Figura 8A), siendo Ascomycota, Basidiomycota,

Mucoromycota y Chytridiomycota reportados previamente en suelos del páramo del Distrito de Manejo Integrado Regional Las Domínguez en el Valle del Cauca (Vélez et al., 2023). Ascomycota fue el filo detectado más abundante, con abundancias relativas entre 13% y 87%, mayoritariamente en muestras de suelo rizosférico aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa (Apéndice F). Dentro de las familias de este filo resalta la presencia de Aspergillaceae especialmente en suelos rizosféricos, un grupo muy amplio de hongos filamentosos los cuales participan en la descomposición de materia orgánica, el reciclaje de nutrientes y la formación de la estructura del suelo. En este estudio se logró detectar la presencia de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* en los suelos del páramo de Santurbán, géneros previamente reportados en la rizósfera de cultivos de papa (*Solanum tuberosum*) en inmediaciones del páramo de Rabanal en Boyacá, los cuales demostraron alta capacidad de solubilización de fosfatos en pruebas microbiológicas clásicas (Beltrán, 2015).

Otra familia destacada del filo Ascomycota fue Hyphodiscaceae, junto con el género *Hyphodiscus*, los cuales se lograron asociar significativamente a los suelos rizosféricos del páramo de Santurbán ($p=0.048$) (Apéndice G y Figura 9). Es importante mencionar que ni la familia ni el género han sido previamente reportados en suelos de páramo ni en asociación con *Espeletia*, lo que convierte su detección en un hallazgo novedoso y de interés científico. Hasta ahora, solo se han registrado en abundancias muy bajas en suelos de la Antártica y en la rizosfera de guisantes, lo que sugiere su posible adaptación a ambientes extremos con bajas temperaturas y/o partícipes de la red de interacciones propia de la rizósfera vegetal (Marchetta, 2022; Xu, 2011).

Figura 8

Abundancia relativa de las comunidades eucariotas presentes en las muestras de suelo evaluadas a nivel taxonómico de A) filo, B) familia, C) género.



Nota. R: Suelo rizosférico. T: Suelo total.

Así, los suelos de páramo presentan condiciones similares, como alta humedad, baja temperatura y abundante materia orgánica parcialmente descompuesta, lo que podría favorecer el desarrollo de este microorganismo. Además, su presencia también podría estar relacionada con posibles interacciones simbióticas con el frailejón, cuyos exudados radiculares podrían actuar como fuente de nutrientes esenciales para *Hyphodiscus*, facilitando su establecimiento y su actividad en la descomposición de compuestos complejos. Asimismo, su coexistencia con otras comunidades microbianas en la rizosfera podría permitirle establecer sinergias que contribuyan a la solubilización de nutrientes o al reciclaje del carbono. Dada su potencial contribución a la dinámica microbiana y la movilización de nutrientes, futuras investigaciones podrían enfocarse en su papel funcional, su metabolismo y sus posibles aplicaciones en la conservación y restauración de los suelos de páramo, esenciales para el equilibrio de este ecosistema.

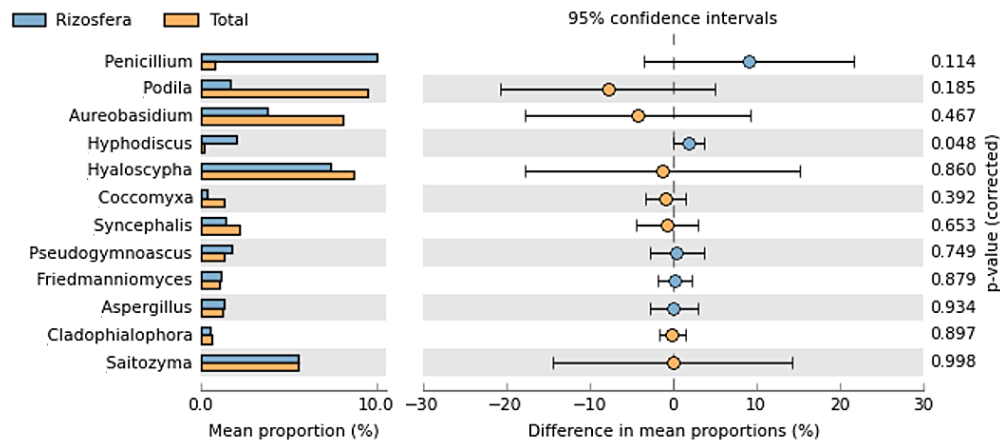
Otros filos fúngicos menos abundantes correspondieron a Mucoromycota, el cual abarca micorrizas como *Podila* que contribuyen a la simbiosis con plantas, mejorando la absorción de nutrientes en suelos oligotróficos (Bonfante y Venecia, 2020).

Adicionalmente, los filos Zoopagomycota y Chytridiomycota también contaron con bajas abundancias relativas y no estuvieron presentes en todas las muestras. Zoopagomycota, a menudo llamados hongos depredadores, se caracterizan por su capacidad para parasitar otros organismos, principalmente nematodos, lo cual les permite obtener nutrientes de manera eficiente en ambientes con recursos limitados (Rúa, 2023). Por su parte, Chytridiomycota incluye hongos que presentan zoosporas flageladas, estructuras reproductivas móviles que les permiten dispersarse en medios acuáticos o húmedos. En los suelos de páramo, ambos grupos fúngicos podrían desempeñar un

papel fundamental en los ciclos biogeoquímicos, descomponiendo materia orgánica y regulando las poblaciones de otros microorganismos (James et al., 2006).

Figura 9

Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades eucariotas presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de género.



Por su parte, Chlorophyta y Nematoda fueron filos asociados a suelo total y rizosférico, respectivamente, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Además, ambos filos estuvieron presentes únicamente en altitudes desde 3.594 m.s.n.m. hasta 3.978 m.s.n.m. (Figura 8A). Chlorophyta incluyó al género *Coccomyxa*, el cual, a pesar de no haber sido reportado en páramos, corresponde a un alga verde conocida por su capacidad de adaptarse a ambientes extremos (Darienko et al., 2015; Lewis, 2007). Por su parte, otras especies de este filo sí han sido descritas como parte de líquenes en páramos de Colombia (Butler et al., 2025), asociaciones simbióticas clave para que los microorganismos logren subsistir en una amplia variedad de hábitats, incluso aquellos pobres en nutrientes, rocosos y sin cobertura vegetal (Butler et al., 2025). Por su parte, Nematoda comprende organismos que habitan en diversos ambientes, incluyendo los

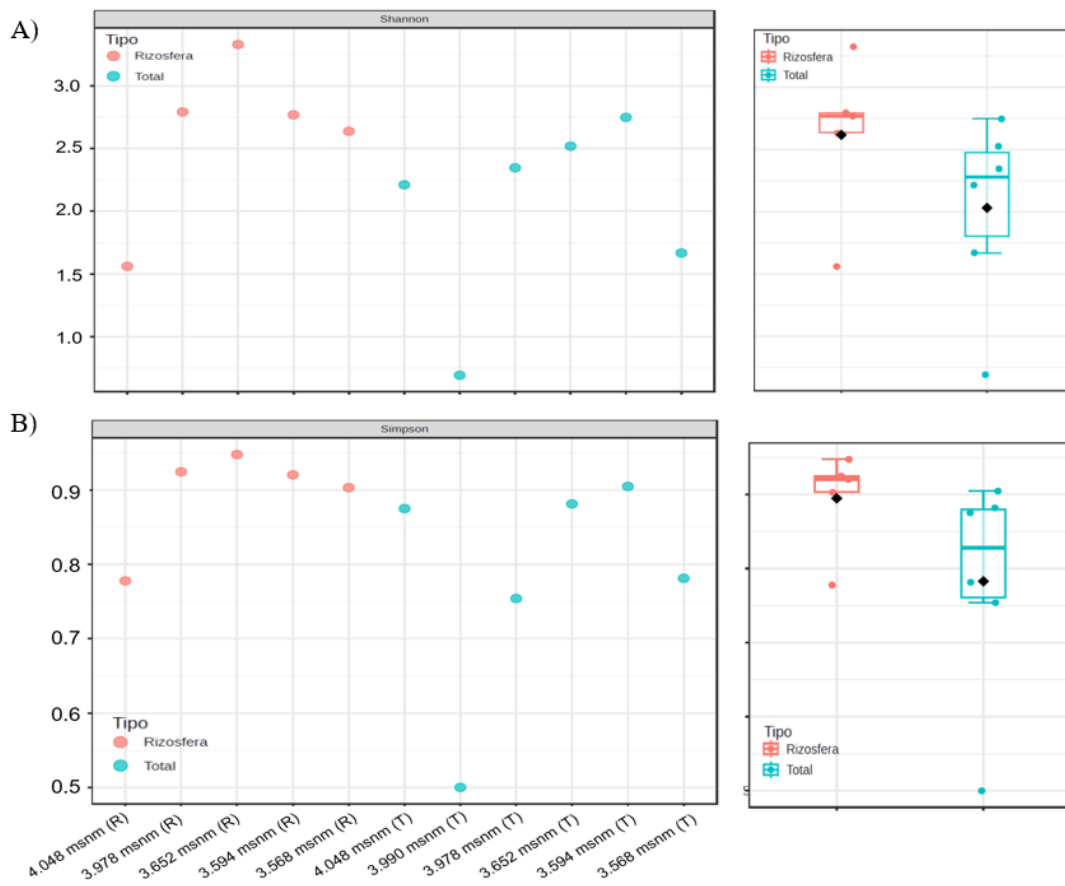
suelos, desempeñando un papel crucial en los ciclos biogeoquímicos al descomponer materia orgánica, regular poblaciones microbianas y afectar la estructura del suelo. Sin embargo, algunas especies pueden ser fitoparásitas, causando daños a las plantas cultivadas (Yeates, 2003). Aunque actualmente se continúan estudiando los roles de estos microorganismos en diferentes ambientes, sugiriendo algunos tener representantes parásitos y/o patógenos de otros organismos, reflejan interacciones complejas que mantienen la funcionalidad del páramo, un ecosistema expuesto a condiciones ambientales adversas y, por tanto, sus roles deben ser analizados individualmente.

Con relación a los índices de diversidad alfa para las comunidades eucariotas (Figura 10), se observó un comportamiento similar a las bacterias, con índices de Shannon y Simpson que oscilaron entre 0.7 a 3.3 y 0.5 a 0.9, respectivamente. Sin embargo, se encontró que las muestras 4.048 m.s.n.m. rizosférica, 3.990 m.s.n.m. total y 3.568 m.s.n.m. total obtuvieron índices de Shannon por debajo de 2, lo que refleja comunidades poco diversas y dominadas por *Aureobasidium* y/o *Saitozyma* (Vélez et al., 2023), géneros de levaduras tolerantes a condiciones de alta salinidad y comunes en suelos ácidos respectivamente, características reportadas en ecosistemas terrestres. Adicionalmente, estos géneros son cruciales al promover el crecimiento de las plantas y actuar como agentes de biocontrol contra diferentes enfermedades, razón por la cual entender esta dinámica a mayor profundidad podría contribuir a la conservación del ecosistema y facilitar el desarrollo de estrategias biotecnológicas para la agricultura sostenible (Das, Rabha y Narzary, 2023).

En general, las muestras de rizósfera presentaron mayores valores para los índices de Shannon y Simpson en comparación con las de suelo total, lo que indica que las raíces de *Espeletia* podrían favorecer una mayor diversidad eucariota debido a la liberación de exudados radiculares.

Figura 10

Índices de diversidad alfa A) Shannon y B) Simpson para las comunidades eucariotas de los suelos del páramo de Santurbán.



Estos exudados actúan como fuente de nutrientes específicos, atrayendo y seleccionando grupos especializados, como hongos micorrízicos, especies celulolíticas y/o solubilizadores de fosfatos, que forman asociaciones simbióticas con las plantas y facilitan la absorción de nutrientes esenciales, además de cumplir diversos procesos en este ecosistema, tales como la degradación de compuestos complejos y promoción de crecimiento vegetal bajo las condiciones extremas de este ecosistema (Das, Rabha y Narzary, 2023; Houbraken, De Vries y Samson, 2014; Lizarazo y Gómez, 2015).

4.3 Análisis de la diversidad beta (β) de las comunidades microbianas presentes en los diferentes tipos de suelo del Páramo de Santurbán.

Con respecto a la diversidad beta estimada, se realizaron Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) a nivel taxonómico de género según el subpiso y tipo de suelo evaluados (Figura 11A y 11B). Inicialmente, al comparar todas las muestras según el tipo de suelo, no fue posible apreciar una diferenciación clara entre rizósfera y suelo total; por el contrario, la mayoría de las muestras tienen un comportamiento similar, con un importante solapamiento entre ambas categorías, lo que sugiere que las comunidades microbianas en ambos tipos de suelo comparten géneros similares en gran parte de las condiciones evaluadas. Lo anterior concuerda con la naturaleza propia de los suelos analizados, puesto que, si bien los suelos de rizosfera se asocian con la raíz de especies de *Espeletia*, el suelo aledaño de la misma forma estaba siendo influenciado por los exudados y productos de las raíces de otras plantas que conforman la cobertura natural propia de un páramo (Cuatrecasas, 1958; Rangel, 2000; (Ruíz et al., 2016).

Únicamente la muestra de suelo total 3,978m.s.n.m. se alejó notablemente de las otras, destacándose por tener el valor de pH más bajo de 4.7 (Tabla 2), sugiriendo una influencia de las variables fisicoquímicas en la estructura y diversidad de las comunidades microbianas de los suelos del páramo de Santurbán, razón por la cual se compararon nuevamente todas las muestras, pero en función del subpiso del páramo (Figura 11B). En este caso fue posible evidenciar una mayor diferenciación entre las comunidades microbianas, reflejando cambios en la composición taxonómica de géneros en función de las condiciones ambientales. Las muestras de suelo del páramo propiamente dicho (Círculos rojos) se ven agrupadas hacia el cuadrante derecho, indicando comunidades taxonómicamente similares, influenciadas probablemente por la mayor cobertura

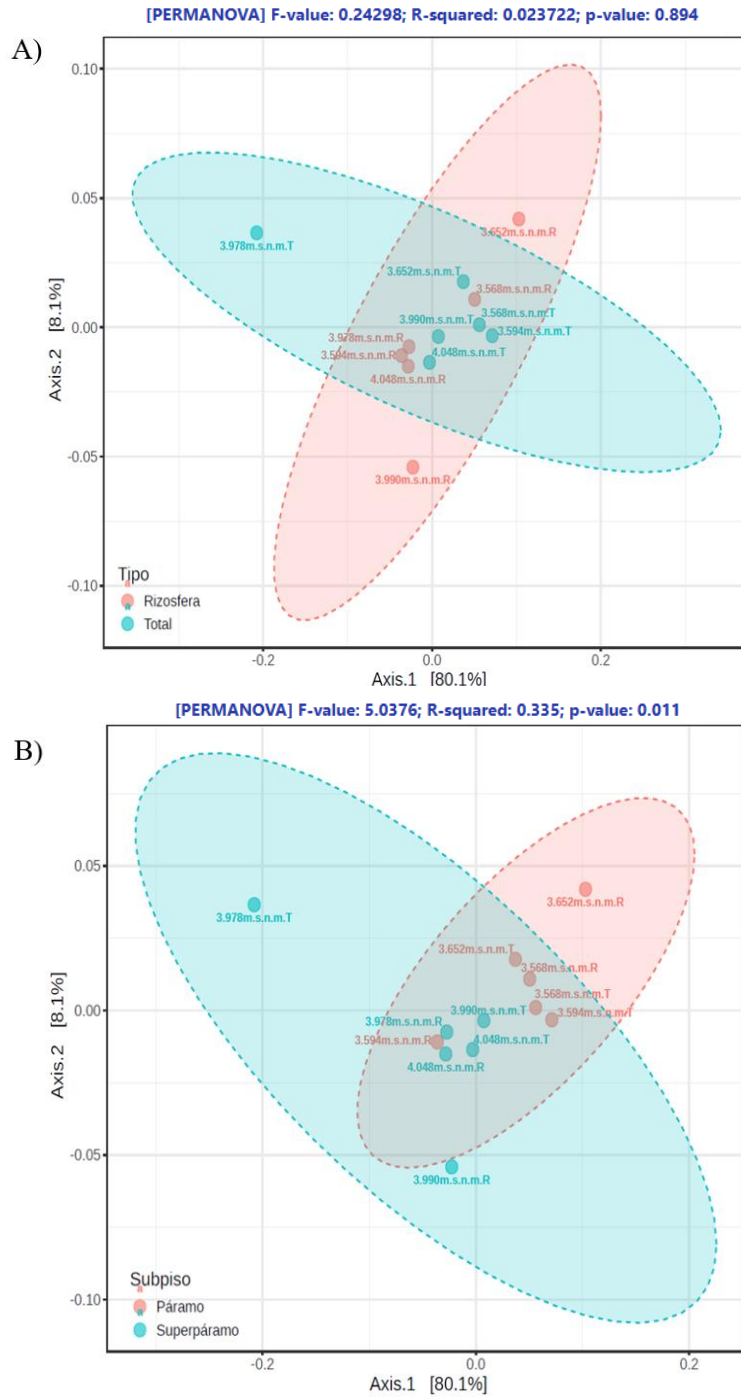
vegetal y propiedades fisicoquímicas de estos suelos (Cuatrecasas, 1958; Ministerio de Ambiente, 2016). Por otro lado, las muestras del superpáramo (Círculos azules) se agrupan en el cuadrante izquierdo, mostrando que los géneros microbianos cambian entre un subpiso y otro, posiblemente producto de condiciones más extremas, tales como temperaturas más bajas y disponibilidad limitada de algunos nutrientes y la saturación de agua, entre otros (Rangel, 2000; Rivera y Rodríguez, 2011), que permitan mayores abundancias de organismos mayormente adaptados, tales como aquellos del filo Actinomycetota.

Aunque hay un solapamiento parcial entre ambos subpisos, sugiriendo géneros compartidos y adaptaciones a gradientes ambientales, el superpáramo parece favorecer géneros especializados, tales como aquellos psicrófilos, mientras que el páramo propiamente dicho presenta géneros asociados con la degradación de materia orgánica y promoción del crecimiento vegetal, tal como se discutió previamente acerca del filo Pseudomonadota.

Adicionalmente, con relación a la muestra 3.978m.s.n.m.T, la cual permanece notablemente diferente de las demás, se identificó que cuenta con la mayor abundancia del género *Mycobacterium* (Figura 2C), actinobacteria reportada en suelos de páramo del Distrito de Manejo Integrado Regional Las Domínguez del Valle del Cauca, localizados a 3.800 m.s.n.m. (Vélez et al., 2023). A pesar de que no fue posible correlacionar este hallazgo frente a ningún factor fisicoquímico evaluado en este estudio, esta bacteria ha demostrado mayores abundancias relativas en ambientes de suelo frío, húmedo y ácido (Walsh et al., 2019), así como potencial nitrificante mediante pruebas en placa y participación en la descomposición de materia orgánica, facilitando así la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Salazar et al., 2023).

Figura 11

Análisis de coordenadas principales (PCoA) a nivel taxonómico de género según A) tipo de suelo, B) subpiso de páramo evaluados.



Por ello, continuar estas investigaciones en los suelos del páramo de Santurbán será clave para comprender mejor su dinámica microbiana, su contribución a los ciclos de nutrientes y su papel en la resiliencia de este ecosistema frente a cambios ambientales.

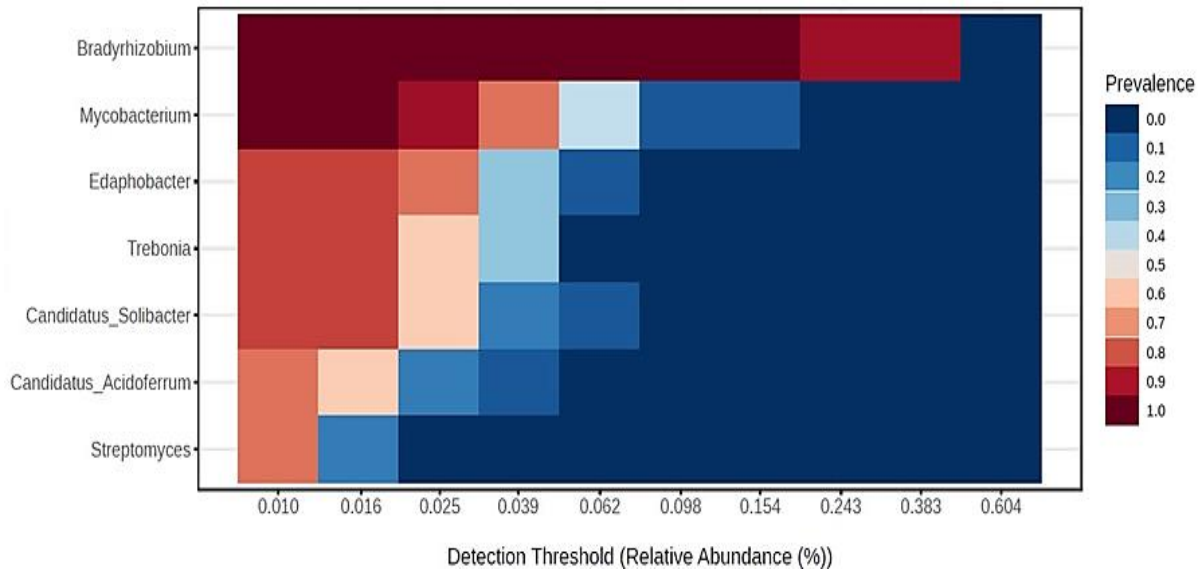
4.4 Potenciales asociaciones de las comunidades microbianas en la rizósfera de *Espeletia* spp

Como se ha venido discutiendo previamente, los páramos han sido reportados como puntos calientes de biodiversidad, resaltando en gran parte sus especies endémicas de plantas y de fauna local. Estos ecosistemas se encuentran expuestos a condiciones adversas que ejercen una presión selectiva sobre las plantas autóctonas y su microbiota asociada. La especie vegetal emblemática de estos ecosistemas, *Espeletia*, está adaptada para resistir en estos ambientes hostiles, además de influir en la capacidad para regular la disponibilidad de agua y almacenar carbono (Cuatrecasas, 1958; Ministerio de Ambiente, 2016). En cada parte de dicha planta se forman microambientes, en los cuales las comunidades microbianas interactúan constantemente entre ellas y de forma directa o indirecta con la planta, especialmente en la región de la rizósfera (Ruíz et al., 2016).

Teniendo esto en cuenta, en este estudio fue posible identificar un grupo de géneros microbianos muy importante al ser los más abundantes y/o estar presentes en mínimo 10 de las 12 muestras de suelo analizadas, conformando así un conjunto de microorganismos recurrentes y probablemente esenciales en los suelos del páramo de Santurbán estudiados, independientemente de variaciones ambientales fisicoquímicas y la presencia o no del frailejón. Este microbioma central, incluyó aquellas especies que estuvieron consistentemente presentes en las muestras de suelo analizadas, específicamente *Bradyrhizobium*, *Mycobacterium*, *Edaphobacter*, *Trebonia*, *Candidatus Solibacter*, *Candidatus Acidoferrum* y *Streptomyces* (Figura 12).

Figura 12

Microbioma central presente en los suelos totales y rizosféricos del páramo de Santurbán.



A su vez, se establecieron diferencias de estos microorganismos según el tipo de suelo. La red de coocurrencia de la rizósfera de *Espeletia* spp. evidenció una mayor complejidad en comparación a la correspondiente a los suelos totales (Figura 13), resultado de un mayor número de géneros presentes (específicamente nueve) coocurriendo entre sí. Destaca el género bacteriano *Bradyrhizobium* como un posible actor clave en las redes de interacción planta – microorganismo rizosféricas del frailejón, siendo el punto central de la red al coexistir simultáneamente con los demás microorganismos y, a su vez, permitir que otras potenciales asociaciones se lleven a cabo. Esta red de coocurrencia sugiere que posibles interacciones entre *Candidatus Acidoferrum* y *Mycobacterium*, *Trebonia* y *Streptomyces*, *Edaphobacter* y *Mesorhizobium*, y *Candidatus Solibacter* y *Ktedonobacter*, solo ocurrirían si *Bradyrhizobium* está presente (Figura 13A), lo cual señala la importancia de la fijación de nitrógeno en la raíz del frailejón.

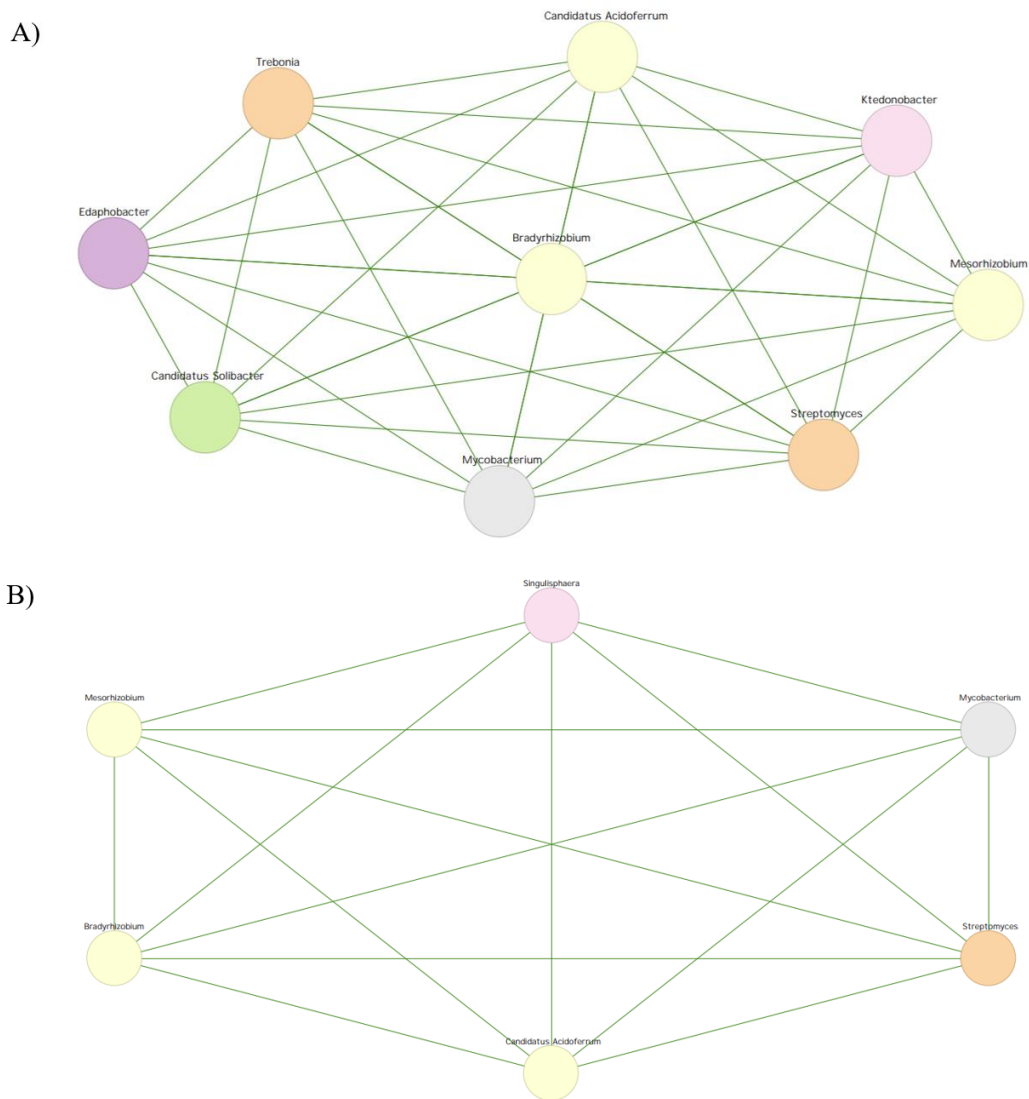
La fijación biológica del nitrógeno es llevada a cabo por microorganismos denominados diazótrofos, que pueden ser de vida libre o estar en asociación simbiótica con raíces de ciertas plantas (Hu et al., 2023). En los suelos del páramo, donde las temperaturas bajas, la alta humedad y la escasa disponibilidad de nutrientes limitan el crecimiento vegetal, este proceso cobra especial relevancia, debido a que la disponibilidad de nitrógeno es un factor limitante en varios ecosistemas, por lo que la presencia y actividad de microorganismos fijadores parece influir en la productividad y composición de la vegetación (Sepp et al., 2023). La interacción entre estos microorganismos y las plantas podría mejorar la eficiencia en la captura de nitrógeno, promoviendo el crecimiento vegetal sin necesidad de fuentes externas de fertilización (Zahran, 1999; Gano-Cohen et al., 2016).

Otros géneros, tales como *Mesorhizobium*, *Streptomyces*, *Trebonia*, *Ktedonobacter*, *Candidatus Solibacter* y *Edaphobacter* también parecen ser potenciales integrantes de las redes microbianas dentro del microambiente rizosférico de *Espeletia* en este ecosistema (Figura 13A). *Mesorhizobium*, un reconocido PGPB, también participa en el metabolismo del nitrógeno mediante la conversión del nitrógeno atmosférico en amoníaco en condiciones de bajas temperaturas (Khanal et al., 2024). Con respecto a *Streptomyces*, es una actinobacteria que se caracteriza por su producción de sustancias bioactivas como antibióticos, influyendo así en la inhibición de otros microorganismos potencialmente patógenos para la cobertura vegetal nativa del páramo (Barka et al., 2016), actuando como agente de biocontrol, inhibiendo fitopatógenos y promoviendo la salud general de *Espeletia* y del ecosistema. A pesar de que el alcance del presente estudio permite abordar únicamente potenciales asociaciones, a la fecha se han reportado algunas interacciones microbianas de tipo mutualismo, tales como *Streptomyces* protegiendo a *Mesorhizobium* de la inhibición microbiana gracias a la producción de un metabolito secundario (Du et al., 2024). Otro

estudio abarca el rol de *Streptomyces* mediando la interacción con hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* para la producción de agentes naturales (Krespach et al. 2023).

Figura 13

Red de Co Ourrencia de los géneros microbianos presentes en las A) muestras de suelo rizosférico y B) muestras de suelo total.



Con relación a *Trebonia* y *Candidatus Solibacter*, ambos son géneros bacterianos acidófilos reconocidos. *Trebonia* ha sido reportado en suelos ácidos anegados, sedimentos de lagos mineros y suelos de bosque de pino, reflejando su metabolismo adaptado a condiciones ácidas y, por lo tanto, valioso en varios procesos biotecnológicos (Rapoport et al., 2020). Por su parte, *Candidatus Solibacter* se ha reportado previamente en las raíces de *Espeletia hartwegiana*, participando en procesos como la descomposición de almidón, hemicelulosa, pectina y otros compuestos (Vélez et al., 2023; Ruíz et al., 2016). Es conocido que los suelos de bajo pH, tal como los de páramo, requieren que los microorganismos presenten adaptaciones metabólicas para sobrevivir en estas condiciones de estrés. En un estudio acerca de las adaptaciones fisiológicas bacterianas a diferentes condiciones edáficas, se identificaron genes relacionados con el transporte de metales y la secreción de proteínas, así como la presencia de un gen transportador de potasio ATPasa, que sugiere un mecanismo de intercambio H^+/K^+ para la homeostasis iónica en respuesta a la acidez (Malik et al., 2017).

Adicionalmente, teniendo en cuenta las dos especies de frailejón evaluadas en este estudio, se logró identificar seis géneros bacterianos asociados de forma estadísticamente significativa a la rizósfera de *Espeletia santanderensis* (Apéndice H). A pesar de que ninguno de ellos se ha reportado en suelos de páramo, se han reconocido en la rizósfera de plantas cultivadas en suelos saturados en agua, tales como el arroz, con capacidad celulolítica y fijadora de nitrógeno para algunos de estos géneros (Martin et al., 2021; Xue et al., 2017; Chhetri et al., 2021). Este hallazgo sugiere que la estructura de las comunidades microbianas presentes en la rizósfera del frailejón es diferente según la especie analizada, lo que resalta la necesidad de profundizar en los mecanismos

que regulan estas diferencias y su papel en la adaptación de cada especie de frailejón a las condiciones del páramo.

Por otra parte, la red de coocurrencia del suelo total estuvo constituida por un menor número de microorganismos, compartiendo cinco de sus seis géneros con la rizósfera del frailejón (Figura 13B). *Singulisphaera* fue el único género detectado únicamente en la red de coocurrencia del suelo total (Figura 13B), un planctomiceto poco estudiado y hasta ahora reportado en humedales ácidos de Rusia (Kulichevskaya et al., 2008). Su presencia en estos entornos extremos sugiere que posee mecanismos de adaptación a condiciones de acidez y baja disponibilidad de nutrientes, características que también se encuentran en los suelos del páramo. Esto plantea interrogantes sobre su posible presencia y función en estos ecosistemas de alta montaña.

Estas observaciones sugieren que las redes de interacción microbiana en los ecosistemas son altamente complejas y dinámicas, influyendo en la resiliencia y funcionalidad de este. Además, es importante tener en cuenta que dichas interacciones de las comunidades microbianas pueden ser influenciadas tanto por actividades antrópicas, como por factores como la altitud que presentan estos ecosistemas (Álvarez et al., 2017). En esto radica la importancia de conocer cuáles son las rutas metabólicas que participan en los procesos geobiológicos de los ecosistemas y los diferentes metabolitos implicados en cada interacción y que hacen posible una mejor adaptación a este tipo de ambientes.

Adicionalmente, el estudio realizado en el Parque Nacional Natural Los Nevados en Colombia, evaluó las comunidades microbianas de los diferentes microambientes de *Espeletia hartwegiana*, así como una predicción del potencial funcional de dichos microorganismos, determinando que los perfiles metabólicos varían según el microambiente, destacando la presencia

de genes implicados en las vías de replicación y reparación, procesos involucrados en la reparación del daño al ADN causado por el alto grado de radiación UV propia de los páramos (Ruíz et al., 2016). Específicamente en la zona de raíz del frailejón fueron muy abundantes las vías relacionadas con la degradación del carbono mediada por géneros microbianos tales como *Candidatus Solibacter*, también detectado en este estudio. La fracción de la raíz también contó con la presencia de genes de la vía del nitrógeno para la reducción asimilatoria y disimilatoria de nitrato, la nitrificación y la fijación de nitrógeno (Ruíz et al., 2016). En particular, estos resultados podrían ser de gran utilidad para comprender los procesos microbianos que ocurren en el páramo de Santurbán, un ecosistema de gran importancia ecológica para el país, explorando hasta qué punto sus comunidades microbianas comparten estas mismas estrategias adaptativas o si presentan diferencias debido a factores específicos del ecosistema, como su geología, clima o impacto de actividades humanas.

Finalmente, si bien muchas interacciones entre plantas y microorganismos pueden ser beneficiosas, no todas resultan en ventajas para la planta, siendo un claro ejemplo los fitopatógenos, en su mayoría especies fúngicas que logran infectar tejidos vegetales tras evadir sus mecanismos de defensa, tales como el género *Rhizopus* detectado en la muestra de suelo total ubicado a 3.652m.s.n.m. (Figura 8C). Sin embargo, así como los microorganismos desarrollan estrategias de infección, las plantas cuentan con mecanismos para contrarrestarlas según las condiciones medioambientales en las que se encuentren (Wang et al., 2012), por lo cual resulta indispensable estudiar cada posible interacción de manera individual y en el contexto mismo donde se esté llevando a cabo para conocer verídicamente el tipo de interacción que se está presentando.

5. Conclusiones

Este estudio constituye el primer reporte de las comunidades microbianas presentes en suelos del páramo de Santurbán utilizando herramientas metagenómicas, aportando al reconocimiento de la diversidad microbiana y complementando las descripciones de la flora y fauna nativa de este ecosistema estratégico del departamento de Santander.

La mayor abundancia y diversidad microbiana en los suelos del páramo de Santurbán correspondió a las poblaciones bacterianas, representadas principalmente por los filos Pseudomonadota, Actinomycetota y Acidobacteriota, y los géneros *Bradyrhizobium*, *Mycobacterium* y *Candidatus Solibacter*. Esto coincide con hallazgos reportados en otros suelos de ambientes paramunos en el territorio nacional, lo que sugiere que estos grupos microbianos desempeñan un papel clave en el funcionamiento de los ecosistemas terrestres de alta montaña. Aunque menos abundantes, las comunidades de arqueas y eucariotas también presentaron valores de diversidad elevados, incluyendo organismos metanogénicos y hongos solubilizadores de fósforo, lo que probablemente puede contribuir a mejorar la estructura del suelo y su función. Su presencia podría jugar un rol importante en el ciclo del carbono y la disponibilidad de nutrientes, ayudando a mantener la estabilidad y el equilibrio de los suelos del páramo de Santurbán.

Se identificó un microbioma central propio de los suelos del páramo de Santurbán, conformado por siete géneros bacterianos promotores del crecimiento vegetal, y que participan en diferentes ciclos biogeoquímicos y en el reciclaje de nutrientes. Este microbioma central podría tener un papel importante en el mantenimiento de la salud del suelo y la resiliencia de *Espeletia* frente a factores bióticos y abióticos cambiantes o extremos, lo cual es fundamental para comprender las dinámicas microbianas y planta-microorganismos en este ecosistema.

Los géneros bacterianos *Mesorhizobium*, *Pedosphaera* y el género fúngico *Hyphodiscus* fueron los únicos que presentaron abundancias significativamente más altas en muestras de rizósfera de *Espeletia*, lo cual sugiere una relación positiva entre estos microorganismos y el frailejón. Estas potenciales asociaciones podrían influir en la promoción del crecimiento de *Espeletia*, posiblemente a través de mecanismos tales como la fijación de nitrógeno (*Mesorhizobium*), la mejora de la disponibilidad de nutrientes en el suelo (*Pedosphaera*) o en interacciones simbióticas relacionadas con la descomposición de la materia orgánica y la producción de auxinas (*Hyphodiscus*).

Se estableció una red de coocurrencia en la rizósfera de *Espeletia* más compleja que la presente en suelos no influenciados por las raíces del frailejón, resaltando a *Bradyrhizobium* y al proceso de fijación biológica de nitrógeno como la principal interacción planta - microorganismo en los suelos del páramo de Santurbán, sugiriendo que la presencia del frailejón estimula interacciones microbianas más dinámicas en la rizósfera, posiblemente debido a sus exudados radiculares. Comprender estas interacciones es fundamental para la conservación del frailejón, una especie clave y protegida en el páramo, además de las posibles aplicaciones en biotecnología, agricultura y restauración ecológica, permitiendo el uso de microorganismos asociados al frailejón como biofertilizantes o promotores del crecimiento en ecosistemas de alta montaña. Además, este conocimiento podría utilizarse para optimizar estrategias agrícolas o ecológicas que promuevan la salud del suelo y el desarrollo de cultivos bajo condiciones específicas.

Además de ser el organismo más abundante en todos los suelos, el género *Bradyrhizobium* se identificó como un actor clave en las redes de interacción planta – microorganismo en la rizosféra del frailejón, ya que las interacciones de coexistencia entre los miembros del microbioma

central rizosférico solo ocurrirían si *Bradyrhizobium* está presente. Esto sugiere que además de fijar nitrógeno en un entorno donde los nutrientes pueden ser limitados, *Bradyrhizobium* facilitaría la permanencia de los demás miembros de la comunidad rizosférica, desempeñando sus roles en la descomposición de materia orgánica, la mineralización de nutrientes y la protección contra patógenos, lo cual es crucial para establecer un nicho ecológico estable y funcional asociado a *Espeletia*.

6. Recomendaciones

El análisis de las comunidades microbianas mediante tecnologías metagenómicas ha demostrado ser una herramienta valiosa para identificar los microorganismos presentes en el suelo y comprender sus posibles interacciones con otros organismos, tales como plantas y hongos. Sin embargo, la calidad de los resultados depende en gran medida de la naturaleza misma de las muestras a evaluar, puesto que factores como la humedad o un alto contenido de materia orgánica pueden influir en el rendimiento de la secuenciación y posterior análisis de las comunidades microbianas. Si bien el uso de tecnologías como Oxford Nanopore ha permitido obtener secuencias de mayor longitud proporcionando una visión más completa del material genético presente, al ser una herramienta relativamente nueva, la literatura que oriente hacia flujos de trabajo idóneos en la metagenómica es un reto para la investigación actual.

El estudio presentó una limitación en la cobertura de secuenciación, lo que impidió capturar de manera completa la diversidad microbiana en los suelos del páramo de Santurbán. Esto pudo deberse a una baja profundidad de lecturas o a la naturaleza misma de la muestra, rica en materia orgánica con posibles sustancias inhibidoras para los nanoporos, lo cual pudo sesgar las

estimaciones de riqueza y diversidad, afectando la detección de taxones raros y asociaciones microbianas relevantes. A pesar de que se logró capturar la fracción más abundante de las comunidades microbianas, para superar esta limitación se recomienda secuenciar cada librería por duplicado o triplicado, de esta forma se logrará una mejor representación de la diversidad y una interpretación ecológica más precisa del ecosistema.

Por otra parte, el uso exclusivo del índice de Jaccard para construir redes de coocurrencia es limitado, ya que solo considera presencia/ausencia de microorganismos sin tener en cuenta su abundancia relativa ni diferencias en la cobertura de secuenciación. Esto puede generar asociaciones poco precisas y omitir relaciones ecológicas relevantes. Como alternativa, se sugiere emplear índices que incluyan abundancia o métodos como SPIEC-EASI o CoNet, los cuales mejoran la inferencia de interacciones reales al corregir por la composicionalidad de los datos. Estas herramientas permitirán identificar relaciones más robustas y patrones ecológicos significativos en las comunidades microbianas.

Finalmente, la falta de análisis funcional limitó la comprensión de los roles ecológicos de los microorganismos presentes en el páramo. Esta omisión se debió a restricciones legales impuestas por la Resolución 1348 de 2014 sobre el uso de recursos genéticos. Sin embargo, esta información es clave para entender procesos como el ciclo de nutrientes o la resiliencia del ecosistema. Para abordar esta limitación, se recomienda gestionar permisos de acceso legal a los datos genéticos y, en paralelo, utilizar herramientas para anotar genes con rutas KEGG y funciones COG. Esto permitiría integrar mejor los aspectos funcionales y ecológicos del microbioma del suelo.

Referencias Bibliográficas

Alvarez, A. C., Alvarez-Silva, M. C., Restrepo, S., Husserl, J., Zambrano, M. M., Danies, G., ... González Barrios, A. F. (2017). Influence of agricultural activities in the structure and metabolic functionality of paramo soil samples in Colombia studied using a metagenomics analysis in dynamic state. *Ecological Modelling*, 351, 63–76. doi:10.1016/j.ecolmodel.2017.02.010.

Arcos, J., Erazo, N., & Quishpe, F. (2022). Caracterización de Suelos Asociados a la Rizosfera de Mortiño (*Vaccinium Floribundum* Kunth) en los Páramos de Ganquis y Cubillín de la Provincia de Chimborazo. *Revista Científica Dominio de Las Ciencias*, 8(1), 482–502. <https://dominiodelasciencias.com/ojs/index.php/es/article/view/2505/5588>.

Arenas, H., Alzate, J. L., y Lizarazo, P. (2015). Estudio metagenómico de la microbiota rizosférica de *Espeletia* spp en el páramo de Santa Inés-Antioquia. *Memorias I Congreso Latinoamericano y II Nacional de Alta Montaña Tropical: Desafíos ante el cambio climático de los ecosistemas*. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

Arguello, S. (2022). Diversidad microbiana en relación a un gradiente altitudinal en el páramo del Volcán Ilinizas. *Universidad Central de Ecuador* (Vol. 33, Issue 1).

Aslani F, Geisen S, Ning D, Tedersoo L, Bahram M. Towards revealing the global diversity and community assembly of soil eukaryotes. *Ecol Lett.* 2022 Jan;25(1):65-76. doi: 10.1111/ele.13904. Epub 2021 Oct 25. PMID: 34697894

Atlas, R. & Bartha, R. (2002). *Ecología Microbiana Y Microbiología Ambiental*. 4th ed. pp.97-118.

Baba, Z. A., Hamid, B., Sheikh, T. A., Alotaibi, S. H., El Enshasy, H. A., Ansari, M. J., Zuan, A. T. K., & Sayyed, R. Z. (2021). Psychrotolerant mesorhizobium sp. Isolated from temperate and cold desert regions solubilizes potassium and produces multiple plant growth promoting metabolites. *Molecules*, 26(19), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules26195758>.

Bardgett, R. D., & McAlister, E. (1999). The measurement of soil fungal:bacterial biomass ratios as an indicator of ecosystem self-regulation in temperate meadow grasslands. *Biology and Fertility of Soils*, 29(3), 282–290. <https://doi.org/10.1007/s003740050554>

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

Barka EA, Vatsa P, Sanchez L, Gaveau-Vaillant N, Jacquard C, Meier-Kolthoff JP, Klenk HP, Clément C, Ouhdouch Y, van Wezel GP. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2015 Nov 25;80(1):1-43. doi: 10.1128/MMBR.00019-

15. Erratum in: *Microbiol Mol Biol Rev.* 2016 Nov 9;80(4):iii. doi: 10.1128/MMBR.00044-16.
PMID: 26609051; PMCID: PMC4711186

Beltrán, J. (2018). Composición florística asociada a frailejones *Espeletia* spp afectados por *oidaematophorus espeletiae* en el pnn chingaza. Trabajo de Grado. Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá.

Beltrán, M. E. (2015). Hongos solubilizadores de fosfato en suelo de páramo cultivado con papa (*Solanum tuberosum*). *Ciencia En Desarrollo*, 5(2), 145–154.
<https://doi.org/10.19053/01217488.3669>.

Bleidorn, C. (2015). Third generation sequencing: technology and its potential impact on evolutionary biodiversity research. *Systematics and Biodiversity*, 14(1), 1–8.
doi:10.1080/14772000.2015.1099575.

Butler, D. J., Torres, J. M., Mason, C. E., Moncada, B., & Muñoz, A. R. (2025). Distinct bacteria display genus and species-specific associations with mycobionts in paramo lichens in. July 2024. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaf010>.

Cárdenas, M. F., Tobón, C., Rock, B. N., & del Valle, J. I. (2018). Ecophysiology of frailejones (*Espeletia* spp.), and its contribution to the hydrological functioning of páramo ecosystems. *Plant Ecology*, 219(2), 185–198. <https://doi.org/10.1007/s11258-017-0787-x>.

Chavan, S., Sarangdhar, V., & Vigneshwaran, N. (2022). Nanopore-based metagenomic analysis of the impact of nanoparticles on soil microbial communities. *Heliyon*, 8(6), e09693. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09693>.

Chhetri, G., Kim, J., Kim, I., Kang, M., & Seo, T. (2021). *Limnohabitans radiculicola* sp. nov., a slow-growing bacterium isolated from rhizosphere of rice plant and emended description of the genus *limnohabitans*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 71(8). <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004957>.

Cindy E. Prescott, Jan Frouz, Sue J. Grayston, Sylvie A. Quideau, Justin Straker, Chapter 13 - Rehabilitating forest soils after disturbance, Editor(s): Matt Busse, Christian P. Giardina, Dave M. Morris, Debbie S. Page-Dumroese, *Developments in Soil Science*, Elsevier, Volume 36, 2019, Pages 309-343, ISSN 0166-2481, ISBN 9780444639981, <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63998-1.00013-6>

Cuatrecasas J. (1958). Aspectos de la Vegetación Natural de Colombia. *Rev Acad Colomb Cienc Ex Fis y Nat* 10(4):221-264.

Dash, H. R., & Das, S. (2018). Molecular Methods for Studying Microorganisms From Atypical Environments. *Methods in Microbiology*, 45, 89–122. <https://doi.org/10.1016/BS.MIM.2018.07.005>.

Daunoras, J., Audrius K., & Renata, G. (2024). "Role of Soil Microbiota Enzymes in Soil Health and Activity Changes Depending on Climate Change and the Type of Soil Ecosystem" *Biology* 13, no. 2: 85. <https://doi.org/10.3390/biology13020085>.

Delgado, C. M., Roldán, A., & Ramírez, H. (2009). Efecto de las actividades agropecuarias en las características del suelo en el páramo El Granizo, (Cundinamarca, Colombia). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* vol.12 no.2 Bogotá July/Dec. 2009.

De Mandal, S., Pankaj, B. (2020). *Recent Advancements in Microbial Diversity*. Elsevier Science & Technology.

De Maayer, P.; Anderson, D.; Cary, C.; Cowan, D. (2014) Some like it cold: understanding the survival strategies of psychrophiles. *EMBO reports*, v. 15, p. 508-517. <https://doi.org/10.1002/embr.201338170>.

Du X, Liu N, Yan B, Li Y, Liu M, Huang Y. (2024) Proximity-based defensive mutualism between *Streptomyces* and *Mesorhizobium* by sharing and sequestering iron. *ISME J.* Jan 8;18(1):wrad041. doi: 10.1093/ismejo/wrad041. PMID: 38366066; PMCID: PMC10881299.

Ferran Romero, Sarah Hilfiker, Anna Edlinger, Alain Held, Kyle Hartman, Maëva Labouyrie, Marcel G.A. van der Heijden, Soil microbial biodiversity promotes crop productivity

and agro-ecosystem functioning in experimental microcosms, *Science of The Total Environment*, Volume 885, 2023, 163683, ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163683>.

Fierer, N., Bradford, M. A., & Jackson, R. B. (2007). Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 88(6), 1354–1364. <https://doi.org/10.1890/05-1839>.

Fierer, N., Leff, J. W., Adams, B. J., Nielsen, U. N., Bates, S. T., Lauber, C. L., Owens, S., Gilbert, J. A., Wall, D. H., & Caporaso, J. G. (2012). Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(52), 21390–21395. <https://doi.org/10.1073/pnas.1215210110>

Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. (2014) Mountains and the Sustainable Development Goals. Mountain partnership. Retrieved from: http://www.fao.org/fileadmin/templates/mountain_partnership/doc/POLICY_BRIEFS/Mountains_and_the_Sustainable_Development_Goals_-_NY_-_8Jan.2014.pdf.

FAO. (2021). Standard Operating Procedure for Soil pH Determination. Rome.

Fu, X., Meng, X., Ma, D. et al. (2025). Structure and function of rhizosphere and nonrhizosphere bacterial communities of *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow

in the southern Taihang Mountains, China. *Biologia* 80, 485–497 <https://doi.org/10.1007/s11756-024-01856-6>.

Gao, H., Li, S., & Wu, F. (2021). Impact of Intercropping on the Diazotrophic Community in the Soils of Continuous Cucumber Cropping Systems. *Frontiers in Microbiology*, 12(March), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.630302>.

Garrido, R., Nakano, R. T., Dombrowski, N., Ma, K.-W., McHardy, A. C., & Schulze-Lefert, P. (2018). Modular Traits of the Rhizobiales Root Microbiota and Their Evolutionary Relationship with Symbiotic Rhizobia. *Cell Host & Microbe*, 24(1), 155–167.e5. doi:10.1016/j.chom.2018.06.006.

Guzmán, S. (2017). Los microbios y la ecología. Retrieved from: https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/68_2/PDF/MicrobiosEcologia.pdf

Golyshina OV, Bargiela R, Toshchakov SV, Chernyh NA, Ramayah S, Korzhenkov AA, Kublanov IV, Golyshin PN. Diversity of "Ca. Micrarchaeota" in Two Distinct Types of Acidic Environments and Their Associations with Thermoplasmatales. *Genes (Basel)*. 2019 Jun 15;10(6):461. doi: 10.3390/genes10060461. PMID: 31208064; PMCID: PMC6627985

Haroon, M., Hu, S., Shi, Y. et al. Anaerobic oxidation of methane coupled to nitrate reduction in a novel archaeal lineage. *Nature* 500, 567–570 (2013).
<https://doi.org/10.1038/nature12375>

Hassan, A. H., Bebawy, A. S., Saad, M. T., Mosaad, G. S., Saad, B. T., Eltayeb, W. N., & Aboshanab, K. M. (2022). Metagenomic Nanopore Sequencing Versus Conventional Diagnosis for Identification of the Dieback Pathogens of Mango Trees. *BioTechniques*, 73(6), 261–272.
<https://doi.org/10.2144/btn-2022-0087>.

Herbold CW, Lehtovirta-Morley LE, Jung MY, Jehmlich N, Hausmann B, Han P, Loy A, Pester M, Sayavedra-Soto LA, Rhee SK, Prosser JI, Nicol GW, Wagner M, Gubry-Rangin C. (2017). Ammonia-oxidising archaea living at low pH: Insights from comparative genomics. *Environ Microbiol.* Dec;19(12):4939-4952. doi: 10.1111/1462-2920.13971. Epub 2017 Dec 4. PMID: 29098760; PMCID: PMC5767755.

Hernández, D. & Lizarazo, L. M. (2015). Bacterias heterótrofas y oligotróficas en zonas conservadas e intervenidas del páramo de La Cortadera, Boyacá, Colombia. *Actualidad & Divulgación Científica* 18 (2), p. 475-483.

Ho, Y., Mathew, D. & Huang, C. (2017) *Plant Ecology - Traditional Approaches to Recent Trends. Plant-Microbe Ecology: Interactions of Plants and Symbiotic Microbial Communities*. 1 ed. Rejika (Croacia). pp. 93-119.

Hooper, D. U., Chapin, F. S., Ewel, J. J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J. H., Lodge, D. M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A. J., Vandermeer, J., & Wardle, D. A. (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75(1), 3–35. <https://doi.org/10.1890/04-0922>.

Hu, W., Wang, X., Wang, X., Xu, Y., Li, R., Zhao, L., Ren, W., & Teng, Y. (2023). Enhancement of nitrogen fixation and diazotrophs by long-term polychlorinated biphenyl contamination in paddy soil. *Journal of Hazardous Materials*, 446(September 2022), 130697. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130697>.

Huson, D. H., Beier, S., Flade, I., Górská, A., El-Hadidi, M., Mitra, S., Ruscheweyh, H. J., & Tappu, R. (2016). MEGAN Community Edition - Interactive Exploration and Analysis of Large-Scale Microbiome Sequencing Data. *PLoS Computational Biology*, 12(6), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004957>.

Igor S Pessi, Aino Rutanen, Jenni Hultman, *Candidatus Nitrosopolaris*, a genus of putative ammonia-oxidizing archaea with a polar/alpine distribution, *FEMS Microbes*, Volume 3, 2022, xtac019, <https://doi.org/10.1093/femsmc/xtac019>

Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (2010). Definición de criterios para la delimitación de paramos del país y lineamientos para su conservación. Informe Final.

Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. (2014). Aportes a la delimitación del páramo. Recuperado de: <http://repository.humboldt.org.co/handle/20.500.11761/32539>.

Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. (2021). Colombia cierra el 2021 con Nueva Especie de Frailejón. <http://www.humboldt.org.co/es/boletines-y-comunicados/item/1705-con-nuevo-hallazgo-colombia-cierra-el-2021-con-91-especies-de-frailejones#:~:text=La%20historia%20evolutiva%20del%20emblem%C3%A1tico,%3A%20C3%A1rboles%20arbustos%20rosetas>.

James, T. Y., Letcher, P. M., Longcore, J. E., Mozley-Standridge, S. E., Porter, D., Powell, M. J., ... Vilgalys, R. (2006). A molecular phylogeny of the flagellated fungi (Chytridiomycota) and description of a new phylum (Blastocladiomycota). *Mycologia*, 98(6), 860–871. doi:10.1080/15572536.2006.11832616

James MT, Farrisi ST, Shah S and Shah V (2022) Identification of Major Organisms Involved in Nutritional Ecosystem in the Acidic Soil From Pennsylvania, USA. *Front. Environ. Sci.* 10:766302. doi: 10.3389/fenvs.2022.766302.

Jaskulska, Iwona, Joanna Lemanowicz, Barbara Breza-Boruta, Anetta Siwik-Ziomek, Maja Radziemska, Jaskulski Dariusz, and Mateusz Białek. (2020). "Chemical and Biological Properties of Sandy Loam Soil in Response to Long-Term Organic–Mineral Fertilisation in a Warm-Summer Humid Continental Climate" *Agronomy* 10, no. 10: 1610. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101610>.

J.B. Payeur, Mycobacterium, Editor(s): Carl A. Batt, Mary Lou Tortorello, *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition), Academic Press, 2014, Pages 841-853, ISBN 9780123847331, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00229-9>

Jihye Jung, Jun-Seob Kim, Julian Taffner, Gabriele Berg, Choong-Min Ryu, *Archaea*, tiny helpers of land plants, *Computational and Structural Biotechnology Journal*, Volume 18, 2020, Pages 2494-2500, ISSN 2001-0370, <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.09.005>

Jos Houbraken, Ronald P. de Vries, Robert A. Samson, Chapter Four - Modern Taxonomy of Biotechnologically Important *Aspergillus* and *Penicillium* Species, Editor(s): Sima Sariaslani, Geoffrey M. Gadd, *Advances in Applied Microbiology*, Academic Press, Volume 86, 2014, Pages

199-249, ISSN 0065-2164, ISBN 9780128002629, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800262-9.00004-4>

Kalam, S., Basu, A., Ahmad, I., Sayyed, R. Z., El-Enshasy, H. A., Dailin, D. J., & Suriani, N. L. (2020). Recent understanding of soil Acidobacteria and their ecological significance: A critical review. *Frontiers in Microbiology*, 11, 580024. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.580024>

Khanal, A., Han, S. R., Lee, J. H., & Oh, T. J. (2024). Comparative Genome Analysis of Polar Mesorhizobium sp. PAMC28654 to Gain Insight into Tolerance to Salinity and Trace Element Stress. *Microorganisms*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010120>.

Klimek, D., Herold, M. & Calusinska, M. Comparative genomic analysis of Planctomycetota potential for polysaccharide degradation identifies biotechnologically relevant microbes. *BMC Genomics* 25, 523 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10413-z>

Köninger, J., Ballabio, C., Panagos, P., Jones, A., Schmid, M. W., Orgiazzi, A., & Briones, M. J. I. (2023). Ecosystem type drives soil eukaryotic diversity and composition in Europe. *Global Change Biology*, 29(19), 5706–5719. <https://doi.org/10.1111/gcb.16871>

Krespach MKC, Stroe MC, Netzker T, Rosin M, Zehner LM, Komor AJ, Beilmann JM, Krüger T, Scherlach K, Kniemeyer O, Schroeckh V, Hertweck C, Brakhage AA (2023). *Streptomyces polyketides mediate bacteria-fungi interactions across soil environments. Nat*

Microbiol. 2023 Jul;8(7):1348-1361. doi: 10.1038/s41564-023-01382-2. Epub Jun 15. PMID: 37322111; PMCID: PMC10322714.

Kulichevskaya IS, Ivanova AO, Baulina OI, Bodelier PL, Damsté JS, Dedysn SN. (2008). *Singulisphaera acidiphila* gen. nov., sp. nov., a non-filamentous, Isosphaera-like planctomycete from acidic northern wetlands. *Int J Syst Evol Microbiol.* May;58(Pt 5):1186-93. doi: 10.1099/ijs.0.65593-0. PMID: 18450711.

Latorre, A., Villalba, P., Pascual, J. et al. (2020) Assembly methods for nanopore-based metagenomic sequencing: a comparative study. *Sci Rep* 10, 13588. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70491-3>.

Lehtovirta-Morley LE, Sayavedra-Soto LA, Gallois N, Schouten S, Stein LY, Prosser JI, Nicol GW 2016. Identifying Potential Mechanisms Enabling Acidophily in the Ammonia-Oxidizing Archaeon “*Candidatus Nitrosotalea devanattera*”. *Appl Environ Microbiol* 82. <https://doi.org/10.1128/AEM.04031-15>

Lewis, L.A. (2007). Chlorophyta on Land. In: Seckbach, J. (eds) *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments. Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology*, vol 11. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6112-7_31

Liem M, Regensburg-Tuïnk T, Henkel C, Jansen H, Spaink H. Microbial diversity characterization of seawater in a pilot study using Oxford Nanopore Technologies (2021) long-read sequencing. *BMC Res Notes*. Feb 2;14(1):42. doi: 10.1186/s13104-021-05457-3. PMID: 33531031; PMCID: PMC7852107.

Liu, L., Yang, Y., Deng, Y. et al. (2022). Nanopore long-read-only metagenomics enables complete and high-quality genome reconstruction from mock and complex metagenomes. *Microbiome* 10, 209 <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01415-8>.

Lizarazo, P. X., Gómez, D. Microbiota rizosférica de *Espeletia* spp. de los páramos de Santa Inés y de Frontino-Urrao en Antioquia, Colombia (2015). *Acta biol. Colomb.* 2015;20(1):175-182. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v20n1.42827>

Llambí, L. D., Soto-w, A., Borja, P., Soto-w, A., & Calle, T. (2012). Páramos Andinos Ecología , hidrología y suelos de páramos. ISBN: 9789942115492.

López, I., Avellaneda, M., Páez, L., Tarazona, R., & Tachak, M. I. (2012). Estudio Páramo Santurban. Corporación Autónoma Regional Para La Defensa de La Meseta de Bucaramanga.

Lourenço, K.S., Suleiman, A.K.A., Pijl, A. et al. Resilience of the resident soil microbiome to organic and inorganic amendment disturbances and to temporary bacterial invasion. *Microbiome* 6, 142 (2018). <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0525-1>

Lu, Y., Zhou, G., Ewald, J., Pang, Z., Shiri, T., and Xia, J. (2023) "MicrobiomeAnalyst 2.0: comprehensive statistical, functional and integrative analysis of microbiome data" *Nucleic Acids Research* doi: 10.1093/nar/gkad407.

Lü Z, Lu Y. *Methanocella conradii* sp. nov., a thermophilic, obligate hydrogenotrophic methanogen, isolated from Chinese rice field soil. *PLoS One*. 2012;7(4):e35279. doi: 10.1371/journal.pone.0035279. Epub 2012 Apr 17. PMID: 22530002; PMCID: PMC3328440.

Lyu, Z., Liu, Y. (2019). Diversity and Taxonomy of Methanogens. In: Stams, A., Sousa, D. (eds) *Biogenesis of Hydrocarbons. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology* . Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78108-2_5

Madigan, M., Martinko, J., Dunlap, P., Clark, D. (2015). *Brock Biología de los Microorganismos*. 14a ed. pp.610-639.

Maite Ortúzar, Raúl Riesco, Marco Criado, María del Pilar Alonso, Martha E. Trujillo, Unraveling the dynamic interplay of microbial communities associated to *Lupinus angustifolius* in response to environmental and cultivation conditions, *Science of The Total Environment*, Volume 946, 2024, 174277, ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174277>

Malik AA, Thomson BC, Whiteley AS, Bailey M, Griffiths RI (2017). Bacterial Physiological Adaptations to Contrasting Edaphic Conditions Identified Using Landscape Scale Metagenomics. *mBio*. Jul 5;8(4):e00799-17. doi: 10.1128/mBio.00799-17. PMID: 28679747; PMCID: PMC5573673.

Manuel Pesaro, Franco Widmer, Identification of novel Crenarchaeota and Euryarchaeota clusters associated with different depth layers of a forest soil, *FEMS Microbiology Ecology*, Volume 42, Issue 1, October 2002, Pages 89–98, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2002.tb00998.x>

Marchetta, A. (2022). Assessment of fungal diversity present in Arctic and Antarctic lakes and selection of heavy metal tolerant fungal isolates. <https://tesidottorato.depositolegale.it/handle/20.500.14242/101426>.

Martin, G., Rissanen, A. J., Garcia, S. L., Mehrshad, M., Buck, M., & Peura, S. (2021). Candidatus *Methylumidiphilus* Drives Peaks in Methanotrophic Relative Abundance in Stratified Lakes and Ponds Across Northern Landscapes. *Frontiers in Microbiology*, 12(August), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.669937>.

Mavárez, J. (2019). A Taxonomic Revision of *Espeletia* (Asteraceae). The Venezuelan Radiation. *Harvard Papers in Botany*, 24(2), 131–244. <https://doi.org/10.3100/hpib.v24iss2.2019.n8>.

Mavárez, J. (2021). A Taxonomic Revision of Espeletia (Asteraceae). II. Updated List of Taxa, Nomenclature, and Conservation Status in the Colombian Radiation. *Harvard Papers in Botany*, 26(1), 131–157. <https://doi.org/10.3100/hpib.v26iss1.2021.n9>.

McKeown, R. M., Scully, C., Enright, A. M., Chinalia, F. A., Lee, C., Mahony, T., Collins, G., & O'Flaherty, V. (2009). Psychrophilic methanogenic community development during long-term cultivation of anaerobic granular biofilms. *ISME Journal*, 3(11), 1231–1242. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.67>

Mhlongo, M.; Piater, L.; Madala, N.; Labuschagne, N.; Dubery, I. (2018) The Chemistry of Plant–Microbe Interactions in the Rhizosphere and the Potential for Metabolomics to Reveal Signaling Related to Defense Priming and Induced Systemic Resistance. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, p. 112.

Miles, L. A., Lopera, C. A., González, S., de García, M. C. C., Franco, A. E., & Restrepo, S. (2012). Exploring the biocontrol potential of fungal endophytes from an Andean Colombian Paramo ecosystem. *BioControl*, 57(5), 697–710. doi:10.1007/s10526-012-9442-6.

Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2002) Programa para el Manejo Sostenible y Restauración de Ecosistemas de la Alta Montaña colombiana. Bogotá (Colombia), p.19-21.

Ministerio de Ambiente. (2016). Política para la Gestión Sostenible del Suelo. In Política para la Gestión Sostenible del Suelo. http://www.andi.com.co/Uploads/Política_para_la_gestión_sostenible_del_suelo_FINAL.pdf.

Miranda, A.R.L., Mendes, L.W., Lemos, L.N. et al. Dynamics of archaeal community in soil with application of composted tannery sludge. *Sci Rep* 9, 7347 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43478-y>

Monasterio, M., & Sarmiento, L. (1991). Adaptive radiation of *Espeletia* in the cold andean tropics. *Trends in Ecology & Evolution*, 6(12), 387–391. doi:10.1016/0169-5347(91)90159-u.

Mosquera, G. M., Hofstede, R., Bremer, L. L., Asbjornsen, H., Carabajo-Hidalgo, A., Célleri, R., Crespo, P., Esquivel-Hernández, G., Feyen, J., Manosalvas, R., Marín, F., Mena-Vásconez, P., Montenegro-Díaz, P., Ochoa-Sánchez, A., Pesántez, J., Riveros-Iregui, D. A., & Suárez, E. (2023). Frontiers in páramo water resources research: A multidisciplinary assessment. *Science of the Total*.

Mukherjee A, Gaurav AK, Singh S, Yadav S, Bhowmick S, Abeysinghe S, Verma JP. The bioactive potential of phytohormones: A review. *Biotechnol Rep (Amst)*. 2022 Jun 8;35:e00748. doi: 10.1016/j.btre.2022.e00748. PMID: 35719852; PMCID: PMC9204661.

Mwendwa S. (2022). Revisiting soil texture analysis: Practices towards a more accurate Bouyoucos method. *Heliyon*. 12;8(5):e09395. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09395. PMID: 35600453; PMCID: PMC9119835.

Neina, D. (2019). The Role of Soil pH in Plant Nutrition and Soil Remediation. *Applied and Environmental Soil Science*, 2019(3). <https://doi.org/10.1155/2019/5794869>.

Oliart-Ros, Rosa María, Manresa-Presas, Ángeles, & Sánchez-Otero, María Guadalupe. (2016). Utilización de microorganismos de ambientes extremos y sus productos en el desarrollo biotecnológico. *CienciaUAT*, 11(1), 79-90. Recuperado en 16 de enero de 2025, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200778582016000200079&lng=es&tlng=es

Ortiz, A., & Sansinenea, E. (2022). The Role of Beneficial Microorganisms in Soil Quality and Plant Health. *Sustainability (Switzerland)*, 14(9). <https://doi.org/10.3390/su14095358>.

Ostrowska A., Gawliński S., Szczubiałka Z. (1991): Methods of analysis and assessment of soil and plant properties. IOŚ, Warszawa.

Oxford Nanopore Technologies (2023) Metagenomic sequencing With Oxford Nanopore. https://www.biotechniques.com/pcr-sequencing/on_metagenomic-sequencing-with-oxford-nanopore/.

Paola Bonfante, Francesco Venice, Mucoromycota: going to the roots of plant-interacting fungi, *Fungal Biology Reviews*, Volume 34, Issue 2, 2020, Pages 100-113, ISSN 1749-4613, <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2019.12.003>

Parks DH, Beiko RG (2010) Identifying biologically relevant differences between metagenomic communities. *Bioinformatics*, 26:715-721.

Péfaur, Jaime. (1997). Ecology of South American Páramos with Emphasis on the Fauna of the Venezuelan Páramos. Polar and Alpine Tundra. *Ecosystems of the World 3*, Chapter: 13 Elsevier, Amsterdam.

Prasitwuttisak W, Hoshiko Y, Maeda T, Haraguchi A, Yanagawa K (2022). Microbial Community Structures and Methanogenic Functions in Wetland Peat Soils. *Microbes Environ.* 37(3):ME22004. doi: 10.1264/jsme2.ME22004. PMID: 35851269; PMCID: PMC9530717.

R Core Team (2024). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

Rapoport D, Sagova-Mareckova M, Sedláček I, Provazník J, Králová S, Pavlinic D, Benes V, Kopecky J (2020). *Trebonia kvetii* gen. nov., sp. nov., an acidophilic actinobacterium, and

proposal of the new actinobacterial family Treboniaceae fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* Sep;70(9):5106-5114. doi: 10.1099/ijsem.0.004388. PMID: 32804604.

Rangel, D., Zafra, G. (2022). Diversidad microbiana asociada a *Espeletia* spp. en ecosistemas de alta montaña* Microbial diversity associated to *Espeletia* spp. in high mountain ecosystems. *Revista Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 20(2), 129–141. <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v20.n2.2022.1640>.

Rangel, J. O. (ed.). (2000). Colombia, diversidad biótica III: La región de vida paramuna. Facultad de Ciencias, Instituto de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Colombia e Instituto Humboldt. Bogotá, D. C.

Rani, N., Sangwan, P., Joshi, M., Sagar, A., & Bala, K. (2019). Microbes. *Microbial Wastewater Treatment*, 83–102. doi:10.1016/b978-0-12-816809-7.00005-1.

Reska, T., Pozdniakova, S., Borràs, S., Perlas, A., Sauerborn, E., Cañas, L., Schloter, M., Rodó, X., Wang, Y., Winkler, B., Schnitzler, J.-P., & Urban, L. (2024). Air monitoring by nanopore sequencing. *ISME Communications*, 4(1). <https://doi.org/10.1093/ismeco/ycae099>

Reyes-Ardila WL, Vélez-Martínez GA, Duque-Zapata JD, Rugeles-Silva PA, Muñoz Flórez JE, López-Álvarez D. Exploring soil bacterial and fungal communities in Colombian terrestrial ecosystems modulated by altitude-influenced factors. *PLoS One*. (2024) Dec

12;19(12):e0312842. doi: 10.1371/journal.pone.0312842. PMID: 39666620; PMCID:
PMC11637269

Rikuan Zheng, Chong Wang, Rui Liu, Ruining Cai, Chaomin Sun (2024) Physiological and metabolic insights into the first cultured anaerobic representative of Deep-sea Planctomycetes bacteria *eLife* 12:RP89874

Rivera, D. y Rodríguez, C. (2011). Guía divulgativa de criterios para la delimitación de páramos de Colombia. 2011. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial e Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. 68 págs.

Rojas, J., Varela, A., y Osher, K. (2018) Plan de conservación y manejo de las especies de frailejones presentes en el territorio CAR. 1 ed. Bogotá (Colombia), p.13-19.

Ruiz, D., Moreno, H. A., Gutiérrez, M. E., & Zapata, P. A. (2008). Changing climate and endangered high mountain ecosystems in Colombia. *Science of The Total Environment*, 398(1-3), 122–132. doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.02.038.

Ruiz, C., Restrepo, S. & Zambrano, M. (2016) Microbial and Functional Diversity within the Phyllosphere of *Espeletia* Species in an Andean High-Mountain Ecosystem. *Applied and Environmental Microbiology* 82(6):1807-1817.

Salazar, J. M., Calle, J., Pereira, S., Cordero, P., & Matovelle, C. (2023). Nitrite-Oxidizing Bacterial Strains Isolated from Soils of Andean Ecosystems and Their Potential Use in Nitrogen Reduction. *Sustainability (Switzerland)*, 15(12), 1–16. <https://doi.org/10.3390/su15129277>.

Sansinenea, E. (2019). *Bacillus* spp.: As plant growth-promoting bacteria. In *Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms: Discovery and Applications*; Singh, H.B., Keswani, C., Reddy, M.S., Sansinenea, E., García-Estrada, C., Eds.; Springer Nature: Singapore, pp. 225–237.

Sansinenea, E. (2021). Application of biofertilizers: Current worldwide status. In *Biofertilizers. Volume 1: Advances in Bio-Inoculants*; Rakshit, A., Meena, V.S., Parihar, M., Singh, H.B., Singh, A.K., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands; Woodhead Publishing: Sawston, UK, pp. 183–190.

Sarmiento, C., Osejo, A., Ungar, P., & Zapata, J. (2017). Páramos habitados: desafíos para la gobernanza ambiental de la alta montaña en Colombia. *Biodiversidad En La Práctica*, 2(1), 122–145.

Schirawski, J., & Perlin, M. (2018) Plant Microbe Interaction 2017-The Good, the Bad and the Diverse. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5): 1374. doi:10.3390/ijms19051374.

Seaton, F. M., George, P. B. L., Lebron, I., Jones, D. L., Creer, S., & Robinson, D. A. (2020). Soil textural heterogeneity impacts bacterial but not fungal diversity. *Soil Biology*.

Singh, D., Takahashi, K., Kim, M., Chun, J., & Adams, J. M. (2011). A Hump-Backed Trend in Bacterial Diversity with Elevation on Mount Fuji, Japan. *Microbial Ecology*, 63(2), 429–437. doi:10.1007/s00248-011-9900-1

Soil Science Division Staff. (2017). *Soil survey manual*. C. Ditzler, K. Scheffe, and H.C. Monger (eds.). USDA Handbook 18. Government Printing Office, Washington, D.C.

Soratur, A., Venmathi Maran, B. A., Kamarudin, A. S., & Rodrigues, K. F. (2024). Microbial Diversity and Nitrogen Cycling in Peat and Marine Soils: A Review. *Microbiology Research*, 15(2), 806-822. <https://doi.org/10.3390/microbiolres15020052>

Sreejata Bandopadhyay, Ashley Shade, Chapter 3 - Soil bacteria and archaea, Editor(s): Eldor A. Paul, Serita D. Frey, *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fifth Edition)*, Elsevier, 2024, Pages 41-74, ISBN 9780128229415, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822941-5.00003-X>

Steele, H. L., & Streit, W. R. (2005). Metagenomics: Advances in ecology and biotechnology. In *FEMS Microbiology Letters* (Vol. 247, Issue 2, pp. 105–111). <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.05.011>

Su, A.; Niu, S.; Liu, Y.; He, A.; Zhao, Q.; Paré, P.; Li, M.; Han, Q.; Zhang, J. (2017) Synergistic Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* (GB03) and Water Retaining Agent on Drought Tolerance of Perennial Ryegrass. *International journal of molecular sciences*, v. 18, p. 2651

Sukanya Das, Jintu Rabha, Diganta Narzary, Assessment of soil yeasts *Papiliotrema laurentii* S-08 and *Saitozyma podzolica* S-77 for plant growth promotion and biocontrol of *Fusarium* wilt of brinjal, *Journal of Applied Microbiology*, Volume 134, Issue 11, November 2023, lxad252, <https://doi.org/10.1093/jambio/lxad252>

Sun, S., Xue, R., Liu, M., Wang, L., & Zhang, W. (2023). Research progress and hotspot analysis of rhizosphere microorganisms based on bibliometrics from 2012 to 2021. *Frontiers in microbiology*, 14, 1085387. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1085387>

Tamames, J., & Puente-Sánchez, F. (2019). SqueezeMeta, A Highly Portable, Fully Automatic Metagenomic Analysis Pipeline. *Frontiers in Microbiology*, 9, 3349. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03349>.

The International Plant Names Index Collaborators. (2019). *Espeletia santanderensis* A.C.Sm., 1935. *International Plant Names Index. Checklist dataset* <https://doi.org/10.15468/uhllmw> accessed via GBIF.org on 2025-02-24.

Thomas, T., Gilbert, J., & Meyer, F. (2012). Metagenomics - a guide from sampling to data analysis. *Microbial informatics and experimentation*, 2(1), 3. <https://doi.org/10.1186/2042-5783-2-3>.

Tong, R., Wu, T., Jiang, B., Wang, Z., Xie, B., & Zhou, B. (2023). Soil carbon, nitrogen, and phosphorus stoichiometry and its influencing factors in Chinese fir plantations across subtropical China. *Frontiers in Forests and Global Change*, 5.

Vázquez-Campos X, Kinsela AS, Bligh MW, Payne TE, Wilkins MR, Waite TD (2021). Genomic Insights Into the Archaea Inhabiting an Australian Radioactive Legacy Site. *Front Microbiol.* Oct 18; 12:732575. doi: 10.3389/fmicb.2021.732575. PMID: 34737728; PMCID: PMC8561730.

Vélez-Martínez, G. A., Reyes-Ardila, W. L., Duque-Zapata, J. D., Rugeles-Silva, P. A., Muñoz Flórez, J. E., & López-Álvarez, D. (2023). Soil bacteria and fungi communities are shaped by elevation influences in Colombian forest and páramo natural ecosystems. *International Microbiology*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s10123-023-00392-8>.

Vives, V., de Ollas, C., Gómez-Cadenas, A. et al. Root exudates: from plant to rhizosphere and beyond. *Plant Cell Rep* 39, 3–17 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02447-5>.

Walkley, A. & Black, I. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37(1): pp 29-38.

Walsh CM, Gebert MJ, Delgado-Baquerizo M, Maestre FT, Fierer N. (2019). A global survey of mycobacterial diversity in soil. *Appl Environ Microbiol* 85:e01180-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.01180-19>.

Wang, W., Wang, S. X., & Guan, H. S. (2012). The antiviral activities and mechanisms of marine polysaccharides: An overview. *Marine Drugs*, 10(12), 2795–2816. <https://doi.org/10.3390/md10122795>.

Wang, Y., Li, Q. & Li, C. (2023) Organic fertilizer has a greater effect on soil microbial community structure and carbon and nitrogen mineralization than planting pattern in rainfed farmland of the Loess Plateau. *Front. Environ. Sci.* 11:1232527. doi: 10.3389/fenvs.2023.1232527.

Waschulin V, Borsetto C, James R, Newsham KK, Donadio S, Corre C, Wellington E. Biosynthetic potential of uncultured Antarctic soil bacteria revealed through long-read metagenomic sequencing (2021). *ISME J.* 2022 Jan;16(1):101-111. doi: 10.1038/s41396-021-01052-3. Epub Jul 12. PMID: 34253854; PMCID: PMC8692599.

Whittaker, R. H. (1972). Evolution and Measurement of Species Diversity. *Taxon*, 21(2/3), 213–251. <https://doi.org/10.2307/1218190>

Woese, C. R., Kandler, O., & Wheelis, M. L. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(12), 4576–4579. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.12.4576>

Wolinska, A., Kuzniar, A., & Galazka, A. (2020). Biodiversity in the Rhizosphere of selected winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars-genetic and catabolic fingerprinting. *Agronomy*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/agronomy10070953>

Wu, Y., & Yu, Y. (2023). Soil Carbon, Nitrogen and Phosphorus Fractions and Response to Microorganisms and Mineral Elements in *Zanthoxylum planispinum*.

Xu, L. (2011). Soil fungal communities associated with plant health as revealed by next-generation sequencing.

Xue, L., Ren, H., Li, S., Leng, X., & Yao, X. (2017). Soil bacterial community structure and co-occurrence pattern during vegetation restoration in karst rocky desertification area. *Frontiers in Microbiology*, 8(DEC), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02377>.

Yeates, G.W. Nematodes as soil indicators: functional and biodiversity aspects. *Biol Fertil Soils* 37, 199–210 (2003). <https://doi.org/10.1007/s00374-003-0586-5>

Zahran, H.H. (1999). Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63(4), 968-989.

Zhalnina, K., De Quadros, P. D., Gano, K. A., Davis-Richardson, A., Fagen, J. R., Brown, C. T., Giongo, A., Drew, J. C., Sayavedra-Soto, L. A., Arp, D. J., Camargo, F. A. O., Daroub, S. H., Clark, I. M., McGrath, S. P., Hirsch, P. R., & Triplett, E. W. (2013). *Ca. nitrososphaera* and *bradyrhizobium* are inversely correlated and related to agricultural practices in long-term field experiments. *Frontiers in Microbiology*, 4(MAY), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00104>.

Zapata, A. (2021). Páramos andinos: Ecología, Biodiversidad y contribuciones al bienestar humano. 1–94.

Zárate, R., Beltrán, Y. I., & Murallas, D. (2022). Socioenvironmental conflicts and social representations surrounding mining extractivism at Santurban. *Scientific Reports*, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14086-0>.

Zomer, M. A., & Ramsay, P. M. (2018). Espeletia giant rosette plants are reliable biological indicators of time since fire in andean grasslands. *Plant Ecology*, 219(1), 79–88. <https://doi.org/10.1007/s11258-017-0779-x>.

Zheng P, Wei Z, Zhou Y, Li Q, Qi Z, Diao X, Wang Y, 2022. Genomic Evidence for the Recycling of Complex Organic Carbon by Novel Thermoplasmatota Clades in Deep-Sea Sediments. *mSystems* 7:e00077-22. <https://doi.org/10.1128/msystems.00077-22>

Zhou J, Smith JA, Li M, Holmes DE. Methane production by Methanotherix thermoacetophila via direct interspecies electron transfer with Geobacter metallireducens. *mBio*. 2023 Aug 31;14(4):e0036023. doi: 10.1128/mbio.00360-23. Epub 2023 Jun 12. PMID: 37306514; PMCID: PMC10470525.

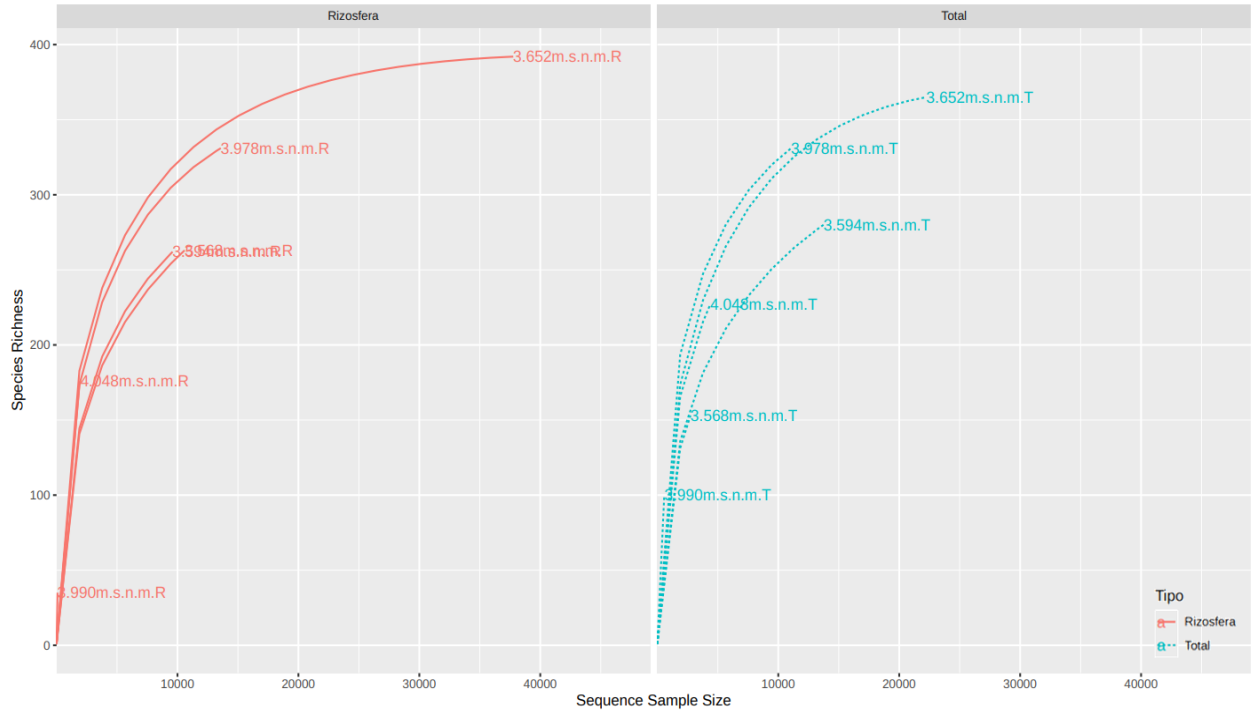
Apéndices

Apéndice A Mapa de calor de los coeficientes de correlación de Pearson entre las variables fisicoquímicas evaluadas en las muestras de suelo del páramo de Santurbán.

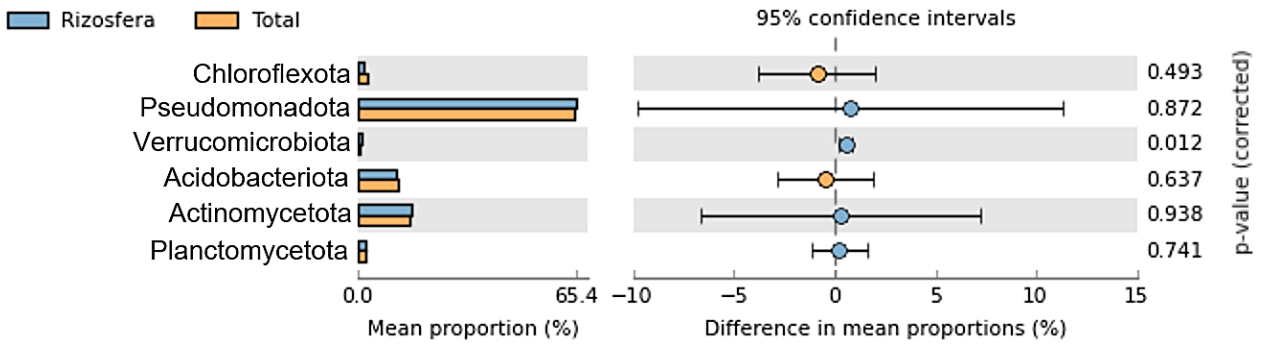


Nota. Las X sobre los coeficientes de correlación señalan ausencia de significancia estadística (p>0.05).

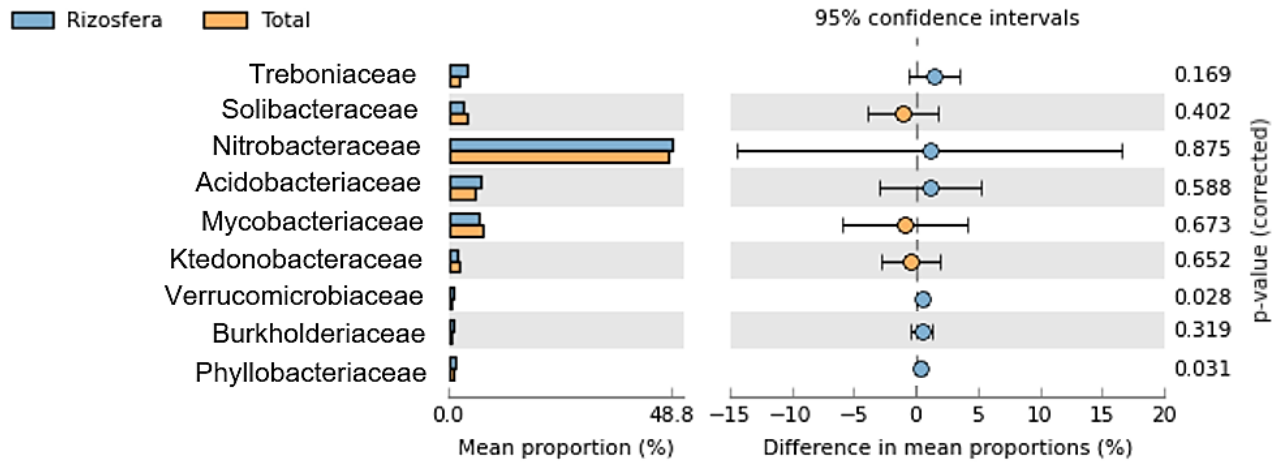
Apéndice B *Curvas de rarefacción estimadas para cada muestra analizada según el tipo de suelo rizosférico y total.*



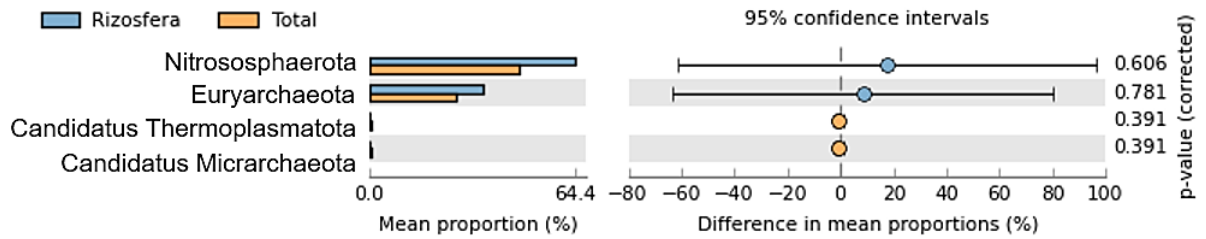
Apéndice C *Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades bacterianas presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de filo.*



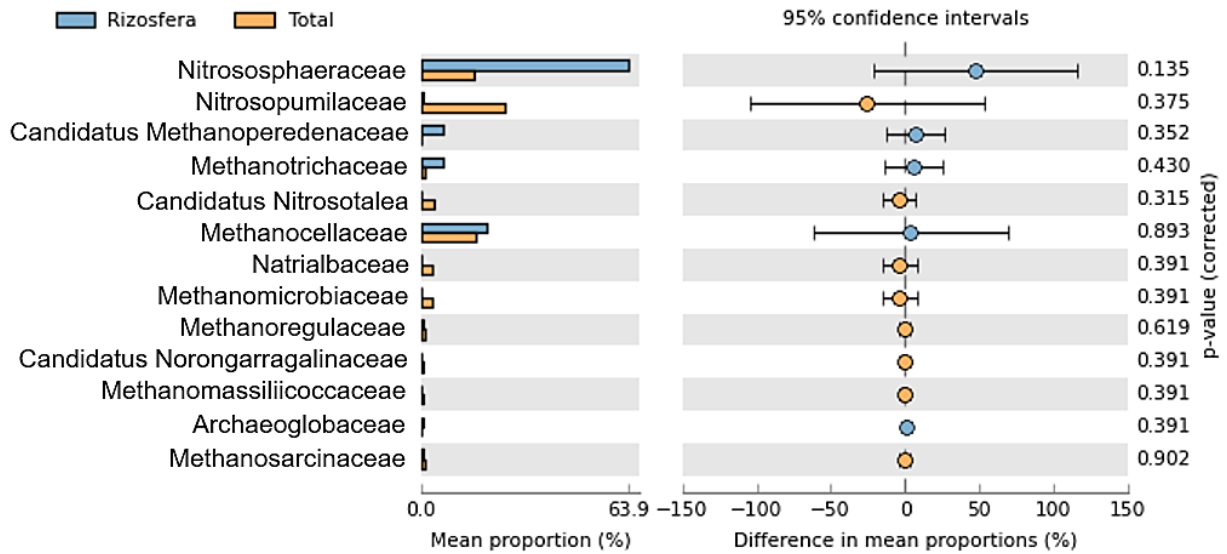
Apéndice D *Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades bacterianas presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de familia.*



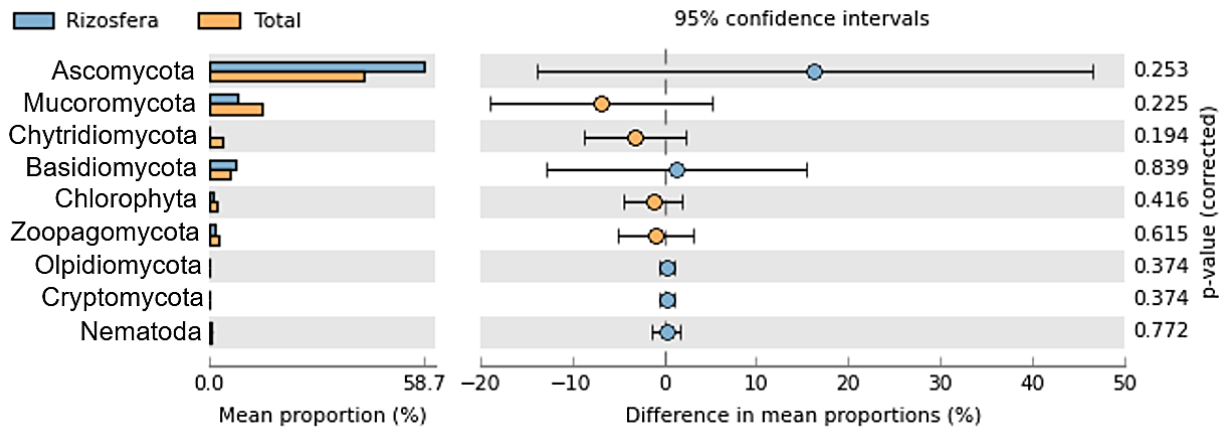
Apéndice E *Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades arqueales presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de filo.*



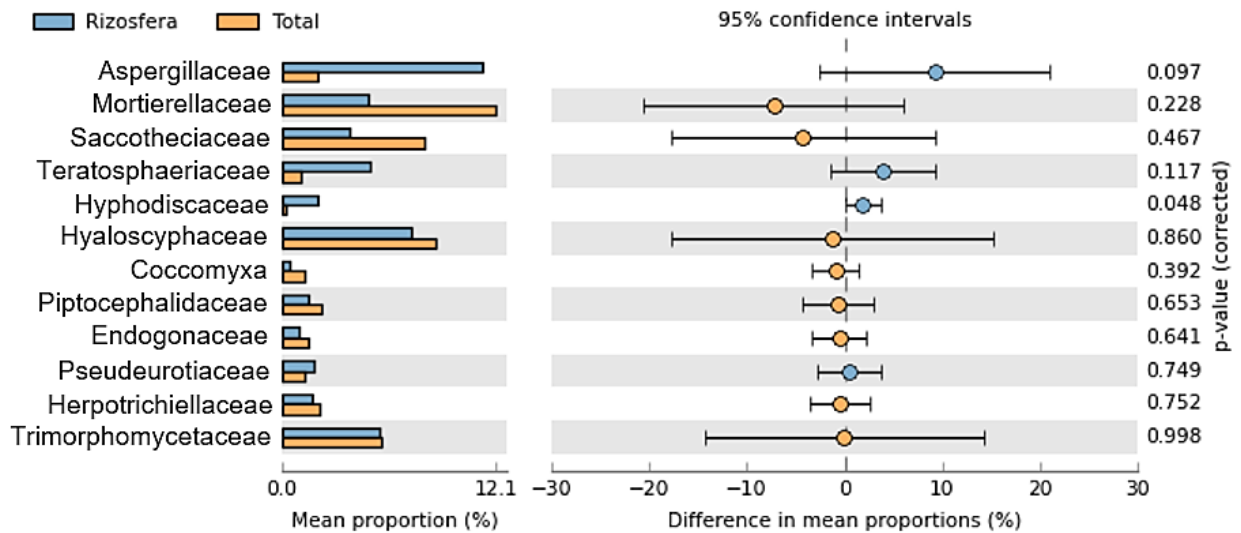
Apéndice F *Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades arqueales presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de familia.*



Apéndice G *Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades eucariotas presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de filo.*



Apéndice H *Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades eucariotas presentes en las muestras de suelo rizosférico y total a nivel taxonómico de familia.*



Apéndice I *Análisis estadístico de las diferencias en las comunidades microbianas presentes en las muestras de suelo rizosféricas de *Espeletia conglomerata* y *Espeletia santanderensis*.*

