

RESUMEN EXPANDIDO EN CASTELLANO

Autora: Julia Jimeno Alda

Introducción

Los ecosistemas son entidades dinámicas y complejas que integran plantas, animales y microorganismos, los cuales interactúan entre sí y con el entorno abiótico que les rodea (Mace et al. 2012). Las comunidades microbianas del suelo son componentes fundamentales de los ecosistemas terrestres y controlan en gran medida su funcionalidad. Tal es la importancia de los microorganismos, que las primeras moléculas de oxígeno fueron producidas por cianobacterias marinas hace aproximadamente 3.5 mil millones de años (Singh et al. 2010). Además, la incógnita sobre cómo los organismos interactúan e influyen en los ecosistemas está recientemente en el punto de mira (De Long et al. 2019).

Así, la microbiota edáfica desempeña un papel crucial en la regulación de los procesos biogeoquímicos como el ciclado y almacenamiento de nutrientes, el intercambio de gases entre el suelo y la atmósfera y en la estructuración de las comunidades vegetales (Bardgett y Van der Putten, 2014). Es más, los microorganismos desempeñan un papel clave en la regulación de las concentraciones atmosféricas de gases de efecto invernadero, incluidos el dióxido de carbono (CO_2), el metano (CH_4) y el óxido nitroso (N_2O), que tienen un gran impacto en la transferencia de energía a lo largo de los compartimentos de los ecosistemas (Singh et al. 2010). Por ejemplo, el ciclo del metano está gobernado principalmente por la metanogénesis microbiana y las bacterias metanotróficas desempeñan un papel crítico (Feng et al. 2021). Otro ejemplo de cómo los microorganismos influyen en las funciones ecosistémicas es el del óxido nitroso, resultado de la nitrificación y desnitrificación microbiana del nitrógeno disponible en los suelos (Hayatsu et al. 2021).

Por último, la comunidad microbiana también tiene un papel clave en la regulación del ciclo del dióxido de carbono. A pesar de que la absorción de CO_2 de la atmósfera es realizada principalmente por las plantas superiores a través del proceso llamado producción primaria neta, los microorganismos también desempeñan un papel

fundamental en este proceso. Estos contribuyen en gran medida al intercambio de carbono entre los sistemas superficiales y subterráneo, a través de la regulación de los procesos de descomposición y respiración heterotrófica que suceden en el suelo. También influyen indirectamente a la regulación del ciclo del carbono a través de su papel como simbiontes o patógenos de las plantas o mediante la modificación de la disponibilidad de nutrientes en el suelo. Tal importancia tiene el papel de los microorganismos en el ciclo del carbono que aproximadamente 120 mil millones de toneladas de carbono son captadas anualmente por la producción primaria en tierra firme, y alrededor de 119 mil millones de toneladas de carbono son emitidas, mitad por la respiración autotrófica (principalmente de plantas) y mitad por microorganismos heterotróficos del suelo (Singh et al. 2010).

Desde un punto de vista trófico, los organismos que forman parte de las redes tróficas del suelo también afectan directa e indirectamente a las comunidades superficiales. Las plantas (productores) proporcionan tanto el carbono orgánico necesario para el funcionamiento del subsistema de descomponedores como los recursos para los organismos asociados a las raíces, como herbívoros radiculares, patógenos y mutualistas simbióticos. El subsistema de descomponedores, a su vez, descompone el material vegetal muerto e influye indirectamente el crecimiento de las plantas y la composición de la comunidad al regular el suministro de nutrientes disponibles en el suelo. Los organismos asociados a las raíces y sus consumidores influyen más directamente en las plantas, y también en la calidad, dirección y flujo de energía y nutrientes entre las plantas y los descomponedores. Esta interacción crea una retroalimentación planta-suelo crucial para el funcionamiento del ecosistema (Wardle 2004).

Sin embargo, entender cómo funcionan y se acoplan la parte superficial y subterránea de los ecosistemas puede llegar a ser un desafío, ya que frecuentemente, las condiciones del suelo o del sitio son predictores más precisos de los patrones de comunidad observados que la distancia geográfica por sí sola. Además, las propiedades del suelo superficial (por ejemplo, pH, concentración de carbono orgánico, salinidad, textura y concentración de nitrógeno disponible) presentan una enorme variabilidad. Otro problema a la hora de estudiar las poblaciones microbianas del suelo es su baja densidad, ya que, a pesar de las grandes cantidades de biomasa microbiana, típicamente menos del 1% de la superficie disponible del suelo está ocupada por microorganismos, lo que sugiere que existen limitaciones bióticas o abióticas en la colonización microbiana en el suelo (Fierer 2017). Por otra parte, aunque los hongos y las bacterias constituyen los grupos más abundantes

en los suelos terrestres, las arqueas, pesar de su baja abundancia, desempeñan funciones clave como la metanogénesis o la nitrificación (Singh et al. 2010).

Estudios recientes que exploran las relaciones entre los sistemas aéreos y subterráneos sugieren que los rasgos funcionales de las plantas pueden servir como un vínculo crucial, actuando como integradores entre estos sistemas. Las plantas conectan los ambientes espacialmente distintos ya que sus órganos se distribuyen tanto en la parte superficial como subterránea de los ecosistemas (Wardle 2004). Esta conexión se lleva a cabo a través de sus partes aéreas y subterráneas, que operan de manera coordinada (De Deyn, 2017). Esta interacción ocurre dentro de la rizosfera, que comprende las raíces de las plantas y el suelo circundante influenciado por la actividad radicular, impactando directamente a los microorganismos (Hartmann et al. 2008).

Además, los rasgos de las plantas encapsulan las características evolutivas, ecológicas, fisiológicas y morfológicas que definen la identidad de las especies vegetales (Cadotte et al. 2011; Colin et al. 2019). Así, ciertos conjuntos de rasgos de las plantas nos permiten describir procesos biológicos fundamentales y dinámicas generales de la comunidad (McGill et al. 2006; Wright et al. 2004; Adler et al. 2013). En este sentido, los rasgos de las plantas están intrínsecamente vinculados a la cantidad y calidad del carbono orgánico, así como a la biodisponibilidad de nutrientes (Colin et al. 2019), desempeñando un papel clave en la modificación de la composición, cantidad y accesibilidad del carbono y otros nutrientes en el suelo. Estos cambios en la disponibilidad de nutrientes, a su vez, influyen significativamente en las comunidades microbianas del suelo y en el funcionamiento general del ecosistema (De Deyn et al. 2008). Especialmente, los rasgos asociados a las hojas (de Vries et al. 2012; Grigulis et al. 2013), raíces (Klumpp et al. 2009; Legay et al. 2014) y la eficiencia en la absorción de nutrientes (Moreau et al. 2015) tienen un impacto clave en la actividad microbiana del suelo, su abundancia y su composición.

Por último, los rasgos funcionales reflejan el comportamiento de las plantas según determinadas características relacionadas con el crecimiento, la reproducción y la supervivencia. En este contexto, cuando las plantas interactúan con su entorno, pueden desarrollarse distintos mecanismos de respuesta en ciertos rasgos que tiene la capacidad de responder ante cambios ambientales, como los causados por plantas vecinas (rasgos de respuesta en el sentido de Violle et al. 2007) debido a diferencias en los rasgos

y sus jerarquías. Además, la capacidad de una planta para influir en el comportamiento de sus vecinas está estrechamente vinculado a las diferencias funcionales (Semchenko et al. 2013). Estas diferencias funcionales se han observado que operan también en los sistemas subterráneos (Valverde-Barrantes 2013) llegando a influir en las funciones del ecosistema mediadas por microorganismos del suelo (Gould 2016), determinando los mecanismos de interacción entre las partes aéreo y subterránea de las comunidades ecológicas (Carmona et al. 2019).

Por lo tanto, a través de esta tesis, nos proponemos abordar la siguiente pregunta: ¿Cómo podemos mejorar nuestra comprensión de las funciones de la microbiota en los ecosistemas a través de su relación con los rasgos de las plantas?

Nos basamos en las siguientes afirmaciones extraídas de la literatura:

- Los rasgos de las plantas son uno de los principales factores bióticos que regulan las dinámicas y procesos de los ecosistemas (Hooper 2005).
- El impacto del factor "identidad de la especie vegetal" se refleja en los rasgos funcionales de una planta, determinando dónde pueden prosperar y cómo interactúan con su entorno (Cadotte et al. 2011).
- Los rasgos de las plantas se ven afectados por la coexistencia entre diferentes organismos, lo que finalmente afecta a los procesos del ecosistema (Violle et al. 2007).
- Las interacciones planta-microbiota son un factor clave en la estructuración de las comunidades naturales (De Deyn, 2017), además un regulador de los ciclos biogeoquímicos del ecosistema (Lambers et al. 2009).

La hipótesis principal de la tesis propone que los rasgos específicos de las plantas, o sus combinaciones, tienen un impacto considerable en las comunidades microbianas del suelo y en las funciones ecosistémicas asociadas, particularmente aquellas relacionadas con la descomposición de la materia orgánica y el ciclado de nutrientes.

Para responder a la pregunta anterior, se propone un marco de referencia basado en conjuntos de rasgos de plantas clave y un análisis multitrófico.

Justificación de la tesis y objetivos generales

El objetivo específico del Capítulo 1 fue examinar el papel de las interacciones planta–microbiota del suelo en la mediación de las funciones ecosistémicas (FEs), partiendo de la premisa de que los rasgos funcionales de las plantas son predictores fiables de las EFs mediadas por microorganismos del suelo. Se quiso indagar en cómo las condiciones experimentales influyen en la relación planta–EFs, qué métricas de magnitud de rasgos o de diversidad de rasgos describen mejor dichas funciones, y cómo el tipo de rasgo y su ubicación espacial afecta tanto a los depósitos de materiales como a las tasas de procesos.

En el Capítulo 2 profundizamos en los mecanismos detrás del comportamiento de las plantas a través sus rasgos funcionales. Dado que el resultado de la interacción entre dos especies dependerá de las diferencias funcionales entre los dos individuos, planteamos la hipótesis de que la distancia funcional entre especies podría afectar el rendimiento de las plantas de manera simultánea durante las interacciones heteroespecíficas.

Finalmente, el Capítulo 3 describe los efectos provocados por el resultado de la interacción interespecífica entre plantas sobre los microorganismos asociados. Los efectos sobre la microbiota del suelo se miden a través de la respiración heterotrófica, una función ecosistémica clave vinculada al metabolismo del microbioma del suelo y al ciclo del carbono. Así, la naturaleza de este fenómeno radica en la influencia extendida de las diferencias funcionales entre plantas en interacción sobre los sistemas subterráneos.

Métodos generales

Para obtener los resultados expuestos en esta tesis, desarrollamos: una base de datos denominada “*Rasgos de plantas y funciones ecosistémicas mediadas por la microbiota edáfica*”; un ensayo de germinación previo a la fase experimental; dos experimentos en invernadero, denominados “*Experimento de interacción de plantas*” y “*Experimento de caracterización*”; y un ensayo de incubación.

Base de datos “Rasgos de plantas y funciones ecosistémicas mediadas por la microbiota edáfica”

Realizamos un meta-análisis para establecer correlaciones entre los rasgos de las plantas y las funciones ecosistémicas mediadas por los microorganismos del suelo. Se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica desde septiembre de 2019 hasta marzo de 2024. Durante este período, se añadieron a la base de datos los estudios que relacionaban los rasgos de las plantas con propiedades ecosistémicas encontradas en “The Web of Science (WoS-FECYT)”. Estas funciones ecosistémicas son mediadas por microorganismos del suelo. Los términos de búsqueda utilizados fueron una combinación de términos relacionados (por ejemplo, descomposición de materia orgánica Y rasgo de planta Y microorganismos del suelo).

El procedimiento seguido consistió en primer lugar en leer los títulos y resúmenes de las publicaciones en una preselección. Posteriormente, analizamos a fondo el artículo completo y extrajimos las relaciones estadísticas de los datos del manuscrito. Los criterios aplicados en la selección de los artículos consultados fueron: a) la existencia de una relación estadística entre los rasgos de las plantas y las propiedades ecosistémicas mediadas por microorganismos del suelo; b) basándonos en los valores estadísticos proporcionados en el estudio, determinamos la correlación (valor R), el signo de la correlación (+/-), el nivel de significancia (valor P) y el tamaño de la muestra (N). El método de extracción podía ser directo (valores de correlación contenidos en el artículo) o indirecto (datos suplementarios proporcionados que nos permitieron calcular R y P); c) los experimentos de monocultivo fueron excluidos automáticamente; d) se excluyeron las relaciones entre rasgos de plantas y funciones ecosistémicas sin mediación del microbioma del suelo.

En total, obtuvimos 2,455 registros de relaciones entre rasgos de plantas y propiedades ecosistémicas, provenientes de 33 artículos científicos.

Para la interpretación de la información obtenida, clasificamos los rasgos de las plantas según características relevantes (morfológicos/fisiológicos, aéreos/subterráneos, hoja/tallo/raíz), así como las funciones ecosistémicas (flujos, reservorios, procesos de descomposición y respiración, biomasa microbiana, ciclo de nutrientes, acumulación de nutrientes en el suelo y acumulación de materia orgánica en el suelo).

Además, la base de datos recopiló otra información relevante para un análisis posterior, como la forma de vida (árbol, arbusto, mix, herbácea), el tipo de bioma (bosque de hoja ancha y mixto; bosques mediterráneos, matorrales y arbustos; desierto y matorrales xerófitos), la clasificación climática de Köppen del sitio de estudio y el tipo de diseño experimental (campo, invernadero o laboratorio).

Ensayo de germinación

Sitios de estudio y diseño experimental

Se recolectó material biológico germinativo en ubicaciones naturales y se procesó para obtener semillas viables. Se obtuvieron cuarenta y dos especies de hierbas y arbustos mediterráneos entre mayo y septiembre de 2020:

Alyssum granatense, Antirrhinum graniticum, Andryala integrifolia, Aphyllanthes monspeliensis, Asphodelus ramosus, Bellardia trixago, Bromus tectorum, Capsella bursa-pastoris, Cistus ladanifer, Dactylis glomerata, Dianthus lusitanicus, Echium vulgare, Filago lutescens, Helichrysum stoechas, Hirsfeldia incana, Hordeum murinum, Jasione montana, Lavandula pedunculata, Linaria spartea, Lupinus angustifolius, Papaver rhoeas, Periploca angustifolia, Piptatherum miliaceum, Plantago coronopus, Plantago lagopus, Poterium sanguisorba, Reseda luteola, Rumex induratus, Santolina rosmarinifolia, Sedum album, Stipa pennata, Artemisia assoana, Thapsia villosa, Thymus mastichina, Thymus vulgaris, Thymus zygis, Trifolium angustifolium, Trifolium arvense, Trifolium hirtum, Vicia villosa, Vulpia myuros, Xolantha guttata.

Los puntos de muestreo fueron: Torreloredones, Madrid, España (40.59, -3.93) y Sierra Ministra, Castilla-La Mancha, España (41.02, -2.37) (Figura 2). Estas áreas se caracterizan por litologías graníticas y calizas de estepas semiáridas frías (Bsk, clasificación climática de Köppen). Estas regiones presentan litologías graníticas y formaciones de caliza, y su clima se describe como estepa fría semiárida (Bsk) según la clasificación climática de Köppen.

Las especies recolectadas se sembraron en bandejas de 30 alveolos. Dependiendo del tamaño de la semilla, se sembraron 50 semillas pequeñas y 2 semillas grandes por célula. Cada bandeja contenía dos especies diferentes.

Experimento de interacción de plantas

Sitio de estudio y diseño experimental

El objetivo de este experimento fue el estudio de las interacciones entre plantas en combinaciones heteroespecíficas y conspecíficas para medir los efectos de los vecinos sobre los rasgos de las plantas a distintas distancias funcionales.

En este experimento, se seleccionaron diez especies de hierbas y arbustos mediterráneos de diversos linajes evolutivos de las cuarenta y dos especies originales del ensayo de germinación. Estas especies cubren un amplio espectro de diferencias funcionales y presentaron las tasas de germinación más altas:

Trifolium angustifolium (Fabaceae), *Vicia villosa* (Fabaceae), *Bromus tectorum* (Poaceae),
Hordeum murinum (Poaceae), *Andryala integrifolia* (Asteraceae), *Helichrysum stoechas*
(Asteraceae), *Thymus mastichina* (Lamiaceae), *Micropus erectus* (Asteraceae), *Hirschfeldia*
incana (Brassicaceae), *Plantago coronopus* (Plantaginaceae).

El sustrato utilizado en los experimentos de invernadero fue recolectado de la Estación de Investigación Agrícola de La Canaleja, situada en Alcalá de Henares, Madrid, España (40.51, -3.31). Esta región se caracteriza por un clima semiárido con lluvias bajas e irregulares, promediando 353 mm anuales. El tipo de suelo se clasifica como Calcic Haploxeralfs, con una textura franco-arenosa y un contenido mínimo de carbono orgánico de 7.5 g kg⁻¹ en la capa superficial. Además, el suelo presenta baja salinidad (0.123 dS/m) y valores de pH típicos de suelos neutros (7.9) (Martín-Lammerding et al. 2015). Las muestras de suelo fueron recolectadas en febrero de 2021 a una profundidad de 5 a 20 cm para evitar el banco de semillas cerca de la superficie, y luego se tamizaron a través de un tamiz de 5 mm. Para reducir la actividad microbiana, el suelo fue sometido a calentamiento a 120°C durante 1 hora y mezclado con arena de sílice en una proporción de 9:1 (volumen/volumen). Las macetas (12 × 25 × 18 cm) se llenaron con esta mezcla (5.7 l) (Figura 4, Figura 5, Figura 6).

Sembramos 300 macetas, cubriendo todas las combinaciones posibles de pares con 10 especies. En total, obtuvimos 45 combinaciones de pares heteroespecíficos y 10 combinaciones de pares conspecíficos, replicados 6 y 3 veces respectivamente, para incorporar la variabilidad intraespecífica en respuesta a las plantas vecinas. Este diseño resultó en 600 plantas; 540 individuos fueron plantados en 270 macetas con un vecino heteroespecífico y 60 individuos en 30 macetas con un vecino conspecífico. No obstante, se excluyeron 50 macetas (100 individuos) del análisis debido a la muerte de las plantas

antes de la cosecha. Los rasgos funcionales se midieron junto con el “Experimento de caracterización de plantas”.

Experimento de caracterización de plantas

Diseño experimental

Este experimento se realizó de manera concurrente con el “Experimento de interacción de plantas”, en el mismo invernadero y utilizando el mismo sustrato y las mismas especies. El objetivo de este experimento fue calcular la distancia funcional entre los pares conspecíficos de las especies del “Experimento de interacción de plantas” para caracterizar las diferencias funcionales.

Se midieron veintinueve rasgos funcionales de plántulas y plantas adultas elegidos porque son conocidos por reflejar las características morfo-fisiológicas y de fitness que determinan el comportamiento de las plantas ante interacciones con el medio. De esta forma, 60 individuos del ensayo de germinación fueron trasplantados a treinta macetas, 2 individuos por maceta y 3 macetas por especie. En consecuencia, medimos los rasgos de 6 individuos por cada una de las 10 especies del experimento. Los rasgos de las plántulas (es decir, individuos con cotiledones) fueron medidos durante el primer mes desde que emergiera el individuo. Los rasgos de los individuos adultos se midieron cuando los individuos alcanzaron la madurez, junto con el “Experimento de interacción de plantas”.

Ensayo de incubación

Este ensayo se llevó a cabo en el laboratorio del “Centro de Investigaciones sobre la Desertificación (CIDE)”. El objetivo de este ensayo fue comprobar cómo la respiración basal del suelo (RB) es afectada por los cambios en los rasgos de las plantas debido a una interacción entre ellas. En este ensayo se midió la acumulación de CO₂ en muestras de suelo extraído de la rizosfera de una planta que ha estado en interacción con un vecino, junto con la Humedad Gravimétrica (HG) del suelo matriz correspondiente. Una vez medidos estos parámetros, se calculó la tasa de Respiración Basal (RB).

Para medir la HG del suelo matriz, el cual supusimos que es la misma que la del suelo rizoférico, se pusieron las muestras de 5g en cilindros de vidrio con fondos porosos, se secaron durante 24 horas a 105 °C y se dejaron reposar durante 15 minutos en un deshidratador de laboratorio. Después, los cilindros de vidrio con suelo seco se volvieron a pesar.

Para medir el flujo de CO₂ acumulado, colocamos 2g de suelo rizoférico en contenedores herméticos de 10 ml tapados con tapones de silicona e igualamos con agua destilada hasta que todas las muestras alcancen la misma HG, la de la muestra más húmeda. Posteriormente, incubamos en oscuridad a 28 °C durante 7 días. El CO₂ acumulado se utilizó utilizando una jeringa que inyectaba el gas extraído en una máquina de monitoreo de dióxido de carbono 5700 (Illinois Instruments, EE. UU.)

Análisis estadístico

Capítulo 1

Para llevar a cabo un meta-análisis, transformamos los estadísticos extraídos de los artículos científicos en Tamaño del Efecto (Zr). Las correlaciones significativas y no significativas (valor R) y el tamaño de la muestra (N) extraídos de los estudios fueron escalados con la función `escalc` del paquete `metafor`. El método "ZCOR" aplicó el "coeficiente de correlación transformado de Fisher r-to-z" (Fisher, 1921). El resultado de esta conversión fueron los valores Zr y las varianzas asociadas (Vi). Con Zr y Vi desarrollamos un modelo de meta-análisis de efectos mixtos utilizando la función `rma.mv` del paquete `metafor`. Estos modelos ofrecen una amplia selección de funciones para realizar meta-análisis. Además, permite la incorporación de diferentes niveles en las variables de datos (denominadas "moderadores") como predictores del modelo, lo que permite el ajuste de modelos de meta-regresión (de efectos mixtos) (Viechtbauer 2010).

Capítulo 2

Antes de iniciar el "Experimento de interacción de plantas" y el "Experimento de caracterización de plantas", calculamos el porcentaje de germinación y la tasa media de germinación (t_{50}) para seleccionar las diez mejores especies de las 42 disponibles en el Ensayo de germinación. Estas medidas son estimaciones de la viabilidad de las semillas de una población (Ghaleb et al. 2022). El porcentaje de germinación se calcula como el número de semillas que germinan dividido por el número total de semillas sembradas. Al final de ambos experimentos, se midieron los rasgos aéreos, subterráneos, reproductivos y morfofisiológicos. Posteriormente, calculamos el Cambio Relativo (RC) de los rasgos de las plantas para cuantificar cómo variaron los rasgos por el efecto de un vecino heterospecífico en comparación con uno conspecífico.

Después, con las mediciones de rasgos del "Experimento de caracterización de plantas", calculamos la Distancia Funcional (FD) entre cada par de especies. Utilizamos la función

gowdist del paquete FD para R (Laliberté et al. 2014). Esta función permite la estimación de FD considerando tanto rasgos cuantitativos como categóricos. Gowdist emplea el coeficiente de similitud de Gower (1971), descrito por Podani (1999), y luego lo transforma en un coeficiente de disimilitud.

Finalmente, aplicamos Modelos Lineales Mixtos (glmmTMB) para probar la relación entre la Distancia Funcional (FD) de los individuos en interacción y el Cambio Relativo (RC) experimentado por la planta afectada por el vecino. Los análisis se realizaron con la función glmmTMB del paquete glmmTMB para R (Brooks et al. 2017).

Capítulo 3

Primero se calcularon las tasas de respiración basal (BR). Estas tasas se calcularon como el contenido promedio de carbono mineralizado diariamente por kilogramo de suelo ($\text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) a lo largo de la incubación, según el método propuesto por Nannipieri et al. (1990). Luego, para evaluar si las tasas de BR están influenciadas por la identidad de las plantas vecinas, calculamos el Cambio Relativo de BR (RC(BR)). Este parámetro cuantifica la variación de la tasa de BR debido a la presencia de un vecino heteroespecífico.

A continuación, calculamos la distancia funcional de las especies que interactuaron y cuyo resultado de la interacción afectó la respiración del suelo. Las medidas de los rasgos de plantas se obtuvieron del “Experimento de interacción”, y con ellas se caracterizaron distancias funcionales entre las plantas que interaccionaron de acuerdo con distintos grupos de rasgos: aéreos; subterráneos, nutrientes, morfológicos y el conjunto total. Utilizamos la función gowdist del paquete FD para calcular las distancias funcionales. Con estas distancias funcionales pudimos evaluar la influencia de las diferencias funcionales entre las plantas en la respiración suelo.

Para ello aplicamos Modelos Lineales Mixtos (LMER), utilizando la función lmer del paquete lmerTest para R.

Resultados

En conjunto, los resultados de esta tesis demuestran que los rasgos de plantas contribuyen a la regulación del funcionamiento ecosistémico a lo largo de diferentes

niveles de organización biológica. Mediante un enfoque multiescalar que abarca análisis a nivel de comunidad, especie e individuo, esta tesis revela que la variabilidad de rasgos y su localización espacial determinan la intensidad y la dirección tanto de las interacciones planta–planta como de las planta–suelo, moldeando en última instancia los procesos ecosistémicos. A escala de comunidad, la diversidad funcional de las plantas, seguida de las medidas de magnitud de rasgos, emerge como un descriptor clave de las tasas de procesos y flujos ecosistémicos mediados por los microorganismos del suelo; a escala de especie, la distancia funcional entre plantas coexistentes determina los resultados de las interacciones de vecindad; y a nivel individual, estas relaciones mediadas por rasgos se extienden a los microorganismos del suelo, influyendo en la respiración del suelo rizosférico. En conjunto, estos hallazgos respaldan una comprensión mecanística y basada en rasgos de cómo las plantas ejercen un control “top-down” sobre el funcionamiento ecosistémico a través de diferentes escalas ecológicas.

A continuación, presentamos los resultados principales detallados en cada capítulo:

Capítulo 1

Los rasgos de las plantas mostraron una relación positiva y significativa con las funciones ecosistémicas mediadas por microorganismos, siendo la diversidad de rasgos un mejor predictor que las métricas de magnitud. Los rasgos explicaron más eficazmente las tasas de procesos y flujos ecosistémicos de corto plazo que los reservorios (procesos de más largo plazo). Los rasgos fisiológicos ejercieron efectos más amplios que los rasgos morfológicos, explicando significativamente una mayor variedad de funciones relacionadas con el contenido de materia orgánica, nutrientes y biomasa microbiana, así como con el ciclo del carbono y de los nutrientes. Los rasgos aéreos regularon principalmente el almacenamiento de nutrientes mediante la acumulación de biomasa y la incorporación de materia orgánica, mientras que los rasgos subterráneos controlaron el ciclo del carbono y los nutrientes a través de la actividad radical y las interacciones en la rizosfera.

Capítulo 2

Los resultados de las interacciones planta–planta mostraron que las plantas vecinas tuvieron efectos sobre la mayoría de los rasgos analizados. Algunos rasgos aumentaron cuando las plantas crecieron con un vecino heteroespecífico en comparación con uno

conespecífico, mientras que otros disminuyeron. Considerando solo la identidad de las especies que interaccionan, las respuestas de los rasgos frente a vecinos heteroespecíficos fueron inconsistentes, con valores que aumentaron o disminuyeron según la combinación de especies, sin un patrón claro. Cuando se incluyó la distancia funcional entre las especies que interaccionaban, la mayoría de los rasgos aumentaron a medida que disminuían las diferencias funcionales. Este patrón fue más evidente para la biomasa aérea y para los contenidos de nutrientes en rasgos tanto aéreos como subterráneos. En contraste, el peso radical fue el único rasgo que aumentó con mayor distancia funcional, mostrando una tendencia opuesta. En conjunto, estos resultados indican que la jerarquía de rasgos ejerce una influencia más fuerte que la disimilitud de rasgos al determinar la dirección y magnitud de las interacciones interespecíficas planta-planta.

Capítulo 3

Los resultados de las interacciones planta-microorganismos del suelo estuvieron influenciados por las interacciones planta-planta, que afectaron significativamente la respiración rizosférica, una función ecosistémica clave mediada por los microorganismos del suelo y vinculada a la descomposición de materia orgánica. Las tasas de respiración en la rizosfera variaron cuando un individuo creció con un vecino heteroespecífico en comparación con uno conespecífico. Al considerar únicamente la identidad del individuo, las respuestas de respiración variaron entre combinaciones de individuos sin mostrar un patrón consistente. Sin embargo, aparecieron efectos claros cuando se consideró la distancia funcional. Los individuos que crecieron con vecinos funcionalmente distintos (especialmente aquellos que diferían en rasgos relacionados con el contenido en nutrientes y en rasgos aéreos) presentaron tasas más altas de respiración rizosférica que las plantas emparejadas con conespecíficos. Así, la disimilitud funcional entre individuos vecinos promovió la respiración rizosférica, no la jerarquía funcional de rasgos.

Discusión

Los ecosistemas son intrínsecamente complejos, impulsados por interacciones intrincadas entre especies, genotipos y factores ambientales (Mace et al., 2012). Estudiar su estructura y dinámica mediante el análisis de componentes específicos ha sido durante mucho tiempo una estrategia útil para comprender la red de interacciones que sostienen los procesos y funciones ecosistémicas (Brown et al., 2001). En este marco, y desde una perspectiva comunitaria, los rasgos funcionales de las plantas desempeñan múltiples roles en la regulación del funcionamiento de los ecosistemas, influyendo en prácticamente todos los grandes ciclos biogeoquímicos (Chapin, 2003). Sin embargo, más allá de la influencia ampliamente reconocida de las plantas, los microorganismos del suelo también emergen como un factor determinante de los procesos ecosistémicos, ejerciendo efectos comparables a los de las plantas. En conjunto, plantas y microorganismos del suelo conforman un sistema acoplado que regula la estabilidad, productividad y resiliencia de los ecosistemas (Rout & Southworth, 2013).

Los resultados de esta tesis sugieren que los efectos de las interacciones entre plantas sobre el funcionamiento ecosistémico varían a través de los diferentes niveles biológicos, reflejando la naturaleza conectada de la organización ecológica (Jayaramaiah et al., 2024). A escalas comunitarias amplias, la diversidad funcional de las plantas, seguida de las mediciones de magnitud de rasgos, participa en cómo las plantas influyen colectivamente en las funciones ecosistémicas mediadas por microorganismos del suelo, mientras que a niveles de especie e individuo, los resultados de las interacciones se vuelven progresivamente más dependientes del contexto (Rzanny & Voigt, 2012). Esta dependencia del contexto puede surgir parcialmente de las dependencias específicas de cada especie, dado que gran parte del rendimiento de un individuo está determinado por la configuración de rasgos característica de su especie (Swenson & Enquist, 2009).

Además, los rasgos aéreos y subterráneos contribuyen de manera diferente a estas interacciones, puesto que difieren tanto en sus roles ecológicos como en los mecanismos mediante los cuales modulan las interacciones (van Geem et al., 2013). Los rasgos aéreos y fisiológicos, asociados con la captura de recursos y la capacidad competitiva, tienden a seguir mecanismos de jerarquía de rasgos durante las interacciones planta-planta, en las cuales las diferencias en adecuación biológica determinan los resultados de la interacción

(Mayfield & Levine, 2010; Soliveres et al., 2018). En contraste, los rasgos subterráneos, que median la adquisición de nutrientes y las retroalimentaciones con los microorganismos del suelo, operan principalmente mediante mecanismos basados en la disimilitud de rasgos, promoviendo la complementariedad de nichos, la partición de recursos y la coexistencia (Kraft et al., 2014; Wagg et al., 2017).

La perspectiva integradora de esta tesis, que incluye un conjunto exhaustivo de rasgos aéreos y subterráneos, morfológicos, fisiológicos, reproductivos y nutricionales, proporciona una comprensión multidimensional de cómo las plantas y su microbiota asociada regulan conjuntamente los procesos ecosistémicos. En conjunto, estos hallazgos ponen de manifiesto que el equilibrio entre la jerarquía de rasgos y la disimilitud de rasgos se desplaza a lo largo de los dominios biológicos y funcionales, definiendo los mecanismos mediante los cuales las interacciones entre plantas ejercen un control “top-down” sobre el funcionamiento de los ecosistemas

Capítulo 1: Diversidad y magnitud de rasgos vegetales como predictores de las funciones ecosistémicas microbianas del suelo

Los contextos ambientales y experimentales influyen fuertemente tanto en la expresión como en la interpretación de los efectos de los rasgos sobre las funciones ecosistémicas (e.g. Pan et al., 2022; Madritch et al., 2020). Además, las plantas regulan los procesos del suelo no solo a través de la cantidad de insumos que aportan, sino también mediante la diversidad de estrategias funcionales por las cuales utilizan los recursos (Feng et al., 2022). En este sentido, la diversidad de rasgos resultó ser un predictor más potente que la magnitud de rasgos, ya que una mayor variabilidad funcional dentro de las comunidades vegetales incrementa la complementariedad en el uso de recursos y promueve la multifuncionalidad del ecosistema (De Bello et al., 2010).

En conjunto, las funciones ecosistémicas se vieron potenciadas por los rasgos fisiológicos subterráneos, dado que la exudación radical suministra carbono y nutrientes lábiles que estimulan el metabolismo microbiano, la actividad enzimática y las transformaciones biogeoquímicas (Nguyen et al., 2023). En contraste, los rasgos de conjuntos de planta suprimieron significativamente estas funciones, ya que una absorción y asignación excesiva de nutrientes por parte de las plantas puede reducir la disponibilidad de

sustratos para la actividad microbiana (Harrison et al., 2007). Las relaciones individuales entre rasgo-FE estuvieron determinadas tanto por el tipo como por la localización del rasgo ya que los rasgos morfológicos y fisiológicos, tanto aéreos como subterráneos, influyendo en las Fes de forma complementaria pero diferenciada.

Los rasgos morfológicos, especialmente los aéreos, actúan principalmente como fuentes y reservorios de nutrientes a través de la producción de biomasa y la incorporación de hojarasca (Rengel & Marschner, 2005). En contraste, los rasgos morfológicos subterráneos facilitan la absorción de formas lábiles de nitrógeno (Jones et al., 2004) y sostienen intercambios dinámicos de nutrientes entre plantas y microbios durante la renovación microbiana (Harrison et al., 2007).

Por su parte, los rasgos fisiológicos ejercen un control más integrador sobre los procesos ecosistémicos al regular la movilización de nutrientes y la actividad microbiana, ya que median directamente los flujos de energía y nutrientes entre plantas, suelos y microbios (Lavorel & Garnier, 2002). Los rasgos fisiológicos aéreos fueron los predictores más fuertes de múltiples funciones ecosistémicas, regulando los trade-offs entre los ciclos de carbono y nitrógeno debidos a restricciones estequiométricas y la actividad enzimática microbiana (Averill et al., 2014; Mooshammer et al., 2014). A su vez, los rasgos fisiológicos subterráneos desempeñaron un papel central en la renovación de nutrientes y regulan los procesos rizosféricos, destacando su importancia para sostener el metabolismo microbiano y la disponibilidad de nutrientes (Finzi et al., 2015).

Capítulo 2: Los efectos del vecino median las interacciones entre plantas

Las diferencias funcionales entre individuos tras interacciones heteroespecíficas explicaron gran parte de la variación observada en las respuestas de rasgos vegetales, en línea con los mecanismos de jerarquía de rasgos basados en diferencias de adecuación biológica (fitness) (Mayfield & Levine, 2010). Los individuos que crecieron con vecinos funcionalmente similares tendieron a desarrollar valores de rasgos mayores en comparación con aquellos que crecieron con vecinos funcionalmente distintos. Esto sugiere que, a nivel de especie, la identidad funcional determina la dirección e intensidad de los resultados de las interacciones, con algunas especies obteniendo consistentemente ventajas de rendimiento bajo condiciones ambientales específicas. Sin embargo, cuando

las especies presentan capacidades de rendimiento similares, las asimetrías competitivas se debilitan, reduciendo los efectos negativos y evitando relaciones de dominancia marcada (Soliveres et al., 2018).

Aun así, no todos los rasgos respondieron de la misma manera a la distancia funcional, y algunos estuvieron influenciados por mecanismos de disimilitud de rasgos impulsados por la diferenciación de nichos. Ambos mecanismos (jerarquía y disimilitud de rasgos) pueden actuar simultáneamente (Wagg et al., 2017), y su predominancia depende del contexto ambiental y del rasgo considerado. En este caso, el peso radical siguió un patrón coherente con la disimilitud de rasgos, típicamente asociada con una reducción de la competencia y una mayor coexistencia (Kraft et al., 2014). Esto coincide con la idea de que los rasgos subterráneos, que reflejan estrategias específicas de uso de recursos, están más influenciados por la diferenciación de nichos que los rasgos aéreos (Soliveres et al., 2018).

Capítulo 3: Interacciones heteroespecíficas entre plantas mediterráneas con distintos contenidos nutricionales fomentan la respiración de la microbiota rizosférica

Tras evaluar los efectos de las diferencias funcionales derivadas de las interacciones planta-planta sobre las relaciones planta-microorganismos del suelo, los rasgos nutricionales y los rasgos morfológicos aéreos especialmente los contenidos de nutrientes en hojas y tallos, aceleraron significativamente las tasas de respiración rizosférica tras las interacciones planta-planta. Esto sugiere que la respuesta fisiológica de la planta focal, modulada por su vecina, se tradujo en cambios en los flujos de carbono subterráneos, dado que una gran proporción del carbono fijado fotosintéticamente se exuda a través de las raíces (Farrar & Jones, 2000; Nguyen, 2003), y el nitrógeno liberado por las raíces finas promueve la acumulación de biomasa microbiana (De Long et al., 2019; Sun et al., 2021). Además, los nutrientes reasimilados de hojas senescentes y posteriormente redistribuidos hacia las raíces pueden contribuir adicionalmente a estos flujos (Brant & Chen, 2015).

Estos resultados indican un efecto en cascada desde las interacciones planta-planta hacia los procesos planta-suelo: el vecino afecta la fisiología de la planta focal, que a su vez

modifica la actividad microbiana de su propia rizosfera. Por tanto, la respuesta observada es indirecta, mediada a través de los ajustes funcionales de la planta focal más que por el contacto directo con el sistema radical del vecino.

Las tasas de respiración rizosférica aumentaron cuando las plantas que interactuaban diferían en sus rasgos nutricionales, indicando que los mecanismos de disimilitud de rasgos regularon principalmente los resultados de la interacción (Goberna et al., 2016). Es probable que las especies distintas promuevan mayor complementariedad de recursos, aumentando la diversidad y disponibilidad de insumos de carbono para los microorganismos del suelo. Esta interpretación es coherente con estudios previos que muestran que las mezclas de exudados y lixiviados nutricionales de especies contrastantes estimulan la biomasa y la respiración microbiana (Steinauer et al., 2016; Joly et al., 2016).

No obstante, el principal factor que explicó la variación en la respiración rizosférica fue la identidad de la especie vegetal, lo que sugiere que la identidad funcional intrínseca de cada especie ejerce una influencia dominante sobre los procesos microbianos. Aunque los rasgos capturaron parte de esta variabilidad, es probable que estrategias fisiológicas específicas de cada especie —como la asignación de carbono, la renovación radical y los perfiles de exudación— modulen la magnitud de la respuesta microbiana del suelo.

Conclusiones

Demostramos que los rasgos vegetales influyen sobre la microbiota del suelo a través de dos mecanismos: estrategias funcionales dominantes que controlan la disponibilidad de recursos, y mediante efectos de complementariedad, derivados de la partición de recursos entre especies. Sin embargo las métricas de diversidad de rasgos describieron con mayor eficacia las relaciones planta-FE. Además, a la hora de describir las relaciones planta-FE se recomienda priorizar los rasgos fisiológicos y las variables asociadas con tasas de procesos de corto plazo sobre rasgos morfológicos y pools de materiales de largo plazo cuando la información de rasgos es limitada. En conjunto, estos resultados destacan la necesidad de integrar múltiples dimensiones de rasgos y compartimentos vegetales para

comprender mejor las interacciones planta–funciones ecosistémicas mediadas por microorganismos del suelo.

Mostramos que tanto los mecanismos de disimilitud de rasgos como los de jerarquía de rasgos pueden actuar de manera concurrente, dependiendo del rasgo específico considerado. Nuestros resultados resaltan los efectos heterogéneos de los vecinos sobre los rasgos vegetales, subrayando la complejidad de los factores que determinan los resultados de las interacciones bajo condiciones experimentales controladas. Esta heterogeneidad se atribuye a diferencias entre rasgos aéreos y subterráneos, lo que pone de manifiesto la necesidad de considerar ambos tipos de rasgos para una comprensión mecanística de la dinámica de las comunidades.

En conjunto, nuestros resultados muestran que las interacciones intraespecíficas entre plantas pueden modular indirectamente la actividad de los microorganismos a través de las respuestas fisiológicas de las plantas. Estos efectos están impulsados principalmente por la disimilitud de rasgos y la identidad de la especie, que determinan cómo las interacciones aéreas se traducen en procesos subterráneos como las tasas de respiración rizosférica. La diversidad funcional estimula y promueve la complementariedad de recursos e incrementa la respiración de la rizosfera del suelo. En conjunto, estos hallazgos ponen de manifiesto que las interacciones entre productores primarios van más allá de la competencia o la facilitación, ejerciendo efectos en cascada sobre las funciones ecosistémicas mediadas por descomponedor.

RESUM EXPANDIT EN VALENCIÀ

Autora: Julia Jimeno Alda

Introducció

Els ecosistemes són entitats dinàmiques i complexes que integren plantes, animals i microorganismes, els quals interactuen entre si i amb l'entorn abiòtic que els envolta (Mace et al., 2012). Les comunitats microbianes del sòl són components fonamentals dels ecosistemes terrestres i controlen en gran mesura el seu funcionament. Tal és la importància dels microorganismes que les primeres molècules d'oxigen foren produïdes per cianobacteris marins fa aproximadament 3,5 mil milions d'anys (Singh et al., 2010). A més, la incògnita sobre com els organismes interaccionen i influeixen en els ecosistemes està recentment en el punt de mira (De Long et al., 2019).

Així, la microbiota edàfica exerceix un paper crucial en la regulació dels processos biogeoquímics com el cicle i l'emmagatzematge de nutrients, l'intercanvi de gasos entre el sòl i l'atmosfera i l'estructuració de les comunitats vegetals (Bardgett i Van der Putten, 2014). A més, els microorganismes tenen un paper clau en la regulació de les concentracions atmosfèriques de gasos d'efecte d'hivernacle, incloent-hi el diòxid de carboni (CO_2), el metà (CH_4) i l'òxid nitrós (N_2O), que tenen un gran impacte en la transferència d'energia al llarg dels compartiments dels ecosistemes (Singh et al., 2010). Per exemple, el cicle del metà està governat principalment per la metanogènesi microbiana i les bacteris metanòtrofes exerceixen un paper crític (Feng et al., 2021). Un altre exemple de com els microorganismes influeixen en les funcions ecosistèmiques és el de l'òxid nitrós, resultat de la nitrificació i desnitrificació microbiana del nitrogen disponible als sòls (Hayatsu et al., 2021).

Finalment, la comunitat microbiana també té un paper clau en la regulació del cicle del diòxid de carboni. Tot i que l'absorció de CO_2 de l'atmosfera és realitzada principalment per les plantes superiors a través del procés anomenat producció primària neta, els microorganismes també desenvolupen un paper fonamental en aquest procés. Aquests contribueixen de manera notable a l'intercanvi de carboni entre els sistemes superficials

i subterranis, a través de la regulació dels processos de descomposició i respiració heterotròfica que tenen lloc al sòl. També influeixen indirectament en la regulació del cicle del carboni a través del seu paper com a simbionts o patògens de les plantes o mitjançant la modificació de la disponibilitat de nutrients al sòl. Tal és la importància del paper dels microorganismes en el cicle del carboni que aproximadament 120 mil milions de tones de carboni són captades anualment per la producció primària en terra ferma, i al voltant de 119 mil milions de tones de carboni són emeses, meitat per la respiració autotròfica (principalment de plantes) i meitat per microorganismes heterotròfics del sòl (Singh et al., 2010).

Des d'un punt de vista tròfic, els organismes que formen part de les xarxes tròfiques del sòl també afecten directament i indirectament les comunitats superficials. Les plantes (productores) proporcionen tant el carboni orgànic necessari per al funcionament del subsistema de descomponedors com els recursos per als organismes associats a les arrels, com ara herbívors radiculars, patògens i mutualistes simbionts. El subsistema de descomponedors, al seu torn, descompon el material vegetal mort i influeix indirectament en el creixement de les plantes i en la composició de la comunitat en regular el subministrament de nutrients disponibles al sòl. Els organismes associats a les arrels i els seus consumidors influeixen de manera més directa en les plantes, i també en la qualitat, direcció i flux d'energia i nutrients entre les plantes i els descomponedors. Aquesta interacció crea una retroalimentació planta-sòl crucial per al funcionament de l'ecosistema (Wardle, 2004).

Tanmateix, entendre com funcionen i s'acoblen les parts superficial i subterrània dels ecosistemes pot ser un repte, ja que, sovint, les condicions del sòl o del lloc són predictors més precisos dels patrons de comunitat observats que la distància geogràfica per si sola. A més, les propietats del sòl superficial (per exemple, pH, concentració de carboni orgànic, salinitat, textura i concentració de nitrogen disponible) presenten una enorme variabilitat. Un altre problema a l'hora d'estudiar les poblacions microbianes del sòl és la seua baixa densitat, ja que, malgrat les grans quantitats de biomassa microbiana, típicament menys de l'1% de la superfície disponible del sòl està ocupada per microorganismes, cosa que suggereix que hi ha limitacions biòtiques o abiòtiques en la colonització microbiana al sòl (Fierer, 2017). D'altra banda, encara que els fongs i les bacteris constitueixen els grups més abundants als sòls terrestres, les arquees, malgrat

la seua baixa abundància, exerceixen funcions clau com la metanogènesi o la nitrificació (Singh et al., 2010).

Estudis recents que exploren les relacions entre els sistemes aeris i subterranis suggereixen que els trets funcionals de les plantes poden servir com un vincle crucial, actuant com a integradors entre aquests sistemes. Les plantes connecten ambients espacialment diferents, ja que els seus òrgans es distribueixen tant a la part superficial com a la part subterrània dels ecosistemes (Wardle, 2004). Aquesta connexió es du a terme a través de les seues parts aèries i subterranies, que operen de manera coordinada (De Deyn, 2017). Aquesta interacció té lloc dins de la rizosfera, que comprén les arrels de les plantes i el sòl circumdant influït per l'activitat radicular, i impacta directament en els microorganismes (Hartmann et al., 2008).

A més, els trets de les plantes encapsulen les característiques evolutives, ecològiques, fisiològiques i morfològiques que definixen la identitat de les espècies vegetals (Cadotte et al., 2011; Colin et al., 2019). Així, determinats conjunts de trets de les plantes permeten descriure processos biològics fonamentals i dinàmiques generals de la comunitat (McGill et al., 2006; Wright et al., 2004; Adler et al., 2013). En aquest sentit, els trets de les plantes estan intrínsecament vinculats a la quantitat i qualitat del carboni orgànic, així com a la biodisponibilitat de nutrients (Colin et al., 2019), i exerceixen un paper clau en la modificació de la composició, quantitat i accessibilitat del carboni i altres nutrients al sòl. Aquestes modificacions en la disponibilitat de nutrients, al seu torn, influeixen de manera significativa en les comunitats microbianes del sòl i en el funcionament general de l'ecosistema (De Deyn et al., 2008). Especialment, els trets associats a les fulles (de Vries et al., 2012; Grigulis et al., 2013), a les arrels (Klump et al., 2009; Legay et al., 2014) i a l'eficiència en l'absorció de nutrients (Moreau et al., 2015) tenen un impacte clau en l'activitat microbiana del sòl, en la seua abundància i en la seua composició.

Finalment, els trets funcionals reflectixen el comportament de les plantes segons determinades característiques relacionades amb el creixement, la reproducció i la supervivència. En aquest context, quan les plantes interaccionen amb el seu entorn, poden desenvolupar-se diferents mecanismes de resposta en certs trets que tenen capacitat de respondre davant de canvis ambientals, com els causats per plantes veïnes (tretos de resposta en el sentit de Violle et al., 2007) a causa de diferències en els trets i

en les seues jerarquies. A més, la capacitat d'una planta per a influir en el comportament de les seues veïnes està estretament vinculada a les diferències funcionals (Semchenko et al., 2013). S'ha observat que aquestes diferències funcionals també operen en els sistemes subterranis (Valverde-Barrantes, 2013) fins al punt d'influir en les funcions de l'ecosistema mediades pels microorganismes del sòl (Gould, 2016), determinant els mecanismes d'interacció entre les parts aèria i subterrània de les comunitats ecològiques (Carmona et al., 2019).

Per tant, a través d'aquesta tesi, ens proposem abordar la pregunta següent:

Com podem millorar la nostra comprensió de les funcions de la microbiota en els ecosistemes a través de la seua relació amb els trets de les plantes?

Ens basem en les afirmacions següents, extretes de la literatura:

- Els trets de les plantes són un dels principals factors biòtics que regulen les dinàmiques i processos dels ecosistemes (Hooper, 2005).
- L'impacte del factor "identitat de l'espècie vegetal" es reflecteix en els trets funcionals d'una planta, determinant on poden prosperar i com interaccionen amb el seu entorn (Cadotte et al., 2011).
- Els trets de les plantes es veuen afectats per la coexistència entre diferents organismes, cosa que finalment afecta els processos de l'ecosistema (Violle et al., 2007).
- Les interaccions planta-microbiota són un factor clau en l'estructuració de les comunitats naturals (De Deyn, 2017), a més d'un regulador dels cicles biogeoquímics de l'ecosistema (Lambers et al., 2009).

La hipòtesi principal de la tesi proposa que els trets específics de les plantes, o les seues combinacions, tenen un impacte considerable en les comunitats microbianes del sòl i en les funcions ecosistèmiques associades, particularment aquelles relacionades amb la descomposició de la matèria orgànica i el cicle de nutrients.

Per a respondre la pregunta anterior, es proposa un marc de referència basat en conjunts de trets de plantes clau i en un anàlisi multitròfic.

Justificació de la tesi i objectius generals

L'objectiu específic del Capítol 1 va ser examinar el paper de les interaccions planta-microbiota del sòl en la mediació de les funcions ecosistèmiques (FEs), partint de la premissa que els trets funcionals de les plantes són predictors fiables de les FEs mediades per microorganismes del sòl. Es va voler aprofundir en com les condicions experimentals influeixen en la relació planta-FEs, quines mètriques de magnitud de trets o de diversitat de trets descriuen millor aquestes funcions, i com el tipus de tret i la seua ubicació espacial afecten tant els depòsits de materials com les taxes de processos.

En el Capítol 2 aprofundim en els mecanismes darrere del comportament de les plantes a través dels seus trets funcionals. Atés que el resultat de la interacció entre dues espècies dependrà de les diferències funcionals entre els dos individus, plantegem la hipòtesi que la distància funcional entre espècies podria afectar el rendiment de les plantes de manera simultània durant les interaccions heteroespecífiques.

Finalment, el Capítol 3 descriu els efectes provocats pel resultat de la interacció interespecífica entre plantes sobre els microorganismes associats. Els efectes sobre la microbiota del sòl es mesuren a través de la respiració heterotròfica, una funció ecosistèmica clau vinculada al metabolisme del microbioma del sòl i al cicle del carboni. Així, la naturalesa d'aquest fenomen radica en la influència estesa de les diferències funcionals entre plantes en interacció sobre els sistemes subterranis.

Mètodes generals

Per a obtindre els resultats exposats en aquesta tesi, desenvolupàrem: una base de dades denominada “Trets de plantes i funcions ecosistèmiques mediades per la microbiota edàfica”; un assaig de germinació previ a la fase experimental; dos experiments en

hivernacle, denominats “Experiment d’interacció de plantes” i “Experiment de caracterització”; i un assaig d’incubació.

Base de dades “Trets de plantes i funcions ecosistèmiques mediatas per la microbiota edàfica”

Realitzàrem un meta-anàlisi per a establir correlacions entre els trets de les plantes i les funcions ecosistèmiques mediatas pels microorganismes del sòl. Es va dur a terme una recerca bibliogràfica des de setembre de 2019 fins a març de 2024. Durant aquest període, s’afegiren a la base de dades els estudis que relacionaven els trets de les plantes amb propietats ecosistèmiques trobades en “The Web of Science (WoS-FECYT)”. Aquestes funcions ecosistèmiques estan mediatas per microorganismes del sòl. Els termes de cerca utilitzats van ser una combinació de termes relacionats (per exemple, descomposició de matèria orgànica I tret de planta I microorganismes del sòl).

El procediment seguit va consistir, en primer lloc, a llegir els títols i resums de les publicacions en una preselecció. Posteriorment, analitzàrem a fons l’article complet i n’extraguérem les relacions estadístiques a partir de les dades del manuscrit. Els criteris aplicats en la selecció dels articles consultats foren: a) l’existència d’una relació estadística entre els trets de les plantes i les propietats ecosistèmiques mediatas per microorganismes del sòl; b) a partir dels valors estadístics proporcionats en l’estudi, determinàrem la correlació (valor R), el signe de la correlació (+/-), el nivell de significança (valor P) i la mida de la mostra (N). El mètode d’extracció podia ser directe (valors de correlació inclosos en l’article) o indirecte (dades suplementàries proporcionades que ens permeteren calcular R i P); c) els experiments de monocultiu foren exclosos automàticament; d) es van excloure les relacions entre trets de plantes i funcions ecosistèmiques sense mediació del microbioma del sòl.

En total, obtinguérem 2.455 registres de relacions entre trets de plantes i propietats ecosistèmiques, procedents de 33 articles científics.

Per a la interpretació de la informació obtinguda, classificàrem els trets de les plantes segons característiques rellevants (morfològics/fisiològics, aeris/subterranis, fulla/tija/arrel), així com les funcions ecosistèmiques (fluxos, reservoris, processos de descomposició i respiració, biomassa microbiana, cicle de nutrients, acumulació de nutrients al sòl i acumulació de matèria orgànica al sòl).

A més, la base de dades va recopilar altra informació rellevant per a una anàlisi posterior, com ara la forma de vida (arbre, arbust, mixt, herbàcia), el tipus de bioma (bosc de fulla ampla i mixt; boscos mediterranis, matollars i arbusts; desert i matollars xeròfits), la classificació climàtica de Köppen del lloc d'estudi i el tipus de disseny experimental (camp, hivernacle o laboratori).

Assaig de germinació

Llocs d'estudi i disseny experimental

Es va recol·lectar material biològic germinatiu en ubicacions naturals i es va processar per a obtenir llavors viables. Es van obtenir quaranta-dues espècies d'herbes i arbusts mediterranis entre maig i setembre de 2020:

Alyssum granatense, *Antirrhinum graniticum*, *Andryala integrifolia*, *Aphyllanthes monspeliensis*, *Asphodelus ramosus*, *Bellardia trixago*, *Bromus tectorum*, *Capsella bursa-pastoris*, *Cistus ladanifer*, *Dactylis glomerata*, *Dianthus lusitanicus*, *Echium vulgare*, *Filago lutescens*, *Helichrysum stoechas*, *Hirschfeldia incana*, *Hordeum murinum*, *Jasione montana*, *Lavandula pedunculata*, *Linaria spartea*, *Lupinus angustifolius*, *Papaver rhoeas*, *Periploca angustifolia*, *Piptatherum miliaceum*, *Plantago coronopus*, *Plantago lagopus*, *Poterium sanguisorba*, *Reseda luteola*, *Rumex induratus*, *Santolina rosmarinifolia*, *Sedum album*, *Stipa pennata*, *Artemisia assoana*, *Thapsia villosa*, *Thymus mastichina*, *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis*, *Trifolium angustifolium*, *Trifolium arvense*, *Trifolium hirtum*, *Vicia villosa*, *Vulpia myuros*, *Xolantha guttata*.

Els punts de mostreig foren: Torreldones, Madrid, Espanya (40,59, -3,93) i Sierra Ministra, Castella-la Manxa, Espanya (41,02, -2,37) (Figura 2). Aquestes àrees es caracteritzen per litologies granítiques i calcàries d'estepes semiàrides fredes (Bsk, classificació climàtica de Köppen). Aquestes regions presenten litologies granítiques i formacions de calcària, i el seu clima es descriu com a estepa freda semiàrida (Bsk) segons la classificació climàtica de Köppen.

Les espècies recol·lectades es van sembrar en safates de 30 alvèols. Depenent de la grandària de la llavor, es van sembrar 50 llavors menudes i 2 de grans per cèl·lula. Cada safata contenia dues espècies diferents.

Experiment d'interacció de plantes

Lloc d'estudi i disseny experimental

L'objectiu d'aquest experiment va ser l'estudi de les interaccions entre plantes en combinacions heteroespecífiques i conespecífiques per a mesurar els efectes dels veïns sobre els trets de les plantes a diferents distàncies funcionals.

En aquest experiment, es seleccionaren deu espècies d'herbes i arbusts mediterranis de diversos llinatges evolutius de les quaranta-dues espècies originals de l'assaig de germinació. Aquestes espècies cobreixen un ampli espectre de diferències funcionals i presentaren les taxes de germinació més altes:

Trifolium angustifolium (Fabaceae), *Vicia villosa* (Fabaceae), *Bromus tectorum* (Poaceae), *Hordeum murinum* (Poaceae), *Andryala integrifolia* (Asteraceae), *Helichrysum stoechas* (Asteraceae), *Thymus mastichina* (Lamiaceae), *Micropus erectus* (Asteraceae), *Hirschfeldia incana* (Brassicaceae), *Plantago coronopus* (Plantaginaceae).

El substrat utilitzat en els experiments d'hivernacle es va recol·lectar a l'Estació d'Investigació Agrària de La Canaleja, situada a Alcalá de Henares, Madrid, Espanya (40,51, -3,31). Aquesta regió es caracteritza per un clima semiàrid amb pluges baixes i irregulars, amb una mitjana de 353 mm anuals. El tipus de sòl es classifica com a Calcic Haploxeralfs, amb una textura franca arenosa i un contingut mínim de carboni orgànic de 7,5 g kg⁻¹ a la capa superficial. A més, el sòl presenta baixa salinitat (0,123 dS/m) i valors de pH típics de sòls neutres (7,9) (Martín-Lammerding et al., 2015). Les mostres de sòl es van recol·lectar al febrer de 2021 a una profunditat de 5 a 20 cm per a evitar el banc de llavors pròxim a la superfície, i posteriorment es tamisaren amb un sedàs de 5 mm. Per a reduir l'activitat microbiana, el sòl es va sotmetre a un escalfament a 120 °C durant 1 hora i es va barrejar amb arena de sílice en una proporció de 9:1 (volum/volum). Les testos (12 × 25 × 18 cm) es van omplir amb aquesta mescla (5,7 l) (Figura 4, Figura 5, Figura 6).

Sembràrem 300 testos, cobrint totes les combinacions possibles de parelles amb 10 espècies. En total, obtinguérem 45 combinacions de parelles heteroespecífiques i 10 combinacions de parelles conespecífiques, replicades 6 i 3 vegades respectivament, per a incorporar la variabilitat intraespecífica en resposta a les plantes veïnes. Aquest disseny va resultar en 600 plantes; 540 individus foren plantats en 270 testos amb un veí heteroespecífic i 60 individus en 30 testos amb un veí conespecífic. No obstant això, es van excloure 50 testos (100 individus) de l'anàlisi a causa de la mort de les plantes abans de la collita. Els trets funcionals es mesuraren conjuntament amb l'“Experiment de caracterització de plantes”.

Experiment de caracterització de plantes

Disseny experimental

Aquest experiment es va dur a terme de manera concurrent amb l'“Experiment d'interacció de plantes”, al mateix hivernacle i utilitzant el mateix substrat i les mateixes espècies. L'objectiu d'aquest experiment va ser calcular la distància funcional entre les parelles conespecífiques de les espècies de l'“Experiment d'interacció de plantes” per a caracteritzar les diferències funcionals.

Es van mesurar vint-i-nou trets funcionals de plàntules i plantes adultes, triats perquè són coneguts per reflectir les característiques morfofisiològiques i de fitness que determinen el comportament de les plantes davant d'interaccions amb el medi. D'aquesta manera, 60 individus de l'assaig de germinació es trasplantaren a trenta testos, 2 individus per test i 3 testos per espècie. En conseqüència, mesuràrem els trets de 6 individus per cadascuna de les 10 espècies de l'experiment. Els trets de les plàntules (és a dir, individus amb cotilèdons) es mesuraren durant el primer mes des de l'emergència de l'individu. Els trets dels individus adults es van mesurar quan els individus van arribar a la maduresa, juntament amb l'“Experiment d'interacció de plantes”.

Assaig d'incubació

Aquest assaig es va desenvolupar al laboratori del Centre d'Investigacions sobre la Desertificació (CIDE). L'objectiu d'aquest assaig va ser comprovar com la respiració basal del sòl (RB) es veu afectada pels canvis en els trets de les plantes derivats d'una interacció entre elles. En aquest assaig es va mesurar l'acumulació de CO₂ en mostres de sòl extret de la rizosfera d'una planta que ha estat en interacció amb un veí, junt amb la Humitat Gravimètrica (HG) del sòl matriu corresponent. Una vegada mesurats aquests paràmetres, es va calcular la taxa de Respiració Basal (RB).

Per a mesurar la HG del sòl matriu, que suposarem equivalent a la del sòl rizosfèric, es posaren mostres de 5 g en cilindres de vidre amb fons porós, es van assecar durant 24 hores a 105 °C i es deixaren reposar durant 15 minuts en un deshidratador de laboratori. Després, els cilindres de vidre amb sòl sec es van tornar a pesar.

Per a mesurar el flux de CO₂ acumulat, col·locàrem 2 g de sòl rizosfèric en contenidors hermètics de 10 ml tapats amb taps de silicona i igualàrem el contingut d'aigua amb aigua destil·lada fins que totes les mostres aconseguiren la mateixa HG, la de la mostra més humida. Posteriorment, incubàrem en foscor a 28 °C durant 7 dies. El CO₂ acumulat es va mesurar utilitzant una xeringa que injectava el gas extret en un monitor de diòxid de carboni 5700 (Illinois Instruments, EUA).

Anàlisi estadística

Capítol 1

Per a dur a terme un meta-anàlisi, transformàrem els estadístics extrets dels articles científics en Tamañ de l'Efecte (Zr). Les correlacions significatives i no significatives (valor R) i la mida de la mostra (N) extrets dels estudis foren escalats amb la funció `escalc` del paquet `metafor`. El mètode "ZCOR" va aplicar el "coeficient de correlació transformat de Fisher r-to-z" (Fisher, 1921). El resultat d'aquesta conversió foren els valors Zr i les variàncies associades (Vi). Amb Zr i Vi desenvolupàrem un model de meta-anàlisi d'efectes mixtos utilitzant la funció `rma.mv` del paquet `metafor`. Aquests models ofereixen una àmplia selecció de funcions per a realitzar meta-anàlisis. A més, permeten la incorporació de diferents nivells en les variables de dades (anomenades "moderadors") com a predictors del model, fet que possibilita l'ajust de models de meta-regressió (d'efectes mixtos) (Viechtbauer, 2010).

Capítol 2

Abans d'iniciar l'“Experiment d'interacció de plantes” i l'“Experiment de caracterització de plantes”, calculàrem el percentatge de germinació i la taxa mitjana de germinació (t_{50}) per a seleccionar les deu millors espècies de les 42 disponibles en l'assaig de germinació. Aquestes mesures són estimacions de la viabilitat de les llavors d'una població (Ghaleb et al., 2022). El percentatge de germinació es calcula com el nombre de llavors que germinen dividit pel nombre total de llavors sembrades.

Al final d'ambdós experiments, es mesuraren els trets aeris, subterranis, reproductius i morfofisiològics. Posteriorment, calculàrem el Canvi Relatiu (RC) dels trets de les plantes per a quantificar com variaren els trets per l'efecte d'un veí heteroespecífic en comparació amb un de conespecífic.

Després, amb les mesures de trets de l'“Experiment de caracterització de plantes”, calculàrem la Distància Funcional (FD) entre cada parella d'espècies. Utilitzàrem la funció `gowdist` del paquet `FD` per a R (Laliberté et al., 2014). Aquesta funció permet l'estimació de FD considerant tant trets quantitius com categòrics. `Gowdist` utilitza el coeficient de similitud de Gower (1971), descrit per Podani (1999), i després el transforma en un coeficient de dissimilitud.

Finalment, aplicàrem Models Lineals Mixtos (`glmmTMB`) per a provar la relació entre la Distància Funcional (FD) dels individus en interacció i el Canvi Relatiu (RC) experimentat per la planta afectada pel veí. Les anàlisis es van realitzar amb la funció `glmmTMB` del paquet `glmmTMB` per a R (Brooks et al., 2017).

Capítol 3

Primer es calcularen les taxes de respiració basal (BR). Aquestes taxes es van calcular com el contingut mitjà de carboni mineralitzat diàriament per quilogram de sòl ($\text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) al llarg de la incubació, segons el mètode proposat per Nannipieri et al. (1990). Després, per a avaluar si les taxes de BR estan influenciades per la identitat de les plantes veïnes, calculàrem el Canvi Relatiu de BR ($\text{RC}(\text{BR})$). Aquest paràmetre quantifica la variació de la taxa de BR a causa de la presència d'un veí heteroespecífic.

A continuació, calculàrem la distància funcional de les espècies que interaccionaren i el resultat de la interacció de les quals va afectar la respiració del sòl. Les mesures dels trets de plantes s'obtingueren de l'“Experiment d'interacció”, i amb aquestes es caracteritzaren distàncies funcionals entre les plantes que interaccionaren d'acord amb diferents grups de trets: aeris; subterranis; de nutrients; morfològics i el conjunt total. Utilitzàrem la funció `gowdist` del paquet `FD` per a calcular les distàncies funcionals. Amb aquestes distàncies funcionals poguérem avaluar la influència de les diferències funcionals entre les plantes en la respiració del sòl.

Per a això, aplicàrem Models Lineals Mixtos (LMER), utilitzant la funció `lmer` del paquet `lmerTest` per a R.

Resultats

En conjunt, els resultats d'aquesta tesi demostren que els trets de les plantes contribueixen a la regulació del funcionament ecosistèmic al llarg de diferents nivells d'organització biològica. Mitjançant un enfocament multiescalar que abasta anàlisis a escala de comunitat, d'espècie i d'individu, aquesta tesi revela que la variabilitat dels trets i la seua localització espacial determinen la intensitat i la direcció tant de les interaccions planta-planta com de les planta-sòl, modelant finalment els processos ecosistèmics. A escala de comunitat, la diversitat funcional de les plantes, seguida de les mesures de magnitud de trets, emergeix com un descriptor clau de les taxes de processos i fluxos ecosistèmics mediat pels microorganismes del sòl; a escala d'espècie, la distància funcional entre plantes coexistents determina els resultats de les interaccions de veïnat; i, a escala individual, aquestes relacions mediatades per trets s'estenen als microorganismes del sòl, influint en la respiració del sòl rizosfèric. En conjunt, aquests resultats donen suport a una comprensió mecanística i basada en trets de com les plantes exerceixen un control “top-down” sobre el funcionament ecosistèmic a través de diferents escales ecològiques.

A continuació, es presenten els resultats principals detallats en cada capítol:

Capítol 1

Els trets de les plantes mostraren una relació positiva i significativa amb les funcions ecosistèmiques mediatas per microorganismes, sent la diversitat de trets un millor predictor que les mètriques de magnitud. Els trets explicaren de manera més eficaç les taxes de processos i fluxos ecosistèmics de curt termini que no els reservoris (processos de més llarg termini). Els trets fisiològics exerciren efectes més amplis que els trets morfològics, explicant de manera significativa una major varietat de funcions relacionades amb el contingut de matèria orgànica, nutrients i biomassa microbiana, així com amb el cicle del carboni i dels nutrients. Els trets aeris regularen principalment l'emmagatzematge de nutrients mitjançant l'acumulació de biomassa i la incorporació de matèria orgànica, mentre que els trets subterranis controlaren el cicle del carboni i dels nutrients a través de l'activitat radicular i les interaccions en la rizosfera.

Capítol 2

Els resultats de les interaccions planta-planta mostraren que les plantes veïnes exerciren efectes sobre la majoria dels trets analitzats. Alguns trets augmentaren quan les plantes van créixer amb un veí heteroespecífic en comparació amb un de conespecífic, mentre que altres disminuïren. Considerant únicament la identitat de les espècies que interaccionen, les respostes dels trets davant de veïns heteroespecífics foren inconsistents, amb valors que augmentaren o disminuïren segons la combinació d'espècies, sense un patró clar. Quan s'hi va incloure la distància funcional entre les espècies que interaccionaven, la majoria dels trets augmentaren a mesura que disminuïen les diferències funcionals. Aquest patró va ser més evident per a la biomassa aèria i per als continguts de nutrients en trets tant aeris com subterranis. En contrast, el pes radicular va ser l'únic tret que va augmentar amb major distància funcional, mostrant una tendència oposada. En conjunt, aquests resultats indiquen que la jerarquia de trets exerceix una influència més forta que la dissimilitud de trets a l'hora de determinar la direcció i la magnitud de les interaccions interespecífiques planta-planta.

Capítol 3

Els resultats de les interaccions planta-microorganismes del sòl es veren influïts per les interaccions planta-planta, que afectaren de manera significativa la respiració rizosfèrica, una funció ecosistèmica clau mediada pels microorganismes del sòl i

vinculada a la descomposició de matèria orgànica. Les taxes de respiració en la rizosfera variaren quan un individu va créixer amb un veí heteroespecífic en comparació amb un de conespecífic. En considerar únicament la identitat de l'individu, les respostes de respiració variaren entre combinacions d'individus sense mostrar un patró consistent. No obstant això, aparegueren efectes clars quan es va considerar la distància funcional. Els individus que van créixer amb veïns funcionalment diferents (especialment aquells que diferien en trets relacionats amb el contingut de nutrients i en trets aeris) presentaren taxes més altes de respiració rizosfèrica que les plantes aparellades amb conespecífics. Així, la dissimilitud funcional entre individus veïns va promoure la respiració rizosfèrica, i no la jerarquia funcional de trets.

Discussió

Els ecosistemes són intrínsecament complexos, impulsats per interaccions intricades entre espècies, genotips i factors ambientals (Mace et al., 2012). Estudiar-ne l'estructura i la dinàmica mitjançant l'anàlisi de components específics ha sigut durant molt de temps una estratègia útil per a comprendre la xarxa d'interaccions que sostenen els processos i funcions ecosistèmiques (Brown et al., 2001). En aquest marc, i des d'una perspectiva comunitària, els trets funcionals de les plantes exercixen múltiples rols en la regulació del funcionament dels ecosistemes, influenciant pràcticament tots els grans cicles biogeoquímics (Chapin, 2003). Tanmateix, més enllà de la influència àmpliament reconeguda de les plantes, els microorganismes del sòl també emergixen com un factor determinant dels processos ecosistèmics, exercint efectes comparables als de les plantes. En conjunt, plantes i microorganismes del sòl conformen un sistema acoblat que regula l'estabilitat, la productivitat i la resiliència dels ecosistemes (Rout i Southworth, 2013).

Els resultats d'aquesta tesi suggerixen que els efectes de les interaccions entre plantes sobre el funcionament ecosistèmic varien al llarg dels diferents nivells biològics, reflectint la naturalesa connectada de l'organització ecològica (Jayaramaiah et al., 2024). A escales comunitàries àmplies, la diversitat funcional de les plantes, seguida de les mesures de magnitud de trets, participa en com les plantes influïxen col·lectivament en les funcions ecosistèmiques mediatas per microorganismes del sòl, mentre que a nivells d'espècie i d'individu, els resultats de les interaccions es tornen progressivament més dependents del context (Rzanny i Voigt, 2012). Aquesta dependència del context pot derivar parcialment de dependències específiques de cada espècie, atès que gran part del

rendiment d'un individu està determinat per la configuració de trets característica de la seua espècie (Swenson i Enquist, 2009).

A més, els trets aeris i subterranis contribueixen de manera diferent a aquestes interaccions, ja que diferixen tant en els seus rols ecològics com en els mecanismes mitjançant els quals modulen les interaccions (van Geem et al., 2013). Els trets aeris i fisiològics, associats amb la captura de recursos i la capacitat competitiva, tendeixen a seguir mecanismes de jerarquia de trets durant les interaccions planta-planta, en les quals les diferències en adequació biològica determinen els resultats de la interacció (Mayfield i Levine, 2010; Soliveres et al., 2018). En contrast, els trets subterranis, que medien l'adquisició de nutrients i les retroalimentacions amb els microorganismes del sòl, operen principalment mitjançant mecanismes basats en la dissimilitud de trets, promovent la complementarietat de nínxols, la partició de recursos i la coexistència (Kraft et al., 2014; Wagg et al., 2017).

La perspectiva integradora d'aquesta tesi, que inclou un conjunt exhaustiu de trets aeris i subterranis, morfològics, fisiològics, reproductius i nutricionals, proporciona una comprensió multidimensional de com les plantes i la seua microbiota associada regulen conjuntament els processos ecosistèmics. En conjunt, aquests resultats posen de manifest que l'equilibri entre jerarquia de trets i dissimilitud de trets es desplaça al llarg dels dominis biològics i funcionals, definint els mecanismes mitjançant els quals les interaccions entre plantes exerceixen un control “top-down” sobre el funcionament dels ecosistemes.

Capítol 1: Diversitat i magnitud de trets vegetals com a predictors de les funcions ecosistèmiques microbianes del sòl

Els contextos ambientals i experimentals influïxen fortament tant en l'expressió com en la interpretació dels efectes dels trets sobre les funcions ecosistèmiques (p. ex. Pan et al., 2022; Madritch et al., 2020). A més, les plantes regulen els processos del sòl no sols a través de la quantitat d'inputs que aporten, sinó també mitjançant la diversitat d'estratègies funcionals amb què utilitzen els recursos (Feng et al., 2022). En aquest sentit, la diversitat de trets va resultar ser un predictor més potent que la magnitud de trets, ja que una major variabilitat funcional dins de les comunitats vegetals incrementa

la complementarietat en l'ús de recursos i promou la multifuncionalitat de l'ecosistema (De Bello et al., 2010).

En conjunt, les funcions ecosistèmiques es veren potenciades pels trets fisiològics subterranis, atés que l'exudació radicular subministra carboni i nutrients làbils que estimulen el metabolisme microbià, l'activitat enzimàtica i les transformacions biogeoquímiques (Nguyen et al., 2023). En contrast, els trets de conjunt de planta van suprimir de manera significativa aquestes funcions, ja que una absorció i assignació excessiva de nutrients per part de les plantes pot reduir la disponibilitat de substrats per a l'activitat microbiana (Harrison et al., 2007). Les relacions individuals entre tret i FE estigueren determinades tant pel tipus com per la localització del tret, atés que els trets morfològics i fisiològics, tant aeris com subterranis, influïren en les FEs de forma complementària però diferenciada.

Els trets morfològics, especialment els aeris, actuen principalment com a fonts i reservoris de nutrients a través de la producció de biomassa i la incorporació de fullaraca (Rengel i Marschner, 2005). En contrast, els trets morfològics subterranis faciliten l'absorció de formes làbils de nitrogen (Jones et al., 2004) i sostenen intercanvis dinàmics de nutrients entre plantes i microbis durant la renovació microbiana (Harrison et al., 2007).

Per la seua banda, els trets fisiològics exercixen un control més integrador sobre els processos ecosistèmics en regular la mobilització de nutrients i l'activitat microbiana, ja que medien directament els fluxos d'energia i nutrients entre plantes, sòls i microbis (Lavorel i Garnier, 2002). Els trets fisiològics aeris foren els predictors més forts de múltiples funcions ecosistèmiques, regulant els trade-offs entre els cicles de carboni i nitrogen deguts a restriccions estequiomètriques i a l'activitat enzimàtica microbiana (Averill et al., 2014; Mooshammer et al., 2014). Al seu torn, els trets fisiològics subterranis van exercir un paper central en la renovació de nutrients i regulen els processos rizosfèrics, fet que posa de manifest la seua importància per a mantindre el metabolisme microbià i la disponibilitat de nutrients (Finzi et al., 2015).

Capítol 2: Els efectes del veí medien les interaccions entre plantes

Les diferències funcionals entre individus després d'interaccions heteroespecífiques explicaren gran part de la variació observada en les respostes de trets vegetals, d'acord amb els mecanismes de jerarquia de trets basats en diferències d'adequació biològica (fitness) (Mayfield i Levine, 2010). Els individus que van créixer amb veïns funcionalment similars tendiren a desenvolupar valors de trets majors en comparació amb aquells que van créixer amb veïns funcionalment diferents. Això suggerix que, a escala d'espècie, la identitat funcional determina la direcció i la intensitat dels resultats de les interaccions, amb algunes espècies obtenint avantatges de rendiment de manera consistent sota determinades condicions ambientals. Tanmateix, quan les espècies presenten capacitats de rendiment similars, les asimetries competitives s'afeblixen, reduint els efectes negatius i evitant relacions de dominància marcada (Soliveres et al., 2018).

Malgrat això, no tots els trets respongueren de la mateixa manera a la distància funcional, i alguns estigueren influïts per mecanismes de dissimilitud de trets impulsats per la diferenciació de nínxols. Tots dos mecanismes (jerarquia i dissimilitud de trets) poden actuar de manera simultània (Wagg et al., 2017), i la seua predominança depén del context ambiental i del tret considerat. En aquest cas, el pes radicular va seguir un patró coherent amb la dissimilitud de trets, típicament associada amb una reducció de la competència i una major coexistència (Kraft et al., 2014). Això coincidix amb la idea que els trets subterranis, que reflectixen estratègies específiques d'ús de recursos, estan més influïts per la diferenciació de nínxols que els trets aeris (Soliveres et al., 2018).

Capítol 3: Interaccions heteroespecífiques entre plantes mediterrànies amb distints continguts nutricionals fomenten la respiració de la microbiota rizosfèrica

Després d'avaluar els efectes de les diferències funcionals derivades de les interaccions planta-planta sobre les relacions planta-microorganismes del sòl, els trets nutricionals i els trets morfològics aeris, especialment els continguts de nutrients en fulles i tiges, acceleraren de manera significativa les taxes de respiració rizosfèrica després de les interaccions planta-planta. Això suggerix que la resposta fisiològica de la planta focal, modulada per la seua veïna, es va traduir en canvis en els fluxos de carboni subterranis, atés que una gran proporció del carboni fixat fotosintèticament s'exuda a través de les arrels (Farrar i Jones, 2000; Nguyen, 2003), i el nitrogen alliberat per les arrels fines

promou l'acumulació de biomassa microbiana (De Long et al., 2019; Sun et al., 2021). A més, els nutrients reasimilats de fulles senescent i posteriorment redistribuïts cap a les arrels poden contribuir addicionalment a aquests fluxos (Brant i Chen, 2015).

Aquests resultats indiquen un efecte en cascada des de les interaccions planta-planta cap als processos planta-sòl: el veí afecta la fisiologia de la planta focal, que al seu torn modifica l'activitat microbiana de la seua pròpia rizosfera. Per tant, la resposta observada és indirecta, mediada a través dels ajustos funcionals de la planta focal més que no per un contacte directe amb el sistema radicular del veí.

Les taxes de respiració rizosfèrica augmentaren quan les plantes que interaccionaven diferien en els seus trets nutricionals, indicant que els mecanismes de dissimilitud de trets regularen principalment els resultats de la interacció (Goberna et al., 2016). És probable que les espècies diferents promoguen una major complementarietat de recursos, incrementant la diversitat i la disponibilitat d'inputs de carboni per als microorganismes del sòl. Aquesta interpretació és coherent amb estudis previs que mostren que les mescles d'exudats i lixiviats nutricionals d'espècies contrastants estimulen la biomassa i la respiració microbiana (Steinauer et al., 2016; Joly et al., 2016).

No obstant això, el factor principal que va explicar la variació en la respiració rizosfèrica va ser la identitat de l'espècie vegetal, cosa que suggerix que la identitat funcional intrínseca de cada espècie exerceix una influència dominant sobre els processos microbians. Encara que els trets capturaren part d'aquesta variabilitat, és probable que estratègies fisiològiques específiques de cada espècie —com l'assignació de carboni, la renovació radicular i els perfils d'exudació— modulen la magnitud de la resposta microbiana del sòl.

Conclusions

Hem demostrat que els trets vegetals influeixen en la microbiota del sòl a través de dos mecanismes: estratègies funcionals dominants que controlen la disponibilitat de recursos, i mitjançant efectes de complementarietat derivats de la partició de recursos entre espècies. No obstant això, les mètriques de diversitat de trets descrigueren amb més eficàcia les relacions planta-FE. A més, a l'hora de descriure les relacions planta-FE, es recomana prioritzar els trets fisiològics i les variables associades amb taxes de

processos de curt termini per damunt dels trets morfològics i dels pools de materials de llarg termini quan la informació de trets és limitada. En conjunt, aquests resultats destaquen la necessitat d'integrar múltiples dimensions de trets i compartiments vegetals per a comprendre millor les interaccions planta-funcions ecosistèmiques mediades per microorganismes del sòl.

Mostrem que tant els mecanismes de dissimilitud de trets com els de jerarquia de trets poden actuar de manera concurrent, depenent del tret específic considerat. Els nostres resultats ressaltaren els efectes heterogenis dels veïns sobre els trets vegetals, subratllant la complexitat dels factors que determinen els resultats de les interaccions sota condicions experimentals controlades. Aquesta heterogeneïtat s'atribueix a les diferències entre trets aeris i subterranis, fet que posa de manifest la necessitat de considerar ambdós tipus de trets per a una comprensió mecànica de la dinàmica de les comunitats.

En conjunt, els nostres resultats mostren que les interaccions intraespecífiques entre plantes poden modular de manera indirecta l'activitat dels microorganismes a través de les respostes fisiològiques de les plantes. Aquests efectes estan impulsats principalment per la dissimilitud de trets i la identitat de l'espècie, que determinen com les interaccions aèries es tradueixen en processos subterranis com les taxes de respiració rizosfèrica. La diversitat funcional estimula i promou la complementarietat de recursos i incrementa la respiració de la rizosfera del sòl. En conjunt, aquests resultats posen de manifest que les interaccions entre productors primaris van més enllà de la competència o la facilitació, exercint efectes en cascada sobre les funcions ecosistèmiques mediades per descomponedors.

EXTENDED SUMMARY IN ENGLISH

Author: Julia Jimeno Alda

Introduction

Ecosystems are dynamic, complex entities that integrate plants, animals, and microorganisms, which interact with each other and with the surrounding abiotic environment (Mace et al. 2012). These interactions are neither static nor isolated, but instead emerge from continuous feedbacks that operate across temporal and spatial scales, ranging from microscopic processes occurring in the soil matrix to large-scale patterns observable at the landscape level. Soil microbial communities are fundamental components of terrestrial ecosystems and largely control their functioning. Such is the importance of microorganisms that the first oxygen molecules were produced by marine cyanobacteria approximately 3.5 billion years ago (Singh et al. 2010). This evolutionary milestone highlights the central role of microorganisms not only in shaping early Earth conditions but also in sustaining contemporary biogeochemical cycles. Moreover, the question of how organisms interact with and influence ecosystems has recently come into sharp focus (De Long et al. 2019), reflecting a growing recognition that ecosystem functioning cannot be fully understood without explicitly considering biological interactions and trait-mediated processes.

Soil microbiota play a crucial role in regulating biogeochemical processes such as nutrient cycling and storage, gas exchange between soil and atmosphere, and the structuring of plant communities (Bardgett & Van der Putten 2014). Through these processes, microorganisms act as key intermediaries linking biological activity with physical and chemical soil properties. Microorganisms are also key regulators of atmospheric concentrations of greenhouse gases, including carbon dioxide (CO₂), methane (CH₄), and nitrous oxide (N₂O), which strongly affect energy transfer across ecosystem compartments (Singh et al. 2010). For example, the methane cycle is governed primarily by microbial methanogenesis, and methanotrophic bacteria play a

critical role (Feng et al. 2021). Another example is nitrous oxide, which is produced via microbial nitrification and denitrification of available nitrogen in soils (Hayatsu et al. 2021). Together, these microbial processes exert a disproportionate influence on climate regulation relative to the small physical size of the organisms involved.

Soil microbial communities also play a key role in regulating the carbon cycle. Although CO₂ uptake from the atmosphere is carried out mainly by higher plants through net primary production, microorganisms are fundamental to this process. They contribute substantially to carbon exchange between above- and belowground systems by regulating decomposition and heterotrophic respiration in soils. These microbial-driven fluxes determine the residence time of carbon in soils and thus influence long-term carbon storage. Microorganisms also indirectly influence the carbon cycle through their roles as plant symbionts or pathogens, and by altering nutrient availability in soil. The contribution of microorganisms to the carbon cycle is so important that approximately 120 billion tons of carbon are fixed annually by terrestrial primary production, and about 119 billion tons of carbon are emitted, half by autotrophic respiration (mainly from plants) and half by heterotrophic soil microorganisms (Singh et al. 2010). This near balance highlights the sensitivity of the terrestrial carbon cycle to small changes in biological regulation.

From a trophic perspective, organisms within soil food webs also affect aboveground communities directly and indirectly. Plants (producers) provide both organic carbon to decomposer subsystems and resources for root-associated organisms, such as root herbivores, pathogens, and mutualistic symbionts. These belowground interactions feed back into plant performance, influencing growth, survival, and reproductive success. Decomposer subsystems, in turn, break down dead plant material and indirectly influence plant growth and community composition by regulating the supply of plant-available nutrients. Root-associated organisms and their consumers have more direct effects on plants, and also on the quality, direction, and fluxes of energy and nutrients between plants and decomposers. This interplay creates plant–soil feedbacks that are crucial for ecosystem functioning (Wardle 2004), stability, and resilience under environmental change.

However, understanding how above- and belowground components of ecosystems operate and are coupled remains challenging. Soil or site conditions are frequently better

predictors of community patterns than geographic distance alone. This reflects the strong filtering role of local environmental conditions on microbial and plant communities. In addition, topsoil properties (e.g., pH, organic carbon concentration, salinity, texture, and available nitrogen) are highly variable. Another constraint when studying soil microbial populations is their low spatial density: despite high microbial biomass, typically less than 1% of available soil surface is colonized by microorganisms, suggesting biotic or abiotic constraints on microbial colonization in soils (Fierer 2017). This patchiness complicates sampling and interpretation of microbial processes. Moreover, although fungi and bacteria are the most abundant groups in terrestrial soils, archaea—despite being less abundant—carry out key functions such as methanogenesis and nitrification (Singh et al. 2010), underscoring the functional importance of rare or less abundant taxa.

Recent work exploring linkages between above- and belowground systems suggests that plant functional traits can act as crucial integrators between these components. Plants connect spatially distinct environments because their organs are distributed both above- and belowground (Wardle 2004). This connection occurs via above- and belowground plant parts that operate in a coordinated fashion (De Deyn 2017). These interactions occur within the rhizosphere, comprising plant roots and the surrounding soil influenced by root activity, and directly impacting microorganisms (Hartmann et al. 2008). The rhizosphere thus represents a hotspot of biological activity where plant traits and microbial processes converge.

Plant traits encapsulate the evolutionary, ecological, physiological, and morphological characteristics that define plant species identity (Cadotte et al. 2011; Colin et al. 2019). They provide a measurable link between species composition and ecosystem functioning. Certain sets of plant traits allow us to describe key biological processes and general community dynamics (McGill et al. 2006; Wright et al. 2004; Adler et al. 2013). Plant traits are intrinsically linked to the quantity and quality of organic carbon and to nutrient bioavailability (Colin et al. 2019), and thus play a key role in modifying the composition, amount, and accessibility of carbon and other nutrients in soil. Changes in nutrient availability, in turn, strongly affect soil microbial communities and overall ecosystem functioning (De Deyn et al. 2008). In particular, leaf traits (de Vries et al. 2012; Grigulis et al. 2013), root traits (Klumpp et al. 2009; Legay et al. 2014) and traits associated with nutrient uptake efficiency (Moreau et al. 2015) strongly influence soil

microbial activity, abundance, and composition. These trait-mediated pathways provide a mechanistic basis for predicting ecosystem responses to changes in plant community composition.

Functional traits also reflect plant behavior with respect to growth, reproduction, and survival. When plants interact with their environment, different response mechanisms can develop in traits that are able to respond to environmental change, including those induced by neighboring plants (“response traits” sensu Violle et al. 2007), due to differences in trait values and trait hierarchies. A plant’s ability to influence its neighbors is closely linked to functional differences (Semchenko et al. 2013). These functional differences also operate belowground (Valverde-Barrantes 2013) and can influence ecosystem functions mediated by soil microorganisms (Gould 2016), shaping the interaction mechanisms between above- and belowground components of ecological communities (Carmona et al. 2019). Understanding these linkages is therefore essential for a comprehensive view of ecosystem dynamics.

Accordingly, this thesis addresses the following question:

How can we improve our understanding of microbiota-driven ecosystem functions through their relationship with plant traits?

We build on the following statements from the literature:

- Plant traits are among the main biotic factors regulating ecosystem dynamics and processes (Hooper 2005), acting as integrators of evolutionary history and ecological strategy.
- The impact of plant species identity is expressed through plant functional traits, which determine where species can thrive and how they interact with their environment (Cadotte et al. 2011), including both biotic and abiotic interactions.
- Plant traits are influenced by the coexistence of different organisms, ultimately affecting ecosystem processes (Violle et al. 2007), through both direct interactions and indirect feedback mechanisms.

- Plant–microbiota interactions are key drivers of natural community structure (De Deyn 2017) and regulators of ecosystem biogeochemical cycles (Lambers et al. 2009), highlighting the need to study these interactions jointly rather than in isolation.

The main hypothesis of this thesis is that specific plant traits, or their combinations, strongly affect soil microbial communities and associated ecosystem functions, particularly those related to organic matter decomposition and nutrient cycling.

To address this question, we propose a conceptual framework based on key sets of plant traits and a multitrophic perspective, allowing us to explicitly link plant–plant interactions with plant–soil–microbe processes.

Justification of the thesis and general objectives

The specific objective of Chapter 1 was to examine the role of plant–soil microbiota interactions in mediating ecosystem functions (EFs), under the premise that plant functional traits are reliable predictors of soil microbe–mediated EFs. We asked how experimental conditions influence plant–EF relationships, which trait metrics (magnitude vs. diversity) best describe these functions, and how trait type and spatial location affect both material pools and process rates.

In Chapter 2, we delved into the mechanisms underlying plant behavior through functional traits. Because the outcome of interactions between two species depends on functional differences between individuals, we hypothesized that functional distance between species would simultaneously affect plant performance during heterospecific interactions.

Chapter 3 describes the effects of interspecific plant–plant interaction outcomes on associated microorganisms. Effects on soil microbiota were quantified via heterotrophic respiration, a key ecosystem function linked to soil microbiome metabolism and the carbon cycle. The nature of this phenomenon lies in the extended influence of functional differences between interacting plants on belowground systems.

General methods

To obtain the results presented in this thesis, we developed: a database entitled “Plant traits and soil microbiota–mediated ecosystem functions”; a germination assay prior to the experimental phase; two greenhouse experiments (“Plant interaction experiment” and “Plant characterization experiment”); and an incubation assay.

Database “Plant traits and soil microbiota–mediated ecosystem functions”

We conducted a meta-analysis to establish correlations between plant traits and ecosystem functions mediated by soil microorganisms. We performed a literature search from September 2019 to March 2024. During this period, we added to the database all studies retrieved from Web of Science (WoS-FECYT) that related plant traits to ecosystem properties mediated by soil microorganisms. Search terms combined trait, function, and microbiome terms (e.g., organic matter decomposition AND plant trait AND soil microorganisms).

We first screened titles and abstracts in a preselection step. We then read the full text of candidate articles and extracted statistical relationships from the manuscript. Selection criteria were:

- a) the presence of a statistical relationship between plant traits and ecosystem properties mediated by soil microorganisms;
- b) from the reported statistics, we obtained the correlation coefficient (R), correlation sign (+/–), significance level (P-value), and sample size (N). Data were extracted directly (reported correlation values) or indirectly (from supplementary data allowing us to compute R and P);
- c) monoculture experiments were automatically excluded;
- d) studies relating plant traits to ecosystem functions in the absence of soil microbiome mediation were excluded.

In total, we obtained 2,455 records of relationships between plant traits and ecosystem properties from 33 scientific articles.

For interpretation, we classified plant traits by relevant dimensions (morphological vs. physiological, above- vs. belowground, leaf vs. stem vs. root) and ecosystem functions

(fluxes, pools, decomposition and respiration, microbial biomass, nutrient cycling, nutrient accumulation in soil, and soil organic matter accumulation).

We also compiled additional information for subsequent analyses, including plant growth form (tree, shrub, mixed, herbaceous), biome type (temperate broadleaf and mixed forest; Mediterranean forests, woodlands and scrub; desert and xeric shrublands), Köppen climate classification of the study site, and experimental setting (field, greenhouse, or laboratory).

Germination assay

Study sites and experimental design

Reproductive material was collected from natural populations and processed to obtain viable seeds. We obtained forty-two Mediterranean herb and shrub species between May and September 2020:

Alyssum granatense, *Antirrhinum graniticum*, *Andryala integrifolia*, *Aphyllanthes monspeliensis*, *Asphodelus ramosus*, *Bellardia trixago*, *Bromus tectorum*, *Capsella bursa-pastoris*, *Cistus ladanifer*, *Dactylis glomerata*, *Dianthus lusitanicus*, *Echium vulgare*, *Filago lutescens*, *Helichrysum stoechas*, *Hirsfeldia incana*, *Hordeum murinum*, *Jasione montana*, *Lavandula pedunculata*, *Linaria sparteae*, *Lupinus angustifolius*, *Papaver rhoeas*, *Periploca angustifolia*, *Piptatherum miliaceum*, *Plantago coronopus*, *Plantago lagopus*, *Poterium sanguisorba*, *Reseda luteola*, *Rumex induratus*, *Santolina rosmarinifolia*, *Sedum album*, *Stipa pennata*, *Artemisia assoana*, *Thapsia villosa*, *Thymus mastichina*, *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis*, *Trifolium angustifolium*, *Trifolium arvense*, *Trifolium hirtum*, *Vicia villosa*, *Vulpia myuros*, *Xolantha guttata*.

Sampling locations were Torrelodones, Madrid, Spain (40.59, -3.93) and Sierra Ministra, Castilla-La Mancha, Spain (41.02, -2.37) (Fig. 2). These areas are characterized by granitic and calcareous lithologies and cold semi-arid steppes (Bsk, Köppen classification).

Seeds were sown in 30-cell trays. Depending on seed size, 50 small seeds or 2 large seeds were sown per cell. Each tray contained two different species.

Plant interaction experiment

Study site and experimental design

The aim of this experiment was to study plant–plant interactions in heterospecific and conspecific pairs and to quantify neighbor effects on plant traits across a gradient of functional distances.

We selected ten Mediterranean herb and shrub species from different evolutionary lineages among the 42 germination-assay species. These ten species covered a wide range of functional differences and showed the highest germination rates:

Trifolium angustifolium (Fabaceae), *Vicia villosa* (Fabaceae), *Bromus tectorum* (Poaceae), *Hordeum murinum* (Poaceae), *Andryala integrifolia* (Asteraceae), *Helichrysum stoechas* (Asteraceae), *Thymus mastichina* (Lamiaceae), *Micropus erectus* (Asteraceae), *Hirschfeldia incana* (Brassicaceae), *Plantago coronopus* (Plantaginaceae).

The substrate used in greenhouse experiments was collected at the Agricultural Research Station “La Canaleja” in Alcalá de Henares, Madrid, Spain (40.51, –3.31). The region has a semi-arid climate with low and irregular rainfall, averaging 353 mm per year. Soils are classified as Calcic Haploxeralfs, with a sandy-loam texture and a minimum organic carbon content of 7.5 g kg^{–1} in the topsoil. Salinity is low (0.123 dS m^{–1}) and pH is typical of neutral soils (7.9) (Martín-Lammerding et al. 2015). Soil samples were collected in February 2021 from 5–20 cm depth to avoid the surface seed bank and sieved through a 5-mm mesh. To reduce microbial activity, soil was heated at 120 °C for 1 h and then mixed with silica sand in a 9:1 (v/v) ratio. Pots (12 × 25 × 18 cm) were filled with 5.7 L of this mixture (Figs. 4–6).

We sowed 300 pots, covering all possible pairwise combinations among the 10 species. In total, we obtained 45 heterospecific pair combinations and 10 conspecific combinations, replicated 6 and 3 times, respectively, to incorporate intraspecific variation in neighbor responses. This design yielded 600 plants: 540 individuals in 270 pots with a heterospecific neighbor, and 60 individuals in 30 pots with a conspecific neighbor. Fifty pots (100 individuals) were excluded from analyses due to plant

mortality before harvest. Functional traits were measured in parallel with the Plant characterization experiment.

Plant characterization experiment

Experimental design

This experiment was conducted concurrently with the Plant interaction experiment, in the same greenhouse and using the same substrate and species. Its aim was to estimate functional distances between conspecific pairs of the species used in the interaction experiment, to characterize functional differences.

We measured 29 functional traits of seedlings and adult plants, selected because they capture key morpho-physiological and fitness-related properties that determine plant behavior under biotic and abiotic interactions. Sixty individuals from the germination assay were transplanted into thirty pots (2 individuals per pot, 3 pots per species). Thus, we measured traits on 6 individuals per species for the 10 species included in the experiment. Seedling traits (i.e., individuals with cotyledons) were measured during the first month after emergence. Adult traits were measured at maturity, concurrently with measurements in the Plant interaction experiment.

Incubation assay

The incubation assay was carried out at the Centro de Investigaciones sobre la Desertificación (CIDE). Its aim was to test how basal soil respiration (BR) responds to trait changes induced by plant–plant interactions. We measured CO₂ accumulation in soil samples extracted from the rhizosphere of plants that had grown with a neighbor, together with gravimetric water content (GWC) of the corresponding bulk soil. We then calculated basal respiration rates (BR).

To measure GWC in bulk soil, assumed to match that of rhizospheric soil, we placed 5 g soil samples in glass cylinders with porous bottoms, dried them at 105 °C for 24 h, and allowed them to equilibrate for 15 min in a laboratory desiccator before reweighing.

To quantify accumulated CO₂, we placed 2 g of rhizospheric soil in 10-ml hermetic vials sealed with silicone stoppers and adjusted moisture with distilled water until all samples reached the GWC of the wettest sample. Vials were incubated in the dark at 28 °C for 7 days. Accumulated CO₂ was measured by withdrawing gas samples with a syringe and injecting them into a CO₂ monitor 5700 (Illinois Instruments, USA).

Statistical analyses

Chapter 1

For the meta-analysis, we converted extracted statistics into effect sizes (Zr). Correlation coefficients (R; significant and non-significant) and sample sizes (N) were processed using the function `escalc` in the R package `metafor`. The method “ZCOR” applied Fisher’s r-to-z transformation (Fisher 1921). This produced Zr values and associated variances (Vi). Using Zr and Vi, we fitted mixed-effects meta-analytic models with the function `rma.mv` in `metafor`. These models offer flexible tools for meta-analysis and allow the inclusion of multiple data levels (“moderators”) as predictors, enabling mixed-effects meta-regression (Viechtbauer 2010).

Chapter 2

Before initiating the Plant interaction and Plant characterization experiments, we calculated germination percentage and mean germination time (t_{50}) to select the ten best-performing species among the 42 in the germination assay. These metrics are standard estimates of seed viability for a population (Ghaleb et al. 2022). Germination percentage was computed as the number of seeds that germinated divided by the total number of seeds sown.

At the end of both experiments, we measured aboveground, belowground, reproductive, and morpho-physiological traits. We then calculated the Relative Change (RC) in plant traits to quantify how trait values shifted when a focal plant grew with a heterospecific versus a conspecific neighbor.

Using trait measurements from the Plant characterization experiment, we computed Functional Distance (FD) between each species pair with the function `gowdist` in the R

package FD (Laliberté et al. 2014). This function estimates FD using both quantitative and categorical traits, employing the Gower similarity coefficient (Gower 1971) as described by Podani (1999), and converting it into a dissimilarity coefficient.

Finally, we applied generalized linear mixed models (GLMMs) with glmmTMB to test relationships between FD of interacting individuals and RC in the focal plant. Analyses were conducted with the function glmmTMB in the glmmTMB package (Brooks et al. 2017).

Chapter 3

We first calculated basal respiration (BR) as the average daily amount of carbon mineralized per kilogram of soil ($\text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) over the incubation period, following Nannipieri et al. (1990). To evaluate whether BR was influenced by neighbor identity, we calculated the Relative Change in BR (RC(BR)), which quantifies variation in BR when a focal plant grew with a heterospecific neighbor relative to a conspecific neighbor.

We then calculated functional distances for species pairs whose interaction outcomes affected soil respiration. Plant trait data were obtained from the Plant interaction experiment, and used to compute functional distances based on different trait groups: aboveground, belowground, nutrient-related, morphological, and all traits combined. Distances were computed with gowdist (FD package). These distances allowed us to test how functional differences between interacting plants influenced soil respiration. We used linear mixed-effects models (LMER) fitted with the function lmer from the lmerTest package in R.

Results

Overall, this thesis shows that plant traits contribute to the regulation of ecosystem functioning across multiple levels of biological organization. Using a multiscale approach encompassing community-, species-, and individual-level analyses, we show that trait variability and spatial location determine the intensity and direction of both plant–plant and plant–soil interactions, ultimately shaping ecosystem processes. At the

community level, plant functional diversity, followed by trait-magnitude metrics, emerges as a key descriptor of microbially mediated ecosystem process rates and fluxes. At the species level, functional distance between coexisting plants determines neighborhood interaction outcomes. At the individual level, trait-mediated relationships propagate to soil microorganisms, influencing rhizospheric soil respiration. Collectively, these findings support a trait-based, mechanistic understanding of how plants exert top-down control over ecosystem functioning across ecological scales.

Below we summarize the main results by chapter.

Chapter 1

Plant traits showed a positive and significant overall relationship with ecosystem functions mediated by soil microorganisms, with trait diversity outperforming magnitude-based metrics as a predictor. Trait metrics more effectively explained short-term ecosystem process rates and fluxes than long-term pools. Physiological traits had broader effects than morphological traits, significantly explaining a wider range of functions related to organic matter, nutrients, microbial biomass, and both carbon and nutrient cycling. Aboveground traits primarily regulated nutrient storage via biomass accumulation and organic matter inputs, whereas belowground traits controlled carbon and nutrient cycling through root activity and rhizosphere interactions.

Chapter 2

Plant–plant interactions revealed strong neighbor effects on most traits measured. Some traits increased when plants grew with a heterospecific neighbor compared to a conspecific neighbor, whereas others decreased. Considering species identity alone, trait responses to heterospecific neighbors were inconsistent: trait values increased or decreased depending on the species combination, with no clear pattern. When we incorporated functional distance between species into the models, most traits increased as functional differences decreased. This pattern was especially evident for aboveground biomass and nutrient contents in both above- and belowground traits. In contrast, root mass was the only trait that increased with greater functional distance, displaying an opposite trend. Overall, these results indicate that trait hierarchy exerts a stronger

influence than trait dissimilarity in determining the direction and magnitude of interspecific plant–plant interactions.

Chapter 3

Plant–soil microorganism interactions were strongly influenced by plant–plant interactions, which significantly affected rhizospheric respiration, a key ecosystem function linked to organic matter decomposition. Rhizospheric respiration rates differed when individuals grew with heterospecific versus conspecific neighbors. When only focal plant identity was considered, respiration responses varied among individual combinations without a consistent pattern. However, clear effects emerged when functional distance was included. Individuals growing with functionally distinct neighbors—especially those differing in nutrient-related and aboveground traits—showed higher rhizospheric respiration rates than plants paired with conspecifics. Thus, functional dissimilarity between neighbors promoted rhizospheric respiration, rather than trait hierarchy.

Discussion

Ecosystems are inherently complex, driven by intricate interactions among species, genotypes, and environmental factors (Mace et al. 2012). Studying their structure and dynamics by focusing on specific components has long been an effective strategy to understand the interaction networks that sustain ecosystem processes and functions (Brown et al. 2001). Within this framework, and from a community-level perspective, plant functional traits play multiple roles in regulating ecosystem functioning, influencing nearly all major biogeochemical cycles (Chapin 2003). Beyond the well-recognized influence of plants, soil microorganisms also emerge as pivotal drivers of ecosystem processes, exerting effects comparable to those of plants. Together, plants and soil microorganisms form a coupled system that regulates ecosystem stability, productivity, and resilience (Rout & Southworth 2013).

Our results suggest that the effects of plant–plant interactions on ecosystem functioning vary across levels of biological organization, reflecting the interconnected nature of ecological hierarchies (Jayaramaiah et al. 2024). At broad community scales, plant

functional diversity, followed by trait-magnitude metrics, underpins how plant communities collectively influence soil microbe-mediated ecosystem functions. At species and individual levels, interaction outcomes become increasingly context-dependent (Rzanny & Voigt 2012). This context dependence may partly arise from species-specific dependencies, given that much of an individual's performance is determined by the characteristic trait configuration of its species (Swenson & Enquist 2009).

Above- and belowground traits contribute differently to these interactions, as they differ in ecological roles and in the mechanisms by which they modulate interactions (van Geem et al. 2013). Aboveground and physiological traits, associated with resource capture and competitive ability, tend to follow trait-hierarchy mechanisms in plant-plant interactions, whereby differences in fitness determine interaction outcomes (Mayfield & Levine 2010; Soliveres et al. 2018). By contrast, belowground traits, which mediate nutrient acquisition and feedbacks with soil microorganisms, predominantly follow trait-dissimilarity mechanisms, promoting niche complementarity, resource partitioning, and coexistence (Kraft et al. 2014; Wagg et al. 2017).

The integrative perspective of this thesis—encompassing a comprehensive suite of above- and belowground, morphological, physiological, reproductive, and nutritional traits—provides a multidimensional view of how plants and their associated microbiota jointly regulate ecosystem processes. Overall, the results show that the balance between trait hierarchy and trait dissimilarity shifts across biological and functional domains, defining the mechanisms by which plant interactions exert top-down control over ecosystem functioning.

Chapter 1: Diversity and magnitude of plant traits as predictors of soil microbially mediated ecosystem functions

Environmental and experimental contexts strongly influence both the expression and the interpretation of trait effects on ecosystem functions (e.g., Pan et al. 2022; Madritch et al. 2020). Plants regulate soil processes not only through the quantity of inputs they provide, but also through the diversity of functional strategies by which they use resources (Feng et al. 2022). In this sense, trait diversity proved to be a more powerful

predictor than trait magnitude, because higher functional variability within plant communities enhances resource-use complementarity and promotes ecosystem multifunctionality (De Bello et al. 2010).

Overall, ecosystem functions were enhanced by belowground physiological traits, as root exudation supplies labile carbon and nutrients that stimulate microbial metabolism, enzyme activity, and biogeochemical transformations (Nguyen et al. 2023). By contrast, whole-plant trait metrics significantly suppressed these functions, likely because excessive nutrient uptake and allocation by plants can reduce the availability of substrates for microbial activity (Harrison et al. 2007). Individual trait–EF relationships were driven by both trait type and location, with morphological and physiological traits, above- and belowground, contributing complementary yet distinct effects on ecosystem functions.

Morphological traits, especially aboveground ones, primarily act as sources and reservoirs of nutrients via biomass production and litter inputs (Rengel & Marschner 2005). Belowground morphological traits facilitate uptake of labile nitrogen forms (Jones et al. 2004) and support dynamic nutrient exchanges between plants and microbes during microbial turnover (Harrison et al. 2007).

Physiological traits exert more integrative control on ecosystem processes by regulating nutrient mobilization and microbial activity, as they directly mediate energy and nutrient fluxes among plants, soils, and microbes (Lavorel & Garnier 2002). Aboveground physiological traits were the strongest predictors of multiple ecosystem functions, regulating trade-offs between carbon and nitrogen cycles through stoichiometric constraints and microbial enzyme activity (Averill et al. 2014; Mooshammer et al. 2014). Belowground physiological traits, in turn, played a central role in nutrient renewal and rhizosphere processes, underscoring their importance for sustaining microbial metabolism and nutrient availability (Finzi et al. 2015).

Chapter 2: Neighbor effects mediate plant–plant interactions

Functional differences between individuals in heterospecific interactions explained much of the observed variation in plant trait responses, consistent with trait-hierarchy mechanisms driven by differences in fitness (Mayfield & Levine 2010). Individuals

growing with functionally similar neighbors tended to exhibit higher trait values than those growing with functionally dissimilar neighbors. This suggests that, at the species level, functional identity determines the direction and strength of interaction outcomes, with some species consistently obtaining performance gains under specific environmental conditions. However, when species have similar performance capacities, competitive asymmetries weaken, reducing negative effects and preventing strong dominance (Soliveres et al. 2018).

Not all traits responded to functional distance in the same way. Some were influenced by trait-dissimilarity mechanisms linked to niche differentiation. These two mechanisms—trait hierarchy and trait dissimilarity—can act concurrently (Wagg et al. 2017), and their relative importance depends on environmental context and the trait considered. In our case, root mass followed a pattern consistent with trait dissimilarity, typically associated with reduced competition and enhanced coexistence (Kraft et al. 2014). This aligns with the idea that belowground traits, which reflect resource-use strategies, are more strongly shaped by niche differentiation than aboveground traits (Soliveres et al. 2018).

Chapter 3: Heterospecific interactions among Mediterranean plants with contrasting nutrient contents enhance rhizospheric microbiota respiration

After evaluating the effects of functional differences arising from plant–plant interactions on plant–soil microbe relationships, we found that nutrient-related traits and aboveground morphological traits—particularly nutrient contents in leaves and stems—substantially increased rhizospheric respiration following plant–plant interactions. This suggests that physiological responses of the focal plant, modulated by its neighbor, translated into changes in belowground carbon fluxes. A large fraction of photosynthetically fixed carbon is exuded through roots (Farrar & Jones 2000; Nguyen 2003), and nitrogen released by fine roots promotes microbial biomass accumulation (De Long et al. 2019; Sun et al. 2021). Nutrients reabsorbed from senescent leaves and subsequently redistributed to roots may further reinforce these fluxes (Brant & Chen 2015).

These results indicate a cascade from plant–plant interactions to plant–soil processes: neighbors alter focal plant physiology, which in turn modifies microbial activity in its own rhizosphere. The observed response is thus indirect, mediated by functional adjustments of the focal plant rather than by direct contact with the neighbor’s root system.

Rhizospheric respiration rates increased when interacting plants differed in their nutrient-related traits, indicating that trait-dissimilarity mechanisms primarily regulated these outcomes (Goberna et al. 2016). Different species likely promote greater resource complementarity, increasing the diversity and availability of carbon inputs to soil microorganisms. This interpretation is consistent with previous studies showing that mixtures of exudates and nutrient-rich leachates from contrasting species stimulate microbial biomass and respiration (Steinauer et al. 2016; Joly et al. 2016).

However, the main factor explaining variation in rhizospheric respiration was plant species identity, suggesting that intrinsic functional identity exerts a dominant influence on microbial processes. Although traits captured part of this variability, species-specific physiological strategies—such as carbon allocation, root turnover, and exudation profiles—likely modulate the magnitude of microbial responses.

Conclusions

We show that plant traits influence soil microbiota through two main mechanisms: (1) dominant functional strategies that control resource availability, and (2) complementarity effects arising from resource partitioning among species. Trait-diversity metrics more effectively captured plant–EF relationships than trait-magnitude metrics. When trait information is limited, our results suggest prioritizing physiological traits and short-term process variables over morphological traits and long-term material pools for predicting plant–EF relationships. Overall, these findings highlight the need to integrate multiple trait dimensions and plant compartments to better understand plant–ecosystem function linkages mediated by soil microorganisms.

We also show that trait-dissimilarity and trait-hierarchy mechanisms can act concurrently, depending on the specific trait considered. Our results reveal

heterogeneous neighbor effects on plant traits, underscoring the complexity of factors determining interaction outcomes under controlled experimental conditions. This heterogeneity arises in part from differences between above- and belowground traits, emphasizing the need to consider both trait domains for a mechanistic understanding of community dynamics.

Taken together, our results show that intra- and interspecific plant–plant interactions can indirectly modulate microbial activity through plant physiological responses. These effects are driven primarily by trait dissimilarity and species identity, which determine how aboveground interactions are translated into belowground processes such as rhizospheric respiration. Functional diversity enhances resource complementarity and increases rhizospheric respiration. Overall, these findings demonstrate that interactions among primary producers extend beyond competition and facilitation, exerting cascading effects on ecosystem functions mediated by decomposers.