

INTRODUCCIÓN GENERAL

Tierras secas: ecosistemas olvidados pero claves para el planeta

Las tierras secas, conocidas en inglés como *drylands*, constituyen el bioma más extenso del planeta (Schimel, 2010), ocupando en torno al 41 % de la superficie de tierra emergida (Wang et al., 2022). Son el soporte y sustento de aproximadamente un tercio de la población humana (Maestre et al., 2021). Se caracterizan por un balance hídrico negativo, donde la evapotranspiración potencial supera a las precipitaciones, lo que limita significativamente la disponibilidad de agua (Zeng et al., 2021). Atendiendo al Índice de Aridez (IA), que se define como la relación entre la precipitación media anual y la evapotranspiración potencial media anual, las tierras secas se dividen en: i) zonas hiperáridas ($IA < 0.05$), ii) zonas áridas ($0.05 < IA < 0.20$), iii) zonas semi-áridas ($0.20 < IA < 0.50$) y iv) zonas sub-húmedas secas ($0.50 < IA < 0.65$) (Figura 1; Osman, 2018; Maestre et al., 2021). También destacan por presentar una gran heterogeneidad espacial y variabilidad en los patrones meteorológicos, así como una marcada vulnerabilidad a eventos climáticos extremos (Zeng et al., 2021)

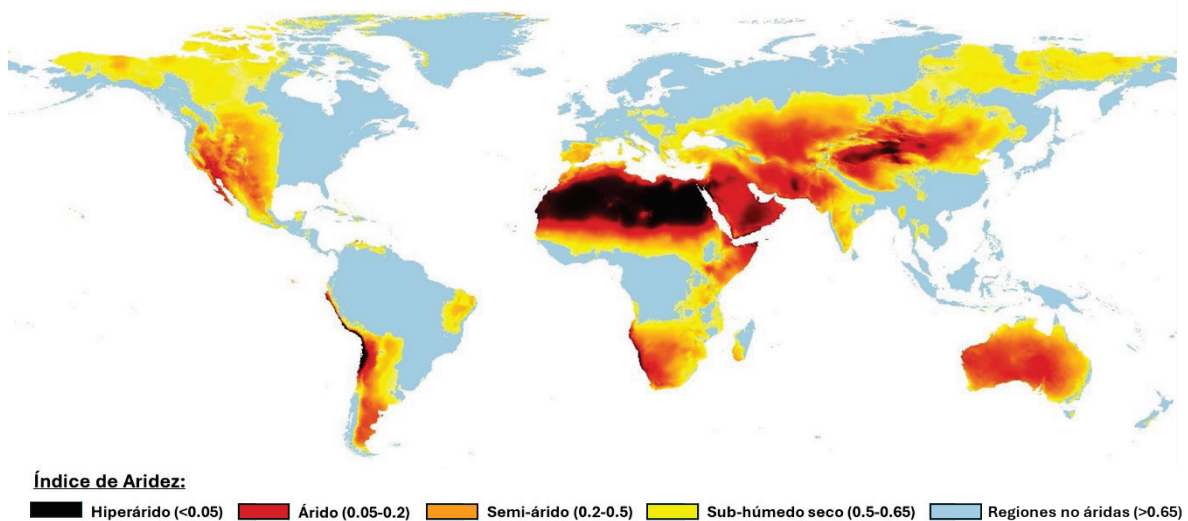


Figura 1: Clasificación y distribución global de las tierras secas atendiendo al Índice de Aridez (IA). Realizado a partir de la base de datos *Global Aridity Index and Potential Evapotranspiration (ET0) Climate v3* (Zomer & Trabucco, 2019).

Más allá de su vasta extensión territorial, las tierras secas desempeñan un papel crucial en el mantenimiento de los ciclos ecológicos globales (Maestre et al., 2021). Soportan el 50 % de la superficie dedicada a la ganadería y el 44 % de la agricultura mundial (UNCCD, 2017). Al mismo tiempo, representan un importante reservorio de biodiversidad, al concentrar el 35 % de las áreas catalogadas como *hotspot* globales y el 20 % de los principales focos de diversidad vegetal (Davies et al., 2012). Esta riqueza biológica se traduce en una notable capacidad para

desempeñar múltiples funciones ecológicas clave, como la regulación de los ciclos biogeoquímicos del carbono (Ahlström et al., 2015), del nitrógeno (Tian et al., 2020) y del agua (Wang et al., 2012), procesos fundamentales para sostener la productividad primaria de estos sistemas (Maestre et al., 2012).

El incremento de la población humana, el cambio en el uso del suelo, la intensificación de la ganadería y la agricultura, la proliferación de especies invasoras y los efectos del cambio climático están acelerando la expansión y degradación de las tierras secas a nivel global (Hoover et al., 2020; Lewin et al., 2024). Se estima que entre el 10 y el 20 % de su superficie ya presenta signos de degradación severa, y que cada año se pierden aproximadamente 12 millones de hectáreas debido a la desertificación y a los cambios en el uso del suelo (Burrell et al., 2020). Esta degradación compromete gravemente la funcionalidad de los ecosistemas, provocando la pérdida de biodiversidad y de servicios ecosistémicos esenciales como la regulación hídrica, el almacenamiento de carbono, la fertilidad del suelo, ya de por sí baja, o la provisión de recursos naturales (Lu et al., 2018). Como consecuencia de esta alteración, los ambientes degradados se vuelven más vulnerables a la erosión hídrica y eólica, lo que a su vez genera unas mayores pérdidas de suelo y nutrientes y una mayor emisión de aerosoles a la atmósfera (Ravi et al., 2010; Duniway et al., 2019; Boroughani et al., 2020). Estos están relacionados con problemas de salud tanto animal como humana, y con alteraciones del clima regional y global afectando a los patrones de temperatura y precipitación (Field et al., 2010). A esta situación se suma el hecho de que los ecosistemas alterados no se recuperan de forma natural en un periodo de tiempo corto (Kimmell et al., 2023), lo que hace imprescindible la implementación de estrategias de restauración ecológica activa para revertir estos procesos y garantizar su sostenibilidad a largo plazo.

Restauración ecológica en zonas áridas: más allá de la forestación

Los enfoques de restauración han ido modificándose a lo largo del tiempo, adaptándose a las necesidades socioeconómicas, culturales y ecológicas de cada época. Durante la primera mitad del siglo XX, la visión predominante de la restauración de tierras secas se centró en la aforestación y la reforestación masiva, con el objetivo principal de reducir la erosión del suelo y mitigar las inundaciones, así como garantizar el suministro de materias primas forestales y generar empleo en zonas rurales deprimidas (Chirino et al., 2009; Vallejo, 2009). En este periodo se priorizó el uso de especies arbóreas de crecimiento rápido, lo que favoreció el empleo generalizado de coníferas, en particular *Pinus halepensis* Mill., 1768, una especie ampliamente utilizada por su capacidad de adaptación a condiciones edáficas pobres, su resistencia a la sequía y su rápida implantación en terrenos degradados (Chirino et al., 2009). Estos programas de reforestación demostraron una eficacia notable en la reducción de la erosión edáfica, especialmente en zonas altamente susceptibles como laderas escarpadas y cabeceras de cuenca, favoreciendo así la

estabilización hidrológica y la conservación del suelo (Chirino et al., 2009). No obstante, también provocaron impactos negativos significativos, como la progresiva fragmentación del mosaico agro-pastoral tradicional (Chirino et al., 2009) o la instauración de formaciones monoespecíficas, caracterizadas por una baja diversidad funcional y una limitada resiliencia ante perturbaciones (Pausas & Fernández-Muñoz, 2012; Vallejo et al., 2012). Además, los efectos de estos bosques sobre los recursos hídricos varían según la disponibilidad de agua, reduciendo en algunos casos la disponibilidad hídrica y amplificando los efectos de la sequía (Vicente-Serrano et al., 2021).

A causa de los efectos no deseados derivados de las repoblaciones forestales masivas del siglo XX, a partir de las décadas de 1980 y 1990 comenzó a consolidarse una nueva visión de la restauración en tierras secas, más centrada en la recuperación integral de los ecosistemas. Esta perspectiva, impulsada también por iniciativas internacionales como la Convención de las Naciones Unidas de Lucha contra la Desertificación, se articuló bajo el concepto de restauración ecológica, cuyo objetivo principal es devolver a los ecosistemas su estructura, funcionalidad y capacidad de autorregulación (UNCCD, 1994). Esta nueva aproximación no solo pretende mitigar los efectos del cambio climático, sino también incrementar la seguridad alimentaria, mejorar la estabilidad económica y fortalecer los servicios ecosistémicos clave en zonas áridas y semiáridas (Menz et al., 2013). La restauración ecológica se centra en el restablecimiento de procesos ecológicos fundamentales como la retención de agua y nutrientes, la sucesión vegetal, la estabilidad y estructura del suelo y el desarrollo de la microbiota edáfica (James et al., 2013). Para lograr estos objetivos, se han empleado diversas estrategias como el uso de especies pioneras adaptadas al estrés hídrico (Gebrekirstos et al., 2006; Cao et al., 2024), el manejo de la microtopografía (Cross et al., 2021; Tian et al., 2022), la aplicación de técnicas de captación de agua (Oweis, 2017; García-Ávalos et al., 2018) y el desarrollo de soluciones basadas en la naturaleza (Gooden et al., 2021; Alikhanova et al., 2023), todas ellas encaminadas a maximizar la resiliencia del ecosistema y su sostenibilidad a largo plazo.

A pesar de estos avances conceptuales y metodológicos, los porcentajes de éxito siguen siendo bajos, especialmente cuando las intervenciones se aplican a gran escala (Cao et al., 2008; Del Campo et al., 2021; Albrecht et al., 2022). Las bajas y altamente impredecibles precipitaciones, que condicionan tanto la germinación de semillas como la supervivencia de plántulas y plantones, constituyen uno de los principales factores de fracaso en las restauraciones (Duncan et al., 2019). Un ejemplo representativo es el caso de los ecosistemas áridos del oeste de Estados Unidos, donde los programas de restauración de estepas de *Artemisia* sp. han mostrado tasas de éxito inferiores al 10 %, incluso con inversiones significativas en siembras y manejo del terreno (James & Carrick, 2016). Ante este escenario, ha surgido un cambio de enfoque que propone orientar la restauración con base en los procesos ecológicos que operan de manera natural en las tierras secas. En lugar de introducir directamente especies vegetales de etapas avanzadas, este enfoque aboga por emular

las trayectorias sucesionales que seguiría un ecosistema árido tras una perturbación, reconstruyendo paso a paso las fases ecológicas que permiten alcanzar un estado funcional y autosostenible (Gufwan et al., 2025). Esta aproximación parte de reconocer que los primeros organismos en colonizar el suelo, como las biocostras y la microbiota edáfica, no solo son esenciales para iniciar la sucesión, sino que generan las condiciones necesarias para que otros organismos puedan establecerse posteriormente (Coban et al., 2022; Marasco et al., 2022; Malešević et al., 2024). Emular esta arquitectura natural no solo incrementa las probabilidades de éxito, sino que permite diseñar estrategias más resilientes, adaptadas al entorno y capaces de evolucionar hacia configuraciones más complejas sin necesidad de intervención humana constante (Malešević et al., 2024).

Biocostras: el imperceptible soporte de los ecosistemas áridos

La superficie de la mayoría de las zonas áridas del mundo está cubierta por una comunidad viva que tiene un papel fundamental en el funcionamiento de los ecosistemas (Belnap, 2001a). Esta comunidad que representa la "epidermis" del suelo se conoce como costra biológica del suelo o biocostra (Figura 2) y está compuesta por organismos autótrofos, como líquenes, briófitos, algas y cianobacterias, que captan la energía solar y fijan carbono (Sancho et al., 2016) y muchos de ellos también fijan nitrógeno (Belnap, 2002), y por organismos heterótrofos, como bacterias, hongos y arqueas, que descomponen la materia orgánica y reciclan nutrientes, contribuyendo a la fertilidad del suelo y su funcionalidad (Bowker et al., 2018; Weber et al., 2022). A nivel global, las biocostras ocupan el 12 % de la superficie terrestre y cerca del 30 % de la superficie de tierras secas (Rodríguez-Caballero et al., 2018a; Chen et al., 2020). Desempeñan un papel clave en el intercambio de gases y agua entre la atmósfera y el suelo (Eldridge et al., 2020; Sun et al., 2022b). Su presencia modula los procesos hidrológicos y contribuye a la regulación del régimen hídrico local (Chamizo et al., 2016; Cantón et al., 2020), al tiempo que mejora la fertilidad edáfica mediante el incremento del contenido de carbono orgánico y nutrientes (Chamizo et al., 2012b; Yu et al., 2016; Concostrina-Zubiri et al., 2022). Además, estabilizan la superficie del suelo, reduciendo tanto la erosión hídrica y eólica como las emisiones de polvo a la atmósfera (Chamizo et al., 2017; Fick et al., 2020a; Fick et al., 2020b; Gao et al., 2020; Rodríguez-Caballero et al., 2022). A nivel estructural, incrementan la microtopografía de la superficie del suelo, promoviendo el almacenamiento superficial de agua, la reducción de la erosión y la acumulación de sedimentos (Williams et al., 2012). Además, a escala de paisaje, actúan como áreas fuente de escorrentía, suministrando agua y nutrientes a la vegetación ubicada aguas abajo, contribuyendo así a su mantenimiento y productividad (Rodríguez-Caballero et al., 2014; Rodríguez-Caballero et al., 2018b).

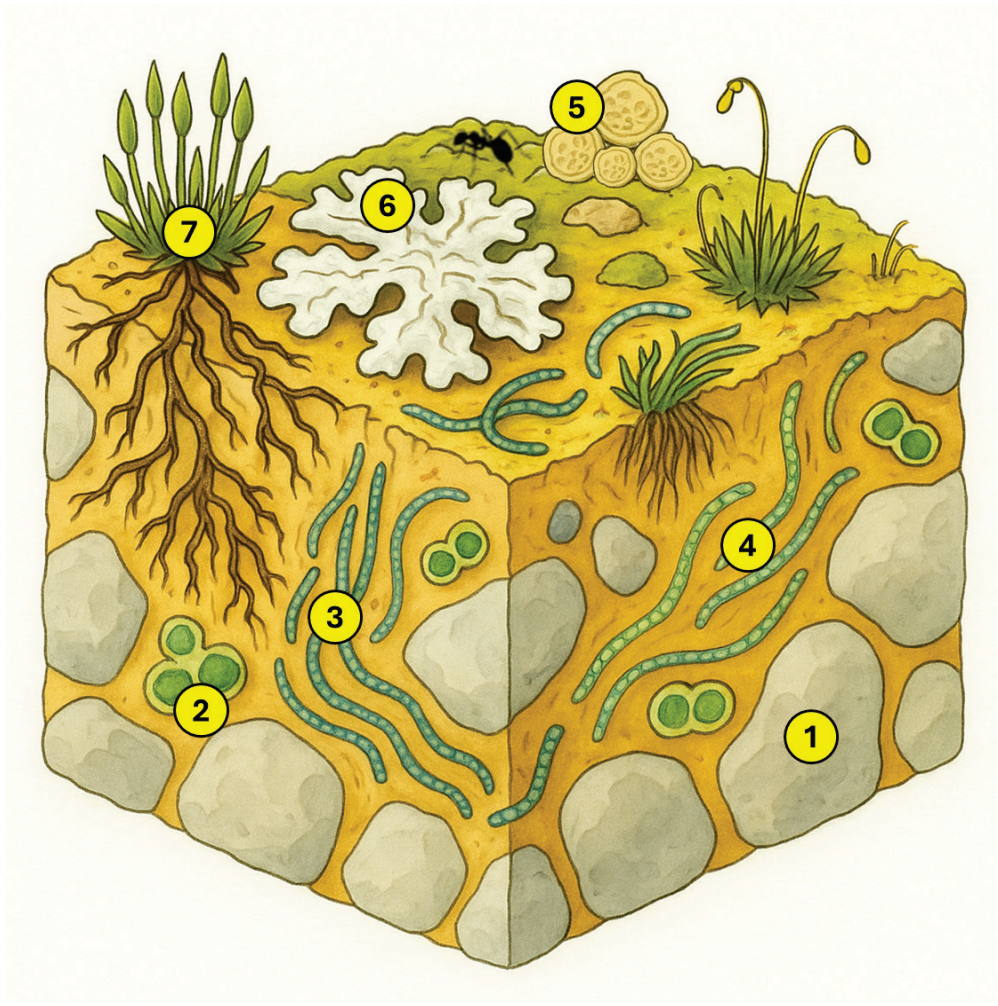


Figura 2: Componentes principales presentes en una biocostra. 1) Partícula de suelo o sustrato, 2) Componente algal, 3-4) Componente cianobacteriano, 5) Componente fúngico, 6) Componente líquénico y 7) Componente briofítico.

Estas comunidades presentan una dinámica de evolución en el tiempo, siguiendo una secuencia de etapas sucesionales a lo largo de su desarrollo (Figura 3; Miralles et al., 2020; Rubio y Lázaro, 2023). Los primeros componentes de esta comunidad que comienzan a estabilizar el suelo son las cianobacterias no fijadoras de nitrógeno, que mediante la síntesis de exopolisacáridos (de aquí en adelante, EPS), favorecen la adhesión de las partículas del suelo y la retención de carbono y otros nutrientes. Además, los EPS contribuyen a la capacidad de las cianobacterias para sobrevivir y adaptarse a condiciones adversas como sequía, salinidad o temperaturas extremas (Costa et al., 2018; Chamizo et al., 2020b). Posteriormente, las cianobacterias fijadoras de nitrógeno colonizan el suelo, aportando este nutriente indispensable pero escaso en las tierras secas, y mejorando las condiciones edáficas para la colonización de organismos posteriores en la sucesión como líquenes y musgos (Plaza et al., 2018). Los líquenes fijan carbono y algunas especies son capaces de fijar nitrógeno, aumentando significativamente la fertilidad de la superficie del suelo y la actividad microbiológica (Miralles et al., 2018). Además, promueven una mayor retención de humedad en la superficie del suelo (Chamizo et al., 2013) y proveen refugio a la microfauna (Rosentreter et

al., 2016). En las zonas con mayor humedad, como laderas de umbría o el dosel de arbustos y hierbas, los musgos, que presentan requerimientos hídricos mayores, encuentran condiciones propicias para su establecimiento y suelen representar estadios tardíos de la sucesión (Maestre et al., 2001; Eldridge et al., 2019). Además de desempeñar funciones similares a las de sus predecesores, los briófitos reducen significativamente la erosión del suelo al disponer de rizoides que lo estabilizan, promueven la acumulación de materia orgánica y partículas finas, así como el incremento de la retención de agua (Ladrón de Guevara & Maestre, 2022). La biocostra, por tanto, actúa como una comunidad ingeniera de ecosistemas (Xiao et al., 2022), donde los componentes en su conjunto aportan funciones esenciales que mejoran las propiedades de los suelos que habitan, facilitando la colonización de especies vegetales (Bowker et al., 2022).

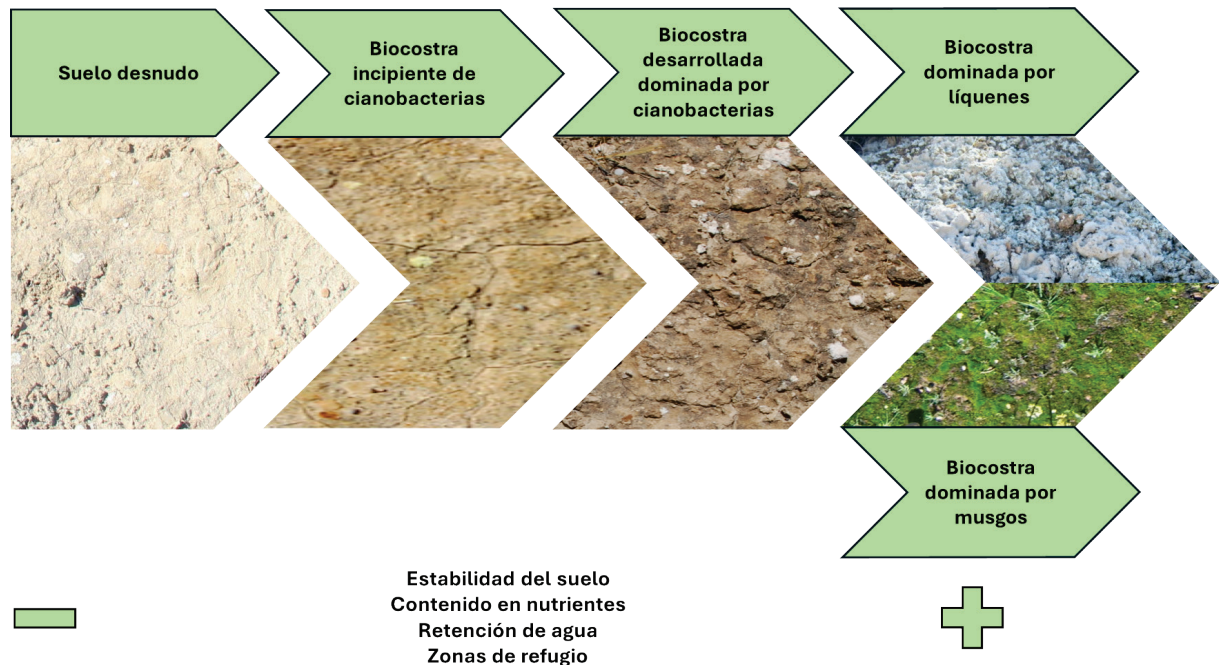


Figura 3: Etapas sucesionales de la biocostra, y relación con diferentes funciones del suelo: estabilidad, contenido en nutrientes, retención de agua y provisión de zonas refugio para fauna del suelo.

Biocostras: catalizadoras de la restauración de zonas áridas

Las biocostras comenzaron a cobrar importancia como objeto de estudio en la última década del siglo XX (Williams, 1994; Belnap, 1996; Belnap et al., 2001a; Belnap et al., 2001b), periodo desde el cual numerosos estudios han puesto de manifiesto el papel crucial que ejercen en el funcionamiento de los ecosistemas (Bowker et al., 2018; Chamizo et al., 2012b; Maestre et al., 2011). Una de sus cualidades más notables es su capacidad para tolerar condiciones climáticas extremas, como la sequía o las altas temperaturas (Weber et al., 2022). A pesar de su adaptación a condiciones ambientales adversas, las biocostras son especialmente sensibles a perturbaciones

mecánicas, como el pastoreo, la labranza, el pisoteo o el tránsito de vehículos (Ferrenbeg et al., 2015; Mallen-Cooper et al., 2018). Cuando estas alteraciones tienen lugar, su recuperación natural resulta extraordinariamente lenta, prolongándose durante años o varias décadas, dependiendo del tipo de organismo dominante en la comunidad, así como de otros factores como las características climáticas del sitio o el tipo de perturbación (Cantón et al., 2021; Rubio & Lázaro, 2023). Mientras que las comunidades dominadas por cianobacterias pueden restablecerse en unos pocos años (Rubio & Lázaro, 2023), las dominadas por musgos pueden necesitar décadas (Xiao et al., 2019), y las de líquenes varias décadas o incluso hasta un siglo (Belnap & Warren, 2002).

Evitar la alteración o desaparición de estas comunidades es fundamental, ya que su pérdida conlleva una degradación significativa de los ecosistemas que habitan (Maestre et al., 2013; Phillips et al., 2022). Por tanto, tras una alteración, dado que la restauración pasiva puede requerir periodos de tiempo prolongados, es crucial intervenir activamente en la restauración de la biocostra para recuperar la funcionalidad del suelo. Dos aproximaciones principales se han empleado para la recuperación de la biocostra: i) el uso de la comunidad de biocostra, ya sea mediante translocación desde un área donante con elevada cobertura (Velasco-Ayuso et al., 2017; Antoninka et al., 2018; Bethany et al., 2019), o mediante el cultivo *ex situ* en condiciones de invernadero a partir de pequeños propágulos que posteriormente se aplican en forma de suspensión licuada (*biocrust slurries*) (Schultz et al., 2022), y ii) el empleo de componentes aislados de estas comunidades, como líquenes (Bowker & Antoninka, 2016; Slate et al., 2020), musgos (Bu et al., 2017; Cruz de Carvalho et al., 2018; Doherty et al., 2020; Bowker et al., 2023), bacterias (Kheirfam, 2020; Kheirfam & Roohi, 2020) o cianobacterias (Lan et al., 2015; Giraldo-Silva et al., 2019; Roncero-Ramos et al., 2019c; Nelson et al., 2020). Diversos estudios han reportado resultados positivos al inocular suelos con estos organismos, tanto en lo que respecta a la colonización del inóculo empleado (Bowker & Antoninka, 2016; Román et al., 2018; Roncero-Ramos et al., 2019c; Bowker et al., 2023), como en la mejora de las propiedades del suelo (Muñoz-Rojas et al., 2018b; Kheirfam & Roohi, 2020).

Entre estos enfoques, el uso de cianobacterias aisladas de la biocostra es una de las estrategias más prometedoras. Estos organismos procariotas capaces de hacer la fotosíntesis (Sánchez-Baracaldo & Cardona, 2020) e incluso fijar nitrógeno atmosférico, característica restringida a linajes diazotróficos con o sin células especializadas llamadas heterocistos (Fujita & Uesaka, 2022), son considerados primocolonizadores del suelo (Nelson et al., 2022). Su notable aptitud para establecerse en entornos con condiciones ambientales extremas se debe, además, a la presencia de mecanismos de protección frente a la radiación y la desecación (Stal, 2007; Singh, 2018). Ubicuos en todas las comunidades de biocostra (Lan et al., 2021), la inoculación de cianobacterias en suelos degradados permite reproducir el proceso natural de colonización y

sucesión ecológica, al tiempo que mejora las propiedades del suelo (Lan et al., 2022). Además, en comparación con otros componentes de la biocostra, se pueden aislar diferentes especies de cianobacterias a partir de la biocostra (Roncero-Ramos et al., 2019a) y cultivar *ex situ*, lo que permite producir biomasa a gran escala en biorreactores a un bajo coste (Roncero-Ramos et al., 2019b; Roncero-Ramos et al., 2022). Por último, desde un punto de vista logístico, las cianobacterias presentan ventajas en cuanto a almacenamiento y transporte, ya que pueden conservarse mediante diversas técnicas, como la peletización (Román et al., 2020) o la liofilización (Cañizares-Villanueva et al., 2024), lo que las hace menos vulnerables al manejo en comparación con otros organismos más sensibles, como musgos o líquenes (Tucker et al., 2020). Su aplicación en campo también resulta más eficiente, ya que al tratarse de cultivos líquidos pueden dispersarse fácilmente mediante distintos métodos según la extensión a inocular: pulverizadores manuales para superficies pequeñas (Román et al., 2021), camiones cisterna con sistemas de aspersión para superficies medianas (Chen et al., 2006a; Colica et al., 2014) o aeronaves para grandes extensiones (James & Prithiviraj, 2012).

Su potencial como herramienta biotecnológica en restauración ecológica ha impulsado numerosos ensayos experimentales para evaluar su eficacia. En condiciones de laboratorio, la inoculación con cianobacterias formadoras de biocostra ha demostrado resultados positivos en una amplia variedad de suelos degradados, incluidos suelos desérticos, agrícolas, mineros y afectados por incendios (Maqubela et al., 2009; Román et al., 2018; Chamizo et al., 2020a). Por un lado, las cianobacterias inoculadas han mostrado capacidad para sobrevivir, establecerse y colonizar el sustrato y por otro, su presencia ha mejorado sustancialmente la calidad del suelo, aumentando el contenido de carbono orgánico y nitrógeno, y su estabilidad estructural (Chamizo et al., 2018; Muñoz-Rojas et al., 2018b; Román et al., 2018; Roncero-Ramos et al., 2022). Sin embargo, la inoculación directa con cianobacterias en condiciones de campo ha mostrado resultados limitados (Kubeckova et al., 2003; Chandler et al., 2019; Faist et al., 2020; Román et al., 2021) y sólo se han descrito algunos casos exitosos en desiertos de China e Irán (Hu et al., 2002; Chen et al., 2006b; Wang et al., 2009; Park et al., 2017b; Sadegi et al., 2020). La baja supervivencia y/o colonización en condiciones de campo se atribuyó, en parte, a que las cianobacterias empleadas en estos estudios se cultivaron en medios ricos en nutrientes y bajo unas condiciones ambientales optimizadas para maximizar la producción de biomasa, por lo que no estuvieron sometidas a condiciones de estrés. La falta de exposición a condiciones adversas provocó la inadaptación y posterior pérdida del inóculo al enfrentarse a las condiciones reales de campo (Cantón et al., 2021). Con el fin de mejorar la adaptación del inóculo a los factores de estrés que va a enfrentar posteriormente en condiciones naturales, se han aplicado dos estrategias principales: i) endurecer el inóculo a través de la exposición durante el cultivo a estreses abióticos, como ciclos repetidos de humectación-desección y variaciones de temperatura e intensidad lumínica (Giraldo-Silva et

al., 2019; Bowker et al., 2020); o ii) mejorar las condiciones del hábitat, especialmente en las fases iniciales de la inoculación, mediante el uso de materiales de origen natural o artificial, aplicando estrategias de reducción del estrés ambiental (en adelante, estrategias ESR) (Malešević et al., 2024). El empleo de estrategias ESR ha demostrado ser más eficaz para favorecer la colonización y supervivencia del inóculo que el endurecimiento durante el cultivo (Antoninka et al., 2018; Bowker et al., 2020; Román et al., 2021). Las principales estrategias ESR evaluadas incluyen: i) la aplicación de compuestos adhesivos, como pegamentos o aglutinantes químicos, para fortalecer la unión del inóculo a las partículas del suelo (Park et al., 2017a; Peng et al., 2017; Chandler et al., 2019; Antoninka et al., 2020; Faist et al., 2020); ii) la mezcla del inóculo con compuestos orgánicos, como lodos de depuradora (Maggioli et al., 2022); iii) el uso de cuadrículas de paja para estabilizar arenas (Zhao et al., 2019; Antoninka et al., 2020; Bowker et al., 2020); o iv) la utilización de mallas protectoras capaces de reducir la radiación solar y mantener niveles adecuados de humedad, fabricadas tanto con fibras naturales como yute (Bowker et al., 2020) o coco (Román et al., 2021), como con fibras sintéticas tales como polietileno (Chock et al., 2019; Antoninka et al., 2020; Fick et al., 2020b; Zhao et al., 2020) o tejido no hilado (Zhao et al., 2020).

La mayoría de los estudios realizados hasta la fecha se han desarrollado principalmente en desiertos fríos (Park et al., 2017a; Chock et al., 2019; Zhao et al., 2019; Antoninka et al., 2020; Bowker et al., 2020; Faist et al., 2020; Fick et al., 2020b; Zhao et al., 2020; Zhao et al., 2021; Xie et al., 2024), existiendo pocos ensayos en desiertos cálidos (Chandler et al., 2019; Faist et al., 2020; Román et al., 2021; Schultz et al., 2022), donde la aplicación de estas estrategias podría tener un papel aún más relevante. Por otro lado, una cuestión que permanece poco investigada es cómo la inoculación del suelo con cianobacterias, así como su uso combinado con estrategias ESR puede afectar a la comunidad microbiana del suelo. Estudios previos han constatado que la inoculación con cianobacterias puede inducir modificaciones en la composición de la microbiota del suelo a corto plazo (Jiménez-González et al., 2022), si bien a largo plazo la comunidad tiende a recuperar su composición original (Wang et al., 2021; Lan et al., 2022). Sin embargo, aún no se ha evaluado de manera integral el efecto combinado de la inoculación de cianobacterias y la aplicación de estrategias ESR sobre la microbiota del suelo. Cabe recordar que las alteraciones en la composición de las comunidades microbianas nativas del suelo pueden afectar negativamente a los ciclos biogeoquímicos y sobre las interacciones suelo-planta o con otros componentes bióticos del suelo, afectando el correcto funcionamiento del ecosistema (Sokol et al., 2022). Por tanto, resulta fundamental seleccionar con precisión tanto la estrategia de reducción del estrés ambiental (ESR) como el inóculo a aplicar. Investigaciones previas han recurrido al uso de materiales exógenos al ecosistema para la aplicación de estrategias ESR, como mallas de plástico (Antoninka et al., 2020; Zhao et al., 2020) o de fibras vegetales procedentes de especies alóctonas (Bowker et al., 2020; Román et al., 2021). No obstante, se recomienda priorizar el empleo de

estrategias ESR elaboradas a partir de materiales orgánicos autóctonos o, en su defecto, provenientes de áreas ecológicamente afines al sitio de restauración. Asimismo, el inóculo debe estar constituido por especies nativas, a fin de evitar alteraciones en la composición y el equilibrio de las comunidades naturales locales (Rossi et al., 2022; Malešević et al., 2024).

Además de las estrategias basadas en la inoculación directa con cianobacterias y la aplicación de materiales que reducen el estrés ambiental, otra técnica prometedora para potenciar la restauración de suelos degradados consiste en la creación de islas de biodiversidad, que consisten en la translocación de fragmentos de biocostra desde zonas de referencia hacia áreas en proceso de restauración (Tucker et al., 2020). Estos fragmentos funcionan como fuentes donantes de propágulos y nutrientes, facilitando la recolonización microbiana y acelerando la reconstitución funcional de la comunidad de biocostra (Tucker et al., 2020). Si bien diversos estudios han evaluado los efectos de estos fragmentos sobre las propiedades fisicoquímicas del suelo y su viabilidad temporal (Chiquoine et al., 2016; Ballesteros et al., 2017), hasta la fecha no se ha investigado su aplicación de forma integrada con estrategias de reducción del estrés ambiental y la inoculación directa con cianobacterias, lo cual representa una oportunidad de investigación clave en el ámbito de la restauración ecológica en zonas áridas.

Biocostras: moduladoras de la colonización y establecimiento vegetal

Las biocostras, a través de las propiedades que aportan al suelo, pueden favorecer el establecimiento y crecimiento de la vegetación en las zonas áridas (Bowker et al., 2022; Ladrón de Guevara & Maestre, 2022). Además, la presencia de estas comunidades afecta de forma significativa tanto a la germinación de las semillas (Zhang & Belnap, 2015; Song et al., 2022; Bacovcin et al., 2025) como a la elongación de estructuras como la radícula o el hipocótilo (Ferrenberg et al., 2018; Gao et al., 2023). El efecto que ejercen sobre la vegetación es especie-específico (Zhang & Belnap, 2015), y depende de múltiples factores, entre los que se incluyen la especie de planta y su estado de desarrollo, las características de la semilla y su estrategia de dispersión, el metabolismo de la plántula, así como la composición taxonómica y funcional de la biocostra (Havrilla et al., 2019).

Un meta-análisis realizado a nivel global para evaluar el efecto de las biocostras sobre la vegetación encontró que las biocostras pueden mejorar, reducir o tener efectos neutros sobre la germinación de las semillas dependiendo del tipo o composición predominante de la biocostra (Havrilla et al., 2019). Mientras que las biocostras de líquenes pueden inhibir la germinación debido al espesor y dureza de sus talos (Escudero et al., 2007), los musgos pueden mejorar la

germinación debido a su mayor rugosidad y mayor retención de agua y nutrientes (Zhang et al., 2016; Havrilla et al., 2019). En general, las biocostras dominadas por cianobacterias tienen un efecto neutro sobre la germinación y establecimiento de las plantas (Figura 4; Havrilla et al., 2019). No obstante, éstas pueden ejercer efectos positivos indirectos, al incrementar la disponibilidad de nutrientes y aportar fitohormonas y otras moléculas bioactivas involucradas en procesos clave del ciclo vital de las plantas (Mager & Thomas, 2011; Santini et al., 2021; Yadav et al., 2023). Asimismo, contribuyen a mejorar diversas propiedades del suelo, como la retención de nutrientes, la estabilidad estructural o la capacidad de absorción de agua, generando así condiciones más favorables para el desarrollo vegetal (Chamizo et al., 2012b; Muñoz-Rojas et al., 2018b; Sun et al., 2022a). En este sentido, la aplicación artificial de inóculos de cianobacterias en campos de cultivo y ecosistemas naturales ha demostrado tener efectos potenciadores sobre la vegetación (Sonkoly et al., 2017; Xu et al., 2024).

Otra de las funciones clave de las biocostras es el efecto de filtrado ambiental que ejercen sobre las especies vegetales (Root et al., 2020; Bowker et al., 2022; Song et al., 2022). Cuando estas comunidades están intactas o bien conservadas, se favorece la colonización de especies nativas y se inhibe la proliferación de especies alóctonas (Bowker et al., 2022; Song et al., 2022). Por el contrario, si las biocostras se degradan, por ejemplo, a causa del pastoreo, se facilita el establecimiento de especies vegetales invasoras (Root et al., 2020). Este fenómeno refuerza la necesidad de conservar estas comunidades para mantener la salud y estabilidad ecológica de las tierras secas. Además de conservar las biocostras existentes, resulta fundamental explorar estrategias activas para mejorar el reclutamiento vegetal en tierras degradadas. La restauración pasiva suele ser extremadamente lenta, y la restauración activa mediante la plantación de plántulas o plantones con frecuencia fracasa, debido a que éstas no toleran las duras condiciones ambientales propias de los ecosistemas áridos (Shackelford et al., 2021). A ello se suman los elevados costes logísticos, lo que hace que esta opción no siempre sea viable. En este contexto, la siembra directa de semillas emerge como una alternativa técnica y económicamente prometedora (Pérez et al., 2019; Shackelford et al., 2021). Sin embargo, esta estrategia debe enfrentar un importante cuello de botella como es la transición entre semilla y plántula, estimándose que sólo un 5–10 % de las semillas llegan a establecerse como plántulas (Kildisheva et al., 2016). Dado que estas fases iniciales son críticas para el éxito de cualquier proceso de restauración (Brown et al., 2021), se han ensayado distintas técnicas de mejora como la aplicación de fitohormonas, la escarificación o la estratificación térmica (Kildisheva et al., 2020) que, aunque efectivas, no siempre aumentan la tolerancia de las semillas al estrés ambiental.

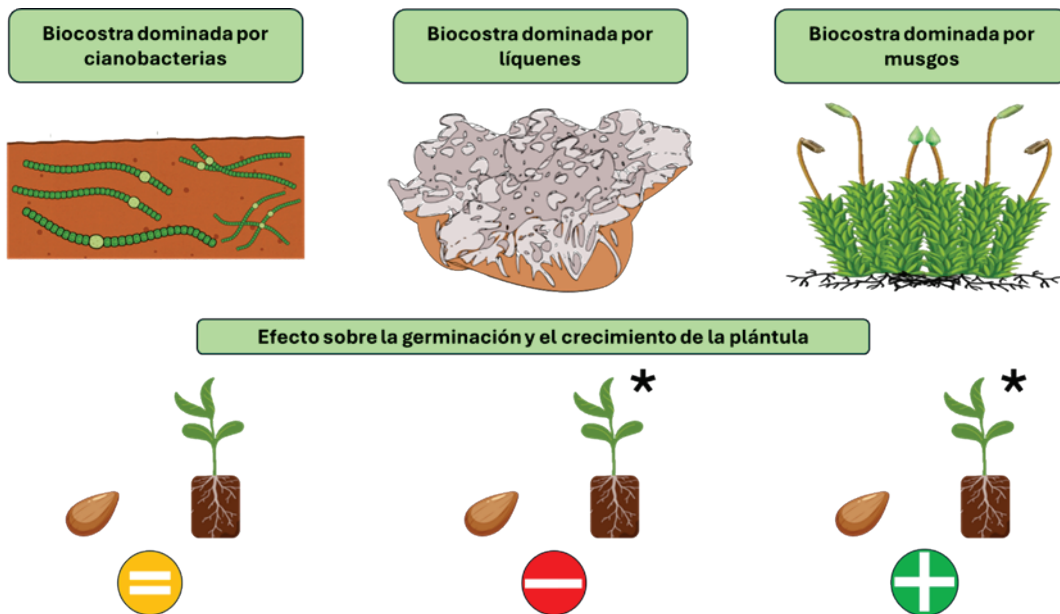


Figura 4: Efecto de tres tipos de biocostra sobre la germinación de las semillas y el crecimiento y establecimiento de las plántulas. De izquierda a derecha: biocostra dominada por cianobacterias, líquenes y musgos. Los efectos positivos aparecen en verde con una cruz, los efectos neutros en naranja con un símbolo de igual, y los efectos negativos o inhibitorios en rojo con un signo menos. Los asteriscos sobre las plántulas indican que, aunque la germinación es especialmente limitada en presencia de líquenes (y en menor medida en presencia de musgos), una vez superada esta fase, la presencia de estos dos tipos de biocostra favorece el desarrollo de las plántulas.

En este sentido, el *biopriming* representa una alternativa innovadora y prometedora. Esta técnica combina la hidratación de las semillas con la inoculación de microorganismos beneficiosos, como bacterias, hongos, algas o cianobacterias, con el objetivo de potenciar tanto la tolerancia al estrés, como la germinación y el posterior desarrollo de las plántulas (Rajendra Prasad et al., 2016). El *biopriming* con cianobacterias se ha aplicado ampliamente en el ámbito agrícola (Singh et al., 2023; Srivastava et al., 2023), usando para ello principalmente especies aisladas de ambientes acuáticos como inoculantes (Prabha et al., 2019; El-Habet & Elsadany, 2020). Por el contrario, la aplicación de esta técnica en semillas de especies vegetales nativas con potencial en restauración ha sido prácticamente inexplorada (Muñoz-Rojas et al., 2018a; Chua et al., 2020; Machado-de-Lima et al., 2023). Además, el empleo de microorganismos autóctonos, adaptados al ambiente local, es escaso a pesar de sus claras ventajas, como minimizar la introducción de especies foráneas y maximizar la adaptación al medio (Muñoz-Rojas et al., 2018a; Chua et al., 2020). En este marco, las cianobacterias formadoras de biocostra, aisladas de los propios suelos a restaurar, se perfilan como candidatas óptimas para su uso como inoculantes, ya que su presencia, tanto natural como inducida, se ha asociado de manera consistente con mejoras en las condiciones del suelo y el desarrollo vegetal.

Las mejoras observadas tras la aplicación de cianobacterias se deben a la diversidad de compuestos bioactivos que estos microorganismos son capaces de secretar, entre los que destacan

los EPS (Mager & Thomas, 2011; Chamizo et al., 2020b), fitohormonas (Tan et al., 2021; Uniyal et al., 2022), aminoácidos (Jain et al., 2017), vitaminas (Khan et al., 2024) y metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas (Kar et al., 2022). A ello se suma su capacidad para fijar carbono y nitrógeno atmosférico, contribuyendo así a la mejora de la fertilidad edáfica (Sánchez-Baracaldo & Cardona, 2020; Fujita & Uesaka, 2022). Sin embargo, es fundamental subrayar que estas capacidades no son universales, sino que dependen de la especie de cianobacteria empleada, ya que no todas presentan la misma potencialidad metabólica (Khan et al., 2024). Asimismo, el efecto del *biopriming* también varía en función de la especie de planta tratada, como ha sido demostrado en estudios previos (Muñoz-Rojas et al., 2018a; Chua et al., 2020; Machado-de-Lima et al., 2023). Esta doble especificidad, tanto del inóculo como de la especie vegetal, exige una evaluación sistemática del efecto del *biopriming* mediante el uso de una diversidad representativa de cianobacterias y plantas nativas de interés para la restauración, que contemplen distintos tipos de rutas metabólicas (C3, C4 y CAM) y diferentes ciclos de vida (anuales y perennes). Dado que aún no se ha dilucidado si el efecto promotor observado se debe principalmente a los exudados liberados por las cianobacterias, a la biomasa celular o a la combinación de ambos, resulta necesario diseñar ensayos experimentales que discriminen el efecto de estas tres fracciones. Los exudados contienen únicamente los metabolitos solubles y nutrientes presentes en el medio, la biomasa incluye los compuestos intracelulares aún no liberados, y la mezcla incorpora el conjunto completo de metabolitos, tanto intra como extracelulares. Esta diferenciación no sólo tiene relevancia científica, sino también implicaciones prácticas, ya que la preparación del *biopriming* varía en función de la fracción utilizada: el exudado se obtiene por centrifugación y filtrado (Morales-Jimenez et al., 2025), la biomasa únicamente requiere un proceso de filtración (Chua et al., 2020), mientras que la mezcla puede aplicarse directamente desde el cultivo sin necesidad de procesamiento adicional (Sneha et al., 2024). Además del impacto positivo en la germinación, el *biopriming* ha demostrado influir favorablemente en parámetros clave del desarrollo temprano de las plantas, como el incremento en la longitud de radículas y brotes, lo que favorece el establecimiento, la eficiencia en la captación de recursos y, en última instancia, el éxito de la restauración (Machado-de-Lima et al., 2023; Singh et al., 2023; Ortega Díaz et al., 2025).

HIPÓTESIS

El cambio climático y la intensificación en el uso del suelo están acelerando los procesos de degradación en las tierras secas, afectando también a la cobertura de biocostra, la cual se ha estimado que disminuirá entre un 25 y un 40 % a nivel global para 2070 (Rodríguez-Caballero et al., 2018a). Esta pérdida afectará negativamente a la estabilidad, fertilidad y funcionalidad del suelo, y en general a muchos procesos clave para el funcionamiento de los ecosistemas de tierras secas. En este contexto, la inoculación de cianobacterias formadoras de biocostras emerge como una estrategia de restauración para recuperar las biocostras y la funcionalidad de los suelos y restablecer así el correcto funcionamiento de los ecosistemas áridos. Sin embargo, su éxito puede verse condicionado por múltiples factores abióticos y bióticos, que limitan la supervivencia y el establecimiento del inóculo en condiciones de campo. Para contrarrestar estas limitaciones y mejorar la eficacia de la inoculación, se han propuesto métodos complementarios basados en la reducción del estrés ambiental (ESR) y en la selección de inóculos nativos adaptados a las condiciones de las zonas a restaurar.

Con base en estas premisas, se plantea que la aplicación de estrategias de reducción del estrés ambiental, empleando recursos derivados de especies vegetales nativas favorecerá el establecimiento y crecimiento de las cianobacterias inoculadas respecto a la colonización natural y la inoculación directa. Asimismo, se espera que, en condiciones de campo, la introducción de fragmentos de biocostra nativa, recolectados de las propias zonas a restaurar, junto con la inoculación directa de cianobacterias potencie el efecto de éstas, aumentando la supervivencia y colonización de las cianobacterias inoculadas. Además del efecto sobre el establecimiento y formación de la biocostra, se espera que la aplicación combinada de cianobacterias junto con estrategias ESR mejore las propiedades del suelo, ya sea incrementando su estabilidad estructural o el contenido en carbono orgánico. Finalmente, se espera que esta aplicación no produzca una alteración en la composición de las comunidades microbianas del suelo.

Por último, en ecosistemas de tierras secas, la vegetación coexiste con las biocostras, las cuales, en muchos casos, tienen importantes efectos sobre la vegetación (Havrilla et al., 2019). Sin embargo, en estas regiones el establecimiento de la vegetación se ve particularmente limitado en las etapas iniciales (semilla y plántula) debido a las condiciones ambientales extremas a las que se enfrentan. A partir de estos hechos se deriva la hipótesis de que los microorganismos de biocostras, concretamente las cianobacterias, además de mejorar las condiciones de suelo, pueden contribuir directamente a incrementar el establecimiento y supervivencia de las plantas en las etapas tempranas. Se plantea que el *biopriming* de semillas de especies nativas con cianobacterias formadoras de biocostras aumentará la germinación y el desarrollo radicular. Se espera que el efecto del *biopriming* con cianobacterias dependa de la especie de planta y de su ciclo de vida

(ejemplo, anuales frente a perennes) y que este efecto sea especialmente acusado cuando se empleen cianobacterias fijadoras de nitrógeno en comparación con cepas no fijadoras, debido al aporte adicional de nutrientes esenciales presentes en la propia biomasa y exudados de los cultivos. Además, se espera que el efecto sea más pronunciado cuando se aplica el cultivo completo (biomasa y exudados) que cuando se aplica solo el exudado, debido al efecto protector que puede ejercer la propia biomasa sobre la semilla frente a la desecación u otros factores de estrés como a la posible liberación de metabolitos intracelulares.

OBJETIVOS

El objetivo general de esta tesis es evaluar los efectos de la aplicación de estrategias de reducción del estrés ambiental en la supervivencia y establecimiento del inóculo de cianobacterias formadoras de biocostra y en la potenciación de sus efectos sobre el suelo, así como el efecto de las cianobacterias en la mejora de la supervivencia de plantas nativas en zonas áridas mediante el empleo de técnicas de *biopriming*. El objetivo final es evaluar la viabilidad del uso de cianobacterias de biocostras, solas o combinadas con estrategias ESR, como una herramienta eficaz en la restauración ecológica de tierras secas.

Para la consecución de este objetivo general se plantearon cuatro objetivos específicos que se materializaron en tres capítulos:

Objetivo 1: Evaluar el efecto de la inoculación de cianobacterias combinadas con la aplicación de estrategias de reducción del estrés ambiental, basadas en plantas nativas de zonas áridas, sobre la restauración de la biocostra y de funciones clave del suelo a corto y medio plazo en condiciones de exterior y campo. Se desarrolla en los capítulos I y II.

Objetivo 2: Analizar el efecto de la inoculación de cianobacterias combinada con la aplicación de estrategias de reducción del estrés ambiental basadas en plantas nativas de zonas áridas, sobre la composición de la comunidad microbiana edáfica, a corto plazo en condiciones de exterior y a medio plazo en condiciones de campo. Se desarrolla en los capítulos I y II.

Objetivo 3: Evaluar el efecto de la introducción de fragmentos de biocostra sobre el crecimiento del inóculo de cianobacterias y sobre el aumento del carbono orgánico del suelo, bajo diferentes tipos de estrategias de reducción del estrés ambiental, en condiciones de campo. Se desarrolla en el capítulo II.

Objetivo 4: Evaluar el efecto del biopriming con especies de cianobacterias clave, tanto no fijadoras como fijadoras de nitrógeno, sobre la germinación y la elongación radicular de especies vegetales anuales y perennes nativas de zonas áridas. Se desarrolla en el capítulo III.