



2022  
Lleida

27·1  
junio · juny  
julio · juliol

Cataluña  
Catalunya

## 8º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

La **Ciencia forestal** y su contribución a los **Objetivos de Desarrollo Sostenible**

8CFE

Edita: Sociedad Española de Ciencias Forestales  
**Cataluña | Catalunya · 27 junio | juny - 1 julio | juliol 2022**  
**ISBN 978-84-941695-6-4**  
© Sociedad Española de Ciencias Forestales

Organiza



## Impacto del arbolado y el manejo pascícola y ganadero en la microbiología edáfica de la dehesa

FRADE, C.<sup>1</sup>, IGUAL, J.M.<sup>1</sup>, VALVERDE, A.<sup>1</sup>, CARRASCOSA, A.<sup>2</sup>, MORENO, G.<sup>2</sup>, y ROLO, V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (IRNASA-CSIC).

<sup>2</sup> Instituto de investigación INDEHESA, Escuela Forestal. Universidad de Extremadura.

### Resumen

Las alteraciones ambientales modifican la microbiología del suelo. Los microorganismos edáficos controlan los ciclos biogeoquímicos y la producción vegetal; por tanto, la alteración de las poblaciones microbianas edáficas puede modificar profundamente las funciones ecosistémicas. Por lo cual es necesario un enfoque multidisciplinar para comprender mejor las respuestas de los ecosistemas ante alteraciones naturales o antropogénicas. Los pastos arbolados juegan un papel crucial en la provisión de servicios ambientales. Sin embargo, la mayoría de estos sistemas, como la dehesa, se encuentran en terrenos pocos fértiles y productivos. Ante esta tesitura existen prácticas contrapuestas, como el abandono o la intensificación de su uso mediante el manejo del ganado y/o la mejora de pastos. En este trabajo se ha estudiado la microbiología de los suelos de tres dehesas, localizadas en las provincias de Badajoz, Cáceres y Salamanca, y sometidos a cinco prácticas diferentes de manejo pascícola y ganadero, incluyendo también el efecto del arbolado como elemento estabilizador del sistema. Los resultados obtenidos indican que los distintos manejos determinan la estructura de las poblaciones microbianas edáficas. La siembra de leguminosas (tratamientos Lj y Lv) y el pastoreo rotacional (Ro) dieron lugar a poblaciones microbianas muy similares entre sí, y diferentes a los otros manejos: abandono (Ab) y pastoreo tradicional (Ct). Asimismo, los tratamientos Lj, Lv y Ro produjeron mayores valores de biomasa microbiana en los suelos. El arbolado también resultó crucial para definir la microbiología de los suelos, en especial para la abundancia relativa de bacterias Gram positivas y Gram negativas, así como para reducir el estrés ambiental de los microorganismos. La influencia de las condiciones pedoclimáticas fue notable en la mayoría de los parámetros estudiados, por lo que se anticipa que la microbiología del suelo se verá afectada por el cambio climático en un grado similar al que producen los distintos manejos agroganaderos.

### Palabras clave

Ácidos grasos, PLFAs, poblaciones microbianas, suelo, dehesa, manejo.

### 1. Introducción

El cambio climático es un escenario actual al que se debe hacer frente. En el área mediterránea, cada vez son más notables el aumento de las temperaturas y las recurrentes sequías (BARDGETT *et al.*, 2013; ROLO Y MORENO, 2019). Además, en los últimos años se está intensificando la demanda de alimentos debido a una población creciente (FAOSTAT 2020), lo que hace necesario que los sistemas aumenten su productividad sin comprometer la sostenibilidad de la explotación.

Ante estos retos, las dehesas pueden jugar un papel muy importante al representar los sistemas silvopastorales más extendidos de Europa (MORENO Y PULIDO, 2009; HERNÁNDEZ, 2020). Estos sistemas resultan de la simplificación de los bosques mediterráneos en estructura y riqueza de especies debido a la influencia humana, que redujo la densidad del arbolado y favoreció el

crecimiento de la capa de herbáceas mediante el pastoreo y el cultivo, dando lugar a un pasto arbolado (GÓMEZ-GUTIÉRREZ, 1992; RANGELANDS *ET AL.*, 1993; MORENO Y PULIDO, 2009; BUGALHO *et al.*, 2011). Así, se obtuvo un sistema antrópico naturalizado que, bajo prácticas de manejo específicas, se considera sostenible: permite la cría de ganado y la cosecha de cereales y bellotas además de ofrecer servicios ecosistémicos altamente valorados, como el secuestro de carbono (FRANCO *ET AL.*, 2012; PLIENINGER & BIELING, 2012; HERNÁNDEZ, 2020). Sin embargo, la mayoría de las dehesas se encuentran en terrenos poco fértiles (GÓMEZ-GUTIÉRREZ, 1992, MORENO Y PULIDO, 2009, FRANCO *et al.*, 2012). A esto se suma que su valor ganadero se encuentra estrechamente relacionado con el suelo, condicionado a su vez por la variabilidad en los cambios climáticos y la estructura vegetal (ROLO Y MORENO, 2019). En consecuencia, las dehesas sufren dos tendencias divergentes: el abandono y la intensificación de su uso mediante el manejo del ganado y/o la mejora de pastos a partir de la siembra de leguminosas (BUGALHO *et al.*, 2011, PLIENINGER & BIELING, 2012; DENGLER & TISCHEW, 2018).

De esta manera, resulta crucial el análisis de las prácticas contrapuestas utilizadas y su repercusión en los ecosistemas bajo diferentes condiciones climáticas. En un principio, gran parte de las investigaciones en este ámbito se centraron en entender cómo la agricultura y las prácticas de manejo influyen en la estructura y diversidad de las comunidades vegetales y animales (por ejemplo, COLLINS *et al.*, 1998; LAWTON *et al.*, 1998). Sin embargo, puesto que el suelo es proveedor inicial de nutrientes a la cadena trófica, resulta decisivo conocer los cambios que se producen en el mismo, especialmente en sus comunidades microbianas, ya que estas desempeñan funciones esenciales para la estabilidad ecosistémica a largo plazo, como facilitar la disponibilidad de nutrientes para las plantas, descomponer la materia orgánica o modificar la estructura del suelo (BARDGETT *et al.*, 2001; DE VRIES & SHADE, 2013; WAGG *et al.*, 2014; ARAYA *et al.*, 2017).

Las plantas condicionan la diversidad y abundancia de los microorganismos edáficos mediante, por ejemplo, el aumento de los recursos alimenticios (exudados radiculares y hojarasca) (WALDROP *et al.*, 2006; MENDES *et al.*, 2013). A su vez, los microorganismos interactúan con la comunidad vegetal tanto de forma beneficiosa (mutualistas) como perjudicial (patógenos) (Waldrop *et al.*, 2006; DE VRIES & SHADE, 2013; ARAYA *et al.*, 2017). Pero todavía son poco conocidas las consecuencias para la función ecosistémica que tiene modificar la estabilidad de las comunidades microbianas del suelo, definida como la habilidad de la comunidad para resistir y afrontar las perturbaciones (DE VRIES & SHADE, 2013, MENDES *et al.*, 2013). Por ello, en respuesta a los retos ambientales contemporáneos, se hace ineludible desarrollar una conexión más fuerte entre la ecología microbiana y ecosistémica. Entre las técnicas disponibles para estudiar el microbioma del suelo destaca el análisis de ácidos grasos de fosfolípidos (PLFAs, por sus siglas en inglés), que permite discernir a los diferentes microorganismos presentes en una muestra agrupándolos en grandes grupos biológicos, como son: bacterias Gram positivas, bacterias Gram negativas, Actinobacterias, Hongos micorrícicos, Hongos saprofitos, y otros Eucariotas. Por tanto, mediante esta técnica se pueden detectar los cambios en las poblaciones microbianas producidos por las alteraciones o modificaciones ambientales del medio (ORWIN *et al.*, 2018).

La abundancia de algunas especies vegetales se asocia con cambios en la diversidad microbiana (ARAYA *et al.*, 2017). En concreto, en la dehesa es común el uso de mezclas de leguminosas para el consumo del ganado ya que aumentan el contenido de nitrógeno del suelo, promoviendo así la productividad vegetal y la calidad del suelo, a un bajo coste y sin contaminantes (GÓMEZ-GUTIÉRREZ, 1992; WALDROP *et al.*, 2006; BARNEZE *et al.*, 2020). Otra práctica comúnmente utilizada en la dehesa es modificar la carga ganadera (GÓMEZ-GUTIÉRREZ, 1992, BUGALHO *et al.*, 2011). Aumentar la presión ganadera tiene efectos físicos directos (eliminación selectiva de material vegetal por los herbívoros) e indirectos en el pH y la química del suelo (LAUBER *et al.*,

2009; DARYANTO & ELDRIDGE 2010; ELDRIDGE *et al.*, 2017; DELGADO-BAQUERIZO *et al.*, 2017). Esto desencadena cambios en la heterogeneidad de las comunidades vegetales y modifica los contenidos de nutrientes del suelo, además de alterar la distribución de las comunidades microbianas edáficas (SCHLESINGER & PILMANIS, 1998; NUNES *et al.*, 2019). De esta manera, la intensidad del pastoreo regula la abundancia y la heterogeneidad espacial de grupos microbianos particulares, proporcionando ventaja a algunos grupos microbianos y desventaja a otros (BARDGETT *et al.*, 2001; ELDRIDGE *et al.*, 2020). Nuestra hipótesis es que los distintos manejos producirán cambios importantes en la estructura de las comunidades microbianas del suelo, pero que estos cambios serán influenciados decisivamente por las condiciones edafoclimáticas.

## 2. Objetivos

El objetivo principal de este estudio es profundizar en el conocimiento de los efectos de la intensificación ecológica, a través del manejo ganadero y siembra de leguminosas, sobre las comunidades microbianas del suelo a lo largo de un gradiente climático, examinando el papel del arbolado como posible efecto amortiguador de los cambios. Más específicamente, se estudiará:

- La estructura global de las comunidades microbianas edáficas determinadas mediante el perfil de ácidos grasos de fosfolípidos.
- La biomasa microbiana total presente en los suelos.
- La abundancia relativa de los diferentes grupos microbianos.

## 3. Metodología

### *Diseño experimental*

Para el estudio, se eligieron dehesas de tres provincias del oeste de la Península Ibérica: Salamanca, Cáceres y Badajoz (en adelante, SA, CC y BA, respectivamente), con el fin de incluir un gradiente climático en el diseño experimental. En cada zona, se seleccionaron 5 parcelas con diferentes tratamientos de manejo: (i) siembra joven de leguminosas (Lj), parcela en las que se ha sembrado leguminosas recientemente ( $\leq 5$  años), permite observar el efecto de la siembra a corto plazo; (ii) siembra vieja de leguminosas (Lv), parcela sembrada hace más de 10 años, muestra el efecto de la siembra a largo plazo; (iii) pastoreo rotacional (Ro), parcela pastoreadas intensamente en breves periodos de tiempo y largos periodos (meses) de descanso; (iv) abandono (Ab), parcela sin pastoreo durante al menos los últimos 10 años; y (v) pastoreo continuo (Ct), es el tratamiento control del estudio por ser el tipo de manejo más extendido que se realiza en las dehesas ibéricas.

Dentro de cada tratamiento (parcela), se seleccionaron 4 árboles al azar que estuviesen en una zona con poca influencia topográfica (evitando fuertes pendientes o vaguadas) y alejadas del efecto de caminos o comederos para el ganado. Así pues, para analizar el efecto de la posición en cada tratamiento, se seleccionaron 8 puntos de muestreo por parcela: 4 puntos fuera de la influencia de los árboles (Fc) y otros 4 bajo copa (Bc). Las muestras de suelo se tomaron mediante una sonda de acero de 6 cm de diámetro por 8 cm de profundidad. Por tanto, se analizaron un total de 120 muestras de suelo, correspondientes a un diseño factorial de: 3 Zonas x 5 Tratamientos x 2 Posiciones x 4 Repeticiones.

### *Análisis de ácidos grasos de fosfolípidos*

Las muestras de suelo se liofilizaron y se utilizaron alícuotas de 2 g para la extracción de lípidos. Los lípidos se extrajeron con un disolvente monofásico de cloroformo-metanol-tampón

fosfato. Los fosfolípidos se separaron de los lípidos no polares y se convirtieron en ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES) antes del análisis, siguiendo la metodología descrita por BUYER Y SASSER (2012). Los FAMES resultantes se separaron por cromatografía de gases utilizando un sistema GC Agilent 7890A (Agilent Technologies, Wilmington, DE, EE.UU.) equipado con una columna de metilpolisiloxano Ultra 2 (5%-fenil) de 25 m (J&W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.) y un detector de ionización de llama. La identificación y cuantificación de los FAMES se realizó mediante el método PLFAD1 del software Sherlock versión 6.3 de MIDI, Inc (Newark, DE, USA). Para la cuantificación de los FAMES se utilizó el estándar interno 19:0 fosfatidilcolina (Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL, USA). La biomasa microbiana total se estimó sumando los contenidos de todos los PLFAs, expresándose como nanomoles de PLFAs por gramo de suelo seco. Los PLFAs característicos de eucariotas, bacterias Gram negativas y Gram positivas (en adelante G- y G +), actinobacterias, hongos saprofitos y hongos micorrícicos se utilizaron como biomarcadores para cuantificar las biomásas de estos grandes grupos microbianos (FROSTEGÅRD Y BÄÄTH 1996). También se calculó la ratio entre los ácidos grasos diagnósticos de hongos y bacterias; así como también la ratio entre los ácidos grasos monoenoicos y sus precursores ciclopropílicos ( $16:1\omega7 + 18:1\omega7 / cy17:0 + cy19:0$ ) como indicativo de estrés fisiológico o nutricional en las comunidades bacterianas (FROSTEGÅRD et al. 2011; WILLERS et al. 2015).

#### *Análisis estadístico*

La abundancia relativa de cada ácido graso se calculó como porcentaje molar (% mol). Posteriormente se realizó una transformación arcoseno sobre los porcentajes molares con la finalidad de normalizar la distribución de los datos y estabilizar las varianzas. Para determinar la significación estadística de los factores Tratamiento, Zona, Posición y sus interacciones dobles y triple se realizó un Análisis Permutacional de la Varianza (PERMANOVA) mediante la función “adonis” del paquete *vegan* de R (R Core Team). Los análisis *post hoc* se realizaron con el paquete *RVAideMemoire*. Una vez determinada la significación estadística de cada factor y sus interacciones se realizó un Análisis de Redundancia (RDA) para describir las relaciones entre las abundancias relativas de PLFAs (matriz dependiente) y las variables ambientales (matriz independiente), mediante el programa CANOCO (ter BRAAK & SMILAUER, 1998). Finalmente, se procedió a realizar análisis univariantes de la varianza (ANOVA) para determinar si la abundancia relativa de los grupos microbianos, la biomasa total, y las ratios hongo/bacteria y ácidos grasos monoenoicos/ciclopropílicos se ven afectados por los factores estudiados. Las comparaciones *post-hoc* se realizaron con el paquete *emmeans*. Los resultados fueron considerados estadísticamente significativos con valores de  $p < 0,05$ .

## **4. Resultados**

### *Estructura de las poblaciones microbianas edáficas*

La estructura de las poblaciones microbianas edáficas se determinó a través de la abundancia relativa de los distintos ácidos grasos de fosfolípidos (PLFAs) que se identificaron y cuantificaron en las muestras de suelos. En total, se detectaron 63 PLFAs diferentes en las 120 muestras de suelo, lo que produjo una matriz de 7.560 datos que fue sometida a un análisis permutacional de la varianza (PERMANOVA) para determinar la significación estadística de los factores considerados sobre la estructura de las poblaciones microbianas. De acuerdo al análisis PERMANOVA, los tres factores principales (Tratamiento, Zona, Posición) fueron estadísticamente significativos, así como también la interacción entre Tratamiento y Zona (Tabla 1). Este modelo se utilizó posteriormente para todos los análisis multivariantes y univariantes.

Tabla 1. Resultados estadísticos del análisis PERMANOVA. Refleja la significación de los factores considerados sobre la estructura de las poblaciones microbianas.

	Df	Suma cuadrados	Media cuadrática	F	R <sup>2</sup>	p-valor
Tratamiento	4	2.34	0.59	10.12	0.16	<b>0.001</b>
Zona	2	2.79	1.39	24.10	0.19	<b>0.001</b>
Posición	1	0.23	0.23	3.98	0.02	<b>0.008</b>
Tratamiento:Zona	8	2.88	0.36	6.22	0.20	<b>0.001</b>
Tratamiento:Posición	4	0.31	0.08	1.35	0.02	0.150
Zona:Posición	2	0.10	0.05	0.86	0.01	0.539
Tratamiento:Zona:Posición	8	0.57	0.07	1.24	0.04	0.167
Residuales	90	5.20	0.06		0.36	
Total	119	14.42			1	

Los valores en negrita indican significación estadística ( $p < 0.05$ ).

El modelo RDA, en el que se utilizaron los tres factores principales (Tratamiento, Zona, Posición) y la doble interacción significativa (Tratamiento:Zona) como variables ambientales explicó un 50,9% de la varianza en la matriz de datos, siendo estadísticamente significativo (pseudo-F=2,9, P=0,001; 999 permutaciones; Figura 1). Las comparaciones por pares indicaron que la estructura de las poblaciones microbianas edáficas es significativamente diferente ( $P < 0,05$ ) entre las 3 Zonas estudiadas [Badajoz (BA), Cáceres (CC) y Salamanca (SA)].

Atendiendo a la interacción Tratamiento:Zona, en la zona de Badajoz (BA) el tratamiento de abandono (Ab) fue significativamente distinto a cualquier otro, así como también los dos tratamientos con siembra de leguminosas (Lj y Lv) lo fueron del tratamiento control (Ct); sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos Lj, Lv y Ro, ni entre Ct y Ro. En la zona de Cáceres (CC), el tratamiento Ab no resultó significativamente diferente al tratamiento Ro, pero este último sí lo fue respecto al tratamiento Ct; al igual que en la zona BA, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos Lj, Lv y Ro. Por último, en la zona de Salamanca (SA) el tratamiento Ab sólo resultó significativamente diferente respecto a los tratamientos Lj y Ro; la siembra de leguminosas joven (Lj) resultó en una estructura de las poblaciones microbianas significativamente distinta a la de los tratamientos Ct, Ab y Lv, pero no a la del pastoreo rotacional (Ro).

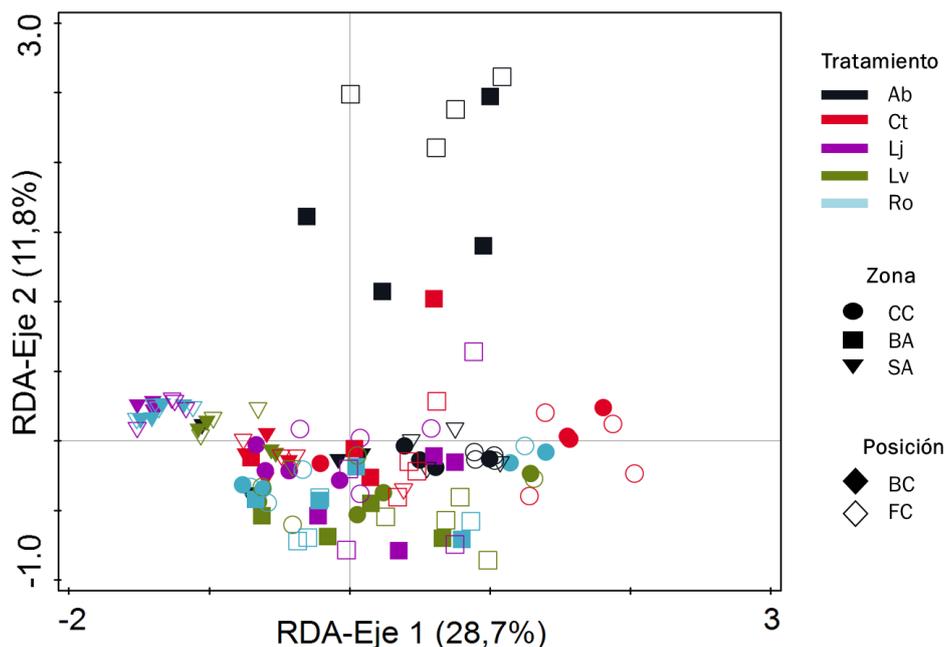


Figura 1. Análisis de la Redundancia (RDA) de la abundancia relativa de PLFAs. Como variables ambientales se incluyen Tratamiento, Zona y Posición. Ab, abandono; Ct, pastoreo continuo; Lj, siembra joven de leguminosas; Lv, siembra vieja de leguminosas. CC, Cáceres; SA, Salamanca, BA, Badajoz. BC, Bajo copa; FC, Fuera de copa.

### Biomasa microbiana

Los valores de biomasa microbiana edáfica total, estimada como la suma de todos los PLFAs extraídos de una muestra de suelo, y expresada como nanomoles PLFAs  $g^{-1}$  suelo seco, están representados en la Figura 2; y los resultados del análisis ANOVA en la Tabla 2. Los 3 factores principales (Tratamiento, Zona y Posición) y la interacción Tratamiento:Zona resultaron ser estadísticamente significativos ( $p < 0,001$ ). En la zona de Badajoz (BA), el tratamiento de abandono (Ab) y la siembra de leguminosas vieja (Lv) presentaron los valores más bajos de este parámetro. Las comparaciones pareadas (test de Tukey) indicaron que el suelo de la parcela con el tratamiento Ab tuvo una biomasa microbiana total estadísticamente inferior a la de los suelos Ct, Ro y Lj. En la zona de Cáceres (CC) no se dieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, aunque el tratamiento Ro presentó valores medios superiores al resto. En la zona de Salamanca (SA), los dos tratamientos con siembra de leguminosas (Lj y Lv) presentaron valores de biomasa microbiana estadísticamente superiores al resto de tratamientos. En conjunto, la zona SA presentó valores de biomasa microbiana edáfica significativamente más altos que BA y CC (Figura 2).

Por su parte, los suelos bajo el dosel arbóreo (BC) tuvieron valores de biomasa microbiana superiores ( $p < 0,01$ ) a los situados fuera de la influencia de los árboles. (FC).

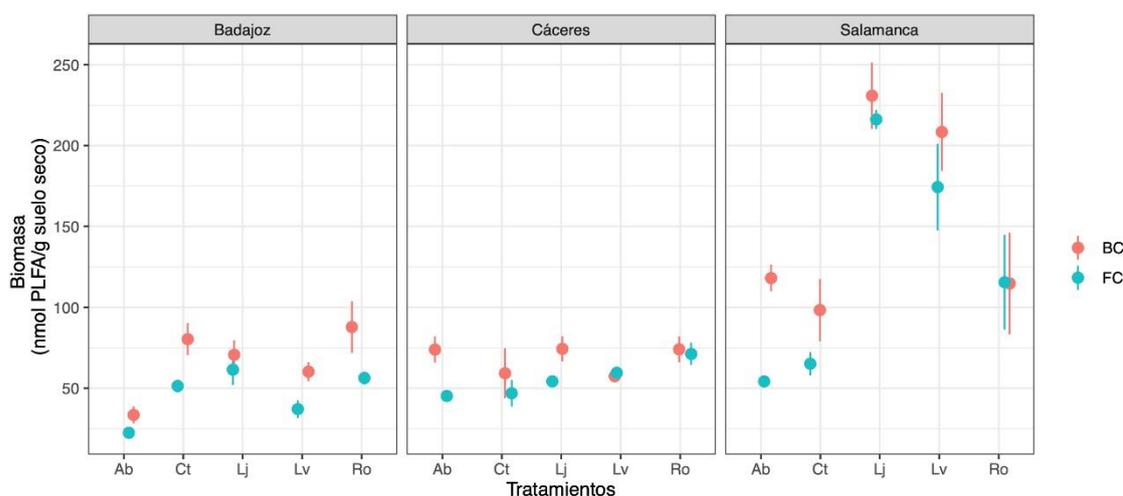


Figura 2. Biomasa microbiana total. Se representan las medias y los errores estándar de las muestras ( $n=4$ ). Ab, abandono; Ct, pastoreo continuo; Lj, siembra joven de leguminosas; Lv, siembra vieja de leguminosas. BC, Bajo copa; FC, Fuera de copa.

### Abundancias relativas de los grupos microbianos

Los valores de abundancia relativa de los diferentes grupos microbianos, expresada como porcentaje molar (%mol), están representados en la Figura 3; y los resultados del análisis ANOVA en la Tabla 2.

La abundancia relativa de actinobacterias se vio significativamente influida tanto por el factor Tratamiento como por el factor Zona, pero no así por el factor Posición, ni tampoco resultó significativa la interacción Tratamiento:Zona. El tratamiento Ab presentó valores de abundancia relativa de actinobacterias estadísticamente superiores a los tratamientos Ro y Lj, así como también el tratamiento Ct sobre el Ro. Por otra parte, la zona SA presentó valores significativamente inferiores a BA y CC, las cuales no presentaron diferencias significativas entre sí.

La abundancia relativa de eucariotas se vio significativamente influida por los factores Tratamiento y Zona, y se dio una interacción significativa entre Tratamiento y Zona. En este caso tampoco se detectó un efecto significativo del factor Posición. En general, los tratamientos Ab y Ct tuvieron mayores abundancias relativas de eucariotas que el resto de tratamientos, mientras que los tratamientos rotacional (Ro) y con siembra de leguminosas (Lj y Lv) tendieron a tener abundancias menores. En la zona BA, la abundancia relativa de eucariotas en el tratamiento Ab fue significativamente superior a la del resto de tratamientos; y los tratamientos Ro y Ct presentaron también valores significativamente mayores que el tratamiento Lv. En la zona CC, el tratamiento Ct presentó la mayor abundancia relativa, siendo significativamente superior a la de los tratamientos Ro y Lv. Por último, en la zona SA fue el tratamiento Ab el que presentó la mayor abundancia relativa de eucariotas, siendo también significativamente superior a la de los tratamientos Ro y Lv.

La abundancia relativa de bacterias Gram negativas estuvo influida significativamente por los tres factores considerados, y presentó una interacción significativa entre Tratamiento y Zona. Así, mientras en las zonas BA y CC fueron, respectivamente, los tratamientos Ab y Ct los que

presentaron una abundancia relativa significativamente superior a cualquiera de los otros cuatros tratamientos, en la zona SA no se dieron diferencias significativas entre tratamientos.

Tabla 2. Resultados estadísticos de los ANOVAs. Los valores representan el estadístico F y los asteriscos la significación estadística.

	Tratamiento	Zona	Posición	Tratamiento : Zona
Biomasa	20.42 ***	125.73 ***	18.58 ***	15.81 ***
Actinobacterias	6.964 ***	16.142 ***	2.886 -	1.897 -
Eucariotas	29.597 ***	6.235 **	1.108 -	7.016 ***
Gram -	6.49 ***	4.064 *	12.24 ***	6.277 ***
Gram +	11.349 ***	2.396 -	4.623 *	4.880 ***
Hongos micorrícicos	15.444 ***	14.809 ***	2.447 -	6.677 ***
Hongos saprófitos	9.708 ***	21.747 ***	0.413 -	2.887 **
Ratio H/B	11.418 ***	21.811 ***	0.931 -	3.696 ***
Ratio Monoen./Ciclopropil.	23.061 ***	81.060 ***	20.238 ***	5.441 ***

Los códigos de significación son: '\*\*\*' 0.001, '\*\*' 0.01, '\*' 0.05

La abundancia relativa de bacterias Gram positivas presentó también una interacción significativa entre Tratamiento y Zona. Sin embargo, ni la Zona ni la Posición tuvieron efecto significativo. En general, el tratamiento Ab tendió a tener las menores abundancias relativas. El tratamiento Ab tuvo valores significativamente inferiores a cualquier otro tratamiento en la zona BA, y que los tratamientos Ct y Ro en la zona SA, pero no presentó diferencias significativas con ningún tratamiento en la zona CC. En la zona CC, el tratamiento Ct tuvo valores en este parámetro significativamente menores que el tratamiento Ro y aquellos con siembra de leguminosas (Lv y Lj). Respecto al factor Posición, los suelos fuera del dosel arbóreo (FC) tuvieron una abundancia relativa de bacterias Gram + mayor que los suelo bajo copa (BC).

La abundancia relativa de hongos micorrícicos fue significativamente influida por los factores Tratamiento y Zona, así como por la interacción de estos. El efecto del factor Posición no resultó significativo. En las zonas de BA y CC fueron los tratamientos Ab y Ct, respectivamente, los que presentaron una disminución estadísticamente significativa en la abundancia relativa de hongos micorrícicos respecto a los otros cuatro tratamientos. Sin embargo, en la zona SA, tanto Ab como Ct presentaron valores significativamente menores que los tratamientos Lj y Ro. En general, el tratamiento Ro y los de siembras de leguminosas (Lv y Lj) tendieron a tener abundancias mayores de hongos micorrícicos.

Por último, la abundancia relativa de hongos saprófitos resultó afectada por los factores considerados de forma similar a la de hongos micorrícicos: existió una interacción significativa entre Tratamiento y Zona, no siendo significativo el factor Posición. En la zona BA no se dio ninguna diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos, mientras que en la zona CC el tratamiento Lj rindió valores estadísticamente superiores a los de los tratamientos Ro, Ct y Ab. En la zona SA, el tratamiento Ct tuvo valores significativamente inferiores a los tratamientos Ab, Lv y Lj. En general, los tratamientos Ct y Ro tendieron a tener las menores abundancias, mientras que las mayores se dieron en los tratamientos con siembras de leguminosas, Lv y Lj.

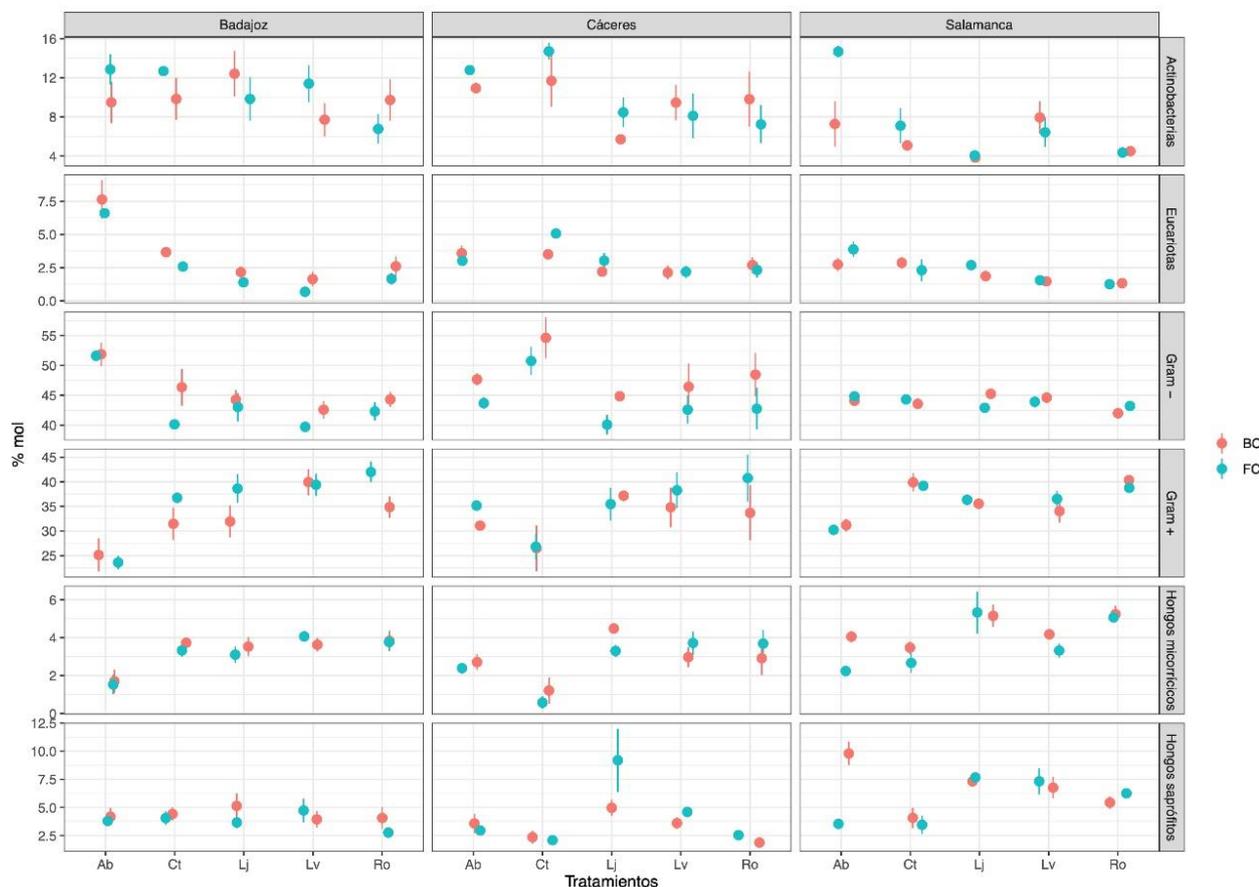


Figura 3. Abundancia relativa (% molar) de los distintos grupos microbianos. Se representan las medias y los errores estándar de las muestras (n=4). Ab, abandono; Ct, pastoreo continuo; Lj, siembra joven de leguminosas; Lv, siembra vieja de leguminosas. BC, Bajo copa; FC, Fuera de copa.

Ratio Hongos/Bacterias e índice de estrés

La ratio Hongos/Bacterias resultó significativamente influida por los factores Tratamiento y Zona, cuya interacción también fue significativa. El factor Posición no resultó estadísticamente significativo (Tabla 2). En la zona BA no se detectó ninguna diferencia significativa entre tratamientos (Figura 4). En la zona CC, la ratio Hongos/Bacterias fue significativamente superior en el tratamiento Lj que en el resto de tratamientos, y en el tratamiento Lv respecto al tratamiento Ct. En la zona SA, el tratamiento Ct produjo una ratio significativamente inferior a los cuatro tratamientos restantes.

Por último, la ratio entre ácidos grasos monoenoicos y sus precursores ciclopropílicos ( $16:1\omega7 + 18:1\omega7 / cy17:0 + cy19:0$ ) proporciona un índice de estrés, siendo el estrés ambiental para los microorganismos mayor cuanto menor es esa ratio. Dicha ratio resultó significativamente influenciada por los 3 factores considerados y la interacción Tratamiento:Zona (Table 2) (Figura 4). En la zona BA, el tratamiento Ab proporcionó una ratio significativamente menor (mayor estrés) que el tratamiento Ro, mientras que en la zona CC el tratamiento Ct mostró una ratio significativamente menor que los tratamientos Ro, Lv y Lj. Por su parte, en la zona SA fue el tratamiento Ro el que mayor ratio (menor estrés) produjo, siendo significativamente mayor que el de los tratamientos Ct, Ab, y Lv; mientras que los tratamientos Ct y Ab presentaron una ratio significativamente menor (mayor estrés) que los tres tratamientos restantes. Por su parte, los suelos fuera del dosel arbóreo (FC) presentaron valores significativamente menores (mayor estrés) que los suelos bajo la copa de los árboles (BC).

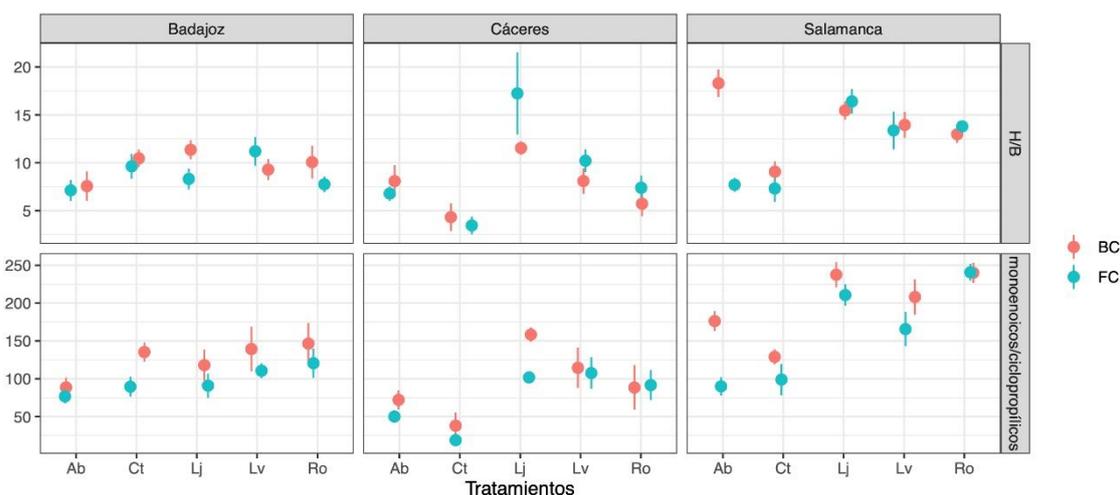


Figura 4. Ratios de Hongos/Bacterias (H/B) y de ácidos grasos monoenoicos/ciclopropílicos. Se representan las medias y los errores estándar de las muestras (n=4). Ab, abandono; Ct, pastoreo continuo; Lj, siembra joven de leguminosas; Lv, siembra vieja de leguminosas. BC, Bajo copa; FC, Fuera de copa.

## 5. Discusión

Los manejos de la dehesa afectan a la estructura de las poblaciones microbianas del suelo.

En base a los resultados (Tabla 1, Figura 1) se observó que el manejo (tratamientos) afectó a la estructura de las poblaciones microbianas del suelo, pero también se detectó una influencia decisiva de la localización en el ensamblado de las comunidades microbianas. Es bien conocido que las comunidades microbianas se ven afectadas por los condicionantes biogeográficos, entre los que se incluyen el pH del suelo, la aridez, la temperatura, etc (LAUBER

et al., 2009; GOLDFARB et al., 2011; GRIFFITHS et al., 2011). Asimismo, se ha descrito que el manejo del suelo afecta a la estructura de las comunidades microbianas edáficas, pese a la conocida variabilidad y alta resiliencia de las mismas (DE VRIES & SHADE, 2013; PITON et al., 2019).

En nuestro estudio se observó que tanto el manejo rotacional del ganado (Ro) como la siembra de leguminosas (Lj, Lv) dieron lugar a poblaciones microbianas similares entre sí y diferentes al pastoreo tradicional (Ct) y al abandono de la dehesa (Ab). Ello podría explicarse por las diferencias en la distribución y en la concentración de nutrientes, especialmente el nitrógeno (VERTÈS et al., 2019; BARNEZE et al., 2020). Como explican DUBEUX & SOLLENBERGER (2020), el ganado, por una parte, elimina parte de los nutrientes del suelo a través del consumo del pasto, mientras que a su vez devuelve parte de esos nutrientes al suelo en sus excrementos. Así, con un pastoreo continuo (Ct), el ganado se concentra en los puntos donde hay más alimento, sombra y agua, de tal manera que se forman “hotspots” de nutrientes en el suelo. Sin embargo, el pastoreo rotacional (Ro) suele resultar en mayor cantidad de abono aportado y más homogéneamente distribuido. Por su parte, las leguminosas enriquecen el suelo en nitrógeno y en carbono lábil (LI et al., 2012; ZHOU et al., 2019; LAMA et al., 2020), y con su siembra se obtiene una distribución homogénea de ellos. Por tanto, se podría especular que la convergencia en la estructura de las poblaciones microbianas edáficas observada entre estos tres manejos (Ro, Lj y Lv) sería debida a la similitud en el aporte de nutrientes y en la distribución homogénea de los mismos.

Tomando como referencia el pastoreo tradicional, que hemos considerado como el tratamiento control (Ct), se observó una cierta tendencia a la reducción de la abundancia relativa de actinobacterias, eucariotas y bacterias Gram negativas, y un aumento en la ratio Hongos/Bacterias como consecuencia del pastoreo rotacional (Ro) y de la siembra de leguminosas. Por el contrario, la abundancia relativa de bacterias Gram positivas y de hongos micorrícicos y saprófitos resultó incrementada por estos mismos manejos. Sin embargo, estas tendencias no son claras ya que hubo muchas discrepancias de resultados entre las zonas. Es bien conocido que no solo la composición taxonómica de microorganismos, sino también la abundancia relativa de los mismos varía en función de las condiciones biogeográficas y los impactos ambientales (MARTINY et al., 2006).

*La siembra de leguminosas y el pastoreo rotacional incrementan la biomasa microbiana del suelo.*

Aunque se dieron particularidades relacionadas con las zonas de estudio, la biomasa microbiana del suelo tendió a ser más elevada en los manejos de pastoreo rotacional (Ro) y siembra de leguminosas, lo que concuerda con el patrón observado cuando se estudió la estructura de las poblaciones microbianas mediante el perfil de PLFAs del suelo. Estos tres tratamientos (Ro, Lv y Lj), como se ha comentado anteriormente, se caracterizan por añadir un aporte extra de nutrientes en el suelo (C, N, P), ya sea por la vía de las excreciones del ganado, o bien a través de los exudados y la necromasa de las leguminosas (VAN DER HEIJDEN et al., 2006; VERTÈS et al., 2019; BARNEZE et al., 2020; DUBEUX & SOLLENBERGER, 2020; FANG et al., 2021; MORENO et al., 2021). Se ha descrito que los aportes de nutrientes derivados de los excrementos aumentan la biomasa microbiana del suelo e inducen su actividad (VERTÈS et al., 2019; BARDGETT et al., 2001). Asimismo, numerosos autores han encontrado que los suelos de pastizales dominados por leguminosas presentan una mayor biomasa microbiana que aquellos donde predominan mayoritariamente las gramíneas (CHEN et al., 2008; MILCU et al., 2008; LAMA et al., 2020; MORENO et al., 2021). El efecto positivo de las leguminosas sobre la biomasa microbiana del suelo se ha relacionado con un aumento inicial en la abundancia de energía y sustratos ricos en N disponibles para la descomposición, proporcionando un ambiente favorable

para el crecimiento de los microorganismos (LI *et al.*, 2012; ZHOU *et al.*, 2019; LAMA *et al.*, 2020).

#### *El arbolado influencia la microbiología del suelo.*

En este estudio, se observó una diferencia significativa en la estructura de las poblaciones microbianas edáficas de los suelos bajo y fuera de la copa de los árboles (Tabla 1). Asimismo, los suelos bajo el dosel arbóreo presentaron una mayor biomasa microbiana que aquellos situados fuera del mismo (Tabla 2 y Figura 2). Por último, la abundancia relativa de bacterias Gram positivas y Gram negativas también resultó significativamente afectada por la presencia de arbolado, aunque en sentido contrario: la abundancia relativa de las bacterias Gram positivas fue mayor fuera de copa, mientras que la de las Gram negativas fue mayor bajo el dosel arbóreo.

En general, la presencia de árboles incrementa la humedad y los nutrientes del suelo (CUBERA Y MORENO, 2007; HOWLETT *et al.*, 2011; ROLO *et al.*, 2012; MORENO *et al.*, 2013; SEDDAIU *et al.*, 2013; SIMÓN *et al.*, 2013), creando unas condiciones más favorables para el crecimiento de los microorganismos, como ha sido descrito por otros autores en sistemas agroforestales similares (LOPEZ-SANGIL *et al.*, 2011; FRANCAVIGLIA *et al.*, 2017; MORENO *et al.*, 2021). Esto podría explicar que en nuestro estudio tanto el hecho de que la biomasa de microorganismos como que la abundancia relativa de bacterias Gram negativas sea mayor bajo la copa de los árboles que fuera de la influencia de los mismos. Típicamente, las bacterias Gram negativas presentan una mayor dependencia con la materia orgánica fresca, rica en fuentes de C lábil (LI *et al.*, 2018a; FANIN *et al.*, 2019) y, especialmente, de los exudados radiculares (WANG *et al.*, 2016). Por el contrario, las bacterias Gram positivas usan los nutrientes más recalcitrantes de la materia orgánica del suelo (FANIN *et al.*, 2019) y presentan mayor resistencia a la sequía (LI *et al.*, 2018b).

Bajo la copa de los árboles, se generan multitud de cambios favorables en términos micro-ambientales, como por ejemplo el sombreado, la atenuación de las temperaturas extremas, la adición de materia orgánica a través de la hojarasca o la reducción de la velocidad del viento (TORRES, 1983; BELSKY, 1994; MORENO *et al.*, 2013). Esto explicaría por qué en nuestro estudio la ratio ácidos grasos monoenoicos/ciclopropílicos fue mayor (menor estrés) bajo copa que fuera de copa (Tabla 2, Figura 4), lo que concuerda con los resultados obtenidos por otros autores (MORENO *et al.*, 2021; BEN-DAVID *et al.*, 2011).

## **6. Conclusiones**

Los distintos manejos agroganaderos produjeron importantes cambios en la estructura de las poblaciones microbianas edáficas, aunque estos cambios no son generalizables debido a la influencia decisiva del factor Zona sobre la microbiología del suelo. No obstante, se observó que la siembra de leguminosas y el pastoreo rotacional tiende a producir mayor biomasa microbiana y poblaciones microbianas similares entre sí, pero diferentes a los otros dos manejos (tratamientos) considerados. Por su parte, los suelos bajo el arbolado presentaron unas condiciones ambientales más favorables para el crecimiento de los microorganismos, como quedó reflejado por la existencia de una mayor biomasa microbiana y menor estrés microbiano bajo el dosel arbóreo. De los resultados observados se vislumbra que en el agroecosistema de dehesa el cambio climático podría afectar a la microbiología del suelo en un grado tan importante como los propios manejos agroganaderos. Sin embargo, aquellas prácticas que favorecen el aumento de la biomasa microbiana, como son la siembra de leguminosas, el pastoreo rotacional y la conservación o aumento del arbolado, contribuyen sustancialmente a mantener la salud de los suelos y los ecosistemas.

## 7. Agradecimientos

Este trabajo fue financiado a través del proyecto PID2019-108313RB-C33 de la Agencia Española de Investigación y del proyecto “CLU-2019-05 – Unidad de Excelencia IRNASA-CSIC”, financiado por la Junta de Castilla y León y cofinanciado por la Unión Europea (FEDER “Europa impulsa nuestro crecimiento”). Los autores agradecen a Virginia Gascón Galán su ayuda en el análisis de PLFAs.

## 8. Bibliografía

ARAYA, Y. N., BARTELHEIMER, M., VALLE, C. J., CRUJEIRAS, R. M., & GARCÍA-BAQUERO, G. 2017. Does functional soil microbial diversity contribute to explain within-site plant  $\beta$ -diversity in an alpine grassland and a dehesa meadow in Spain? *J. Veg. Sci.*, 28(5), 1018–1027.

BARDGETT, R. D., JONES, A. C., JONES, D. L., KEMMITT, S. J., COOK, R., & HOBBS, P. J. 2001. Soil microbial community patterns related to the history and intensity of grazing in sub-montane ecosystems. *Soil Biol. Biochem.*, 33, 1653–1664.

BARDGETT, R.D., MANNING, P., MORRIËN, E., & DEVRIES, F.T. 2013. Hierarchical responses of plant–soil interactions to climate change: consequences for the global carbon cycle. *J. Ecol.* 101,334–343.

BARNEZE, A. S., WHITAKER, J., MCNAMARA, N. P., & OSTLE, N. J. 2020. Legumes increase grassland productivity with no effect on nitrous oxide emissions. *Plant Soil*, 446(1–2), 163–177.

BASTIAN, F., BOUZIRI, L., NICOLARDOT, B., & RANJARD, L. 2009. Impact of wheat straw decomposition on successional patterns of soil microbial community structure. *Soil Biol. Biochem.*, 41(2), 262–275.

BELSKY, A. J. 1994. Influences of trees on savanna productivity: tests of shade, nutrients, and tree-grass competition. *Ecology*, 75(4), 922–932.

BEN-DAVID, E.A., ZAADY, E., SHER, Y., NEJIDAT, A. 2011. Assessment of the spatial distribution of soil microbial communities in patchy arid and semi-arid landscapes of the Negev Desert using combined PLFA and DGGE analyses. *FEMS Microbiol. Ecol.* 76:492–503.

BUGALHO, M. N., LECOMTE, X., GONÇALVES, M., CALDEIRA, M. C., & BRANCO, M. 2011. Establishing grazing and grazing-excluded patches increases plant and invertebrate diversity in a Mediterranean oak woodland. *Forest Ecol. Manag.*, 261(11), 2133–2139.

BUYER, J. S., & SASSER, M. 2012. High throughput phospholipid fatty acid analysis of soils. *Appl. Soil Ecol.*, 61, 127–130.

CHEN M., CHEN B., MARSCHNER P. 2008. Plant growth and soil microbial community structure of legumes and grasses grown in monoculture or mixture. *J. Environ. Sci.* 20:1231–1237.

COLLINS, S.L., KNAPP, A.K., BRIGGS, J.M., BLAIR, J.M., STEINAUER, E. M. 1998. Modulation of diversity by grazing and mowing in native tallgrass prairie. *Science*. 280, 745-747.

DARYANTO, S., & ELDRIDGE, D. J. 2010. Plant and soil surface responses to a combination of shrub removal and grazing in a shrub-encroached woodland. *J. Environ. Manage.*, 91(12), 2639–2648.

DE VRIES FT, HOFFLAND E, VAN EEKEREN N, BRUSSAARD L, BLOEM J. 2006. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. *Soil. Biol. Bio-chem.* 38:2092–2103.

DE VRIES FT, SHADE A. (2013). Controls on soil microbial community stability under climate change. *Front. Microbiol.*, 4:265.

DE VRIES, F. T., & SHADE, A. 2013. Controls on soil microbial community stability under climate change. *Front. Microbiol.*, 4(SEP).

DELGADO-BAQUERIZO, M., ELDRIDGE, D. J., OCHOA, V., GOZALO, B., SINGH, B. K., & MAESTRE, F. T. 2017. Soil microbial communities drive the resistance of ecosystem multifunctionality to global change in drylands across the globe. In *Ecol. Lett.* (Vol. 20, Issue 10, pp. 1295–1305). Blackwell Publishing Ltd.

DENGLER & TISCHEW. 2018. Grasslands of the world: diversity, management and conservation. CRC Press.

DIAZ, S., CABIDO, M. & CASANOVES, F. 1998. Plant functional traits and environmental filters at a regional scale. *J. Veg. Sci.* 9: 113–122.

DUBEUX, J. C. B., & SOLLENBERGER, L. E. 2019. Nutrient cycling in grazed pastures. In *Management Strategies for Sustainable Cattle Production in Southern Pastures* (pp. 59–75). Elsevier.

DUCHENE O., VIAN J.F., CELETTE F. 2017. Intercropping with legume for agroecological cropping systems: Complementarity and facilitation processes and the importance of soil microorganisms. A review. *Agr. Ecosyst. Environ.* 240:148–161.

DUNCAN, D. S., JEWELL, K. A., SUEN, G., & JACKSON, R. D. 2016. Detection of short-term cropping system-induced changes to soil bacterial communities differs among four molecular characterization methods. *Soil Biol. Bio-chem.*, 96, 160–168.

ELDRIDGE, D. J., DELGADO-BAQUERIZO, M., TRAVERS, S. K., VAL, J., OLIVER, I., HAMONTS, K., & SINGH, B. K. 2017. Competition drives the response of soil microbial diversity to increased grazing by vertebrate herbivores. *Ecology*, 98(7), 1922–1931.

ELDRIDGE, D. J., TRAVERS, S. K., VAL, J., WANG, J. T., LIU, H., SINGH, B. K., & DELGADO-BAQUERIZO, M. 2020. Grazing Regulates the Spatial Heterogeneity of Soil Microbial Communities Within Ecological Networks. *Ecosystems*, 23(5), 932–942.

FANG, X., ZHENG, R., GUO, X., FU, Q., FAN, F., & LIU, S. 2021. Yak excreta-induced changes in soil microbial communities increased the denitrification rate of marsh soil under warming conditions. *Appl. Soil Ecol.*, 165.

FANIN, N., KARDOL, P., FARRELL, M., NILSSON, M. C., GUNDALE, M. J., & WARDLE, D. A. 2019. The ratio of Gram-positive to Gram-negative bacterial PLFA markers as an indicator of carbon availability in organic soils. *Soil Biol. Biochem.*, 128, 111–114.

FAOSTAT 2020: [www.fao.org](http://www.fao.org) › faostat

FRANCO, J. A., GASPAR, P., & MESIAS, F. J. 2012. Economic analysis of scenarios for the sustainability of extensive livestock farming in Spain under the CAP. *Ecol. Econ.*, 74, 120–129.

GRIFFITHS, R.I., THOMSON, B.C., JAMES, P., BELL, T., BAILEY, M., WHITELEY, A.S. 2011. The bacterial biogeography of British soils. *Environ. Microbiol.*, 13 (6), 1642-1654.

GOLDFARB, K.C., KARAOZ, U., HANSON, C.A., SANTEE, C.A., BRADFORD, M.A., TRESEDER, K.K., WALLENSTEIN, M.D., BRODIE, E.L. 2011. Differential growth responses of soil bacterial taxa to carbon substrates of varying chemical recalcitrance. *Front. Microbiol.* 2 (94).

LIBRO. GÓMEZ-GUTIÉRREZ, J.M. 1992. Orígenes del monte adeshado y situación actual. En: GÓMEZ-GUTIÉRREZ, J.M. El libro de las dehesas salmantinas. 19-29. Gráficas Ortega. Salamanca.

HERNÁNDEZ, A. 2020. TESIS. Consecuencias ambientales y productivas de la implantación de praderas permanentes de leguminosas en dehesas del oeste ibérico.

KRAFT, N.J.B., ADLER, P.B., GODOY, O., JAMES, E.C., FULLER, S. & LEVINE, J.M. (2015). Community assembly, coexistence and the environmental filtering metaphor. *Funct. Ecol.* 29: 592-599.

LAMA S., KUHN T., LEHMANN M.F., MÜLLER C., GONZALEZ O., EISENHAUER N., LANGE M., SCHEU S., OLEMANN Y., WILCKE W. 2020. The biodiversity-N cycle relationship: a 15 N tracer experiment with soil from plant mixtures of varying diversity to model N pool sizes and transformation rates. *Biol. Fertil. Soils.* 56(1047):1061.

LATZ, E., EISENHAUER, N., RALL, B. C., SCHEU, S., & JOUSSET, A. 2016. Unravelling Linkages between Plant Community Composition and the Pathogen-Suppressive Potential of Soils. *Sci. Rep-UK.*, 6.

LAUBER, C. L., HAMADY, M., KNIGHT, R., & FIERER, N. 2009. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environ. Microbiol.*, 75(15), 5111–5120.

LAWTON, J.H., BIGNELL, D.E., BOLTON, B., BLOEMERS, G. F., EGGLETON, P., HAMMOND, P.M., HODDA, M., HOLT, R.D., LARSEN, T. B., MAWDSLEY, N.A., STORK, N. E., SRIVASTAVA, D. S., WATT, A. D. 1998. Biodiversity inventories, indicator taxa and effects of hábitat modification in tropical forest. *Nature*. 391, 72-76.

LI H., XU Z., YAN Q. ET AL. 2018a. Soil microbial beta-diversity is linked with compositional variation in aboveground plant biomass in a semi-arid grassland. *Plant Soil*. 423:465–480.

LI J., JIAO S., GAO R., BARDGETT R. 2012. Differential effects of legume species on the recovery of soil microbial communities, and carbon and nitrogen contents, in abandoned fields of the Loess Plateau, China. *Environ. Manage.* 50:1193–1203.

LI Y., LIU Y., WU S., NIE C., LORENZ N., LEE N.R., DICK R.P. 2018b. Composition and carbon utilization of soil microbial communities subjected to long-term nitrogen fertilization in a temperate grassland in northern China. *Appl. Soil Ecol.* 124:252–261.

MARTINY, J.B.H., BOHANNAN, B.J.M., BROWN, J.H., COLWELL, R.K., FUHRMAN, J.A., GREEN, J.L., HORNER-DEVINE, M.C., KANE, M., KRUMINS, J.A., KUSKE, C.R., MORIN, P.J., NAEEM, S., ØVREÅS, L., REYSENBACH, A.-L., SMITH, V.H., STALEY, J.T. 2006. Microbial biogeography: Putting microorganisms on the map. *Nat. Rev. Microbiol.*, 4 (2), 102-112.

MENDES, R., GARBEVA, P. & RAAIJMAKERS, J.M. 2013. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev.* 37: 634–663.

MILCU A., PARTSCH S., SCHERBER C., WEISSER W.W., SCHEU S. 2008. Earthworms and legumes control litter decomposition in a plant diversity gradient. *Ecology*. 89:1872e1882.

MORENO, G., & PULIDO, F. J. 2009. *Agroforestry in Europe. Current status and future prospects*. (A. Rigueiro-Rodríguez, J. McAdam, & M. R. Mosquera-Losada, Eds.; pp. 127–160; Vol. 6, Chapter 7). *Springer*.

MORENO, G., BARTOLOME, J. W., GEA-IZQUIERDO, G., & CAÑELLAS, I. 2013. Overstory–understory relationships. Mediterranean oak woodland working landscapes. *Springer, Dordrecht*. 145-179.

MORENO, G., HERNÁNDEZ-ESTEBAN, A., ROLO, V., & IGUAL, J. M. 2021. The enduring effects of sowing legume-rich mixtures on the soil microbial community and soil carbon in semi-arid wood pastures. *Plant Soil*, 465(1–2), 563–582.

NUNES, P. A. DE A., BREDEMEIER, C., BREMM, C., CAETANO, L. A. M., DE ALMEIDA, G. M., DE SOUZA FILHO, W., ANGHINONI, I., & CARVALHO, P. C. DE F. 2019. Grazing intensity

determines pasture spatial heterogeneity and productivity in an integrated crop-livestock system. *Grassl. Sci.*, 65(1), 49–59.

ORWIN, K. H., DICKIE, I. A., HOLDAWAY, R., & WOOD, J. R. 2018. A comparison of the ability of PLFA and 16S rRNA gene metabarcoding to resolve soil community change and predict ecosystem functions. *Soil Biol. Biochem.*, 117, 27–35.

PITON G, LEGAY N, ARNOLDI C, LAVOREL S, CLÉMENT JC, FOULQUIER A. 2019. Using proxies of microbial community-weighted means traits to explain the cascading effect of management intensity, soil and plant traits on ecosystem resilience in mountain grasslands. *J. Ecol.* 108:876–893.

PLIENINGER, T., & BIELING, C. 2012. Resilience and the Cultural Landscape: Understanding and Managing Change in Human-shaped Environments. *Landscape Res.*, 39(5), 597–599.

PROBER, S. M., LEFF, J. W., BATES, S. T., BORER, E. T., FIRN, J., HARPOLE, W. S., LIND, E. M., SEABLOOM, E. W., ADLER, P. B., BAKKER, J. D., CLELAND, E. E., DECRAPPEO, N. M., DELORENZE, E., HAGENAH, N., HAUTIER, Y., HOFMOCKEL, K. S., KIRKMAN, K. P., KNOPS, J. M. H., LA PIERRE, K. J., ... FIERER, N. 2015. Plant diversity predicts beta but not alpha diversity of soil microbes across grasslands worldwide. *Ecol. Lett.*, 18(1), 85–95.

RANGELANDS, M., JOFFRE, R., & RAMBAL, S. 1993. How Tree Cover Influences the Water Balance of Mediterranean Rangelands. *Ecology* (Vol. 74, Issue 2, pp. 570-582).

ROLO, V., & MORENO, G. (2019). Shrub encroachment and climate change increase the exposure to drought of Mediterranean wood-pastures. *Sci. Total Environ.*, 660, 550–558.

SCHLESINGER, W. H., & PILMANIS, A. M. 1998. Plant-soil interactions in deserts. *Biogeochemistry*, 169–187.

TORRES, F. 1983. Role of woody perennials in animal agroforestry. *Agroforest. Syst.*, 1(2), 131-163.

VAN DER HEIJDEN, M. G. A., BAKKER, R., VERWAAL, J., SCHEUBLIN, T. R., RUTTEN, M., VAN LOGTESTIJN, R., & STAEHELIN, C. 2009. Symbiotic bacteria as a determinant of plant community structure and plant productivity in dune grassland. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 56(2), 178–187.

VERTÈS, F., DELABY, L., KLUMPP, K., & BLOOR, J. 2018. C-N-P uncoupling in grazed grasslands and environmental implications of management intensification. In *Agroecosystem Diversity: Reconciling Contemporary Agriculture and Environmental Quality* (pp. 15–34). Elsevier.

WAGG, C., BENDER, S.F., WIDMER, F. & VAN DER HEIJDEN, M. G. A. 2014. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *P. Nat. Acad. Sci. USA.* 111: 5266–5270.

WALDROP M.P., FIRESTONE M.K. 2006. Seasonal dynamics of microbial community composition and function in oak canopy and open grassland soils. *Microb. Ecol.* 52:470–479.

WALDROP, M. P., ZAK, D. R., BLACKWOOD, C. B., CURTIS, C. D., & TILMAN, D. 2006. Resource availability controls fungal diversity across a plant diversity gradient. *Ecol. Lett.*, 9(10), 1127–1135.

WANG J., CHAPMAN S.J., YAO H. 2016. Incorporation of <sup>13</sup>C-labelled rice rhizodeposition into soil microbial communities under different fertilizer applications. *Appl. Soil Ecol.* 101:11–19.

WANG, B., & QIU, Y. L. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. In *Mycorrhiza* (Vol. 16, Issue 5, pp. 299–363).

WILLERS, C., JANSEN VAN RENSBURG, P. J., & CLAASSENS, S. 2015. Phospholipid fatty acid profiling of microbial communities-a review of interpretations and recent applications. In *J. Appl. Microbiol.* (Vol. 119, Issue 5, pp. 1207–1218).

ZHOU J., ZHANG F., HUO Y. ET AL. 2019. Following legume establishment, microbial and chemical associations facilitate improved productivity in degraded grasslands. *Plant Soil.* 443:273–292.