



# PASTOS Y PAC 2014-2020

53<sup>a</sup> REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA  
SOCIEDAD ESPAÑOLA PARA EL ESTUDIO DE LOS PASTOS

POTES (CANTABRIA)

9-12 de junio de 2014



CENTRO DE  
INVESTIGACIÓN Y  
FORMACIÓN  
AGRARIAS **CIFA**



© Los autores

© De la presente edición: 1ª edición 2014

Edita: Sociedad Española para el Estudio de los Pastos

Edición coordinada: Juan Busqué Marcos  
Gregorio Salcedo Díaz  
Emma Serrano Martínez  
Manuel José Mora Martínez  
Benito Fernández Rodríguez-Arango

Maquetación: Cristina Teja Gutiérrez  
Patricia Manrique Revuelta

Imagen portada: Manuel José Mora Martínez

ISBN: 978-84-697-0561-2



# ACTIVIDAD Y DIVERSIDAD FUNCIONAL DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS EDÁFICAS EN FUNCIÓN DEL TIPO DE PASTO Y SU MANEJO EN EL PARQUE NATURAL DE GORBEIA

ACTIVITY AND RICHNESS OF EDAPHIC MICROBIAL COMMUNITIES IN DIFFERENT PASTURES AND MANAGEMENT TYPES IN GORBEIA NATURAL PARK

M. ANZA, I. MIJANGOS\*, G. URRUTIA, L. EPELDE Y C. GARBISU

Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Neiker-Instituto Vasco de I+D Agrario  
c/ Berreaga, 1. 48160 Derio (Bizkaia). \*[mijangos@neiker.net](mailto:mijangos@neiker.net)

## RESUMEN

Uno de los objetivos principales del proyecto LIFE-SOILMONTANA es el de potenciar prácticas agrarias que permitan mantener la funcionalidad de los ecosistemas pascícolas a través de la conservación de su biodiversidad, especialmente la biodiversidad edáfica.

En este estudio se evalúa el efecto del tipo de manejo (pastoreo vs. siega vs. mixto) llevado a cabo en diferentes hábitats pascícolas (helechales vs. pastos de valle vs. montaña, asentados sobre materiales calizos y silíceos) sobre las características físico-químicas del suelo y la actividad y diversidad funcional de sus comunidades microbianas. Para ello analizamos sus perfiles fisiológicos en microplacas ECO-Biolog™ y FF-Biolog™, que nos aportan información de la diversidad catabólica/funcional de las comunidades edáficas de bacterias y hongos, respectivamente.

La actividad y diversidad funcional de hongos fue mayor en suelos ácidos. Respecto a la actividad y diversidad bacteriana, estuvo positivamente correlacionada con los niveles de nutrientes en el suelo. Por otro lado, la mayor diversidad catabólica y actividad fúngica se observó en los helechales, mientras que los valores de bacterias disminuyeron en este tipo de hábitat pascícola. A pesar del poco valor forrajero, los helechales mostraron tener un valor real considerable en términos de conservación de la biodiversidad microbiana.

**Palabras clave:** Diversidad catabólica, Biolog™, perfiles fisiológicos microbianos.

## SUMMARY

One of the main objectives of the LIFE-SOILMONTANA project is to demonstrate the suitability of agronomic practices that promote ecosystem services provided by pastures through the conservation of their biodiversity, especially soil biodiversity.

This paper evaluates the effects of pasture habitat type (bracken, mountain and valley pastures on calcareous or siliceous materials) and management (grazing, mowing or both) on the activity and richness of soil microbial communities. We analysed their physiological profiles using ECO-Biolog™ and FF-Biolog™ microplates, providing information about the activity and functional richness of soil bacterial and fungal communities, respectively.

Interestingly, fungal activity and functional diversity were higher in acid soils. As for bacterial activity and diversity, they were positively correlated with the nutrient levels in soil. Moreover, the greater diversity and fungal catabolic activity was observed in soils under bracken, while values of bacteria decreased in that habitat. Despite its limited forage value, fields dominated by bracken showed considerable value in terms of preservation of microbial biodiversity.

**Key words:** grassland, catabolic diversity, Biolog™, microbial physiological profiles.

## INTRODUCCIÓN

Este estudio se engloba dentro de proyecto LIFE-SOILMONTANA (ref LIFE 10 NAT/ES/579) que tiene como principal objetivo potenciar prácticas agrarias que permitan mantener la funcionalidad de los ecosistemas a través de la conservación de su biodiversidad. Los suelos se caracterizan, además de por tener unas características físico-químicas determinadas, por albergar unas comunidades microbianas que son las responsables de llevar a cabo procesos biológicos tan importantes como la descomposición y reciclaje de nutrientes, fijación de nitrógeno, mantenimiento de la estructura, detoxificación de contaminantes, etc. En relación a los pastos, la presencia de comunidades microbianas saludables influye en su productividad, ya que son la base de la cadena detritívora creadora de nutrientes para las plantas (Bardgett et al., 1997).

La diversidad funcional de un suelo puede ser estudiada mediante el análisis de los perfiles fisiológicos a nivel de comunidad, que reflejan la capacidad de dicha comunidad microbiana para utilizar una batería de sustratos de carbono en condiciones de cultivo controladas (Bending et al., 2004). Las placas Biolog EcoPlates™ fueron desarrolladas para la determinación de los perfiles fisiológicos de las comunidades terrestres (Insam, 1997) y contienen 31 fuentes de carbono útiles pa-

ra el análisis de la comunidad del suelo. Las placas Biolog FF-Plates™ contienen 95 diferentes sustratos de carbono para inferir la diversidad catabólica de los hongos cultivables.

El objetivo principal del estudio fue comparar los perfiles fisiológicos de las bacterias y hongos de diferentes hábitats incluidos en el proyecto (helechales, pastos de montaña y pastos de fondo de valle sometidos a distintos tipos de manejo), en suelos asentados sobre materiales parentales silíceos o calizos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

El área de estudio se ubica en el entorno del Parque Natural de Gorbeia, siendo este el parque natural más grande de la Comunidad Autónoma del País Vasco (21.016 ha). Ubicado en la divisoria de aguas cántabro-mediterránea, está dividido entre los Territorios Históricos de Alava y Bizkaia.

### Toma y procesamiento de muestras

Todos los muestreos de campo se llevaron a cabo en el verano de 2013, en un plazo de 2 meses. Se tomaron muestras en tres tipos de hábitats: helechales (dominados por *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn); pastos de

montaña (hábitats 6230 y 6170 según Directiva 92/43/CEE); y pastos de fondo de valle (hábitat 6510 según Directiva 92/43/CEE), asentados tanto sobre suelo calizo como sobre suelo silíceo, resultando un total de 6 combinaciones hábitat x suelo. En los pastos de fondo de valle se tomaron muestras en pastos destinados a la producción de heno, en pastos de diente y en mixtos (3 combinaciones manejo x suelo). De cada combinación de tratamientos se tomaron cuatro muestras de suelo (réplicas) en zonas espacialmente diferenciadas, compuestas cada una por 10 submuestras (cerca entre sí) tomadas directamente con una sonda (10 cm de profundidad y 3 cm de diámetro). Una vez en el laboratorio, las muestras se tamizaron en fresco a través de un tamiz de 2 mm, eliminando los restos vegetales y se mantuvieron a 4°C durante menos de una semana hasta la realización de las analíticas.

#### **Determinación de los perfiles fisiológicos a nivel de comunidad**

La caracterización físico-química se realizó según los métodos estandarizados (MAPA, 1994). Para la determinación de los perfiles fisiológicos a nivel de comunidad de las bacterias edáficas se utilizaron las microplacas Biolog EcoPlates™ según Epelde et al. (2008). Estas microplacas contienen tres repeticiones de 31 fuentes de carbono potencialmente asimilables por las bacterias, de los

cuales por lo menos 9 pueden ser considerados como constituyentes de los exudados radiculares de las plantas (Campbell et al., 1997). Del mismo modo se utilizaron las microplacas Biolog FF-Plates™ para el análisis de la comunidad fúngica. Estas placas comprenden una única réplica por placa con 95 sustratos de carbono diferentes. En este caso, las muestras de suelo se extrajeron por agitación en un agitador orbital (125 rev min<sup>-1</sup>), para lo cual se pesó el equivalente a 1 g de suelo seco y se mezcló con 9 ml de agua desionizada esterilizada en autoclave durante 1 h. Tras la agitación, se dejaron reposar los extractos durante 5 minutos y se realizó una dilución 1:100 (1 ml de suspensión suelo en 100 ml de agua ultra pura estéril). Se inocularon en las placas 150 µl en el caso de las bacterias y 100 µl en el de los hongos. En este último caso, se añadieron 100 mg l<sup>-1</sup> de estreptomycin y 50 mg l<sup>-1</sup> de gentamicina al agua previamente autoclavada para inhibir el crecimiento bacteriano. Las placas se incubaron a 30°C o 26°C (EcoPlates™ y FF-Plates™, respectivamente) y se leyeron las absorbancias diariamente a 595 nm o 490 nm en un lector de microplacas (AnthosZenyth 3100). Para cada tiempo de lectura, se corrigieron las absorbancias restando el punto de lectura de la hora cero así como el valor correspondiente al pocillo control sin sustrato. El promedio del desarrollo de color (AWCD) se determinó calculando la media



de valor de la absorbancia de cada pocillo para cada tiempo de lectura. El número de sustratos utilizados (NSU) se determinó contando el número de pocillos con una absorbancia superior a 0,25, considerado el límite que indica un crecimiento positivo en cada pocillo. El NSU sería el equivalente a la riqueza de especies en un inventario convencional.

### **Análisis estadístico**

Teniendo en cuenta el carácter multivariante de los datos experimentales, se realizaron análisis con el programa CANOCO 5.0 (Ter Braak y Šmilauer, 2002). Con el objeto de conocer la influencia de las variables físico-químicas sobre las biológicas, se realizó un análisis de redundancia (RDA). Posteriormente, para evaluar las posibles interacciones entre el material parental y el tipo de hábitat, se realizó otro análisis de redundancia parcial (p-RDA), considerando a las propiedades biológicas como variables respuesta y a las propiedades físico-químicas como covariables. En este caso se calculó asimismo el porcentaje de variabilidad que explica cada variable explicativa. También se realizó un tercer p-RDA, con el manejo realizado en los pastos de fondo de valle como única variable explicativa.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la figura 1 se muestran los resultados del análisis de redundancia realizado entre los parámetros biológicos (variables respuesta) y los parámetros físico-químicos (variables explicativas). El eje 1 explica el 17% de la variabilidad, llegando hasta el 25% si se añade el eje 2 (pseudo-F=2,4; p=0,008). Cabe destacar como, independientemente del material parental, del tipo de hábitat y del manejo realizado, tanto el poder catabólico como la diversidad fúngica estuvieron inversamente relacionados con el pH de los suelos. Sabido es que los hongos predominan sobre las bacterias a medida que se acidifica el pH del suelo y se reduce la disponibilidad de nutrientes lábiles (Rousk et al., 2010). Por eso presentaron una mayor riqueza (NSU) y actividad (AWCD) los pastos de montaña (con menores valores de pH) con respecto a los de fondo de valle (con pH generalmente más altos). Debido a las condiciones más restrictivas para la actividad microbiana en las zonas de montaña, los porcentajes de materia orgánica fueron 2,8 veces superiores en los pastos de montaña con respecto a los de fondo de valle (datos no mostrados). Respecto a la actividad y diversidad bacteriana, en la figura 1 se puede observar que estuvieron positivamente correlacionados con los niveles de nutrientes (contenidos en N, P, K y materia orgánica) en el suelo a lo largo del Eje 1.

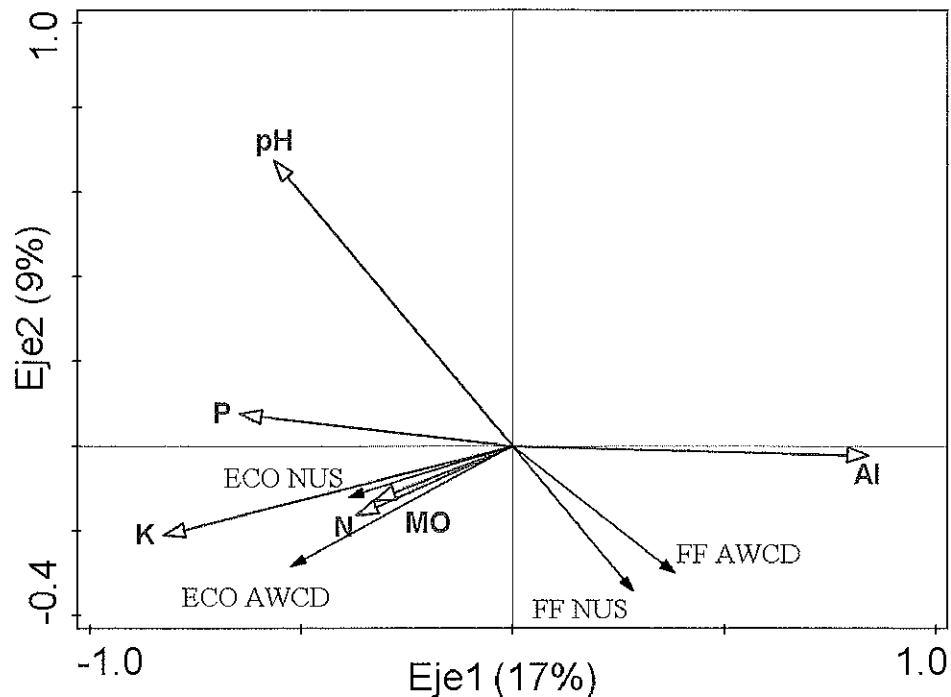


Figura 1.- Representación en los dos primeros ejes del análisis de redundancia (RDA) de las variables respuesta Promedio del desarrollo de color (AWCD) y Número de sustratos utilizados (NUS) tanto de bacterias (ECO) como de hongos (FF) en función de los parámetros físico-químicos de los suelos analizados: N, contenido en nitrógeno (%); P, contenido en fósforo Olsen (ppm); K, contenido en potasio (ppm); Al, porcentaje de saturación de aluminio; MO, materia orgánica (%).

El tipo de hábitat tuvo más influencia que el material parental en la explicación de la variabilidad de los resultados (pseudof=12,2;  $p=0,002$ ; Figura 2). Así, los hongos predominaron (tanto en actividad como en diversidad) en los helechales, siendo el efecto el contrario para las bacterias. El hábitat "helechal" tuvo una contribución significativa (pseudof=25,3,  $p=0,002$ ), que fue del 73,5% de la variabilidad explicada por el análisis de redundancia (17% de la variabilidad total), siendo la variable explicativa con más peso.

El material parental, representado en el eje 2 del RDA (Figura 2) no tuvo una gran contribución en la explicación de la variabilidad de los resultados biológicos, lo que no quita que se trate de comunidades microbianas con diferente composición en ambos tipos de suelo, independientemente de que sus índices de poder catabólico y de diversidad sean similares.

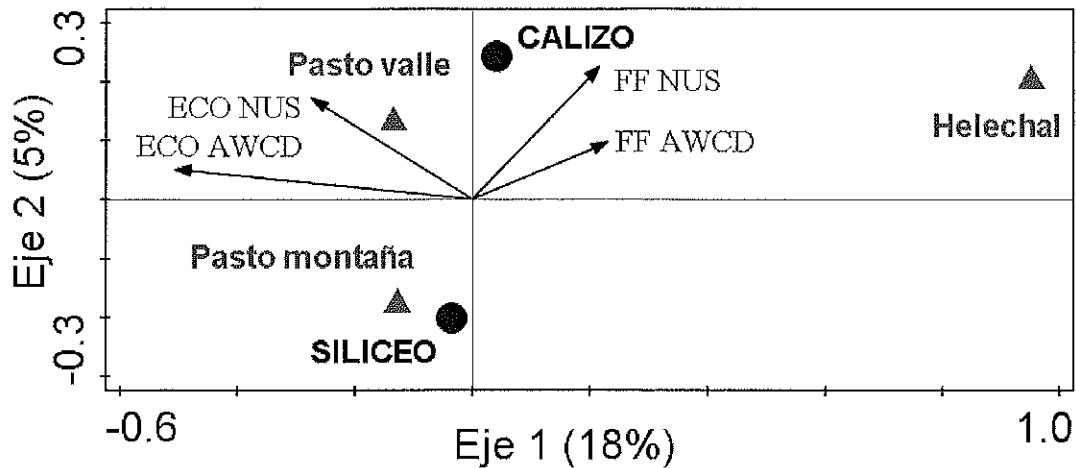


Figura 2.- Representación en los dos primeros ejes del análisis de redundancia parcial (p-RDA) del Promedio del desarrollo de color (AWCD) y Número de sustratos utilizados (NUS) de bacterias (ECO) y hongos (FF) en función del material parental sobre el que se asientan los suelos (círculos) y el hábitat (triángulos), considerando los parámetros físico-químicos como covariables.

Por último, el p-RDA realizado evaluando la influencia de los distintos usos llevados a cabo en los pastos de fondo de valle, y considerando los parámetros físico-químicos como covariables, no fue significativo (pseudo-F=1,0;  $p=0,382$ ). Esto probablemente se debió a que las covariables utilizadas absorbieron las posibles diferencias entre sistemas de manejo y sustrato geológico.

## CONCLUSIONES

La acidez de los suelos pareció favorecer la actividad y diversidad funcional de hongos. Por su parte, la actividad y diversidad de las bacterias edáficas se mostró positivamente correlacionada con los niveles de nutrientes en el suelo.

Corrigiendo por las variables físico-químicas, la mayor diversidad catabólica y actividad fúngica se observó en los helechales, aunque a nivel bacteriano estos índices disminuyeron. En cualquier caso, los helechales mostraron tener un valor real en términos biodiversidad microbiana. Consideramos que este parámetro debería ser tenido en cuenta (junto con otros índices de biodiversidad, no sólo vegetales sino también edáficos) a la hora de establecer figuras de protección para determinados hábitats.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado con financiación de la UE, en el marco del proyecto Life-Soilmontana (LIFE10NAT/ES/579).





## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARDGETT R.D., LEEMANS D.K., COOK R. Y HOBBS P.J. (1997) Seasonality of the soil biota of grazed and ungrazed hill grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, 29, 1285-1294.
- BENDING G.D., TURNER M.K., RAYNS F., MARX M.C. Y WOOD M. (2004) Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 1785-1792.
- CAMPBELL C.D., GRAYSTON S.J. Y HIRST D.J. (1997) Use of rhizosphere carbon sources in sole carbon source tests to discriminate soil microbial communities. *Journal of Microbiological Methods*, 30, 33-41.
- EPELDE L., BECERRIL J.M., HERNANDEZ-ALLICA J., BARRUTIA O. Y GARBISU C. (2008) Functional diversity as indicator of the recovery of soil health derived from *Thlaspi caerulescens* growth and metal phytoextraction. *Applied Soil Ecology*, 39, 299-310.
- INSAM H. (1997) A new set of substrates proposed for community characterization in environmental samples. En: Insam H. y Rangger A. (eds) *Microbial communities*. 259-260. Heidelberg, Alemania: Springer-Verlag.
- MAPA (1994) *Métodos oficiales de análisis de suelos y aguas para riego*. Madrid, España: Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación.
- ROUSK J., BÅÅTH E., BROOKES P.C., LAUBER C.L., LOZUPONE C., CAPO-RASO J.G., KNIGHT R. Y FIERER N. (2010) Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *Isme Journal*, 4, 1340-1351.
- TER BRAAK C., ŠMILAUER P. (2002) *CANOCO reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: software for canonical community ordination*. Ithaca, NY: MicrocomputerPower.