



9CFE-1636



Gestión de la dehesa mediterránea en la era del cambio climático: efectos de la presión ganadera y del hábitat en las comunidades microbianas del suelo

GIL-MARTÍNEZ, M. ⁽¹⁾, DOMÍNGUEZ-NÚÑEZ, M. T. ⁽¹⁾, MARÍA SOCORRO SERRANO ⁽²⁾ & PÉREZ-RAMOS, I. M. ⁽³⁾

(1) Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola, Universidad de Sevilla, Sevilla, España

(2) Departamento de Agronomía, Universidad de Córdoba, España

(3) Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IRNAS-CSIC), Av. Reina Mercedes, 10, 41012, Sevilla, España.

Resumen

Las comunidades microbianas del suelo desempeñan un papel fundamental en el funcionamiento y la resiliencia de los ecosistemas. Las dehesas son ecosistemas antropizados únicos de gran biodiversidad y elevada importancia cultural en la Península Ibérica. En las últimas décadas, estos ecosistemas se enfrentan a diferentes amenazas, destacando aquellas derivadas del cambio climático. Por ello, la gestión de nuestras dehesas es clave para su adaptación y persistencia en épocas venideras.

En este estudio investigamos los efectos de la gestión del pastoreo en dehesas del sur de España, usando los dos hábitats más representativos de este tipo de ecosistemas: bajo árbol y zonas de pastizal. Además, analizamos experimentalmente el impacto del cambio climático introduciendo variaciones en los suelos, como son el aumento de temperatura y la reducción de la humedad debido a la disminución de las precipitaciones. Para el estudio de las comunidades microbianas del suelo, empleamos metagenómica para caracterizar las comunidades de hongos y bacterias. Nuestros resultados revelan que la intensidad del pastoreo y el hábitat fueron los principales factores que desencadenaron cambios en la abundancia y la diversidad funcional de los taxones microbianos del suelo. Estos cambios pueden tener implicaciones importantes para algunos procesos clave del ecosistema, como el ciclo de nutrientes y la dinámica del carbono del suelo.

Los resultados de nuestra investigación contribuyen a una mayor comprensión de las complejas interacciones que se establecen entre el cambio climático, el hábitat, la intensidad del pastoreo y la composición microbiana del suelo en los ecosistemas de dehesa. Nuestros hallazgos revelan la importancia de las prácticas de gestión sostenible del terreno que promueven la salud del suelo y la resiliencia de los ecosistemas frente al cambio global.

Palabras clave



Bacterias, hongos, metagenómica, cambio global, biodiversidad

1. Introducción

Las comunidades microbianas del suelo desempeñan un papel esencial en la funcionalidad de los ecosistemas, ya que son responsables de procesos fundamentales, como la descomposición de la materia orgánica y el ciclo de nutrientes en los suelos (BARDGETT & VAN DER PUTTEN, 2014). Las comunidades de bacterias y hongos, como principales descomponedores, también son clave para la resiliencia de los ecosistemas frente a perturbaciones y cambios ambientales (FIERER et al., 2009; VAN DER HEIJDEN et al., 2008). En este contexto, los ecosistemas de dehesa característicos de la Península Ibérica, representan una combinación única de elementos naturales y humanos, resultando en una biodiversidad excepcional, pero a la vez vulnerable a las alteraciones causadas por el cambio climático y las prácticas de manejo intensivo, como el sobrepastoreo.

Las dehesas son ecosistemas agroforestales que integran zonas abiertas de pastizal con espacios arbolados con dominancia de pocas especies, y desempeñan un papel importante en la conservación de la biodiversidad, así como en la producción de multitud de bienes y servicios ecosistémicos. Sin embargo, su equilibrio es frágil debido a las interacciones que se establecen entre las prácticas de manejo humano y los factores climáticos que están experimentando alteraciones a nivel global (MATA et al., 2018). El cambio climático, en particular, está promoviendo un aumento generalizado de la temperatura y fuertes alteraciones en el régimen de precipitaciones, lo que puede acarrear efectos profundos sobre la estructura y el funcionamiento de las comunidades microbianas del suelo (SCHIMMEL et al., 2015). A su vez, las prácticas de manejo como la intensidad del pastoreo influyen en la composición de la vegetación y, por ende, en las condiciones del suelo, afectando tanto directa como indirectamente a las comunidades microbianas (BARDGETT et al., 2010).

En este estudio mostramos los resultados de un experimento de simulación de cambio climático implementado en dehesas del sur de España, donde analizamos cómo las comunidades microbianas de hongos y bacterias respondían a los siguientes factores experimentales: hábitat (comparando zonas localizadas bajo árbol frente a zonas abiertas de pastizal), presión ganadera (baja, media o alta), escenario de calentamiento del aire (actual o incremento de temperatura) y escenario de precipitación (actual o reducción del nivel de precipitaciones). Para ello, utilizamos técnicas de metagenómica para caracterizar la diversidad y composición funcional de las comunidades bacterianas y fúngicas del suelo, proporcionando una visión detallada de cómo los factores ecológicos y climáticos interaccionan para modificar estas comunidades de microorganismos.

2. Objetivos

El objetivo de nuestro estudio consiste en entender cómo el hábitat, la gestión del pastoreo y el cambio climático afectan a las comunidades microbianas y a su funcionalidad en los ecosistemas de dehesa. En particular, investigamos los efectos

del tipo de hábitat, de la intensidad de herbivoría y de las condiciones abióticas pronosticadas por los modelos de cambio climático sobre la funcionalidad fúngica, así como sobre la riqueza, la diversidad y la funcionalidad de los filos bacterianos.

3. Metodología

3.1 Área de estudio y diseño experimental

El área de estudio se encuentra en la cordillera de Sierra Morena, en el suroeste de España (38° 22' 50,64" N, 4° 45' 27,69" O; Valle de los Pedroches, Córdoba). El clima es de tipo continental-mediterráneo, con una precipitación media anual de 416 mm/año y una temperatura media anual de 15,4 °C.

La vegetación está constituida por un estrato denso de especies herbáceas, con una riqueza media de $9,6 \pm 0,3$ especies/m² y dominada por herbáceas anuales nativas como *Sinapis alba* L., *Avena sterilis* L., *Erodium moschatum* L. y *Hordeum murinum* L. El estrato arbóreo está compuesto por individuos aislados de *Quercus ilex* subsp. *ballota* (Desf.) Samp., con una densidad media de $14,5 \pm 1,3$ árboles/ha.

El ecosistema está pastoreado por ganado, principalmente ovejas y cerdos ibéricos. Se establecieron un total de 36 parcelas con tres niveles históricos de pastoreo. Un tercio de estas parcelas se ubicaron en áreas de alta intensidad de pastoreo ($\approx 0,85$ unidades de ganado/ha), otro tercio en áreas de intensidad de pastoreo moderada ($\approx 0,64$ unidades de ganado/ha), y las parcelas restantes se colocaron en áreas cercadas excluidas del pastoreo de grandes herbívoros durante los últimos 25 años.

Para investigar el efecto del cambio climático, en otoño de 2016 se establecieron dos tratamientos climáticos: Temperatura, simulando un calentamiento en el suelo de 2-3 °C y Sequía, induciendo una reducción del 30% en la lluvia.

El tratamiento Temperatura empleó cámaras hexagonales de metacrilato abiertas por arriba (OTC; MARION et al., 1997). Estas OTC tenían lados inclinados que medían 40 x 50 x 32 cm y transmitían longitudes de onda entre 280 y 750 nm. Para el tratamiento Sequía, se instalaron seis canaletas de metacrilato (0,14 m de ancho) sin filtros UV para no alterar el espectro de luz. Estas canaletas redujeron la lluvia que llegaba a la superficie del suelo en aproximadamente un 30% (YAHDIJIAN & SALA, 2002). Ambas estructuras se instalaron en las 36 parcelas, con todas las combinaciones Hábitat x Herbivoría posibles. El experimento siguió un diseño aleatorio de parcelas divididas, con el bloque como factor de parcela completa. El diseño experimental resultó en un total de 144 unidades experimentales (3 sitios × 2 hábitats × 2 escenarios de precipitación × 2 escenarios de temperatura × 6 réplicas) las cuales estaban repartidas en 18 bloques.

3.2 Muestreo y metagenómica del suelo

En la primavera de 2018, un año y medio después de la implementación del experimento, se muestreó el suelo en cada unidad experimental a una profundidad de 10 cm. Las muestras frescas fueron congeladas en Eppendorf y fueron liofilizadas previamente a la extracción del ADN. La extracción de ADN se realizó con el DNeasy PowerSoil Pro Kit (Qiagen, Hilden, Germany) siguiendo las instrucciones del fabricante. La preparación de la biblioteca y la secuenciación con



Illumina se llevaron a cabo en el Centro de Genómica del IPBLN (CSIC, Granada, España). Las bibliotecas de amplicones dirigidas al gen 16S rRNA bacteriano y a la región fúngica ITS1 se generaron mediante una estrategia de PCR de dos pasos. La amplificación específica del gen se realizó por triplicado con 5-15 ng de ADN extraído del suelo en un volumen final de 10 µl. Los cebadores específicos del gen, V3V4fw (5' CCTACGGGNGGCWGCAG3')/ V3V4rev (5' GACTACHVGGGTATCTAATCC 3') para la comunidad bacteriana e ITS1F12 (5' GAACWGC GGARGGATCA 3')/ITS2 (5' GCTGCGTTCTTCATCGATGC 3') para la región fúngica ITS1, se diseñaron con adaptadores de saliente Nextera. Los cebadores se utilizaron a una concentración final de 0,2 µM. La reacción se realizó con la ADN polimerasa 1X KAPA HiFi HotStart ReadyMix (Roche Diagnostics, West Sussex, Reino Unido). Las condiciones de ciclado fueron 95 °C/3 min, (95 °C/30 s, 55 °C/30 s, 72 °C/30 s) x 25 ciclos y luego 72 °C/5 min para la amplificación de 16S y 95 °C/3 min, (95 °C/30 s, 52 °C/30 s, 72 °C/30 s) x 32 ciclos y luego 72 °C/5 min para la amplificación de ITS1 fúngica. Los triplicados se agruparon y se validaron mediante visualización en un gel de agarosa al 1,8 % (p/v). Los amplicones se purificaron utilizando el kit NucleoMag® NGS Clean-up and Size Select (Macherey-Nagel, Düren, Alemania) y se sometieron a un paso final de PCR de indexación para introducir índices combinatorios duales y adaptadores de secuenciación Illumina utilizando el kit de índice Nextera XT v2. Las condiciones de ciclado fueron 95 °C/3 min, (95 °C durante 30 s, 55 °C durante 30 s, 72 °C/30 s) por 8-9 ciclos y luego 72 °C/5 min. La generación de amplicones se validó nuevamente a través de la visualización en un gel de agarosa al 1,8 % (p/v) y se limpió con el kit NucleoMag® NGS Clean-up and Size Select (Macherey-Nagel). La concentración se midió en el fluorómetro Qubit® (Thermo). Los amplicones se agruparon de manera equimolecular y la mezcla final de la biblioteca se ejecutó en un chip de ADN Bioanalyzer HS para verificar la calidad y la distribución del tamaño. Luego, el conjunto de la biblioteca se diluyó y desnaturalizó según lo recomendado por la guía de preparación de la biblioteca Illumina MiSeq. La secuenciación de extremos emparejados de 300 x 2 nt se realizó en un secuenciador MiSeq.

3.3 Bioinformática

Las secuencias obtenidas para bacterias (16S) y hongos (ITS1) se analizaron por separado con el algoritmo Divisive Amplicon Denoising Algorithm (DADA2 v.1.8; CALLAHAN et al. 2016) para el análisis de variantes de secuencia de amplicón (ASV). Las secuencias forward y reverse se recortaron con la herramienta FIGARO (WEINSTEIN et al. 2019) y los cebadores se eliminaron con Cutadapt (MARTIN 2011). Las secuencias se deduplicaron y el modelo de error de tasa se dedujo y se utilizó para implementar el algoritmo de inferencia de muestra. Las lecturas directas e inversas se fusionaron y las secuencias quiméricas se eliminaron. Posteriormente, se utilizó una herramienta de curación posterior a la agrupación, conocida como LULU (FRØSLEV et al., 2017), para agrupar las lecturas de los ASV ecológicamente similares. La asignación taxonómica de bacterias se determinó para cada ASV en relación con la base de datos SILVA v138.1 (QUAST et al., 2013), mientras que los hongos se asignaron usando la base de datos UNITE v8.3 (ABARENKOV et al., 2023). Los análisis bioinformáticos se llevaron a cabo en el software R v4.4.1. (R CORE TEAM, 2023).

3.4. Análisis estadísticos

Para nuestro análisis estadístico construimos modelos lineales mixtos para variables continuas utilizando la función *lmer* del paquete *lme4*, regresión binomial negativa para conteos utilizando la función *glm.nb* del paquete *MASS*, y modelos de distribución beta para variables entre 0 y 1 utilizando la función *glmmTMB*, seleccionando la opción *beta_family* de este paquete. Se siguió un proceso de inferencia de modelos para seleccionar la mejor combinación de variables explicativas de las comunidades de hongos y bacterias. El modelo global estaba formado por los factores fijos (Hábitat*Herbivoría*Temperatura*Sequía) y por el factor aleatorio (Bloque). Seleccionamos el mejor modelo (AIC más bajo) de todos los modelos globales utilizando la función *dredge* del paquete *MuMIn*. Inspeccionamos la distribución de los residuos de cada modelo para verificar la normalidad y la heterocedasticidad utilizando los paquetes *DHARMA* y ningún modelo requirió la transformación de la variable respuesta. Se ajustaron los modelos seleccionados y se calcularon los valores R^2 marginales y condicionales. R^2 marginal (R^2_m) es la varianza explicada por factores fijos, mientras que condicional R^2 (R^2_c) es la varianza explicada tanto por factores fijos como aleatorios. Cuando encontramos interacciones entre tratamientos, utilizamos la función *emmeans* del paquete *emmeans* para contrastes pareados entre tratamientos mediante un Tukey HSD post hoc. Se calcularon los índices de diversidad de riqueza, Shannon y Pielou tanto para bacterias como hongos con el paquete *vegan*.

4. Resultados

4.1 Bacterias

Entre los índices de diversidad considerados en este estudio, la riqueza de especies bacterianas fue el único significativamente afectado por nuestros factores experimentales, específicamente por el Hábitat y Temperatura (Tabla 1A). El R^2_c del mejor modelo predictivo nos indica la importancia del factor aleatorio Block en esta riqueza (Tabla 1A). La mayor riqueza bacteriana se encontró en zonas abiertas de pastizal y en zonas sin modificación de la temperatura (Tabla 1B).

En nuestra zona de estudio se encontraron 10 filos bacterianos que sufrieron el efecto de los factores Hábitat, Herbivoría y Sequía, pero no de Temperatura (Tabla 1A). Proteobacteria y Acidobacteriota fueron afectadas por los factores Hábitat, Herbivoría y Sequía, aunque con efectos contrarios. Proteobacteria fue relativamente más abundante en zonas bajo árbol, con herbivoría media y con menor precipitación, mientras que Acidobacteria fue menos abundante en estas situaciones (Figura 1). Las bacterias del filo Actinobacteriota fueron afectadas por Herbivoría y Sequía, siendo mayor su abundancia en herbivoría media y con limitación de la precipitación. Firmicutes fueron afectadas por Hábitat y Sequía, siendo mayor su abundancia bajo árbol y con precipitación normal. Los filos Gemmatimonadota, Chloroflexi, Verrucomicrobiota y Myxococcota se vieron afectados por Hábitat y Herbivoría, pero no por los cambios climáticos (Tabla 1A).

Tabla 1. A) Selección de modelos analizando el efecto de los predictores Hábitat (Hab), Herbivoría (Her), Temperatura (T) y Sequía (S) en las variables relacionadas con la diversidad y composición de bacterias. $\Delta AICc$ representa las diferencias entre el AICc del mejor modelo y del modelo nulo. También se indica la bondad de ajuste (R^2) marginal (m) y condicionada (c). B) Resultados del análisis Tukey HSD post hoc para la riqueza de especies bacterianas.

A)

Variable respuesta	Predictores	$\Delta AICc$	R^2	m	R^2	c
Índices de Diversidad	Riqueza	Hab + T		6		
Índice de Shannon				Modelo nulo		
Índice de Pielou				Modelo nulo		
Filos	Proteobacteria	Hab + Her + S + Hab*S + Hab*Her		19		
Actinobacteria	Her + S + Her*S			33		
Planctomycetota				Modelo nulo		
Acidobacteriota	Hab + Her + S + Hab*S + Her*S			40		
Firmicutes	Hab + S + Hab*S			3		
Gemmatimonadota	Hab + Her + Hab*Her			10		
Chloroflexi	Hab + Her + Hab*Her			27		
Verrucomicrobiota	Hab + Her + Hab*Her			27		
Bacteroidota				Modelo nulo		
Myxococcota	Hab + Her			43		

B)

Variable respuesta	Hábitat	Media $\pm$ ES	P valor	Temperatura	Media $\pm$ ES	P valor
Riqueza	Pastizal	Bajo árbol	618 $\pm$ 24	569 $\pm$ 25	0.019	Actual
						Calentamiento
						622 $\pm$ 24
						565 $\pm$ 24
						0.006



Figura 1. Abundancia relativa total de los filos bacterianos en relación a los tres factores de estudio significativos: tipo de hábitat, intensidad de herbivoría y exclusión de lluvia.

4.2. Hongos

La riqueza de especies fúngicas fue afectada por Hábitat y Herbivoría, mientras que los índices Shannon y Pielou sólo fueron influidos por el Hábitat (Tabla 2A). El R^2m del mejor modelo predictivo de la riqueza y del índice de Pielou nos indica la gran importancia de los factores fijos (Tabla 1A). El R^2c del mejor modelo predictivo nos indica la importancia del factor aleatorio Block en el índice de Shannon. La mayor riqueza de hongos se encontró en zonas bajo árbol y en fincas con la mayor herbivoría (Tabla 2B). La diversidad de Shannon fue mayor bajo árbol, pero la equitabilidad de especies (Pielou) fue mayor en suelos de pastizal abierto (Tabla 2B).

En relación a la funcionalidad de estos hongos, las micorrizas arbusculares estuvieron significativamente afectadas por los factores Hábitat, Herbivoría y Temperatura. Se encontró una abundancia relativa mayor en zonas de pastizal y herbivoría alta, aunque el análisis Tukey HSD no arrojó diferencias significativas entre escenarios de calentamiento dentro de cada hábitat y escenario de herbivoría ($p = 0.802$) (Tabla 1A y Figura 2). En cambio, la abundancia de ectomicorrizas fue mayor bajo árbol y con herbivoría intermedia. El de los micoparásitos fue el único grupo funcional afectado por Temperatura y Sequía, siendo también más abundantes bajo árbol. Para ambos grupos (ectomicorrizas y micoparásitos) las condiciones actuales de temperatura y precipitación fueron más favorables para su abundancia en comparación con las condiciones simuladas de mayor aridez (Figura 2). Los patógenos de plantas se vieron afectados por el Hábitat, mostrando mayor abundancia en zonas de pastizal, y por Herbivoría, mostrando menos abundancia en las fincas sometidas a una presión ganadera intermedia. Los saprófitos mostraron una mayor abundancia cuando la herbivoría fue intermedia. Para todos los grupos, el R^2_m fue elevado indicando la importancia de los factores fijos (Tabla 2A).

Tabla 2. A) Selección de modelos analizando el efecto de los predictores Habitat (Hab), Herbivory (Her), Temperatura (T) y Sequía (S) en las variables de hongos. $\Delta AICc$ representa las diferencias entre el AICc del mejor modelo y del modelo nulo. También se indica la bondad de ajuste (R^2) marginal (m) y condicionada (c). B) Resultados del análisis Tukey HSD post hoc para los tres índices de diversidad fúngica.

A)

Variable respuesta	Predictores	$\Delta AICc$	R^2_m	R^2_c
Índices de Diversidad	Riqueza	Hab + Her	34	
Índice de Shannon	Hab		9	
Índice de Pielou	Hab		3	
Funciones	Mycorrhiza Arbuscular	Hab + Her + T + T*Her	38	
Ectomycorri-za	Hab + Her + S + Hab*Her		87	
Micoparásito	Hab + S + T		33	
Fitopatógeno	Hab + Her + Hab*Her		38	
Saprótrofo	Her		3	

B)

Variable respuesta	Habitat	Media ± ES	P valor	Herbivoría	Media ± ES	P valor								
Riqueza	Pastizal	Bajo árbol	239 ± 10	295 ± 10	<0.001	Baja	Media	Alta	220 ± 15	227 ± 15	355 ± 15	Baja.Alta <0.001	Baja.Media 0.932	Media.Alta <0.001
Índice de Shannon	Pastizal	Bajo árbol	3.86 ± 0.06	4.11 ± 0.06								<0.001		
Índice de Pielou	Pastizal	Bajo árbol		1. a. 0.92 ± 0.03								0.026		

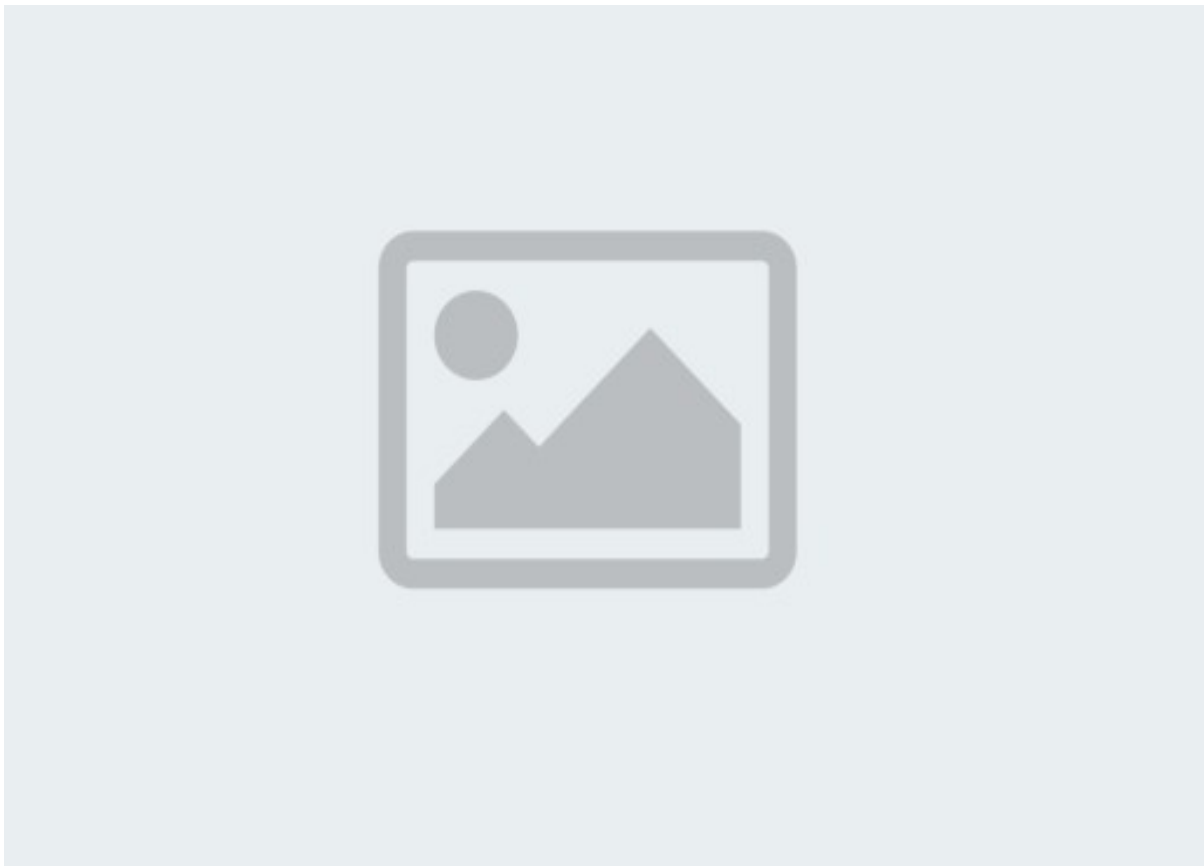


Figura 2. Abundancia relativa total de las funciones de los hongos en relación a los cuatros factores de estudio: tipo de hábitat, intensidad de herbivoría, nivel de sequía y de temperatura.

5. **Discusión**

En nuestro estudio aunamos los factores de cambio climático (temperatura y sequía) y las prácticas de manejo (i.e. intensidad de herbivoría) para conocer cómo éstos afectan de manera interactiva a las comunidades de bacterias y hongos en los dos tipos de hábitat más representativos en los ecosistemas de dehesa. Este tipo de



ecosistemas, caracterizados por su uso antropizado y su alta biodiversidad, presentaron respuestas diferenciadas en las comunidades microbianas según los factores estudiados, lo que resalta la importancia de considerar múltiples interacciones al evaluar el impacto de los cambios ambientales.

5.1. Diversidad y composición bacteriana

La riqueza bacteriana fue influenciada significativamente por Hábitat y Sequía, con mayores valores en zonas abiertas de pastizal y bajo condiciones de temperatura actuales. Esto coincide con estudios previos que destacan cómo los hábitats abiertos tienden a favorecer una mayor diversidad microbiana debido a una mayor disponibilidad de nutrientes y microhábitats heterogéneos (FIERER & JACKSON, 2006). Sin embargo, el efecto negativo del calentamiento sobre la riqueza puede estar relacionado con el estrés térmico que afecta la capacidad de las comunidades bacterianas para adaptarse, especialmente en suelos expuestos a cambios rápidos en temperatura (CASTRO et al., 2010).

En términos de composición, observamos que los filos bacterianos responden de manera heterogénea a los factores experimentales. Por ejemplo, Proteobacteria y Acidobacteriota mostraron efectos opuestos ante Hábitat y Herbivoría, lo que sugiere una diferenciación funcional entre estos dos grupos. Proteobacteria, asociada con la disponibilidad de nutrientes, fue más abundante bajo árboles, mientras que Acidobacteriota, conocida por su capacidad de tolerar suelos ácidos y oligotróficos, disminuyó en estas condiciones (LAUBER et al., 2009). Además, la respuesta positiva de Actinobacteriota y Firmicutes a la exclusión de precipitaciones resalta su papel potencial en la resiliencia microbiana frente a la sequía, lo que concuerda con investigaciones previas que destacan la gran capacidad de adaptación de estos filos a ambientes más secos (MAESTRE et al., 2015). Es importante indicar que el calentamiento no afectó a la abundancia relativa de los filos principales, lo que podría indicar cierta estabilidad estructural en las comunidades bacterianas frente al pronosticado aumento de temperatura.

5.2. Diversidad y funcionalidad fúngica

La diversidad fúngica estuvo fuertemente influenciada por los factores Hábitat y Herbivoría. La mayor riqueza de especies que se registró bajo árboles y en condiciones de alta herbivoría sugiere una estrecha relación de estas comunidades fúngicas con la disponibilidad de carbono orgánico y la estructura del suelo (HAWKES et al., 2011). Bajo el dosel arbóreo, los niveles de materia orgánica son normalmente más altos como consecuencia del aporte de hojarasca procedente del árbol (HIDALGO-GALVEZ et al. 2022), lo que podría favorecer la colonización fúngica. Por otro lado, la mayor equitabilidad en suelos de pastizal podría deberse a una distribución más uniforme de los recursos en estos hábitats abiertos.

En cuanto a la funcionalidad, las micorrizas arbusculares mostraron mayor abundancia en zonas de pastizal y de alta herbivoría, reflejando su adaptación a



suelos más pobres y su rol en la adquisición de nutrientes en condiciones de estrés, además de la simbiosis existente entre las especies de pastizal y las micorrizas arbusculares (SMITH & READ, 2008; PÉREZ-RAMOS et al., 2021). Por el contrario, las ectomicorrizas, predominantes bajo árboles y con herbivoría intermedia, estuvieron más asociadas a suelos ricos en carbono y a interacciones simbióticas con las encinas. Los micoparásitos, afectados tanto por Temperatura como por Sequía, mostraron mayor abundancia en condiciones actuales de temperatura y precipitación. Este resultado subraya la vulnerabilidad de este grupo funcional al cambio climático, coincidiendo con estudios que señalan cómo la disponibilidad hídrica regula su actividad metabólica (BAHRAM et al., 2018). Los patógenos de plantas y los saprófitos mostraron una respuesta notablemente vinculada a la intensidad de herbivoría, lo que podría estar relacionado con el efecto que los herbívoros ejercen sobre la estructura y composición de la vegetación y la diferente acumulación de materia orgánica (WARDLE et al., 2004). Los niveles intermedios de perturbación, como la herbivoría intermedia, podrían promover una mayor actividad de grupos funcionales al mantener un balance entre recursos disponibles y presión biótica, maximizando la diversidad y funcionalidad de las comunidades (CONNELL, 1978).

6. Conclusiones

Nuestro estudio indica que los cambios relacionados con la gestión ganadera y las alteraciones climáticas previstas, como el aumento de la temperatura y la reducción del nivel de precipitaciones, podrían alterar significativamente la biodiversidad microbiana y sus funciones asociadas.

Nuestros resultados refuerzan la idea de que las estrategias de manejo sostenible deben priorizar la conservación de hábitats diversos y la moderación de prácticas de herbivoría para preservar la funcionalidad ecológica de los suelos en las dehesas mediterráneas. Es crucial aumentar nuestros estudios para comprender mejor las dinámicas a largo plazo y las posibles interacciones sinérgicas que se establecen entre los factores climáticos y de manejo humano.

7. Agradecimientos

Este estudio no habría sido posible sin la ayuda de numerosos estudiantes de grado y máster, destacando a Carlos Jiménez, Andrea Álvarez y Katharina Wald. Queremos agradecer también a María Dolores Carbonero y Rafael Muñoz las facilidades que nos han aportado para poder montar las infraestructuras de simulación de cambio climático en sus fincas privadas, y a otros colegas del mundo científico (Lola Hidalgo-Gálvez, Luis Matías, Jesús Cambrollé y Eduardo Gutiérrez) por su inestimable ayuda en el montaje de estas infraestructuras. MGM cuenta con el apoyo de la subvención “Margarita Salas” financiada por el Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia de España y NextGenerationEU.

8. Bibliografía

ABARENKOV K, NILSSON RH, LARSSON K-H, TAYLOR AFS, MAY TW, FRØSLEV TG,



PAWLOWSKA J, LINDAHL B, PÖLDMAA K, TRUONG C, ..., & KÖLJALG U. (2023). The UNITE database for molecular identification and taxonomic communication of fungi and other eukaryotes: sequences, taxa and classifications reconsidered. *Nucleic Acids Res.*, 52, D791–D797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad1039>

BAHRAM, M., HILDEBRAND, F., FORSLUND, S. K., ANDERSON, J. L., SOUDZILOVSKAIA, N. A., BODEGOM, P. M., ... & BORK, P. (2018). Structure and function of the global topsoil microbiome. *Nature*, 560(7717), 233–237. DOI: 10.1038/s41586-018-0386-6

BARDGETT, R. D., & WARDLE, D. A. (2010). *Aboveground-Belowground Linkages: Biotic Interactions, Ecosystem Processes, and Global Change*. Oxford University Press.

BARDGETT R. D. & VAN DER PUTTEN W. H. (2014) Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* 515, 505-508. <http://doi.org/10.1038/nature13855>

CALLAHAN, B. J., MCMURDIE, P. J., ROSEN, M. J., HAN, A. W., JOHNSON, A. J. A., & HOLMES, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat. Methods*, 13(7), 581–583. DOI: 10.1038/nmeth.3869

CASTRO, H. F., CLASSEN, A. T., AUSTIN, E. E., NORBY, R. J., & SCHADT, C. W. (2010). Soil microbial community responses to multiple experimental climate change drivers. *Appl. Environ. Microbiol.*, 76(4), 999–1007. DOI: 10.1128/AEM.02874-09

CONNELL, J. H. (1978). Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science*, 199(4335), 1302–1310. <https://doi.org/10.1126/science.199.4335.1302>

FIERER, N., STRICKLAND, M. S., LIPTZIN, D., BRADFORD, M. A., & CLEVELAND, C. C. (2009). Global patterns in belowground communities. *Ecol. Lett.*, 12(11), 1238–1249. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01360.x>

FIERER, N., & JACKSON, R. B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *PNAS*, 103(3), 626–631. DOI: 10.1073/pnas.0507535103

FRØSLEV, T. G., KJØLLER, R., BRUNBJERG, A. K., JØRGENSEN, A., LASSEN, P., MICHELSEN, A., ... & HANSEN, A. J. (2017). Algorithm for post-clustering curation of DNA amplicon data yields reliable biodiversity estimates. *Nat. Commun.*, 8, 1188. DOI: 10.1038/s41467-017-01312-x

HAWKES, C. V., KIVLIN, S. N., ROCCA, J. D., HUGUET, V., THOMSEN, M. A., & SUTTLE, K. B. (2011). Fungal community responses to precipitation. *Glob. Change*



Biol., 17(4), 1632–1645. DOI: 10.1111/j.1365-2486.2010.02327.x

HIDALGO-GALVEZ, M. D.; BARKAOUI, K.; FLORENCE, V.; MATÍAS, L.; CAMBROLLÉ, J.; FERNÁNDEZ-REBOLLO, P.; CARBONERO, M. D. & PÉREZ-RAMOS, I. M. (2022). Can trees buffer the impact of climate change on pasture production and digestibility of Mediterranean dehesas? *Sci. Total Environ.*, 835, 155535. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155535>

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. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75(15), 5111–5120. DOI: 10.1128/AEM.00335-09

MAESTRE, F. T., DELGADO-BAQUERIZO, M., JEFFRIES, T. C., ELDRIDGE, D. J., OCHOA, V., GOZALO, B., ... & SINGH, B. K. (2015). Increasing aridity reduces soil microbial diversity and abundance in global drylands. *Nat. Clim. Change*, 5(7), 677–682. DOI: 10.1038/nclimate2727

MARION G.M., HENRY G.H.R., FRECKMAN D.W., JOHNSTONE J., JONES G., JONES M.H...., & VIRGINIA R.A. (1997). Open-top designs for manipulating field temperature in high-latitude ecosystems. *Glob. Change Biol.* 3: 20–32. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.1997.gcb136.x>

MARTIN, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet journal*, 17(1), 10–12. DOI: 10.14806/ej.17.1.200

MATA, L., HERRERO-JÁUREGUI, C., ROBLES, L., & PECO, B. (2018). The role of grazing livestock in sustainable land management: A case study of dehesas in Spain. *Agrofor. Syst.*, 92(6), 1435–1446. <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0226-2>

PÉREZ-RAMOS, I. M., ÁLVAREZ-MÉNDEZ, A., WALD, K., MATÍAS, L., HIDALGO-GALVEZ, M. D. & NAVARRO-FERNÁNDEZ, C. M. (2021) Direct and indirect effects of climate change on mycorrhizal communities in savannah-like ecosystems. *Oikos* 130 (8): 1370-1384 <https://doi.org/10.1111/oik.08451>

QUAST, C., PRUESSE, E., YILMAZ, P., GERKEN, J., SCHWEER, T., YARZA, P., ... & GLÖCKNER, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.*, 41(D1), D590–D596. DOI: 10.1093/nar/gks1219

R CORE TEAM. (2023). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>



SCHIMEL, J., BALSER, T. C., & WALLENSTEIN, M. (2007). Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecol.*, 88(6), 1386–1394. <https://doi.org/10.1890/06-0219>

SMITH, S. E., & READ, D. J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press.

VAN DER HEIJDEN, M. G. A., BARDGETT, R. D., & VAN STRAALLEN, N. M. (2008). The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.*, 11(3), 296–310. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>

WEINSTEIN, M. M., SOGIN, M. L., & ANDREWS, J. (2019). FIGARO: An efficient and objective tool for optimizing microbiome rRNA gene trimming parameters. *bioRxiv*, 610394. DOI: 10.1101/610394

YAHDJIAN, L. & SALA, O.E. (2002). A rainout shelter design for intercepting different amounts of rainfall. *Oecologia* 133, 95–101 <https://doi.org/10.1007/s00442-002-1024-3>