



9CFE-1749

Actas del Noveno Congreso Forestal Español
Edita: **Sociedad Española de Ciencias Forestales. 2025.**
ISBN: 978-84-941695-7-1

Organiza



Interacción entre ungulados silvestres y comunidades fúngicas en bosques mixtos mediterráneos

MAGARZO, A. (1,2), OLSSON, S. (3), SANZ-BENITO, I. (1), MEDIAVILLA, O. (1), ORIA-DE-RUEDA, J. (1), VILLAFUERTE-JORDÁN, R. (3), MARTÍNEZ-JAUREGUI, M. (3) Y MARTÍN-PINTO, P. (1)

(1) Instituto Universitario de Gestión Forestal Sostenible Avda. Madrid, 44 34071 Palencia.

(2) IDForest-Biotecnología Forestal Aplicada S. L. Calle Curtidores, 17 34004 Palencia.

(3) Centro de Investigación Forestal (CIFOR- INIA, CSIC), Ctra. de la Coruña km 7.5, 28040 Madrid.

Resumen

El efecto de la densidad de ungulados silvestres sobre los ecosistemas puede variar en función a condiciones climáticas y fisiográficas, tipo de bosque, historial de gestión e identidad del herbívoro. Se evaluó el efecto de densidades históricamente altas de ciervo rojo (*Cervus elaphus*) sobre las comunidades fúngicas del suelo en ecosistemas mediterráneos. Se utilizaron 30 pares de parcelas (vallado/sin vallar) en una finca de caza perimetralmente vallada de 6600 ha en Toledo, España. Tres meses después, se analizaron las comunidades fúngicas en 60 muestras de suelo. Los cambios en la riqueza fúngica total y grupos tróficos se estimaron con Efectos Lineales Mixtos, siendo el tipo vallado/sin vallar y el uso del hábitat del ciervo, variables fijas y la localización de las parcelas y las principales especies arbóreas, variables aleatorias. No hubo diferencias significativas tras la exclusión sobre las comunidades fúngicas. Las zonas con altas densidades de ciervos presentaban una comunidad saprótrofa más rica y en las bajas dominaban como huéspedes *Quercus faginea* y *Quercus ilex*. *Arbutus unedo* se encontró en zonas montañosas con menos presión herbívora, con mayor riqueza de hongos ectomicorrícos y liquenizados y suelos positivamente asociados a niveles de nitrógeno, fósforo, potasio y materia orgánica.

Palabras clave

Presión herbívora, fauna silvestre, diversidad fúngica, vallado cinegético.

1. Introducción

Uno de los principales controles directos de la composición y estructura de la vegetación son los grandes herbívoros silvestres (ROBIN GILL, 1990). Se consideran especies clave e ingenieras del ecosistema (ROONEY, 2001) mediante el pisoteo, el pastoreo, el ramoneo y la deposición de heces pueden modificar la estructura y la dinámica de todo el ecosistema, desde modificaciones a pequeña escala, como la diversidad de árboles en un rodal, hasta a escala de paisaje, creando zonas abiertas (ROONEY & WALLER, 2003; RUSSEL ET AL., 2001). Históricamente se han producido modificaciones en la composición de las especies y en la estructura y función de las plantas debido a estos herbívoros, llevando a varias especies a desarrollar adaptaciones, como cambios en su palatabilidad o en la arquitectura de sus brotes, que han permitido su persistencia a largo plazo (DÍAZ ET AL., 2007; PEREVOLOTSKY & SELIGMAN, 1998). Entender el efecto que los grandes herbívoros pueden tener sobre los ecosistemas es de vital importancia dado que más del 25 % de la superficie terrestre está afectada por el pisoteo, pastoreo, ramoneo o deposición de excrementos de los animales (ASNER ET AL., 2004).

La densidad de población de ungulados salvajes ha alcanzado un punto crítico en algunas zonas. Esto puede afectar negativamente a los procesos de regeneración de especies leñosas, particularmente de las especies más palatables, por su mayor tasa de depredación (KUIJPER ET AL., 2010; PEREA ET AL., 2014; PEREA & GIL, 2014), lo que puede conducir a la disminución de la diversidad vegetal local (PEREA ET AL., 2014). Sin embargo, los ungulados silvestres pueden facilitar la dispersión de semillas de numerosas especies (GILL & BEARDALL, 2001; GÓMEZ, 2003) y mantener la heterogeneidad del hábitat, que es necesaria para conservar la biodiversidad a gran escala.

Muchos otros efectos de los grandes herbívoros silvestres a través de vías directas e indirectas han sido descritos. Efectos sobre la producción de los pastizales (FRANK & MCNAUGHTON, 1993), el ciclo de nutrientes (MOHR ET AL., 2005; MOLVAR ET AL., 1993), las propiedades del suelo (LECOMTE ET AL., 2019), las comunidades fúngicas (DUDINSKY ET AL., 2019), los conjuntos de invertebrados (BERNES ET AL., 2018; BUGALHO ET AL., 2011) y otros animales (DERNER ET AL., 2009). Sin embargo, el entorno (clima, tipo de bosque, historial de gestión, identidad y densidad de herbívoros) condiciona los efectos de la herbivoría de ungulados sobre la biodiversidad (BERNES ET AL., 2018). Los ecosistemas mediterráneos, caracterizados por precipitaciones invernales y estrés por sequía en verano, son focos mundiales de biodiversidad (MYERS ET AL., 2000; UNDERWOOD ET AL., 2009) y, a menudo incluyen el límite de distribución más meridional de las especies en Europa (como *Pinus sylvestris* L.) (CASTRO ET AL., 2004). Tienen especies que son específicas de los ecosistemas mediterráneos (como *Quercus ilex* L., *Quercus faginea* Lam., *Pinus pinaster* L., *Pinus pinea* L., y *Arbutus unedo* L.), y son hábitats dependientes de las perturbaciones (NAVARRO & PEREIRA, 2015). Sin embargo, no son muchos los estudios que han analizado el impacto de diferentes densidades de ciervo en estos ecosistemas (VELAMAZÁN ET AL., 2020).

Las altas densidades también se asocian a alteraciones en la humedad y densidad aparente del suelo (ASNER ET AL., 2004). El pisoteo de los animales puede reducir la aireación del suelo, sobre todo en la capa superficial, donde la concentración de oxígeno en los poros se reduce considerablemente (DONKOR ET AL., 2002). Estos cambios en la humedad y la densidad aparente del suelo pueden afectar al ciclo de los nutrientes, como los ciclos del carbono (C) y el nitrógeno (N) del suelo (OLOFSSON ET AL., 2004). La entrada de nutrientes a través de la deposición de orina y heces, junto con el pisoteo y ramoneo, hace que la estructura del ecosistema sobre el suelo y la composición de especies cambien (RAMIREZ ET AL., 2019), lo que puede tener efectos en cascada bajo el suelo sobre la calidad del suelo, la diversidad y abundancia de invertebrados y la tasa de descomposición de la materia orgánica (ALLOMBERT ET AL., 2005; BRESSETTE ET AL., 2012). Los hongos desempeñan un papel importante en la descomposición, produciendo biomasa que puede ser utilizada por otros organismos para crear un hábitat más favorable (ANGEL & WICKLOW, 1974). Las heces de herbívoros pueden contener un 4 % de N (KENDRICK, 2000), así como vitaminas, factores de crecimiento, minerales y agua (SARROCCO, 2016). Las heces pueden ser una fuente importante de nutrientes para los hongos saprófitos, que desempeñan un papel importante en

la redistribución de nutrientes en los ecosistemas (HÄTTENSCHWILER ET AL., 2005).

2. Objetivos

El objetivo de este estudio fue conocer el impacto de las elevadas densidades ungulados sobre las comunidades fúngicas analizando el uso de los ecosistemas mediterráneos por las poblaciones de ciervo rojo (*Cervus elaphus* L.) mediante 30 pares de parcelas (parcelas con exclusión de ungulados silvestres (vallado) y abiertas (sin vallar)).

Para ello, nuestros objetivos específicos fueron (i) analizar los cambios en las comunidades fúngicas en función del vallado de las parcelas o de la vegetación dominante; y (ii) estudiar cómo las variables ambientales abióticas pueden asociar la presencia de ungulados a las comunidades fúngicas.

3. Material y métodos

ZONA DE ESTUDIO Y RECOGIDA DE DATOS

El estudio se localizó en los «Quintos de Mora», una finca de caza de 6600 ha en Toledo (España), cerrada por un vallado perimetral que ha permitido mantener altas densidades de ciervos (aproximadamente 35 ciervos/km² durante las últimas tres décadas).

El área de estudio comprende dos zonas elevadas, Solana (S) al norte y Umbría (U) al sur, que delimitan la vega central de Raña (R). También se han seleccionado dos zonas intermedias en la interfaz entre Solana y Raña (SR) y entre Umbría y Raña (UR). Las zonas más altas y escarpadas estaban dominadas por matorral mediterráneo: *Arbutus unedo* L. y *Quercus ilex* L. como principales especies arbóreas hospedantes. En algunas zonas bajas y en la interfaz con el SR, existe un bosque mixto con repoblaciones de *Pinus pinea* L. y *Q. ilex*. Las zonas bajas más favorables para la presencia de ciervos se caracterizaron por *Q. ilex* y *Quercus faginea* Lam. acompañados de cultivos, y existe un bosque mixto de *Pinus pinaster* Ait., *Q. ilex* y/o *Q. faginea* en algunas zonas bajas y en la interfaz UR.

Se estableció un diseño de parcelas dobles (30 pares de parcelas vallado/sin vallar) distribuidas sistemáticamente por toda la finca de caza (Fig. 1, Tabla 1) y de forma proporcional en todos los diferentes tipos de hábitat. Cada parcela tenía 20 x 20 m². En noviembre de 2020 se instalaron vallas resistentes a la caza mayor para excluir a los ungulados salvajes de las parcelas de exclusión. El tamaño de los grupos de heces (pellets) para determinar qué es un grupo de excrementos se fijó en cinco y se contaron dichos grupos en el mismo rectángulo de 4 x 20 m² casi todos los meses de 2021 en las parcelas sin vallar. Se retiraban después de cada conteo para poder estimar el uso espacial y temporal del territorio por parte de los ciervos.

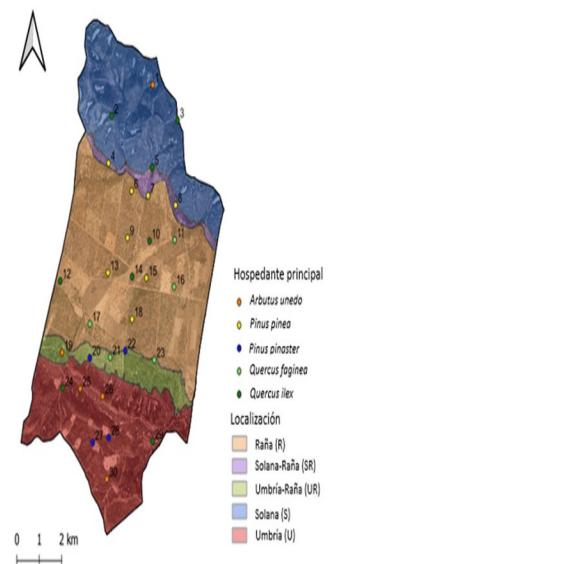


Figura 1. Mapa de distribución de los 30 pares de parcelas vallado/sin vallar.

La distribución y abundancia de los ciervos así como su impacto puede variar en función de factores bióticos y abióticos que presente el territorio. En este estudio, la clasificación en función de la presencia de ciervos en alta, media o baja se hizo en función del conteo del grupo de excrementos, a partir de su frecuencia y abundancia.

Tabla 1. Distribución de la presencia del ciervo en los pares de parcelas.

Presencia del ciervo	Pares de parcelas
Presencia alta	10,14,17,20
Presencia media	3,4,6,7,8,12,13,16,18,23
Presencia baja	1,2,5,9,11,15,19,21,22,24,25,26,27,28,29,30

En los primeros días de marzo de 2021, se muestreó el suelo dentro y fuera de las 30 parcelas de exclusión. Hicimos dos series de ocho submuestras de suelo en cada parcela de exclusión. Cada submuestra se tomaba de 10 cm de profundidad retirando la hojarasca, con una distancia mínima de 2 m para eliminar el efecto de borde de la parcela. Recogimos 60 muestras de suelo en total, y las submuestras de cada parcela se agruparon. Obtuimos 30 muestras de suelo dentro de las parcelas de exclusión y otras 30 muestras del exterior de estas parcelas. Las muestras de suelo se almacenaron a -20 °C y se enviaron a ITAGRA (www.itagra.com) para realizar análisis fisicoquímicos y genéticos. En cuanto a las propiedades del suelo, el N se analizó mediante el método de Kjeldahl (BREMNER, 1960), el P mediante el método de Olsen (OLSEN & KHASAWNEH, 1980) y el K mediante una solución de acetato amónico y mediciones ICP-MS (WARNCKE & BROWN, 1998).

TRABAJO MOLECULAR

AllGenetics & Biology SL (www.allgenetics.eu) se encargó del aislamiento del ADN, la preparación de las librerías y la secuenciación Illumina de 250 pb por pares. El ADN se aisló de las muestras utilizando un kit DNeasy PowerSoil Pro siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración de ADN se cuantificó mediante un ensayo de dsADN de alta sensibilidad Qubit (Thermo Fisher Scientific). Para la preparación de librerías de hongos, se amplificó un fragmento de la región ITS2 utilizando cebadores fITS7_nodeg (5' GTGARTCATCGAATCTTG 3') forward (IHRMARK ET AL., 2012) e ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') reverse (WHITE ET AL., 1990).

Las condiciones de PCR fueron: 95 °C durante 5 min, seguido de 30 ciclos de 95 °C durante 30 s, 47 °C durante 45 s, 72 °C durante 45 s y un paso final de extensión a 72 °C durante 7 min.

La librería se agrupó en cantidades equimolares según los resultados de una cuantificación Qubit dsDNA HS Assay (Thermo Fisher Scientific). El pool se secuenció en una celda de flujo NovaSeq PE250 (Illumina).

ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO

La calidad de los datos en bruto demultiplexados de Illumina paired-end se evaluó mediante fastQC (ANDREWS, 2010). Utilizamos el paquete R DADA2 (CALLAHAN ET AL., 2016) para construir una tabla de variantes de secuencia de amplicones (ASV). La calidad de los datos fue muy alta así que no se realizó ningún filtro de calidad. Debido a la variación natural de longitud en la región ITS2, las lecturas no se truncaron. La identificación y eliminación de cebadores se realizó con Cutadapt v3.7 (MARTIN, 2011) implementado en DADA2. Con la función assignTaxonomy en DADA2 se asignó la taxonomía a las secuencias basándose en la base de datos UNITE 10.05.2021 ITS (ABARENKOV ET AL., 2021).

Las OTU con >90 % de similitud con una hipótesis de especies fúngicas (KÖLJALG ET AL., 2013) con función ecológica conocida se asignaron a grupos funcionales según PÖLME ET AL. (2020). Las muestras se acotaron a 60 221 lecturas por muestra.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los efectos de la exclusión de ungulados (Tipo de parcela: vallado/sin vallar), Uso del hábitat por los ciervos (bajo, moderado o alto en parcelas sin vallar), Especie arbórea hospedadora principal en las parcelas (mayor cobertura de copas, *A. unedo*, *Q. ilex*, *P. pinea*, *Q. faginea* o *P. pinaster*), y Localización de la parcela (que combina información abiótica y biótica en el área de estudio) sobre la riqueza fúngica total y de los diferentes grupos tróficos se analizaron por separado

mediante modelos de Efectos Lineales Mixtos (LME, $p \leq 0,05$, paquete Nlme, (PINHEIRO ET AL., 2015)). El tipo de parcela y el uso del hábitat de los ciervos se definieron como variables fijas y el principal árbol hospedador, la ubicación de la parcela y los pares de parcelas se añadieron como variables aleatorias. El uso del hábitat de los ciervos solo tuvo en cuenta las zonas no cercadas. Para determinar las diferencias significativas específicas, se aplicó la prueba de Tukey para analizar las variables fijas. Estas comparaciones múltiples se realizaron aplicando un nivel de confianza por familias del 95 %. Los intervalos de confianza (IC) para comparar el efecto de las variables aleatorias se estimaron $\pm 1,96 \times$ el error estándar.

Para estimar el cambio en la composición de los hongos del suelo, se visualizó la relación entre la composición fúngica del suelo y los parámetros edáficos utilizando un escalado multidimensional no métrico (NMDS), basado en una matriz de OTU transformada por Hellinger y datos escalados ambientales. Los efectos de la exclusión (tipo de parcela), el uso del hábitat por los ciervos, las principales especies arbóreas hospedadoras y la ubicación de la parcela se analizaron mediante un ANOVA multivariante permutacional (PerMANOVA) con la función adonis, seguido de un PERMADISP (ANDERSON & SANTANA-GARCON, 2015) con la función betadisper, ambos basados en la función 999 permutations del paquete de software vegan R (OKSANEN ET AL., 2015). Las disimilitudes de Bray-Curtis se utilizaron para NMDS y PERMANOVA. Después se aportaron las características edáficas mediante correlación. La correlación de las puntuaciones de los ejes NMDS con las variables explicativas se evaluó mediante la función envfit de R.

4. Resultados

RIQUEZA FÚNGICA

Los análisis realizados mediante modelos de efectos lineales mixtos mostraron que en las estimaciones de la riqueza total de hongos del suelo no hubo diferencias significativas en función del tipo de parcela (Tabla 2). Además, ninguno de los modelos de grupos estudiados mostró diferencias significativas en función de los efectos fijos del tipo de parcela: el grupo de micoparásitos fue el que mostró mayores diferencias (90 % de significación; $p = 0,09$). Sin embargo, la riqueza de hongos totales se vio afectada significativamente por la presión del ciervo ($F=3,697$; $p = 0,03$). En concreto, los grupos afectados fueron los hongos MA, los micoparásitos ($p = 0,04$, ambos), los coprófilos ($p = 0,05$) y los saprófitos del suelo ($p < 0,01$).

Tabla 2. F y p-valores de los modelos de Efectos Lineales Mixtos que muestran el efecto de las variables Tipo de parcela, Presencia de los ciervos, Principales especies arbóreas hospedadoras y Localización de la parcela sobre la estimación de la riqueza de hongos totales y grupos tróficos fúngicos en muestras de suelo. Los valores p significativos (0,05) se muestran en negrita.

Grupo	Tipo		Presencia		Hospedante		Localización	
	F test	p valor	F test	p valor	F test	p valor	F test	p valor
Total	0.058	0.810	3.697	0.031	12.413	0.000	4.733	0.002
Micorrizas arbusculares	0.214	0.646	3.249	0.046	2.028	0.103	4.185	0.005
Parásitos de animales	2.606	0.112	1.507	0.230	2.027	0.103	1.323	0.273
Coprófilos	0.156	0.694	3.143	0.051	5.161	0.001	1.325	0.272
Ectomicorrílicos	0.936	0.337	2.894	0.063	5.390	0.001	9.015	0.000
Micoparásitos	2.965	0.090	3.251	0.046	1.684	0.167	4.193	0.005
Hongos liquenizados	0.053	0.818	1.933	0.154	8.954	0.000	5.930	0.000
Saprófitos de hojarasca	0.245	0.623	0.569	0.569	4.364	0.004	0.497	0.738
Patógenos de plantas	0.000	0.990	0.198	0.821	8.639	0.000	1.403	0.245
Endófitos radiculares	0.433	0.512	0.804	0.452	3.007	0.026	3.589	0.011
Saprófitos no especificados	0.049	0.826	1.977	0.148	6.028	0.000	2.413	0.059
Saprófitos del suelo	0.025	0.874	6.633	0.003	7.749	0.000	9.686	0.000
Saprófitos de madera	0.168	0.683	0.239	0.788	6.461	0.000	1.308	0.278

Nuestros análisis mostraron que la especie principal de árbol huésped ($p < 0.01$) (Tabla 2) estaba significativamente asociada con la riqueza de coprófilos ($p < 0.01$), hongos ectomicorríicos (ECM) ($p < 0.01$), hongos liquenizados ($p < 0.01$), saprófitos de la hojarasca ($p < 0.01$), patógenos de plantas ($p < 0.01$), endófitos radiculares ($p = 0.026$), saprófitos no especificados ($p < 0.01$) y saprófitos del suelo y la madera ($p < 0.01$). Entre las especies hospedadoras analizadas, *P. pinaster* y *P. pinea* en general tuvieron una influencia más negativa en los valores medios del modelo de Efectos Lineales Mixtos (Fig. 2). Los saprófitos de hojarasca, no especificados y de la madera mostraron una mayor riqueza cuando la especie hospedadora fue *Q. faginea*. Por el contrario, cuando la especie hospedadora fue *A. unedo*, los valores de riqueza fueron superiores debido a las mayores estimaciones de riqueza para

los hongos liquenizados, los endófitos de las raíces y los saprófitos del suelo.

La localización de la parcela (Tabla 2) se asoció significativamente con los hongos ectomicorrícos (ECM) ($p < 0.01$), hongos micorrícos arbusculares (MA) ($p < 0.01$), micoparásitos ($p < 0.01$), liquenizados ($p < 0.01$), endófitos radiculares ($p < 0.01$) y grupos saprófitos del suelo ($p < 0.01$). Las localizaciones R y SR presentaron una dinámica de riqueza negativa que las demás localizaciones. En el caso de los hongos ECM, no hubo solapamiento del intervalo de confianza entre la localización S, que mostró una mayor riqueza, y las localizaciones R, SR y UR, que presentaron valores de riqueza estimados más bajos. Los endófitos radiculares mostraron mayores niveles de riqueza en las localizaciones S y UR, al igual que los saprófitos del suelo, que también mostraron mayores niveles de riqueza en U (Fig. 3).



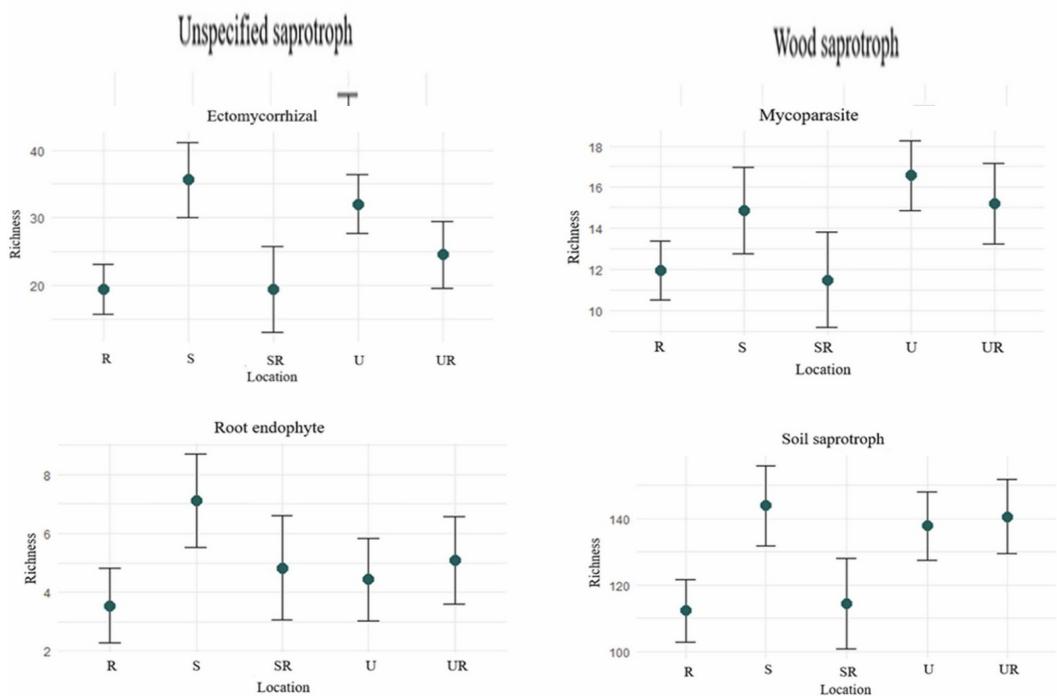


Figura 3. Intervalos de confianza (I.C.) para las comparaciones del efecto estimado de la variable aleatoria Localización sobre los niveles de riqueza de los distintos grupos $\pm 1,96 \times$ el error estándar (SE). Localización de las parcelas: R, Raña; S, Solana; SR, entre Solana y Raña; U, Umbría; UR, entre Umbría y Raña.

COMPOSICIÓN DE LAS COMUNIDADES FÚNGICAS

Según el test de Adonis, las comunidades fúngicas del suelo en las parcelas con exclusión no fueron significativamente diferentes ($p = 1$, Tabla 3) a las de las parcelas sin exclusión de ciervos (Fig. 4a).

Las comunidades fúngicas se vieron influenciadas por el uso del hábitat por parte de los ciervos (Tabla 3), siendo las comunidades fúngicas presentes en parcelas con baja y moderada presión de ciervos las que más se diferenciaron, mientras que las comunidades fúngicas detectadas en parcelas con alta presión de ciervos fueron intermedias entre ambas (Fig. 4c). Las parcelas con baja presión de ciervos estuvieron positivamente relacionadas con los contenidos de K, N, materia orgánica ($p = 0.001$) y P ($p = 0.002$), mientras que las comunidades fúngicas detectadas en las parcelas con alta y moderada presión de ciervos estuvieron muy influenciadas por el pH del suelo ($p = 0.001$).

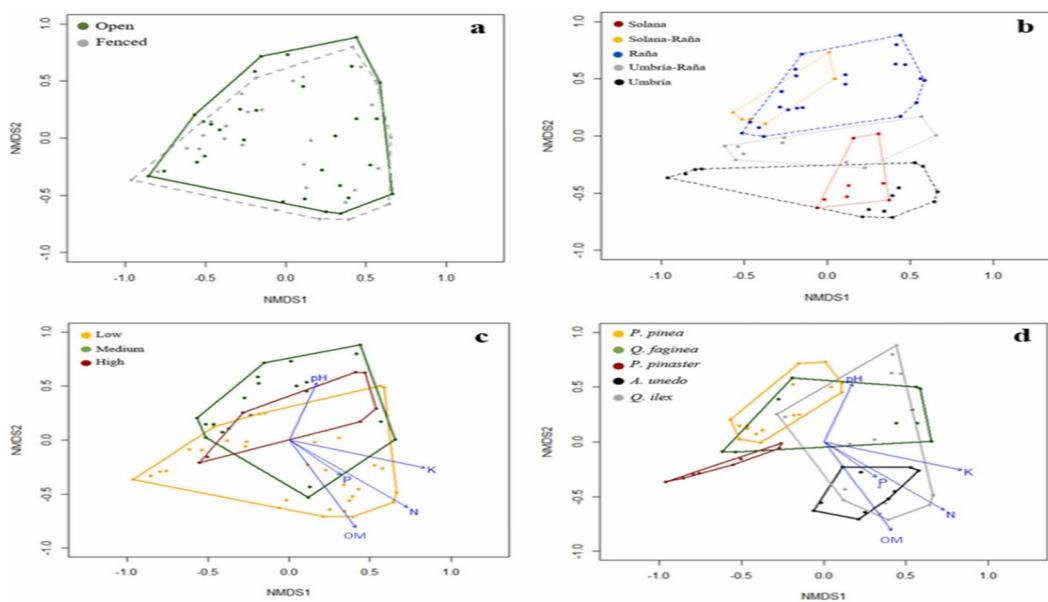


Figura 4. NMDS que muestra la relación entre la comunidad fúngica y el tipo de parcela (a), la ubicación de la parcela (b), el uso del hábitat por los ciervos (c) y las principales especies arbóreas hospedadoras (d).

Tabla 3. R^2 , F y p -valores de los análisis PERMANOVA y BETADISPER de Tipo de parcela, Presencia de los ciervos, Principales especies arbóreas hospedadoras y Ubicación de la parcela. Los valores p significativos (0,05) se muestran en negrita.

Variable	R^2	F	p -valor	Betadisper p -valor
Tipo	0.146	0.009	0.533	0.883
Localización	0.200	3.447	0.001	0.092
Presencia	0.071	2.194	0.001	0.023
Hospedante	0.215	3.765	0.001	0.006

Las comunidades fúngicas asociadas a las principales especies arbóreas hospedadoras y al uso del hábitat de los ciervos difirieron significativamente ($p = 0.001$, Tabla 3). El uso del hábitat por los ciervos mostró el valor p más bajo (0.023), indicando una posible homogeneización de la comunidad. La relación entre las comunidades fúngicas y las principales especies arbóreas hospedadoras reveló cinco comunidades fúngicas bien diferenciadas (Fig. 4d). Las comunidades fúngicas asociadas a *A. unedo* y *Q. ilex* fueron similares a las asociadas a los rodales con baja presión de ciervo (Fig. 4c), donde las comunidades estaban mucho más positivamente relacionadas con K inorgánico, N, materia orgánica y P (Fig. 4d). Las comunidades fúngicas asociadas a *Q. faginea* y *P. pinea* fueron similares a las asociadas a las parcelas de alta y moderada presión de ciervo, mostrando el pH una influencia sobre todas estas comunidades fúngicas. *P. pinaster* mostró una comunidad intermedia y especializada, y *Q. ilex* una comunidad muy diversa e influida por los factores ambientales y era similar a los patrones de ordenación de las comunidades fúngicas asociadas a parcelas con alta, moderada y baja presión

del ciervo.

Las comunidades fúngicas asociadas a la localización de la parcela difirieron significativamente ($p < 0.01$). En algunas localizaciones mostraron cierto solapamiento, particularmente las comunidades asociadas a las parcelas S, UR y U (Fig. 4b). Las variables edáficas que influyeron en la composición de la comunidad para el efecto Ubicación de la parcela fueron N, K y la materia orgánica ($p < 0.01$). La localización de la parcela influyó significativamente en la naturaleza trófica de las áreas estudiadas ($p < 0.01$), mostrando una mayor diversidad ubicua de grupos en los rodales U. La composición de los grupos en los rodales R difirió de la de los rodales U, mientras que UR y SR mostraron cierto solapamiento con los rodales S y R respectivamente. Más de una variable edáfica influyó en la composición de los grupos tróficos, particularmente N, K y materia orgánica ($p < 0.01$).

5. Discusión

EFFECTO DE LA EXCLUSIÓN DE LOS CIERVOS EN LAS COMUNIDADES DE HONGOS

Los resultados obtenidos indican que las variaciones en la densidad de ciervos dentro de una finca de caza influyen en la composición de las comunidades fúngicas del suelo, reforzando su papel como ingenieros del ecosistema (CARPIO ET AL., 2014). La comunidad fúngica del suelo, en términos de riqueza, no mostró signos de cambio tras la colocación de vallas para excluir a los ciervos durante 3 meses.

Las muestras de suelo se analizaron tres meses después de la exclusión de los ciervos, lo que puede no haber sido tiempo suficiente para que la comunidad microbiana se recupere de los efectos del pastoreo y ramoneo de los ungulados (BURKE ET AL., 2019), dado que las altas densidades de ciervos en la finca de caza sí provocan cambios en la comunidad fúngica del suelo. Serán necesarias futuras mediciones para evaluar en profundidad el efecto del vallado. Sin embargo, el hábitat de los ciervos mostró un p valor de betadispersión bajo, indicando una baja variabilidad y un posible efecto de homogeneización de la comunidad fúngica, que podría estar ligado a una reducción de esta (BURKE ET AL., 2019).

RIQUEZA FÚNGICA EN FUNCIÓN DEL HOSPEDADOR Y LA PRESIÓN DE CIERVOS

No encontramos diferencias en la riqueza dentro de los grupos cuando se tuvo en cuenta el uso del hábitat por parte de los ciervos. Se encontraron diferencias significativas en la riqueza fúngica global y de grupos tróficos cuando se tuvo en cuenta la especie hospedadora. Mayores densidades de ungulados en áreas dominadas por *Quercus* pueden conducir al desarrollo de un ambiente más saprofito. Las parcelas dominadas por especies de *Quercus*, que siempre estaban relativamente cerca de zonas de pastos, se encontraban en las zonas bajas más favorables, que es el tipo de hábitat más intensamente utilizado por los ciervos, especialmente durante el invierno (BECK ET AL., 2013).

La calidad de la hojarasca puede haber influido en la comunidad fúngica, el clima y la calidad de la hojarasca son los principales factores que controlan la descomposición de la hojarasca en grandes extensiones de territorio (ZHANG ET AL., 2008). La hojarasca de las coníferas es de menor calidad que la de las especies caducifolias (CORNWELL ET AL., 2008) y, por tanto, las comunidades de descomponedores asociadas a coníferas deben tener una mayor capacidad para descomponerla (ZHANG ET AL., 2008). La riqueza en hongos saprofitos de la hojarasca fue mayor en los rodales dominados por las especies de frondosas *Q. ilex*, *Q. faginea* y *A. unedo*. Esto se relaciona con el estudio de LIDMAN ET AL. (2017) que encontraron que la descomposición de la hojarasca era mucho más lenta en coníferas que en caducifolias. La presión de los ungulados sobre los hábitats dominados por coníferas fue alta, aunque algo menor que sobre los hábitats dominados por *Quercus*. Esto podría explicar que la comunidad de hongos saprófitos de excrementos fuera más pobre en la zona de pinar y que la comunidad de hongos saprófitos del suelo fuera más rica en las zonas elevadas (es decir, S, U y UR) debido a la falta de alteración del suelo derivada del pisoteo (KÖSTER ET AL., 2013; KUMPULA ET AL., 2014; MYSTERUD, 2006).

Los hongos micorrícico arbusculares (MA) pueden mantener simbiosis con la mayoría de las plantas terrestres (WANG ET AL., 2020). Son altamente dependientes de su asociación simbiótica herbácea, difiriendo enormemente en función de la disponibilidad de C o P en el suelo (PEARSON & JAKOBSEN, 1993). La presencia de ungulados y el pastoreo sobre una de las especies vegetales puede afectar a la otra a través de este vínculo. El pastoreo y el ramoneo pueden modificar la riqueza de estas especies y su composición porque los herbívoros no sólo afectan a la compactación del suelo y al ciclo de nutrientes, sino que también compiten por la asignación de recursos del hospedador (EOM ET AL., 2001). Esto coincide con los resultados de nuestro análisis, ya que los hongos MA se ven significativamente afectados por el uso de los ciervos.

La mayor riqueza de hongos ECM estuvo en los rodales dominados por *A. unedo* (sitios S y U). Estos rodales también tenían densidades más bajas de ungulados. Sin embargo, nuestro estudio discrepa con el de SANTALAHTI ET AL. (2018), que informaron de que la comunidad fúngica ECM no se vio alterada por la presión del pastoreo. Los herbívoros pueden competir indirectamente con los hongos micorrícicos por el carbono de las plantas huésped, lo que puede conducir a una disminución de la colonización micorrícica de las plantas gravemente dañadas (GEHRING & BENNETT, 2009). Las condiciones de estrés, como la herbivoría, aumentan la necesidad de recursos de la planta, reduciendo así la cantidad de fotosintatos que la planta puede proporcionar a los hongos ECM con los que se asocia (NEHLS, 2008), lo que provoca efectos negativos en la comunidad de hongos ECM (MARKKOLA ET AL., 2004).

La riqueza en hongos liquenizados fue mayor en los rodales dominados por *A. unedo*. Esto puede deberse a las bajas densidades de ungulados en este tipo de vegetación, dado que el principal impacto del pastoreo en el suelo del bosque es una reducción de la biomasa de líquenes (STARK ET AL., 2000; SUSILUOTO ET AL., 2008) que se debe principalmente al pisoteo (KÖSTER ET AL., 2013; KUMPULA ET

AL., 2011; MYSTERUD, 2006).

Los valores de riqueza de endofitos radiculares también fueron ligeramente superiores en los rodales de *A. unedo*, coincidiendo con los mayores niveles de riqueza en la localización S, donde domina *A. unedo*. La riqueza de endófitos radiculares fue bastante similar en las parcelas sin vallar. Algunos estudios han observado una relación positiva entre la presencia de ungulados y la frecuencia natural de endofitos (BAZELY ET AL., 1997; KOH & HIK, 2007). Se ha postulado que la asociación entre hongos endófitos y plantas aumenta directamente las defensas de la planta huésped frente a los herbívoros (CLAY, 1988) mediante la producción de micotoxinas (FAETH & BULTMAN, 2002). Sin embargo, el mantenimiento de estos organismos implica un coste para la planta (OMACINI ET AL., 2012). MCINENLY ET AL. (2010) observaron que el corte de *Festuca campestris* para simular el pastoreo provocaba la reasignación de recursos al crecimiento de la parte aérea, reduciendo la producción de raíces. Sin embargo, RUDGERS ET AL. (2016) observaron que la prevalencia de endófitos en gramíneas se correspondía con su regulación por ungulados y que la exclusión de estos herbívoros durante 7-10 años provocaba el declive de las comunidades de endófitos.

INFLUENCIA DE FACTORES AMBIENTALES SOBRE LA COMPOSICIÓN FÚNGICA

Las zonas de baja altitud (R) parecían tener una comunidad fúngica más diversa que las zonas altas (S). Esto podría deberse al efecto negativo de la altitud sobre las comunidades fúngicas (SHEN ET AL., 2020), en particular los hongos asociados a las raíces (PARK ET AL., 2021), lo que podría explicar el efecto de la ubicación sobre la composición de la comunidad.

En este estudio, las parcelas de uso moderado y alto de los ciervos están altamente correlacionadas con el pH. DENYER ET AL. (2010) encontraron que la exclusión de grandes herbívoros tenía un efecto significativo sobre el pH del suelo. Sin embargo, los rodales con altas densidades de ciervos estaban más influenciados por el pH. Los cambios en el pH del suelo influyen en el ciclo del C y de los nutrientes del suelo, en particular del N, porque afecta a los microorganismos implicados en la transformación de compuestos que contienen alguno de estos dos elementos (KUNHIKRISHNAN ET AL., 2016). El nivel de pH del suelo también juega un papel importante en la determinación de la disponibilidad de otros nutrientes del suelo como el P y el K (AWAD ET AL., 2019; GUO ET AL., 2020). Por lo tanto, las variaciones en el pH debidas a las actividades de pastoreo de los ciervos podrían haber influido indirectamente en la disponibilidad de estos nutrientes en este estudio.

Las comunidades fúngicas del suelo de rodales con baja densidad de ungulados se correlacionaron más con K, N, P y materia orgánica que los rodales con densidades moderadas o altas de ungulados. Estas variables del suelo fueron las que más influyeron en el patrón de dispersión de las comunidades fúngicas del suelo. Los animales participan indirectamente en el ciclo de nutrientes a través del consumo de forraje. Hay una inmovilización temporal de nutrientes durante la

digestión y luego los nutrientes son devueltos al suelo en los excrementos y la orina (CANTARUTTI ET AL., 2002). Existe una correlación positiva entre el contenido de N de la dieta de un ungulado y el contenido de N de los excrementos (SITTERS ET AL., 2017). Las concentraciones de N y P y las relaciones N/P en la vegetación vienen determinadas por la composición de las especies vegetales y los factores que controlan la disponibilidad, la absorción y la pérdida de nutrientes (GÜSEWELL, 2004).

En los ecosistemas mediterráneos, el fósforo (P) suele ser más limitante que el nitrógeno (N) para la vegetación (Du et al., 2020; Adamo et al., 2021), lo que lleva a las plantas a invertir más recursos en la absorción de P bajo condiciones de escasez (Simard et al., 2012). Sin embargo, el pastoreo no siempre afecta esta absorción (Frank, 2008), y la influencia de los ungulados varía según el nutriente (Sitters & Andriuzzi, 2019). El potasio (K), aunque abundante en la Tierra, no siempre está disponible para las plantas debido a su forma química (Haro & Benito, 2019). Su concentración puede aumentar en zonas pastoreadas por acumulación derivada del pisoteo y los excrementos (Zarekia et al., 2012), y su disponibilidad puede reducir la herbivoría (Warren et al., 1999). En rodales con baja densidad de ciervos, la mayor absorción de K podría deberse a la menor actividad de ungulados. No obstante, buena parte del P y K ingerido por los ciervos vuelve al suelo vía excrementos (Assmann et al., 2017). La exclusión del pastoreo mejora propiedades del suelo como la disponibilidad de K, P, N y materia orgánica (SIGCHA et al., 2018). La materia orgánica es mayor en rodales con baja o moderada densidad de ciervos, posiblemente por mayor caída de hojarasca, la principal fuente de carbono orgánico en suelos forestales (ZHANG et al., 2008). Esta hojarasca es clave en el ciclo del carbono y del nitrógeno (MIAO et al., 2019). En estos rodales predominaron coníferas y especies menos palatables. Las coníferas, con hojarasca más recalcitrante, tienden a acumular más materia orgánica con el tiempo (RAMIREZ et al., 2021), y aunque producen menos biomasa que las frondosas (RAMIREZ et al., 2018), son menos afectadas por los ungulados.

6. Conclusiones

El uso intensivo del hábitat por parte de los ciervos, especialmente en áreas dominadas por *Quercus*, ha favorecido un ambiente saprófito, posiblemente por el aumento de excrementos, la calidad de la hojarasca y la facilidad de descomposición de las especies de frondosas frente a la de coníferas. Las comunidades de hongos MA sólo se vieron afectadas por la presencia de ciervos, mientras que la riqueza de hongos ECM fue mayor en zonas con baja presión de ciervos y mayor altitud. Los hongos endófitos y liquenizados fueron más abundantes en *A. unedo*, probablemente por su menor palatabilidad y mayor elevación, limitando la presencia de ungulados. El pH del suelo fue más alto en áreas con presión moderada o alta de ciervos, posiblemente por el aumento de materia orgánica y nutrientes, aunque en zonas con presión baja a moderada, esta influencia no se detectó; sin embargo, las comunidades fúngicas sí se correlacionaron con N, P, K y materia orgánica. No se encontraron diferencias entre las zonas valladas y las no valladas, quizás por el corto tiempo desde el vallado (3 meses) y el periodo de inactividad invernal. Al no encontrarse un efecto significativo del vallado sobre las comunidades fúngicas del suelo nos es imposible sugerir una estrategia de gestión sin futuros estudios mas profundos que evalúen

su efecto sobre los bosques mediterráneos.

7. Agradecimientos

Damos las gracias a Carlos Rodríguez-Vigal, Ángel Moreno Gómez y José Polo (de Quintos de Mora, OAPN) por la información del caso de estudio y las facilidades dadas en el trabajo de campo. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto RTI2018-096348-RC21 (Ministerio de Ciencia e Innovación). Los autores agradecen profundamente a los investigadores y demás personas que han contribuido a este artículo.

8. Bibliografía

- ABARENKOV, K., ZIRK, A., PIERMANN, T., PÖHÖNEN, R., IVANOV, F., NILSSON, R. H., & KÖLJALG, U. (2021). UNITE general FASTA release for Fungi.2020 (No. 10).
- ADAMO, I., CASTAÑO, C., BONET, J. A., COLINAS, C., MARTÍNEZ DE ARAGÓN, J., & ALDAY, J. G. (2021). Soil physico-chemical properties have a greater effect on soil fungi than host species in Mediterranean pure and mixed pine forests. *Soil Biol. Biochem.*, 160, 108320. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108320>
- ALLOMBERT, S., STOCKTON, S., & MARTIN, J.-L. (2005). A Natural Experiment on the Impact of Overabundant Deer on Forest Invertebrates. *Conserv. Biol.*, 19(6), 1917–1929. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00280.x>
- ANDERSON, M. J., & SANTANA-GARCON, J. (2015). Measures of precision for dissimilarity-based multivariate analysis of ecological communities. *Ecol. Lett.*, 18(1), 66–73. <https://doi.org/10.1111/ele.12385>
- ANDREWS, S. (2010). FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data.
- ANGEL, S. K., & WICKLOW, D. T. (1974). Decomposition of Rabbit Faeces: An Indication of the Significance of the Coprophilous Microflora in Energy Flow Schemes. *J. Ecol.*, 62(2), 429. <https://doi.org/10.2307/2258989>
- ASNER, G. P., ELMORE, A. J., OLANDER, L. P., MARTIN, R. E., & HARRIS, A. T. (2004). Grazing systems, ecosystem responses, and global change. *Annu. Rev. Environ. Resour.*, 29(1), 261–299. <https://doi.org/10.1146/annurev.energy.29.062403.102142>
- ASSMANN, J. M., MARTINS, A. P., ANGHINONI, I., DE OLIVEIRA DENARDIN, L. G., DE HOLANDA NICHEL, G., DE ANDRADE COSTA, S. E. V. G., PEREIRA E SILVA, R. A., BALERINI, F., DE FACCIO CARVALHO, P. C., & FRANZLUEBBERS, A. J. (2017). Phosphorus and potassium cycling in a long-term no-till integrated soybean-beef cattle production system under different grazing intensities insubtropics. *Nutr. Cycl. Agroecosystems*, 108(1), 21–33. <https://doi.org/10.1007/s10705-016-9818-6>
- AWAD, A., MAJCHERCZYK, A., SCHALL, P., SCHRÖTER, K., SCHÖNING, I., SCHRUMPF, M., EHBRECHT, M., BOCH, S., KAHL, T., BAUHUS, J., SEIDEL, D., AMMER, C., FISCHER, M., KÜES, U., & PENA, R. (2019). Ectomycorrhizal and saprotrophic soil fungal biomass are driven by different factors and vary among broadleaf and coniferous temperate forests. *Soil Biol. Biochem.*, 131, 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.12.014>
- BAZELY, D. R., VICARI, M., EMMERICH, S., FILIP, L., LIN, D., & INMAN, A. (1997).

Interactions between Herbivores and Endophyte-Infected *Festuca rubra* from the Scottish Islands of St. Kilda, Benbecula and Rum. *J. Appl. Ecol.*, 34(4), 847. <https://doi.org/10.2307/2405276>

BECK, J. L., SMITH, K. T., FLINDERS, J. T., & CLYDE, C. L. (2013). Seasonal habitat selection by elk in North Central Utah. *West. North Am. Nat.*, 73(4), 442–456.

BERNES, C., MACURA, B., JONSSON, B. G., JUNNINEN, K., MÜLLER, J., SANDSTRÖM, J., LÖHMUS, A., & MACDONALD, E. (2018). Manipulating ungulate herbivory in temperate and boreal forests: effects on vegetation and invertebrates. A systematic review. *Environ. Evid.*, 7(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s13750-018-0125-3>

BREMNER, J. M. (1960). Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method. *J. Agric. Sci.*, 55(1), 11–33. <https://doi.org/10.1017/S0021859600021572>

BRESSETTE, J. W., BECK, H., & BEAUCHAMP, V. B. (2012). Beyond the browse line: complex cascade effects mediated by white-tailed deer. *Oikos*, 121(11), 1749–1760. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2011.20305.x>

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 Mediterranean oak woodland. *For. Ecol. Manage.*, 261(11), 2133–2139. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.03.009>

BURKE, D. J., CARRINO-KYKER, S. R., HOKE, A., CASSIDY, S., BIALIC-MURPHY, L., & KALISZ, S. (2019). Deer and invasive plant removal alters mycorrhizal fungal communities and soil chemistry: Evidence from a long-term field experiment. *Soil Biol. Biochem.*, 128, 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.09.031>

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. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>

CANTARUTTI, R., TARRÉ, R., MACEDO, R., CADISCH, G., DE REZENDE, C. P., PEREIRA, J. M., BRAGA, J. M., GOMIDE, J. A., FERREIRA, E., ALVES, B. J. R., URQUIAGA, S., & BODDEY, R. M. (2002). The effect of grazing intensity and the presence of a forage legume on nitrogen dynamics in *Brachiaria* pastures in the Atlantic forest region of the south of Bahia, Brazil. *Nutr. Cycl. Agroecosystems*, 64, 257–271.

CARPIO, A. J., GUERRERO-CASADO, J., RUIZ-AIZPURUA, L., VICENTE, J., & TORTOSA, F. S. (2014). The high abundance of wild ungulates in a Mediterranean region: is this compatible with the European rabbit? *Wildlife Biol.*, 20(3), 161–166. <https://doi.org/10.2981/wlb.13113>

CASTRO, J., ZAMORA, R., HÓDAR, J. A., & GÓMEZ, J. M. (2004). Seedling establishment of a boreal tree species (*Pinus sylvestris*) at its southernmost distribution limit: consequences of being in a marginal Mediterranean habitat. *J. Ecol.*, 92(2), 266–277. <https://doi.org/10.1111/j.0022-0477.2004.00870.x>

CLAY, K. (1988). Fungal Endophytes of Grasses: A Defensive Mutualism between Plants and Fungi. *Ecology*, 69(1), 10–16. <https://doi.org/10.2307/1943155>

CORNWELL, W. K., CORNELISSEN, J. H. C., AMATANGELO, K., DORREPAAL, E., EVINER, V. T., GODOY, O., HOBBIE, S. E., HOORENS, B., KUROKAWA, H., PÉREZ-HARGUINDEGUY, N., QUESTED, H. M., SANTIAGO, L. S., WARDLE, D. A., WRIGHT, I. J., AERTS, R., ALLISON, S. D., VAN BODEGOM, P., BROVKIN, V., CHATAIN, A., ... WESTOBY, M. (2008). Plant species traits are the predominant control on litter

- decomposition rates within biomes worldwide. *Ecol. Lett.*, 11(10), 1065–1071. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01219.x>
- DENYER, J. L., HARTLEY, S. E., & JOHN, E. A. (2010). Both bottom-up and top-down processes contribute to plant diversity maintenance in an edaphically heterogeneous ecosystem. *J. Ecol.*, 98(2), 498–508. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01633.x>
- DERNER, J. D., LAUENROTH, W. K., STAPP, P., & AUGUSTINE, D. J. (2009). Livestock as Ecosystem Engineers for Grassland Bird Habitat in the Western Great Plains of North America. *Rangel. Ecol. Manag.*, 62(2), 111–118. <https://doi.org/10.2111/08-008.1>
- DÍAZ, S., LAVOREL, S., McINTYRE, S., FALCZUK, V., CASANOVES, F., MILCHUNAS, D. G., SKARPE, C., RUSCH, G., STERNBERG, M., NOY-MEIR, I., LANDSBERG, J., ZHANG, W., CLARK, H., & CAMPBELL, B. D. (2007). Plant trait responses to grazing? a global synthesis. *Glob. Chang. Biol.*, 13(2), 313–341. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01288.x>
- DONKOR, N. T., GEDIR, J. V., HUDSON, R. J., BORK, E. W., CHANASYK, D. S., & NAETH, M. A. (2002). Impacts of grazing systems on soil compaction and pasture production in Alberta. *Can. J. Soil Sci.*, 82(1), 1–8. <https://doi.org/10.4141/S01-008>
- DU, E., TERRER, C., PELLEGRINI, A. F. A., AHLSTRÖM, A., VAN LISSA, C. J., ZHAO, X., XIA, N., WU, X., & JACKSON, R. B. (2020). Global patterns of terrestrial nitrogen and phosphorus limitation. *Nat. Geosci.*, 13(3), 221–226. <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0530-4>
- Dudinszky, N., Cabello, M. N., Grimoldi, A. A., Schalamuk, S., & Golluscio, R. A. (2019). Role of Grazing Intensity on Shaping Arbuscular Mycorrhizal Fungi Communities in Patagonian Semiarid Steppes. *Rangel. Ecol. Manag.*, 72(4), 692–699. <https://doi.org/10.1016/j.rama.2019.02.007>
- EOM, A.-H., WILSON, G. W. T., & HARTNETT, D. C. (2001). Effects of ungulate grazers on arbuscular mycorrhizal symbiosis and fungal community structure in tallgrass prairie. *Mycologia*, 93(2), 233–242. <https://doi.org/10.1080/00275514.2001.12063153>
- FAETH, S. H., & BULTMAN, T. L. (2002). Endophytic fungi and interactions among host plants, herbivores, and natural enemies. In *Multitrophic level interactions* (pp. 89–123).
- FRANK, D. A. (2008). Ungulate and topographic control of nitrogen: phosphorus stoichiometry in a temperate grassland; soils, plants and mineralization rates. *Oikos*, 117(4), 591–601. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2008.16220.x>
- FRANK, D. A., & MCNAUGHTON, S. J. (1993). Evidence for the promotion of aboveground grassland production by native large herbivores in Yellowstone National Park. *Oecologia*, 96(2), 157–161. <https://doi.org/10.1007/BF00317727>
- GEHRING, C., & BENNETT, A. (2009). Mycorrhizal Fungal–Plant–Insect Interactions: The Importance of a Community Approach. *Environ. Entomol.*, 38(1), 93–102. <https://doi.org/10.1603/022.038.0111>
- GILL, R. M. A., & BEARDALL, V. (2001). The impact of deer on woodlands: the effects of browsing and seed dispersal on vegetation structure and composition. *Forestry*, 74, 209–21.
- GÓMEZ, J. M. (2003). Herbivory reduces the strength of pollinator-mediated

selection in the Mediterranean herb *Erysimum mediohispanicum*: Consequences for plant specialization. *Am. Nat.*, 162(2), 242–256.

GUO, J., LING, N., CHEN, Z., XUE, C., LI, L., LIU, L., GAO, L., WANG, M., RUAN, J., GUO, S., VANDENKOORNHUYSE, P., & SHEN, Q. (2020). Soil fungal assemblage complexity is dependent on soil fertility and dominated by deterministic processes. *New Phytol.*, 226(1), 232–243. <https://doi.org/10.1111/nph.16345>

GÜSEWELL, S. (2004). N: P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. *New Phytol.*, 164(2), 243–266. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01192.x>

HARO, R., & BENITO, B. (2019). The Role of Soil Fungi in K⁺ Plant Nutrition. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(13), 3169. <https://doi.org/10.3390/ijms20133169>

HÄTTENSCHWILER, S., TIUNOV, A. V., & SCHEU, S. (2005). Biodiversity and Litter Decomposition in Terrestrial Ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 36(1), 191–218. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.112904.151932>

IHRMARK, K., BÖDEKER, I. T. M., CRUZ-MARTINEZ, K., FRIBERG, H., KUBARTOVA, A., SCHENCK, J., STRID, Y., STENLID, J., BRANDSTRÖM-DURLING, M., CLEMMENSEN, K. E., & LINDAHL, B. D. (2012). New primers to amplify the fungal ITS2 region - evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 82(3), 666–677. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01437.x>

KENDRICK, B. (2000). The Fifth Kingdom. Mycologue Publications.

KOH, S., & HIK, D. S. (2007). Herbivory mediates grass–endophyte relationships. *Ecology*, 88(11), 2752–2757. <https://doi.org/10.1890/06-1958.1>

KÖLJALG, U., NILSSON, R. H., ABARENKOV, K., TEDERSOO, L., TAYLOR, A. F. S., BAHRAM, M., BATES, S. T., BRUNS, T. D., BENGTSSON-PALME, J., CALLAGHAN, T. M., DOUGLAS, B., DRENKHAN, T., EBERHARDT, U., DUEÑAS, M., GREBENC, T., GRIFFITH, G. W., HARTMANN, M., KIRK, P. M., KOHOUT, P., ... LARSSON, K.-H. (2013). Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Mol. Ecol.*, 22(21), 5271–5277. <https://doi.org/10.1111/mec.12481>

KÖSTER, E., KÖSTER, K., AURELA, M., LAURILA, T., BERNINGER, F., LOHILA, A., & PUMPANEN, J. (2013). impact of reindeer herding on vegetation biomass and soil carbon content: a case study from sodankylä, Finland. In *Boreal Environ. Res.* (Vol. 18).

KUIJPER, D. P. J., CROMSIGT, J. P. G. M., JĘDRZEJEWSKA, B., MIŚCICKI, S., CHURSKI, M., JĘDRZEJEWSKI, W., & KWECZLICH, I. (2010). Bottom-up versus top-down control of tree regeneration in the Białowieża Primeval Forest, Poland. *J. Ecol.*, 98(4), 888–899. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01656.x>

KUMPULA, J., KURKILAHTI, M., HELLE, T., & COLPAERT, A. (2014). Both reindeer management and several other land use factors explain the reduction in ground lichens (*Cladonia* spp.) in pastures grazed by semi-domesticated reindeer in Finland. *Reg. Environ. Chang.*, 14(2), 541–559. <https://doi.org/10.1007/s10113-013-0508-5>

KUMPULA, J., STARK, S., & HOLAND, Ø. (2011). Seasonal grazing effects by semi-domesticated reindeer on subarctic mountain birch forests. *Polar Biol.*, 34(3), 441–453. <https://doi.org/10.1007/s00300-010-0899-4>

KUNHIKRISHNAN, A., THANGARAJAN, R., BOLAN, N. S., XU, Y., MANDAL, S.,

- GLEESON, D. B., SESHADRI, B., ZAMAN, M., BARTON, L., TANG, C., LUO, J., DALAL, R., DING, W., KIRKHAM, M. B., & NAIDU, R. (2016). Functional Relationships of Soil Acidification, Liming, and Greenhouse Gas Flux (pp. 1–71). <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2016.05.001>
- LECOMTE, X., CALDEIRA, M. C., CTRY, F. X., FERNANDES, P. M., JACKSON, R. B., & BUGALHO, M. N. (2019). Ungulates mediate trade-offs between carbon storage and wildfire hazard in Mediterranean oak woodlands. *J. Appl. Ecol.*, 56(3), 699–710. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13310>
- LIDMAN, J., JONSSON, M., BURROWS, R. M., BUNDSCHUH, M., & SPONSELLER, R. A. (2017). Composition of riparian litter input regulates organic matter decomposition: Implications for headwater stream functioning in a managed forest landscape. *Ecol. Evol.*, 7(4), 1068–1077. <https://doi.org/10.1002/ece3.2726>
- MARKKOLA, A., KUIKKA, K., RAUTIO, P., HÄRMÄ, E., ROITTO, M., & TUOMI, J. (2004). Defoliation increases carbon limitation in ectomycorrhizal symbiosis of *Betula pubescens*. *Oecologia*, 140(2), 234–240. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1587-2>
- MARTIN, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.Journal*, 17(1), 10. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>
- MCINENLY, L. E., MERRILL, E. H., CAHILL, J. F., & JUMA, N. G. (2010). *Festuca campestris* alters root morphology and growth in response to simulated grazing and nitrogen form. *Funct. Ecol.*, 24(2), 283–292. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2009.01642.x>
- MIAO, R., MA, J., LIU, Y., LIU, Y., YANG, Z., & GUO, M. (2019). Variability of Aboveground Litter Inputs Alters Soil Carbon and Nitrogen in a Coniferous–Broadleaf Mixed Forest of Central China. *Forests*, 10(2), 188. <https://doi.org/10.3390/f10020188>
- MOHR, D., COHNSTAEDT, L., & TOPP, W. (2005). Wild boar and red deer affect soil nutrients and soil biota in steep oak stands of the Eifel. *Soil Biol. Biochem.*, 37(4), 693–700. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.10.002>
- MOLVAR, E. M., BOWYER, R. T., & VAN BALLEMBERGHE, V. (1993). Moose herbivory, browse quality, and nutrient cycling in an Alaskan treeline community. *Oecologia*, 94(4), 472–479. <https://doi.org/10.1007/BF00566961>
- MYERS, N., MITTERMEIER, R. A., MITTERMEIER, C. G., DA FONSECA, G. A. B., & KENT, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403(6772), 853–858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- MYSTERUD, A. (2006). The concept of overgrazing and its role in management of large herbivores. In *Wildlife Biol.* (Vol. 12, Issue 2, pp. 129–141). [https://doi.org/10.2981/0909-6396\(2006\)12\[129:TCOOAI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2981/0909-6396(2006)12[129:TCOOAI]2.0.CO;2)
- NAVARRO, L. M., & PEREIRA, H. M. (2015). Rewilding Abandoned Landscapes in Europe. In *Rewilding Eur. landscapes* (pp. 3–23). Springer.
- NEHLS, U. (2008). Mastering ectomycorrhizal symbiosis: the impact of carbohydrates. *J. Exp. Bot.*, 59(5), 1097–1108. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm334>
- OKSANEN, J., BLANCHET, F., KNDT, R., & AL, E. (2015). vegan: Community Ecology Package. R package version 2.3-0.
- OLOFSSON, J., STARK, S., & OKSANEN, L. (2004). Reindeer influence on ecosystem processes in the tundra. *Oikos*, 105(2), 386–396. <https://doi.org/10.1111/j.0030->

1299.2004.13048.x

OLSEN, S. R., & KHASAWNEH, F. E. (1980). Use and Limitations of Physical-Chemical Criteria for Assessing the Status of Phosphorus in Soils (pp. 361–410). <https://doi.org/10.2134/1980.roleofphosphorus.c15>

OMACINI, M., SEMMARTIN, M., PÉREZ, L. I., & GUNDEL, P. E. (2012). Grass-endophyte symbiosis: A neglected aboveground interaction with multiple belowground consequences. *Appl. Soil Ecol.*, 61, 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.10.012>

PARK, K. H., YOO, S., PARK, M. S., KIM, C. S., & LIM, Y. W. (2021). Different patterns of belowground fungal diversity along altitudinal gradients with respect to microhabitat and guild types. *Environ. Microbiol. Rep.*, 13(5), 649–658. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12976>

PEARSON, J. N., & JAKOBSEN, I. (1993). Symbiotic exchange of carbon and phosphorus between cucumber and three arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.*, 124(3), 481–488. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1993.tb03839.x>

PEREA, R., & GIL, L. (2014). Tree regeneration under high levels of wild ungulates: The use of chemically vs. physically-defended shrubs. *For. Ecol. Manage.*, 312, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.10.022>

PEREA, R., GIRARDELLO, M., & SAN MIGUEL, A. (2014). Big game or big loss? High deer densities are threatening woody plant diversity and vegetation dynamics. *Biodivers. Conserv.*, 23(5), 1303–1318. <https://doi.org/10.1007/s10531-014-0666-x>

PEREVOLOTSKY, A., & SELIGMAN, N. G. (1998). Role of Grazing in Mediterranean Rangeland Ecosystems. *BioScience*, 48(12), 1007–1017. <https://doi.org/10.2307/1313457>

PINHEIRO, J., BATES, D., DEBROY, S., SARKAR, D., & R CORE TEAM. (2015). Linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3 (3(57); pp. 1–120).

PÖLME, S., ABARENKOV, K., HENRIK NILSSON, R., LINDAHL, B. D., CLEMMENSEN, K. E., KAUSERUD, H., NGUYEN, N., KJØLLER, R., BATES, S. T., BALDRIAN, P., FRØSLEV, T. G., ADOJAAN, K., VIZZINI, A., SUIJA, A., PFISTER, D., BARAL, H.-O., JÄRV, H., MADRID, H., NORDÉN, J., ... TEDERSOO, L. (2020). FungalTraits: a user-friendly traits database of fungi and fungus-like stramenopiles. *Fungal Divers.*, 105(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00466-2>

RAMIREZ, J. I., JANSEN, P. A., DEN OUDEN, J., GOUDZWAARD, L., & POORTER, L. (2019). Long-term effects of wild ungulates on the structure, composition and succession of temperate forests. *For. Ecol. Manage.*, 432, 478–488. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.09.049>

RAMIREZ, J. I., JANSEN, P. A., DEN OUDEN, J., MOKTAN, L., HERDOIZA, N., & POORTER, L. (2021). Above- and Below-ground Cascading Effects of Wild Ungulates in Temperate Forests. *Ecosystems*, 24(1), 153–167. <https://doi.org/10.1007/s10021-020-00509-4>

RAMIREZ, J. I., JANSEN, P. A., & POORTER, L. (2018). Effects of wild ungulates on the regeneration, structure and functioning of temperate forests: A semi-quantitative review. *For. Ecol. Manage.*, 424, 406–419. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.05.016>

ROBIN GILL. (1990). Monitoring the status of European and North American cervids.

ROONEY, T.P. (2001). Deer impacts on forest ecosystems: a North American

- perspective. *Forestry*, 74(3), 201–208. <https://doi.org/10.1093/forestry/74.3.201>
- ROONEY, THOMAS P., & WALLER, D. M. (2003). Direct and indirect effects of white-tailed deer in forest ecosystems. *For. Ecol. Manage.*, 181(1–2), 165–176. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(03\)00130-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(03)00130-0)
- RUDGERS, J. A., FLETCHER, R. A., OLIVAS, E., YOUNG, C. A., CHARLTON, N. D., PEARSON, D. E., & MARON, J. L. (2016). Long-term ungulate exclusion reduces fungal symbiont prevalence in native grasslands. *Oecologia*, 181(4), 1151–1161. <https://doi.org/10.1007/s00442-016-3620-7>
- RUSSEL, F. L., ZIPPIN, D. B., & FOWLER, N. L. (2001). Effects of White-tailed Deer (*Odocoileus virginianus*) on Plants, Plant Populations and Communities: A Review. *Am. Midl. Nat.*, 146(1), 1–26.
- SANTALAHTI, M., SUN, H., SIETIÖ, O. M., KÖSTER, K., BERNINGER, F., LAURILA, T., PUMPANEN, J., & HEINONSALO, J. (2018). Reindeer grazing alter soil fungal community structure and litter decomposition related enzyme activities in boreal coniferous forests in Finnish Lapland. *Appl. Soil Ecol.*, 132, 74–82. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.08.013>
- SARROCCO, S. (2016). Dung-inhabiting fungi: a potential reservoir of novel secondary metabolites for the control of plant pathogens. *Pest Manag. Sci.*, 72(4), 643–652. <https://doi.org/10.1002/ps.4206>
- SHEN, C., GUNINA, A., LUO, Y., WANG, J., HE, J., KUZYAKOV, Y., HEMP, A., CLASSEN, A. T., & GE, Y. (2020). Contrasting patterns and drivers of soil bacterial and fungal diversity across a mountain gradient. *Environ. Microbiol.*, 22(8), 3287–3301. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15090>
- SIGCHA, F., PALLAVICINI, Y., CAMINO, M. J., & MARTÍNEZ-RUIZ, C. (2018). Effects of short-term grazing exclusion on vegetation and soil in early succession of a Subhumid Mediterranean reclaimed coal mine. *Plant Soil*, 426(1–2), 197–209. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3629-2>
- SIMARD, S. W., BEILER, K. J., BINGHAM, M. A., DESLIPPE, J. R., PHILIP, L. J., & TESTE, F. P. (2012). Mycorrhizal networks: Mechanisms, ecology and modelling. *Fungal Biol. Rev.*, 26(1), 39–60. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2012.01.001>
- SITTERS, J., & ANDRIUZZI, W. S. (2019). Impacts of Browsing and Grazing Ungulates on Soil Biota and Nutrient Dynamics (pp. 215–236). https://doi.org/10.1007/978-3-030-25865-8_9
- SITTERS, J., BAKKER, E. S., VELDHUIS, M. P., VEEN, G. F., OLDE VENTERINK, H., & VANNI, M. J. (2017). The Stoichiometry of Nutrient Release by Terrestrial Herbivores and Its Ecosystem Consequences. *Front. Earth Sci.*, 5. <https://doi.org/10.3389/feart.2017.00032>
- STARK, S., WARDLE, D. A., OHTONEN, R., HELLE, T., & YEATES, G. W. (2000). The effect of reindeer grazing on decomposition, mineralization and soil biota in a dry oligotrophic Scots pine forest. *Oikos*, 90(2), 301–310. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2000.900210.x>
- SUSILUOTO, S., RASILLO, T., PUMPANEN, J., & BERNINGER, F. (2008). Effects of grazing on the vegetation structure and carbon dioxide exchange of a fennoscandian fell ecosystem. *Arctic, Antarct. Alp. Res.*, 40(2), 422–431. [https://doi.org/10.1657/1523-0430\(07-035](https://doi.org/10.1657/1523-0430(07-035)
- TANENTZAP, A. J., & COOMES, D. A. (2012). Carbon storage in terrestrial

- ecosystems: do browsing and grazing herbivores matter? *Biol. Rev.* 87(1), 72–94. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2011.00185.x>
- UNDERWOOD, E. C., VIERS, J. H., KLAUSMEYER, K. R., COX, R. L., & SHAW, M. R. (2009). Threats and biodiversity in the mediterranean biome. *Divers. Distrib.*, 15(2), 188–197. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2008.00518.x>
- VELAMAZÁN, M., PEREA, R., & BUGALHO, M. N. (2020). Ungulates and ecosystem services in Mediterranean woody systems: A semi-quantitative review. *J. Nat. Conserv.*, 55, 125837. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2020.125837>
- WANG, L., DELGADO-BAQUERIZO, M., ZHAO, X., ZHANG, M., SONG, Y., CAI, J., CHANG, Q., LI, Z., CHEN, Y., LIU, J., ZHU, H., WANG, D., HAN, G., LIANG, C., WANG, C., & XIN, X. (2020). Livestock overgrazing disrupts the positive associations between soil biodiversity and nitrogen availability. *Funct. Ecol.*, 34(8), 1713–1720. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13575>
- WARNCKE, D., & BROWN, J. R. (1998). Potassium and other basic cations. In Recommended chemical soil test procedures for the North Central Region (pp. 1001, 31).
- WARREN, J. M., ALLEN, H. L., & BOOKER, F. L. (1999). Mineral nutrition, resin flow and phloem phytochemistry in loblolly pine. *Tree Physiol.*, 19(10), 655–663. <https://doi.org/10.1093/treephys/19.10.655>
- WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S. J. W. T., & TAYLOR, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In PCR protocols: a guide to methods and applications (pp. 315–322). Academic Press, Inc.
- ZAREKIA, S., JAFARI, M., ARZANI, H., JAVADI, S. A., & JAFARI, A. A. (2012). Grazing effects on some of the physical and chemical properties of soil. *World Appl. Sci. J.*, 20(2), 205–212. <https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2012.20.02.1624>
- ZHANG, P., TIAN, X., HE, X., SONG, F., REN, L., & JIANG, P. (2008). Effect of litter quality on its decomposition in broadleaf and coniferous forest. *Eur. J. Soil Biol.*, 44(4), 392–399. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.04.005>