



2022
Lleida

27·1
junio · juny
julio · juliol

Cataluña
Catalunya

8º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

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

8CFE

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

Organiza



Influencia de los tratamientos de manejo y la estacionalidad en la dinámica de las comunidades bacterianas en ecosistemas pirófitos dominados por *Cistus ladanifer*

MEDIAVILLA, O.^{1,2}, GEML, J.^{3,4}, OLAIZOLA, J.², BALDRIAN, P.⁵, LÓPEZ-MONDEJAR, R.⁵, ORIA DE RUEDA, J.A.¹, 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 Eszterházy Károly University, Leányka út 6., H-3300 Eger, Hungary.

⁴ Naturalis Biodiversity Center, Vondellaan 55, PO Box 9517, 2300 RA, Leiden, Países Bajos.

⁵ Institute of Microbiology of the CAS, Videnska 1083, 14220 Praga, República Checa.

Resumen

Los matorrales de *Cistus ladanifer* se encuentran gravemente afectados por incendios forestales, por lo que es necesario realizar tratamientos preventivos de incendios. Las bacterias representan los microorganismos más abundantes en los suelos forestales jugando un papel ecológico fundamental, pero todavía muy desconocido. El objetivo de este estudio fue determinar los efectos de los tratamientos y la estacionalidad sobre la comunidad bacteriana. Se establecieron parcelas en matorral maduro, joven procedente de quema y de desbroce. Los tratamientos fueron desbroce total, desbroce al 50% y quema controlada. Se obtuvieron 3506 unidades taxonómicas operativas (OTU) bacterianas que se clasificaron en 31 filos y 539 géneros, destacando por su abundancia Proteobacteria (31,6%), Actinobacteria (20,9%), Acidobacteria (14,6%), Verrucomicrobia (10,1%) y Bacteroidetes (9,3%). La comunidad bacteriana se vio afectada por el origen del sitio, observado los niveles de riqueza más altos en parcelas jóvenes desbrozadas y en senescentes, y difirieron entre las estaciones, con una mayor riqueza en abril, mientras que los tratamientos de prevención de incendios tuvieron solo un efecto menor. La ausencia de los efectos del manejo sugiere que un manejo activo no afecta drásticamente a las comunidades bacterianas. Por tanto, se podría reducir la probabilidad de incendios forestales, sin perjudicar la diversidad microbiana.

Palabras clave

Jarales, prevención de incendios, estacionalidad, comunidades microbianas, biología molecular.

1. Introducción

Los matorrales de jara (*Cistus* spp.) forman uno de los ecosistemas mediterráneos más característicos, dominando grandes extensiones (GUZMÁN & VARGAS, 2005). Las especies del género *Cistus* spp. suelen crecer en suelos ácidos, pobres en nutrientes y poco desarrollados (ROSSINI-OLIVA ET AL., 2016) y bajo climas muy diversos y extremos, soportando estrés por frío, sequía y altas temperaturas (DEVESA, 2008). En la Península Ibérica se han registrado doce especies de *Cistus* spp. (ÁGUEDA ET AL., 2008), siendo *Cistus ladanifer* L. la especie más abundante. *C. ladanifer* es una especie de arbusto pirofítico que domina durante las primeras etapas de sucesión en los ecosistemas mediterráneos. Estos matorrales tienen un ciclo de vida corto, alcanzando el final de su ciclo de vida en torno a 18-20 años (ORIA-DE-RUEDA ET AL., 2008).

Estos matorrales cuando son senescentes son altamente inflamables debido a la gran cantidad de materia orgánica muerta que acumulan. Por ello, son propensos a sufrir incendios forestales, siendo esta la mayor perturbación que afecta a estos ecosistemas (MARTÍN-PINTO ET AL., 2006). Aunque los ecosistemas de *Cistus ladanifer* L., han sido considerados tradicionalmente como improductivos (ORIA-DE-RUEDA ET AL., 2008), albergan una gama muy diversa de valiosas especies de hongos

comestibles (COMANDINI ET AL., 2006). Para salvaguardar estos ecosistemas es necesario llevar a cabo prácticas de gestión forestal, como desbroces o quemas controladas, que ayuden a prevenir los incendios forestales.

Las comunidades microbianas del suelo, como los hongos y las bacterias, son componentes esenciales de los ecosistemas forestales (CASTAÑO ET AL., 2019) porque desempeñan funciones muy importantes en estos ecosistemas (FELSMANN ET AL., 2015). Aunque las bacterias representan los microorganismos más abundantes en los suelos forestales (HARDOIM ET AL., 2015; BALDRIAN, 2017) y se han realizado varios trabajos de investigación en torno a ellas (FIERER & JACKSON, 2006; ŽIFČÁKOVÁ ET AL., 2016; LLADÓ ET AL., 2019), existen todavía algunas lagunas en su conocimiento. El estudio de comunidades bacterianas en el suelo es necesario para comprender su contribución a los procesos ecosistémicos (LLADÓ ET AL., 2019) y conocer cómo responden a los cambios debidos al manejo forestal.

Estudios previos han investigado los efectos del manejo forestal en matorrales de *C. ladanifer* sobre la diversidad y productividad fúngica (HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ ET AL., 2015b; MEDIAVILLA ET AL., 2017; CASTAÑO ET AL., 2019); sin embargo, todavía se desconoce qué ocurre con las comunidades bacterianas del suelo en estos ecosistemas. BASTIDA ET AL. (2017) observaron que las prácticas de manejo forestal afectaron a la estructura comunidad microbiana debido a cambios en la temperatura del suelo. Además, se ha observado que las comunidades bacterianas son muy variables de acuerdo a los cambios estacionales (LÓPEZ-MONDÉJAR ET AL., 2015). La estructura y la composición de las comunidades microbianas en los bosques puede estar influenciada por patrones temporales (BUSCARDO ET AL., 2017), debido principalmente a las variaciones de temperatura y humedad a lo largo de las diferentes estaciones (BROCKETT ET AL., 2012).

Algunos investigadores han sugerido que los parámetros abióticos dependientes de cada estación, podrían influir en la estructura de la comunidad microbiana (CORNEO ET AL., 2013). Sin embargo, se necesita más investigación para comprender las dinámicas temporales de las comunidades bacterianas. Nuestra hipótesis es que los efectos del origen de sitio y de los tratamientos de manejo enfocados a la prevención de incendios forestales sobre la comunidad bacteriana pueden ser más evidentes dependiendo del momento del muestreo, y la riqueza y abundancia bacteriana cambiaría dependiendo del momento del año siendo mayor en primavera debido a una mayor actividad microbiana en el suelo.

2. Objetivos

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de diferentes tratamientos de prevención de incendios forestales aplicados a matorrales de *C. ladanifer* y del origen del sitio sobre las comunidades bacterianas, y estudiar cómo cambian estas comunidades en el transcurso de un año.

Para ello, nuestros objetivos específicos fueron (i) analizar los cambios en las comunidades bacterianas en los diferentes momentos de muestreo; e (ii) investigar los efectos de diferentes tratamientos de prevención de incendios forestales y orígenes del sitio sobre la riqueza, abundancia y composición bacteriana.

3. Metodología

La zona de estudio se localizó en la provincia de Zamora y está dominada exclusivamente por arbustos de *C. ladanifer*. Se caracteriza por tener clima mediterráneo, con una estación seca durante el verano y fríos inviernos. La precipitación media anual es 450-700 mm, y las temperaturas medias oscilan entre 14,5 y 15,8°C. Los datos climáticos fueron proporcionados por la estación meteorológica más cercana (Alcañices, 0724617 Longitud-UTM, 4618218 Latitud-UTM, Huso 29T y

806 m sobre el nivel del mar, Agencia Meteorológica Española). La zona de estudio estaba formada por tres zonas con diferente edad y origen: a) una masa de 8 años de edad cuyo origen fue un incendio forestal; b) una masa de 8 años de edad cuyo origen fue un desbroce de la masa; c) una masa de 20 años de edad cuyo origen fue un incendio forestal.

Los tratamientos se establecieron dependiendo de su aplicabilidad de acuerdo a la edad y características de la vegetación. Para las masas de 8 años de edad (a y b), los tratamientos llevados a cabo consistieron en diferentes niveles de reducción del combustible: 1) sin desbroce (control); 2) desbroce del 50% y 3) desbroce total. En la masa de 20 años de edad (c), los tratamientos de reducción de combustible fueron: 1) sin desbroce (control); 2) desbroce total y 3) quema controlada.

De este modo, se estudiaron tres zonas diferentes con tres tratamientos por zona, y tres parcelas por tratamiento, resultando en un total de 27 parcelas muestreadas. Las parcelas de muestreo consistieron en transectos de 2x50 m, establecidos de acuerdo a estudios previos (LUOMA ET AL., 1991; SMITH ET AL., 2002).

Muestreo y trabajo molecular

Las muestras de suelo se recogieron en tres momentos diferentes: al final de la temporada de fructificación de los carpóforos (diciembre), en abril y en julio. Para ello se utilizó un extractor (3,5 cm de diámetro y 26 cm de profundidad), y se tomaron 5 muestras de suelo en cada parcela, separadas 5 m entre sí, y siguiendo la forma de la parcela (TAYLOR, 2002).

Se preparó el suelo antes de llevar a cabo la extracción de ADN. Para ello, fue secado a temperatura ambiente y posteriormente tamizado con un tamiz de 1mm para eliminar piedras y elementos gruesos. Las cinco muestras de cada parcela fueron agrupadas dando como resultado una muestra de suelo compuesta por parcela.

Las extracciones de ADN se realizaron con el kit de extracción "PowerSoil® DNA Isolation Kit" (MoBio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA), a partir de 0,25 g de suelo por muestra, de acuerdo a las indicaciones del fabricante. El ADN extraído se almacenó a -20°C hasta su uso. Se utilizaron los cebadores 515F y 806R-trP1 (CAPORASO ET AL., 2011, 2012) para amplificar ADNr bacteriano 16S. Para cada muestra se usó el siguiente protocolo de PCR: un ciclo de 95°C durante 5 min, luego 35 ciclos de 95°C por 20 s, 54°C por 30 s y 72°C por 1.5 min, terminando con un ciclo de 72°C durante 7 minutos. Los productos de PCR se verificaron para determinar las concentraciones de ADN, utilizando el sistema avanzado QIAxcel (Qiagen, Venlo, Países Bajos). La secuenciación masiva se realizó con Ion Torrent, y se llevó a cabo en Naturalis Biodiversity Center (Leiden, Países bajos). Se utilizó el secuenciador Ion 318TMChip para permitir la mayor cobertura posible en la secuenciación.

Análisis bioinformáticos

La limpieza inicial de los datos se llevó a cabo utilizando la plataforma online Galaxy (<https://main.g2.bx.psu.edu/root>). Los extremos de mala calidad se recortaron utilizando el software GENEIOUS PRO 5.6.1 (BioMatters, Auckland, Nueva Zelanda). Posteriormente, las secuencias se filtraron usando el software USEARCH V.8.0 (EDGAR, 2010). Las secuencias de calidad de todas las muestras se agruparon en unidades taxonómicas operativas (UTO) con una similitud de secuencia del 97 % y las secuencias quiméricas se eliminaron usando USEARCH. Se asignaron las secuencias a grupos taxonómicos de bacterias de acuerdo a búsqueda de similitud por pares utilizando la base de datos Gold del Ribosomal Database Project (COLE ET AL., 2014). Las secuencias representativas de UTO bacterianas fueron enviadas a GenBank y registradas con los números de acceso MK323080 - MK325185.

Análisis de datos

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016), utilizando los paquetes 'vegan' y 'car'. Calculamos la disimilitud de Bray-Curtis de la matriz comunitaria transformada de Hellinger. La homogeneidad de la dispersión multivariante se probó utilizando la función 'betadisper'. Se realizaron análisis de partición de variación utilizando la función 'varpart' para identificar la fracción de variación en la composición de la comunidad explicada por cada uno de los factores (es decir, momento de muestreo, origen del sitio y tratamientos de prevención de incendios). Para comparar la composición de la comunidad bacteriana en los rodales estudiados, realizamos un análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) en la tabla UTO transformada por Hellinger, utilizando las funciones 'metaMDS' y 'adonis'. Además, probamos si las comunidades bacterianas fueron estadísticamente diferentes entre los tipos de bosques utilizando el procedimiento de permutación de respuesta múltiple y no paramétrico basado en permutación MANOVA (PERMANOVA) (ANDERSON, 2001).

Se ajustó un modelo lineal para la riqueza y abundancia de cada filo, incluyendo todos los factores y sus interacciones utilizando la función 'lm'. Cada modelo se simplificó eliminando los factores e interacciones que no eran significativos. Comparamos la riqueza y abundancia de filos bacterianos entre los sitios de muestreo aplicando un ANOVA a través de la función 'anova', y después el test post-hoc HSD de Tukey para comparación múltiple de medias.

4. Resultados

Composición de la comunidad bacteriana

Se obtuvieron 3506 unidades taxonómicas operativas (UTO) bacterianas que se clasificaron en 31 filos y 539 géneros. La mayoría de las UTO fueron identificadas a nivel de género, ya que la identificación hasta el nivel de especie fue imposible debido a las limitaciones de la base de datos. La comunidad bacteriana del suelo estuvo dominada por el filo Proteobacteria, que representó el 31,6% de la comunidad bacteriana, seguido de Actinobacteria (20,9%), Acidobacteria (14,6%), Verrucomicrobia (10,1%), Bacteroidetes (9,3%), Firmicutes (3,8%), y Planctomycetes (2,7%). Dentro del filo Proteobacteria, las clases más representadas fueron Alphaproteobacteria (74,7%), Betaproteobacteria (12,6%), Gammaproteobacteria (8,7%) y Deltaproteobacteria (4,0%).

Impacto del origen del sitio, los tratamientos de prevención de incendios y la estacionalidad en comunidades bacterianas

El análisis de partición de la variación reveló que el 8,7 % de la variación total en la composición de la comunidad bacteriana se explicaba por el momento de muestreo ($P = 0,001$), el 7,97 % de la variabilidad se explicaba por el origen del sitio ($P = 0,001$), mientras que solo el 0,75 % de la variabilidad se explicaba por los tratamientos ($P = 0,004$).

El análisis PERMANOVA indicó que la composición de la comunidad bacteriana difirió significativamente entre diferentes tratamientos, orígenes y momentos de muestreo ($P < 0,01$). Además, también hubo una interacción significativa entre los diferentes orígenes y los momentos de muestreo ($P < 0,01$).

El análisis NMDS (estrés: 0.228) dio como resultado un diagrama de ordenación que reveló que la estructura de la comunidad bacteriana estuvo influenciada por el origen del sitio (con las muestras distribuidas a lo largo del eje 1) y sugirió que la composición de la comunidad varió con el momento de muestreo (las muestras se separaron a lo largo del eje 2; Fig. 1).

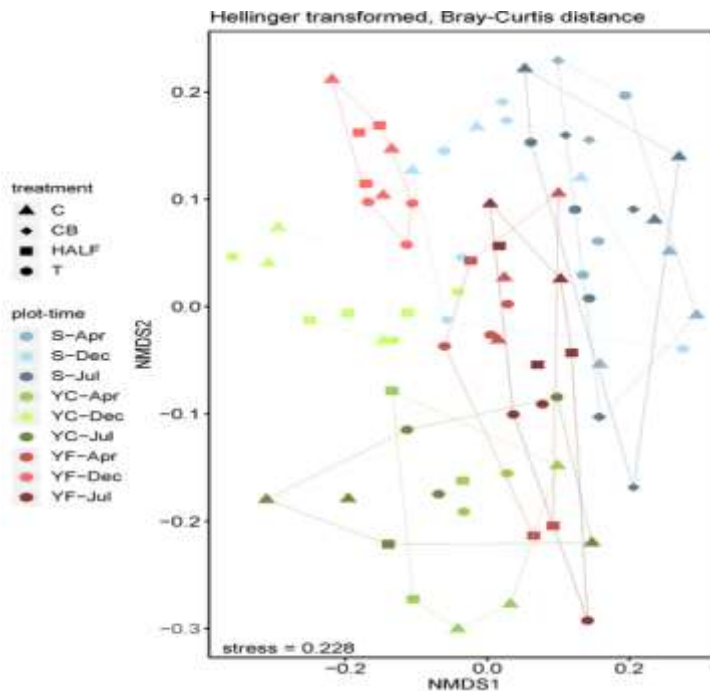


Figura 1. Gráfico de ordenación NMDS de la composición de la comunidad bacteriana entre sitios que difieren en el tratamiento y en el origen, y que se muestrearon en diferentes momentos de muestreo. Tratamientos: C, control; Half, desbroce 50%; T, desbroce total; CB, quema controlada. Origen del sitio: YF, jóvenes quemados; YC, joven aclarado; S, senescentes. Momento de muestreo: Dec, Diciembre; Apr, abril; Jul, julio.

La riqueza bacteriana se vio significativamente afectada por el origen del sitio ($P = 0,001$) y por el momento de muestreo ($P = 0,004$), mientras que los tratamientos de prevención de incendios no tuvieron un efecto significativo ($P = 0,28$). Se observó un efecto negativo del fuego sobre la riqueza bacteriana, detectándose la menor riqueza en las parcelas jóvenes quemadas, que mostraron un menor nivel de diversidad que las parcelas jóvenes desbrozadas ($P = 0,003$) y las parcelas senescentes ($P = 0,001$). Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre la riqueza bacteriana de las parcelas jóvenes desbrozadas y la riqueza de las senescentes (Fig. 2). El análisis del efecto del momento de muestreo sobre la riqueza bacteriana reveló que la riqueza bacteriana fue significativamente mayor en abril y julio que en diciembre ($P < 0,01$; Fig. 2).

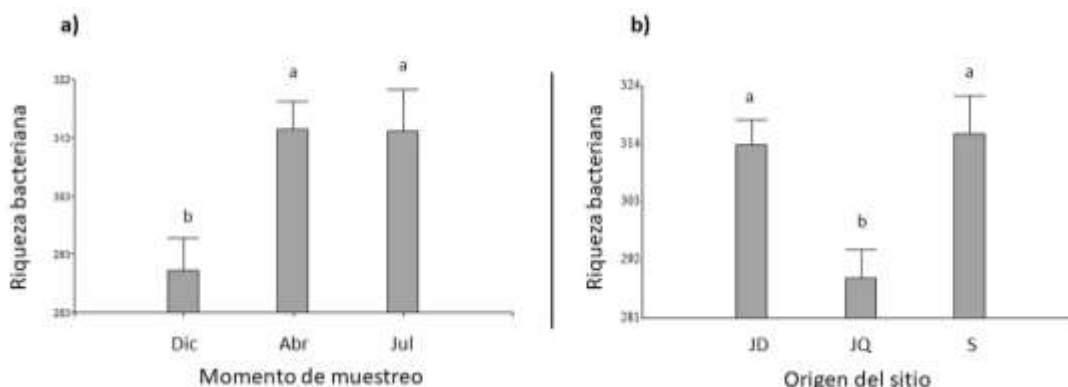


Figura 2. Riqueza bacteriana (número medio de unidades taxonómicas operativas) \pm error estándar según (a) momentos de muestreo y (b) orígenes del sitio. Momento de muestreo: Dic, Diciembre; Abr, abril; Jul, julio. Origen del sitio: JD, 8 años desbroce; JQ, 8 años quemado; S, senescente. Diferentes letras encima de las barras indican diferencias estadísticamente significativas

Al analizar la riqueza por filo observamos que la mayoría de los filios fueron significativamente afectados por el momento de muestreo. Los niveles más altos de riqueza para los filios Acidobacteria y Firmicutes se detectaron en diciembre. Los niveles más altos de riqueza de Actinobacteria y Bacteroidetes se detectaron en abril, y los niveles más altos de riqueza de Planctomycetes se detectaron en julio. El origen del sitio influyó significativamente en los filios Actinobacteria, Proteobacteria y Planctomycetes. Los niveles más altos de riqueza de Actinobacteria y Proteobacteria se detectaron en las parcelas jóvenes desbrozadas y los niveles más bajos de riqueza se detectaron en las parcelas jóvenes quemadas. Para el filo Planctomycetes, los niveles más altos de riqueza se encontraron en las parcelas senescentes, que fueron significativamente más altos que los de las parcelas jóvenes desbrozadas ($P = 0,002$) y las parcelas jóvenes quemadas ($P = 0,0001$; Fig. 3).

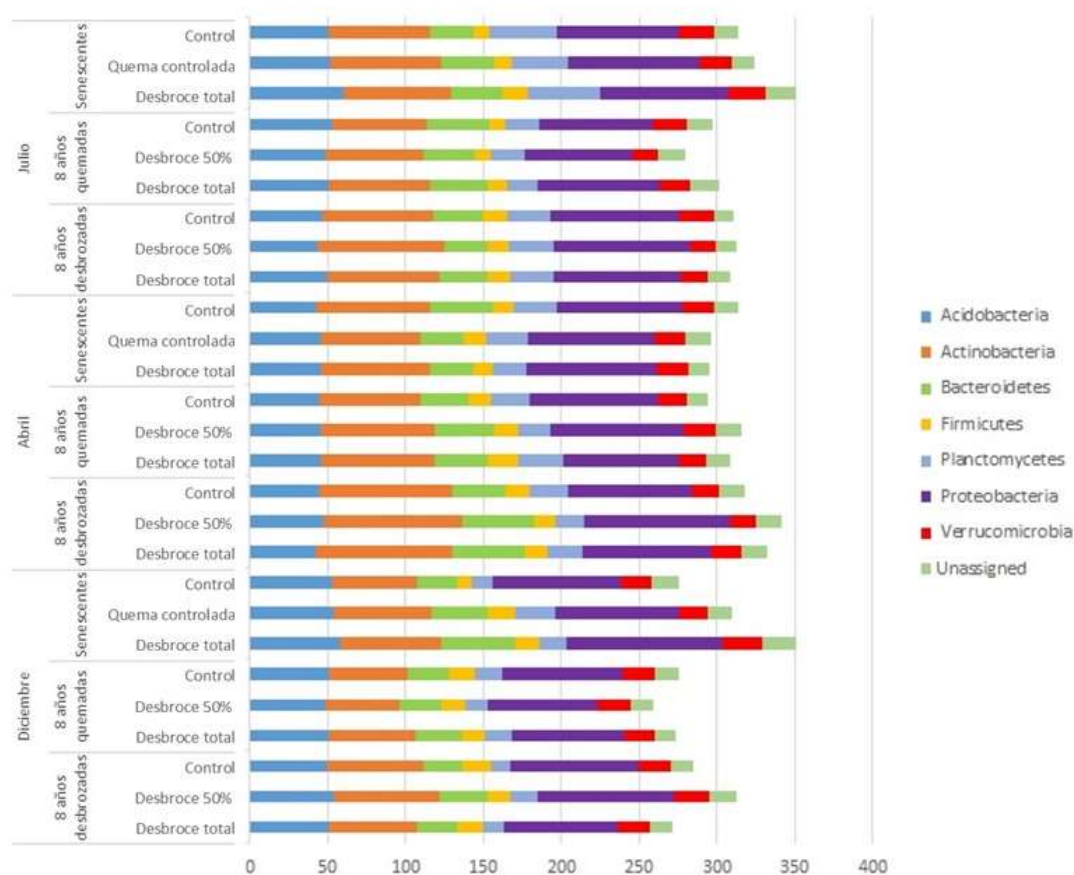


Figura 3. Riqueza bacteriana en suelos de acuerdo a diferentes tratamientos, orígenes de sitio (8 años desbrozadas, 8 años quemadas y senescentes) y momentos de muestreo (diciembre, abril y julio).

El factor más importante que afectó la abundancia bacteriana fue el tiempo de muestreo, que afectó significativamente la abundancia de todos los filios, seguido por el origen del sitio, que afectó a casi todos los filios. La abundancia de solo tres filios (Actinobacteria, Firmicutes y Planctomycetes) se vio afectada por los tratamientos de manejo para la prevención de incendios.

Con respecto al momento de muestreo, Acidobacteria, Firmicutes y Verrucomicrobia fueron los filios más abundantes en las muestras recolectadas en diciembre. Por el contrario, Actinobacteria y Proteobacteria fueron más abundantes en las muestras de abril y Bacteroidetes y Planctomycetes fueron más abundantes en las muestras de julio (Fig. 4).

Con respecto al origen del sitio, Actinobacteria y Verrucomicrobia fueron más abundantes en parcelas jóvenes desbrozadas; Firmicutes y Proteobacteria fueron más abundantes en las parcelas jóvenes quemadas; y Acidobacteria y Planctomycetes fueron más abundantes en las parcelas senescentes (Fig. 4).



Figura 4. Abundancia relativa de filos bacterianos en suelos de acuerdo a diferentes tratamientos, orígenes de sitio (8 años desbrozadas, 8 años quemadas y senescentes) y momentos de muestreo (diciembre, abril y julio).

Los tratamientos de prevención de incendios afectaron significativamente la abundancia de Actinobacteria, Firmicutes y Planctomycetes. El filo Planctomycetes fue significativamente más abundante en las parcelas de quema controlada que en las parcelas sometidas a otros tratamientos de prevención de incendios. El filo Actinobacteria fue significativamente más abundante en las parcelas de quema controlada y de desbroce total que en las parcelas de control. En el caso de Firmicutes, los mayores niveles de abundancia se obtuvieron en las parcelas desbrozadas al 50%, seguidas de las parcelas de desbroce total, parcelas control y parcelas de quema controlada (Fig. 4).

5. Discusión

Nuestros resultados revelaron que el tiempo de muestreo y el origen del sitio tuvieron un efecto mucho más fuerte en las comunidades bacterianas que los tratamientos de prevención de incendios. No se observó un efecto general de los tratamientos de prevención de incendios sobre la riqueza, abundancia o composición de la comunidad bacteriana.

Con respecto a la composición de la comunidad bacteriana en todas las muestras, Proteobacteria, Actinobacteria y Acidobacteria fueron los filos más abundantes, lo que concuerda con los resultados observados en estudios previos de comunidades bacterianas en suelos forestales (NACKE ET AL., 2011; SUN ET AL., 2017; MEDIIVILLA ET AL., 2019). Dentro de estos filos, muchos géneros han sido reconocidos como predominantes de suelos ácidos (PERALTA ET AL., 2013; ŽIFČÁKOVÁ ET AL.,

2016). De este modo, su presencia en la zona de estudio podría deberse al pH ácido de los suelos, que parece ser uno de los principales promotores de la estructura de la comunidad bacteriana en el suelo (FIERER & JACKSON, 2006; LAUBER ET AL., 2009).

De acuerdo con los efectos del origen del sitio, los tratamientos de prevención de incendios forestales y el momento de muestreo sobre las comunidades bacterianas, las comunidades se vieron influenciadas principalmente por el momento de muestreo y el origen del sitio y en menor medida por los tratamientos de prevención de incendios forestales realizados. El momento en el que se llevó a cabo el muestreo fue el principal factor que influyó en la comunidad bacteriana. Varios estudios han observado el efecto de la estacionalidad en la estructura de las comunidades microbianas y en sus propiedades funcionales (LIPSON, 2007; KUFFNER ET AL., 2012; LÓPEZ-MONDÉJAR ET AL., 2015). Según parece, hay al menos dos explicaciones para los cambios asociados en las comunidades bacterianas con el momento de muestreo, una es que la temperatura y la humedad varían a lo largo de las estaciones (BROCKETT ET AL., 2012) y la otra está relacionada con la disponibilidad de nutrientes en el suelo (RASCHE ET AL., 2011; KORANDA ET AL., 2013). Estos cambios en los parámetros ambientales tienen un fuerte impacto en la composición de la comunidad bacteriana del suelo (CLEVELAND ET AL., 2006; STRES ET AL., 2008; LÓPEZ-MONDÉJAR ET AL., 2015).

En nuestro estudio, la riqueza de la mayoría de los filos y la abundancia de todos ellos se vieron significativamente afectados por el momento de muestreo. El mayor nivel de riqueza bacteriana se registró en abril y julio. Las lluvias son más frecuentes en primavera que en otras épocas del año y también en verano con las tormentas de verano, momento del año en que las plantas se vuelven más activas y producen mayor cantidad de exudados en las raíces. La precipitación es un factor que regula la disponibilidad de carbono y nitrógeno en ecosistemas semiáridos (BORKEN & MATZNER, 2009; BELL ET AL., 2014) y, en consecuencia, tiene el potencial de alterar las comunidades microbianas y los procesos ecosistémicos (BASTIDA ET AL., 2017). Además, los periodos cálidos se caracterizan por tener una mayor actividad fotosintética (HÖGBERG ET AL., 2010). Un incremento en la tasa de fotosíntesis durante la primavera y el verano está asociada con la deposición de compuestos fácilmente descomponibles, como aminoácidos, azúcares y ácidos orgánicos (EKBLAD & HÖGBERG, 2001).

Las bacterias contribuyen al ciclo del carbono, nitrógeno y fósforo en el suelo, y participan en la descomposición de las plantas y la materia orgánica (ŠTURSOVÁ ET AL., 2012; LLADÓ ET AL., 2017). Así, un aumento en la humedad del suelo y una mayor actividad de las plantas pueden influir fuertemente en los procesos físicos del suelo, afectando la composición de la comunidad bacteriana (BROCKETT ET AL., 2012). Además, estudios previos han observado que las bacterias del suelo utilizan los exudados de las raíces (CHURCHLAND ET AL., 2012), lo que conduce a un aumento en la abundancia bacteriana (BALDRIAN ET AL., 2013).

Actinobacteria, Proteobacteria y Bacteroidetes fueron los filos más abundantes en las muestras de suelo recogidas en abril. Estos tres filos han sido clasificados como copiótrofos (FIERER ET AL., 2012). Los organismos copiotróficos son aquellos que prosperan en condiciones de elevada disponibilidad de carbono y tienen tasas de crecimiento rápidas (FIERER ET AL., 2007; EILERS ET AL., 2010). Una mayor abundancia de estos filos en las muestras de abril pudo ser debida a un aumento en el contenido de humedad del suelo debido a las lluvias de primavera y al aumento de la temperatura del suelo después del invierno, lo que favorece los procesos de descomposición. BASTIDA ET AL. (2017) observaron una correlación positiva entre la humedad del suelo y la abundancia de Proteobacteria. Además, algunas especies pertenecientes a estos filos se consideran especies fijadoras de nitrógeno (LLADÓ ET AL., 2017). Por el contrario, la abundancia del filo Acidobacteria disminuyó significativamente en abril. Los miembros de este filo se consideran microorganismos oligotróficos porque pueden metabolizar sustratos de carbono recalcitrantes y pobres en nutrientes y tienen tasas de crecimiento lentas (FIERER ET AL., 2007). BARNARD ET AL. (2013) también observaron un aumento en la abundancia del filo Actinobacteria y una disminución en la abundancia de

Acidobacteria durante el verano, y llegaron a la conclusión de que estos cambios en la abundancia de los filos pueden reflejar las diferentes estrategias de vida de las bacterias.

El filo Verrucomicrobia fue más abundante en las muestras de suelo de diciembre. Este filo mostró una correlación positiva con la producción de carpóforos de *Boletus edulis* (MEDIAYVILLA ET AL., 2019) durante la temporada de fructificación del hongo (también en diciembre). Las comunidades bacterianas pueden interactuar con los hongos micorrícicos a través del contacto directo con el manto o la red de hifas y mediante los exudados de las raíces micorrícicas (FREY-KLETT & GARBAYE, 2005; UROZ ET AL., 2007). Es probable que diferentes miembros de Verrucomicrobia ocupen nichos ecológicos muy diferentes dentro de los suelos forestales; sin embargo, quedan por determinar los factores ambientales que regulan su diversidad y abundancia (BERGMANN ET AL., 2011).

El origen del sitio también tuvo una fuerte influencia en las comunidades bacterianas, lo que respalda los resultados observados por HARANTOVÁ ET AL. (2017), quienes reportaron que la composición bacteriana estaba determinada por las propiedades del sitio. CASTAÑO ET AL. (2019) encontraron profundas diferencias entre diferentes orígenes, en términos de composición y riqueza de la comunidad fúngica, correspondiendo los sitios de menor riqueza con los sitios previamente quemados. Del mismo modo, DAY ET AL. (2019) encontraron una disminución en la riqueza y cambios en la composición de la comunidad poco después de los incendios forestales. En nuestro estudio, los niveles más bajos de riqueza bacteriana también se observaron en parcelas jóvenes quemadas, con diferencias significativas respecto a las parcelas senescentes y jóvenes desbrozadas. Las diferencias observadas entre parcelas jóvenes desbrozadas y jóvenes quemadas concuerdan con los resultados observados por SMITH ET AL. (2008) quienes afirmaron que las comunidades microbianas en los bosques desbrozados pueden recuperarse más rápido que en los bosques quemados. Además, estudios previos han observado un aumento en la riqueza de la comunidad bacteriana a lo largo del tiempo, alcanzando un máximo en ecosistemas que tenían aproximadamente 20 años (BALDRIAN ET AL., 2008; HARANTOVÁ ET AL., 2017). Dado que los matorrales de *Cistus* sp. tienen una vida corta y, por lo tanto, se consideran maduros cuando tienen entre 7 y 8 años (ORIA-DE-RUEDA ET AL., 2008), podrían alcanzar la máxima riqueza bacteriana, así como una fase de estancamiento mucho antes que otros ecosistemas. En este contexto, cualquier perturbación creada por prácticas de manejo podría ser positiva, resultando en un aumento de la heterogeneidad de los rodales.

Los niveles más bajos de riqueza bacteriana se detectaron en parcelas jóvenes quemadas, probablemente debido a cambios en el pH y las propiedades del suelo después del incendio. Después de un incendio, la liberación de cationes al suelo puede aumentar el pH del suelo (CERTINI, 2005). Dado que la comunidad bacteriana en nuestra área de estudio se caracterizó por ser representativa de suelos ácidos, un aumento en el pH del suelo después de un incendio podría haber provocado una disminución en la riqueza bacteriana. LAUBER ET AL. (2009) reconocieron que el pH del suelo es uno de los factores más importantes que conforman la composición de las comunidades bacterianas. Además, GOBERNA ET AL. (2012) observaron que la estructura de la comunidad bacteriana cambió inmediatamente después de un incendio debido a cambios en la disponibilidad de carbono, nitrógeno, fósforo, carbonatos y agua.

Los tratamientos de manejo para la prevención de incendios no tuvieron un impacto importante en las comunidades bacterianas, este resultado coincide con el obtenido por FELSMANN ET AL. (2015), quienes no pudieron identificar un efecto de las prácticas de manejo sobre la composición de la comunidad bacteriana. Además, SMITH ET AL. (2008) informaron que las bacterias juegan un papel importante en la resiliencia de los bosques a las perturbaciones y en los procesos de regeneración. En este estudio, tres años después de haber realizado los tratamientos de prevención de incendios, no parecen haber tenido un impacto en la comunidad bacteriana, lo que también puede estar relacionado con la rápida recuperación de los matorrales de *C. ladanifer* después de la perturbación (HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ ET AL., 2015b).

Al analizar de forma independiente la riqueza de cada filo, se observó que ningún filo se vio significativamente afectado por los tratamientos realizados y, al analizar la abundancia, solo Actinobacteria, Firmicutes y Planctomycetes mostraron una respuesta significativa tras realizar los tratamientos. Los filios Actinobacteria y Planctomycetes fueron más abundantes en suelos donde las plantas habían sido completamente eliminadas (quema controlada y desbroce total). La falta de vegetación implica niveles más bajos de nutrientes en el suelo, lo que favorece la sucesión autotrófica (FIERER ET AL., 2010) que se caracteriza por un aumento en la abundancia y actividad de organismos autótrofos y fijadores de nitrógeno (SCHMIDT ET AL., 2008; VITOUSEK ET AL., 2013). Algunas especies pertenecientes al filo Actinobacteria tienen propiedades fijadoras de nitrógeno (SELLSTEDT & RICHAU, 2013). Además, son heliófilas y, por lo tanto, pueden verse favorecidas en suelos que están expuestos a más radiación solar. ZHANG ET AL. (2016) observaron un aumento significativo de estas bacterias después de la tala del bosque. Por otra parte, las especies de Planctomycetes son capaces de sobrevivir después de incendios y en suelos con condiciones extremadamente pobres porque son descomponedores de acción lenta (DEDYSH & KULICHEVSKAYA, 2014).

6. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio confirmaron que el momento de muestreo y el origen del sitio tienen una fuerte influencia en las UTO bacterianas detectadas en los suelos de matorrales de *C. ladanifer*, y resaltan el papel biológico de algunos filios bacterianos para poder adaptarse a diferentes circunstancias.

Los niveles más altos de riqueza bacteriana se detectaron en abril, y en las parcelas jóvenes desbrozadas y las senescentes. Sin embargo, los tratamientos de prevención de incendios forestales no tuvieron un fuerte efecto sobre la comunidad bacteriana. Nuestros resultados respaldan las prácticas de manejo activo enfocadas a la prevención de incendios para rejuvenecer rodales senescentes y crear claros en rodales jóvenes, dado que estas prácticas de manejo no afectan negativamente a la comunidad bacteriana y, por lo tanto, las bacterias son resilientes al manejo de prevención de incendios. Además, de este modo, se pueden prevenir incendios forestales y aumentar riqueza y abundancia bacteriana, creando un hábitat más heterogéneo.

7. Agradecimientos

Este estudio fue parcialmente financiado por el proyecto de investigación VA050U17 (Junta de Castilla y León). El trabajo de laboratorio y análisis de datos se llevó a cabo en Naturalis Biodiversity Center (Países Bajos) financiado por una beca de la Universidad de Valladolid dentro del programa 'Ayudas para estancias breves en el desarrollo de Tesis Doctorales. Convocatoria 2016' y una Ayuda 'Martin & Temminck-Fellowship' de Naturalis Biodiversity Center (2018). Los análisis de datos se realizaron en el Instituto de Microbiología de la Academia Checa de Ciencias (República Checa), con el apoyo de una beca de la Universidad de Valladolid, 'Ayudas financieras Erasmus+ para la Movilidad del personal docente e investigador. Curso académico 2018/ 2019'. El trabajo de Olaya Mediavilla fue desarrollado gracias a una Ayuda Predoctoral de la Junta de Castilla y León y el Fondo Social Europeo.

8. Bibliografía

ÁGUEDA, B.; PARLADÉ, J.; FERNÁNDEZ-TOIRÁN, LM.; CISNEROS, Ó.; MIGUEL, AM DE.; MODREGO, MP; 2008. Mycorrhizal synthesis between *Boletus edulis* species complex and rockroses (*Cistus* sp.). *Mycorrhiza* 18: 443–449.

ANDERSON, MJ; 2001. A new method for non parametric multivariate analysis of variance.

Austral Ecol 26: 32–46.

BALDRIAN, P.; 2017. Forest microbiome: diversity, complexity and dynamics. *FEMS Microbiol Rev* 41: 109–130.

BALDRIAN, P.; ŠNAJDR, J.; MERHAUTOVÁ, V.; DOBIÁŠOVÁ, P.; CAJTHAML, T.; VALÁŠKOVÁ, V.; 2013. Responses of the extracellular enzyme activities in hardwood forest to soil temperature and seasonality and the potential effects of climate change. *Soil Biol Biochem* 56: 60–68.

BALDRIAN, P.; TRÖGL, J.; FROUZ, J.; ŠNAJDR, J.; VALÁŠKOVÁ, V.; MERHAUTOVÁ, V.; CAJTHAML, T.; HERINKOVÁ, J.; 2008. Enzyme activities and microbial biomass in topsoil layer during spontaneous succession in spoil heaps after brown coal mining. *Soil Biol Biochem* 40: 2107–2115.

BARNARD, RL.; OSBORNE, CA.; FIRESTONE, MK; 2013. Responses of soil bacterial and fungal communities to extreme desiccation and rewetting. *ISME J* 7: 2229–2241.

BASTIDA, F.; TORRES, IF.; ANDRÉS-ABELLÁN, M.; BALDRIAN, P.; LÓPEZ-MONDÉJAR, R.; VĚTROVSKÝ, T.; RICHNOW, HH.; STARKE, R.; ONDOÑO, S.; GARCÍA, C.; LÓPEZ-SERRANO, FR.; JEHMLICH, N; 2017. Differential sensitivity of total and active soil microbial communities to drought and forest management. *Glob Chang Biol* 23: 4185–4203.

BELL, CW.; TISSUE, DT.; LOIK, ME.; WALLENSTEIN, MD.; ACOSTA-MARTINEZ, V.; ERICKSON, RA.; ZAK, JC; 2014. Soil microbial and nutrient responses to 7 years of seasonally altered precipitation in a Chihuahuan Desert grassland. *Glob Chang Biol* 20: 1657–1673.

BERGMANN, GT.; BATES, ST.; EILERS, KG.; LAUBER, CL.; CAPORASO, JG.; WALTERS, WA.; KNIGHT, R.; FIERER, N; 2011. The under-recognized dominance of Verrucomicrobia in soil bacterial communities. *Soil Biol Biochem* 43: 1450–1455.

BORKEN, W.; MATZNER, E; 2009. Reappraisal of drying and wetting effects on C and N mineralization and fluxes in soils. *Glob Chang Biol* 15: 808–824.

BROCKETT, BFT.; PRESCOTT, CE.; GRAYSTON, SJ; 2012. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. *Soil Biol Biochem* 44: 9–20.

BUSCARDO, E.; GEML, J.; SCHMIDT, SK.; SILVA, ALC.; RAMOS, RTJ.; BARBOSA, SMR.; ANDRADE, SS.; DALLA, R.; ANETE, C.; HELENA, PS.; HILLÂNDIA, F.; NAGY, L; 2017. Of mammals and bacteria in a rainforest: Temporal dynamics of soil bacteria in response to simulated N pulse from mammalian urine. : 1–12.

CAPORASO, JG.; LAUBER, CL.; WALTERS, WA.; BERG-LYONS, D.; HUNTLEY, J.; FIERER, N.; OWENS, SM.; BETLEY, J.; FRASER, L.; BAUER, M.; GORMLEY, N.; GILBERT, JA.; SMITH, G.; KNIGHT, R; 2012. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME J* 6: 1621–1624.

CAPORASO, JG.; LAUBER, CL.; WALTERS, WA.; BERG-LYONS, D.; LOZUPONE, CA.; TURNBAUGH, PJ.; FIERER, N.; KNIGHT, R; 2011. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences

per sample. *Proc Natl Acad Sci* 108: 4516–4522.

CASTAÑO, C.; DEJENE, T.; MEDIAVILLA, O.; GEML, J.; ORIA-DE-RUEDA, JA.; MARTÍN-PINTO, P; 2019. Changes in fungal diversity and composition along a chronosequence of *Eucalyptus grandis* plantations in Ethiopia. *Fungal Ecol* 39: 328–335.

CERTINI, G; 2005. Effects of fire on properties of forest soils: a review. *Oecologia* 143: 1–10.

CHURCHLAND, C.; WEATHERALL, A.; BRIONES, MJI.; GRAYSTON, SJ; 2012. Stable-isotope labeling and probing of recent photosynthates into respired CO₂, soil microbes and soil mesofauna using a xylem and phloem stem-injection technique on Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Rapid Commun Mass Spectrom* 26: 2493–2501.

CLEVELAND, CC.; NEMERGUT, DR.; SCHMIDT, SK.; ALAN, R.; SCHMIDT, SK.; TOWNSEND, AR; 2006. Increases in Soil Respiration following Labile Carbon Additions Linked to Rapid Shifts in Soil Microbial Community Composition Linked references are available on JSTOR for this article : Increases in soil respiration following labile carbon additions link. *Biogeochemistry* 82: 229–240.

COLE, JR.; WANG, Q.; FISH, JA.; CHAI, B.; MCGARRELL, DM.; SUN, Y.; BROWN, CT.; PORRAS-ALFARO, A.; KUSKE, CR.; TIEDJE, JM; 2014. Ribosomal Database Project: Data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Res* 42: 633–642.

COMANDINI, O.; CONTU, M.; RINALDI, AC; 2006. An overview of *Cistus* ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 16: 381–395.

CORNEO, PE.; PELLEGRINI, A.; CAPPELLIN, L.; RONCADOR, M.; CHIERICI, M.; GESSLER, C.; PERTOT, I; 2013. Microbial community structure in vineyard soils across altitudinal gradients and in different seasons. *FEMS Microbiol Ecol* 84: 588–602.

DAY, NJ.; DUNFIELD, KE.; JOHNSTONE, JF.; MACK, MC.; TURETSKY, MR.; WALKER, XJ.; WHITE, A.L., BALTZER, JL; 2019. Wildfire severity reduces richness and alters composition of soil fungal communities in boreal forests of western Canada. *Glob Chang Biol* 25: 2310–2324.

DEDYSH, SN.; KULICHEVSKAYA, IS; 2014. Acidophilic planctomycetes: expanding the horizons of new planctomycete diversity. In: *Planctomycetes: Cell Structure*. (Fuerst JA, ed.) Humana Press, Origins and Biology. pp: 125–139.

DEVESA, JA; 2008. Vegetación y flora de Extremadura. Universitas Editorial, 773 pp, Badajoz, España.

DUFRENE, M-; LEGENDRE, P; 1997. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol Monogr* 67: 345–366.

EDGAR, RC; 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 26: 2460–2461.

EILERS, KG.; LAUBER, CL.; KNIGHT, R.; FIERER, N; 2010. Shifts in bacterial community structure

associated with inputs of low molecular weight carbon compounds to soil. *Soil Biol Biochem* 42: 896–903.

EKBLAD, A.; HÖGBERG, P; 2001. Natural abundance of ^{13}C in CO_2 respired from forest soils reveals speed of link between tree photosynthesis and root respiration. *Oecologia* 127: 305–308.

FELSMANN, K.; BAUDIS, M.; GIMBEL, K.; KAYLER, Z.E.; ELLERBROCK, R.; BRUEHLHEIDE, H.; BRUCKHOFF, J.; WELK, E.; PUHLMANN, H.; WEILER, M.; GESSLER, A.; ULRICH, A; 2015. Soil bacterial community structure responses to precipitation reduction and forest management in forest ecosystems across Germany. *PLoS One* 10: 1–24.

FIERER, N.; BRADFORD, M A.; JACKSON, RB; 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88: 1354–1364.

FIERER, N.; JACKSON, RB; 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 626–31.

FIERER, N.; LAUBER, CL.; RAMIREZ, KS.; ZANEVELD, J.; BRADFORD, MA.; KNIGHT, R; 2012. Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. *ISME J* 6: 1007–1017.

FIERER, N.; NEMERGUT, D.; KNIGHT, R.; CRAINE, JM; 2010. Changes through time: Integrating microorganisms into the study of succession. *Res Microbiol* 161: 635–642.

FREY-KLETT, P.; GARBAYE, J; 2005. Mycorrhiza helper bacteria: a promising model for the genomic analysis of fungal- bacterial interactions. *New Phytol* 168: 4–8.

GOBERNA, M.; GARCÍA, C.; INSAM, H.; HERNÁNDEZ, MT.; VERDÚ, M; 2012. Burning Fire-Prone Mediterranean Shrublands: Immediate Changes in Soil Microbial Community Structure and Ecosystem Functions. *Microb Ecol* 64: 242–255.

GUZMÁN, B.; VARGAS, P; 2005. Systematics, character evolution, and biogeography of *Cistus* L. (Cistaceae) based on ITS, trnL-trnF, and matK sequences. *Mol Phylogenet Evol* 37: 644–660.

HARANTOVÁ, L.; MUDRÁK, O.; KOHOUT, P.; ELHOTTOVÁ, D.; FROUZ, J.; BALDRIAN, P; 2017. Development of microbial community during primary succession in areas degraded by mining activities. *L Degrad Dev* 28: 2574–2584.

HARDOIM, PR.; VAN OVERBEEK, LS.; BERG, G.; PIRTILÄ, M.; COMPANT, S.; CAMPISANO, A.; DÖRING, M; 2015. The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiol Mol Biol Rev* 79: 293–320.

HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, M.; DE MIGUEL, S.; PUKKALA, T.; ORIA-DE-RUEDA, JA.; MARTÍN-PINTO, P; 2015a. Climate-sensitive models for mushroom yields and diversity in *Cistus ladanifer* scrublands. *Agric For Meteorol* 213: 173–182.

HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, M.; ORIA-DE-RUEDA, JA.; PANDO, V.; MARTÍN-PINTO, P; 2015b. Impact of fuel

reduction treatments on fungal sporocarp production and diversity associated with *Cistus ladanifer* L. ecosystems. *For Ecol Manage* 353: 10–20.

HÖGBERG, MN.; BRIONES, MJ.; KEEL, SG.; METCALFE, D.B., CAMPBELL, C.; MIDWOOD, AJ.; THORNTON, B.; HURRY, V.; LINDER, S.; NASHOLM, T.; HÖGBERG, P; 2010. Quantification of effects of season and nitrogen supply on tree below-ground carbon transfer to ectomycorrhizal fungi and other soil organisms in a boreal pine forest. *New Phytol* 187: 485–493.

KORANDA, M.; KAISER, C.; FUCHSLUEGER, L.; KITZLER, B.; SESSITSCH, A.; ZECHMEISTER-BOLTENSTERN, S.; RICHTER, A; 2013. Seasonal variation in functional properties of microbial communities in beech forest soil. *Soil Biol Biochem* 60: 95–104.

KUFFNER, M.; HAI, B.; RATTEI, T.; MELODELIMA, C.; SCHLOTER, M.; ZECHMEISTER-BOLTENSTERN, S.; JANDL, R.; SCHINDLBACHER, A.; SESSITSCH, A; 2012. Effects of season and experimental warming on the bacterial community in a temperate mountain forest soil assessed by 16S rRNA gene pyrosequencing. *FEMS Microbiol Ecol* 82: 551–562.

LAUBER, CL.; 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: 5111–5120.

LIPSON, DA; 2007. Relationships between temperature responses and bacterial community structure along seasonal and altitudinal gradients. *FEMS Microbiol Ecol* 59: 418–427.

LLADÓ, S.; LÓPEZ-MONDÉJAR, R.; BALDRIAN, P; 2017. Forest soil bacteria: diversity, involvement in ecosystem processes, and response to global change. *Microbiol Mol Biol Rev* 81: 1–27.

LLADÓ, S.; VĚTROVSKÝ, T.; BALDRIAN, P; 2019. Tracking of the activity of individual bacteria in temperate forest soils shows guild-specific responses to seasonality. *Soil Biol Biochem* 135: 275–282.

LÓPEZ-MONDÉJAR, R.; VOŘÍŠKOVÁ, J.; VĚTROVSKÝ, T.; BALDRIAN, P; 2015. The bacterial community inhabiting temperate deciduous forests is vertically stratified and undergoes seasonal dynamics. *Soil Biol Biochem* 87: 43–50.

LUOMA, DL.; FRENKEL, RE.; TRAPPE, JM; 1991. Fruiting of hypogeous fungi in Oregon Douglas-Fir forests: seasonal and habitat variation. *Mycologia* 83: 335–353.

MARTÍN-PINTO, P.; VAQUERIZO, H.; PEÑALVER, F.; OLAIZOLA, J.; ORIA-DE-RUEDA, JA; 2006. Early effects of a wildfire on the diversity and production of fungal communities in Mediterranean vegetation types dominated by *Cistus ladanifer* and *Pinus pinaster* in Spain. *For Ecol Manage* 225: 296–305.

MEDIAVILLA, O.; GEML, J.; OLAIZOLA, J.; ORIA-DE-RUEDA, JA.; BALDRIAN, P.; MARTÍN-PINTO, P; 2019. Effect of forest fire prevention treatments on bacterial communities associated with productive *Boletus edulis* sites. *Microb Biotechnol* 0: 1–11.

MEDIAVILLA, O.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, M.; OLAIZOLA, J.; SANTOS-DEL-BLANCO, L.; ORIA-DE-RUEDA, JA.;

MARTÍN-PINTO, P.; 2017. Insights into the dynamics of *Boletus edulis* mycelium and fruiting after fire prevention management. *For Ecol Manage* 404: 108–114.

NACKE, H.; THÜRMER, A.; WOLLHERR, A.; WILL, C.; HODAC, L.; HEROLD, N.; SCHÖNING, I.; SCHRUMPF, M.; ROLF, D.; 2011. Pyrosequencing-Based Assessment of Bacterial Community Structure Along Different Management Types in German Forest and Grassland Soils. *PLoS One* 6: 1–12.

ORIA-DE-RUEDA, JA.; MARTÍN-PINTO, P.; OLAIZOLA, J.; 2008. Bolete productivity of Cistaceous scrublands in Northwestern Spain. *Econ Bot* 62: 323–330.

PERALTA, RM.; AHN, C.; GILLEVET, PM; 2013. Characterization of soil bacterial community structure and physicochemical properties in created and natural wetlands. *Sci Total Environ* 443: 725–732.

RASCHE, F.; KNAPP, D.; KAISER, C.; KORANDA, M.; KITZLER, B.; ZECHMEISTER-BOLTENSTERN, S.; RICHTER, A.; SESSITSCH, A; 2011. Seasonality and resource availability control bacterial and archaeal communities in soils of a temperate beech forest. *ISME J* 5: 389–402.

ROSSINI-OLIVA, S.; MINGORANCE, MD.; MONACI, F.; VALDÉS, B; 2016. Ecophysiological indicators of native *Cistus ladanifer* L. at Riotinto mine tailings (SW Spain) for assessing its potential use for rehabilitation. *Ecol Eng* 91: 93–100.

SCHMIDT, SK.; REED, SC.; NEMERGUT, DR.; GRANDY, AS.; CLEVELAND, CC.; WEINTRAUB, MN.; HILL, AW.; COSTELLO, EK.; MEYER, AF.; NEFF, JC.; MARTIN, AM; 2008. The earliest stages of ecosystem succession in high-elevation (5000 metres above sea level), recently deglaciated soils. *Proc R Soc B Biol Sci* 275: 2793–2802.

SELLSTEDT, A.; RICHAU, KH; 2013. Aspects of nitrogen-fixing actinobacteria, in particular free-living and symbiotic frankia. *FEMS Microbiol Lett* 342: 179–186.

SMITH, JE.; MOLINA, R.; HUSO, MMP.; LUOMA, DL.; MCKAY, D.; CASTELLANO, MA.; LEBEL, T.; VALACHOVIC, Y; 2002. Species richness, abundance, and composition of hypogeous and epigeous ectomycorrhizal fungal sporocarps in young, rotationage, and old-growth stands of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) in the Cascade Range of Oregon, USA. *Can J Bot* 80: 186–204.

SMITH, NR.; KISHCHUK, BE.; MOHN, WW; 2008. Effects of wildfire and harvest disturbances on forest soil bacterial communities. *Appl Environ Microbiol* 74: 216–224.

STRES, B.; DANEVČIČ, T.; PAL, L.; FUKA, MM.; RESMAN, L.; LESKOVEC, S.; HACIN, J.; STOPAR, D.; MAHNE, I.; MANDIC-MULEC, I; 2008. Influence of temperature and soil water content on bacterial, archaeal and denitrifying microbial communities in drained fen grassland soil microcosms. *FEMS Microbiol Ecol* 66: 110–122.

ŠTURSOVÁ, M.; ŽIČÁKOVÁ, L.; LEIGH, MB.; BURGESS, R.; BALDRIAN, P; 2012. Cellulose utilization in forest litter and soil: Identification of bacterial and fungal decomposers. *FEMS Microbiol Ecol* 80: 735–746.

SUN, S.; LI, S.; AVERA, BN.; STRAHM, BD.; BADGLEY, BD; 2017. Soil bacterial and fungal

communities show distinct recovery patterns during forest ecosystem restoration. *Appl Environ Microbiol* 83: pii: e00966-17.

TAYLOR, AFS; 2002. Fungal diversity in ectomycorrhizal communities: sampling effort and species detection. *Plant Soil* 244: 19–28.

TEAM, RC; 2016. R: A Language and Environment for Statistical Computing.

UROZ, S.; CALVARUSO, C.; TURPAULT, MP.; PIERRAT, JC.; MUSTIN, C.; FREY-KLETT, P; 2007. Effect of the mycorrhizosphere on the genotypic and metabolic diversity of the bacterial communities involved in mineral weathering in a forest soil. *Appl Environ Microbiol* 73: 3019–3027.

VITOUSEK, PM.; MENGE, DNL.; REED, SC.; CLEVELAND, CC; 2013. Biological nitrogen fixation: Rates, patterns and ecological controls in terrestrial ecosystems. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 368.

ZHANG, X.; LIU, S.; LI, X.; WANG, J.; DING, Q.; WANG, H.; TIAN, C.; YAO, M.; AN, J.; HUANG, Y; 2016. Changes of soil prokaryotic communities after clear-cutting in a karst forest: evidences for cutting-based disturbance promoting deterministic processes. *FEMS Microbiol Ecol* 92: pii: fiw026.

ŽIFČÁKOVÁ, L.; VETROVSKY, T.; HOWE, A.; BALDRIAN, P; 2016. Microbial activity in forest soil reflects the changes in ecosystem properties between summer and winter. *Environ Microbiol* 18: 288–301.