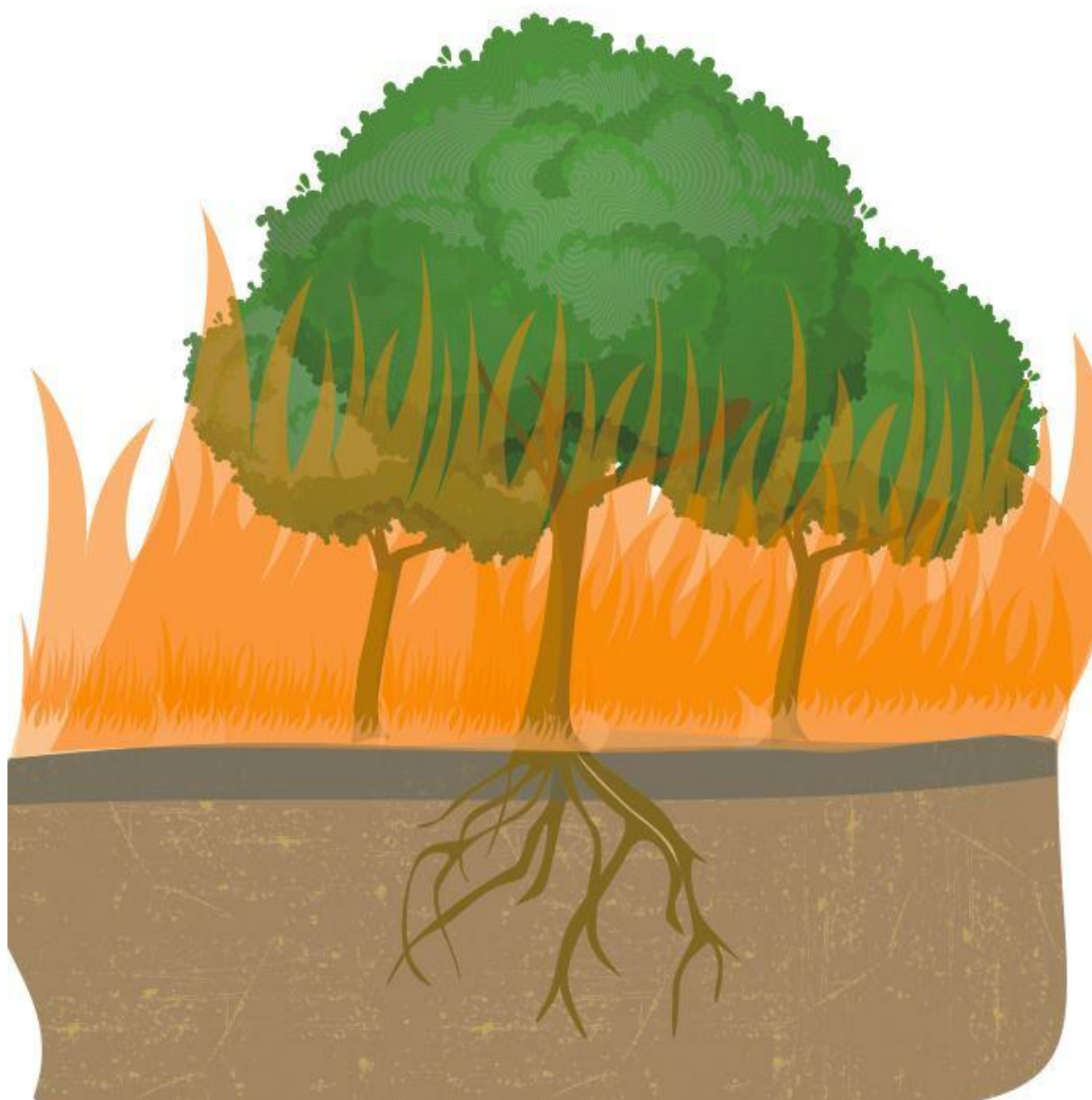


**IMPACTO DE DIFERENTES AGENTES DE EXTINCIÓN  
Y PRÁCTICAS DE RESTAURACIÓN POST-INCENDIO  
SOBRE LA MICROBIOTA EDÁFICA**



**Ana Barreiro Buján**  
**Tesis doctoral**  
**2016**



Facultad de Biología

Departamento de Edafología y Química Agrícola

Universidad de Santiago de Compostela

# **Impacto de diferentes agentes de extinción y prácticas de restauración post-incendio sobre la microbiota edáfica**

Ana Isabel Barreiro Buján

2016



IIAG



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
AGROBIOLÓGICAS DE GALICIA

# **Impacto de diferentes agentes de extinción y prácticas de restauración post-incendio sobre la microbiota edáfica**

Memoria que, para optar al grado de Doctora presenta

Ana Isabel Barreiro Buján

Santiago de Compostela, 30 de Mayo 2016



Montserrat Díaz Raviña, investigador científico del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, adscrita al Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia (IIAG-CSIC)

**CERTIFICA:**

Que el presente trabajo de investigación, titulado “*Impacto de diferentes agentes de extinción y prácticas de restauración post-incendio sobre la microbiota edáfica*”, que, para optar al grado de Doctora presenta Dña. Ana Isabel Barreiro Buján, ha sido realizado en el Departamento de Bioquímica del Suelo del Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia (IIAG-CSIC), bajo mi dirección, y que, considerando que representa trabajo de Tesis, autorizo su presentación en la Facultad de Biología de la Universidad de Santiago de Compostela.

Y para que así conste, a efectos oportunos, firmo el presente certificado en Santiago de Compostela a 30 de Mayo de 2016.

Fdo. Montserrat Díaz Raviña





Facultad de Biología

Departamento de Edafología y Química Agrícola

Universidad de Santiago de Compostela

Felipe Macías Vázquez, catedrático de Edafología y Química Agrícola de la Universidad de Santiago de Compostela, en su calidad de tutor de la licenciada en biología Ana Isabel Barreiro Buján,

#### CERTIFICA

Que considerando que la presente Memoria titulada *“Impacto de diferentes agentes de extinción y prácticas de restauración post-incendio sobre la microbiota edáfica”*, constituye trabajo de Tesis Doctoral, autorizo su presentación en el Departamento de Edafología y Química Agrícola de la Universidad de Santiago de Compostela a fin de que pueda ser juzgada por el Tribunal correspondiente.

Y para que así conste, a efectos oportunos, firmo el presente certificado en Santiago de Compostela a 30 de Mayo de 2016.

Fdo. Felipe Macías Vázquez



## **AGRADECEMENTOS**

En primeiro lugar quero mostrar o meu agradecemento ó programa de Formación de Profesorado Universitario (PFU) por concederme a beca que me permitiu completar os meus estudos de doutoramento, e o “Consejo Superior de Investigaciones Científicas” (CSIC) por acollerme para a realización dos mesmos.

Esta tese é o resultado de moitos anos de traballo, esforzo e ilusión, pero que non podería ter finalizado sen o apoio e a axuda de moita xente. Quero agradecer especialmente a:

Felipe Macías, por aceptar ser o meu titor.

Montse, polo teu apoio incondicional o longo de todo este tempo, por confiar en min, e por ensinarme o que supón ser científica.

Angela, por ensinarme a traballar tan ben no laboratorio, por tódalas horas que lle dedicaches o cromatógrafo para que eu puidera ter datos e por todo o que axudaches na recta final da tese.

Tarsy, por transmitirme o teu amor pola ciencia, e por estar sempre disposta a votarme unha man.

Serafín, por estar aí sempre que te precisei, dende as dúbidas estatísticas ata usar o teu gran dominio do Photoshop.

Maite, por axudarme nos inicios da miña tese, cando tiña mil dúbidas sobre o traballo de laboratorio, pero afortunadamente ti sempre estabas disposta a axudar.

Chus, por esas conversas tan enriquecedoras durante os mostreos e por darme moi bos consellos.

Jorge, polo apoio prestado no laboratorio e no campo e por axudarme coas dúbidas que foron xurdindo o longo destes anos.

Os investigadores de Lourizán, José Antonio, Techu e Cristina, gracias pola colaboración realizada nos proxectos de investigación.

Fina e a Belén, por alegrarme o café tódolos días, e ter sempre unha palabra amable e un sorriso.

María, por ser un apoio firme e decidido tanto mostreos coma nos debates variopintos da hora do café.

A todos os becarios do IIAG-CSIC, que compartimos penas e alegrías durante todos estes anos, moitas gracias pola vosa amizade.

Alba, xuntas comezamos a tese, e durante estes anos vivimos momentos bos e malos. Gracias por estar sempre ahí apoiándome e axudándome en todo. Sobre todo gracias por solventar tan eficazmente todos os problemas burocráticos variados que tivemos! Non ai cartos que paguen todo o que fixeches por min.

Erland: Thank you very much for accepting me in your laboratory, my stay in Lund was really enriching. Thank you for your patience and all your help.

Sophie: Thank you for teach me the ergosterol technique, I really enjoy working with you.

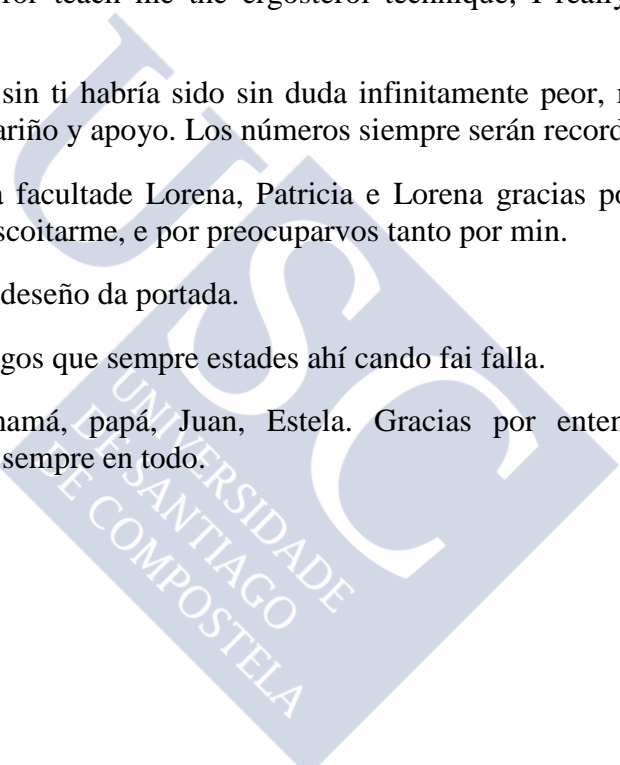
Ainara: Mi estancia sin ti habría sido sin duda infinitamente peor, muchas gracias por todo tu cariño y apoyo. Los números siempre serán recordados.

As miñas compis da facultade Lorena, Patricia e Lorena gracias por estar sempre dispostas a escoitarme, e por preocuparvos tanto por min.

Lidia, por facerme o deseño da portada.

A todos os meus amigos que sempre estades ahí cando fai falla.

A miña familia: mamá, papá, Juan, Estela. Gracias por entenderme, aturarme e apoiarme sempre en todo.



## ÍNDICE

1- INTRODUCCIÓN.....	11
1.1. Impacto de los incendios forestales.....	11
1.2. Extinción de los incendios forestales: Impacto de los agentes retardantes de llama.....	17
1.3. Actuaciones post-incendio: Tratamientos de rehabilitación de emergencia... ..	20
2- OBJETIVOS.....	25
3- MATERIAL Y MÉTODOS .....	27
3.1. Descripción de las zonas de muestreo.....	27
3.2. Descripción de la experiencia de laboratorio.....	31
3.3. Métodos de caracterización de los suelos.....	32
4- RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	37
4.1. Efecto de los agentes retardantes de llama sobre la microbiota edáfica.....	37
4.2. Efecto de los tratamientos de restauración sobre la microbiota edáfica.....	46
4.2.1. Experiencia de campo .....	46
4.2.2. Experiencia de laboratorio .....	57
5- CONCLUSIONES .....	63
6- SUMMARY AND CONCLUSIONS.....	65
7- BIBLIOGRAFÍA .....	71

## ANEXOS

Esta tesis está basada en los siguientes artículos:

- I** Barreiro, A., Martín, A., Carballas, T., Díaz-Raviña, M. 2010. Response of soil microbial communities to fire and fire-fighting chemicals. *Science of the Total Environment*, 408: 6172 – 6178.

FI: 3,190 Environmental Sciences 26/193

- II** Barreiro, A., Martín, A., Carballas, T., Díaz-Raviña, M. 2016. Long-term response of soil microbial communities to fire and fire-fighting chemicals. Manuscrito enviado (en revisión).

- III** Fontúrbel, M.T., Barreiro, A., Vega, J.A., Martín A., Jiménez, E., Carballas, T., Fernández, C., Díaz-Raviña M. 2012. Effects of an experimental fire and post-fire stabilisation treatments on soil microbial communities. *Geoderma* 191:51-60.

FI: 2,178 Soil Sciences 5/32

- IV** Barreiro, A., Fontúrbel, M.T., Lombao, A. Martín, A., Vega, J.A., Fernández, C., Carballas, T., Díaz-Raviña, M. 2015. Using phospholipid fatty acid and community level physiological profiling techniques to characterize soil microbial communities following an experimental fire and different stabilization treatments. *Catena* 135: 419-429.

FI: 2,820 Soil Sciences 5/34

- V** Barreiro, A., Bååth, E., Díaz-Raviña, M. 2016. Bacterial and fungal growth in burnt acid soils amended with different C/N mulch materials. *Soil Biology and Biochemistry* 97:102-111.

FI: 3,932 Soil Sciences 1/34

## **1- INTRODUCCIÓN**

### **1.1. IMPACTO DE LOS INCENDIOS FORESTALES**

Los bosques, que cubren alrededor del 30 % de la superficie de la Tierra (FAO, 2012), juegan un papel muy importante en el secuestro y almacenamiento de carbono en los ecosistemas terrestres. Una de las perturbaciones más importantes que sufren estos ecosistemas son los incendios forestales y, en el actual escenario de cambio climático, el riesgo de que se produzcan eventos de fuego extremo aumenta considerablemente (IPCC, 2014). Bowman et al. (2009) estiman que los incendios relacionados con los procesos de deforestación contribuyen con un aumento de 0,65 Pg de C por año en la atmósfera.

A pesar de los esfuerzos realizados para evitarlos, los incendios se repiten, año tras año, por todo el mundo debido a razones tan variadas como la existencia de períodos de sequía que causan brotes de incendios, la falta de predicción del desarrollo de grandes desastres a partir de incendios ordinarios, las dificultades del uso de maquinaria pesada en zonas de difícil acceso o la falta de un buen método para evaluar económicamente la efectividad de los trabajos de extinción de los incendios (Volokitina et al., 2008). En el año 2000 se estimó que en todo el mundo la superficie afectada por los incendios fue de 350 millones de ha, siendo arbolada, es decir, ocupada por bosques, la mayoría de esta área (FAO, 2006). En la zona mediterránea, una de las más afectadas del mundo, los incendios forestales son considerados como uno de los desastres ecológicos de mayor relevancia que afecta a una superficie de entre 700.000 y 1 millón de ha y que son causados por las actividades del hombre en un 95 % de los casos (FAO, 2006). La frecuencia de los incendios en esta zona ha aumentado significativamente sobre todo a partir de los años 70. Dentro de esta área, en comparación con el resto de Europa (European Commission, 2010), Galicia, localizada en el NO de la Península, destaca como una de las zonas con mayor frecuencia de incendios.

En la Comunidad Autónoma de Galicia los bosques ocupan una extensión de 2.030.681 ha, que representa cerca del 70 % de la superficie de la Comunidad (MAGRAMA, 2011). Esta gran extensión de superficie forestal es uno de los factores de riesgo para la proliferación de los incendios forestales. En la década 2001-2010 un 42 % de los siniestros relacionados

## *Introducción*

con los incendios forestales que sucedieron en España tuvieron lugar en Galicia, que solo ocupa un 6 % de su superficie; además, el 25 % de los grandes incendios forestales de España sucedieron también en Galicia, resultando afectadas por el fuego unas 577.000 ha, de las cuales un 30 % era superficie arbolada y un 23 % superficie no arbolada (MAGRAMA, 2012). En este período de tiempo cabe destacar como especialmente dramático el año 2006, en el que se quemaron 93.888 ha y se produjeron graves eventos erosivos (Carballas et al., 2009), lo que marcó un punto de inflexión a partir del cual la administración pública empezó a tomar medidas para mitigar los daños causados por el fuego.

Galicia, debido a su clima templado-húmedo y a su tipo de vegetación natural, con el robledal como vegetación clímax, se considera en general un área de bajo riesgo de incendios (Díaz-Fierros et al., 1982). Los bosques autóctonos, formados principalmente por especies caducifolias (roble, castaño, abedul, fresno, álamo) son resistentes al fuego debido a: a) determinan un ambiente húmedo incluso en verano, b) son especies que no arden fácilmente, c) en su sotobosque se acumula poco combustible. Sin embargo, los incendios proliferan año tras año, no sólo debido a su gran superficie forestal, sino también por actividades humanas tales como determinadas prácticas agrícolas pero sobre todo por la introducción masiva de especies alóctonas o invasoras, que producen diversas modificaciones en el ecosistema, tales como un microclima más seco, hojarasca más difícil de descomponer, mayor acumulación de matorral y alta densidad de las plantaciones. Estas nuevas especies introducidas en distintos procesos de repoblación, principalmente pino y eucalipto, son pirófitas, es decir, rebrotan con facilidad después del fuego y no presentan apenas resistencia a su paso. La despoblación de las zonas rurales es otro factor que favorece los incendios, porque ha disminuido la presión agrícola y ganadera que contribuía a un manejo eficiente de los recursos agrícolas y forestales, produciéndose un incremento del combustible disponible y creando unas condiciones favorables para la rápida expansión del fuego. En este caso, las quemadas prescritas pueden controlar el exceso de combustible pudiendo considerarse que ejercen un efecto beneficioso para el ecosistema.

Los incendios producen enormes problemas ecológicos, económicos y sociales, debido principalmente a la destrucción de la vegetación, la alteración de los recursos acuáticos y a la degradación del suelo (Neary et al., 2005). El grado de afectación del suelo por el incendio depende de factores como la intensidad y severidad del incendio, o la capacidad de amortiguación de los cambios que tenga el ecosistema. La intensidad del fuego describe el proceso de combustión física y la liberación de energía, mientras que la severidad evalúa los efectos de los incendios forestales en el ecosistema (Keeley, 2009).

## *Introducción*

El tipo de incendio también influye en los efectos que causa y, clásicamente, se distinguen tres tipos (Fernández, 1997):

- Fuegos de superficie: afectan a los restos vegetales que están sobre la superficie del suelo y a los estratos inferiores del bosque (vegetación herbácea y arbustiva).
- Fuegos de copa: se originan generalmente a partir de fuegos de superficie que alcanzan el nivel de las copas de los árboles, consumen el follaje y destruyen la cobertura forestal, propagándose de copa a copa y siguiendo a partir de entonces su propia evolución, independientemente de los niveles inferiores.
- Fuegos subterráneos: se propagan por el interior de la capa orgánica, destruyendo el humus edáfico, la hojarasca y la biomasa microbiana y dañando las raíces de los árboles; se trata de fuegos lentos, sin llama y apenas sin humo que suelen ser persistentes y muy destructivos, afectando a la estructura del suelo. Un ejemplo clásico de este tipo de fuegos son los incendios de turberas.

El fuego puede afectar al suelo de forma directa, debido al calentamiento, modificando sus propiedades físico-químicas, químicas y biológicas, y por consiguiente la calidad del suelo (Mataix-Solera et al., 2002; Certini, 2005; Carballas et al., 2009; Díaz-Raviña et al., 2010, 2012; Martín et al., 2012; Carballas, 2014; Carballas et al., 2015; Lombao et al., 2015); o de forma indirecta, sobre todo por destrucción de la cubierta vegetal, favoreciendo los procesos de erosión post-incendio. La mayor parte de los impactos de los incendios sobre los suelos derivan en gran medida de los efectos a corto y medio plazo sobre las propiedades del suelo, especialmente sobre la composición, propiedades y dinámica de la materia orgánica (Certini, 2005; Almendros y González-Vila, 2012; Carballas, 2014; Carballas et al., 2015).

En general, los incendios forestales al destruir o reducir la materia orgánica y modificar profundamente su composición química y microbiológica, inciden negativamente en casi todas las propiedades del suelo, disminuyendo su calidad y alterando su funcionamiento (Carballas et al., 2009). Se produce un aumento del pH y de la conductividad eléctrica, debido a las sales procedentes de las cenizas. La estructura, ya de por sí frágil, disminuye al destruirse los agregados por combustión de la materia orgánica que es el cemento que une las partículas que los forman, y éstas, por impacto directo del agua de la lluvia sobre el suelo, por la falta de intercepción por las plantas al desaparecer la cubierta vegetal, pueden ser dispersadas y obturar los poros del suelo, disminuyendo la infiltración del agua en el suelo y aumentando la escorrentía, lo que favorece la erosión post-incendio (Carballas, 2014). La capacidad total de cambio disminuye, sobre todo por la pérdida de  $H^+$  de cambio, catión predominante del complejo de cambio, por combustión de los ácidos orgánicos, y si bien

## *Introducción*

aumentan ligeramente los cationes de cambio, procedentes de las cenizas, los suelos siguen siendo desaturados. El fuego destruye las formas lábiles de C y N (C y N hidrosolubles, biomasa microbiana) y los compuestos menos lábiles (carbohidratos, lípidos y materia orgánica no humificada), produciéndose un aumento de los compuestos recalcitrantes al ataque microbiano (lignina, humina, ácidos húmicos, compuestos órgano-Al y N residual), que constituyen el compartimento mayor y más estable de la materia orgánica, ralentizando de este modo la mineralización de C y N y la liberación de nutrientes, y retrasando así la revegetación natural de los suelos quemados, lo que también favorece la erosión (Carballas et al., 2009; 2014; Martín et al., 2012; Malowerschnig y Sass, 2014; Hyde et al., 2016).

El calentamiento del suelo, en general, resulta letal para los microorganismos y con frecuencia, inmediatamente después del incendio se produce la esterilización parcial o total del suelo; en consecuencia, la densidad y la biomasa microbianas pueden descender hasta niveles indetectables en la mayoría de los casos. El número y la diversidad taxonómica de los microorganismos del suelo puede ser modificada por el fuego de diferentes maneras: por sensibilidad diferencial al calor, diferentes estrategias de supervivencia o colonización, sensibilidad diferencial a las modificaciones en las propiedades del suelo, cambios en el microclima del suelo, destrucción y creación de nuevos nichos ecológicos o por cambios en la biomasa y la composición de las especies vegetales (Mataix-Solera et al., 2009). Los cambios en el pH del suelo provocan cambios en la proporción entre hongos y bacterias (Entry et al., 1986; Mataix-Solera et al., 2002), porque tienen diferentes pH óptimos. Las bacterias son capaces de sobrevivir al calentamiento del suelo mejor que los hongos (Vázquez et al., 1993; Acea y Carballas, 1996a) y dentro de éstas las bacterias Gram-negativas son más sensibles al calor que las Gram-positivas (Mabuhay et al., 2003, 2006). En lo que respecta a la diversidad funcional, a largo plazo el efecto del quemado probablemente será nulo sobre los amonificantes, algo negativo sobre los celulolíticos y amilolíticos y ligeramente positivo sobre los formadores de nitritos y nitratos (Acea y Carballas, 1996a). En términos generales, los microorganismos mineralizadores de las sustancias nitrogenadas resultan más favorecidos por el incendio que los mineralizadores de los compuestos de carbono. La actividad enzimática general del suelo resulta casi completamente inactivada después del quemado, lo que se atribuye a su naturaleza proteínica y a las elevadas temperaturas alcanzadas en el suelo; las enzimas se inactivan completamente a unos 180 °C (Skujins, 1967) y se inactivan de forma parcial entre 60 y 70 °C.

En general, la capacidad y tasa de mineralización del C y del N, disminuye después de un incendio al agotarse las sustancias más lábiles y quedar las más recalcitrantes al ataque microbiano, con el consiguiente retardo en la

## *Introducción*

liberación de nutrientes. Este comportamiento sólo cambia cuando se produce la revegetación, que suministra de nuevo compuestos orgánicos lábiles a los microorganismos, lo que puede producirse a partir de 2 años después del incendio, pero la recuperación de los índices de mineralización puede tardar hasta 5 o 10 años después del quemado, cuando las reservas de C y N lábiles recobran los valores del suelo no perturbado debido a una total recuperación de la cubierta vegetal.

Recientemente, en el estudio de la microbiota edáfica de los suelos quemados, se ha aplicado con éxito el análisis de biomarcadores moleculares, como los ácidos grasos de los fosfolípidos (PLFA) y los ácidos nucleicos (DNA y RNA) (Díaz-Raviña et al, 2010). Estas técnicas, al no conllevar el uso de medios de cultivo, permiten conocer el impacto de los incendios forestales sobre la composición de la microbiota edáfica a nivel de la comunidad y, por consiguiente, tienen una mayor relevancia ecológica (Frostegård et al., 1993; Bossio y Scow, 1998; Zelles, 1999).

Uno de los principales problemas de los incendios no controlados son los efectos indirectos causados por la erosión post-incendio. La pérdida de suelo asociada a los procesos erosivos es considerada frecuentemente como una de las perturbaciones ambientales más severa provocada por los incendios forestales (Certini, 2005; Bowman et al., 2009) debido a que aumentan la escorrentía y la erosión, fenómenos que pueden causar riadas e inundaciones, así como la degradación del suelo. La erosión consiste en la separación, desprendimiento o inicio del movimiento de agregados o partículas de suelo desde agregados o partículas colindantes y su arrastre dentro de un fluido (Moody and Martin, 2009). La erosionabilidad del suelo es, según Lal (1988), consecuencia del efecto integrado de los procesos que controlan la infiltración de la lluvia y la resistencia al arranque y el subsiguiente transporte de las partículas del suelo. Las propiedades del suelo que más influyen en su erosionabilidad son la composición granulométrica, la cohesión, y la organización estructural (Díaz-Fierros y Benito, 1996), así como la cantidad de materia orgánica, aumentando la tasa de erosión considerablemente por debajo de un 4 % de materia orgánica (Benito y Díaz-Fierros, 1989). Díaz-Fierros et al. (1982) definen los principales factores que controlan la erosión:

- Potencial erosivo de la lluvia: Regulado por dos factores, la intensidad de la lluvia y la capacidad de la misma para el arrastre superficial de las partículas de suelo.
- Protección de la cubierta vegetal: Actúa como amortiguador del impacto de la lluvia sobre el suelo y como superficie evaporante que consigue que una parte del agua de lluvia vuelva a la atmósfera y no alcance el suelo.

## *Introducción*

En Galicia, los suelos, de forma natural, no son muy erosionables (Díaz-Fierros y Benito, 1996) debido a que tienen una gran cantidad de materia orgánica (Trasar-Cepeda et al., 2000), lo que le confiere una buena estabilidad estructural, capacidad de infiltración y resistencia a la erosión (Martín et al., 2012); y una cobertura vegetal muy elevada (Díaz-Fierros et al., 1982) que protege el suelo. Sin embargo, muchas masas forestales se encuentran en lugares de fuertes pendientes que pueden favorecer la escorrentía y la erosión en caso de producirse un incendio. La alta productividad de nuestros bosques también es un factor a tener en cuenta; en ausencia del fuego el matorral fija el suelo, pero también es una carga de combustible elevada en caso de producirse un incendio. Los suelos de Galicia presentan también, de forma natural, una elevada repelencia al agua y el fuego puede modificar la posición de esta capa hidrófoba (Varela et al., 2005), provocando, en último caso, un incremento de las tasas de escorrentía y de erosión del suelo. En los casos en que el suelo no presenta esta repelencia de forma natural, el incendio puede provocarla, generando un incremento de la erosión aunque el suelo tenga elevados valores de materia orgánica (Cerdá y Doerr, 2005; Shakesby et al., 2007).

La escorrentía en Galicia presenta una correlación mayor con la precipitación que con la intensidad de la lluvia (Vega et al., 2005), lo que sugiere un flujo superficial originado por la saturación del perfil. El descenso de la transpiración, consecuencia de la destrucción de la vegetación por el incendio, puede favorecer esta saturación. Aunque de forma natural los suelos gallegos tienen una baja tasa de erosión, los incendios provocan un incremento drástico de la misma, debido fundamentalmente a los eventos erosivos que se producen en otoño e invierno, inmediatamente después de los incendios, sin que la vegetación tenga tiempo de recuperarse y, por lo tanto, de proteger el suelo. El hecho de que los incendios sean recurrentes, y se quemen las mismas áreas cada cierto número de años, contribuye a la degradación y pérdida de fertilidad del suelo (Soto et al., 1997). En Galicia se han detectado grandes eventos erosivos como consecuencia de las lluvias producidas después de los incendios forestales, como por ejemplo el que ocurrió en el otoño del 2006, en el que sólo en tres pequeñas cuencas fluviales de la ría de Pontevedra se erosionaron unas 34.000 toneladas de suelo, de las cuales un 10 % fue a parar al mar (Carballas et al., 2009).

Un 30 % de cobertura vegetal del suelo es considerada habitualmente como el valor mínimo necesario para empezar a ejercer un papel protector significativo sobre el control de la erosión (Thornes, 2005). Si el suelo tiene menos de un 10 % de su superficie cubierto con plantas u hojarasca, la escorrentía superficial puede incrementarse más de un 70 % y la tasa de erosión puede incrementarse en tres órdenes de magnitud (DeBano et al.,

## *Introducción*

1998). A corto y medio plazo la vegetación juega un papel esencial en la reducción del riesgo hidrológico-erosivo, al limitar el impacto directo de la lluvia sobre el suelo, debido a la cobertura que le suministra, mejora la infiltración, actúa sobre el contenido de agua en el suelo y ejerce una sujeción de éste con su sistema radical, entre otras funciones (Brooks et al., 2003). Por lo tanto, tras el paso del fuego, cuando el suelo está desnudo y es altamente susceptible a sufrir erosión post-incendio (fuerte pendiente, incendios de severidad alta, riesgo de lluvias) es necesario recurrir a técnicas de protección del suelo con el fin de acelerar la recuperación de la cubierta vegetal (siembra de herbáceas) o proteger directamente el suelo con un acolchado (“mulching”).

## **1.2. EXTINCIÓN DE LOS INCENDIOS FORESTALES: IMPACTO DE LOS AGENTES RETARDANTES DE LLAMA**

La lucha integral contra los incendios forestales comprende: la prevención, la extinción, la evaluación de los impactos producidos por el fuego y la restauración de los ecosistemas forestales quemados. Por lo que respecta a la investigación, la mayoría de los estudios se han centrado en el impacto a corto o medio plazo de los incendios de diferente intensidad sobre el suelo (ver apartado anterior). En cuanto a la partida económica destinada a la lucha contra incendios, históricamente se han invertido la mayor parte de los recursos en apagar los incendios, pocos en prevenirlos y escasos en el estudio de su impacto en los suelos o en la vegetación (Jordán y Cerdá, 2010). Sin embargo, en muchas ocasiones el impacto de las actividades de extinción del incendio puede ser mayor que el que genera el propio incendio (Pyne, 1984; Mohr, 1989), aunque a veces sea difícil diferenciarlos. La erosión puede producirse debido tanto al fuego como a las actividades de extinción, como por ejemplo la apertura de cortafuegos, carreteras temporales, bases para helicópteros o actividades de rehabilitación (Robichaud, et al., 2000). Backer et al. (2004) hacen una revisión pormenorizada del impacto que pueden generar las distintas actividades que se llevan a cabo en el proceso de extinción, sobre los distintos elementos del ecosistema (Tabla 1).

Actualmente está generalizado el uso de los agentes retardantes de llama en los trabajos de extinción de incendios. Estos compuestos químicos pueden producir efectos negativos en la vegetación, debido a que disuelven las ceras protectoras de las plantas, haciéndolas más sensibles a otros daños (Tamura et al., 2001), o en los cursos de agua, provocando procesos de eutrofización (Landsberg y Tiedemann, 2000), o toxicidad para los organismos acuáticos (Gaikowski et al., 1996).

*Introducción*

Tabla 1: Impactos asociados con la extinción de incendios (Backer et al., 2004).

<b>Elemento afectado</b>	<b>Impacto</b>	<b>Fuentes potenciales</b>
TIERRA	Compactación del suelo	Campamentos Cortafuegos Bases aéreas Construcción de carreteras
	Erosión	Cortafuegos Construcción de carreteras
	Introducción de especies alóctonas	Campamentos Cortafuegos Bases aéreas Actividades de restauración (semillas, paja)
	Introducción de residuos	Campamentos Cortafuegos Material de ignición Actividades de restauración
	Reducción del hábitat Contaminación del suelo	Retirada de troncos Retirada de tocones Derrame de combustible
AIRE	Contaminación del aire	Combustibles fósiles
	Contaminación sonora	Apoyo aéreo
	Contaminación visual	Incremento del tráfico aéreo
AGUA	Sedimentación	Canalizaciones Campamentos Cortafuegos Construcción de carreteras
	Turbidez	Aviones anfibio Toma de agua para extinción
	Mortalidad de los peces	Retardantes
	Eutrofización	Fertilizantes Retardantes
	Contaminación	Campamentos Retardantes Derrame de combustible Actividades de restauración (introducción de materiales sintéticos)

## *Introducción*

La efectividad de estos compuestos en la lucha contra el fuego (Blakely, 1990; Giménez et al., 2004) y el alarmante incremento tanto del número como del tamaño de los incendios, hace que su uso sea cada vez más frecuente en todo el mundo, utilizándose extensivamente desde hace años en diferentes países, como por ejemplo en el área mediterránea, donde se aplican anualmente unas 2.000 toneladas de retardantes de llama para combatir los incendios (Luna et al., 2007). Básicamente, son una mezcla de agua y sales inorgánicas que están habitualmente presentes en los fertilizantes agrícolas (amonio, sulfatos y fosfatos), con distintos aditivos como espesantes, surfactantes, estabilizadores, humectantes y solventes. Estos compuestos químicos que provocan que el agua sea más densa y hace el combustible menos inflamable, se aplican normalmente en los frentes de los incendios o en sus flancos, para reducir la intensidad del fuego y su capacidad de expansión. Su efectividad dependerá de la cantidad de retardante aplicado por unidad de superficie (Basanta et al., 2002). De acuerdo con su modo de actuación se clasifican en:

- Retardantes a largo plazo: Inhiben la combustión incluso después de la evaporación de la matriz acuosa. Contienen sales que forman una barrera de combustión entre el fuego y el combustible (Adams y Simons, 1999).
- Retardantes a corto plazo: Pierden su eficacia cuando se evapora el agua. Contienen agentes humectantes que reducen la tensión superficial del agua y aumenta su capacidad para reducir la propagación del fuego.

A pesar del uso habitual de los retardantes, existe relativamente poca información con relación al impacto que generan en el medio ambiente. Varios estudios muestran que estos compuestos pueden causar efectos medioambientales adversos cuando la concentración o la intensidad de su uso es lo suficientemente grande como para que los compuestos puedan entrar en las plantas, suelos, y aguas superficiales y sub-superficiales (Bradstock et al., 1987; Adams y Simons, 1999; Kalabodikidis, 2000; Giménez et al., 2004; Cruz et al., 2005; Pappa et al., 2006). La descarga de los retardantes en el medio ambiente puede ser tóxica a corto plazo para los organismos, debido a la liberación de amonio disponible (Giménez et al., 2004) o a la dificultad a la degradación que presentan (Sutherland et al., 1997). Estos compuestos se aplican, normalmente, en áreas naturales o zonas ambientalmente sensibles; por esta razón es necesario determinar los efectos que puede tener su aplicación en los ecosistemas terrestres (Basanta et al., 2002).

### **1.3. ACTUACIONES POST-INCENDIO: TRATAMIENTOS DE REHABILITACIÓN DE EMERGENCIA**

La actual Ley de Montes de Galicia (7/2012 de 28 de junio) resalta la necesidad de tomar medidas de restauración hidrológico-forestal en áreas forestales afectadas por incendios. Para llevar a cabo estas medidas se requiere el desarrollo de planes de contingencia, que planifiquen una serie de acciones urgentes después del incendio. En otros países como Canadá, Australia, o sobre todo Estados Unidos (Keane y Parsons, 2010), estos planes se han instaurado hace décadas pero en España su aplicación es más reciente. En Galicia ha sido publicada recientemente una guía de planificación de acciones urgentes contra la erosión en áreas forestales quemadas (Vega et al., 2013), y los gestores están empezando a aplicarlas en el campo. La decisión de dónde y cuándo se van a realizar este tipo de actuaciones requiere una evaluación de la severidad del incendio, el clima, los suelos, la topografía, la cuenca hidrográfica y los recursos que están en riesgo de ser dañados (Robichaud et al., 2009). Las actuaciones post-incendio pueden dividirse en: inmediatas, a corto, medio y largo plazo (Robichaud, 2009; Vega et al., 2013):

- Acciones inmediatas y a corto plazo: son medidas urgentes llevadas a cabo para evitar la erosión y la degradación del suelo. Estas medidas se conocen como “Tratamientos de rehabilitación de emergencia” (Robichaud et al., 2009) y su finalidad es frenar la degradación del suelo, reducir la erosión y la escorrentía, conservar redes de drenaje y viarias, conservar cauces y favorecer la regeneración natural de la cubierta vegetal.
- Acciones a medio plazo: Se desarrollan entre 1 y 3 años después del incendio y se conocen como “Tratamientos de rehabilitación”. Se centran en mitigar los daños producidos en los ecosistemas afectados y acelerar su recuperación. Dentro de esta categoría se incluyen actividades como tratamientos de clareo, nuevas plantaciones, recuperación de bosques autóctonos, control de plantas invasoras o actividades para favorecer la recuperación de la fauna.
- Acciones a largo plazo: Se conocen como “Acciones de restauración post-incendio” y se llevan a cabo a partir de los 3 años después del incendio. Las actividades de esta categoría están orientadas a la recuperación de la productividad, reducción de la combustibilidad, recuperación de la resiliencia y a favorecer la biodiversidad y calidad del ecosistema.

Sin embargo, el European Glossary for Wildfires and Forest fires (2012) describe la restauración como “término colectivo para cualquier acción

## *Introducción*

llevada a cabo con el fin de reducir y gestionar el impacto de los incendios”, por lo cual con el término “restauración” nos podríamos referir a cualquiera de las actuaciones anteriores.

Los tratamientos de rehabilitación de emergencia deben aplicarse inmediatamente después del incendio para que sean eficaces, porque los eventos de erosión más graves de suelos quemados se producen poco después de los incendios (Díaz-Fierros, 1982). En Galicia el tiempo de respuesta debe ser lo más breve posible, debido a las abundantes lluvias de otoño, que provocan eventos de erosión en las áreas que se incendian en verano, la época de mayor riesgo. Básicamente existen dos clases de tratamientos: los efectuados en laderas, diseñados para reducir la escorrentía y la erosión en ellas, y los efectuados en los cauces, diseñados con el objetivo de retener sedimentos, estabilizar las laderas y disminuir la energía de la corriente.

Los principales tipos de tratamientos en ladera son:

- Siembra: Consiste en la siembra de plantas herbáceas para favorecer la regeneración de la cubierta vegetal. Este tratamiento ha sido ampliamente utilizado en los tratamientos post-incendio, pero se ha demostrado que su eficacia es limitada (Peppin et al., 2010). Las gramíneas son el grupo de plantas más adecuado para este tratamiento, gracias a su extenso sistema radical, que mejora las condiciones de infiltración del suelo e incrementa la resistencia del suelo, favoreciendo la disminución de la erosión. La variante de hidrosiembra, en la que se usan semillas pre-germinadas mezcladas con aditivos que favorecen la permanencia de las semillas, también se puede aplicar en suelos quemados, pero puede presentar problemas técnicos y sobre todo económicos, porque este tratamiento tiene un elevado coste.
- Mulching (acolchado): Consiste en la aplicación de restos vegetales sobre la superficie del suelo para crear una cubierta protectora, más o menos continua, del mismo. Se emplean diversos materiales, desde restos agrícolas vegetales (trigo, cebada, arroz) hasta subproductos forestales (restos de poda, desbroces, residuos de corta, fragmentos de corteza, ramas y troncos, astillas de madera, etc.). Este tratamiento reduce la escorrentía superficial y la erosión mediante tres procesos: a) aumento de la intercepción de la lluvia, b) reducción de la energía cinética de las gotas de lluvia, c) limitación del movimiento del flujo superficial de agua. El mulching presenta una alta eficiencia en la protección del suelo frente a la erosión (Bautista et al., 2009; MacDonald y Larsen, 2009; Robichaud et al., 2013a), sobre todo el tratamiento con paja. La eficacia de los mulch de restos forestales está menos estudiada, pero parecen ser más

## Introducción

efectivos cuando la severidad del incendio es moderada (Prats et al., 2012), o cuando se emplean elevadas cantidades del mulch (Kim et al., 2008). La variante de hidromulch consiste en una mezcla de diversas fibras orgánicas, estabilizadores, agua, agentes de suspensión y semillas. Este tratamiento tiene un coste muy elevado y su efectividad resultó ser menor de la esperada (Robichaud et al., 2013 a, b).

- Mulching + siembra: Consiste en aplicar conjuntamente ambas técnicas
- Poliacrilamidas: Consisten en una serie de compuestos químicos, copolímeros de la acrilamida, que se utilizan como acondicionadores del suelo. Su uso en suelos quemados es escaso.
- Fajinadas: Tratamiento ampliamente utilizado en las acciones post-incendio, que consiste en formar una barrera con troncos que sirva de presa de los sedimentos. A pesar de su amplio uso su efectividad ha sido puesta en duda recientemente (Robichaud et al., 2010).
- Banquetas o albarradas: Son estructuras de piedra formando escalones.

Los tratamientos aplicados en los cauces son:

- Barreras transversales: Son obras de tamaño reducido situadas en regueros y cursos de agua pequeños que se utilizan para atrapar sedimentos y otros materiales sólidos movilizados desde las laderas. Pueden fabricarse con balas de paja, troncos o piedras.
- Estabilizadores del lecho: Estabilizan los cauces disminuyendo la escorrentía y pueden fabricarse con troncos, rocas o madera.
- Reforzado de cauces con espigones o gaviones: Adecuado para cauces con alto riesgo de erosión.
- Desviadores de caudal: Consiste en un encauzamiento de la escorrentía hacia los cauces.

Prácticamente no existe información sobre los efectos de los tratamientos de emergencia (mulching, siembra, etc.) sobre la microbiota edáfica de los suelos quemados. No obstante, se sabe que la adición de residuos vegetales en los suelos puede alterar alguna de las características de su comunidad microbiana (Barakah et al., 1995; Acea y Carballas, 1996b), sobre todo en el caso de un mulching de tipo orgánico (Bending et al., 2000) y también se ha demostrado que la adición de sustratos fácilmente degradables causan una rápida estimulación de la microbiota edáfica (Schlecht-Pietsch et al., 1994; Roldan et al., 1994).

El estudio del efecto del mulching de residuos vegetales en los microorganismos ha sido abordado por numerosos autores en suelos no quemados. Existen investigaciones sobre el efecto de la adición de

## *Introducción*

diferentes tipos de mulch sobre la microbiota edáfica de suelos de cultivo, tanto en experiencias de laboratorio (Henriksen y Breland, 1999; Bossuyt et al., 2001; Birge et al., 2015; Lu et al., 2015), como de campo (Ocio et al., 1991; Tiquia et al., 2002; Yang et al., 2003; Elfstrand et al., 2007; Muluma y Lal 2008; Siczed y Frac, 2011; Sofo et al., 2014; Tejada y Benítez, 2014; Marinari et al., 2015), así como sobre suelos forestales (Huang, et al., 2008). Sin embargo, la información sobre el efecto del mulching sobre la microbiota edáfica de suelos quemados es escasa, centrándose la mayoría de los estudios en su efectividad a la hora de frenar la erosión post-incendio (Robichaud et al., 2013a; Ferreira et al., 2015; Fernández y Vega, 2016), o en su efecto en la recuperación de la vegetación (Santana et al., 2014).

Por otra parte, a medio-largo plazo, los materiales vegetales usados como mulching se incorporarán al suelo y se descompondrán, pero prácticamente no hay información sobre los efectos del mulching en la biomasa y la actividad de las comunidades microbianas de los suelos quemados. Los principales microorganismos descomponedores, hongos y bacterias, presentan una diferente eficacia en el secuestro de carbono del suelo (Six et al., 2006), siendo, además, los hongos los que juegan un importante papel en la agregación del suelo. Varios estudios, realizados en condiciones de laboratorio, han mostrado que existen diferencias en la respuesta de los hongos y las bacterias frente a la adición de distintos sustratos (Meidute et al., 2008; Rousk and Bååth, 2007a). Estos aspectos tienen gran transcendencia después de un incendio ya que debido a las elevadas temperaturas alcanzadas durante la combustión tanto la estructura del suelo como la biomasa fúngica se destruyen.

En este contexto, cuando se comparan distintos tipos de tratamientos de estabilización post-incendio es importante evaluar la contribución de los hongos en los procesos de descomposición. El efecto del fuego y de los diferentes tratamientos de mulching, sobre los hongos y las bacterias, se determina habitualmente comparando la biomasa de ambos grupos de microorganismos (Aceá y Carballas, 1996a; Díaz-Raviña et al., 2006; Rutigliano et al., 2007; Kara y Bolat, 2009; Docherty et al., 2012). Las estimaciones de la biomasa microbiana son, sin embargo, menos sensibles que la medida directa de la actividad (Rousk and Bååth, 2011). En el presente trabajo se aborda, por primera vez, la contribución de los hongos y las bacterias en el proceso de descomposición de los distintos tipos de “mulching” incorporados a los suelos quemados (paja de trigo, fibra de coco, corteza de eucalipto, astillas de eucalipto).



## **2- OBJETIVOS**

Los incendios forestales representan un grave problema para los ecosistemas forestales gallegos, ocasionando graves problemas sociales, económicos y ecológicos. Durante la lucha integral contra los incendios forestales (prevención, extinción, evaluación de impactos y restauración de áreas quemadas) se aplican diferentes tratamientos que pueden afectar de forma directa o indirecta al sistema suelo-planta. Los problemas empiezan en el momento mismo de la extinción del incendio, con el uso indiscriminado de agentes retardantes de llama, que pueden causar efectos adversos en el medio ambiente. El propio incendio tiene unos efectos directos muy graves en el suelo, pudiendo disminuir su fertilidad y por tanto su calidad. Los incendios también causan graves efectos indirectos tales como la erosión post-incendio y para paliar estos daños se llevan a cabo distintos métodos de estabilización de suelo como la implantación temprana de una vegetación herbácea, la aplicación de acolchado o “mulching” de diferentes materiales y las barreras de erosión. La evaluación de los impactos de los incendios de diferente severidad sobre los suelos está muy estudiada; sin embargo, se dispone de muy poca información sobre el efecto de los agentes utilizados en la extinción y de las diferentes técnicas de estabilización del suelo sobre el sistema suelo-planta.

Los microorganismos del suelo son los responsables de la fertilidad del mismo, debido a que intervienen en los ciclos del C y de los nutrientes y en el proceso de mineralización del suelo, por el cual se liberan los nutrientes necesarios para el crecimiento de las plantas. El 80-90 % de los procesos que ocurren en el suelo son reacciones mediadas por los microorganismos. Los trabajos de numerosos autores han mostrado que la microbiota edáfica, aunque sólo representa un pequeño porcentaje de la materia orgánica del suelo (entre el 1-3 % del C orgánico), debido al poco tiempo que tarda en reciclarse, su papel como vía y fuente de nutrientes minerales para las plantas es mucho más importante de lo que en principio se creía. Por otra parte, la microbiota edáfica también puede utilizarse como un bioindicador o indicador temprano de los cambios producidos en la calidad del suelo como consecuencia de procesos de degradación y/o prácticas de conservación del suelo mucho antes de que tales cambios se detecten mediante análisis de las propiedades físicas, físico-químicas y químicas del suelo. Todo lo expuesto pone de manifiesto la importancia del estudio de la microbiota en los suelos quemados.

## *Objetivos*

La finalidad de este trabajo es estudiar mediante experiencias de campo y de laboratorio:

- a) El impacto, a corto, medio y largo plazo, de los agentes retardantes de llama utilizados con frecuencia en la extinción de los incendios (polifosfato, espumante y Firesorb) sobre la microbiota edáfica.
- b) El impacto de diferentes tratamientos de rehabilitación de emergencia de suelos quemados (siembra, mulching de paja) para el control de la erosión post-incendio sobre la microbiota edáfica. También se examinará, en condiciones de laboratorio, el efecto de la incorporación al suelo de diferentes tipos de “mulching” (paja de trigo, fibra de coco, corteza de eucalipto, astillas de eucalipto) sobre la actividad específica de los principales microorganismos descomponedores, es decir, sobre los hongos y las bacterias.

Para llevar a cabo estos objetivos se realizarán diferentes experiencias de campo que conlleven quemas controladas, con la consiguiente aplicación, en las dosis normales utilizadas en condiciones de campo, de los diferentes tratamientos a analizar. Por otra parte, la comparación del suelo sometido a la quema prescrita con un suelo control no quemado también nos permitirá evaluar los efectos del fuego sobre los microorganismos que viven en el suelo. Para la evaluación de los impactos se analizarán diversos parámetros microbianos tales como la biomasa microbiana, la respiración del suelo, las actividades enzimáticas específicas de los ciclos del C ( $\beta$ -glucosidasa), del N (ureasa) y del P (fosfatasa), la diversidad funcional (Biolog, degradación de diversos sustratos carbonados), la diversidad taxonómica o estructura de la comunidad microbiana (análisis de los ácidos grasos de los fosfolípidos) y la actividad de las bacterias y de los hongos (métodos de incorporación celular de sustratos marcados, leucina para la actividad bacteriana y acetato para la actividad fúngica).

### 3- MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1. DESCRIPCIÓN DE LAS ZONAS DE MUESTREO

Se establecieron dos parcelas experimentales, donde se llevaron a cabo sendas quemas controladas, en la provincia de Pontevedra, en los municipios de Tomiño (Alto da Pedrada) y A Estrada (monte Cabalar) (Figura 1). En la parcela de Tomiño se llevó a cabo el estudio del impacto de los agentes retardantes y en la parcela de A Estrada el estudio del impacto de las técnicas de protección del suelo contra la erosión post-incendio.

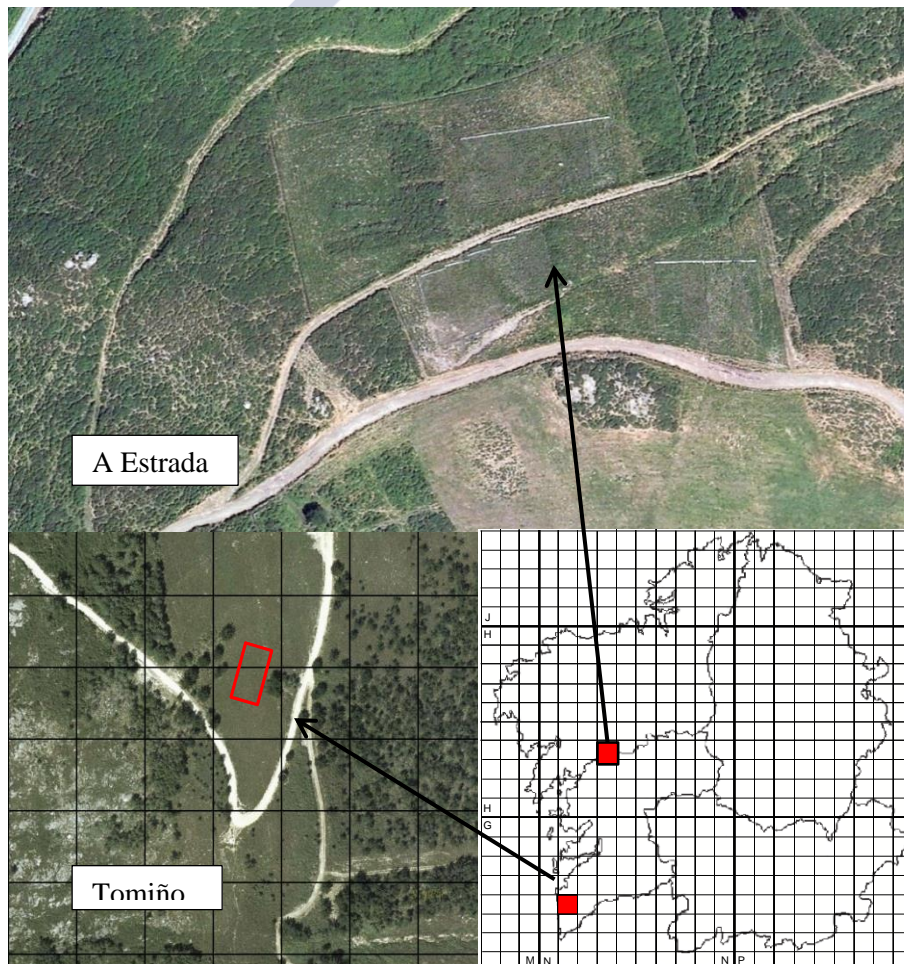


Figura 1: Localización de las áreas de estudio.

## Experiencia de Tomiño

Este estudio fue realizado en el Alto da Pedrada, Tomiño (Pontevedra), con coordenadas UTM 29T 05 182-46 509 y altitud 455 m sobre el nivel del mar. Esta área está dentro del Lugar de Importancia Comunitaria (LIC), Baixo Miño, localizado al suroeste de Pontevedra. Se trata de un matorral situado a media ladera de *Pterospartum tridentatum*, *Erica umbellata* y *Ulex europaeus*, con una menor presencia de *Ulex micranthus*, *Ulex minor* y *Erica cinerea*. El suelo, un Cambisol Húmico, se desarrolla sobre rocas graníticas (paragneises). En el campo se instalaron 20 parcelas, 4 no quemadas, como control, y 16 en las que se llevó a cabo una quema controlada. Se desbrozó el perímetro de las parcelas para facilitar la extinción del incendio y la recogida de las muestras. El fuego adquirió una velocidad de propagación e intensidad representativas de su comportamiento habitual en incendios. Se minimizaron los daños ambientales seleccionando un área de bajo interés ecológico y evitando la temporada de cría de la fauna silvestre. El área de estudio se aisló del ganado mediante un vallado de malla cinegética y alambre de espino

Después de la quema controlada, con el fuego extinguido pero con el suelo todavía caliente, los tratamientos fueron distribuidos en base a un diseño aleatorio en el que se establecían cuatro réplicas por tratamiento. Las parcelas de 4 x 4 m, se separaron 1 m entre sí; las cuatro réplicas de suelo no quemado se dispusieron a lo largo de la pendiente (18-19 %) pero separadas 6 m de las quemadas (Figura 2). Los tratamientos implementados fueron los siguientes:

- Suelo control no quemado (NQ)
- Suelo quemado + 2 l m<sup>-2</sup> de agua (Q)
- Suelo quemado + 2 l m<sup>-2</sup> de agua + Firesorb al 1,5 % (Q+F)
- Suelo quemado + 2 l m<sup>-2</sup> de agua + polifosfato amónico FR Cross al 20 % (Q+P)
- Suelo quemado + 2 l m<sup>-2</sup> de agua + espumante Auxquímica RFC-88 al 1 % (Q+E)

El principal criterio de selección de los retardantes fue su empleo generalizado en la extinción de incendios en España.

Las muestras de suelo se recogieron 1, 5 y 10 años después de la quema y de la adición de los agentes retardantes de llama. Después de apartar la hojarasca se recogieron, de cinco cuadrados de 15 x 15 cm uniformemente distribuidos por la parcela, muestras de la capa superficial del horizonte A del suelo (0-2 cm), menos en el último muestreo que también se recogió suelo de la capa subsuperficial (2-5 cm). Las muestras fueron tamizadas (2 mm) y cuidadosamente homogeneizadas antes de almacenarlas a 4°C.

Material y métodos

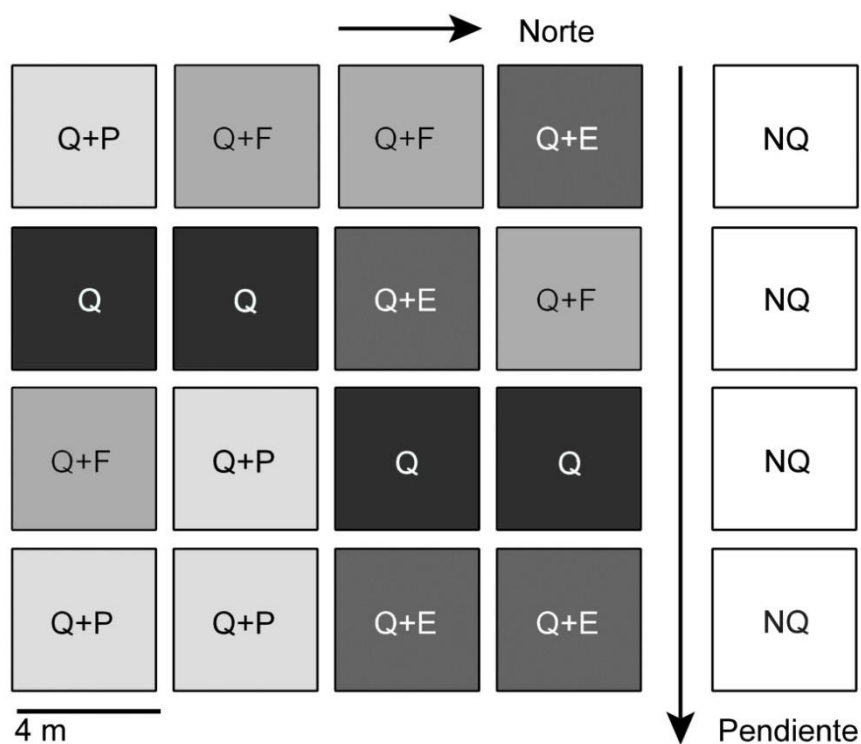


Figura 2: Distribución de las parcelas en el área de estudio de la experiencia de Tomiño

La densidad de los retardantes utilizados y su contenido en nutrientes, medidos mediante espectrometría de emisión óptica con fuente de plasma acoplada inductivamente (ICP-OES), se muestran en la Tabla 2.

	Espumante	Firesorb	Polifosfato amónico
Densidad (g l <sup>-1</sup> )	1013 ± 2	1024 ± 2	2710 ± 10
Na (g l <sup>-1</sup> )	19,7 ± 0,5	8,7 ± 0,1	10,2 ± 0,1
K (mg l <sup>-1</sup> )	22,8 ± 0,2	0,0 ± 0,0	1588 ± 11
Ca (mg l <sup>-1</sup> )	10,8 ± 0,4	38,5 ± 0,6	1210 ± 19
Mg (mg l <sup>-1</sup> )	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3124 ± 77
P (g l <sup>-1</sup> )	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,2	933 ± 5
N (g l <sup>-1</sup> )	3,7 ± 0,3	12,3 ± 0,6	683 ± 21

Tabla 2: Características de los tres retardantes de llama empleados (Datos tomados de Couto-Vázquez y González-Prieto, 2006.)

### Experiencia de A Estrada

Este estudio fue realizado en el monte Cabalar, A Estrada (Pontevedra), con coordenadas UTM 29T <sup>54</sup>1647 – <sup>47</sup>22097 y a 660 m de altitud. El suelo, desarrollado sobre granito y con una pendiente del 38-54 %, soporta una vegetación representativa de los matorrales de la zona con clima oceánico de Galicia, dominada por *Ulex europaeus*, *Pteridium aquilinum*, *Ulex gallii*, *Daboecia cantabrica* y *Pseudoarrehaterum longifolium*. Se instalaron 16 parcelas experimentales, de 10 x 30 m: 4 parcelas control no quemadas y 12 parcelas en las que se llevó a cabo la quema controlada y se aplicaron los distintos tratamientos (Figura 3). El matorral fue cortado y dejado sobre la superficie del suelo para favorecer una combustión más homogénea y con mayor cantidad de combustible seco. Se eliminaron 3 parcelas del diseño inicial porque la quema no fue homogénea en ellas (parcelas en blanco en la figura 3). La temperatura alcanzada en el suelo se midió usando termopares.

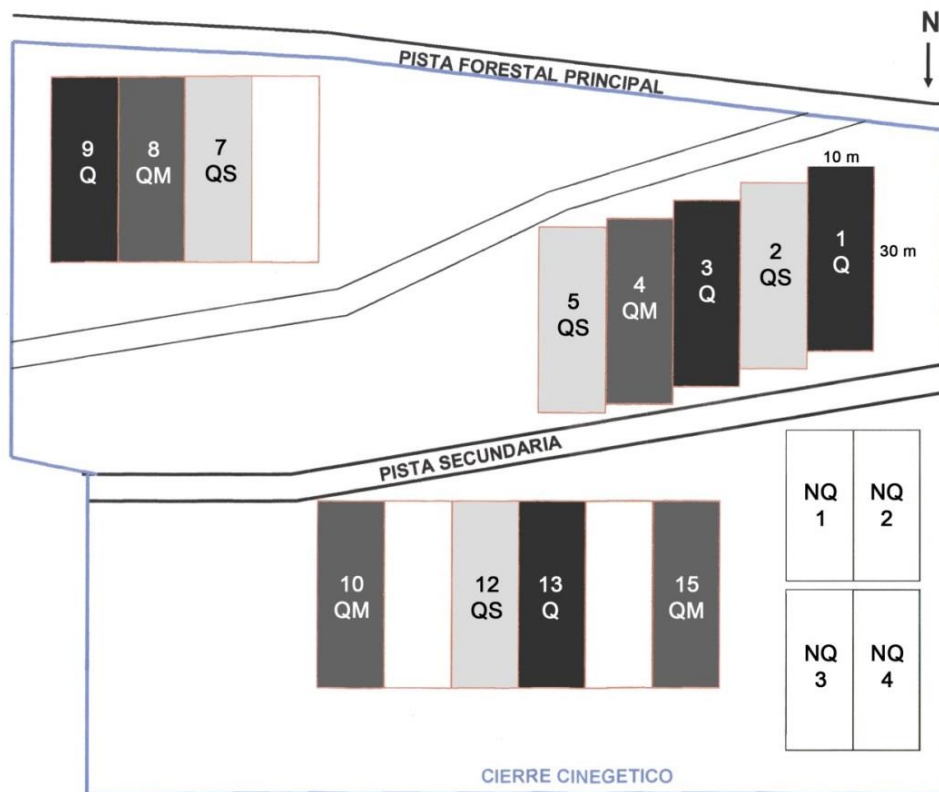


Figura 3: Distribución de las parcelas en el área de estudio de la experiencia de A Estrada.

### Material y métodos

Los siguientes tratamientos se aplicaron a mano, por cuadruplicado, inmediatamente después de la quema:

- Suelo control no quemado (NQ)
- Suelo quemado (Q)
- Suelo quemado + 230 g m<sup>-2</sup> de mulching de paja (QM)
- Suelo quemado + 45 g m<sup>-2</sup> de siembra de *Lolium multiflorum* (35 %), *Trifolium repens* (25 %), *Dactylis glomerata* (20 %), *Festuca arundinacea* (10 %), *Festuca rubra* (5 %), *Agrotis tenuis* (5 %) (QS)

Las muestras de suelo se recogieron de 10 cuadrados de 10 x 10 cm, uniformemente distribuidos por cada parcela, del horizonte A del suelo (0-5 cm), antes de la quema, y a diferentes intervalos de tiempo después de la misma (1, 90, 180 y 365 días). Las muestras se tamizaron (2 mm) y homogeneizaron antes de almacenarlo a 4°C

### 3.2. DESCRIPCIÓN DE LA EXPERIENCIA DE LABORATORIO

Se realizó una incubación en laboratorio de un suelo de matorral procedente de Vilameá, Ourense (Figura 4), que sufrió un incendio no controlado de alta severidad en Agosto de 2014.

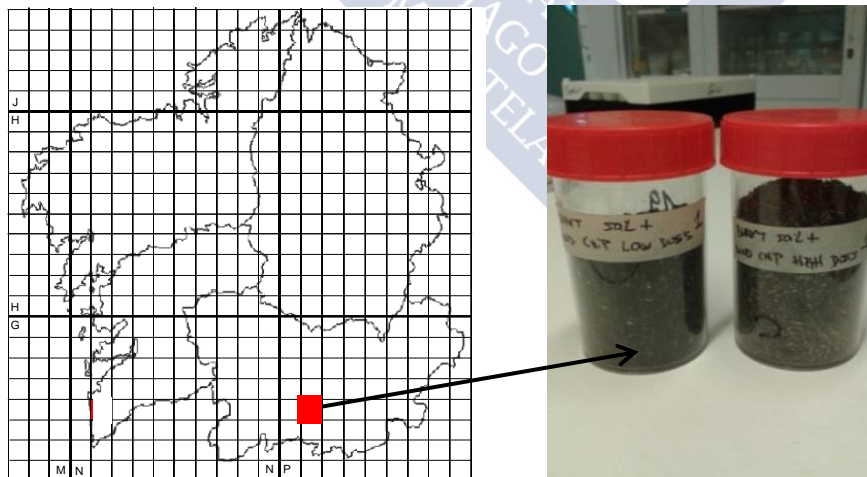


Figura 4: Localización de la zona de muestreo (Vilameá) y diseño de la experiencia de laboratorio.

### *Material y métodos*

Se utilizó un suelo adyacente al quemado, como control no quemado. Se muestreó la capa superficial del horizonte A (0-2 cm), apartando la hojarasca en el no quemado e incluyendo las cenizas en el quemado. El suelo se tamizó, homogenizó y se almacenó a 4°C antes de empezar la experiencia de laboratorio.

El suelo fue incubado durante dos meses en microcosmos de plástico de 200 ml (Figura 4), con distintos materiales vegetales (paja de trigo, fibra de coco, corteza y astillas de eucalipto) a temperatura ambiente y en oscuridad. Estos materiales se secaron, se cortaron en trozos de 1 cm, se molieron y finalmente se tamizaron (<2 mm) antes de añadirlos al suelo. Se incubaron, por triplicado, 50 g de suelo al 50 % de su capacidad de campo, con dos dosis distintas del material vegetal (baja y alta). Estas dosis se ajustaron en función de la superficie específica de cada material, siendo la dosis baja la que normalmente se aplica en el campo y la alta 10 veces más. Los tratamientos utilizados fueron:

- Suelo no quemado (NQ)
- Suelo quemado (Q)
- Suelo quemado + paja de trigo con 2,5 Mg ha<sup>-1</sup> (baja, P1) o 25 Mg ha<sup>-1</sup> (alta, P2)
- Suelo quemado + fibra de coco con 2,5 Mg ha<sup>-1</sup> (baja, C1) o 25 Mg ha<sup>-1</sup> (alta, C2)
- Suelo quemado + corteza de eucalipto con 4 Mg ha<sup>-1</sup> (baja, Ec1) o 40 Mg ha<sup>-1</sup> (alta, Ec2)
- Suelo quemado + astillas de eucalipto con 4 Mg ha<sup>-1</sup> (baja, Ea1) o 40 Mg ha<sup>-1</sup> (alta, Ea2)

Se tomaron muestras de suelo regularmente durante los 2 meses de incubación (2, 4, 7, 14, 21, 28, 42 y 56 días después de añadir los materiales vegetales), y se analizaron distintos parámetros.

### **3.3. MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DE LOS SUELOS**

#### **Caracterización de las propiedades físico-químicas y químicas**

El pH, la conductividad eléctrica y la capacidad de retención de agua fueron caracterizados según los métodos clásicos descritos en Guitián-Ojea y Carballas (1976). El C y el N total se midieron en muestras de suelo o de plantas finamente molidas (<100 µm) con un analizador elemental (Carbo Erba CNS 1508) acoplado en línea con un espectrómetro de masas (Finnigan Mat, delta C, Bremen, Germany). El N inorgánico (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) se analizó utilizando el método de extracción-difusión descrito por

### *Material y métodos*

Fernández-Fernández et al. (2015). El carbono y los carbohidratos hidrosolubles fueron extraídos con agua destilada a 22 °C (2 horas) y 80 °C (16 horas) sucesivamente, con relación suelo:agua de 1:5 (Haynes, 2005); la cantidad de carbono y de carbohidratos extraídos se estimó colorimétricamente siguiendo los métodos de Sims and Haby (1971) y Doutre et al. (1978), respectivamente.

### **Caracterización de las propiedades bioquímicas y microbiológicas**

La respiración de los suelos se midió de dos maneras diferentes: a) Se transfirió 1 g de suelo a un vial de vidrio de 20 ml y se purgó con aire a presión, después el vial fue sellado y se incubó durante 24 horas en oscuridad, y finalmente la concentración de CO<sub>2</sub> se determinó usando un cromatógrafo de gases; y b) El suelo se incubó durante 24 horas a 22 °C en un medidor automático de resistencia, el CO<sub>2</sub> liberado por el suelo se determinó por la adsorción de KOH y por los consiguientes cambios en la conductividad.

El carbono microbiano se estimó por el método de fumigación-extracción (Díaz-Raviña et al., 1992). Después de fumigar el suelo con CHCl<sub>3</sub>, durante 24 horas, el carbono fue extraído de las muestras fumigadas y no fumigadas con K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,05 M y digerido con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, para su posterior determinación colorimétrica. Los valores de biomasa microbiana se calcularon aplicando la fórmula: C biomasa = 2,64 x C extraíble, siendo el carbono extraíble la diferencia entre el carbono de las muestras fumigadas y no fumigadas. El C microbiano también fue estimado en base a la respiración inducida por sustrato, según el método de Anderson and Domsch (1978); se añadió glucosa al suelo, después de determinar la dosis óptima, y se midió la respiración en un medidor automático de resistencia. La biomasa microbiana se calculó aplicando la fórmula: C biomasa = 40,04 X + 0,37 siendo X la respiración inducida por sustrato.

Se estimó la actividad enzimática de los suelos, mediante la medida de actividades enzimáticas características de los ciclos del C ( $\beta$ -Glucosidasa), del N (Ureasa) y del P (Fosfatasa). La actividad  $\beta$ -Glucosidasa se estimó según el método de Eivazi y Tabatabai (1988), que determina el *p*-nitrophenol restante después de una incubación de 2 horas a 37 °C con *p*-nitrophenil  $\beta$ -D-glucopiranoside. La actividad ureasa se estimó incubando las muestras con una solución de urea durante 2 horas a 37 °C; el NH<sub>4</sub><sup>+</sup> liberado se midió mediante una reacción colorimétrica con indofenol (Kandeler and Gerber, 1988). La actividad fosfatasa se estimó siguiendo el método descrito por Trasar-Cepeda et al. (1985), el cuál determina el *p*-

### *Material y métodos*

nitrophenol restante después de una incubación de 30 minutos a 37 °C con *p*-nitrophenyl fosfato.

La actividad de las bacterias se estimó usando el método de incorporación de leucina (Bååth et al., 2001). Se mezcló 1 g de suelo con 20 ml de agua, se agitó durante 3 minutos y se centrifugó a baja velocidad (1000 g) durante 10 minutos, para crear una suspensión bacteriana en el sobrenadante. Se tomaron alícuotas de 1,5 ml del sobrenadante y se transfirieron a tubos de centrifuga de 2 ml, donde se le añadió 2 µl de leucina marcada radiactivamente con tritio y 2 µl de leucina no marcada. Después de 2 horas de incubación a temperatura ambiente, se paró el crecimiento de las bacterias con ácido tricloroacético. La cantidad de radiactividad incorporada fue determinada utilizando un contador de centelleo, y la cantidad de leucina incorporada por hora y g de suelo se usó como índice de la actividad bacteriana.

La actividad de los hongos se estimó usando el método de incorporación de <sup>14</sup>C-acetato en el ergosterol (Bååth, 2001). Se incubó 1 g de suelo con 20 µl de <sup>14</sup>C-acetato de sodio marcado y 30 µl de acetato de sodio no marcado, durante 4 horas a temperatura ambiente, después de lo cual se paró el crecimiento de los hongos con formalina al 5 %. Las muestras se centrifugaron a 1000 g durante 5 minutos, descartándose después el sobrenadante. El ergosterol del suelo fue extraído con 5 ml de KOH al 10 %, y separado con 2 ml de ciclohexano. Esta fase fue evaporada bajo una corriente de nitrógeno y redisolta después con metanol, y finalmente filtrada a través de un filtro de 0,45 µm. El ergosterol total fue analizado en un HPLC con un detector UV (Rousk and Bååth, 2007b), recogiénose el pico de ergosterol y determinando la cantidad de <sup>14</sup>C-acetato incorporada usando un contador de centelleo. La cantidad de <sup>14</sup>C-acetato incorporada se utilizó como indicador de la actividad fúngica, mientras que el ergosterol total se usó como indicador de la biomasa fúngica.

El perfil de los ácidos grasos de los fosfolípidos (PLFA) se realizó siguiendo el método descrito por Frostegård et al. (1993). En síntesis, los PLFAs fueron extraídos del suelo con una mezcla de cloroformo, metanol y tampón citrato, separados en la fase orgánica (cloroformo) y fraccionados en columnas de ácido salicílico para separar los fosfolípidos (lípidos polares) de los restantes lípidos (lípidos neutros y glicolípidos). Finalmente, estos fosfolípidos fueron sometidos a metanolisis para obtener ésteres metílicos de los ácidos, que fueron cuantificados por Cromatografía de Gases en base a sus tiempos de retención, relativos a los de los estándares internos (por ej., 19:0 y 13:0). La biomasa microbiana total se determina como la suma de todos los PLFAs. La suma de PLFAs considerados de origen bacteriano (i15:0, a15:0, i16:0, 16:1ω9, 16:1ω7c, i17:0, a17:0, 17:0, cy17:0, 18:1ω7 y cy19:0) se usa como índice de biomasa bacteriana y la cantidad de 18:2ω6

### *Material y métodos*

como índice de biomasa fúngica. Los PLFAs i14:0, a15:0, i16:0 y 10Me18:0 son encontrados fundamentalmente en bacterias gram-positivas ( $G^+$ ) y los PLFAs cy17:0, cy19:0, 16:1 $\omega$ 7c y 18:1 $\omega$ 7 son característicos de bacterias gram-negativas ( $G^-$ ).

El perfil fisiológico de la comunidad microbiana del suelo (CLPP), utilizando distintos sustratos carbonados, se llevó a cabo para determinar la diversidad funcional de la comunidad microbiana del suelo, utilizando placas Biolog. Una mezcla 1:10 de suelo y agua se agitó en un mezclador Waring; se tomaron luego 25 ml de la suspensión y se centrifugaron a 10.000 g. Se transfirieron 10 ml del sobrenadante a botellas de 250 ml que contenían 90 ml de agua mili-Q. Las placas fueron inoculadas con 130  $\mu$ l de la suspensión e incubadas a 28 °C en oscuridad. La densidad óptica fue medida (a 590 nm) cada 24 horas durante una semana en un lector de placas automático y las lecturas de las placas se grabaron después de 72 horas de incubación. Los datos de densidad óptica normalizados, corregidos con el valor medio del color desarrollado (AWCD), fueron utilizados como índice de la actividad (Garland y Mills, 1991). La riqueza microbiana se expresó como el número de sustratos de carbono oxidados en las microplacas. El índice de diversidad de Shannon–Weaver ( $H'$ ) fue calculado como:  $H' = -\sum pi (\ln pi)$ , donde pi es la proporción de la actividad en cada sustrato con respecto a la suma de la actividad en todos los sustratos.





## 4- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. EFECTO DE LOS AGENTES RETARDANTES DE LLAMA SOBRE LA MICROBIOTA EDÁFICA

La caracterización general de los suelos inmediatamente, 5 y 10 años después de la quema prescrita y de la aplicación de los retardantes de llama se indica en la Tabla 3.

Tabla 3: Características generales del suelo (media  $\pm$  error estándar) inmediatamente, 5 y 10 años después de la quema y de la adición de los retardantes de llama. Tratamientos: NQ, no quemado; Q, quemado + agua; QE, quemado + espumante; QP, quemado + polifosfato; QF, quemado + Firesorb. Letras diferentes, para cada tiempo, indican diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $P < 0,05$ ).

	Años	TRATAMIENTO				
		NQ	Q	QE	QP	QF
pH (H <sub>2</sub> O)	0	4,9 $\pm$ 0,0 a	5,2 $\pm$ 0,1 b	5,4 $\pm$ 0,1 b	6,1 $\pm$ 0,2 c	5,3 $\pm$ 0,1 b
	5	4,4 $\pm$ 0,0 a	4,6 $\pm$ 0,0 b	4,8 $\pm$ 0,1 b	4,9 $\pm$ 0,0 b	4,7 $\pm$ 0,0 b
	10	4,0 $\pm$ 0,0 a	4,3 $\pm$ 0,1 c	4,3 $\pm$ 0,0 c	4,2 $\pm$ 0,0 b	4,3 $\pm$ 0,0 c
C total (g kg <sup>-1</sup> )	0	168 $\pm$ 7 a	168 $\pm$ 10 a	196 $\pm$ 6 a	172 $\pm$ 10 a	191 $\pm$ 15,0 a
	5	139 $\pm$ 15 a	130 $\pm$ 10 a	112 $\pm$ 7 a	122 $\pm$ 7 a	121 $\pm$ 6,0 a
	10	150 $\pm$ 11 a	130 $\pm$ 7 a	144 $\pm$ 4 a	144 $\pm$ 5 a	132 $\pm$ 10 a
N total (g kg <sup>-1</sup> )	0	7,2 $\pm$ 0,2 a	6,7 $\pm$ 0,1 a	7,7 $\pm$ 0,2 a	8,7 $\pm$ 0,3 a	7,5 $\pm$ 0,5 a
	5	8,4 $\pm$ 0,9 a	5,6 $\pm$ 0,9 a	7,5 $\pm$ 0,8 a	8,1 $\pm$ 0,8 a	7,5 $\pm$ 0,5 a
	10	8,8 $\pm$ 0,6 a	7,9 $\pm$ 0,5 a	8,2 $\pm$ 0,3 a	8,5 $\pm$ 0,3 a	7,7 $\pm$ 0,5 a
N inorgánico (mg kg <sup>-1</sup> )	0	61 $\pm$ 10 a	110 $\pm$ 38 ab	190 $\pm$ 11 b	1847 $\pm$ 271 b	142 $\pm$ 35 ab
	5	16 $\pm$ 7 b	1 $\pm$ 0 a	1 $\pm$ 0 a	9 $\pm$ 2 b	1 $\pm$ 0 a
	10	60 $\pm$ 5 a	45 $\pm$ 3 a	55 $\pm$ 9 a	38 $\pm$ 2 a	49 $\pm$ 7 a
P disponible (mg kg <sup>-1</sup> )	0	5,7 $\pm$ 1,3 a	11,7 $\pm$ 2,6 a	10,6 $\pm$ 2,2 a	818 $\pm$ 231 b	11,9 $\pm$ 2,7 a
	5	0,5 $\pm$ 0,1 a	1,4 $\pm$ 0,6 a	0,5 $\pm$ 0,3 a	18 $\pm$ 2 b	0,4 $\pm$ 0,1 a
	10	5,0 $\pm$ 0,2 a	4,7 $\pm$ 0,4 a	4,6 $\pm$ 0,2 a	13,8 $\pm$ 0,6 b	5,2 $\pm$ 0,3 a

Inicialmente, antes de la quema prescrita, el suelo tenía textura arenosa, pH ácido y un contenido en materia orgánica relativamente alto. En comparación con el suelo no quemado, los suelos quemados mostraron un aumento inmediato del pH del suelo y del N inorgánico (Tabla 3). El

## Resultados y discusión

incremento del pH perduró con el tiempo, presentando valores mayores en las muestras después de 10 años del quemado, mientras que el incremento del N inorgánico fue transitorio y no se detectó a largo plazo. El polifosfato provocó un incremento del pH a corto plazo, con respecto al suelo quemado, mientras que los otros dos retardantes no lo modificaron significativamente. En general la materia orgánica del suelo no se modificó como consecuencia de la quema ni de la adición de retardantes, siendo los valores de C y N total similares en todas las parcelas a lo largo de la experiencia (Tabla 3), debido probablemente a las bajas temperaturas alcanzadas durante la quema prescrita, ya que la combustión de la materia orgánica se produce por encima de 200 °C (Díaz-Raviña et al., 1992; Certini, 2005; Martín et al., 2012; Almendros and González-Vila, 2012). Como era de esperar, cabe destacar que el polifosfato amónico aporta una gran cantidad de N y P disponible al suelo (Hopmans y Bickford, 2003), produciéndose en nuestro caso incrementos muy importantes inmediatamente después de su aplicación y presentando los suelos adicionados con este retardante unos valores de P todavía 3 veces mayores que los del suelo control quemado, 10 años después de la adición del mismo. La persistencia a largo plazo de este nutriente adquiere gran importancia para la recuperación de la vegetación en estos suelos ácidos pobres en nutrientes (Couto-Vázquez et al., 2011), particularmente de P asimilable.

Las fracciones más lábiles de la materia orgánica (carbono microbiano y carbohidratos solubles) se redujeron significativamente como consecuencia de la quema prescrita y la adición de los retardantes de llama, a corto plazo, pero a largo plazo no se encontraron diferencias significativas (Figura 5).

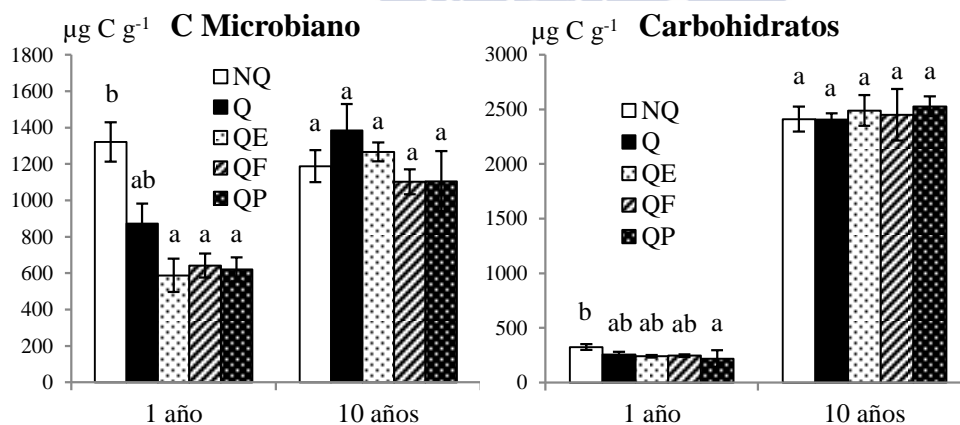


Figura 5: C microbiano y carbohidratos totales del suelo (media  $\pm$  error estándar) 1 y 10 años después de la quema y de la adición de los retardantes de llama. Tratamientos: NQ: no quemado; Q, quemado + agua; QE, quemado + espumante; QP, quemado + polifosfato; QF, quemado + Firesorb. Letras diferentes, para cada tiempo, indican diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $P < 0,05$ ).

## Resultados y discusión

La evolución de las actividades enzimáticas del suelo en la capa de 0-2 cm, a lo largo de 10 años después, de la quema prescrita, se muestra en la Figura 6.

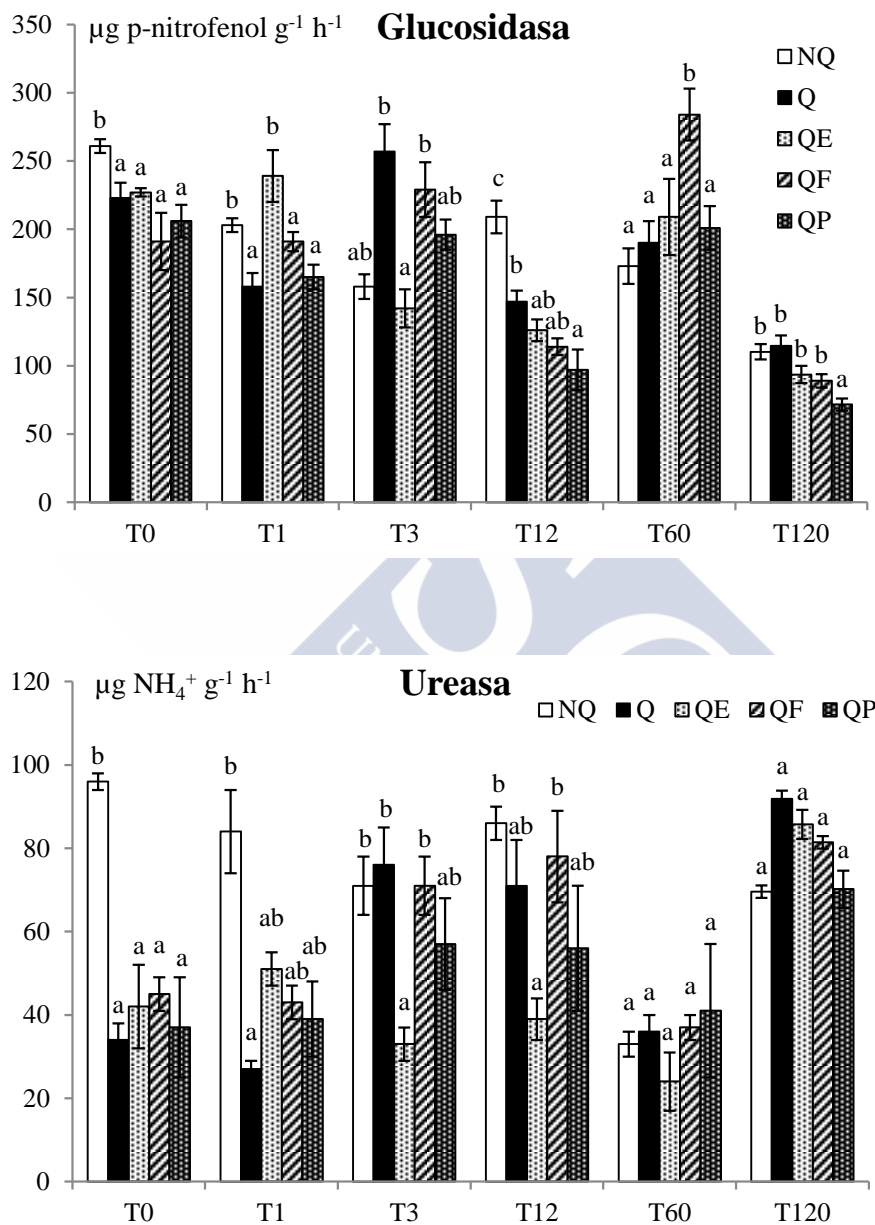


Figura 6: Actividades enzimáticas del suelo (media  $\pm$  error estándar) inmediatamente (T0), 1 (T1), 3 (T3), 12 (T12), 60 (T60) y 120 (T120) meses después de la quema y de la adición de los retardantes de llama. Tratamientos: NQ: no quemado; Q, quemado + agua; QE, quemado + espumante; QP, quemado + polifosfato; QF, quemado + Firesorb. Letras diferentes, para cada tiempo, indican diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $P < 0,05$ ).

## *Resultados y discusión*

Los resultados mostraron un descenso inicial tanto en la actividad glucosidasa como en la ureasa, inmediatamente después de la quema, que se pudo apreciar incluso un año después de la misma en el caso de la glucosidasa. Esto concuerda con resultados previos obtenidos en otros suelos forestales de Galicia quemados en laboratorio o que sufrieron incendios de media o alta intensidad (Saá et al., 1998; Basanta et al., 2002, 2003, 2004). Los retardantes de llama provocaron efectos diferentes en cada una de las actividades enzimáticas, pero en ambos casos no se observó ningún cambio significativo con respecto al control quemado, inmediatamente después de su aplicación. La actividad ureasa resultó favorecida 1 mes después de la aplicación de todos los retardantes, pero este efecto fue transitorio, porque en el resto de los muestreos no se apreciaron cambios, o pudieron incluso llegar a tener un efecto inhibitorio, como en el caso del espumante 3 y 12 meses después de su aplicación. La actividad glucosidasa también resultó afectada en distinta medida: así, mientras que el Firesorb la favoreció 5 años después de su aplicación, el polifosfato provocó una disminución significativa 1 año después de aplicarlo, siendo este efecto todavía visible 10 años después del quemado.

En general tanto la quema prescrita como los retardantes de llama provocaron efectos en las propiedades físico-químicas y bioquímicas del suelo solo a corto plazo, pero no se observaron diferencias importantes a medio y largo plazo. Sin embargo, tanto la actividad específica de las bacterias como la de los hongos resultaron significativamente afectadas por ambos factores. Así, la quema prescrita, 10 años después de la misma, favoreció la actividad de las bacterias e inhibió la de los hongos, si las comparamos con las parcelas control no quemadas (Figura 7). Esto coincide con los resultados obtenidos por otros autores referentes a la mayor sensibilidad de los hongos a las altas temperaturas y la prevalencia de las bacterias en las condiciones post-incendio (Vázquez et al., 1993; Acea y Carballas, 1996a; Díaz-Raviña et al., 1996; Certini, 2005; Bárcenas-Moreno et al., 2011).

Los valores de la biomasa microbiana de los diferentes grupos (total, bacterias, hongos, bacterias gram positivas y bacterias gram negativas), estimados mediante el análisis de los ácidos grasos de los fosfolípidos, 5 y 10 años después de la quema y de la adición de los retardantes, se muestran en la Tabla 4. En general ni la quema prescrita ni la adición de los retardantes provocó cambios significativos a medio y largo plazo en la biomasa de los distintos grupos microbianos. Sin embargo, el paso del tiempo sí tuvo efecto en el suelo quemado, observándose en las muestras quemadas una disminución de todos los valores de la biomasa en las muestras recogidas 10 años después de la quema con respecto a las recogidas 5 años antes. Esta disminución de la biomasa con el tiempo es

## Resultados y discusión

especialmente significativa en las muestras tratadas con espumante y Firesorb.

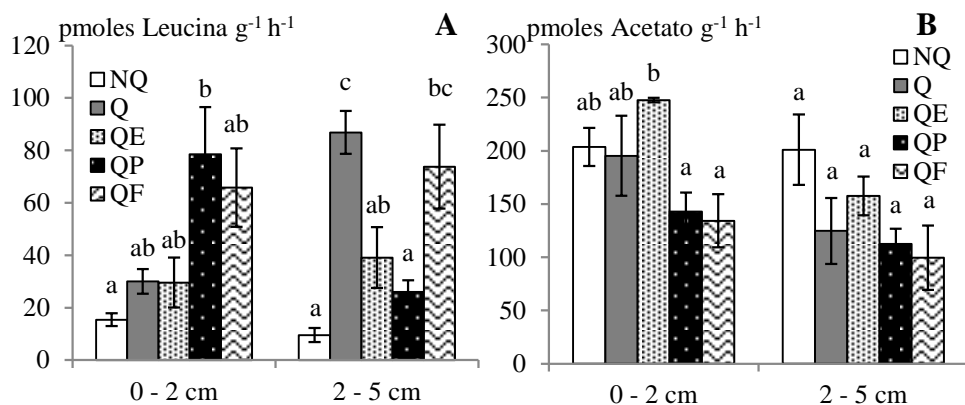


Figura 7: Actividad bacteriana (A) y fúngica (B) del suelo (media  $\pm$  error estándar) 10 años después de la quema y de la adición de los retardantes de llama, en dos profundidades (0-2 y 2-5 cm). Tratamientos: NQ: no quemado; Q, quemado + agua; QE, quemado + espumante; QP, quemado + polifosfato; QF, quemado + Firesorb. Letras diferentes, para cada profundidad, indican diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $P < 0,05$ ).

Tabla 4: Biomasa total, fúngica, bacteriana y de las bacterias Gram positivas y Gram negativas, en función de los ácidos grasos de los fosfolípidos (PLFA) de los suelos (media  $\pm$  error estándar) 5 y 10 años después de la quema y de la adición de los retardantes de llama. Tratamientos: NQ, no quemado; Q, quemado + agua; QE, quemado + espumante; QP, quemado + polifosfato; QF, quemado + Firesorb. Letras diferentes, para cada tiempo, indican diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $P < 0,05$ ).

	Años	TRATAMIENTO				
		NQ	Q	QE	QP	QF
PLFA total (nmoles g <sup>-1</sup> )	5	240 $\pm$ 32 a	321 $\pm$ 73 a	462 $\pm$ 109 a	355 $\pm$ 69 a	378 $\pm$ 34 a
	10	265 $\pm$ 61 a	263 $\pm$ 20 a	214 $\pm$ 28 a	200 $\pm$ 32 a	200 $\pm$ 32 a
Hongos (nmoles g <sup>-1</sup> )	5	16 $\pm$ 6 a	43 $\pm$ 11 ab	55 $\pm$ 15 b	38 $\pm$ 7 ab	36 $\pm$ 2 ab
	10	9 $\pm$ 1 a	14 $\pm$ 2 a	8 $\pm$ 2 a	10 $\pm$ 2 a	9 $\pm$ 1 a
Bacterias (nmoles g <sup>-1</sup> )	5	89 $\pm$ 9 a	100 $\pm$ 22 a	150 $\pm$ 36 a	119 $\pm$ 28 a	135 $\pm$ 16 a
	10	111 $\pm$ 28 a	97 $\pm$ 7 a	80 $\pm$ 12 a	94 $\pm$ 20 a	75 $\pm$ 12 a
Bacterias Gram <sup>-</sup> (nmoles g <sup>-1</sup> )	5	51 $\pm$ 5 a	62 $\pm$ 14 a	93 $\pm$ 21 a	74 $\pm$ 17 a	81 $\pm$ 10 a
	10	62 $\pm$ 15 a	56 $\pm$ 4 a	46 $\pm$ 7 a	50 $\pm$ 11 a	42 $\pm$ 7 a
Bacterias Gram <sup>+</sup> (nmoles g <sup>-1</sup> )	5	26 $\pm$ 3 a	26 $\pm$ 5 a	39 $\pm$ 9 a	31 $\pm$ 6 a	35 $\pm$ 4 a
	10	30 $\pm$ 8 a	25 $\pm$ 2 a	21 $\pm$ 3 a	26 $\pm$ 6 a	20 $\pm$ 3 a

## *Resultados y discusión*

En el análisis de componentes principales realizado con los valores de los PLFAs de las muestras recogidas 5 y 10 años después de la quema prescrita, Se observó que el principal factor diferenciador de las mismas es el tiempo, seguido por la quema (Figura 8). El factor 1, que explica el 45 % de la varianza, separa las muestras en función del momento del muestreo, las muestras recogidas 5 años después de la quema se distribuyen en la parte negativa del eje, mientras que las recogidas después de 10 años se agrupan en la parte positiva del eje. Las muestras recogidas 5 años después de la quema presentan una mayor cantidad de los ácidos grasos 18:2 $\omega$ 6 y 18:1 $\omega$ 9 que son característicos de los hongos, lo que coincide con la disminución que veíamos en la biomasa fúngica en todos los suelos quemados. El factor 2, que explica un 13 % de la varianza, separa las muestras no quemadas de las quemadas; esto indica que tanto 5 como 10 años después de la quema prescrita esta sigue teniendo efectos en la estructura de la comunidad microbiana. Estos hechos están de acuerdo con lo citado por Williams et al. (2012): que las quemas prescritas pueden tener efectos importantes en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, sobre todo cuando se producen de forma recurrente.

Para eliminar el efecto diferenciador del tiempo, realizamos un análisis de componentes principales de cada muestreo por separado (Figura 9). Se observó que 5 años después de la quema prescrita, este factor explica un 40 % de la varianza, mientras que 10 años después explica un 23 %. A medio plazo (5 años), la quema prescrita tiene un efecto mayor que el tratamiento con los retardantes de llama, el factor 2 explica un 20 % de la varianza, separando las muestras tratadas con Firesorb del resto de las muestras quemadas. Sin embargo a largo plazo (10 años), el tratamiento con polifosfato explica un mayor porcentaje de la varianza que la quema, un 31 % frente al 23 % de la quema. Tanto las muestras con Firesorb en el tiempo 5 años, como las muestras con polifosfato en el tiempo 10 años, están caracterizadas por una menor cantidad de hongos; en ambos casos el resto de las muestras quemadas (con o sin adición de un retardante) están caracterizadas por ácidos grasos indicativos de hongos (18:2 $\omega$ 6, 18:1 $\omega$ 9).

En el muestreo de 10 años, además de la capa superficial del suelo (0-2 cm), también se recogieron muestras de la capa más profunda (2-5 cm). Al realizar el análisis de componentes principales con los PLFAs de estas muestras (Figura 10) observamos que el mayor factor diferenciador de las mismas es la profundidad; el factor 1 separa las muestras de ambas profundidades explicando un 27 % de la varianza. El factor 2, que explica una varianza similar al factor 1 (25 %), separa las muestras tratadas con polifosfato de ambas profundidades del resto de las muestras. Las muestras de la capa superior (0-2 cm) están caracterizadas por elevadas concentraciones de ácidos grasos indicativos de bacterias. Las muestras

## Resultados y discusión

tratadas con polifosfato presentan menor cantidad de ácidos grasos indicativos de hongos.

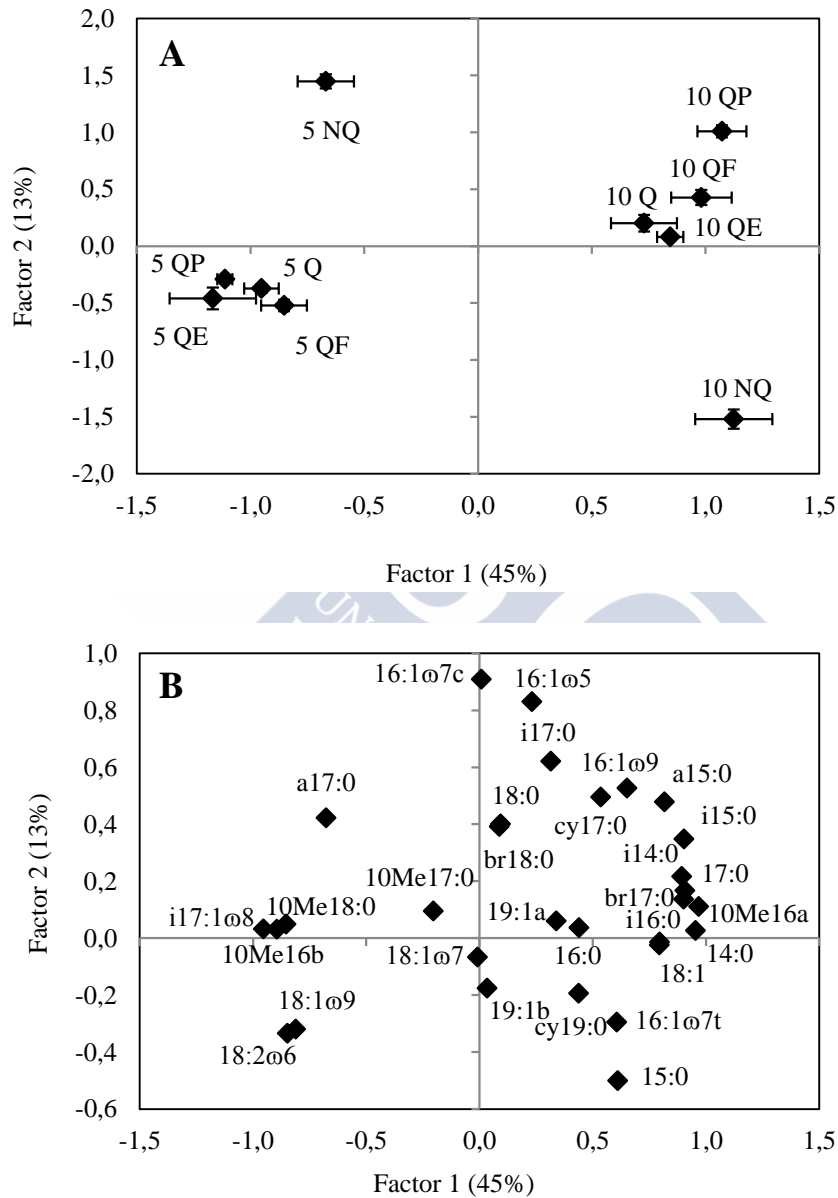


Figura 8: Distribución de las muestras (media  $\pm$  error estándar) (A) y de las variables (B) del análisis de componentes principales de los PLFAs del suelo recogido 5 y 10 años después de la quema y de la adición de los retardantes de llama. Tratamientos: NQ, no quemado; Q, quemado + agua; QE, quemado + espumante; QP, quemado + polifosfato; QF, quemado + Firesorb.

## Resultados y discusión

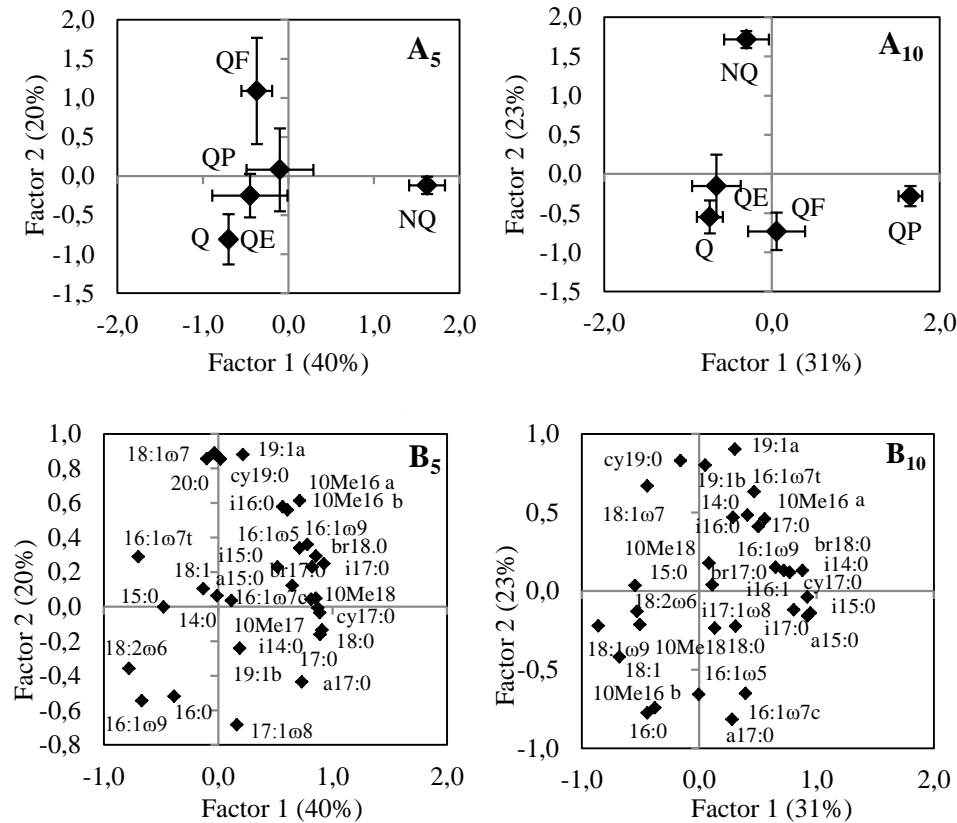


Figura 9: Distribución de las muestras (media  $\pm$  error estándar) (A) y de las variables (B) del análisis de componentes principales de los PLFA del suelo recogido 5 y 10 años después de la quema y de la adición de los retardantes de llama. Tratamientos: NQ, no quemado; Q, quemado + agua; QE, quemado + espumante; QP, quemado + polifosfato; QF, quemado + Firesorb.

La cubierta vegetal de estos suelos fue estudiada por Fernández-Fernández et al. (2015), encontrando que el polifosfato era el retardante con un mayor efecto a largo plazo en este parámetro (cobertura vegetal, composición y crecimiento de la vegetación). Estos datos coinciden con investigaciones previas que confirman la relación entre el funcionamiento de la comunidad microbiana y las características específicas de las plantas (Grayston et al., 1998; Priha et al., 2001; Mahía et al., 2006; Álvarez et al., 2009; Lombao et al., 2015; Eisenhauer et al., 2010). A largo plazo la vegetación tiene un efecto más importante que la quema prescrita propiamente dicha en la microbiota edáfica, lo que coincide con los resultados de Viana et al. (2011) en suelos tropicales de Brasil que tenían ciertas características similares a los de nuestro estudio (suelos ácidos con elevada cantidad de aluminio y baja capacidad de intercambio de cationes). Los datos sugieren que el fuego causa efectos directos, cambios a corto plazo en las comunidades

## Resultados y discusión

microbianas del suelo, mientras que los cambios a largo plazo son los efectos indirectos originados por los cambios en la dinámica de la vegetación (Hart et al., 2005).

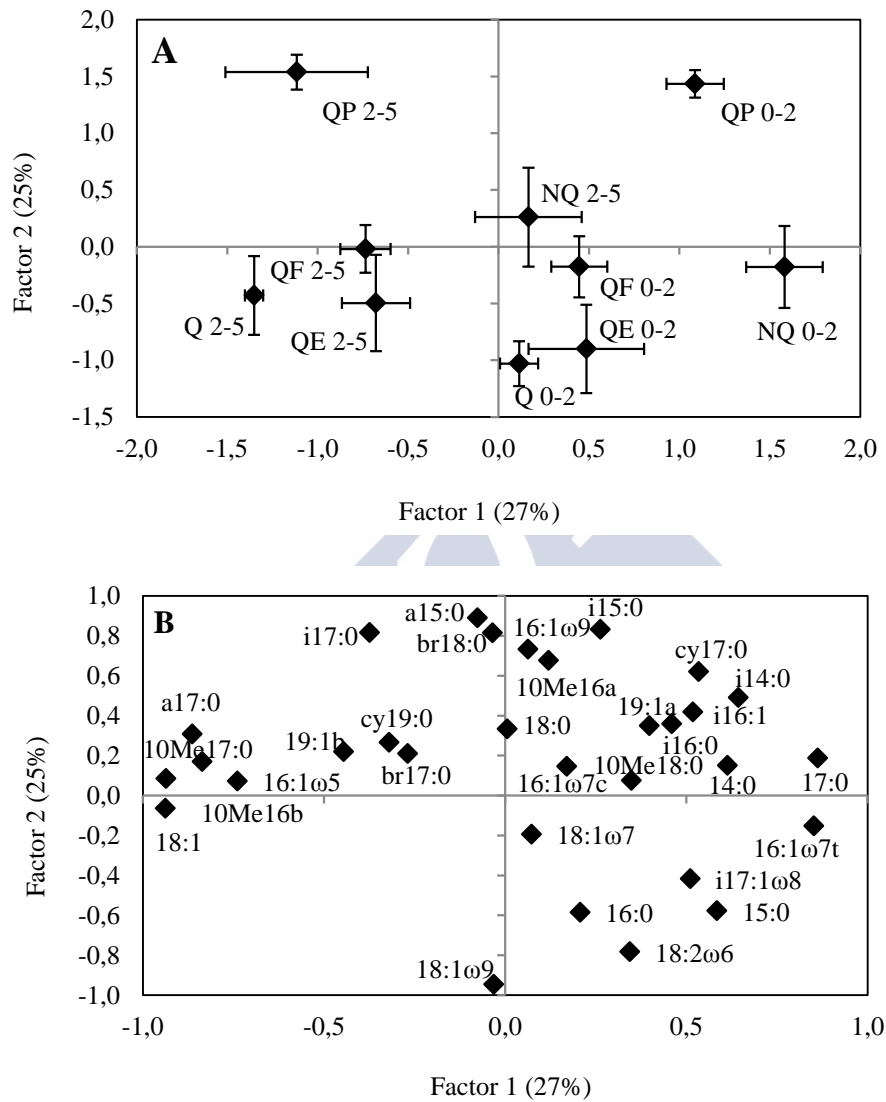


Figura 10: Distribución de las muestras (media  $\pm$  error estándar) (A) y de las variables (B) del análisis de componentes principales de los PLFA del suelo recogido 10 años después de la quema y de la adición de los retardantes de llama, a dos profundidades distintas (0-2, 2-5 cm). Tratamientos: NQ, no quemado; Q, quemado + agua; QE, quemado + espumante; QP, quemado + polifosfato; QF, quemado + Firesorb.

## *Resultados y discusión*

En general, la información obtenida parece indicar que la quema prescrita combinada o no con la aplicación de los agentes retardantes de llama no parecen ejercer un efecto adverso a corto, medio y largo plazo sobre la mayoría de las propiedades físico-químicas, químicas y bioquímicas del suelo y, por lo tanto sobre la calidad del mismo. Sin embargo, si se observó un efecto sobre la vegetación (cobertura vegetal, composición de la vegetación y crecimiento de los pinos plantados), lo que a su vez, afecta a la diversidad o composición de la población microbiana del suelo. Así pues, los cambios que observamos en la estructura de la comunidad microbiana del suelo tratado con polifosfato se deben probablemente a los cambios que este compuesto químico provoca en la vegetación, puesto que, debido a su alto contenido en N y P, actúa como un fertilizante a largo plazo en el sistema suelo-planta (Couto-Vázquez y González-Prieto, 2006). También se observaron pequeños cambios en la estructura de la comunidad microbiana 5 años después de la aplicación del Firesorb, que tienen poca importancia frente a la variación natural de las comunidades microbianas (variación espacial y temporal).

## **4.2. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE RESTAURACIÓN SOBRE LA MICROBIOTA EDÁFICA**

### **4.2.1. EXPERIENCIA DE CAMPO**

El suelo estudiado presentaba un pH ácido y un contenido relativamente alto de materia orgánica (Tabla 5), como la mayoría de los suelos del noroeste de la Península Ibérica (Carballas et al., 2009). La quema controlada provocó un incremento significativo del pH, que se detectó incluso un año después de la misma. El resto de las propiedades físico-químicas del suelo no resultaron afectadas ni por la quema ni por los tratamientos de estabilización, con la excepción del C soluble que aumentó significativamente inmediatamente después de la quema. Las temperaturas alcanzadas en esta quema prescrita fueron bajas, minimizando el efecto sobre las propiedades del suelo. Gómez-Rey et al. (2013) en un estudio detallado de un amplio rango de propiedades de este mismo suelo describen una pérdida de  $\text{NH}_4^+$  en la capa superficial del suelo a lo largo de la experiencia, probablemente debido a procesos erosivos que se producen incluso en quemadas de baja intensidad como ésta.

## Resultados y discusión

Tabla 5: Características generales del suelo de A Estrada recogido 1, 90, 180 y 365 días después de la quema prescrita y de la aplicación de los tratamientos de estabilización (media  $\pm$  DE). Tratamientos: NQ (no quemado), Q (quemado), QS (quemado+ siembra de herbáceas), QM (quemado + aplicación de mulching de paja). Letras diferentes, para cada tiempo, indican diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $P<0,05$ ).

	Tiempo (días)	NQ	Q	QS	QM
Humedad (%)	1	38 $\pm$ 2 a	36 $\pm$ 5 a	34 $\pm$ 7 a	36 $\pm$ 3 a
	90	43 $\pm$ 2 a	41 $\pm$ 2 a	44 $\pm$ 3 a	42 $\pm$ 3 a
	180	39 $\pm$ 2 a	35 $\pm$ 2 a	35 $\pm$ 4 a	38 $\pm$ 1 a
	365	35 $\pm$ 3 a	36 $\pm$ 1 b	38 $\pm$ 2 a	38 $\pm$ 2 a
pH H <sub>2</sub> O	1	3,9 $\pm$ 0,1 a	4,2 $\pm$ 0,0 b	4,2 $\pm$ 0,1 b	4,1 $\pm$ 0,2 b
	90	3,7 $\pm$ 0,1 a	4,2 $\pm$ 0,1 b	4,4 $\pm$ 0,2 b	4,3 $\pm$ 0,1 b
	180	3,8 $\pm$ 0,0 a	4,0 $\pm$ 0,1 b	4,0 $\pm$ 0,1 b	4,0 $\pm$ 0,1 b
	365	3,7 $\pm$ 0,1 a	3,9 $\pm$ 0,1 b	3,9 $\pm$ 0,1 b	3,9 $\pm$ 0,1 b
Conductividad eléctrica ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	1	117 $\pm$ 30 a	149 $\pm$ 10 a	164 $\pm$ 32 a	193 $\pm$ 45 a
	90	52 $\pm$ 5 a	49 $\pm$ 4 a	41 $\pm$ 11 a	42 $\pm$ 8 a
	180	44 $\pm$ 8 a	44 $\pm$ 5 a	40 $\pm$ 3 a	51 $\pm$ 8 a
	365	45 $\pm$ 10 a	43 $\pm$ 5 a	40 $\pm$ 5 a	50 $\pm$ 9 a
Capacidad retención de agua (g kg <sup>-1</sup> )	1	853 $\pm$ 96 a	780 $\pm$ 56 a	836 $\pm$ 81 a	800 $\pm$ 40 a
	90	868 $\pm$ 57 a	866 $\pm$ 59 a	893 $\pm$ 100 a	826 $\pm$ 65 a
	180	820 $\pm$ 23 a	806 $\pm$ 45 a	856 $\pm$ 101 a	844 $\pm$ 46 a
	365	758 $\pm$ 53 a	701 $\pm$ 53 a	745 $\pm$ 70 a	742 $\pm$ 56 a
C soluble (mg kg <sup>-1</sup> )	1	160 $\pm$ 18 a	289 $\pm$ 34 b	275 $\pm$ 32 b	319 $\pm$ 57 b
	90	105 $\pm$ 81 a	30 $\pm$ 30 a	85 $\pm$ 39 a	74 $\pm$ 10 a
	180	120 $\pm$ 30 b	40 $\pm$ 8 a	89 $\pm$ 18 a	80 $\pm$ 12 a
	365	130 $\pm$ 3 b	70 $\pm$ 8 a	97 $\pm$ 10 ab	84 $\pm$ 17 a
C total (g kg <sup>-1</sup> )	1	180 $\pm$ 12 a	165 $\pm$ 13 a	168 $\pm$ 9 a	175 $\pm$ 13 a
	90	177 $\pm$ 11 a	186 $\pm$ 19 a	185 $\pm$ 15 a	179 $\pm$ 16 a
	180	182 $\pm$ 5 a	166 $\pm$ 14 a	187 $\pm$ 14 a	182 $\pm$ 10 a
	365	182 $\pm$ 16 a	171 $\pm$ 4 a	177 $\pm$ 15 a	176 $\pm$ 10 a
N total (g kg <sup>-1</sup> )	1	14,5 $\pm$ 0,3 a	14,0 $\pm$ 0,6 a	14,2 $\pm$ 0,5 a	14,2 $\pm$ 0,3 a
	90	14,0 $\pm$ 1,1 a	14,5 $\pm$ 2,0 a	14,3 $\pm$ 1,6 a	13,9 $\pm$ 1,2 a
	180	15,6 $\pm$ 0,5 a	14,1 $\pm$ 0,9 a	14,9 $\pm$ 0,9 a	14,8 $\pm$ 0,5 a
	365	15,9 $\pm$ 0,3 a	14,8 $\pm$ 0,6 a	15,7 $\pm$ 0,8 a	15,8 $\pm$ 0,8 a

La evolución de la cobertura vegetal de los suelos quemados, durante un año después de la quema, se muestra en la Figura 11. Los resultados muestran

## Resultados y discusión

que la vegetación no se recupera durante los tres primeros meses después del incendio, período de tiempo en el que se pueden producir grandes eventos de erosión propiciados por las lluvias (Vega et al., 2013). Entre 3 y 6 meses después de la quema la vegetación empieza a recuperarse, pero este proceso tiene lugar sobre todo 6-12 meses después de la misma. La vegetación herbácea, que representa entre el 80 y el 100 % de la cobertura vegetal, está ligeramente favorecida por el tratamiento de siembra, mientras que la aplicación del mulching parece inhibirla, aunque de manera no significativa, probablemente porque limita la llegada de la luz al suelo. Esta lenta recuperación de la cobertura vegetal coincide con estudios previos de otros autores realizados en la misma zona templado-húmeda (Casal, 2010), que lo atribuyen al hecho de que el incendio se haya producido en el otoño.

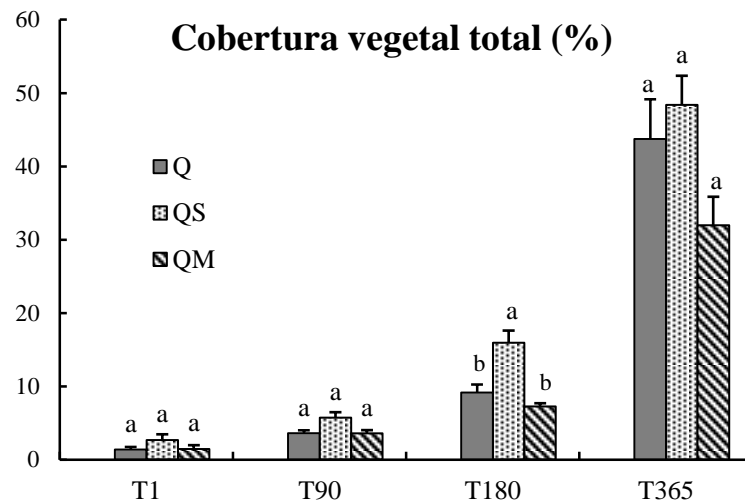


Figura 11: Porcentaje medio de cobertura vegetal para los diferentes tratamientos del suelo quemado en diferentes momentos de muestreo (1, 90, 180 y 365 días) después de la quema y de la aplicación de los tratamientos de estabilización (media  $\pm$  DE). Tratamientos: Q (quemado), QS (quemado + siembra de herbáceas), QM (quemado + aplicación de mulching de paja). Letras diferentes, para cada tiempo, indican diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $P < 0,05$ ).

La biomasa microbiana que se estimó por dos métodos, el de fumigación-extracción (FE) y el de respiración inducida por sustrato (SIR) se muestra en la Figura 12. Los valores de C de la biomasa obtenidos por el método de FE fueron mayores que los obtenidos por SIR, lo que coincide con los resultados de Andersson et al. (2004); estas técnicas estiman el C de compartimentos distintos de la biomasa microbiana. El fuego disminuyó ligera pero significativamente el C de la biomasa determinado por FE, inmediatamente después de la quema, pero los valores se recuperaron

## Resultados y discusión

después de 1 año, mientras que el C estimado por SIR no resultó afectado por la quema. En la revisión de Dooley and Treseder (2012) se citan varios estudios donde, utilizando la técnica de SIR, encontraron incrementos post-incendio en el C de la biomasa.

La disminución del carbono microbiano como consecuencia de quemaduras prescritas ha sido descrita previamente (Fritze et al., 1993; Andersson et al., 2004; Palese et al., 2004), aunque otros autores no encuentran cambios, o estos son pequeños, como en nuestro caso, debido a la baja severidad de la quema (Basanta et al., 2004; D'Ascoli et al., 2005; De Marco et al., 2005). En ninguno de los dos casos se observó efecto de los tratamientos de estabilización.

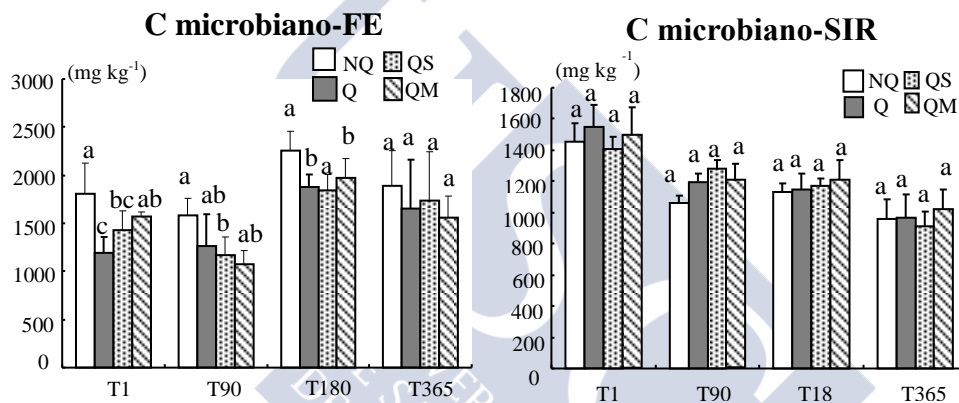


Figura 12: C microbiano del suelo estimado mediante fumigación-extracción (FE) y respiración inducida por sustrato (SIR) en diferentes momentos de muestreo (1, 90, 180 y 365 días) después de la quema y de la aplicación de los tratamientos de estabilización (media  $\pm$  DE). Tratamientos: NQ (no quemado), Q (quemado), QS (quemado + siembra de herbáceas), QM (quemado + aplicación de mulching de paja). Letras diferentes, para cada tiempo, indican diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $P < 0,05$ ).

La actividad microbiana, que fue estimada mediante el método de respiración y la medida de distintas actividades enzimáticas relacionadas con los ciclos del C (glucosidasa), N (ureasa) y P (fosfatasa), se muestra en la Figura 13. Los valores de la respiración son ligeramente mayores en las muestras no quemadas que en las quemadas, pero la diferencia solo es significativa 6 meses después de la quema; y no se detectan efectos de los tratamientos de rehabilitación. El efecto del fuego se observa más claramente en las actividades enzimáticas, sobre todo en la actividad de la glucosidasa y la ureasa, que presentan valores significativamente mayores en las muestras no quemadas que en las quemadas, incluso un año después de la quema, mientras que los tratamientos de rehabilitación no modificaron

## Resultados y discusión

los valores con respecto al suelo quemado. No obstante, los resultados presentan una marcada variación estacional previamente descrita en suelos de la misma área (Díaz-Raviña et al., 1993, 1995) o de otras muy distintas (Andersson et al., 2004; Gutknecht et al., 2010).

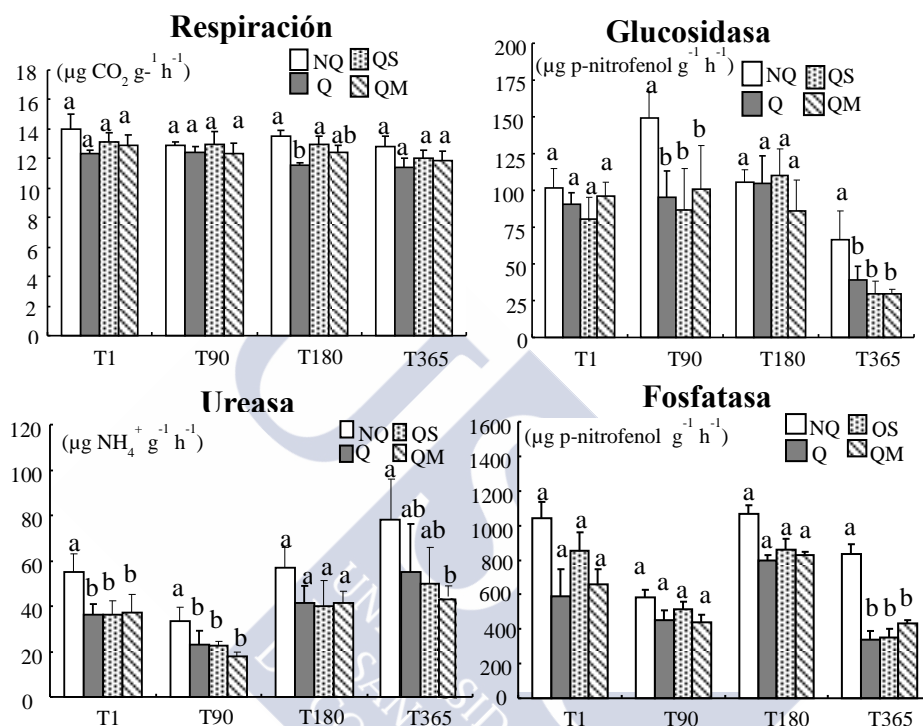


Figura 13: Respiración y actividades enzimáticas del suelo en diferentes momentos de muestreo (1, 90, 180 y 365 días) después de la quema y de la aplicación de los tratamientos de estabilización (media  $\pm$  DE). Tratamientos: NQ (no quemado), Q (quemado), QS (quemado + siembra de herbáceas), QM (quemado + aplicación de mulching de paja). Letras diferentes, para cada tiempo, indican diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $P < 0,05$ ).

La diversidad microbiana se estimó mediante el análisis del perfil fisiológico de la comunidad (CLPP) (diversidad funcional), cuyos resultados se muestran en la Tabla 6 y en la Figura 14; y mediante el análisis del perfil de los ácidos grasos de los fosfolípidos (PLFA), que se muestra en la Tabla 7. Inmediatamente después de la quema, los suelos quemados presentan un mayor uso de las fuentes de C (Tabla 6), siendo especialmente significativo en el caso del ácido carboxílico, los carbohidratos, los compuestos fenólicos y los aminoácidos, sugiriendo que la comunidad microbiana se ve favorecida por un incremento en el C disponible y los nutrientes como

## Resultados y discusión

consecuencia del fuego. Este cambio en el patrón de uso de los sustratos se atenúa con el tiempo, y un año después de la quema ya no se aprecia.

Tabla 6: Perfil de uso de los sustratos por parte de la comunidad microbiana del suelo en diferentes momentos de muestreo (1, 90, 180 y 365 días) después de la quema y de la aplicación de los tratamientos de estabilización (media  $\pm$  DE). Tratamientos: NQ (no quemado), Q (quemado), QS (quemado + siembra de herbáceas), QM (quemado + aplicación de mulching de paja). Letras diferentes, para cada tiempo, indican diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $P < 0,05$ ).

	Días	TRATAMIENTO							
		NQ		Q		QS		QM	
Ácido carboxílico (590 nm)	1	0.89 $\pm$ 0.07	a	1.39 $\pm$ 0.03	b	1.31 $\pm$ 0.07	b	1.05 $\pm$ 0.16	b
	90	0.94 $\pm$ 0.09	a	1.20 $\pm$ 0.11	ab	1.40 $\pm$ 0.11	b	1.55 $\pm$ 0.16	b
	180	0.98 $\pm$ 0.20	a	1.17 $\pm$ 0.10	a	1.28 $\pm$ 0.19	a	1.28 $\pm$ 0.15	a
	365	0.94 $\pm$ 0.09	a	1.20 $\pm$ 0.05	a	1.22 $\pm$ 0.05	a	1.04 $\pm$ 0.14	a
Aminas / Amidas (590 nm)	1	0.56 $\pm$ 0.28	a	0.83 $\pm$ 0.17	a	0.66 $\pm$ 0.15	a	0.61 $\pm$ 0.23	a
	90	0.51 $\pm$ 0.11	a	1.10 $\pm$ 0.20	b	1.03 $\pm$ 0.12	b	1.08 $\pm$ 0.31	b
	180	0.45 $\pm$ 0.04	a	0.78 $\pm$ 0.16	ab	0.72 $\pm$ 0.1	ab	1.01 $\pm$ 0.11	b
	365	0.70 $\pm$ 0.10	a	0.86 $\pm$ 0.25	a	1.01 $\pm$ 0.17	a	0.58 $\pm$ 0.16	a
Aminoácidos (590 nm)	1	1.21 $\pm$ 0.03	a	1.55 $\pm$ 0.13	b	1.64 $\pm$ 0.07	b	1.43 $\pm$ 0.14	b
	90	1.14 $\pm$ 0.05	a	1.28 $\pm$ 0.05	a	1.30 $\pm$ 0.07	a	1.36 $\pm$ 0.12	a
	180	1.22 $\pm$ 0.05	a	1.34 $\pm$ 0.04	a	1.24 $\pm$ 0.09	a	1.51 $\pm$ 0.09	a
	365	1.17 $\pm$ 0.07	a	1.34 $\pm$ 0.10	a	1.27 $\pm$ 0.06	a	1.22 $\pm$ 0.09	a
Carbohidratos (590 nm)	1	0.89 $\pm$ 0.09	a	1.51 $\pm$ 0.1	b	1.28 $\pm$ 0.16	b	1.37 $\pm$ 0.06	b
	90	1.12 $\pm$ 0.04	a	1.43 $\pm$ 0.1	a	1.28 $\pm$ 0.16	a	1.60 $\pm$ 0.17	a
	180	1.23 $\pm$ 0.1	a	0.97 $\pm$ 0.1	a	1.43 $\pm$ 0.21	a	1.13 $\pm$ 0.12	a
	365	1.06 $\pm$ 0.21	a	1.17 $\pm$ 0.2	a	1.16 $\pm$ 0.16	a	1.28 $\pm$ 0.12	a
Componentes fenólicos (590 nm)	1	0.56 $\pm$ 0.09	a	1.12 $\pm$ 0.15	b	1.07 $\pm$ 0.11	b	0.95 $\pm$ 0.25	b
	90	0.72 $\pm$ 0.11	a	0.93 $\pm$ 0.09	a	0.94 $\pm$ 0.13	a	1.11 $\pm$ 0.10	a
	180	0.87 $\pm$ 0.06	a	0.69 $\pm$ 0.06	a	0.80 $\pm$ 0.06	a	0.77 $\pm$ 0.08	a
	365	0.75 $\pm$ 0.04	a	0.91 $\pm$ 0.06	a	0.94 $\pm$ 0.17	a	0.81 $\pm$ 0.02	a
Polímeros (590 nm)	1	0.89 $\pm$ 0.13	a	1.02 $\pm$ 0.14	a	1.06 $\pm$ 0.11	a	1.16 $\pm$ 0.19	a
	90	1.31 $\pm$ 0.14	a	1.37 $\pm$ 0.21	a	1.38 $\pm$ 0.12	a	1.48 $\pm$ 0.13	a
	180	1.17 $\pm$ 0.23	a	1.11 $\pm$ 0.05	a	1.11 $\pm$ 0.06	a	1.46 $\pm$ 0.14	a
	365	0.87 $\pm$ 0.01	a	1.22 $\pm$ 0.26	a	1.07 $\pm$ 0.13	a	1.19 $\pm$ 0.16	a
AWCD (590 nm)	1	0.91 $\pm$ 0.04	a	1.36 $\pm$ 0.09	a	1.27 $\pm$ 0.05	a	1.21 $\pm$ 0.11	a
	90	1.04 $\pm$ 0.04	a	1.29 $\pm$ 0.07	a	1.29 $\pm$ 0.09	a	1.46 $\pm$ 0.11	a
	180	1.10 $\pm$ 0.12	a	1.08 $\pm$ 0.05	a	1.23 $\pm$ 0.08	a	1.26 $\pm$ 0.08	a
	365	0.99 $\pm$ 0.06	a	1.18 $\pm$ 0.13	a	1.16 $\pm$ 0.04	a	1.13 $\pm$ 0.07	a

El análisis de componentes principales de estos datos (Figura 14) nos confirma el efecto de la quema prescrita, ya que el factor 1, que explica el 59 % de la varianza, separa las muestras no quemadas de las quemadas;

## Resultados y discusión

asimismo las muestras quemadas se agrupan en función del tiempo de muestreo, confirmando la variabilidad estacional que observamos en los valores de la actividad microbiana. La quema es el principal factor que condiciona la diversidad funcional en estos suelos, lo que coincide con estudios previos que describen el aumento del pool lábil de C como el efecto más importante en la materia orgánica de un suelo quemado (Díaz-Raviña et al., 1992; Fernández et al., 2001; Almendros y González-Vila, 2012). El análisis de componentes principales también separa los suelos tratados con mulching de paja de los suelos quemados y los quemados tratados con siembra de herbáceas, en cada muestreo. Estos resultados son coincidentes con los estudios de Huang et al. (2008), quienes también observan en cultivos forestales un efecto muy marcado de altas dosis de mulching. Las diferencias entre la cobertura vegetal de estos tratamientos puede explicar parcialmente este comportamiento.

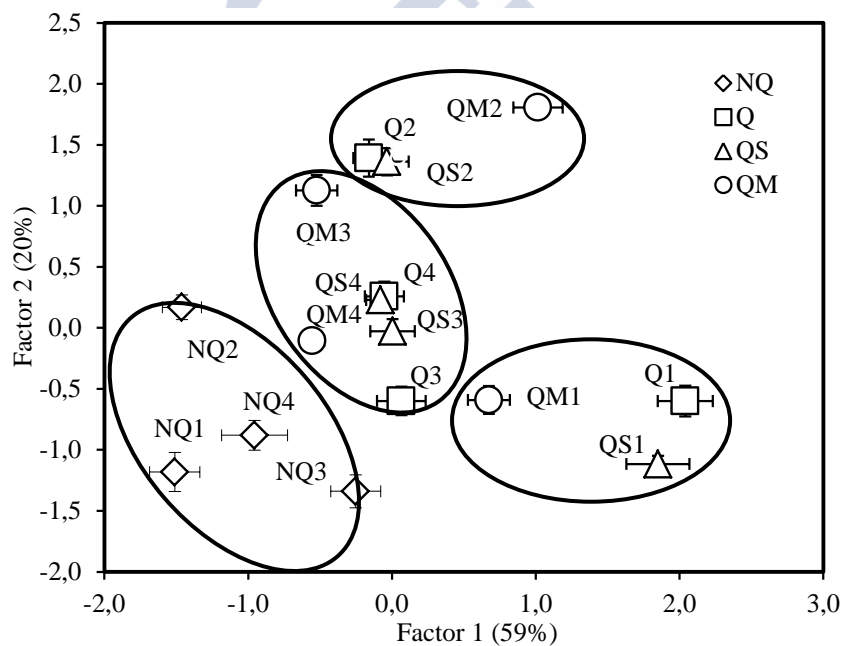


Figura 14: Análisis de componentes principales del perfil de uso de los sustratos por parte de la comunidad microbiana del suelo en diferentes momentos de muestreo [1 (1), 90 (2), 180 (3) y 365 (4) días] después de la quema y de la aplicación de los tratamientos de estabilización (media  $\pm$  DE). Tratamientos: NQ (no quemado), Q (quemado), QS (quemado + siembra de herbáceas), QM (quemado + aplicación de mulching de paja).

La biomasa total y de los grupos microbianos específicos, estimada mediante el análisis de los ácidos grasos de los fosfolípidos, 1 año después de la quema, se indica en la Tabla 7. Los resultados muestran que los suelos

## Resultados y discusión

quemados tienen valores menores que los presentados por el suelo no quemado y dichos valores son del mismo orden de magnitud que en otros ecosistemas quemados de la misma área (Díaz-Raviña et al., 2006, 2012). En las relaciones hongos/bacterias y bacterias Gram<sup>-</sup>/bacterias Gram<sup>+</sup> solo se observaron diferencias significativas debidas al fuego. Los hongos y las bacterias Gram<sup>-</sup> disminuyen como consecuencia de la quema debido a que presentan una mayor sensibilidad al calentamiento y/o no se recuperan en condiciones post-incendio (Vázquez et al., 1993; Carballas et al., 2009; Ponder et al., 2009; Bárcenas-Moreno et al., 2011). En determinados ecosistemas los hongos pueden tardar decenas de años en alcanzar los niveles pre-incendio, aunque la vegetación ya esté recuperada (Holden et al., 2013). El tratamiento con siembra no modifica la biomasa microbiana si lo comparamos con el control quemado, mientras que el tratamiento con mulching de paja tiende a disminuir estos valores.

Tabla 7: Biomasa total, fúngica, bacteriana y de las bacterias Gram positivas y Gram negativas, y relación entre estas variables, en función de los ácidos grasos de los fosfolípidos (PLFA), en los suelos de A Estrada (media  $\pm$  error estándar) 1 año después de la quema y de la aplicación de los tratamientos de estabilización (media  $\pm$  DE). Tratamientos: NQ (no quemado), Q (quemado), QS (quemado + siembra de herbáceas), QM (quemado + aplicación de mulching de paja). Letras diferentes, para cada tiempo, indican diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $P < 0,05$ ).

	TRATAMIENTO			
	NQ	Q	QS	QM
Biomasa total (nmoles g <sup>-1</sup> )	479 $\pm$ 30 b	337 $\pm$ 62 ab	360 $\pm$ 40 ab	252 $\pm$ 37 a
Hongos (nmoles g <sup>-1</sup> )	66 $\pm$ 3 b	44 $\pm$ 8 ab	44 $\pm$ 5 ab	28 $\pm$ 5 a
Bacterias (nmoles g <sup>-1</sup> )	218 $\pm$ 15 b	146 $\pm$ 20 ab	159 $\pm$ 18 ab	114 $\pm$ 18 a
Bacterias G <sup>+</sup> (nmoles g <sup>-1</sup> )	50 $\pm$ 5 a	38 $\pm$ 6 a	44 $\pm$ 6 a	32 $\pm$ 5 a
Bacterias G <sup>-</sup> (nmoles g <sup>-1</sup> )	129 $\pm$ 6 b	80 $\pm$ 11 a	83 $\pm$ 9 a	60 $\pm$ 11 a
Hongos / Bacterias (nmoles g <sup>-1</sup> )	0.30 $\pm$ 0.01 b	0.29 $\pm$ 0.02 b	0.27 $\pm$ 0.00 ab	0.25 $\pm$ 0.01 a
Bacterias Gram <sup>-</sup> /Gram <sup>+</sup> (nmoles g <sup>-1</sup> )	2,61 $\pm$ 0,2 b	2,13 $\pm$ 0,1 ab	1,89 $\pm$ 0,05 a	1,91 $\pm$ 0,14 a

El análisis de componentes principales de todos los datos de PLFA (Figura 15), explica en conjunto (suma de los dos componentes) el 83 % de la varianza. Al igual que ocurría con los resultados de CLPP, la mayor parte de

## *Resultados y discusión*

la variación de los datos se explica en función de la época de muestreo. El factor 1, que explica la mitad de la varianza, separa las muestras tomadas en los dos primeros muestreos, de las obtenidas en los dos últimos, mientras que el factor 2, que explica un 33 % de la varianza, separa las muestras tomadas un año después de la quema del resto de las muestras. Esta variabilidad estacional puede ser debida a la variación en los factores ambientales (Díaz Raviña et al., 1993, 1995) y/o a la recuperación de la cobertura vegetal (Ginzburg y Steinberg, 2012). Las muestras tomadas un año después de la quema se caracterizan por elevadas concentraciones de ácidos grasos indicativos de hongos, mientras que el resto de las muestras tienen una mayor cantidad de ácidos grasos indicativos de bacterias y actinobacterias.

La elevada variabilidad estacional enmascara totalmente los posibles efectos de la quema o de los tratamientos de rehabilitación, por esta razón se realizaron análisis de componentes principales de cada muestreo por separado (Figura 16). En todos los tiempos las muestras no quemadas se separan claramente de las quemadas, siendo el factor que las separa responsable del 17-30 % de la varianza. En cuanto a los tratamientos de estabilización, observamos que las muestras tratadas con mulching de paja se separan claramente tanto de las muestras con tratamiento de siembra de herbáceas como del control quemado 3 y 12 meses después de la quema. En todos los tiempos las muestras no quemadas presentan una mayor cantidad de ácidos grasos indicativos de hongos (18:2 $\omega$ 6, 16:1 $\omega$ 5, 18:1 $\omega$ 9) y de bacterias Gram negativas (16:1 $\omega$ 7c, 18:1 $\omega$ 7), mientras que las muestras quemadas tienen mayor cantidad de ácidos grasos indicativos de bacterias y actinobacterias. Los hongos y las bacterias Gram negativas son más sensibles a la quema prescrita, tal como se observa en la biomasa (Tabla 7). Esta disminución de los hongos como contrapartida a un incremento en las bacterias y actinobacterias, en los ambientes post-incendio de los suelos ha sido previamente documentada (Pietikainen y Fritze, 1995; Bárcenas-Moreno y Bååth, 2009; Carballas et al., 2009; Bárcenas-Moreno et al., 2011).

Las diferencias entre los distintos tratamientos de estabilización son probablemente debidas a los cambios que provocan en la cobertura vegetal, ya que las plantas tienen un efecto muy importante en los microorganismos del suelo por la liberación de determinados nutrientes y compuestos orgánicos al suelo (Grayston et al., 1998). Este efecto es aún más importante en los suelos quemados (Hart et al., 2005; Hamman et al., 2007).



## Resultados y discusión

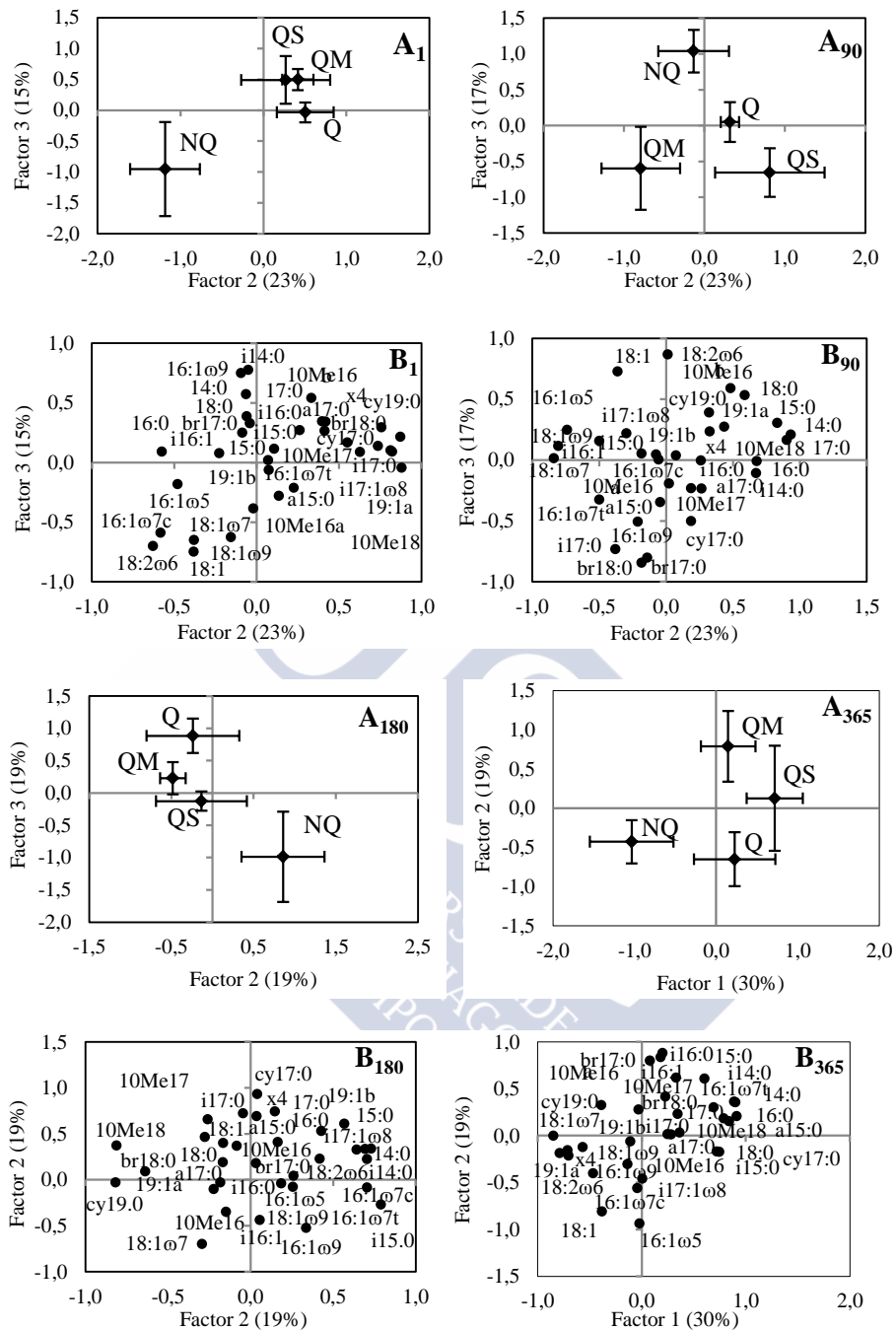


Figura 16: Distribución de las muestras (media  $\pm$  error estándar) (A) y de las variables (B) del análisis de componentes principales de los PLFA del suelo en diferentes momentos de muestreo (1, 90, 180 y 365 días) después de la quema y de la aplicación de los tratamientos de estabilización (media  $\pm$  DE). Tratamientos: NQ (no quemado), Q (quemado), QS (quemado + siembra de herbáceas), QM (quemado + aplicación de mulching de paja).

#### **4.2.2. EXPERIENCIA DE LABORATORIO**

En la experiencia de campo no se encontraron efectos significativos de los tratamientos de rehabilitación en la mayoría de las propiedades físico-químicas, químicas y bioquímicas del suelo. Sin embargo, se observó un pequeño efecto del tratamiento con mulching sobre la estructura de la comunidad microbiana. Por otra parte, a medio plazo, los materiales usados como mulching serán incorporados al suelo pudiendo entonces ejercer un efecto diferente sobre la biomasa y la actividad de los principales microorganismos descomponedores del suelo, las bacterias y los hongos. Para estudiar este efecto en profundidad se diseñó una experiencia de laboratorio donde se realizó una incubación de 2 meses de un suelo sometido a un incendio de alta severidad, adicionado con diferentes materiales vegetales (paja de trigo, fibra de coco, astillas y corteza de eucalipto), a dos dosis diferentes (una dosis baja de 2,5-4 Mg ha<sup>-1</sup>, que corresponde a la que se utiliza habitualmente como mulching en las tareas de rehabilitación y restauración post-incendio en la zona templado-húmeda; y una dosis alta de 25-40 Mg ha<sup>-1</sup>, que corresponde a una dosis 10 veces mayor que la habitual), analizando a varios tiempos diversos parámetros relacionados con la biomasa y la actividad de los microorganismos del suelo (véase Material y Métodos).

En general, para cada parámetro analizado, se observaron resultados similares independientemente de la dosis de aplicación, pero, tal como era de esperar, los efectos fueron más acentuados a las dosis más altas. La adición de todos los materiales vegetales provocó un incremento en la respiración (Figura 17), sobre todo en las muestras adicionadas con la dosis alta de paja; sin embargo, en el caso de la fibra de coco este efecto fue bastante pequeño. La paja, comparada con los demás materiales tiene la mayor cantidad de C extraíble y la menor relación C/N, lo que favorece la actividad de los microorganismos, y por lo tanto la respiración (Bossuyt et al., 2001). La elevada relación C/N que presentan los materiales procedentes del eucalipto (corteza y astillas), podría haber provocado que la actividad de los microorganismos de los suelos adicionados con estos materiales estuviera limitada por la escasez de N (Kamble and Bååth, 2014).

En cuanto a la actividad específica de los hongos y las bacterias (Figuras 18 y 19), mostraron comportamientos claramente diferentes en función del material vegetal añadido al suelo quemado. La fibra de coco, a dosis altas, favorece ligeramente la actividad bacteriana y fúngica, pero en general tiene poco efecto sobre la microbiota probablemente debido a la baja cantidad de

## Resultados y discusión

C disponible que tiene. La paja de trigo es el material que provoca un mayor incremento en la actividad bacteriana, aunque también favorece, en menor medida, la actividad fúngica. Los materiales procedentes del eucalipto presentan un comportamiento totalmente distinto a los anteriores, ya que inhiben la actividad bacteriana durante las primeras semanas de incubación al mismo tiempo que favorecen la actividad fúngica. La elevada relación C/N de la corteza y las astillas del eucalipto puede ser la razón de que la actividad fúngica resulte favorecida frente a la bacteriana (Henriksen and Breland, 1999; Thiet et al., 2006; Rousk and Bååth, 2007a).

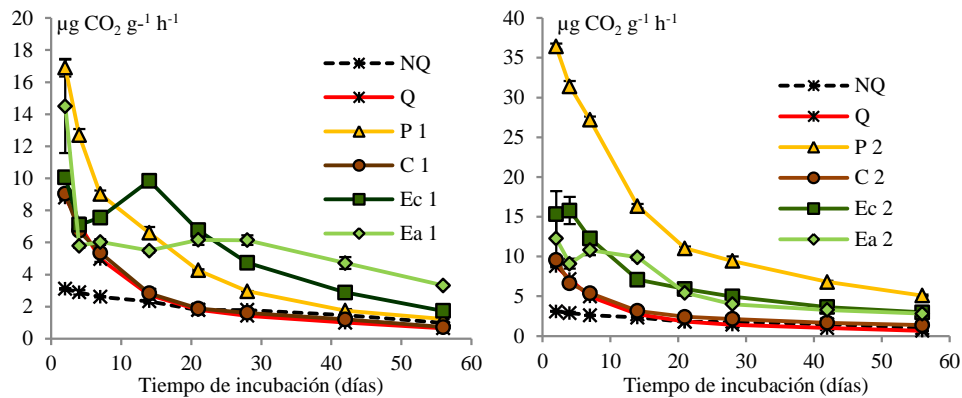


Figura 17: Respiración (media  $\pm$  error estándar) del suelo no quemado (NQ) y quemado (Q) y después de añadirle diferentes materiales usados como mulching a dosis bajas (1) y altas (2). P = suelo quemado + paja de trigo; C = suelo quemado + fibra de coco; Ec = suelo quemado + corteza de eucalipto; Ea = suelo quemado + astilla de eucalipto.

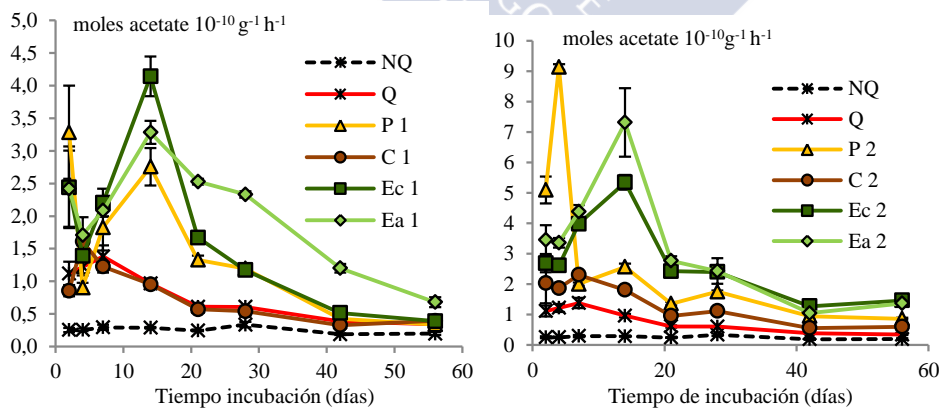


Figura 18: Actividad fúngica (media  $\pm$  error estándar) del suelo no quemado (NQ) y quemado (Q) y después de añadirle diferentes materiales usados como mulching a dosis bajas (1) y altas (2). P = suelo quemado + paja de trigo; C = suelo quemado + fibra de coco; Ec = suelo quemado + corteza de eucalipto; Ea = suelo quemado + astilla de eucalipto.

## Resultados y discusión

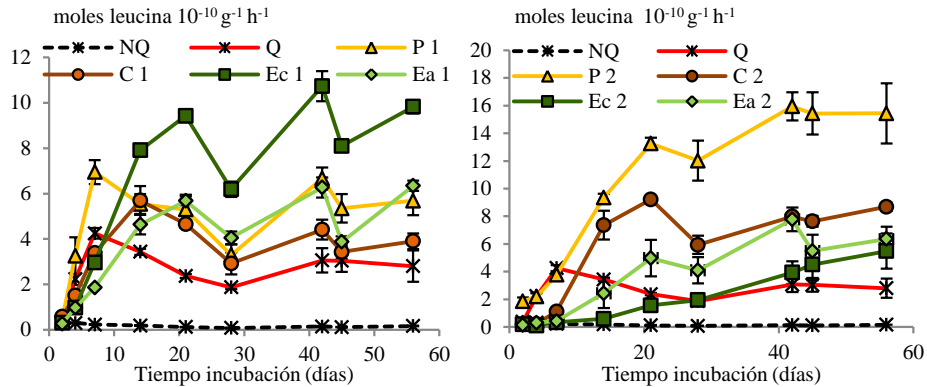


Figura 19: Actividad bacteriana (media  $\pm$  error estándar) del suelo no quemado (NQ) y quemado (Q) y después de añadirle diferentes materiales usados como mulching a dosis bajas (1) y altas (2). P = suelo quemado + paja de trigo; C = suelo quemado + fibra de coco; Ec = suelo quemado + corteza de eucalipto; Ea = suelo quemado + astilla de eucalipto.

La biomasa microbiana total y de los grupos microbianos específicos (Tabla 8), estimada por los PLFA, en general, después de dos meses de incubación de los suelos, aumenta como consecuencia de la aplicación de los distintos materiales, pero este incremento es más pronunciado en la biomasa fúngica. Se produce un aumento de las relaciones hongos/bacterias y bacterias Gram<sup>-</sup>/bacterias Gram<sup>+</sup>, es decir, los materiales vegetales favorecen los hongos frente a las bacterias y las Gram<sup>-</sup> frente a las Gram<sup>+</sup>. Las muestras en las que se observó un mayor incremento de los hongos fueron aquellas a las que se añadieron las astillas de eucalipto, el material con la mayor relación C/N. El análisis de componentes principales de los datos de PLFA de todas las muestras quemadas (se excluyeron las no quemadas), se muestra en la Figura 20. El factor 1 separa las muestras control quemadas y las adicionadas con dosis bajas de coco y paja del resto de las muestras, mientras que el factor 2 separa las muestras adicionadas con corteza o astillas de eucalipto en función de la dosis aplicada. Las muestras con residuos de eucalipto se caracterizaron por tener una mayor concentración de ácidos grasos indicativos de hongos (18:2 $\omega$ 6, 18:1 $\omega$ 9).

Como se indicó anteriormente, la adición de los materiales vegetales procedentes del eucalipto provocaron una inhibición temporal de la actividad bacteriana y favorecieron la actividad fúngica. Esto puede ser debido a la competencia entre ambos grupos microbianos, dando como resultado que los hongos produzcan sustancias antibacterianas (De Boer et

### *Resultados y discusión*

al., 2005), o a que el propio eucalipto genere sustancias con propiedades antimicrobianas (Schelz et al., 2006; Daroui-Mokadden et al., 2010).

Un incremento en los hongos sería una acción favorable en un suelo que ha sufrido un incendio, porque habitualmente estos son más sensibles al calentamiento que las bacterias (Bárcenas-Moreno et al., 2011) y porque, además, los hongos son los que más contribuyen a la biomasa microbiana y juegan un papel muy importante en la agregación del suelo y en el secuestro de C (mayor relación C/N que las bacterias). En este sentido, aunque la adición de todos los materiales utilizados como mulching favorecen a los hongos (paja de trigo, residuos de eucalipto, fibra de coco), con el objetivo de tener un crecimiento mayor de hongos que de bacterias y maximizar la estabilidad del suelo a través de los hongos, sugerimos la adición de residuos de eucalipto como una buena opción para la utilización de mulching, aunque la fibra de coco, por su baja tasa de degradación también puede ser una opción plausible. Por lo tanto, en principio cualquiera de estos materiales (paja de trigo, eucalipto, fibra de coco) puede ser beneficioso para la recuperación del suelo quemado tras el incendio al favorecer el crecimiento fúngico. No obstante, en la elección de un material u otro, además de la calidad del suelo quemado, también se debería tener en cuenta la eficacia del tipo de mulching en el control de la erosión post-incendio y la relación coste/beneficio.

	PLFA total			Hongos			Bacterias			Gram <sup>+</sup>			Gram <sup>-</sup>			Hongos/Bacterias			Gram <sup>-</sup> /Gram <sup>+</sup>									
<b>NQ</b>	499	±	72	ab	2	±	0	a	238	±	39	ab	65	±	9	ab	121	±	26	a	0.01	±	0.00	a	1.86	±	0.24	ab
<b>Q</b>	430	±	19	ab	5	±	0	a	207	±	11	ab	51	±	2	a	123	±	9	a	0.02	±	0.00	a	2.41	±	0.22	bc
<b>P 1</b>	560	±	48	abc	20	±	1	ab	268	±	24	ab	61	±	5	ab	155	±	14	a	0.08	±	0.00	a	2.54	±	0.04	b
<b>P 2</b>	1018	±	45	d	95	±	4	e	435	±	24	c	106	±	5	c	235	±	9	b	0.22	±	0.00	bc	2.21	±	0.07	bc
<b>C 1</b>	384	±	11	a	9	±	1	a	182	±	7	a	46	±	1	a	102	±	5	a	0.05	±	0.00	a	2.18	±	0.10	bc
<b>C 2</b>	466	±	51	ab	36	±	12	bc	183	±	17	a	65	±	2	ab	90	±	10	a	0.19	±	0.05	bc	1.39	±	0.13	a
<b>Ec 1</b>	613	±	120	abc	40	±	7	bc	274	±	54	ab	61	±	12	ab	161	±	32	a	0.15	±	0.00	b	2.62	±	0.05	c
<b>Ec 2</b>	702	±	61	bc	76	±	10	de	278	±	20	ab	89	±	7	bc	145	±	11	a	0.27	±	0.02	cd	1.64	±	0.07	a
<b>Ea 1</b>	681	±	45	abc	62	±	4	cd	277	±	19	ab	60	±	4	ab	167	±	13	a	0.22	±	0.00	bcd	2.76	±	0.04	c
<b>Ea 2</b>	843	±	75	cd	95	±	8	e	324	±	26	b	101	±	6	c	159	±	16	a	0.29	±	0.00	d	1.57	±	0.06	a

Tabla 8: Biomasa total, fúngica, bacteriana y de las bacterias Gram positivas y Gram negativas, y relación entre estas variables, en función de los ácidos grasos de los fosfolípidos (PLFA), del suelo no quemado (NQ) y quemado (Q) y después de añadirle dosis bajas (1) y altas (2) de diferentes materiales usados como mulching (media ± error estándar), después de 2 meses de incubación. P = suelo quemado + paja de trigo; C = suelo quemado + fibra de coco; Ec = suelo quemado + corteza de eucalipto; Ea = suelo quemado + astillas de eucalipto. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $P < 0,05$ ).

Resultados y Discusión

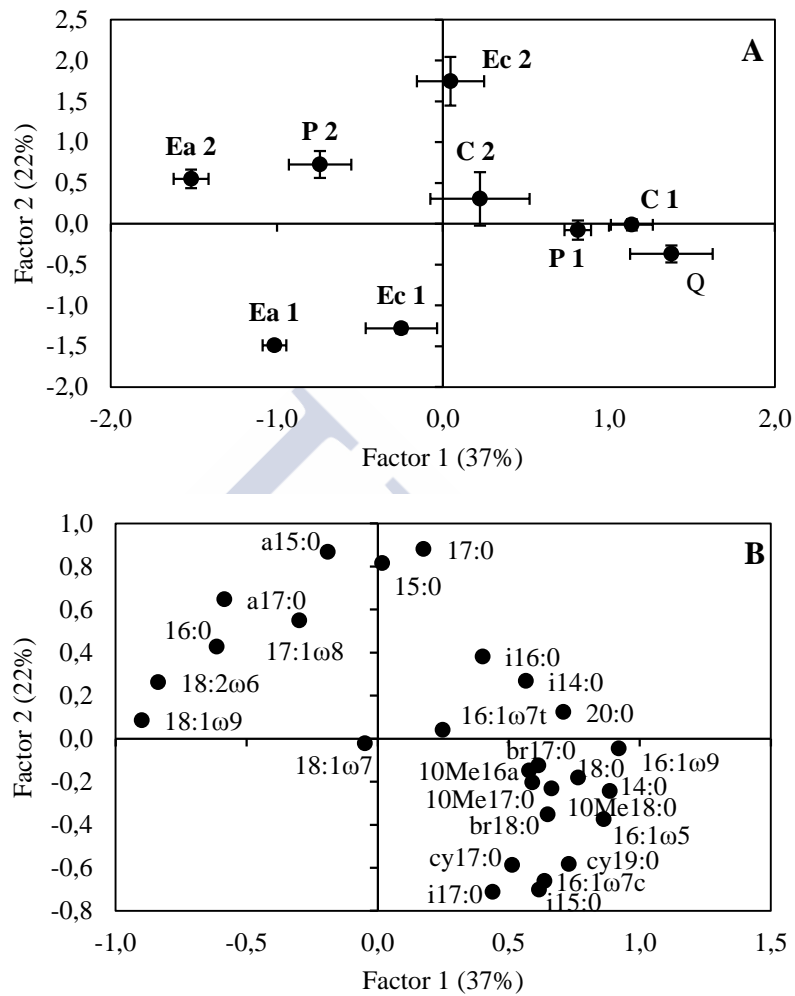


Figura 20: Distribución de las muestras (A) y de las variables (B) del análisis de componentes principales llevado a cabo con los datos de los PLFAs después de 56 días de incubación de los suelos quemados adicionados con diferentes materiales de mulching a dosis de aplicación baja (1) y alta (2). Q = suelo quemado; P = suelo quemado + paja de trigo; C = suelo quemado + fibra de coco; Ec = suelo quemado + corteza de eucalipto; Ea = suelo quemado + astillas de eucalipto.

## **5- CONCLUSIONES**

Los resultados de las experiencias de campo demostraron que la quema prescrita o fuego experimental, combinada o no con los agentes retardantes de llama (polifosfato amónico, espumante, Firesorb), provocó un pequeño efecto a corto plazo sobre las propiedades del suelo pero no modificó a largo plazo la mayoría de las propiedades físico-químicas, químicas y bioquímicas del suelo relacionadas con la masa y la actividad de los microorganismos del suelo. Sin embargo, se detectaron cambios en la estructura de la comunidad microbiana, determinada mediante el análisis de los ácidos grasos de los fosfolípidos, persistiendo dichos cambios incluso 5-10 años después de la quema. El Firesorb y, sobre todo, el polifosfato amónico, fueron los agentes retardantes que ejercieron una mayor influencia sobre la microbiota edáfica, aunque dicho efecto es de poca importancia, comparado con el efecto de la época de muestreo, y está en consonancia con el efecto sobre la vegetación.

La experiencia de campo demostró que la implementación de las técnicas de rehabilitación de emergencia (siembra y acolchado) a dosis normales de aplicación en condiciones de campo en suelos quemados, no mostraron ningún efecto sobre las propiedades físicas, químicas y bioquímicas del suelo; y que la quema prescrita ejerció una marcada influencia sobre la comunidad microbiana, efecto que persistió incluso 1 año después del incendio. También se observó un efecto significativo de la época de muestreo sobre la diversidad funcional de la comunidad microbiana y sobre la estructura de la comunidad, particularmente sobre esta última. La importancia relativa de la quema y de la variación intra-anual varió en función de la técnica usada, siendo el efecto de la quema prescrita mayor en base a los datos de la diversidad funcional (CLPP) que en base a los datos de la estructura de la comunidad (PLFA pattern). Aunque estos análisis nos permitieron diferenciar las comunidades microbianas del suelo con los dos tratamientos de estabilización, sobre todo el mulching de paja, de las correspondientes muestras de suelo quemado sin ningún tratamiento, este efecto fue de poca importancia en comparación con el efecto de la variabilidad estacional.

Los resultados de la experiencia de laboratorio realizada con un suelo quemado de alta severidad al que se incorporaron diferentes tipos de mulching utilizados con frecuencia en los tratamientos de emergencia (paja de trigo, fibra de coco, corteza y astillas de eucalipto) a dosis normales de aplicación en el campo y a dosis 10 veces mayores mostraron resultados

### *Conclusiones*

similares independientemente de la dosis usada aunque, tal como era de esperar, los efectos mayores se observaron con las dosis más altas. Se observó que los hongos y las bacterias respondían de forma diferente a la adición de estos materiales con una alta relación C/N. La adición de eucalipto, especialmente las astillas, favoreció el crecimiento de los hongos, mientras que la adición de paja favoreció el crecimiento de los hongos y las bacterias, sobre todo, el de estas últimas. Aunque la adición de todos estos materiales favorecía a los hongos, con el objetivo de tener un mayor crecimiento de los hongos que de las bacterias para maximizar la estabilización de los suelos a través de los hongos, sugerimos los residuos de eucalipto como una buena opción. No obstante, además de los aspectos relacionados con la calidad del suelo, debería considerarse la eficacia de estos materiales para controlar la erosión post-incendio, y por lo tanto la pérdida de suelo, en condiciones de campo.

Los resultados también demostraron que las propiedades biológicas mostraban una diferente sensibilidad para detectar los cambios producidos en la calidad del suelo como consecuencia del impacto de los agentes retardantes de llama y de las prácticas de estabilización del suelo, esta sensibilidad aumenta en el siguiente orden: medidas de biomasa microbiana < las medidas de actividad microbiana < medidas de estructura de la comunidad microbiana. El análisis de la estructura de la comunidad mediante el análisis de los ácidos grasos de los fosfolípidos combinado con el análisis de componentes principales resulta ser una herramienta útil en la gestión de estos suelos forestales quemados.

## 6-SUMMARY AND CONCLUSIONS

### IMPACT OF DIFFERENT FIRE-FIGHTING CHEMICALS AND POST-FIRE RESTORATION TECHNIQUES ON THE SOIL MICROBES

This thesis is based on the following papers:

Barreiro, A., Martín, A., Carballas, T., Díaz-Raviña, M. 2010. Response of soil microbial communities to fire and fire-fighting chemicals. *Science of the Total Environment*, 408: 6172 – 6178 (**Annexed I**).

Barreiro, A., Martín, A., Carballas, T., Díaz-Raviña, M. 2016. Long-term response of soil microbial communities to fire and fire-fighting chemicals. *Manuscript* (**Annexed II**).

Fontúrbel, M.T., Barreiro, A., Vega, J.A., Martín A., Jiménez, E., Carballas, T., Fernández, C., Díaz-Raviña M. 2012. Effects of an experimental fire and post-fire stabilisation treatments on soil microbial communities. *Geoderma* 191:51-60 (**Annexed III**).

Barreiro, A., Fontúrbel, M.T., Lombao, A. Martin, A., Vega, J.A., Fernández, C., Carballas, T., Díaz-Raviña, M. 2015. Using phospholipid fatty acid and community level physiological profiling techniques to characterize soil microbial communities following an experimental fire and different stabilization treatments. *Catena* 135: 419-429 (**Annexed IV**).

Barreiro, A., Bååth, E., Díaz-Raviña, M. 2016. Bacterial and fungal growth in burnt acid soils amended with different C/N mulch materials. *Soil Biology and Biochemistry* 97:102-111 (**Annexed V**).



## **SUMMARY**

The forest fires represent a very important problem for the forest ecosystems, causing serious social, economic and ecological troubles. During the integral firefighting (prevention, fire extinction, evaluation of the impacts and restoration of burned areas) different treatments that may affect directly or indirectly the soil-plant system have been applied. The problems start directly at the time of extinguishing the fire, with the indiscriminate use of fire-fighting chemical agents, which can cause adverse effects on the environment. The fire itself produces very serious direct effects on soil, being able of reducing soil fertility and therefore the soil quality. Fires also cause serious indirect effects such as post-fire erosion and to mitigate the derived damages various methods of soil stabilization such as the early implementation of a herbaceous vegetation, the application of mulching of different materials and the building of erosion barriers are carried out. The evaluation of the impacts of different severity fires on soils is well studied; however, information on the effect on the soil-plant system of the fire-fighting chemical agents used in the extinction and the different soil stabilization techniques is very scarce.

Soil microorganisms are responsible for the soil fertility, because they are involved in the cycles of C and nutrients and in the process of soil mineralization, by which the nutrients needed for the plant growth are liberated. In fact approximately 80-90 % of the soil processes are mediated by microorganisms. Several studies have shown that the soil microbiota, although only represents a small percentage of the soil organic matter (between 1-3 % organic C), due to its fast turnover they represent an important source and sink of mineral nutrients for plants. Moreover, the soil microbiota may also be used as an early bio-indicator of changes in soil quality due to degradation processes and/or practices of soil conservation before such changes can be detected by analysis of physicochemical and chemical soil properties. All these facts highlight the importance of studying the microbiota in burned soils.

The purpose of this work is to study, through field and laboratory experiences, the following topics:

- a) The impact in the short-, medium- and long- term of the fire-fighting chemicals frequently used in extinguishing fires (ammonium polyphosphate, foaming and Firesorb) on the soil microbiota.
- b) The impact on soil microbiota of different treatments of emergency rehabilitation of burned soils (seeding, straw mulching) to control post-fire erosion. We will also examine, under laboratory conditions, the effect of the

### *Summary and conclusions*

incorporation to the soil of different types of mulching (wheat straw, coconut fiber, *Eucalyptus* bark, *Eucalyptus* wood chips) on the specific activity of the main decomposer microorganisms, fungi and bacteria.

To fulfill these objectives, different field experiences involving prescribed fires and the consequent application, in normal doses used in field conditions, of the different treatments will be made. In addition, the comparison of the soil subjected to the prescribed burning with an unburned control soil, also allow us to assess the effects of the prescribed fire on soil microorganisms. For the assessment of the impacts various microbial parameters such as microbial biomass, soil respiration, specific soil enzyme activities of the C ( $\beta$ -glucosidase), N (urease) and P (phosphatase) cycles, functional diversity (Biolog, degradation of various carbon substrates), taxonomic diversity or structure of the microbial community (analysis of the fatty acids of phospholipids) and the activity of bacteria and fungi (methods of cellular incorporation of labeled substrates, leucine for the bacterial activity and acetate for the fungal activity) will be analyzed.



## CONCLUSIONS

The results of field experience have shown that the prescribed or experimental fire combined or not with fire-fighting chemicals (ammonium polyphosphate, foaming, Firesorb) provoked a slight short-term effect on the soil properties but did not change at medium- and long- term the physicochemical, chemical and biochemical soil properties related with the mass and activity of the soil micro-organisms. However, changes in the soil microbial community structure, estimated by the analysis of the phospholipid fatty acids, were detected and these effects persisted even 5 - 10 years after the prescribed fire. The Firesorb and particularly the ammonium polyphosphate were the main fire-fighting chemicals showing the major influence on the soil microorganisms; nevertheless these effects are of minor importance compared with those of sampling time, which is in accordance with the marked changes observed in the vegetation.

The field experience performed with a soil affected by a prescribed fire demonstrate that the implementation of post-fire emergency techniques (seeding and mulching) at normal doses of application did not show any or slight effect on soil physicochemical, chemical and biochemical properties and that the prescribed fire has marked effects on the soil microbial communities that persisted 1 year after the fire. In addition, a significant effect of the sampling time on the functional diversity of the microbial community and particularly on the microbial community structure was observed. The relative importance of the experimental fire and the intra-annual variation varied notably depending on the technique used, having the experimental fire a greater impact on the functional diversity (as evidenced by CLPP) than on the microbial community structure (as evidence by PLFA pattern). Although both techniques allow us differentiate the microbial communities of the burned soils from the microbial communities of the burned soils with post-fire stabilisation treatments, these effects were of minor importance compared with the impact of the sampling time.

The results from a laboratory experience performed with a high severity burned soil added with different plant residues commonly used as emergency post-fire rehabilitation treatments (wheat straw, coconut fiber, *Eucalyptus* bark and wood chips) at normal doses of application and at a rate 10 times higher showed similar results independently of the dose used, although as expected the effect was greater with the high doses. The results also showed that fungi and bacteria responded differently to the addition of these materials with high C/N ratios. The addition of *Eucalyptus* residues, especially wood chips, to burnt soils, favoured fungal growth while the addition of straw favoured both fungal and bacterial growth, particularly the

### *Summary and conclusions*

later. Although the addition of all these materials favoured the fungal growth, in order to maximize the stabilization of the soils through fungi, we suggest for further studies to improve the soil quality the use of *Eucalyptus* residues as a good choice with the aim of obtaining a higher fungal than bacterial growth. Nevertheless besides the aspects related with the soil quality, additional information concerning the efficiency of these materials to control post-fire erosion, and therefore soil losses, in field conditions, should be considered before their implementation.

The results clearly showed that the biological properties exhibited a different sensitivity to detect the soil quality changes induced by the impact of the fire-retardants and the post-fire stabilization techniques, this sensitivity following the order microbial biomass measurements < microbial activity measurements < community structure measurements. The community structure measurements by phospholipid fatty acid combined with principal component analysis seems to be a promising tool for the management of burned soils.



## **7- BIBLIOGRAFÍA**

Acea, M.J., Carballas, T. 1996a. Changes in physiological groups of microorganisms in soil following wildfire. *FEMS Microbiology Ecology* 20: 33-39.

Acea, M.J., Carballas, T. 1996b. Microbial response to organic amendments in a forest soil. *Bioresource Technology* 57: 193-199.

Adams, R., Simmons, D. 1999. Ecological effects of fire fighting foams and retardants: A summary. *Australian Forestry* 62: 307-314.

Almendros, G., González-Vila, F.J. 2012. Wildfires, soil carbon balance and resilient organic matter in mediterranean ecosystems. A review. *Spanish Journal of Soil Science* 2: 8-33.

Álvarez, E., Torrado, V.M., Fernández-Marcos, M.L., Díaz-Raviña, M. 2009. Microbial biomass and activity in a forest soil under different tree species. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry* 8:878-887.

Anderson, J.P.E., Domsch, K.H. 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 10: 215-221.

Andersson, M., Michelsen, A., Jensen, M., Kjøller, A. 2004. Tropical savannah woodland: Effects of experimental fire on soil microorganisms and soil emissions of carbon dioxide. *Soil Biology and Biochemistry* 36: 849-858.

Bååth, E. 2001. Estimation of fungal growth rates in soil using <sup>14</sup>C-acetate incorporation into ergosterol. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 2011-2018.

Bååth, E., Pettersson, M., Söderberg, K.H. 2001. Adaptation of a rapid and economical microcentrifugation method to measure thymidine and leucine incorporation by soil bacteria. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 1571-1574.

Backer, D.M., Jensen, S.E., McPherson, G.R. 2004. Impacts of Fire-Suppression Activities on Natural Communities. *Conservation Biology* 18:937-946.

Barakah, F.N., Salem, S.H., Heggo, A.M., Bin-Shiha, M.A. 1995. Activities of rhizosphere microorganisms as affected by application of organic amendments in a calcareous loamy soil I. Carbon assimilation. *Arid Soil Research & Rehabilitation* 9: 187-200.

Bárcenas-Moreno, G., Bååth, E. 2009. Bacterial and fungal growth in soil heated at different temperatures to simulate a range of fire intensities. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 2517-2526.

Bárcenas-Moreno, G., Rousk, J., Bååth, E. 2011. Fungal and bacterial recolonisation of acid and alkaline forest soils following artificial heat treatments. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 1023-1033.

Basanta, M.R., Díaz-Raviña, M., González-Prieto, S.J., Carballas, T. 2002. Biochemical properties of forest soils as affected by a fire retardant. *Biology and Fertility of Soils* 36: 377-383.

## *Bibliografía*

- Basanta, M.R., Díaz-Raviña, M., Carballas, T. 2003. Microbial biomass and metabolic activity in a forest soil treated with an acrylamide copolymer. *Agrochimica* 47: 9-13.
- Basanta, M.R., Díaz-Raviña, M., Cuiñas, P., Carballas, T. 2004. Field data of microbial response to a fire retardant. *Agrochimica* 48: 51-60.
- Bautista, S., Robichaud, P.R., Bladé, C. 2009. Post-fire mulching. In: *Fire Effects on Soils and Restoration Strategies*. Cerdá, A., Robichaud, P.R. (Eds). Science Publishers, Emfiled, USA. Pages 353-372.
- Bending, G.D., Putland, C., Rayns, F. 2000. Changes in microbial community metabolism and labile organic matter fractions as early indicators of the impact of management on soil biological quality. *Biology and Fertility of Soils* 31: 78-84.
- Benito, E., Díaz-Fierros, F. 1989. Estudio de los principales factores que intervienen en la estabilidad estructural de los suelos de Galicia. *Anales de Edafología y Agrobiología* 48: 229-253.
- Birge, H.E., Conant, R.T., Follett, R.F., Haddix, M.L., Morris, S.J., Snapp, S.S., Wallenstein, M.D., Paul, E.A. 2015. Soil respiration is not limited by reductions in microbial biomass during long-term soil incubations. *Soil Biology and Biochemistry* 81: 304-310.
- Blakely, A.D. 1990. Combustion recovery of flaming pine needle fuel beds sprayed with water/MAP mixtures. USDA Forest Service, Intermountain Forest and Range Experiment Station, Research Paper INT-421 (Ogden, UT).
- Bossio, D.A., Scow, K.M. 1998. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: Phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. *Microbial Ecology* 35: 265-278.
- Bossuyt, H., Deneff, K., Six, J., Frey, S.D., Merckx, R., Paustian, K. 2001. Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. *Applied Soil Ecology* 16: 195-208.
- Bowman, D.M.J.S., Balch, J.K., Artaxo, P., Bond, W.J., Carlson, J.M., Cochrane, M.A., D'Antonio, C.M., DeFries, R.S., Doyle, J.C., Harrison, S.P., Johnston, F.H., Keeley, J.E., Krawchuk, M.A., Kull, C.A., Marston, J.B., Moritz, M.A., Prentice, I.C., Roos, C.I., Scott, A. C., Swetnam, T.W., Van Der Werf, G.R., Pyne, S.J. 2009. Fire in the earth system. *Science* 324(5926): 481-484.
- Bradstock, R., Sanders, J., Tegar, A. 1987. Short-term effects on the foliage of a eucalypt forest after an aerial application of a chemical fire retardant. *Australian Forestry* 50: 71-80.
- Brooks, K.N., Ffolliott, P.F., Gregersen, H.M., DeBano, L.F. 2003. *Hydrology and the management of watersheds*. Iowa State University Press. Blackwell Publishing.
- Carballas, T., Martín, A., Díaz-Raviña, M. 2009. Efecto de los incendios forestales sobre los suelos de Galicia. En: *Efectos de los incendios forestales sobre los suelos de España: El estado de la cuestión visto por los científicos españoles*. Cerdá, A., Mataix-Solera J. (Eds). Cátedra de Divulgación de la Ciencia. Universidad de Valencia. Pages 269-301.

## Bibliografía

- Carballas, T. 2014. El suelo y los incendios forestales en Galicia (Academia de Farmacia de Galicia, ed.). Santiago de Compostela, España, 82 páginas.
- Carballas, T., Rodríguez-Rastrero, M., Artieda, O., Gumuzzio, J., Díaz-Raviña, M., Martín, A. 2015. Soils of the Temperate Humid Zone. In: The soils of Spain. Gallardo, J.F. (Ed). World Soil Book Series, Hartemink A, Series editor, Springer, Páginas. 49-144.
- Casal, M. 2010. Regeneración de la vegetación tras los incendios en Galicia. En: Investigación y Gestión para la Protección del Suelo y Restauración de los Ecosistemas Forestales Afectados por Incendios Forestales. Díaz-Raviña, M., Benito, E., Carballas, T., Fontúrbel, J.A., Vega, A. (Eds). Santiago de Compostela. Páginas 29-34.
- Cerdà, A., Doerr, S.H. 2005. Influence of vegetation recovery on soil hydrology and erodibility following fire: An 11-year investigation. *International Journal of Wildland Fire* 14: 423-437.
- Certini, G. 2005. Effects of fire on properties of forest soils: A review. *Oecologia* 143: 1-10.
- Couto-Vázquez, A., González-Prieto S.J. 2006. Short- and medium-term effects of three fire fighting chemicals on the properties of a burnt soil. *Science of the Total Environment* 371: 353-361.
- Couto-Vázquez, A., García-Marco, S., González-Prieto, S.J. 2011. Long-term effects of fire and three firefighting chemicals on a soilplant system. *International Journal of Wildland Fire* 20: 856-865.
- Cruz, A., Serrano, M., Navarro, E., Luna, B., Moreno, J.M. 2005. Effect of a long-term fire retardant (Fire Trol 934®) on the germination of nine Mediterranean-type shrub species. *Environmental Toxicology* 20: 543-548.
- Daroui-Mokaddem, H., Kabouche, A., Bouacha, M., Soumati, B., El-Azzouny, A., Bruneau, C., Kabouche, Z. 2010. GC/MS analysis and antimicrobial activity of the essential oil of fresh leaves of *Eucalyptus globulus*, and leaves and stems of *Smyrniolus olusatrum* from Constantine (Algeria). *Natural Product Communications* 5: 1669-1672.
- D'Ascoli, R., Rutigliano, F.A., De Pascale, R.A., Gentile, A., De Santo, A.V. 2005. Functional diversity of the microbial community in Mediterranean maquis soils as affected by fires. *International Journal of Wildland Fire* 14: 355-363.
- DeBano, L.F., Neary, D.G., Ffolliott, P.F. 1998. Fire effects on ecosystems, John Wiley & Sons.
- De Boer, W., Folman, L.B., Summerbell, R.C., Boddy, L. 2005. Living in a fungal world: Impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiology Reviews* 29: 795-811.
- De Marco, A., Gentile, A.E., Arena, C., De Santo, A.V. 2005. Organic matter, nutrient content and biological activity in burned and unburned soils of a Mediterranean maquis area of southern Italy. *International Journal of Wildland Fire* 14: 365-377.
- Díaz-Fierros, F., Gil-Sotres, F., Cabaneiro, A., Carballas, T., Leirós de la Peña, M.C., Villar-Celorio, M.C. 1982. Efectos erosivos de los incendios forestales en suelos de Galicia. *Anales de Edafología y Agrobiología* 41: 627-639.

## *Bibliografía*

- Díaz-Fierros, F., Benito, E. 1996. Rainwash erodibility of Spanish soils. In: Soil degradation and desertification in Mediterranean environments. Geofoma Ediciones, Logroño. Pages 91-103.
- Díaz-Raviña, M., Prieto, A., Acea, M.J., Carballas, T. 1992. Fumigation-extraction method to estimate microbial biomass in heated soils. *Soil Biology and Biochemistry* 24: 259-264.
- Díaz-Raviña, M., Acea, M.J., Carballas, T. 1993. Seasonal fluctuations in microbial populations and available nutrients in forest soils. *Biology and Fertility of Soils* 16: 205-210.
- Díaz-Raviña, M., Acea, M.J., Carballas, T. 1995. Seasonal changes in microbial biomass and nutrient flush in forest soils. *Biology and Fertility of Soils* 19: 220-226.
- Díaz-Raviña, M., Prieto, A., Bååth, E. 1996. Bacterial activity in a forest soil after soil heating and organic amendments measured by the thymidine and leucine incorporation techniques. *Soil Biology and Biochemistry* 28: 419-426.
- Díaz-Raviña, M., Bååth, E., Martín, A., Carballas, T. 2006. Microbial community structure in forest soils treated with a fire retardant. *Biology and Fertility of Soils* 42: 465-471.
- Díaz-Raviña, M., Fontúrbel, M.T., Guerrero, C., Martín, A., Carballas, T. 2010. Determinación de propiedades bioquímicas y microbiológicas de suelos quemados. En: Actualización en métodos y técnicas para el estudio de los suelos afectados por incendios forestales. Cerdá, A., Jordán, A. (Eds). Cátedra de Divulgació de la Ciencia, Universitat de Valencia. Páginas 467-497.
- Díaz-Raviña, M., Martín, A., Barreiro, A., Lombao, A., Iglesias, L., Díaz-Fierros, F., Carballas, T. 2012. Mulching and seeding treatments for post-fire soil stabilisation in NW Spain: Short-term effects and effectiveness. *Geoderma* 191: 31-39.
- Docherty, K.M., Balseer, T.C., Bohannon, B.J.M., Gutknecht, J.L.M. 2012. Soil microbial responses to fire and interacting global change factors in a California annual grassland. *Biogeochemistry* 109: 63-83.
- Dooley, S.R., Treseder, K.K. 2012. The effect of fire on microbial biomass: A meta-analysis of field studies. *Biogeochemistry* 109: 49-61.
- Doutre, D.A., Hay, G.W., Hood, A., Vanloon, G.W. 1978. Spectrophotometric methods to determine carbohydrates in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 10: 457-462.
- Eisenhauer, N., Beßler, H., Engels, C., Gleixner, G., Habekost, M., Milcu, A., Partsch, S., Sabais, A.C.W., Scherber, C., Steinbeiss, S., Weigelt, A., Weisser, W.W., Scheu, S. 2010. Plant diversity effects on soil microorganisms support the singular hypothesis. *Ecology* 91: 485-496.
- Eivazi, F., Tabatabai, M.A. 1988. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 20: 601-606.
- Entry, J.A., Stark, N.M., Loewenstein, H. 1986. Effect of timber harvesting on microbial biomass fluxes in a northern Rocky Mountain forest soil. *Canadian Journal of Forest Research* 16: 1076-1081.

## *Bibliografía*

Elfstrand, S., Båth, B., Mårtensson, A. 2007. Influence of various forms of green manure amendment on soil microbial community composition, enzyme activity and nutrient levels in leek. *Applied Soil Ecology* 36: 70-82.

European Commission, 2010. Forest Fires in Europe 2009. Report nr. 10.EUR 24502 EN-Joint Research Centre. Institute for Environment and Sustainability, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

European Glossary for Wildfires and Forest fires. 2012. Stacey, R. EUFOFINET project (European forest Fire Networks). European Union.

FAO 2006. Fire management - global assessment 2006. A thematic study in the framework of the Global Forest Resources Assessment 2005. FAO Forestry Paper No. 151. Food and Agriculture Organization of the United Nations and European Commission Joint Research Centre. Rome, FAO.

FAO, 2012. Global forest land-use change 1990–2005, by Lindquist, E.J., D'Annunzio, R., Gerrand, A., MacDicken, K., Achard, F., Beuchle, R., Brink, A., Eva, H.D., Mayaux, P., San-Miguel-Ayanz, J., Stibig, H.J. FAO Forestry Paper No. 169. Food and Agriculture Organization of the United Nations and European Commission Joint Research Centre. Rome, FAO.

Fernández, C., Vega, J.A. 2016. Are erosion barriers and straw mulching effective for controlling soil erosion after a high severity wildfire in NW Spain? *Ecological Engineering* 87: 132-138.

Fernández, I. 1997. Influencia de los incendios forestales sobre la materia orgánica edáfica. Universidad de Santiago de Compostela. 311 páginas.

Fernandez, I., Cabaneiro, A., Carballas, T. 2001. Thermal resistance to high temperatures of different organic fractions from soils under pine forests. *Geoderma* 104: 281-298.

Fernández-Fernández, M., Gómez-Rey, M.X., González-Prieto, S.J. 2015. Effects of fire and three fire-fighting chemicals on main soil properties, plant nutrient content and vegetation growth and cover after 10 years. *Science of the Total Environment* 515-516: 92-100.

Ferreira, A.J.D., Alegre, S.P., Coelho, C.O.A., Shakesby, R.A., Páscoa, F.M., Ferreira, C.S.S., Keizer, J.J., Ritsema, C. 2015. Strategies to prevent forest fires and techniques to reverse degradation processes in burned areas. *Catena* 128: 224-23.

Fritze, H., Pennanen, T., Pietikainen, J. 1993. Recovery of soil microbial biomass and activity from prescribed burning. *Canadian Journal of Forest Research* 23: 1286-1290.

Frostegård, A., Tunlid, A., Bååth, E. 1993. Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 3605-3617.

Gaikowski, M.P., Hamilton, S.J., Buhl, K.J., McDonald, S.F., Summers, C.H. 1996. Acute toxicity of firefighting chemical formulations to four life stages of fathead minnow. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 34: 252-263.

## *Bibliografía*

- Garland, J.L., Mills, A.L. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 2351-2359.
- Giménez, A., Pastor, E., Zárata, L., Planas, E., Arnaldos, J. 2004. Long-term forest fire retardants: A review of quality, effectiveness, application and environmental considerations. *International Journal of Wildland Fire* 13: 1-15.
- Ginzburg, O., Steinberger, Y. 2012. Effects of forest wildfire on soil microbial-community activity and chemical components on a temporal-seasonal scale. *Plant and Soil* 360: 243-257.
- Gómez-Rey, M.X., Couto-Vázquez, A., García-Marco, S., González-Prieto, S.J. 2013. Impact of fire and post-fire management techniques on soil chemical properties. *Geoderma* 195-196: 155-164.
- Grayston, S.J., Wang, S., Campbell, C.D., Edwards, A.C. 1998. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 369-378.
- Gutián, O., Carballas, T. 1976. *Técnicas de análisis de suelos*. Editorial Pico Sacro. Santiago de Compostela.
- Gutknecht, J.L.M., Henry, H.A.L., Balser, T.C. 2010. Inter-annual variation in soil extracellular enzyme activity in response to simulated global change and fire disturbance. *Pedobiologia* 53: 283-293.
- Hamman, S.T., Burke, I.C., Stromberger, M.E. 2007. Relationships between microbial community structure and soil environmental conditions in a recently burned system. *Soil Biology and Biochemistry* 39: 1703-1711.
- Hart, S.C., DeLuca, T.H., Newman, G.S., MacKenzie, M.D., Boyle, S.I. 2005. Post-fire vegetative dynamics as drivers of microbial community structure and function in forest soils. *Forest Ecology and Management* 220: 166-184.
- Haynes, R.J. 2005. Labile Organic Matter Fractions as Central Components of the Quality of Agricultural Soils: An Overview. *Advances in Agronomy* 85: 221-268.
- Henriksen, T.M., Breland, T.A. 1999. Nitrogen availability effects on carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities during decomposition of wheat straw in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 1121-1134.
- Holden, S.R., Gutierrez, A., Treseder, K.K. 2013. Changes in Soil Fungal Communities, Extracellular Enzyme Activities, and Litter Decomposition Across a Fire Chronosequence in Alaskan Boreal Forests. *Ecosystems* 16: 34-46.
- Hopmans, P., Bickford, R. 2003. Effects of fire retardant on soils of heathland in Victoria. Fire Management, Department of Sustainability and Environment.
- Huang, Z., Xu, Z., Chen, C. 2008. Effect of mulching on labile soil organic matter pools, microbial community functional diversity and nitrogen transformations in two hardwood plantations of subtropical Australia. *Applied Soil Ecology* 40: 229-239.

## *Bibliografía*

Hyde, K.D., Jencso, K., Wilcox, A.C., Woods, S. 2016. Influences of vegetation disturbance on hydrogeomorphic response following wildfire. *Hydrological Processes* 30: 1131-1148.

IPCC, 2014: *Climate Change 2014. Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Field, C.B., Barros, V.R., Dokken, D.J., Mach, K.J., Mastrandrea, M.D., Bilir, T.E., Chatterjee, M., Ebi, K.L., Estrada, Y.O., Genova, R.C., Girma, B., Kissel, E.S., Levy, A.N., MacCracken, S., Mastrandrea, P.R., White, L.L. (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 1132 pages.

Jordán, A., Cerdá, A. 2010. Avances metodológicos e innovación técnica en el estudio de los suelos afectados por incendios forestales. En: *Actualización en métodos y técnicas para el estudio de los suelos afectados por incendios forestales*. Cerdá, A., Jordán, A. (Eds). Cátedra de Divulgación de la Ciencia, Universitat de Valencia. Páginas 23-39.

Kalabokidis, K.D. 2000. Effects of wildfire suppression chemicals on people and the environment—a review. *Global Nest: The International Journal* 2: 129-137.

Kamble, P.N., Bååth, E. 2014. Induced N-limitation of bacterial growth in soil: Effect of carbon loading and N status in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 74: 11-20.

Kandeler, E., Gerber, H. 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biology and Fertility of Soils* 6: 68-72.

Kara, O., Bolat, I. 2009. Short-term effects of wildfire on microbial biomass and abundance in black pine plantation soils in Turkey. *Ecological Indicators* 9: 1151-1155.

Keane, R., Parsons, A. 2010. *Management Guide to Ecosystem Restoration Treatments: Whitebark Pine Forests of the Northern Rocky Mountains, USA*. USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station. Gen. Tech. Rep. RMRS-GTR-232, Rocky Mountain Research Station, Fort Collins.

Keeley, J.E. 2009. Fire intensity, fire severity and burn severity: A brief review and suggested usage. *International Journal of Wildland Fire* 18: 116-126.

Kim, C.G., Shin, K., Joo, K.Y., Lee, K.S., Shin, S.S., Choung, Y. 2008. Effects of soil conservation measures in a partially vegetated area after forest fires. *Science of the Total Environment* 399: 158-164.

Lal, R. 1988. Erodibility and erosivity. In: *Soil erosion research methods*. Soil & Water Conservation Society, Ankeny, IA; for ISSS, Subcommission C, Wageningen. Pages 141-160.

Landsberg, J.D., Tiedemann, A.R. 2000. *Fire management. Drinking water from forest and grasslands: A synthesis of the scientific literature*. SRS-GTR-039. USDA Forest Service. Southern Research Station. Ashville, NC. Pages 124-138.

Lombao, A., Barreiro, A., Carballas, T., Fontúrbel, M.T., Martín, A., Vega, J.A., Fernández, C., Díaz-Raviña, M. 2015. Changes in soil properties after a wildfire in Fragas do Eume Natural Park (Galicia, NW Spain). *Catena* 135, 409-418.

## *Bibliografía*

- Lu, P., Lin, Y.H., Yang, Z.Q., Xu, Y.P., Tan, F., Jia, X.D., Wang, M., Xu, D.R., Wang, X.Z. 2015. Effects of application of corn straw on soil microbial community structure during the maize growing season. *Journal of Basic Microbiology* 55: 22-32.
- Luna, B., Moreno, J.M., Cruz, A., Fernández-González, F. 2007. Effects of a long-term fire retardant chemical (Fire-Trol 934) on seed viability and germination of plants growing in a burned Mediterranean area. *International Journal of Wildland Fire* 16: 349-359.
- Mabuhay, J.A., Nakagoshi, N., Horikoshi, T. 2003. Microbial biomass and abundance after forest fire in pine forests in Japan. *Ecological Research* 18: 431-441.
- Mabuhay, J.A., Nakagoshi, N., Isagi, Y. 2006. Soil microbial biomass, abundance, and diversity in a Japanese red pine forest: First year after fire. *Journal of Forest Research* 11: 165-173.
- MacDonald, L.H., Larsen, I.J. 2009. Effects of forest fires and post-fire rehabilitation. A Colorado case study. In: *Fire Effects on Soils and Restoration Strategies*. Cerdá, A., Robichaud, P.R. (Eds). Science Publishers, Emfiled, USA. Pages 423-452.
- MAGRAMA, Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. 2011. Cuarto Inventario Forestal Nacional: Galicia
- MAGRAMA, Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. 2012. Los incendios forestales en España. Decenio 2001-2010.
- Mahía, J., Pérez-Ventura, L., Cabaneiro, A., Díaz-Raviña, M. 2006. Soil microbial biomass under pine forests in the north-western Spain: influence of stand age, site index and parent material. *Forest Systems* 15: 152-159.
- Malowerschnig, B., Sass, O. 2014. Long-term vegetation development on a wildfire slope in Innerzwain (Styria, Austria). *Journal of Forestry Research* 25: 103-111.
- Marinari, S., Mancinelli, R., Brunetti, P., Campiglia, E. 2015. Soil quality, microbial functions and tomato yield under cover crop mulching in the Mediterranean environment. *Soil and Tillage Research* 145: 20-28.
- Martín, A., Díaz-Raviña, M., Carballas, T. 2012. Short- and medium-term evolution of soil properties in Atlantic forest ecosystems affected by wildfires. *Land Degradation and Development* 23: 427-439.
- Mataix-Solera, J., Gómez, I., Navarro-Pedreño, J., Guerrero, C., Moral, R. 2002. Soil organic matter and aggregates affected by wildfire in a *Pinus halepensis* forest in a Mediterranean environment. *International Journal of Wildland Fire* 11: 107-114.
- Mataix-Solera, J., Guerrero, C., García-Orenes, F., Bárcenas, G.M., Torres, M.P. 2009. Forest fire effects on soil microbiology. En: *Fire Effects on Soils and Restoration Strategies*. Cerdá, A., Robichaud, P.R. (Eds). Science Publishers, Emfiled, USA. Pages 133-175.
- Meidute, S., Demoling, F., Bååth, E. 2008. Antagonistic and synergistic effects of fungal and bacterial growth in soil after adding different carbon and nitrogen sources. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 2334-2343.
- Mohr, F. 1989. Light-hand suppression tactics--a fire management challenge. Fire management notes-US Department of Agriculture, Forest Service.

## *Bibliografía*

- Moody, J., Martin, D. 2009. Forest fire effects on geomorphic processes. In: *Fire Effects on Soils and Restoration Strategies*. Cerdá, A., Robichaud, P.R. (Eds). Science Publishers, Emfiled, USA. Pages 41-79.
- Mulumba, L.N., Lal, R. 2008. Mulching effects on selected soil physical properties. *Soil and Tillage Research* 98: 106-111.
- Neary, D.G., Ryan, K.C., DeBano, L.F. 2005. *Wildland fire in ecosystems: effects of fire on soils and water*. USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Ogden, Utah. Gen. Tech. Rep. RMRS-GTR-42-vol 4.
- Ocio, J.A., Martinez, J., Brookes, P.C. 1991. Contribution of straw-derived N to total microbial biomass N following incorporation of cereal straw to soil. *Soil Biology and Biochemistry* 23: 655-659.
- Palese, A.M., Giovannini, G., Lucchesi, S., Dumontet, S., Perucci, P. 2004. Effect of fire on soil C, N and microbial biomass. *Agronomie* 24: 47-53.
- Pappa, A., Tzamtzis, N., Koufopoulou, S. 2006. Effect of fire retardant application on phosphorus leaching from Mediterranean forest soil: Short-term laboratory-scale study. *International Journal of Wildland Fire* 15: 287-292.
- Peppin, D., Fulé, P.Z., Sieg, C.H., Beyers, J.L., Hunter, M.E. 2010. Post-wildfire seeding in forests of the western United States: An evidence-based review. *Forest Ecology and Management* 260: 573-586.
- Pietikäinen, J., Fritze, H. 1995. Clear-cutting and prescribed burning in coniferous forest: Comparison of effects on soil fungal and total microbial biomass, respiration activity and nitrification. *Soil Biology and Biochemistry* 27: 101-109.
- Ponder J.F., Tadros, M., Loewenstein, E.F. 2009. Microbial properties and litter and soil nutrients after two prescribed fires in developing savannas in an upland Missouri Ozark Forest. *Forest Ecology and Management* 257: 755-763.
- Prats, S.A., MacDonald, L.H., Monteiro, M., Ferreira, A.J.D., Coelho, C.O.A., Keizer, J.J. 2012. Effectiveness of forest residue mulching in reducing post-fire runoff and erosion in a pine and a eucalypt plantation in north-central Portugal. *Geoderma* 191: 115-124.
- Priha, O., Grayston, S.J., Hiukka, R., Pennanen, T., Smolander, A. 2001. Microbial community structure and characteristics of the organic matter in soils under *Pinus sylvestris*, *Picea abies* and *Betula pendula* at two forest sites. *Biology and Fertility of Soils* 33: 17-24.
- Pyne, S. 1984. *Introduction to wildland fire: fire management in the United States*. Wiley, New York.
- Robichaud, P.R., Beyers, J.L., Neary, D.G. 2000. Evaluating the effectiveness of postfire rehabilitation treatments. RMRS –GTR-63. US. Department of Agriculture Forest Service, Rocky Mountain Research Station.
- Robichaud, P.R. 2009. Post-fire stabilization and rehabilitation. En: *Fire Effects on Soils and Restoration Strategies*. Cerdá, A., Robichaud, P.R. (Eds). Science Publishers, Emfiled, USA. Pages 299-320.

## *Bibliografía*

- Robichaud, P.R., Lewis, S.A., Brown, R.E., Ashmun, L.E. 2009. Emergency post-fire rehabilitation treatment effects on burned area ecology and long-term restoration. *Fire Ecology* 5: 115-128.
- Robichaud, P.R., Ashmun, L.E., Sims, B.D. 2010. Post-fire treatment effectiveness for hillslope stabilization. USDA Forest Service - General Technical Report RMRS-GTR(240): 1-62.
- Robichaud, P.R., Lewis, S.A., Wagenbrenner, J.W., Ashmun, L.E., Brown, R.E. 2013a. Post-fire mulching for runoff and erosion mitigation. Part I: Effectiveness at reducing hillslope erosion rates. *Catena* 105: 75-92.
- Robichaud, P.R., Wagenbrenner, J.W., Lewis, S.A., Ashmun, L.E., Brown, R.E., Wohlgemuth, P. 2013b. Post-fire mulching for runoff and erosion mitigation Part II: Effectiveness in reducing runoff and sediment yields from small catchments. *Catena* 105: 93-111.
- Roldán, A., García-Orenes, F., Lax, A. 1994. An incubation experiment to determine factors involving aggregation changes in an arid soil receiving urban refuse. *Soil Biology and Biochemistry* 26: 1699-1707.
- Rousk, J., Bååth, E. 2007a. Fungal and bacterial growth in soil with plant materials of different C/N ratios. *FEMS Microbiology Ecology* 62: 258-267.
- Rousk, J., Bååth, E. 2007b. Fungal biomass production and turnover in soil estimated using the acetate-in-ergosterol technique. *Soil Biology and Biochemistry* 39: 2173-2177.
- Rousk, J., Bååth, E. 2011. Growth of saprotrophic fungi and bacteria in soil. *FEMS Microbiology Ecology* 78: 17-30.
- Rutigliano, F.A., De Marco, A., D'Ascoli, R., Castaldi, S., Gentile, A., Virzo De Santo, A. 2007. Impact of fire on fungal abundance and microbial efficiency in C assimilation and mineralisation in a Mediterranean maquis soil. *Biology and Fertility of Soils* 44: 377-381.
- Saá, A., Trasar-Cepeda, M.C., Carballas, T. 1998. Soil p status and phosphomonoesterase activity of recently burnt and unburnt soil following laboratory incubation. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 419-428.
- Santana, V.M., Alday, J.G., Baeza, M.J. 2014. Mulch application as post-fire rehabilitation treatment does not affect vegetation recovery in ecosystems dominated by obligate seeders. *Ecological Engineering* 71: 80-86.
- Schelz, Z., Molnar, J., Hohmann, J. 2006. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia* 77: 279-285.
- Schlecht-Pietsch, S., Wagner, U., Anderson, T.H. 1994. Changes in composition of soil polysaccharides and aggregate stability after carbon amendments to different textured soils. *Applied Soil Ecology* 1: 145-154.
- Shakesby, R.A., Wallbrink, P.J., Doerr, S.H., English, P.M., Chafer, C.J., Humphreys, G.S., Blake, W.H., Tomkins, K.M. 2007. Distinctiveness of wildfire effects on soil erosion in south-east Australian eucalypt forests assessed in a global context. *Forest Ecology and Management* 238: 347-364.

## *Bibliografía*

- Siczek, A., Fraç. M. 2012. Soil microbial activity as influenced by compaction and straw mulching. *International Agrophysics* 26: 65-69.
- Sims, J.R., Haby, V.A. 1971. Simplified colorimetric determination of soil organic matter. *Soil Science* 112: 137-141.
- Six, J., Frey, S.D., Thiet, R.K., Batten, K.M. 2006. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal* 70: 555-569.
- Sofo, A., Ciarfaglia, A., Scopa, A., Camele, I., Curci, M., Crecchio, C., Xiloyannis, C., Palese, A.M. 2014. Soil microbial diversity and activity in a Mediterranean olive orchard using sustainable agricultural practices. *Soil Use and Management* 30: 160-167.
- Soto, B., Basanta, R., Diaz-Fierros, F. 1997. Effects of burning on nutrient balance in an area of gorse (*Ulex europaeus* L.) scrub. *Science of the Total Environment* 204: 271-281.
- Sutherland, G.R.J., Haselbach, J., Aust, S.D. 1997. Biodegradation of crosslinked acrylic polymers by a white-rot fungus. *Environmental Science and Pollution Research* 4: 16-20.
- Skujins, J.J. 1967. Enzymes in soil. In: *Soil Biochemistry Vol. 1*. McLaren, A.D., Peterson, G.H. (Eds). Marcel Dekker, New York, USA. Pages 371-414.
- Tamura, H., Knoche, M., Bukovac, M.J. 2001. Evidence for surfactant solubilization of plant epicuticular wax. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 1809-1816.
- Tejada, M., Benítez, C. 2014. Effects of crushed maize straw residues on soil biological properties and soil restoration. *Land Degradation and Development* 25: 501-509.
- Thiet, R.K., Frey, S.D., Six, J. 2006. Do growth yield efficiencies differ between soil microbial communities differing in fungal:bacterial ratios? Reality check and methodological issues. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 837-844.
- Thornes, J.B. 2005. Coupling erosion, vegetation and grazing. *Land Degradation and Development* 16: 127-138.
- Tiquia, S.M., Lloyd, J., Herms, D.A., Hoitink, H.A.J., Michel J.F.C. 2002. Effects of mulching and fertilization on soil nutrients, microbial activity and rhizosphere bacterial community structure determined by analysis of TRFLPs of PCR-amplified 16S rRNA genes. *Applied Soil Ecology* 21: 31-48.
- Trasar-Cepeda, C., Gil Sotres, F., Guitian Oeja, F. 1985. Determinacion de la actividad fosfatasa en suelos Gallegos. Precisiones al metodo de Sarathchandra y Perrott. *Anales de edafologia y agrobiologia*.
- Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Gil-Sotres, F. 2000. Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oakwood) in an area of the European temperate-humid zone (Galicia, NW Spain): Specific parameters. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 747-755.
- Varela, M.E., Benito, E., de Blas, E. 2005. Impact of wildfires on surface water repellency in soils of northwest Spain. *Hydrological Processes* 19: 3649-3657.
- Vázquez, F.J., Acea, M.J., Carballas, T. 1993. Soil microbial populations after wildfire. *FEMS Microbiology Ecology* 13: 93-103.

## *Bibliografía*

Vega, J.A., Fernández, C., Fonturbel, T. 2005. Throughfall, runoff and soil erosion after prescribed burning in gorse shrubland in Galicia (NW Spain). *Land Degradation and Development* 16: 37-51.

Vega, J.A., Fontúrbel, M.T., Fernández, C., Arellano, A., Díaz-Raviña, M., Carballas, T., Martín, A., González-Prieto, S., Merino, A., Benito, E. 2013. Acciones urgentes contra la erosión en áreas forestales quemadas. Guía para su planificación en Galicia. Tórculo Artes Gráficas S.A., Santiago de Compostela.

Viana, L.T., Bustamante, M.M.C., Molina, M., Pinto, A.S. Kisselle, K., Zepp, R., Burke, R.A. 2011. Microbial communities in cerrado soils under native vegetation subjected to prescribed fire and under pasture. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 46: 1665-1672.

Volokitina, A., Sofronov, M., Sofronova, T. 2008. Topical scientific and practical issues of wildland fire problem. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* 13: 661-674.

Williams, R.J., Hallgren, S.W., Wilson, G.W.T. 2012. Frequency of prescribed burning in an upland oak forest determines soil and litter properties and alters the soil microbial community. *Forest Ecology and Management* 265: 241-247.

Yang, Y.J., Dungan, R.S., Ibekwe, A.M., Valenzuela-Solano, C., Crohn, D.M., Crowley, D.E. 2003. Effect of organic mulches on soil bacterial communities one year after application. *Biology and Fertility of Soils* 38: 273-281.

Zelles, L. 1999. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils* 29: 111-129.

