



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

## **Grao en Bioloxía**

### **Memoria do Traballo de Fin de Grao**

**Variación da poboación de microorganismos nos solos que sufriron un incendio forestal.**

**Variación de la población de microorganismos en suelos que han sufrido un incendio forestal.**

**Variation of the population of microorganisms in soils that have suffered a forest fire.**



**Cristina Sánchez Benito**

Junio, 2019

*Director Académico: José Enrique Torres Vaamonde*





UNIVERSIDADE DA CORUÑA

José Enrique Torres Vaamonde, profesor del área de Microbiología del Departamento de Biología.

INFORMA:

Que la presente memoria titulada "*Variación de la población de microorganismos en suelos que han sufrido un incendio forestal*", presentada por **D<sup>a</sup>. Cristina Sánchez Benito** como Trabajo de Fin de Grado (TFG) en la titulación de grado en Biología, curso 2018-2019, ha sido realizada bajo mi supervisión y cumple con los requisitos necesarios, por lo que

AUTORIZO la presentación de dicho trabajo ante el tribunal correspondiente

Lo que firmo en A Coruña a 19 de junio de 2019

Fdo. José Enrique Torres Vaamonde



## ÍNDICE

Resumen/Resumo/Summary

Palabras clave/Palabras clave/Keywords

Página

<b>1. Introducción</b> .....	1
<b>2. Objetivo</b> .....	2
<b>3. Material y métodos</b> .....	2
3.1. <u>Localización de las zonas de muestreo</u> .....	2
3.2. <u>Recogida de muestras</u> .....	3
3.3. <u>Medios de cultivo</u> .....	3
3.4. <u>Procedimiento de análisis microbiológico</u> .....	4
3.5. <u>Análisis estadístico</u> .....	5
<b>4. Resultados</b> .....	6
4.1. <u>Microorganismos aerobios heterótrofos mesófilos</u> .....	6
4.2. <u>Hongos</u> .....	7
4.3. <u>Enterobacterias</u> .....	8
4.4. <u>Microorganismos esporulados aerobios</u> .....	9
4.5. <u>Interacciones</u> .....	11
<b>5. Discusión</b> .....	12
<b>6. Conclusiones/Conclusiones/Conclusions</b> .....	13
<b>7. Bibliografía</b> .....	15

Anexo A



## Resumen

Debido a la alta incidencia de los incendios forestales en España (1.787 en el primer trimestre de 2019) y a la importancia de los microorganismos del suelo como indicadores de calidad, se realizó un análisis microbiológico de suelos para evaluar el efecto de los incendios sobre varios grupos cultivables de microorganismos, tomando como referencia un suelo sin perturbar de la misma zona que se asume como control. Fueron analizados microorganismos aerobios heterótrofos mesófilos, hongos, enterobacterias y microorganismos esporulados aerobios.

En general, las poblaciones microbianas del suelo quemado registraron valores de UFC/g significativamente menores que en los suelos no quemados ( $p < 0,05$ ). Además, las diferencias de cada grupo de microorganismos en cada uno de los incendios resultaron en su mayoría estadísticamente significativas, y muestran una disminución de microorganismos cuando el suelo se encuentra afectado por un incendio forestal. El grupo de microorganismos más sensible a la acción de los incendios fue el de los mesófilos aerobios, en cambio los microorganismos esporulados aerobios fueron el grupo más resistente. Como consecuencia, la proporción de las poblaciones de microorganismos esporulados aerobios con respecto a los microorganismos aerobios mesófilos en suelos quemados aumentó en contraposición a las proporciones del suelo no quemado.

**Palabras clave:** Incendios forestales, microorganismos, suelo, microorganismos aerobios mesófilos, enterobacterias, hongos, microorganismos esporulados.

## Resumo

Debido á alta incidencia dos incendios forestais en España (1.787 no primeiro trimestre de 2019) e á importancia dos microorganismos do solo como indicadores de calidade, se realizouse unha análise microbiolóxica dos solos para avaliar o efecto dos incendios sobre grupos cultivables de microorganismos, tomando como referencia un solo sen perturbar da mesma zona que asúmese como control. Foron analizados microorganismos aerobios heterótrofos mesófilos, fungos, enterobacterias e microorganismos esporulados.

En xeral, as poboacións microbianas do solo queimado rexistraron valores de UFC/ g significativamente menores que nos solos non queimados ( $p < 0,05$ ). Ademais, as diferenzas de cada grupo de microorganismos en cada un dos incendios resultaron na súa maioría estatisticamente significativas, e mostran unha diminución de microorganismos cando o solo atópase afectado por un incendio forestal. O grupo de microorganismos máis sensible á acción dos incendios foi o dos mesófilos aerobios, en cambio os microorganismos esporulados aerobios foron o grupo máis resistente. Como consecuencia, a proporción das poboacións en solos queimados de microorganismos esporulados aerobios con respecto aos microorganismos aerobios mesófilos aumentou en contraposición ás proporcións do solo non queimado.

**Palabras crave:** Incendios forestais, microorganismos, solo, microorganismos aerobios mesófilos, enterobacterias, fungos, microorganismos esporulados.

## Summary

Due to the high incidence of forest fires in Spain (1,787 in the first quarter of 2019), and the importance of soil microorganisms as quality indicators, a soil microbiological analysis was conducted to evaluate the effect of fires on groups cultivable of microorganisms, taking as reference an undisturbed soil of the same area that is assumed as control. Mesophilic heterotrophic aerobic microorganisms, yeasts, fungi, enterobacteria and sporulated microorganisms were analyzed.

In general, the burned soil microbial populations recorded UFC / g values significantly lower than in the non-burned soils ( $p < 0.05$ ). In addition, the differences of each group of microorganisms in each one of the fires were mostly statistically significant and show a decrease in microorganisms when the soil is affected by a forest fire. The group of microorganisms most sensitive to the action of the fires was that of the aerobic mesophilics, whereas the aerobic sporulated microorganisms were the most resistant group. As a consequence, the proportion of populations in burned soils of aerobic sporulated microorganisms with respect to aerobic mesophilic microorganisms increased as opposed to the proportions of unburned soil.

**Keywords:** forest fires, microorganisms, soil, mesophilics aerobic microorganisms, enterobacteria, fungus, sporulated microorganisms.



## 1. Introducción

Los incendios forestales son un factor a considerar de los ecosistemas puesto que provocan alteraciones físicas, químicas y biológicas en el suelo, afectando así a su calidad por la destrucción de la cubierta vegetal. Sin embargo, pueden ser un proceso vital y esencial para la sucesión ecológica y la estabilidad del interior de los ecosistemas (Neary *et al.*, 1999; Mataix-Solera & Guerrero, 2007; Úbeda & Outeiro, 2009).

Cabe destacar la evolución de los incendios forestales en España, siendo el número estimado de éstos en el primer trimestre del presente año (2019) de 1.787. Esto supone un incremento considerable de los 370 incendios registrados en el mismo trimestre del año 2013. Por lo que basándonos en cifras registradas del número total de incendios forestales anuales en los últimos tres años observamos que son muy recurrentes: 1.989 (2018), 5.088 (2017) y 2.338 (2016). (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación del Gobierno de España, 2019)

Galicia y el norte de Portugal son las áreas de Europa más afectadas por este tipo de incendio, y se encuentran entre las zonas con mayores incendios forestales por número de hectáreas y habitantes en todo el mundo (Carballas *et al.*, 2009; Catry *et al.*, 2010). Aproximadamente la mitad de este tipo de incendios que ocurren en España se encuentran en las temperaturas de zonas húmedas (Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino, 2010).

Los incendios forestales implican un cambio importante en el suelo (De las Heras *et al.*, 1991). El suelo ha sido definido por la Comisión europea como la capa superior de la corteza terrestre que está compuesta por una mezcla de partículas minerales, materia orgánica, agua, aire y organismos vivos; lo que conforma un medio ambiente muy complejo y variable. Una porción importante de los organismos vivos que conforman el suelo está constituida por los microorganismos. Numerosos estudios (Alexander, 1980; Gianinazzi and Azlon, 1991; Cardoso *et al.*, 1992) muestran que los microorganismos del suelo intervienen tanto en el aprovechamiento de nutrientes como en la solubilización y absorción de iones. Además, los microorganismos desempeñan funciones esenciales en los ciclos biogeoquímicos clave en casi todos los entornos. Particularmente en el suelo, la comunidad microbiana puede servir como un gran indicador biológico para reflejar los principales procesos ecológicos (Zhang *et al.*, 2017). Por todo esto se puede concluir que los incendios pueden afectar la calidad del suelo como consecuencia de la alteración de la microbiota presente.

En términos generales, cuando se alcanzan temperaturas por encima de 70-80°C, se observa claramente un efecto sobre el número de microorganismos. Algunas bacterias (nitrificantes), protozoos y hongos no esporulados mueren cuando las temperaturas se encuentran alrededor de los 70°C. (Mataix-Solera, 2011). Normalmente el total de la masa microbiana desaparece con temperaturas por encima de 115-150°C. De hecho, los hongos se consideran uno de los grupos de microorganismos con mayor sensibilidad a los efectos del fuego (Ahlgren & Ahlgren, 1965; Acea & Carballas, 1996; Guerrero *et al.*, 2005; Bárcenas-Moreno *et al.*, 2011). En cuanto a las bacterias, se caracterizan por su gran capacidad de adaptación a distintos ambientes, como ejemplo se puede mencionar a las bacterias del género *Bacillus* que son capaces de vivir en un ambiente con temperaturas de -5°C a 75°C (Coyne, 2000). En el caso de algunos microorganismos, cuando se mantiene durante un corto plazo una temperatura baja (50-60°C) en lo que se refiere a las temperaturas alcanzadas en un incendio forestal pueden estimularse la germinación de las

esporas (Bollen,1969). De hecho, algunos microorganismos son capaces de sobrevivir como esporas termotolerantes (Alexander, 1967; Widden & Parkinson, 1975). Por ejemplo, el hongo *Neosartorya fischeri* sobrevive al fuego en forma de spora y se convierte en microorganismo dominante después del incendio (Bartoli *et al.*, 1991)

Varios estudios han mostrado una disminución en el total de la biomasa microbiana como uno de los efectos de los incendios forestales (Choromanska & DeLuca, 2001; Yeager *et al.*, 2005; Smith *et al.*, 2008; Dooley & Treseder, 2012) mientras que otros estudios, en cambio, han mostrado un aumento de dicha biomasa después de un incendio (Goberna *et al.*, 2012), o no muestran diferencias significativas entre las áreas no afectadas y aquellas afectadas por un incendio (Hamman *et al.*, 2007).

## 2. Objetivo

El objetivo del trabajo es observar los efectos de incendios forestales sobre determinadas poblaciones microbianas del suelo, cuantificando el número de microorganismos presentes en áreas no quemadas y quemadas de zonas donde se han producido incendios forestales en el año 2018.

## 3. Material y métodos

### 3.1. Localización de las zonas de muestreo

Este trabajo se ha realizado teniendo en cuenta los incendios producidos durante el año 2018, con aportaciones de la Consejería de Fomento y Medio ambiente de la Junta de Castilla y León; de algunos distritos forestales de la comunidad autónoma Galicia: distrito XVII, XI y XII; y de los Bomberos de A Coruña.

Se escogieron 10 incendios forestales. Las coordenadas geográficas de las zonas muestreadas de estos incendios están recogidas en la Tabla 1 y los mapas geográficos con las fotografías de las zonas muestreadas se encuentran en las Figuras A1-A10 del Anexo A.

**Tabla 1.** Coordenadas geográficas de los incendios muestreados.

<b>Incendio</b>	<b>Coordenadas</b>
<b>1</b>	40°38'42"N 6°7'55"W
<b>2</b>	40°25'40"N 6°1'46"W
<b>3</b>	40°17'36"N 6°20'49"W
<b>4</b>	43°21'59"N 8°25'15"W
<b>5</b>	42°15'11"N 8°14'35"W
<b>6</b>	42°15'32"N 8°14'55"W
<b>7</b>	42°15'58"N 8°26'24"W
<b>8</b>	42°14'10"N 8°27'20"W
<b>9</b>	42°15'57"N 8°9'33"W
<b>10</b>	42°23'40"N 7°56'21"W

### 3.2. Recogida de muestras

Las muestras han sido recogidas entre 0 y 20 cm de profundidad, ya que ahí es dónde se considera que hay una mayor abundancia y actividad microbiana (Santos, D.J. *et al.*, 2015). Se consideró una distinción de dos áreas dentro de cada uno de los incendios: área quemada y área no quemada.

Con ayuda de una pequeña pala esterilizada se obtuvieron dos muestras del área quemada y otras dos del área no quemada, cada una de ellas fue depositada en un recipiente estéril con su debida identificación. Este procedimiento se repitió con los 10 incendios a estudio.

### 3.3. Medios de cultivo

Se utilizaron distintos tipos de medios de cultivo para detectar los diferentes grupos de microorganismos. Los medios utilizados en este trabajo fueron PCA, VRBG y SB (descritos en la Tabla 2). Estos se prepararon según las indicaciones del comercial y se sometieron finalmente a un proceso de esterilización a 121°C durante 20 minutos en autoclave. Una vez enfriados a 50°C se vertieron en placas de Petri estériles.

**Tabla 2.** Composición de los medios de cultivo utilizados y el crecimiento de los distintos grupos de microorganismos

Medio de cultivo	Composición	Grupo de microorganismos
<b>Recuento en placa. (PCA)</b>	Peptona de caseína.....5 g/L Extracto de levadura.....2,5 g/L Dextrosa.....1 g/L Agar.....15 g/L  Final: pH=7.0±0.2 a 25°C	- Microorganismos aerobios heterótrofos mesófilos  - Microorganismos esporulados después de un tratamiento térmico (80°C)
<b>Rojo bilis violeta glucosa. (VRBG)</b>	Extracto de levadura.....3 g/L Peptona de gelatina..... 7 g/L Sales biliares.....1,5 g/L D(+) glucosa.....10 g/L Cloruro sódico.....5 g/L Rojo neutro..... 0,03 g/L Cristal violeta.....0,002 g/L Agar.....15 g/L  Final: pH 7.4±0.2	Enterobacterias
<b>Saboraud. (SB)</b>	Peptona de caseína.....5 g/L Peptona de carne.....5 g/L D(+) glucosa.....4 g/L Cloranfenicol.....0,5 g/L Agar.....15 g/L  Final: pH=5.6±0.2 a 25°C	Hongos

### 3.4. Procedimiento del análisis microbiológico

- Se pesaron 10 gramos de suelo de cada una de las muestras en un recipiente estéril. Estos se resuspendieron en botellas que contenían 200 mL de solución salina estéril (NaCl, 0.7% P/V).
- Se homogeneizaron por agitación durante un minuto. De esta manera se obtuvo la dilución madre de cada muestra.
- A continuación, se hicieron tres diluciones decimales.
- Cada una de las diluciones se sembró por duplicado, mediante la técnica de siembra en superficie con asa de Digrafski. El volumen sembrado fue de 100 $\mu$ L.

Para la determinación de microorganismos esporulados, se llevó a cabo un tratamiento térmico previo a las siembras: las botellas que contenían 200 mL de solución salina estéril y los 10 gramos de muestra de suelo, se llevaron durante 22 minutos a un baño maría a 80°C.

#### 3.4.1. Incubación

Posteriormente a la siembra de las muestras en los medios de cultivo, se procede a la incubación en función del microorganismo a estudio:

- Microorganismos aerobios en PCA: 30°C durante 72 horas.
- Enterobacterias en medio VRBG: 37°C durante 24-48 horas.
- Hongos y levaduras en medio SB: 30°C durante 72 horas.
- Microorganismos esporulados: 30°C durante 72 horas.

#### 3.4.2. Recuento de microorganismos

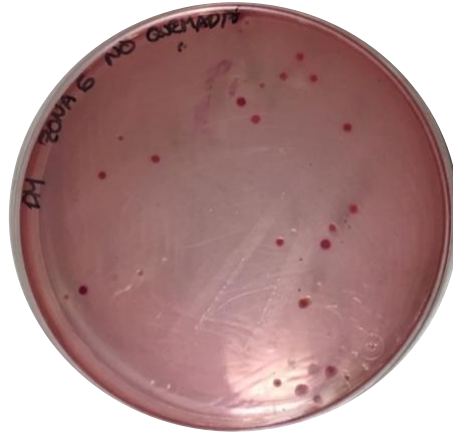
Pasado el respectivo tiempo de incubación se realiza el recuento de los microorganismos en las placas.

Para el recuento de los microorganismos en el medio de PCA, se contaron todas aquellas UFCs que estuvieran presentes en la placa (Figura 1).



**Figura 1.** Agar PCA con crecimiento de colonias de microorganismos aerobios.

En el caso del medio VRBG, se realiza el conteo de aquellas colonias que adquieren una coloración púrpura/rosa (Figura 2) debido a la presencia del indicador rojo neutro y cristal violeta en el medio, esta coloración se produce por la fermentación de la glucosa y como consecuencia la reducción del pH del medio. Este tipo de colonias corresponde a las enterobacterias.



**Figura 2.** Agar VRBG con crecimiento de colonias rojo-rosadas que corresponden a enterobacterias.

En el medio SB, se procede al recuento de todas las UFCs presentes en el medio (Figura 3).



**Figura 3.** Agar SB con crecimiento de hongos

### 3.5. Análisis estadístico

Se obtuvieron los datos de recuento en cada uno de los medios de cultivo. Posteriormente, se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para determinar si los datos siguen una distribución normal y así elegir entre un método paramétrico o no paramétrico para la determinación de la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre áreas quemadas y no quemadas. Con los datos que se ajustaron a la distribución normal se realizó una prueba de t student para dos muestras independientes. Esta prueba permite averiguar si dos muestras tienen medias iguales o difieren significativamente.

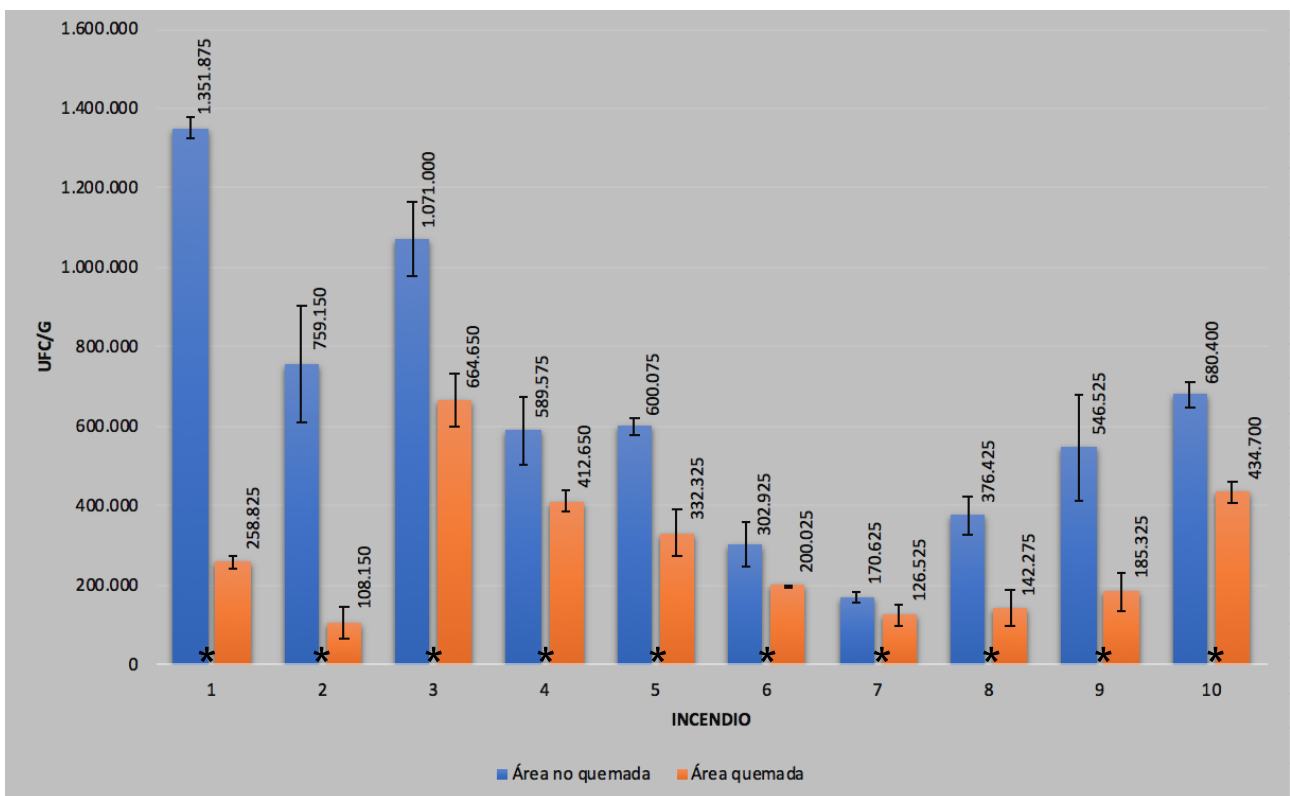
Aquellos datos que no se ajustaron a la distribución normal se les realizó una prueba no paramétrica de Wilcoxon.

Para determinar las diferencias significativas en cuanto a la sensibilidad de las poblaciones de microorganismos al efecto de los incendios se realizó un ANOVA de dos vías. Para este análisis se consideraron como factores: área quemada/no quemada, y los grupos de microorganismos. Con este análisis se pretende detectar una posible interacción significativa entre ambos factores que indicaría un grado de sensibilidad diferente de las poblaciones.

Todo el análisis estadístico de datos se llevo a cabo a través del programa R (R Core Team, 2013)

## 4. Resultados

### 4.1. Microorganismos aerobios heterótrofos mesófilos



**Figura 4.** Recuentos de microorganismos aerobios heterótrofos mesófilos (UFC/g) en áreas no quemadas (azul) y quemadas (naranja) en los suelos de cada uno de los incendios. Las barras corresponden a la media con su respectivo error estándar. El asterisco (\*) indica los incendios con diferencias estadísticamente significativas entre ambas áreas.

**Tabla 3.** Valores obtenidos de  $p$  en la prueba estadística de Wilcoxon de cada incendio correspondiente al recuento de microorganismos aerobios heterótrofos mesófilos.

	Incendio									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>p valor</b>	0,02092	0,02092	0,02092	0,02092	0,02092	0,02092	0,02092	0,02092	0,02092	0,02092

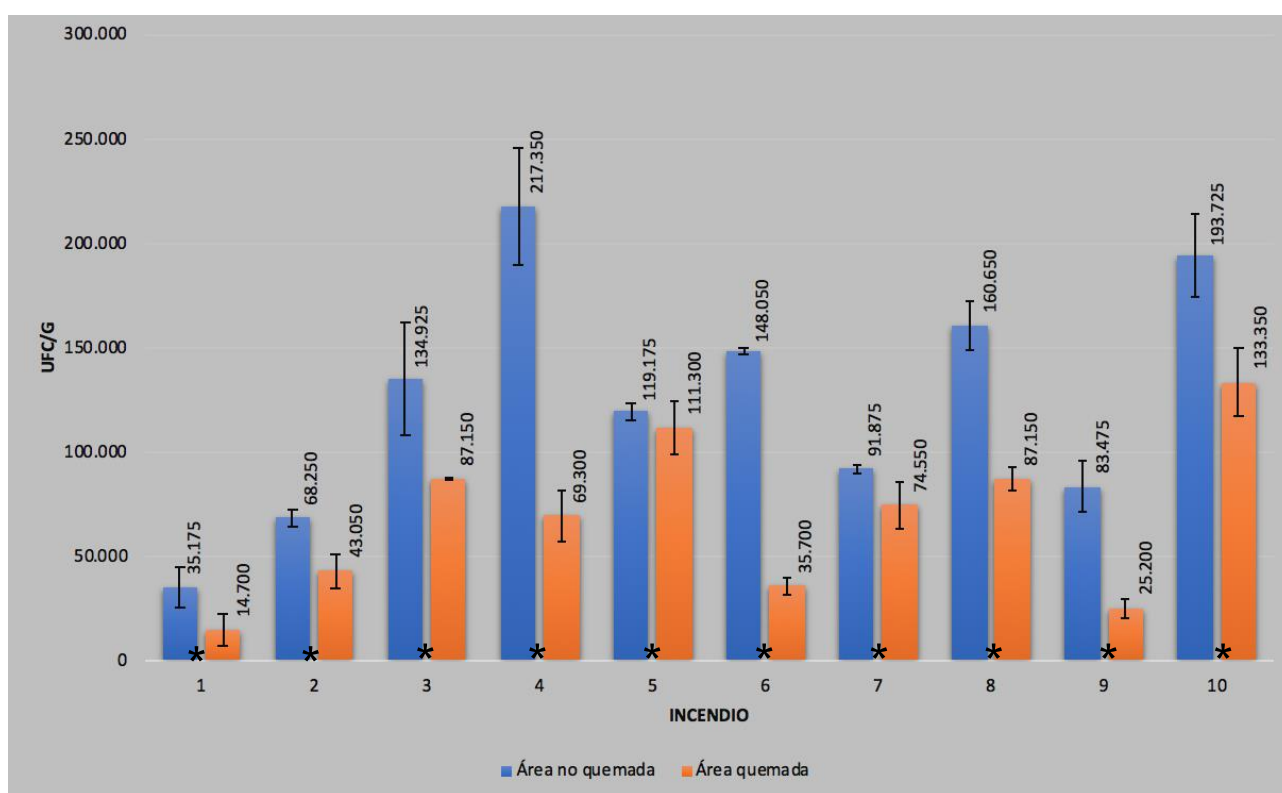
En la Figura 4, si consideramos los datos de las áreas no quemadas de todos los incendios se observa una gran variabilidad en cuanto al contenido de los microorganismos aerobios mesófilos en los distintos suelos, oscilando desde 170.625 UFC/g en el suelo del incendio 7 hasta 1.351.875 UFC/g en el suelo del incendio 1. En cuanto a las áreas quemadas,

destaca que el mayor número de estos microorganismos por gramo de suelo es de 664.650 en el incendio 3, y el de menor número el registrado en el incendio 2 (108.150 UFC/g).

Si observamos cada incendio por separado, se pone de manifiesto la diferencia entre el área quemada y no quemada, siendo esta última la de mayor UFC/g en todos los incendios. Con los resultados de los valores de  $p$  obtenidos en la prueba de Wilcoxon de cada incendio (Tabla 3), se puede decir que existieron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre ambas áreas en cada uno de los incendios por separado.

Considerando globalmente los resultados de todos los incendios, y comparando el área quemada con la no quemada, los recuentos de UFC/g de la población de microorganismos aerobios heterótrofos mesófilos entre las áreas no quemadas y las quemadas de los incendios mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $t_8 = -5,78$ ;  $p < 0,05$ ).

#### 4.2. Hongos.



**Figura 5.** Recuentos de hongos (UFC/g) en áreas no quemadas (azul) y quemadas (naranja) en los suelos de cada uno de los incendios. Las barras corresponden a la media con su respectivo error estándar. El asterisco (\*) indica los incendios con diferencias estadísticamente significativas entre ambas áreas.

**Tabla 4.** Valores obtenidos de  $p$  en la prueba estadística de Wilcoxon de cada incendio correspondiente al recuento de hongos.

	Incendio									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$p$ valor	0,04331	0,02009	0,02016	0,02092	0,04331	0,02016	0,02092	0,02092	0,02092	0,02092

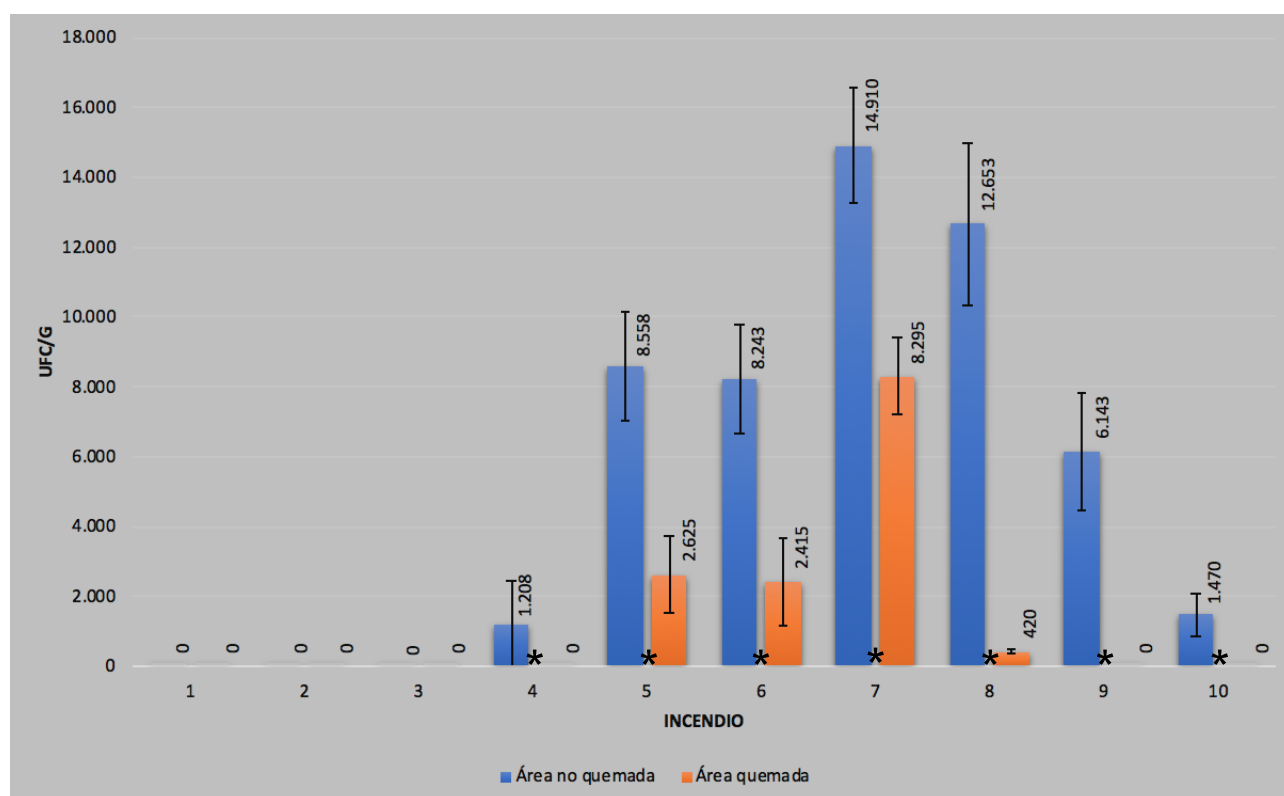
Si se hace una comparativa entre las poblaciones de hongos en el suelo de áreas no quemadas y quemadas (Figura 5), existe una disminución en el número de UFC/g en las quemadas con respecto a las no quemadas en todos los incendios. En los datos que se

refieren a las áreas no quemadas (azul) se observa que el valor de UFC/g máximo es de 217.350 en el incendio 4, y el mínimo es de 35.175 UFC/g en el incendio 1. En cuanto a las áreas quemadas (naranja), al igual que ocurre en las poblaciones de microorganismos aerobios mesófilos, los hongos también muestran una gran variabilidad en las poblaciones siendo el menor valor de 14.700 UFC/g correspondiente al incendio 1 (igual que ocurría en las áreas no quemadas). La mayor presencia de hongos en área quemada se observa en el incendio 10.

Gráficamente (Figura 5) se observan claras diferencias entre las poblaciones de hongos en los suelos de las áreas quemadas y no quemadas en cada uno de los incendios por separado. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas con un valor de  $p < 0,05$  (Tabla 4) en todos los incendios.

Analizando globalmente los resultados de los incendios forestales y comparando las áreas quemadas y las no quemadas, las diferencias de los recuentos de UFC/g de la población de hongos entre las áreas no quemadas y las quemadas fueron estadísticamente significativas ( $t_{78} = -5,32$ ;  $p < 0,05$ ).

### 4.3. Enterobacterias



**Figura 6.** Recuentos de enterobacterias (UFC/g) en áreas no quemadas (azul) y quemadas (naranja) en los suelos de cada uno de los incendios. Las barras corresponden a la media con su respectivo error estándar. El asterisco (\*) indica los incendios con diferencias estadísticamente significativas entre ambas áreas.

**Tabla 5.** Valores obtenidos de  $p$  en la prueba estadística de Wilcoxon de cada incendio correspondiente al recuento de enterobacterias.

p valor	Incendio									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	-	-	-	0,01387	0,02092	0,02092	0,02092	0,02016	0,01387	0,01387



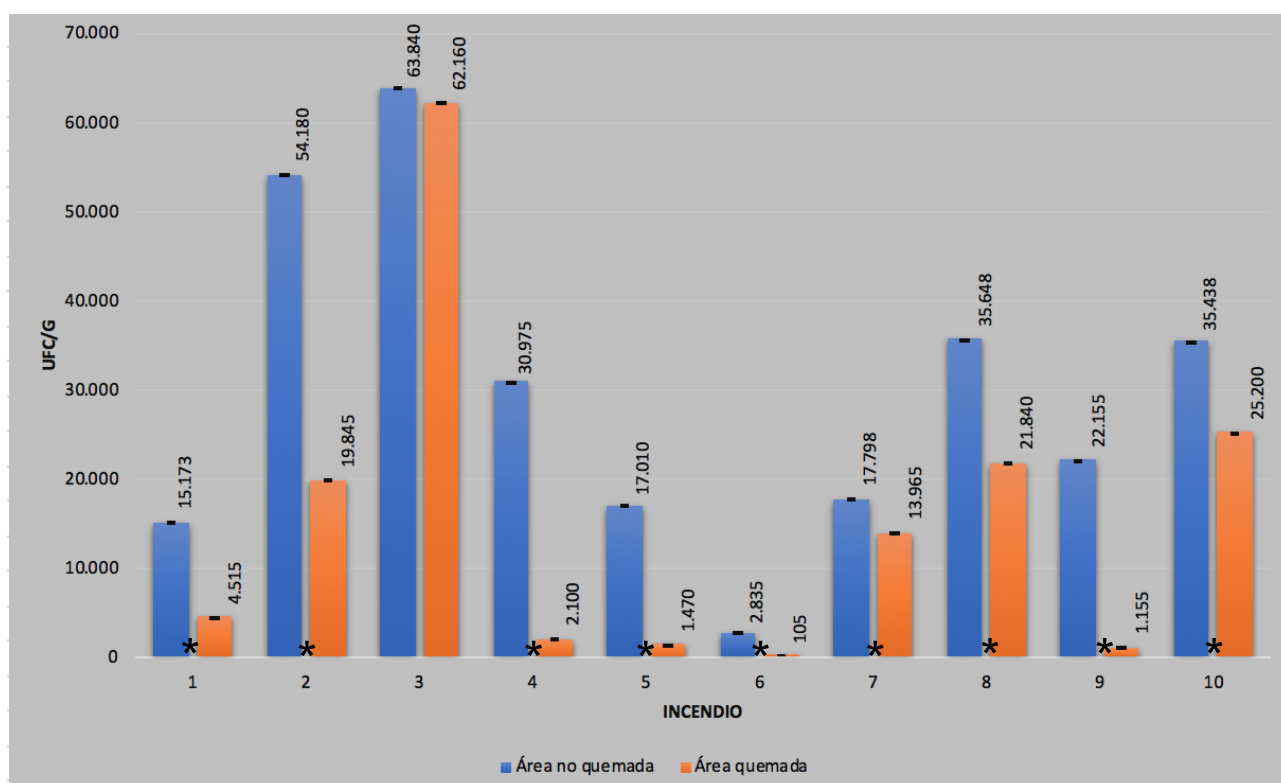
En la Figura 6 se observa que los incendios 1, 2 y 3 no muestran recuentos de enterobacterias tanto en áreas no quemadas como en las quemadas. En cambio, en los suelos de los incendios 4, 9 y 10 se observa la presencia de enterobacterias en las áreas no quemadas y ausencia en las áreas quemadas.

En lo que se refiere a los incendios 5, 6, 7 y 8 los valores de UFC/g son menores en las áreas quemadas con respecto a las no quemadas, siendo el valor más alto de enterobacterias en las áreas no quemadas con 14.910 UFC/g en el incendio 7, y el más bajo 8.243 UFC/g en el incendio 6. En cuanto a las áreas quemadas, el incendio 7 tiene el mayor número de UFC/g (8.295) del mismo modo que ocurría en el área no quemada y el incendio 8 el menor número con 420 UFC/g.

En los incendios del 4 al 10 se observan diferencias entre las poblaciones de enterobacterias en el suelo de las áreas quemadas y no quemadas en cada incendio por separado. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas con un  $p < 0,05$  en todos ellos (Tabla 5). A los incendios 1, 2 y 3 no se les pudieron realizar las pruebas estadísticas debido a la ausencia de enterobacterias.

Al realizar una comparativa de los recuentos de UFC/g de las poblaciones de enterobacterias presentes en el suelo de las áreas no quemadas y las quemadas en todos los incendios, se pudo evidenciar que hay diferencias estadísticamente significativas ( $t_{78} = -3,97$ ;  $p < 0,05$ ).

#### 4.4. Microorganismos esporulados aerobios



**Figura 7.** Recuentos de microorganismos esporulados aerobios (UFC/g) en áreas no quemadas (azul) y quemadas (naranja) en los suelos de cada uno de los incendios. Las barras corresponden a la media con su respectivo error estándar. El asterisco (\*) indica los incendios con diferencias estadísticamente significativas entre ambas áreas.

**Tabla 6.** Valores obtenidos de  $p$  en la prueba estadística de Wilcoxon de cada incendio correspondiente al recuento de microorganismos esporulados aerobios.

	Incendio									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>p valor</b>	0,02092	0,02092	1	0,02092	0,02092	0,02092	0,02092	0,02092	0,02092	0,02092

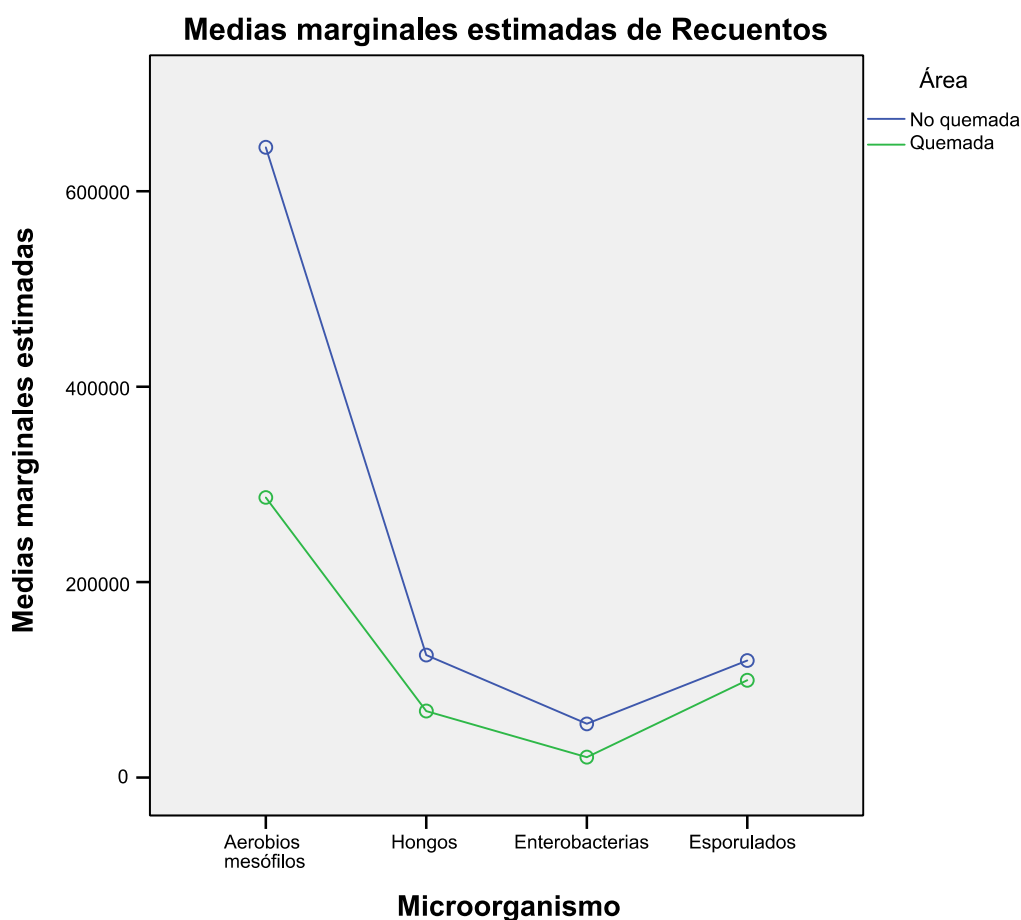
Los datos de las poblaciones de microorganismos esporulados aerobios en el suelo de las áreas quemadas y no quemadas, representadas en la Figura 7, muestran diferencias entre los incendios. En cuanto a las áreas no quemadas (azul) destaca el valor de UFC/g de 63.840 del incendio 3, siendo éste el mayor valor obtenido y el incendio 6 presenta 2.835 UFC/g como valor más bajo. Esto indica, al igual que en los grupos de microorganismos anteriores, la variabilidad de los microorganismos esporulados aerobios que se encuentran en los suelos. Si observamos las áreas quemadas (naranja) el mayor valor de UFC/g se recoge de nuevo en el incendio 3 con 62.160; en contraposición a lo que ocurre en el incendio 6 en el que se encontraron solo 105 UFC/g.

En la Tabla 5, se puede observar que la mayoría de los incendios por separado tienen diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las poblaciones de esporulados aerobios de los suelos de las áreas no quemadas y quemadas, excepto el incendio 3 ( $p > 0,05$ ).

Considerando globalmente los resultados de todos los incendios, y comparando el área quemada y la no quemada, los recuentos de UFC/g de la población de microorganismos esporulados aerobios entre las áreas no quemadas y las quemadas de los incendios mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $t_{78} -3,30$ ;  $p < 0,05$ ).

#### 4.5. Interacciones

Considerando los datos obtenidos en el test ANOVA de dos vías, existe una interacción significativa entre el grupo de microorganismos y si el área estudiada está quemada o no ( $F_{3,66}=4,79$ ;  $p<0,05$ ), dando a considerar que hay una variación de las poblaciones de microorganismos en función del estado del área.



**Figura 8.** Gráfico de interacción entre las áreas (no quemadas, azul, y quemadas, verde) y los cuatro grupos de microorganismos estudiados (aerobios mesófilos, hongos, enterobacterias y esporulados aerobios).

En el gráfico de interacción obtenido a través del análisis ANOVA de dos vías, (Figura 8), se observa un gran descenso del número de microorganismos aerobios mesófilos tras un incendio, siendo este mucho mayor que el del resto de los microorganismos analizados. En cambio, los microorganismos que mostraron mayor resistencia fueron los esporulados aerobios ya que la disminución de los recuentos, entre las áreas quemadas con respecto a las no quemadas, fue menor. También, se observa una diferencia en la proporción entre los microorganismos aerobios mesófilos y los microorganismos esporulados aerobios. En las áreas no quemadas la proporción del número de microorganismos aerobios mesófilos y los esporulados aerobios es grande, en cambio cuando observamos las áreas quemadas, los valores de las medias de los microorganismos aerobios mesófilos se aproximan a los valores de los microorganismos esporulados aerobios, siendo así la proporción entre microorganismos aerobios mesófilos y esporulados aerobios menor en las áreas quemadas que en las no quemadas.

## 5. Discusión

El suelo es un componente básico de los ecosistemas forestales, y puede sufrir cambios directos producidos por el calentamiento de un incendio forestal, o cambios indirectos como consecuencia de una nueva situación microclimática después de que ocurra la pérdida de la cubierta vegetal, y la presencia de una cubierta de cenizas (Vázquez *et al.*, 1993; Hernández *et al.*, 1997; Mataix-Solera, 1999; Vélez, 2000; Úbeda, 2001). Estos cambios, directos e indirectos, pueden afectar a la calidad del suelo, por ello se estudia en este trabajo la variación de microorganismos del suelo antes y después de un incendio forestal. Concretamente el estudio de microorganismos aerobios heterótrofos mesófilos, hongos, enterobacterias y microorganismos esporulados aerobios.

Los microorganismos del suelo contribuyen a la sustentabilidad de todos los ecosistemas siendo los principales responsables de los ciclos de nutrientes, ya que regulan la dinámica de la materia orgánica del suelo, el secuestro del carbono, la emisión de gases de efecto invernadero, la estructuración del suelo y la retención de agua. También son los responsables del aumento de la eficiencia de absorción de nutrientes por las plantas y por lo tanto del mantenimiento de la salud vegetal (Correa, O., 2013). Por todo esto, su estudio es de gran importancia.

Las poblaciones microbianas de los suelos de los diez incendios forestales analizados mostraron variaciones en los recuentos de las áreas no quemadas y quemadas, por lo que, si nos basamos en el estudio de Hart *et al.* (2005) podemos decir que el fuego altera la estructura de la comunidad microbiana del suelo, principalmente a través de la mortalidad microbiana inducida por el calor. La alteración de la mortalidad de los microorganismos se ha visto reflejada en este trabajo, observándose de forma generalizada una disminución del número microorganismos en áreas quemadas con respecto a las no quemadas. Esta clara disminución de las poblaciones microbianas del suelo ocurre del mismo modo que en los estudios realizados por Choromanska & DeLuca (2001), Yeager *et al.* (2005), Smith *et al.* (2008) y Dooley & Treseder (2012) sobre los efectos en la población microbiana. Estos efectos también se ven reflejados en cada incendio por separado en los cuatro grupos de microorganismos estudiados, en los cuales existieron diferencias estadísticamente significativas de las poblaciones microbianas entre áreas quemadas y no quemadas.

En estudios como los realizados por Ross *et al.* (1997), y Fernández *et al.* (1998) sobre los efectos del fuego en la biomasa microbiana y la disponibilidad de nutrientes, se encontraron proporciones significativamente bajas de microorganismos y de disponibilidad de nitrógeno y carbono, concluyendo un efecto devastador del fuego sobre los ecosistemas en general. Este efecto también se vio reflejado en nuestros resultados a pesar de que el tamaño de muestra (número de incendios) fuera reducido; un mayor tamaño haría que la representatividad de estos resultados fuese aun mayor.

Un resultado destacable de este trabajo fue la diferente reducción de los distintos grupos de microorganismos en los suelos de los incendios forestales, se observó que el número de UFC/g disminuyó más en el caso de los microorganismos aerobios mesófilos que en el de los hongos (Figura 8). De este resultado se deduce que los hongos fueron más tolerantes al calor, al contrario de los resultados obtenidos por Bollen (1969) y Dunn *et al.* (1985), los cuales indicaron que las bacterias fueron más tolerantes que los hongos. Además, teniendo en cuenta, que los momentos de recogida de las muestras fueron distintos, la diferencia entre los microorganismos aerobios mesófilos y los hongos también puede deberse a que el número de bacterias retoma los valores normales en un corto periodo de tiempo después

de un incendio, y en cambio los hongos recuperan más lentamente el estado previo al incendio (Raison, 1979).

Comparando la reducción de los microorganismos aerobios heterótrofos mesófilos y los microorganismos esporulados aerobios (Figura 8), se observa una gran diferencia en la disminución del número de cada uno de ellos, siendo claramente menor el descenso en el número de microorganismos esporulados aerobios. Esta mayor resistencia al calor está relacionada con la presencia de formas de resistencia típicas (endosporas) de este grupo de microorganismos. De hecho, Smith *et al.* (2008) encontraron que las especies del género *Bacillus* (microorganismo esporulado) fueron muy características de los suelos quemados. También se ha encontrado que en los suelos quemados fueron muy abundantes especies de microorganismos esporulados pertenecientes al género *Clostridium* (Yeager *et al.*, 2005).

En los suelos de algunos de los incendios forestales analizados, destacó la presencia de poblaciones de enterobacterias (Figura 6). Dentro de la familia *Enterobacteriaceae* se encuentra *Escherichia coli*, un organismo indicador que se usa frecuentemente para la detección de contaminación fecal (Atlas & Bartha, 2002). Teniendo esto en cuenta, la presencia de enterobacterias nos puede indicar la existencia de este tipo de contaminación en esos suelos.

## **6. Conclusiones/Conclusión/Conclusions**

### **Conclusiones**

Las poblaciones microbianas de los suelos se ven afectadas por la presencia de incendios forestales. Se observó una disminución del número de microorganismos en áreas quemadas con respecto a las áreas no quemadas, siendo la diferencia entre ambas áreas estadísticamente significativa.

Existe una interacción significativa entre el grupo de microorganismos presentes en el suelo y el estado del suelo (quemado, no quemado). Los microorganismos esporulados aerobios mostraron una mayor resistencia al calor, puesto que tuvieron un descenso menor después de un incendio. Por el contrario, las poblaciones de los microorganismos aerobios mesófilos fueron las más sensibles al efecto de los incendios, ya que experimentaron el mayor descenso.

### **Conclusión**

As poboacións microbianas dos solos vense afectadas pola presenza de incendios forestais. Observouse unha diminución do número de microorganismos en áreas queimadas con respecto ás áreas non queimadas, sendo a diferenza entre ambas áreas estatisticamente significativa.

Existe unha interacción significativa entre o grupo de microorganismos presentes no solo e o estado do solo (queimado, non queimado). Os microorganismos esporulados aerobios mostraron unha maior resistencia á calor, debido a que tiveron un descenso menor despois dun incendio. Pola contra, as poboacións dos microorganismos aerobios mesófilos foron as máis sensibles ao efecto dos incendios, xa que experimentaron o maior descenso.

## **Conclusions**

The microbial populations of the soils are affected by the presence of the forest fire. A decrease in the number of microorganisms in burned areas was observed with respect to the non-burned areas, the difference between both areas being statistically significant.

There is a significant interaction between the group of microorganisms present in the soil and the state of the soil (burned, not burned). The aerobic sporulated microorganisms showed greater resistance to heat, since they had a lower decrease after a fire. On the contrary, the populations of aerobic mesophilic microorganisms were the most sensitive to the effect of the fires, since they experienced the greatest decrease.

## 7. Bibliografía

- Acea, M.J. & Carballas, T. (1996). Changes in physiological groups of microorganisms in soil following wildfire. *FEMS Microbiology ecology*, 20(1), 33-39.
- Ahlgren, I.F. & Ahlgren, C.E. (1965). Effects of prescribed burning on soil microorganisms in a Minnesota jack pine forest. *Ecology*, 46(3): 304-310.
- Alexander M., (1980). *Introducción a la microbiología del suelo*. México: AGT.
- Alexander, M. (1967). *Introduction to soil microbiology*. New York: John Wiley & Sons.
- Atlas, R., & Bartha, R. (2002). *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Madrid: Pearson Educación.
- Bárcenas-Moreno, G., García-Orenes, F., Mataix-Solera, J., Mataix-Beneyto, J., & Bååth, E. (2011). Soil microbial recolonisation after a fire in a Mediterranean forest. *Biology and fertility of soils*. 47(3), 261-272.
- Bartoli, A., Gerdol, R., & Massari, G. (1991). Soil fungi succession in a Mediterranean 'macchia' after fire. *Revue d'écologie et de biologie du sol*, 28(4), 387-402.
- Bollen, G.J. (1969). The selective effect of heat treatment on the microflora of a greenhouse soil. *Netherlands journal of plant pathology* 75(1-2), 157-163.
- Carballas, T., Martín, A., & Díaz-Raviña, M. (2009). Efecto de los incendios forestales sobre los suelos de Galicia. En: Cerdá, A., & Mataix-Solera, J., (Eds.), *Efecto de los incendios forestales sobre los suelos en España: el estado de la cuestión visto por los científicos españoles*. (pp. 269-301). Valencia: Universitat de València, Càtedra Divulgación de la Ciencia.
- Cardoso, E., Tsai, S.M., & Neves, M.C. (1992). *Microbiologia do solo*. Campinas: Sociedade brasileira de ciência do solo.
- Catry, F.X., Rego, F.C., Silva, J.S., Moreira, F., Camia, A., Ricotta, C., & Conedera, M. (2010). Fire starts and human activities. En J.S. Silva, F. Rego, P. Fernandes, E. Rigolot, (Eds.), *Towards integrated fire management -outcomes of the european project Fire Paradox: European Forest Institute research report*, 23. (pp. 9-22). Joensuu (Finland): European Forest Institute.
- Choromanska, U., & Deluca, T.H. (2001). Prescribed fire alters the impact of wildfire on soil biochemical properties in a ponderosa pine forest. *Soil science society of America journal*, 65(1), 232-238.
- Correa, O. S. (2013). Los microorganismos del suelo y su rol indiscutido en la nutrición vegetal. En Díaz-Zorita, M., Correa, O., Fernández Canigia, M.V., Lavado, R. S. (Eds.), *Aportes de la microbiología a la producción de los cultivos* (pp. 1-10). Buenos Aires: Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
- Coyne, M. (2000). *Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio*. Madrid: Paraninfo.

- De las Heras Ibañez, J., Martínez Sánchez, J. J., & Herranz Sanz, J. M. (1991). Impacto ecológico de los incendios forestales. *Revista de estudios albacetenses*, 29, 105-117.
- Dooley, S.R., & Treseder, K.K. (2012). The effect of fire on microbial biomass: a meta-analysis of field studies. *Biogeochemistry*, 109(1-3), 49-61.
- Dunn, P.H., Barro, S.C., & Poth, M. (1985). Soil moisture affects survival of microorganisms in heated chaparral fire. *Soil biology and biochemistry* 17(2), 143-148.
- Esermann E.F. & McLaren A.D. (1961). Contribution of rhizosphere organisms to the total capacity of plants to utilize organic nutrients. *Plant and soil*, 15(3), 243- 260.
- Fernández, A, Acea, M. & Carballas, T. (1998). Soil microbial and extractable C and N after wildfire. *Biology and Fertility of Soils* 27(2) 132-142.
- Gianinazzi-Pearson V., & Azcon-Aguilar C. (1991). Fisiología de las micorrizas vesículo\_arbusculares. En Olivares, J. & Barea, J.M. (Eds.), *Fijación y movilización biológica de nitrógeno y micorriza*, Vol. II (pp. 175-202). Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- Goberna, M., García, C., Insam, H., Hernandez, M.T., & Verdú, M. (2012). Burning fire-prone Mediterranean shrublands: immediate changes in soils microbial community structure and ecosystem functions. *Microbial ecology*, 64(1), 242-255.
- Guerrero, C., Mataix-Solera, J., Gómez, I., García-Orenes, F. & Jordán, M.M. (2005). Microbial recolonization and chemical changes in a soil heated at different temperatures. *International journal of wildland fire*, 14(4), 385-400.
- 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(7), 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(1-3), 166-184.
- Hernández, T., García, C., & Reinhardt, I. (1997). Short-term effect of wildfire on the chemical, biochemical and microbiological properties of Mediterranean pine forest soils. *Biology and fertility of soils* 25(2), 109-116.
- Mataix-Solera, J. (1999). *Alteraciones físicas, químicas y biológicas en suelos afectados por incendios forestales: contribución a su conservación y regeneración*. (Tesis doctoral, Universidad de Alicante).
- Mataix-Solera, J., Cerdà, A., Arcenegui, V., Jordán, A., & Zavala, L. M. (2011). Fire effects on soil aggregation: a review. *Earth-science reviews*, 109(1-2), 44-60.
- Mataix-Solera, J., & Guerrero, C. (2007). Efectos de los incendios forestales en las propiedades edáficas. En Mataix-Solera, J. (Ed.), *Incendios forestales, suelos y erosión hídrica* (pp. 5– 40). Alicante: Caja Mediterráneo, CEMACAM.



- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2019). Los incendios forestales en España de 2013.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2019). Los incendios forestales en España: 1 de enero - 31 diciembre de 2016. *Avance informativo*.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2019). Los incendios forestales en España: 1 de enero - 31 diciembre de 2017. *Avance informativo*.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2019). Los incendios forestales en España: 1 de enero - 31 diciembre de 2018. *Avance informativo*.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2019). Los incendios forestales en España: 1 de enero - 9 de Junio de 2019. *Avance informativo*.
- Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino (2010). Los incendios forestales en España: Decenio 2000–2009.
- Neary, D.G., Klopatek, C.C., DeBano, L.F., & Ffolliott, P.F. (1999). Fire effects on belowground sustainability: a review and synthesis. *Forest ecology and management*, 122(1-2), 51–71.
- R: A language and environment for statistical computing (v. 3.5.2) [Programa de ordenador]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.
- Raison, R.J. (1979). Modification of the soil environment by vegetation fires, with particular reference to nitrogen transformations: a review. *Plant and soil*, 51(1), 73-108.
- Ross, D, Speir, T, Tate, K. & Feltham, H. (1997). Burning in a New Zealand snow- tussock grassland: effects on soil microbial biomass and nitrogen phosphorus availability. *New Zealand Journal of Ecology* 21(1): 63-71.
- Santos, D.J., Wilson, M.G., & Ostinelli, M.M. (2012) *Metodología de muestreo de suelo y ensayos a campo: protocolos básicos comunes*. Paraná: Ediciones INTA.
- Smith, N.R., Kishchuk, B.E., & Mohn, W.W. (2008). Effects of wildfire and harvest disturbances on forest soil bacterial communities. *Applied and environmental microbiology*, 74(1), 216-224.
- Úbeda, X. (2001). Efectos de los incendios forestales sobre los suelos. En J. Mataix Beneyto & J. Navarro Pedreño (Eds.) *Problemática ambiental en suelos mediterráneos. Tomo 1* (pp. 118-137). Valencia: Universidad internacional Menéndez Pelayo.
- Úbeda, X., & Outeiro, L., (2009). Physical and chemical effects of fire on soil. En A. Cerdà, A. & P.R. Robichaud, (Eds.), *Fire effects on soils and restoration strategies* (pp. 105–132). Enfield (New Hampshire): Science Publishers.
- Vázquez, F.J., Acea, M.J., & Carballas, T. (1993). Soil microbial populations after wildfire. *FEMS Microbiology ecology*, 13(2), 93-104.
- Vélez, R. (Ed.) (2000). *La defensa contra incendios forestales. fundamentos y experiencias*. Madrid: Mc Graw Hill

- Widden, P. & Parkinson, D. (1975). The effects of a forest fire on soil microfungi. *Soil biology & biochemistry*, 7(2), 125-138.
- Yeager, C.M., Northup, D.E., Grow, C.C., Barns, S.M. & Kuske, C.R. (2005). Changes in nitrogen-fixing and ammonia-oxidizing bacterial communities in soil of a mixed conifer forest after wildfire. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(5), 2713-2722.
- Zhang, Z., Qu, Y., Li, S., Feng, K., Wang, S., Cai, W., Liang, Y., Xu, M., Yin, H. & Deng, Y. (2017). Soil bacterial quantification approaches coupling with relative abundances reflecting the changes of taxa. *Scientific reports*, 7(1), 4837.

## Anexo A

Mapas geográficos de los diez incendios forestales estudiados y fotografías del lugar de recogida de la muestra.



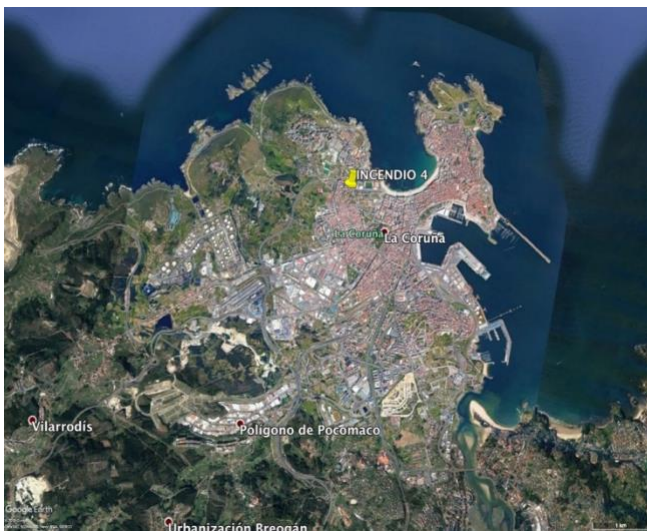
**Figura A1.** A la izquierda mapa de la provincia de Salamanca donde se sitúan las coordenadas del incendio 1. A la derecha lugar de recogida de la muestra del área quemada.



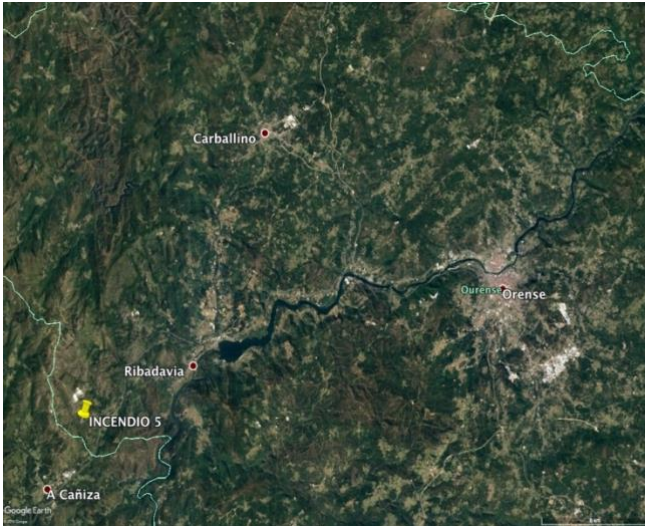
**Figura A2.** A la izquierda mapa de la provincia de Salamanca donde se sitúan las coordenadas del incendio 2. A la derecha lugar de recogida de la muestra del área quemada.



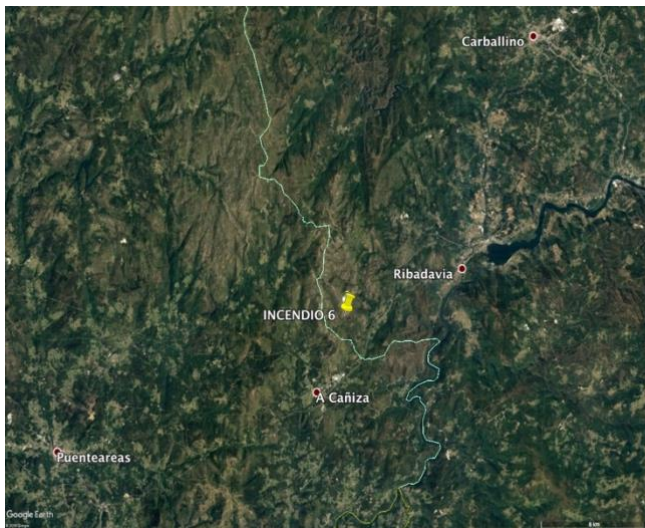
**Figura A3.** A la izquierda mapa de la provincia de Cáceres donde se sitúan las coordenadas del incendio 3. A la derecha lugar de recogida de la muestra del área quemada.



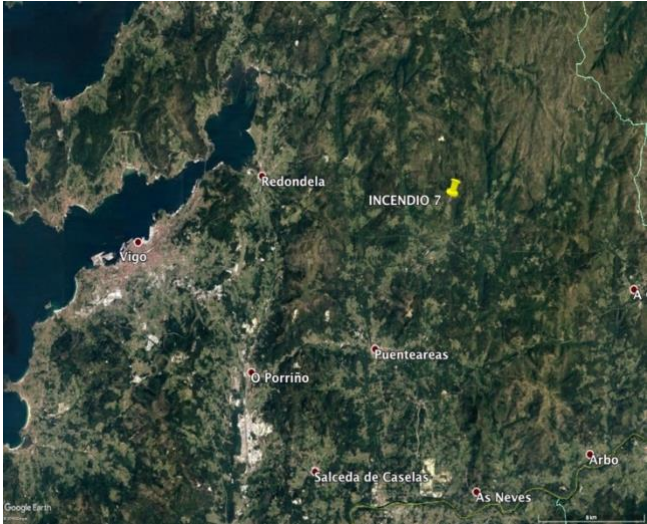
**Figura A4.** A la izquierda mapa de la provincia de A Coruña donde se sitúan las coordenadas del incendio 4. A la derecha lugar de recogida de la muestra del área quemada.



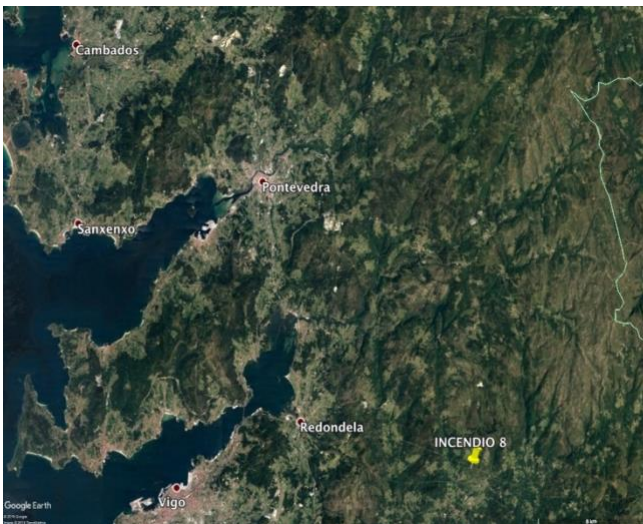
**Figura A5.** A la izquierda mapa de la provincia de Ourense donde se sitúan las coordenadas del incendio 5. A la derecha lugar de recogida de la muestra del área quemada.



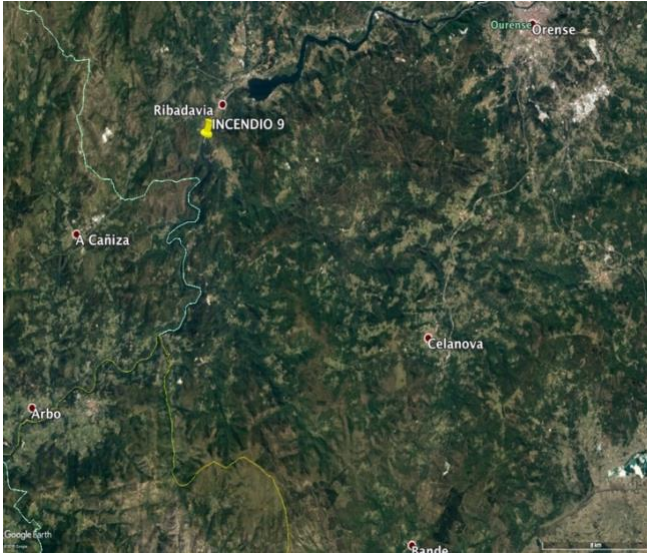
**Figura A6.** A la izquierda mapa de la provincia de Ourense donde se sitúan las coordenadas del incendio 6. A la derecha lugar de recogida de la muestra del área quemada.



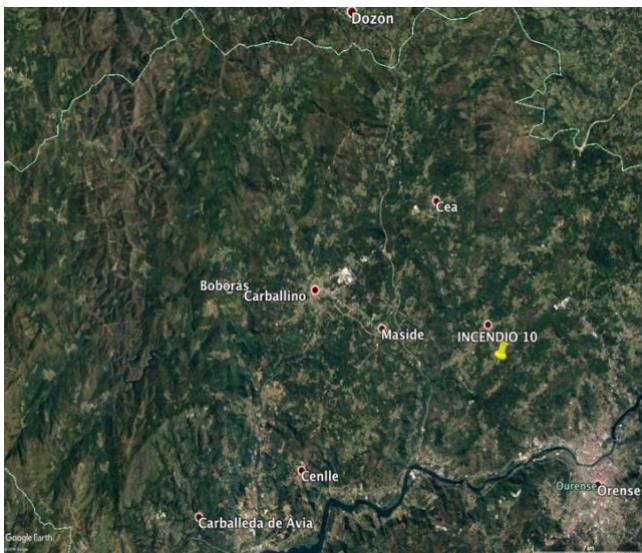
**Figura A7.** A la izquierda mapa de la provincia de Pontevedra donde se sitúan las coordenadas del incendio 7. A la derecha lugar de recogida de la muestra del área quemada.



**Figura A8.** A la izquierda mapa de la provincia de Pontevedra donde se sitúan las coordenadas del incendio 8. A la derecha lugar de recogida de la muestra del área quemada.



**Figura A9.** A la izquierda mapa de la provincia de Ourense donde se sitúan las coordenadas del incendio 9. A la derecha lugar de recogida de la muestra del área quemada.



**Figura A10.** A la izquierda mapa de la provincia de Ourense donde se sitúan las coordenadas del incendio 10. A la derecha lugar de recogida de la muestra del área quemada.