

Alex Clop i Ferran Pauné

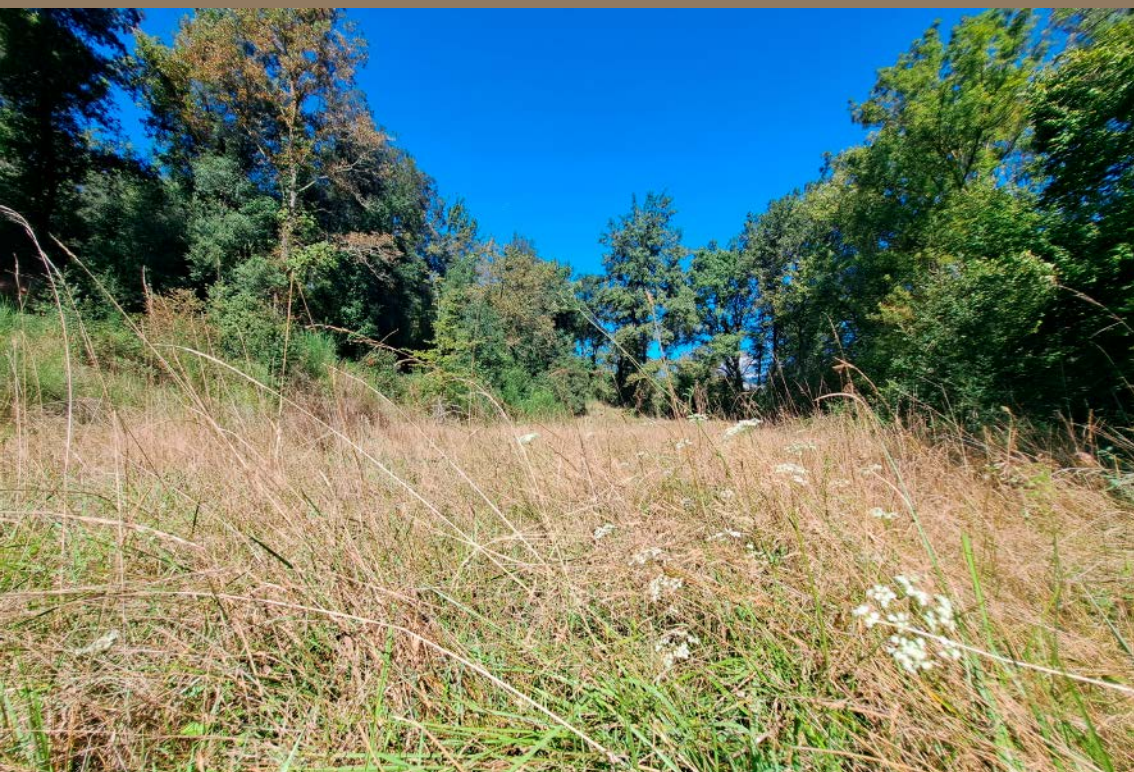
RECERCA D'INDICADORS POTENCIALS DEL PASSAT PASTORAL DELS BOSCOS DE LES GUILLERIES MITJANÇANT LA METAGENÒMICA DEL SÒL



Universitat
de Girona

UVIC
UNIVERSITAT DE VIC
UNIVERSITAT CENTRAL
DE CATALUNYA

E Eumo
Editorial



RECERCA D'INDICADORS
POTENCIALS DEL PASSAT
PASTORAL DELS BOSCOS DE LES
GUILLERIES MITJANÇANT
LA METAGENÒMICA DEL SÒL

Alex Clop i Ferran Pauné

RECERCA D'INDICADORS POTENCIALS DEL PASSAT PASTORAL DELS BOSCOS DE LES GUILLERIES MITJANÇANT LA METAGENÒMICA DEL SÒL

Premi de Recerca Guillerries 2023



Aquest treball ha rebut el Premi de Recerca Guillerries 2023, atorgat per la Càtedra interuniversitària de l'Aigua, Natura i Benestar, impulsada per l'Ajuntament de Sant Hilari Sacalm, la Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya i la Universitat de Girona. Aquesta Càtedra té la voluntat de treballar per al desenvolupament del territori a partir de la interacció entre els diferents agents socials i universitats en els àmbits en què poden aportar expertesa. La seva finalitat és potenciar, difondre i transferir el valor del patrimoni natural de les Guillerries, per ajudar a desenvolupar un model de gestió territorial sostenible en aquest espai natural compartit entre les comarques d'Osona i de la Selva. Les línies d'interès de la Càtedra es centren principalment en el patrimoni natural relacionat amb l'aigua, el territori i la biodiversitat.

Foto de la coberta: Pastura en mosaic (Les Fagedes, Vilanova de Sau).

© del text i les fotos actuals (coberta inclosa): 2025, Alex Clop i Ferran Pauné

© de les fotos antigues (pàg. 46-47): Arxiu Municipal de Sant Hilari Sacalm. La Roca d'en Pla, L. Roisin (Ed). Petjada del Dimoni, A.T.V. (Ed). Llaurant l'Artiga, A.T.V. (Ed). Ramat, Autor desconegut.

© d'aquesta edició:

Càtedra de l'Aigua, Natura i Benestar

Centre Aqua. Zona Industrial Mas Garriga, s/n. 17403 Sant Hilari Sacalm

www.catedraaigua.cat - catedraaigua@santhilari.cat

Eumo Editorial. C. Doctor Junyent, 1. 08500 Vic

www.eumoeditorial.com - eumoeditorial@eumoeditorial.com

—Eumo és l'editorial de la UVic-UCC—

Primera edició: octubre de 2025

Editors: Marc Ordeix i David Soler, codirectors de la Càtedra interuniversitària de l'Aigua, Natura i Benestar per la Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya i la Universitat de Girona

Disseny de la coberta i disseny i maquetació de l'interior: Marta Prat Salvans - www.martaprat.cat

Impressió: Estugraf

ISBN: 978-84-9766-887-3

Dipòsit legal: B 16588-2025

La publicació d'aquesta obra ha estat cofinançada per la Càtedra interuniversitària de l'Aigua, Natura i Benestar i el Consorci de l'Espai Natural de les Guillerries-Savassona. Ha comptat, també, amb un ajut del Consell Social de la Universitat de Girona destinat a activitats de divulgació del coneixement. L'obra pot ser citada preferentment així: Clop, Alex; Pauné, Ferran (2025). *Recerca d'indicadors potencials del passat pastoral dels boscos de les Guillerries mitjançant la metagenòmica del sòl*. Sant Hilari Sacalm: Càtedra de l'Aigua, Natura i Benestar; Vic: Eumo, Col·lecció «Guillerries - Aigua i Territori», vol. 5.

Reservats tots els drets. Es prohibeix la reproducció total o parcial d'aquesta obra per qualsevol mitjà o procediment sense l'autorització per escrit dels titulars dels copyrights.

ÍNDIX

PREMIS GUILLERIES. ESTUDIS D'ACTUALITAT, Jordi Rotllant Cors	7
UNA CÀTEDRA QUE ÉS UNA XARXA BEN TRAMADA, QUE CONNECTA, ALHORA QUE PROTEGEIX I ENFORTEIX, Sílvia Llach i Eva Espasa	9
1. INTRODUCCIÓ	15
2. MATERIALS I MÈTODES	23
Selecció de punts de mostratge	
Història ecològica i usos passats de la terra	
Mostratge de sòl	
Extracció d'ADN, preparació de llibreries i seqüenciació	
Anàlisis bioinformàtiques	
3. RESULTATS	39
Caracterització de sòls	
Història ecològica	
Mètriques de seqüenciació i detecció d'OTU	
Composició bacteriana i fúngica dels sòls	
Diversitat	
Recerca de biomarcadors	
4. DISCUSSIÓ	64
El factor sòl	
Composició bacteriana i fúngica dels sòls	
Diversitat	
Biomarcadors	

5. CONCLUSIONS	83
----------------	----

BIBLIOGRAFIA	85
--------------	----

ANNEXOS	98
---------	----

- Annex I. Mostratge
- Annex II. Anàlisi metagenòmica
- Annex III. Composició i diversitat

PREMIS GUILLERIES. ESTUDIS D'ACTUALITAT

Tot seguit podeu endinsar-vos en una proposta que va sorprendre el jurat mateix per la metodologia de recerca sobre la memòria, importància i capacitat de recuperació dels espais oberts i les pastures en el nostre medi natural. Aquesta cinquena edició, corresponent a l'any 2023, amb el títol *Recerca d'indicadors potencials del passat pastoral dels boscos de les Guilleries mitjançant la metagenòmica del sòl*, ens demostra el que és avui el Premi de Recerca Guilleries. Una aportació de la Càtedra d'Aigua, Natura i Benestar, formada per l'Ajuntament de Sant Hilari Sacalm, la Universitat de Girona (UdG) i la Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya (UVic-UCC), en relació amb la recerca del nostre entorn més immediat i les problemàtiques o necessitats del moment que vivim. Durant aquest llarg període de sequera que ha viscut el nostre país, alguna de les edicions del premi ha abordat temes relacionats amb l'aigua en el medi natural, el seu ús lúdic i la importància per a la fauna del nostre entorn. En aquesta edició aborda un tema d'actualitat i futur vist des del passat, com és l'adaptació del medi natural al canvi climàtic i de quina manera la transformació del medi a càrrec de les persones el pot fer més resilient. La recuperació dels espais oberts, de la necessitat de desforestar una part del paisatge, es reclama des de la visió de la biodiversitat, de la prevenció d'incendis, de l'aprofitament dels règims pluviomètrics i, a

vegades, la societat no l'admet o comprèn. Estudiar aquestes necessitats des de la història del paisatge ens permet explicar no només com pot ser el nostre entorn, sinó com ha estat històricament, i que l'arrelament de les persones amb la ramaderia i l'agricultura tradicionals és una manera de recuperar el nostre passat i assegurar el nostre futur. Agraeixo als autors, Alex Clop i Ferran Pauné, la seva dedicació més enllà de la petita oportunitat que ha comportat aquest premi i sobretot de fer, amb aquest treball, que els Premis Guillerics siguin de proximitat, actualitat i prestigi científic.

Jordi Rotllant Cors
Alcalde de Sant Hilari Sacalm

UNA CÀTEDRA QUE ÉS UNA XARXA BEN TRAMADA, QUE CONNECTA, ALHORA QUE PROTEGEIX I ENFORTEIX

De vegades atribuïm molts fets a l'atzar. Segurament ens equivoquem. Els canvis passen davant nostre, sovint imperceptibles, i semblen nous escenaris que es fan presents quan s'ha sobrepassat un llindar. Llavors, mirem enrere i entenem poca cosa. I potser pensem que simplement ha estat mala sort.

Podem mirar de capgirar aquesta dinàmica per dues bandes.

La primera: que hi ha maneres de conèixer el que és imperceptible als nostres ulls gràcies a la ciència, a la recerca. El treball guanyador del premi d'aquest any investiga, a partir d'indícis, canvis profunds que són poc perceptibles per a les persones que viuen a la zona. El treball dona respostes i permet la prevenció, l'actuació i el control sobre determinats canvis que podrien esdevenir més dràstics i afectar la vida de l'ecosistema, de les espècies, de les persones en particular.

La segona: que de vegades hi ha elements puntuals que també generen canvis que poden tenir efectes positius i molt més grans del que podria semblar. Ara parlem d'aquesta Càtedra. Any rere any, un teixit d'accions, persones, entitats i, sobretot, un ajuntament i dues universitats, planifiquen un cicle d'actuacions dintre d'un itinerari compartit i fixat. A les persones que gaudeixen d'una de les actuacions, els pot semblar un element aïllat, positiu, plaent, educatiu... Però quan s'agafa

perspectiva i s'ajunten els punts, apareix una bastida sòlida, un assentament que apuntala la vida al territori, al voltant de l'aigua, la natura, el benestar. La Càtedra és una entesa construïda sobre un objectiu ferm que avança a pas segur i mesurat. La bastida es pot ampliar i sempre té espai per enfortir la base: conèixer, comprendre, estimar, preservar, compartir el patrimoni natural.

La Càtedra, doncs, podem dir que és un espai segur. D'una banda, perquè malgrat els canvis que genera el clima, en combat els efectes negatius i busca els positius; de l'altra, perquè és un espai generat des del coneixement. És una referència contrastada, hi participen les universitats i les persones expertes del territori, les que el coneixen, les que hi viuen. Una Càtedra que és una xarxa (o una bastida, per seguir la imatge) ben tramada, que connecta, alhora que protegeix i enforteix.

La Càtedra, per tant, com a espai i xarxa del coneixement, desplega múltiples activitats que ens permeten conèixer i protegir el territori. Entre aquestes activitats, hi destaca publicar la col·lecció d'obres del Premi de Recerca Guilleries, que enguany arriba a la cinquena edició. Els temes tractats en les edicions anteriors mostren el compromís de la Càtedra amb el territori, com es pot veure en els títols:

2021: *La comunitat de carnívors de les Guilleries*

2022: *Gorgues, entre el lleure i la conservació*

2023: *Flora de les Guilleries orientals*

2024: *Els refugis climàtics per a la fauna aquàtica de les Guilleries*

Enguany el títol del treball és *Recerca d'indicadors potencials del passat pastoral dels boscos de les Guilleries mitjançant la metagenòmica del sòl*. La metagenòmica és un camp relativament nou que permet estudiar organismes que no es

poden cultivar fàcilment en laboratoris o estudiar-los en el seu medi natural. Així, aquest treball, contribueix a desxifrar la història ecològica de les Guilleries, avaluant els canvis en la biodiversitat dels microorganismes (bacteris i fongs) del sòl en funció de quan s'hi van anar abandonant els espais oberts, de pastura. Cal no oblidar que a les Guilleries l'activitat agrícola, ramadera i forestal ha estat històricament molt important. Tanmateix, aquesta activitat, sobretot la ramadera extensiva, s'ha reduït progressivament, amb importants conseqüències ambientals.

Aquesta recerca suggereix específicament que cal valorar el paper dels herbívors en la gestió del paisatge com una mesura rellevant per mitigar els efectes del canvi climàtic. L'obertura d'espais genera territoris més biodiversos i més resilients a la destrucció causada pels incendis forestals i per altres factors. Els autors, Alex Clop i Ferran Pauné, han fet servir tècniques molt innovadores: després d'extreure ADN de mostres de sòl, seqüenciar-lo i fer-ne anàlisis bioinformàtiques, han determinat la relació entre la comunitat d'herbívors i el sòl mitjançant la metagenòmica. Els autors han desenvolupat eines per a una gestió territorial des del coneixement científic rigorós. Aquest estudi posa les bases per a projectes de gran envergadura, de gestió i recuperació d'espais oberts en un paisatge molt més divers.

Les Guilleries són un cas d'estudi, un exemple a seguir en molts altres espais naturals. Aquesta recerca pot contribuir, en paraules dels autors, «a l'adaptació i la mitigació del canvi climàtic»; en definitiva, a donar resposta a canvis profunds, tot i que siguin inicialment imperceptibles.

Sílvia Llach

Vicerectora de Territori i Compromís Social. Universitat de Girona

Eva Espasa

Vicerectora de Recerca i Transferència del Coneixement.
Universitat de Vic – Universitat Central de Catalunya

Les papallones volaven davant nostre tot seguint el mateix camí que ens duia a la masia. A banda i banda, un bosc espès les obligava a desplaçar-se per l'únic espai obert que tenien, el camí emporlanat dels homes. Resseguit per prims vorals herbacis i florits, havia esdevingut un connector ecològic entre les poblacions d'escadussers espais oberts. L'espectacle, cru i punyent, ens parlava de canvis dramàtics: dels pocs espais oberts que havien resistit l'aforestació del darrer segle, com les dues germanes que de mas estant ens relataren l'esquifida història ecològica que guardava el llogaret. Feia moltes hores que recollíem mostres, i teníem set, d'aigua i de coneixement.

Quadern de camp dels autors.
Campelles, primavera de 2025

1. INTRODUCCIÓ

El canvi climàtic, la crisi de biodiversitat i els grans incendis forestals són problemes cabdals per a la nostra societat. La vegetació té un paper fonamental en la configuració del clima de la Terra mitjançant la regulació dels cicles d'energia, aigua i biogeoquímics a través de la transpiració, la intercepció o la radiació (Miralles et al., 2025). Aquesta influència es propaga per l'atmosfera, des de les escales de microclima fins a impactar en la circulació a gran escala i el transport global de calor i humitat. Les retroalimentacions biosfera-atmosfera poden explicar fins a un 30 % de la variància de precipitació i radiació superficial en regions com la Mediterrània (Green et al., 2017).

La preocupació per la desforestació ha portat a polítiques i programes de reforestació globals. A la Mediterrània europea la seqüència d'intensificació agrària, abandó rural i aforestació han conduït a l'homogeneïtzació del paisatge (Herrando et al., 2016) i una propagació més agressiva dels incendis forestals (Molina et al., 2010). Alhora, la pèrdua de biodiversitat es mostra no com una mera pèrdua d'espècies, sinó com un problema d'alteració de processos essencials per a la vida humana. Investigacions recents mostren que les pastures sovint són antigues i altament biodiverses, però continua sent difícil distingir a gran escala entre les pastures

primàries i secundàries (Bond, 2016). Mentre els ecosistemes primaris són antics i biodiversos, els secundaris són etapes transitòries de successió a causa de pertorbacions i, per tant, són més joves i menys diversos. Aquest podria ser el cas d'alguns boscos catalans. Per tant, els esforços de reforestació corren el risc de tenir un efecte contrari a mitigar l'escalfament global, tenint en compte menys emissió de vapor d'aigua, més albedo —quantitat, expressada en percentatge, de radiació que incideix sobre una superfície i que és retornada a l'espai— i segrest estable de carboni a càrrec de les pastures respecte dels boscos (Dass et al., 2018).

Les Guilleries són un territori amb predomini gairebé absolut de les cobertes forestals. Per tot això, la gestió forestal emergeix com una eina ineludible. Recentment, una recerca en gestió forestal per a la prevenció d'incendis ha reportat una pèrdua dramàtica de la funció herbívora a la Mediterrània i suggereix la necessitat de revisar la definició de certs ecosistemes aforestats (Pauné, 2021). Immersos en l'antropocè, podríem haver perdut la referència a les línies de base d'alguns processos ecològics (Manzano et al., 2023; Soga, Gaston, 2018). De fet, estudis recents mostren com a Europa la vegetació forestal històrica era més oberta (Pearce et al., 2023) del que prevèiem segons la teoria successional. En paral·lel, l'abundància actual d'herbívors és diverses vegades inferior a les línies de base estimades i ha d'incorporar una proporció important d'herbívors, avui només representats pel bestiar (Serrano-Zulueta et al., 2023). Per tant, revisar la dinàmica entre els ecosistemes oberts (Bond, 2019) i els forestals sembla crític.

Disposar de millor informació sobre el passat forestal en continents fortament antropitzats és clau per a una gestió forestal sostenible. Per tant, trobar punts de referència per valorar l'estat d'un ecosistema, primari o secundari, pot



Alzinar que havia estat destinat a carboneig (Roca del Migdia, Vilanova de Sau).

ser crític per enriquir el debat emergent entre ecosistemes oberts o boscos tancats com a ecosistemes antics i madurs. La història ecològica recent es podria desxifrar no únicament amb imatges aèries i entrevistes a boscaters i pagesos d'edat avançada, sinó també amb registres del sòl. La informació històrica llunyana no està geolocalitzada, i els inventaris d'usos i bestiar són limitats. En aquest estudi ens hem preguntat si el microbioma del sòl —el conjunt de microorganismes que viuen en el sòl, incloent-hi els bacteris, els fongs, els protozous i els virus— ens pot ajudar a salvar les limitacions temporals dels altres registres i desxifrar la vegetació històrica en un període temporal més gran.

L'objectiu de l'estudi fou el d'explorar si la microbiota dels sòls actuals pot ser un bon indicador dels processos ecològics històrics afeblits o perduts, en àrees on no disposem de

registres passats i, per tant, de l'estructura de la vegetació històrica o prèvia a l'antropocè. Concretament, la nostra hipòtesi fou que el procés d'interacció pastura-herbívor, és a dir, l'herbivorisme, podria constituir comunitats microbianes i fúngiques diferenciades entre els ecosistemes oberts i els forestals, i que malgrat la debilitació dels cicles funcionals en quedés un registre al sòl.

El microbioma del sòl pot reflectir el seu entorn local (Seabloom et al., 2023), i la metagenòmica pot ajudar-nos a desentranyar informació desconeguda (Shrinivas et al., 2019). L'estructura i la composició del microbioma en etapes primerenques de la successió es mantenen durant dècades (Jakovac et al., 2021), la qual cosa suggereix que la metagenòmica podria tenir un paper important en el desxiframent dels processos de successió. Els canvis en el microbioma del sòl al llarg de la successió secundària poden estar relacionats amb la presència d'un estoc de microorganismes de l'estadi original que es mantenen en un estat de latència després de la pertorbació (Kearns, Shade, 2018). Per tant, als boscos secundaris es podrien trobar microorganismes propis dels usos anteriors que podrien ser usats com a marcadors per estimar l'ús d'aquells sòls en èpoques històriques.

L'estudi del microbioma en l'àmbit genòmic (metagenòmica) permet caracteritzar la composició de les comunitats microbianes, basant-se en la seqüència genòmica d'aquests microorganismes, i identificar quins són i les seves abundàncies relatives en mostres ambientals. També permet identificar les possibles funcionalitats d'aquestes poblacions microbianes en les mostres. Aquesta caracterització es fa de manera massiva, genèrica i indiscriminada, sense necessitat de saber prèviament quins organismes hi ha a les mostres (Handelsman, 2004; Ranjan et al., 2016). En ecosistemes edàfics, els quals contenen una diversitat microbiana molt elevada,

les eines metagenòmiques són de gran valor: ofereixen la possibilitat de caracteritzar aquestes poblacions encara que no en sapiguem la composició (Delgado-Baquerizo et al., 2018; Van Der Heijden et al., 2008). Els estudis metagenòmics es poden fer mitjançant la seqüenciació no selectiva de l'ADN existent en una mostra en el que s'anomena *shotgun metagenomic sequencing*. Amb aquesta aproximació, se seqüencien totes les molècules d'ADN en una mostra donada, en funció de la seva abundància relativa. Una altra manera de caracteritzar el metagenoma d'una mostra és mitjançant el que es coneix com a *targeted amplicon sequencing*, que es basa en la seqüenciació d'una regió determinada de l'ADN de la comunitat present, i que normalment se centra en l'anàlisi de regions del genoma específiques dels gens RNA ribosomal 16S per estudiar les poblacions bacterianes i ITS (*internally transcribed spacer region*) present en tots els organismes, enfocat a estudiar les comunitats fúngiques. L'ús de *shotgun sequencing* permet refinar amb més detall la identificació i classificació dels microorganismes, i arriba fins i tot a les espècies o serotips d'una mostra, perquè es disposa de tota la seqüència genòmica d'aquests microorganismes; si més no, els més abundants. Per contra, el *targeted sequencing* és suficientment acurat fins al gènere i té, per tant, menys resolució. A més, el *shotgun sequencing* pot identificar els gens presents en el conjunt de la població microbiana i, així, ajuda a inferir millor que el *targeted sequencing* la funcionalitat d'aquell microbioma. No obstant això, el *shotgun sequencing* té un cost molt més elevat que el *targeted sequencing* i no és estrictament necessari per aconseguir una caracterització prou informativa de les poblacions bacterianes i fúngiques d'una mostra.

El primer pas consisteix a destriar les partícules fines del sòl per extreure'n l'ADN. Els protocols que es fan servir requereixen trencar les cèl·lules presents a la mostra perquè alli-



Ramat oví de raça segurenya pasturant un alzinar. Els herbívors processen la matèria vegetal i defequen matèria orgànica rica en nutrients i microorganismes.

berin el seu ADN, per després recuperar-lo eliminant altres partícules, sobretot les inhibidores d'activitat enzimàtica, tals com les substàncies húmiques i polifenols, implicades a inhibir les reaccions necessàries per seqüenciar les mostres tal com descriu Wydro (2022). Un cop extret l'ADN genòmic de les mostres, se'n verifica la qualitat per espectrofotometria (Nanodrop) o fluorimetria (QUbit). A continuació es fa el procés de seqüenciació. Posteriorment, cal una sèrie d'anàlisis bioinformàtiques per analitzar la informació. Primer cal fer un filtratge per eliminar les seqüències, de forma total o parcial, amb informació no relativa als genomes microbians, o amb poca qualitat de seqüència. Després s'agrupen les seqüències en funció de la similitud de la seqüència en unitats taxonòmiques (OTU, *operational taxonomic units*; típicament amb percentatges de similitud superiors al 97%) o ASV (*amplicon sequence variant*; amb similituds del 100%). Les unitats taxonòmiques ja es poden contrastar amb bases

de dades que contenen les seqüències de tots els microorganismes presents a la base i permeten relacionar aquestes seqüències (i les seves abundàncies) amb microorganismes específics. Segons *targeted amplicon sequencing*: per a l'anàlisi del gen 16S bacterià, les bases de dades més emprades al món són la de SILVA (Quast et al., 2013), la de Greengenes (DeSantis et al., 2006) i l'RDP (Maidak et al., 1996). Per al gen ITS eucariota, la base de dades més emprada és UNITE (Abarenkov et al., 2023). Un cop s'han identificat tots els OTU o ASV a tots els nivells taxonòmics, es poden fer anàlisis de composició poblacional, tals com les abundàncies relatives de cada unitat o organisme, la diversitat composicional dins de mostra i entre mostres i les comparatives entre mostres i grups de mostres per identificar marcadors associats a un grup de mostres pel fet de tenir unes abundàncies significativament diferents dels altres grups de mostres. Breument, analitzar-ne la riquesa i diversitat alfa i beta.

Les dades d'abundàncies metagenòmiques són el que es coneix com a composicionals (Gloor et al., 2017; Tsilimigras, Fodor, 2016). És a dir, els valors d'abundància que obtenim són proporcions relatives, no quantitats absolutes. Això implica que només seqüenciem una part del metagenoma existent a la mostra: el nombre total de seqüències generades és molt inferior al nombre de molècules d'ADN presents. Per tant, si augmenta la proporció d'un microorganisme, les proporcions dels altres han de disminuir, encara que les seves abundàncies absolutes no hagin canviat. Així, cal tenir en compte que les dades que obtenim són relatives per no induir a errors d'interpretació. A més, les dades metagenòmiques també tenen un elevat percentatge de zeros en les abundàncies relatives (*sparse* o *zero-inflated*, en anglès). Alguns d'aquests zeros són reals —el microorganisme és absent a la mostra—, però d'altres no són certs, i són causats per una abundància relativa tan baixa que no permet detectar

cap seqüència d'aquell organisme. Per tot això, cal emprar mètodes estadístics específics per a dades composicionals i *zero-inflated* per evitar errors d'interpretació.

Per tant, la comparació dels microbiomes edàfics de pastures actives, àrees aforestades i sòls madurs ofereix l'oportunitat d'identificar les diferències en les seves comunitats microbianes i també la identificació de biomarcadors d'aquests sòls. La determinació de biomarcadors pot resultar útil per desxifrar la història ecològica del lloc, la presa de decisions en la gestió del territori i l'adaptació a la crisi global del foc i l'escalfament global.

2. MATERIALS I MÈTODES

Selecció de punts de mostratge

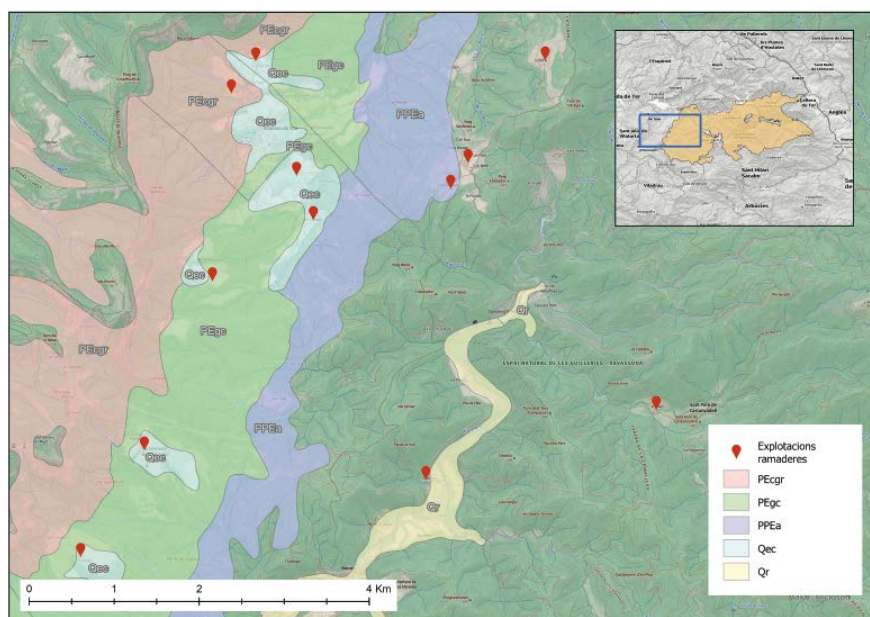
Substrat

Per seleccionar les localitats per prendre mostres de sòl, es va encreuar informació de paràmetres biofísics i antròpics. Primerament, s'estudià la distribució espacial dels substrats geològics (figura 1), atès que la litologia és un factor edafo-genètic i podria condicionar les característiques fisicoquí-miques de les mostres. Algunes argiles faciliten la preser-vació d'ADN antic, per la qual cosa les possibles diferències derivades de l'ontogènia —descripció de l'origen— van ser tingudes en compte. Cada cop és més comú que els estudis d'ADN-seda incloguin algunes anàlisis de la mineralogia i la geoquímica del jaciment (Evans et al., 2025). A les Guillerries es varen diferenciar dues zones: 1) A l'oest, un substrat domi-nat per gresos, conglomerats i argiles, amb més potencial de materials calcaris i argilosos. 2) A la resta de l'àrea d'estudi, la granodiorita fou la roca mare dominant; un material silícic àcid, amb un contingut de SiO_2 superior al 55 %.

Es digitalitzaren les capes a partir del mapa geològic de Ca-talunya (ICC, 2024) per encreuar-les amb d'altres, i es dife-renciaren dues zones de mostratge. La primera a l'entorn de

Vilanova de Sau (figura 1), sobre PEcgr (conglomerats i gresos vermells, formació de Romegats, lutecià inferior), PEgc (gresos i conglomerats, cuisià) i PPEa (lutites roges, bretxes i conglomerats, formació de Vilanova de Sau, cuisià-thane-tià). Els mostrejos en bosc i aforestació se situaren a PEcgr i PEgc. Els mostrejos en pastura se situaren a PEgc i PPEa. La segona zona, a l'entorn de Sant Hilari Sacalm, sobre Ggd (roques intrusives varisques, granodiorites biotítics).

Figura 1. Encreuament de la capa del substrat amb les explotacions ramaderes actives.



Sector de Vilanova de Sau no granodiorític. PEcgr: conglomerats i gresos vermells, formació de Romegats, lutecià inferior; PEgc: gresos i conglomerats, cuisià; PPEa: lutites roges, bretxes i conglomerats, formació de Vilanova de Sau; Ggd: roques intrusives varisques, granodiorites biotítics; Qr: Quaternari. Bases cartogràfiques de l'Institut Cartogràfic i Geològic de Catalunya (2024) modificades pels autors de l'obra.

Cobertes del sòl i vegetació

Posteriorment, s'estudiaren les tipologies de vegetació actual i històrica. S'usaren els mapes de la cartografia dels hàbitats de Catalunya a escala 1:50.000 (versió 2), actualitzada el 2012 sobre les ortofotoimatges de l'ICGC de l'any 2018 (Aymerich et al., 2014; ICGC, 2018), i l'actualització de cobertes del sòl del 2022. La classificació i l'agrupació jeràrquica de les unitats de la llegenda seguí el model de la Llista dels Hàbitats CORINE de Catalunya (Vigo et al., 2005). Les dades es contrastaren mitjançant treball de camp.

Per obtenir dades històriques de tipologies i superfícies, s'usaren les imatges del vol del 1945 i el mapa de cobertes del sòl del 1956 de la província de Barcelona (CREAF, 2014). En les àrees de la província de Girona on no es disposava d'aquesta cartografia, s'elaborà la cartografia de cobertes per digitalització en pantalla de l'ortofotografia del 1956 (figura 2), d'acord amb la metodologia del CREAL. Es digitalitzaren a partir d'una capa d'origen WMS en format vectorial. A partir del mapa de cobertes es determinà l'evolució i distribució de les principals cobertes (forestal, agrícola). Per determinar les àrees aforestades, es digitalitzaren els polígons interpretats com a prats i pastures el 1956, excloent-ne els conreus que en l'actualitat són bosc. Per determinar intervals d'evolució intermedis entre el 1956 i l'actualitat (setanta anys), es treballà amb els mapes del 1987, i es digitalitzaren els prats i herbassars del 1993. Atès que no s'observaren diferències significatives amb l'actualitat, no es dissenyà un mostratge per a la vegetació oberta el 1993.



Punts de mostratge en boscos, pastures i pastures aforestades. Alzinar sobre conglomerats (Roca del Migdia, Vilanova de Sau). Alzinar sec sobre granodiorites (Puig ses Cadires, Sant Hilari Sacalm). Antiga parada aforestada (Torrent de la Vileta Xica, Vilanova de Sau). Pastura aforestada (Turó de la Vileta Xica, Vilanova de Sau). Pastura sobre gresos on s'observa la cala de sòl (Torrent de les Fagedes, Vilanova de Sau). Pastura sobre granodiorites en una antiga feixa (El Soler, Sant Hilari Sacalm).

el mostratge en àrees biofísiques similars segons l'històric d'abandó de l'activitat (vegeu l'apartat corresponent).

Es filtraren les explotacions ramaderes del RER pels camps «Municipi» (Folgueroles, Sant Julià de Vilatorrada, Sant Hilari Sacalm, Sant Sadurní d'Osormort, Tavèrnoles, Vilanova de Sau), «Sistema productiu» (extensiu i semiextensiu), «Tipus d'explotació» (producció i reproducció), excloent-ne «Subexplotació» (pràctica eqüestre i oci no comercial), «Espècie» (cabrum, boví, èquid, oví), i excloent-ne «Classificació zootècnica» (reproducció per a sella). Posteriorment, s'excloueren les explotacions amb un nombre de caps de bestiar inferior a 10 UBMajor i 20 UBMenor; és a dir, explotacions d'autoconsum o sense incidència en el territori. Les explotacions resultants es georeferenciaren i s'encreuaren amb els mapes de cobertes i geològic (figura 1).

Al sector granodiorític, l'àmbit del pla de les Arenes sols oferí tres explotacions: una de boví i dues d'oví. Al sector no granodiorític, l'àmbit dels plans de les Caritats, de les Eugues i de Morgadès presentà dotze explotacions, que arribarien a quinze si s'hagués inclòs el seu límit SE amb la riera Major.

Història ecològica i usos passats de la terra

Per recollir informació de la història ecològica del lloc, es feren enquestes semiestructurades a ramaders extensius i boscaters. La llista de contactes inicial, proporcionada per administracions i experts, va ser ampliada en bola de neu mitjançant la xarxa de contactes entre informants. S'entrevistaren informants als sectors del pla de les Arenes, Solterra, Vilanova de Sau i Sant Sadurní d'Osormort. Els blocs de preguntes s'estructuraren en relació amb els usos passats de la ramaderia extensiva, els tipus d'herbívors, les seves densi-

tats i les dates d'abandó de l'activitat a les zones aforestades. També es buscà informació sobre l'herbivorisme passat a les àrees de bosc, malgrat que l'ús predominant fou el carboneig i l'extracció de fusta. Finalment, es recopilà informació sobre el nombre i moviments del bestiar actual, a fi de determinar les càrregues ramaderes aproximades per als llocs de mostreig.

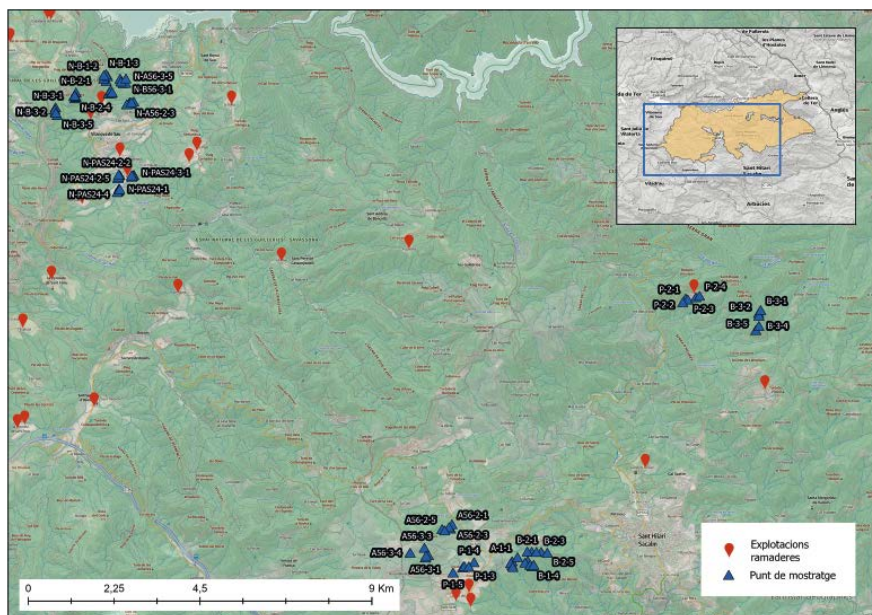
Mostratge de sòl

Es varen recollir mostres de sòls amb tres usos funcionals dins de l'àrea geogràfica de les Guillerries: boscos considerats poc explotats, amb nul·la o càrrega herbívora o herbivorisme residual silvestre, pastures que encara romanen en actiu i pastures abandonades entre els anys 1950 i 1965. Aquestes tres tipologies de sòl es varen mostrejar en una zona granítica i una zona no granítica de les Guillerries.

S'efectuà un mostreig de sòl superficial en els primers 15 cm de profunditat, havent-ne retirat prèviament la virosta. L'horitzó A és on hi ha més activitat de bioedàfon. Per a cada cas de pastura, aforestació i bosc s'establiren tres llocs de mostreig. En cadascuna d'aquestes àrees es recolliren cinc mostres de sòl compostes (figura 3). Es recolliren aleatòriament cinc submostres de sòl en diferents punts escollits a l'atzar, si bé sempre mantenint característiques similars de vegetació, pendent i orientació. Les coordenades de localització s'indiquen a la taula S1 (annex I). Els sòls es varen mostrejar en diferents dies per evitar l'efecte per lots o *batch*. Aquestes rèpliques s'homogeneïtzaren en una de sola. El sòl es va assecar a temperatura ambient de laboratori, se n'eliminaren les partícules grolleres, el material vegetal (arrels) i el pedruscall i es garbellà a 0,2 mm. Finalment, cada mostra es congelà a -20 °C fins a l'extracció d'ADN. Una alíquota

sense congelar es va enviar a laboratori per caracteritzar-ne la textura, pH, conductivitat, matèria orgànica i nutrients. Durant tot el procés des de la recol·lecció a la tramesa, les mostres es varen manipular amb guants de làtex per evitar contaminació d'ADN.

Figura 3. Punts de mostratge i explotacions ramaderes vinculades.



Extracció d'ADN, preparació de llibreries i seqüenciació

L'extracció d'ADN de les mostres de sòl es va fer amb el DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (Qiagen, San Diego, CA, EUA) / PowerSoil® DNA Isolation Kit (Mobio) seguint les instruccions del fabricant.

La preparació de les llibreries de seqüenciació de la regió 16S bacteriana i ITS fúngica es va fer a partir de 30 nanograms (ng) d'ADN, els quals es varen sotmetre a amplificació mitjançant PCR (reacció en cadena per la polimerasa) de les



Mostratge de sòl superficial (El Soler, Sant Hilari Sacalm. Les Fagedes, Vilanova de Sau).

regions: (i) V4 del gen 16S ribosòmic bacterià; (ii) ITS2 (*internal transcribed spacer 2*) fúngica.

Tots els productes de PCR es varen purificar amb els reactius Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter Life Sciences) i es varen dissoldre en tampó d'elució. Els primers usats per amplificar la regió V4 del gen ribosòmic 16S van ser: 16S: 515F: 5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3'; 806R: 5'-GGACTAC-HVGGGTWTCTAAT-3' (Parada et al., 2016). Aquests primers amplifiquen una regió d'aproximadament 290 parells de bases nucleotídiques (pb), depenent del grup taxonòmic. Els primers per amplificar la regió ITS2 del gen ITS fúngic van ser: ITS3: 5'-GCATCGATGAAGAACGCAGC-3'; ITS4: 5'-TCC-TCCGCTTATTGATATGC-3' (Gardes, Bruns, 1993). Aquests primers amplifiquen una regió de 250-450 pb en funció del grup taxonòmic.

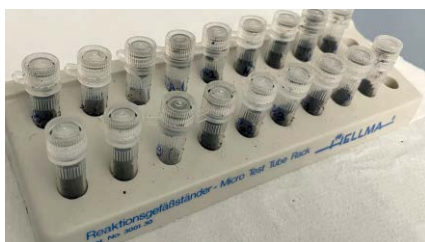
La mida i la concentració d'ADN de les llibreries de seqüenciació es van mesurar amb un aparell Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies). Només les llibreries que varen superar el llindar mínim de quantitat d'ADN es varen seqüenciar en un seqüenciador DNB (MGI Tech Co., Ltd., Xina)



Registre de mostres.



Assecatge a laboratori de mostres de sòl garbellat per a la seva anàlisi posterior.



Mostres preparades per a l'extracció d'ADN.

per generar seqüències aparellades (*paired-end reads*) de 300 nucleòtids.

Anàlisis bioinformàtiques

Filtratge de les dades de seqüenciació

El procés de filtratge va incloure eliminar: 1) regions amb baixa qualitat de seqüència: aquelles parts de les lectures de seqüència generades (*sequencing reads*) amb valors mitjans de qualitat Phred inferiors a 20, en finestres lliscants (*sliding windows*) de 25 pb. També es van eliminar els *reads* amb una longitud inferior al 75 % de la seva llargària original després del truncament; 2) seqüències amb adaptador: *reads* contaminats amb seqüències d'adaptadors (15 pb encavallades entre *reads* i l'adaptador amb un màxim de 3 pb de desajust permès); 3) bases ambigües: *reads* que contenen bases N; 4)

seqüències de baixa complexitat: per defecte, aquelles que contenen 10 pb consecutives iguals.

Per garantir l'eliminació de les seqüències *barcode* de les llibreries de *pool*, les seqüències es van assignar a les mostres corresponents mitjançant alineacions (sense desajust de bases) contra les seqüències *barcode*.

El filtratge es va fer amb els programes informàtics: i) iTools Fqtools fqcheck v.0.25 (Droop, 2016); ii) cutadapt v.2.6 (Martin, 2011); iii) readfq v1.0.

Connexió de seqüències en tags: per als *paired-end reads* que presentaven un encavallament mínim de 15 pb i un índex de desajustament (*mismatching ratio*) $\leq 0,1$, es va obtenir la seqüència consens (tag) amb l'eina bioinformàtica FLASH (Fast Length Adjustment of Short reads) v1.2.11 (Magoč, Salzberg, 2011).

Agrupació de seqüències en OTU

Les seqüències consens es varen agrupar segons una similitud de seqüència superior al 97% mitjançant UPARSE (Edgar, 2013). Les seqüències quimèriques es varen eliminar de l'anàlisi amb UCHIME v4.2.40 (Edgar et al., 2011). Les taules d'abundància de les unitats taxonòmiques operatives (OTU) per a cada mostra es van generar amb l'eina USEARCH v7.0.1090 (Edgar, 2010).

Anotació taxonòmica i abundància dels OTU

La seqüència representativa de cada OTU es va alinear contra la base de dades taxonòmiques de seqüències corresponents amb l'eina bioinformàtica RDP Classifier v2.2 (Wang, Cole, 2024), usant un llindar mínim d'identitat de seqüència del 60%.

Es varen emprar les bases de dades taxonòmiques següents: a) RDP - Release 19 (2023-07-20) per a bacteris (Wang, Cole, 2024); b) UNITE - Versió 10 (2024-04-04) per a fongs (Kõljalg et al., 2005).

La composició i abundància de cada microorganisme es va determinar a partir de les seqüències consens amb la funció USEARCH GLOBAL de l'eina USEARCH (Edgar, 2017). La classificació taxonòmica inclogué sis nivells: fílum, classe, ordre, família, gènere i espècie. L'abundància s'expressà en el nombre de seqüències consens que es mapen en aquell OTU.

Les taxonomies pertanyents a arqueus no es van tenir en compte i es van eliminar en les anàlisis posteriors. Aquest treball se centra, doncs, en la caracterització de bacteris i fongs.

Anàlisi de diversitat

Anàlisi de diversitat alfa

Es va avaluar la diversitat d'espècies (riquesa i uniformitat) en la composició microbiana dins de cada mostra o grup de mostres amb el programari Mothur v1.31.2 (Schloss et al., 2009). La riquesa es va mesurar mitjançant el nombre d'espècies observades i amb les estimacions de diversitat, inferint també els tàxons presents, però no observats per la seva baixa abundància (paràmetres chao1 i ACE). També es van mesurar els índexs de Shannon i Simpson, que combinen la riquesa amb la distribució relativa d'abundàncies. L'entropia de Shannon (H) i la diversitat de Simpson (I/D) són els índexs més usats (Pielou, 1975). Aplicarem l'índex de Shannon, atès que el de Simpson atorga més pes a les espècies abundants subestimant les rares i, per tant, podria reforçar l'extrema dominància de poques espècies en alguna mostra.

Finalment, també es va calcular l'índex de cobertura (*Good's coverage index*), que mesura la proporció de tàxons presents en la mostra que s'ha identificat en la seqüenciació. Aquests paràmetres es descriuen a la taula 1.

Taula 1. Resum dels paràmetres usats per mesurar la diversitat alfa de les mostres.

Paràmetre	Què mesura
Sobs (<i>observed species</i>)	Recompte brut de tàxons observats
Chao	Riquesa estimada, incloent-hi tàxons poc abundants
ACE	Riquesa estimada basada en tàxons poc abundants
Shannon	Riquesa i uniformitat. Com més alt el valor, més diversitat en la comunitat
Simpson	Dominància: relació inversa amb uniformitat
Coverage <i>good's estimate</i>	<i>Sequencing completeness</i> . Com més alt el valor, més cobriment de mostreig

Anàlisi de diversitat beta

Es va usar la metodologia NMDS (*non-metric multidimensional scaling*) per reduir la dimensionalitat de les dades i observar la clusterització de les mostres en funció de la composició. Les dades bacterianes i fúngiques es van analitzar per separat.

La diversitat beta mesura la diferència en la composició microbiana entre mostres o grups de mostres. Primer es varen normalitzar les abundàncies microbianes en funció de la profunditat de seqüenciació. La diversitat beta es va calcular sobre les abundàncies normalitzades amb el programari QIIME v1.80 (Caporaso et al., 2010).

La diversitat beta entre grups es mostra en figures que combinen UPGMA (*unweighted pair group method with arithmetic mean*), que agrupa les mostres de manera jeràrquica

en branques en funció de la seva similitud, i el *barplot* de l'abundància de tàxons.

Es van mesurar els valors de Bray-Curtis i UniFrac ponderat (*weighted*) i no ponderat (*unweighted*). Les tres mesures tenen en compte paràmetres diferents de la composició microbiana i, per tant, és bo d'explorar-les totes. La mesura de dissemblança de Bray-Curtis es basa exclusivament en les abundàncies relatives de les OTU i està fortament influïda per les OTU més abundants. L'UniFrac ponderat combina informació sobre les distàncies evolutives i les abundàncies relatives dels tàxons, siguin abundants o rares, i, per tant, també avalua si hi ha diferències evolutives. L'UniFrac no ponderat es basa en la presència/absència de tàxons i les seves distàncies filogenètiques, cosa que permet veure l'efecte dels tàxons amb abundàncies rares, les quals no es detecten en els dos tests anteriors.

Anàlisi de similitud metagenòmica entre les mostres

Per obtenir una mesura objectiva i quantitativa de la fiabilitat de l'agrupament de les mostres en els grups d'ús del sòl corresponents, es van emprar dos tests estadístics no paramètrics. Un fou una anàlisi de permutació MRPP (*multiple response permutation procedure*), que mesura si la distància en la composició (microbiana) entre grups és significativa (McCune, 2006). Aquesta diferència pot ser de localització (diferències en la mitjana) o de dispersió (diferències en la distància dins del grup) (Warton et al., 2012). El MRPP es basa en una matriu de distàncies i empra mesures de distància de Bray-Curtis per avaluar si la diferència entre grups és significativament superior a la diferència dins dels grups. L'anàlisi genera un valor A que indica la diferència entre grups, i duu a terme un test de permutació per avaluar la significació estadística d'aquesta diferència.

Detecció de biomarcadors diferencials

Per identificar marcadors metagenòmics per a cada ús del sòl, i en particular les antigues pastures actualment aforestades, es va emprar l'eina LEfSe (*linear discriminant analysis effect size*) (Segata et al., 2011). L'algoritme LEfSe està dissenyat per trobar quins elements del microbioma ajuden millor a separar els grups de mostres i, per tant, es podrien considerar com a marcadors de grup. L'eina usa primer el test no paramètric de Kruskal-Wallis sum-rank per detectar diferències significatives estadísticament. Seguidament, empra el test de Wilcoxon rank-sum per avaluar la consistència biològica d'aquestes diferències. Finalment, l'efecte del possible marcador és avaluat mitjançant una anàlisi discriminant lineal (LDA). En resum, LEfSe permet identificar quins microorganismes, gens o funcions gèniques diferencien millor dos grups.

Per identificar possibles marcadors capaços de detectar la funció herbívora en el passat per a terrenys actualment ocupats per boscos (pastures abandonades), es van buscar OTU que complissin una de les condicions següents: (i) presència en pastures actives i abandonades i absència en boscos, o (ii) presència en boscos i absència en pastures actives i abandonades.

Es va fer un cribratge inicial per seleccionar únicament els OTU que: 1) mostraven una tendència creixent o decreixent consistent quan es comparaven les abundàncies mitjanes entre pastura activa, aforestació i bosc; 2) tenien una suma d'abundàncies mitjanes igual o superior a deu entre tots tres grups; 3) presentaven una diferència absoluta entre abandó i bosc igual o superior a dos.

Amb aquests criteris, es van seleccionar 611 OTU bacterians i 257 OTU fúngics. Se'n van considerar possibles marcadors de pastura els OTU amb abundància superior a 0, pel cap

baix, a cinc mostres de pastura activa i cinc d'abandó, i amb abundància 0 a un mínim de quatre mostres de bosc. A l'inrevés, es van considerar com a marcadors de bosc aquells OTU amb abundància superior a 0 en un mínim de tres de les cinc mostres de bosc, i abundància 0 en almenys quatre mostres tant de pastura activa com d'abandó.

3.

RESULTATS

Caracterització de sòls

Vàrem prendre mostres de sòls per determinar-ne les característiques fisicoquímiques. Les partícules d'argila-llim s'uneixen als fragments d'ADN i redueixen l'activitat enzimàtica (especialment les nucleases d'ADN), i alenteixen la degradació i fragmentació de l'ADN (Evans et al., 2025). Les argiles esmèctiques, que són argiles expansives, tenen una capacitat d'adsorció d'ADN molt més gran que altres tipus com la caolinita (Kjær et al., 2022). Els àcids húmics tenen una alta capacitat d'adsorció i plantegen problemes en la capacitat de descobrir l'ADN durant l'extracció (Saeki et al., 2011). La montmoril·lonita, del grup de les esmectites, és un dels tipus d'argila que millor preserva l'ADN. La seva estructura laminar presenta una alta superfície específica per interactuar amb biomolècules, i la seva càrrega negativa interactua amb les càrregues de l'ADN i en facilita l'adsorció, protegint-lo d'enzims degradants. La caolinita i la il·lita són menys efectives. A la granodiorita, l'alteració dels feldespats genera caolinita (en condicions més àcides i humides) o il·lita i esmectites (en condicions més bàsiques o amb disponibilitat de Mg/Ca). A l'àrea d'estudi, el potencial de preservació d'ADN podria ser, doncs, de moderat a baix: als sòls gra-

nodiorítics estudiats la meteorització dona illita i caolinita (Cortés, 1989).

La capacitat dels conglomerats és més variable en funció de si el ciment és silici i els clasts inclouen roques feldespàtiques. Els conglomerats vermells de Romegats inclouen granitoides, quars i altres roques metamòrfiques, amb matriu argilosa i ciment de calcita. Amb més probabilitat de produir caolinita i molt poca esmectita, el potencial de preservació seria baix. En el cas de les lutites roges, bretxes i conglomerats (formació de Vilanova de Sau), solen contenir illita i caolinita i, en menys proporció, esmectita. Per tot això, el potencial a tota l'àrea d'estudi seria baix (o moderat) i, a priori, *sense diferències significatives entre els dos tipus principals de substrat.*

Als terrenys no granítics, les mostres de sòls en pastura presenten un pH de neutre a lleugerament àcid, una conductivitat elèctrica molt baixa (no limitant per a la producció vegetal) i un contingut de matèria orgànica mitjà, mentre que el carbonat càlcic és inapreciable. El contingut en nutrients és baix excepte per al magnesi i el sodi, que estan en valors normals (taula 2).

Als sòls forestals, també de neutres a lleugerament àcids, la matèria orgànica és molt alta. El calci presenta valors alts i el potassi i el magnesi els ofereixen normals. El contingut en bor és més alt que per a les pastures i assoleix nivells normals.

A les antigues àrees de pastura, ara aforestades (estat d'abandó), les característiques són similars als sòls forestals, per bé que en una mostra el potassi i el bor se situen a nivells baixos i no pas mitjans. El pH és més variable, tot i que el podem considerar neutre. Si bé en aquest sentit aquesta mostra s'assemblaria més a les àrees actualment pasturades, el contingut en matèria orgànica és el propi del bosc, i en conjunt

són sòls semblants als forestals. Els valors de potassi, calci i magnesi són normals o mitjans. El contingut en bor està entre els valors dels forestals i dels pasturats.

Taula 2. Valors mitjans dels paràmetres del sòl per categoria.

Referència	Bor (B) mg/ kg s. m. s.	Calci (Ca) mg/kg	Fòsfor (P) mg/ kg	Magnesi (Mg) mg/kg	Nitrogen níttric (N) mg/kg	Potassi (K) mg/kg	Sodi (Na) mg/kg	Carboni (C) orgànic % s. m. s.
No granític	0,39	2.860,33	4,83	187,19	2,00	133,23	37,90	2,72
Granític	0,23	1.944,58	8,06	257,06	2,98	173,07	35,42	3,57
Pastura	0,18	1.596,44	6,26	176,76	2,67	135,25	28,26	1,91
Aforestació	0,34	3.387,97	5,31	233,70	1,73	146,49	45,08	3,68
Bosc	0,45	2.425,33	7,31	255,51	3,13	176,72	38,62	4,33

Referència	Conductivitat elèctrica 25 °C dS/m	Matèria orgànica oxidable %	pH	Arena total (0,05- 2 mm) %	Llim total (0,002-0,05 mm) %	Argila < 0,002 mm %	Textura dominant	Relació calci/ magnesi
No granític	0,10	4,69	6,62	71,80	17,16	8,36	Franco- arenosa	15,29
Granític	0,07	6,16	5,62	75,89	15,18	8,61	Franco- arenosa	7,56
Pastura	0,05	3,29	6,14	72,06	16,85	10,13	Franco- arenosa	9,05
Aforestació	0,11	6,34	6,55	73,23	16,83	6,94	Franco- arenosa	14,50
Bosc	0,11	7,46	5,63	76,22	14,82	8,69	Sense dominància	9,48

Per als terrenys granítics, les mostres de sòls en pastura presenten un pH de mitjanament a lleugerament àcid. A la mostra 1, una elevada matèria orgànica i un nivell alt de fòsfor indiquen la fertilitat induïda pels herbívors. Aquesta fertilitat superior s'explica per més proximitat al corral. Els nivells de potassi, calci i magnesi són normals, però superiors en conjunt a la zona no granítica. Les altres mostres tenen un nivell de matèria orgànica mitjà i també en nutrients; el fòsfor baixa substancialment, però amb una relació inversa amb el bor, que augmenta a la mostra 2 tot i mantenir-se a nivells baixos. El contingut en fòsfor a les pastures no granítiques es podria atribuir a l'extracció dels conreus anteriors a l'època actual

de pastura, i és el més baix a la mostra 3, menys freqüentada pel bestiar.

A bosc, la matèria orgànica és molt alta i, com als boscos no granítics, també augmenta el magnesi, el potassi i el bor. Tanmateix, el pH és fortament àcid.

A les mostres en estat d'abandó de la pastura s'hi veu novament un estat intermedi, amb pH lleugerament àcids, matèria orgànica molt alta i uns nivells de magnesi, potassi, calci i bor entre els dos altres estats.

A partir del test Kruskal-Wallis s'observen diferències significatives entre sòls granítics i no granítics per al pH ($P=0,0018$); és inferior als granítics amb un $5,62 \pm 0,504$, respecte d'un $6,62 \pm 0,620$ en no granítics. Alhora, per al contingut en magnesi ($P=0,03$), amb $187,19 \pm 60,737$ mg/kg als no granítics, respecte dels $257,06 \pm 73,302$ dels granítics. La relació calci/magnesi ($P=0,017$) i calci/potassi ($P=0,007$) és superior als no granítics.

Comparant els estats de pastura, aforestat i bosc, s'observen diferències significatives per al calci ($P=0,032$), el sodi ($P=0,039$) i la conductivitat elèctrica ($P=0,008$). Amb el test de Wilcoxon corregit per multiple testing and BH destaquen



Presa de mostres en una pastura aforestada.



Registre de codis, coordenades i altra informació per a cada mostra.

les diferències en calci entre pastura i aforestat ($P = 0,045$), en sodi per a pastura comparat amb aforestat ($P = 0,045$), en conductivitat elèctrica per a pastura amb bosc ($P = 0,013$) i per a pastura amb aforestat ($P = 0,013$).

Història ecològica

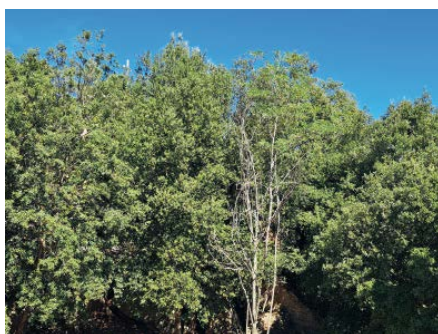
Per contextualitzar la pressió herbívora a cada àrea de mostrejat, vàrem dur a terme entrevistes semiestructurades a informants locals. Es constata com l'any 1960 fou el darrer que es va explotar el bosc per a carbó. El 1961 ja no es van fer les piles. Aquest fet dona robustesa al mostrejat de zones forestals i les aforestades a partir del 1956, i confirma l'absència d'herbivorisme fins a l'actualitat. Tradicionalment, el carbó es transportava amb animals de bast (matxos), que pasturaven el bosc. A les masies els ramats eren petits per explotar el seu tros. Pasturaven el bosc i els conreus. Les vacades, de dos a sis caps, s'usaven per a les feines agrícoles i vivien més dels camps, amb farratgeres com la trepadella. Segons les cases es tenien ovelles, cabres o vaques. Als indrets de difícil pas es tenien cabres, en ramats de vint-i-cinc a trenta caps, que vivien per tot arreu. Algunes cases ajuntaven els ramats d'ovella o vaca de vedell per transhumar a l'Alt Ter. Tanmateix, moltes cases no tenien ni oví ni cabrum. A partir del 1960 es va anar deixant de pasturar el bosc. L'evolució històrica de l'herbivorisme a les masies de l'àmbit s'exposa a la taula 3 (bestiar anterior al 1960) i la taula 4 (bestiar el 2024). Per tant, el procés d'abandó de la principal activitat forestal a les Guillerries, el carboneig, fou sobtat. La incipient i autàrquica silvopastura, associada als masos i àrees més accessibles, ràpidament fou relegada a les millors terres. Per tant, podem establir amb força claredat un procés d'aforestació del mosaic de pastures entre els anys seixanta del segle passat i l'actualitat.

Taula 3. Incidència del bestiar a l'àmbit d'estudi, segons espècies, nombre de caps i tipus de vegetació pasturada, amb anterioritat al 1960.

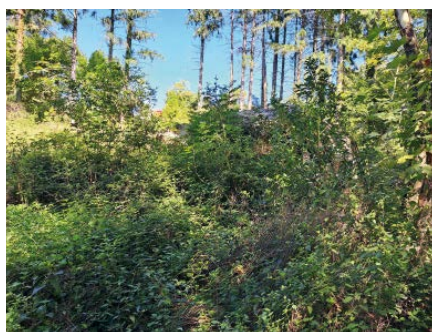
Masia o lloc	Bestiar	Vegetació pasturada	Observacions
<i>Àmbit: Vilanova de Sau</i>			
Can Burjada	Vaques	Camps; el bosc és pineda	Les vaques preferien l'alzinar a la pineda. En pinedes no hi entrava el cabrum per preservar la plançoneda
Can Serra	Sense ramat	Cap	
Can Torres	ND		
Can Valentí	3 vaques	Camps	
Crivillers	Vaques; sense ramat	Camps	Alzinar, no apte per a ovelles
Font d'en Martí	Cabrum de carn	Feixes i bosc, fins als pasturims de la Font Seca	Pasturat de 1980 a 2005 pel ramat de les Fagedes
L'Espluga	Vaques de llet	Camps i bosc	
La Font	Vaques de llet i ramat de les Fagedes	Vaques estabulades; oví als camps	
Les Fagedes	15 vaques i 2 bous (<1950); 80 ovins i 15 vaques de vedell	Camps i bosc, fins als pasturims de la Font Seca	Sense cabrum: és pineda. L'oví dormia a corral per recollir fems per a patates
Les Tallades	2 a 3 porcs extensius; vaques de vedell		Abandó el 1980
Mogadès	9 vaques	Camps, fins als pasturims de la Font Seca	
Serrabaixa	Ramat de les Fagedes	Camps (1956) i pastura de rostolls fins al 2013	
Verneda de Sant Feliu	Vaques de llet	Camps i bosc	Pastura fins a les Parades
Vila del Prat	Ramat (<1920)		
Vileta Grossa	Vaques estabulades; ramat de cabrum (<1920)	Seguint més els camps que el bosc	Bosc de la Pendissa en amunt mai pasturats
Vileta Xica	Sense ramat		Casa molt petita. La Pendissa i Vileta Xica: parades a dall

Masia o lloc	Bestiar	Vegetació pasturada	Observacions
<i>Àmbit: Pla de les Arenes</i>			
Cortals del Mig	Bous i vaques, 8 a 9 caps; sense ramat d'oví	Camps	Finca molt petita. Tot l'àmbit de les Arenes pasturat als seixanta, excepte els penjats. A les artigues (patata) es feia guaret de 4 a 5 anys amb gínestar i pastura ovina
Cortals d'en Serra	Bous, 6 a 7 caps (<1975); oví (<1990)		
Cortals de Tarrés	80 a 90 caps d'oví i 12 a 13 de boví	Al voltant del mas	El 1965 desapareixen
Mas Carbó	15 a 16 caps de boví		El 1980 desapareixen
La Fàbrega	150 a 200 caps d'oví		
Mas Joan	Oví	Se seguia tot	Entre 1960 i 1970 es va abandonar
Tortadès	Oví	Se seguia tot	
<i>Altres àmbits</i>			
Can Roureda	Boví (<1980)		
El Soler	Boví (<1985)	Camps	Pastura d'hivern per a fems
Malagarsa	Ramat (<1970)		
Montdois (Rupit)	Bestiar	Camps	Bosc sequer
Sant Andreu de Bancells	Cabrum de carn	Bosc	Bosc de difícil accés no pasturat
Querós	Bestiar	Camps i rodalia; no a muntanya	Molt muntanyós i bosc sequer
Vallclara	Oví (650 caps) i cabrum de carn	Bosc fins a Querós	

Cas d'estudi 1. Comparativa del canvi del paisatge durant els darrers 100 anys.



↑ La zona de la Roca d'en Pla (Sant Hilari Sacalm) als anys vint del segle XX mostra uns turons adevesats, amb arbres dispersos sobre un mosaic de pastura herbàcia (vessant superior) i de pastura arbustiva (vessant inferior), i un patró similar en mosaic als turons del fons paisatgístic. Un segle després, el 2025, el mateix punt visual és dins d'una castanyeda densa que forma un continu forestal amb un alzinar dens. A la foto del detall de la creu culminal del turó es pot apreciar com l'alzinar cobreix completament les grans roques. L'antic ús forestal múltiple, amb aprofitament d'herbes i llenyes, ha donat pas l'ús lúdic en terrenys aforestats per abandonó.



↑ Als anys vint del segle xx a la Petjada del Dimoni (Sant Hilari Sacalm) s'hi observa una terra de pastura a tot l'entorn, amb herba ben arranjada i pocs arbustos, fruit de l'aprofitament per part de ramats mixtes d'oví i cabrum. Els ramats, petits o mitjans, eren habituals a les cases per a l'obtenció de proteïna, llana i llet en terrenys no llaurables. S'observa la discontinuïtat entre els estrats arbustiu i arbori, gràcies al ramoneig, que impedia la propagació del foc. El mateix punt d'observació, l'any 2025, mostra un terreny forestal, amb una plantació d'avet de Douglas tallada parcialment i a la dreta una plananeda de ribera. L'estrat arbustiu dificulta l'observació de la roca.

↑ Les artigues solien ser zones de muntanya suau que s'havien fet servir com a pastura, sovint emmatada amb ginestars. Al segle XIX i principis del XX es llauraven i acollien el cultiu de la patata. A partir de mitjan segle XX, atesa la fi de l'autarquia del pa i tenint en compte que eren terres prou aptes per al cultiu, s'hi varen fer plantacions de coníferes per a producció de fusta. Les imatges són del Pla de les Arenes (Sant Hilari Sacalm).

Taula 4. Incidència del bestiar a l'àmbit d'estudi, segons espècies, nombre de caps i tipus de vegetació pasturada, l'any 2024.

Masia o lloc	Bestiar	Vegetació pasturada	Observacions
<i>Àmbit: Vilanova de Sau</i>			
Can Burjada	ND		
Can Serra	ND		
Can Torres	Boví de carn		
Can Valentí	No		
Crivillers	Boví de carn		
Font d'en Martí	No		
La Font	No		
L'Espluga	Vaques de vedell	Camps i bosc	
Les Fagedes	Oví: 400 caps (2020), 50 caps (2024)	Fins al 2020 camps i bosc; actualment sols feixes	Transtermitància a Castanyadell del 1r de juliol al 1r d'octubre
Mogadès	80 vaques de carn	Camps i rodalia	
Serrabaixa	No		
Verneda de Sant Feliu	Vaques de vedell	Camps i bosc	Pastura fins a les Parades
Vila del Prat	No		
Vileta Grossa	Vaques, 2 caps	Camps	Fins als anys 80-90 vaques de llet
Vileta Xica	No		
<i>Àmbit: Pla de les Arenes</i>			
Cortals del Mig	Oví	Pasturims, camps i vorals de bosc	Es pastura tot l'any amb càrrega mitjana
Cortals d'en Serra	Oví de llet: 150 caps	Camps i rodalia	Formatgeria
Cortals de Tarrés	ND		
Mas Carbó	Oví dels Cortals del Mig	Pasturims i camps	Es pastura tot l'any però amb càrrega molt baixa
La Fàbrega	ND		
Mas Joan	ND		
Tortadès	ND		

Masia o lloc	Bestiar	Vegetació pasturada	Observacions
<i>Altres àmbits</i>			
Can Roureda	No		
El Soler	Oví: 80 caps	Bosc i feixes	Des del 1999. Tot l'any. Pernocta a corral
Malagarsa	No		
Montdois (Rupit)	ND		
St. Andreu de Bancells	Cabrum de carn	Bosc	
Querós	Cabrum de carn	Bosc	Pastura incipient amb ramat de Vallclara
Vallclara	Oví i cabrum de carn	Bosc	

Mètriques de seqüenciació i detecció d'OTU

Per avaluar el microbioma del sòl, vàrem extraure i seqüenciar l'ADN del sòl. Per a cada mostra, es varen generar entre 45,1 i 47,8 milions de pb (parells de bases) de seqüència, de les quals entre el 94,2 % i el 99,9 % mostraren prou qualitat per ser emprades en l'anàlisi d'OTU (taula 5). Es varen obtenir una mitjana de 88.500 i 81.000 seqüències emparellades per les llibreries bacterianes i fúngiques, respectivament. D'aquestes, entre 59.000 i 75.000 seqüències bacterianes i entre 72.000 i 79.000 de fúngiques varen agrupar-se en 3.029 a 4.363 OTU bacterians i 352 a 1.031 OTU fúngics, per mostra (taula 6). En el conjunt de les mostres, es varen identificar 8.533 i 3.671 OTU bacterians i fúngics, respectivament.

Taula 5. Mètriques relatives a la seqüenciació i mapatge de les seqüències en OTU. A sota:

	Bacteris						Fongs					
Mostra	DB	NB	QB	DN	SB	SN	DB	NB	QB	DN	SB	SN
P_1	47,2	2,245	0,012	45	92.893	88.531	45,3	0,001	0,022	45	82.428	81.620
P_2	47,4	2,412	0,013	45	93.201	88.514	45,4	0,001	0,031	45	82.886	81.798
P_3	45,1	0,003	0,020	45	88.572	88.365	45,3	0,001	0,020	45	82.900	82.100
N_P_1	47,8	2,824	0,015	45	93.928	88.470	45,4	0,000	0,019	45	83.040	81.933
N_P_2	45,2	0,062	0,013	45	88.754	88.348	45,1	0,002	0,016	45	82.797	82.244
N_P_3	46,0	0,959	0,011	45	90.370	88.429	46,7	1,593	0,023	45	85.726	82.422
A_1	47,4	2,402	0,018	45	93.212	88.473	45,1	0,001	0,017	45	82.521	81.951
A_2	47,6	2,590	0,012	45	93.552	88.499	45,1	0,001	0,026	45	82.680	82.103
A_3	47,5	2,532	0,014	45	93.416	88.473	45,2	0,001	0,027	45	82.937	82.294
N_A_1	46,4	1,418	0,020	45	91.164	88.406	45,4	0,001	0,018	45	83.387	82.336
N_A_2	45,1	0,005	0,015	45	88.628	88.407	45,5	0,001	0,027	45	83.680	82.389
N_A_3	45,1	0,004	0,016	45	88.631	88.409	45,6	0,002	0,015	45	82.918	81.331
B_1	47,7	2,753	0,016	45	93.964	88.582	45,1	0,001	0,014	45	81.730	81.199
B_2	47,7	2,757	0,015	45	93.928	88.560	45,3	0,002	0,014	45	81.991	81.311
B_3	47,2	2,299	0,017	45	92.960	88.535	45,1	0,004	0,012	45	81.745	81.451
N_B_1	47,7	2,725	0,011	45	93.807	88.504	45,9	0,002	0,014	45	83.330	81.467
N_B_2	45,6	0,471	0,014	45	89.429	88.391	45,1	0,000	0,016	45	82.063	81.591

Codis de mostra segons nomenclatura de la taula S1 (Annex I).

DB: nombre de megabases de seqüències generades; NB: percentatge de bases nucleotídiques ambigües; QB: percentatge de bases nucleotídiques de baixa qualitat; DN: nombre de megabases de seqüències de bona qualitat i usades per a anàlisis posteriors; SB: nombre de seqüències obtingudes; SN: nombre de seqüències de bona qualitat i usades per a anàlisis posteriors.

Taula 6. Nombre de seqüències consens i d'OTU en cada mostra.

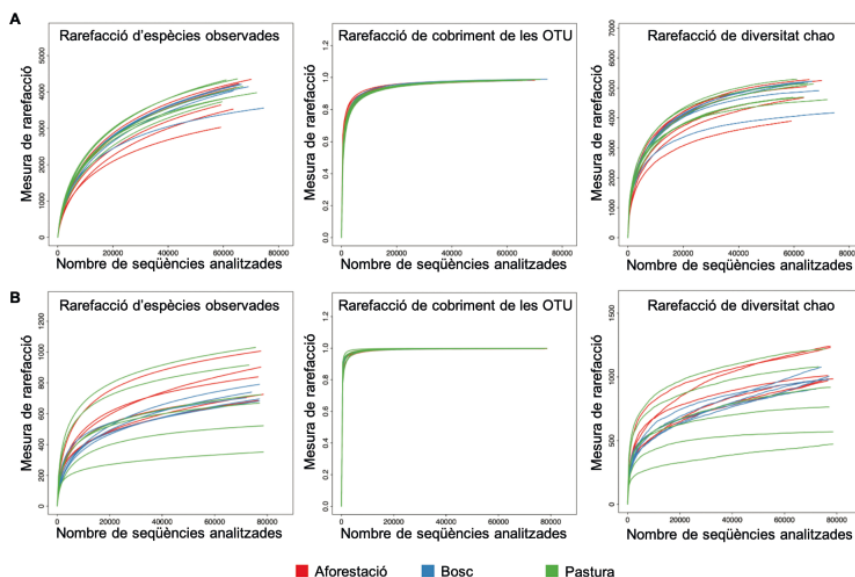
Mostra	Bacteris		Fongs	
	Nombre de seqüències consens	Nombre d'OTU	Nombre de seqüències consens	Nombre d'OTU
P_1	65.261	4.363	77.449	670
P_2	61.180	4.335	73.292	916
P_3	63.661	3.873	75.951	1.031
N_P_1	59.857	3.738	77.925	725
N_P_2	67.156	4.157	78.512	522
N_P_3	72.348	3.983	78.771	352
A_1	70.469	4.354	77.755	903
A_2	65.684	4.236	77.928	1.007
A_3	64.867	4.130	76.902	840
N_A_1	59.143	3.029	78.636	726
N_A_2	63.966	3.537	76.836	687
N_A_3	59.092	3.643	76.825	722
B_1	66.865	4.215	77.228	791
B_2	66.311	4.219	74.262	741
B_3	74.738	3.559	77.395	697
N_B_1	69.101	4.145	77.301	683
N_B_2	63.814	4.034	72.276	704

Codis de mostra segons nomenclatura de la taula S1 (Annex I).

Les corbes de rarefacció¹ mostraren un elevat grau de saturació en la detecció d'OTU, de diversitat microbiana, i encara que no s'observà saturació en el nombre d'espècies observades, s'intuïa una tendència a l'aplanament de la corba, cosa que probablement indicava que els microorganismes no detectats tenen abundàncies baixes (figura 4).

¹ Les corbes de rarefacció generalment creixen ràpidament al principi, a mesura que es troben les espècies més comunes, però acaben assolint un altiplà, que correspon a les poques espècies rares que queden per trobar quan s'analitzen mostres més grans.

Figura 4. Corbes de rarefacció per a les dades bacterianes (A) i fúngiques (B).



Composició bacteriana i fúngica dels sòls

Es va fer una anàlisi bioinformàtica per avaluar la composició del microbioma del sòl. La composició bacteriana i fúngica de les mostres de sòl de les Guilleries es troba dins dels paràmetres habituals i característics dels sòls, tal com es detalla en articles de revisió (Fierer, 2017; Delgado-Baquerizo et al., 2018; Philippot et al., 2024). Les OTU identificades corresponen a 888 i 1.681 entitats taxonòmiques úniques (no redundants) bacterianes i fúngiques, respectivament, la qual cosa ens indica més redundància bacteriana ($8.533/888 = 9,6$) respecte de la fúngica ($3.671/1.681 = 2,2$).

Tant per a bacteris com per a fongs, el nivell taxonòmic més abundant correspon al d'espècie, seguit dels de gènere, família, ordre, classe i fílum (taula 7). Val a dir que les classificacions d'espècie s'han d'interpretar amb precaució: acostu-

men a tenir un rang de confiança limitat, i en especial per als bacteris (Schoch et al., 2012).

Taula 7. Nombre no redundant de bacteris i fongs identificats per a cada nivell taxonòmic.

Nivell taxonòmic	Bacteris	Fongs
Regne	1	1
Fílum	10	4
Classe	17	11
Ordre	36	35
Família	88	85
Gènere	177	189
Espècie	559	1.356

Dels tàxons bacterians detectats, els més abundants inclouen els fílums *Acidobacteriota* (23 % del recompte d'abundàncies d'OTU microbians), *Verrucomicrobiota* (22 %), *Pseudomonadota* (21 %) i *Actinomycetota* (12 %). D'aquests, i per al conjunt de totes les mostres analitzades, entre els vint tàxons més abundants, s'inclouen majoritàriament OTU en l'àmbit del fílum *Acidobacteria*, de les classes *Spartobacteria* i *Gammaproteobacteria*, dels gèneres *Mycobacterium* i *Paraburkholderia*, i les espècies *Bradyrhizobium canariense*, *Sphingomonas limnosediminicola*, *Tepidisphaera mucosa* i *Tundrisphaera lichenicola*. Per ordre d'abundància obtenim *Spartobacteria*, *Bradyrhizobium canariense*, *Acidobacteria*, *Mycobacterium*, *Sphingomonas limnosediminicola*, *Paraburkholderia*, *Gammaproteobacteria*, *Tepidisphaera mucosa* i *Tundrisphaera lichenicola* (taula S2, annex III).

La composició fúngica està dominada per dos fílums principals: *Ascomycota* (76 %) i *Basidiomycota* (22 %), seguits de *Mortierellomycota* (0,9 %), *Mucoromycota* (0,4 %) i *Glomeromycota* (0,2 %) (annex III). Els deu OTU més abundants corresponen als nivells de gènere i espècie, i inclouen múltiples membres del gènere *Cortinarius*, dos del gènere *Oidiodendron*,

i *Cenococcum*, *Trechispora*, *Geoglossum fallax*, *Geastrum pectinatum*, *Inosperma acutofulvum* i *Piloderma bicolor*. A diferència dels bacteris, en què les abundàncies es distribueixen més uniformement entre les mostres, en els fongs, vint-i-nou dels cinquanta-quatre tàxons més abundants no es troben en cinc o més mostres. Per exemple, l'OTU fúngic més abundant en la mitjana global, OTU5 (*Cortinarius incisior*), només es troba en cinc mostres, quatre de pastura i una d'abandó (taula S2, annex III). A més, aquest OTU presenta l'abundància més elevada (35.006 reads) detectada en tot l'estudi i correspon a una mostra de pastura activa (taula S2, annex III).

En línia amb aquest resultat, el valor mitjà del coeficient de variació (CV) en l'abundància de cada OTU entre mostres fou molt superior en les dades fúngiques (CV = 7,74) que en les bacterianes (CV = 1,95). Aquest valor es defineix com la divisió de la desviació estàndard per la mitjana i és una mesura de la semblança o variabilitat de les dades entre mostres; en aquest cas, l'abundància de cada OTU entre les disset mostres de sòl.

Diversitat

Les anàlisis de diversitat alfa (dins de cada mostra) en les OTU varen exhibir valors intermedis i habituals per a aquest tipus de mostra (taules 8 i 9), tal com s'ha observat prèviament en altres estudis (Quinteros-Urquieta et al., 2024). Només es varen detectar diferències estadístiques significatives entre grups en l'índex de Simpson en les dades d'OTU bacterians (test de Kruskal-Wallis rank sum, $P = 0,019$). Amb un test de Wilcoxon rank sum s'observà que la diferència radicava en la comparació entre bosc i aforestació ($P = 0,013$; correcció de Benjamini-Hochberg per testatge múltiple). La mostra amb més valor de Simpson es va prendre en un

fondal més divers en microhàbitats que la resta, fet al qual atribuïm aquesta dominància.

A banda, es va observar més diversitat en el regne bacterià (entre 3.000 i 4.000 OTU) que en el fúngic (350-1.030 OTU), i els valors de l'índex de cobriment de Good varen ser tots superiors a 0,98 (taules 8 i 9).

Taula 8. Valors de riquesa i diversitat en OTU intramostra (alfa) en bacteris.

Mostra	Sobs	Chao1	Ace	Shannon	Simpson	Cobriment
P_1	4.363	5.156	5.201	6,99	0,0029	0,9839
P_2	4.335	5.296	5.368	6,81	0,0039	0,9809
P_3	3.873	4.698	4.713	6,71	0,0041	0,9844
N_P_1	3.738	4.687	4.780	6,30	0,0099	0,9816
N_P_2	4.157	5.138	5.196	6,65	0,0050	0,9831
N_P_3	3.983	4.613	4.621	6,72	0,0047	0,9883
A_1	4.354	5.254	5.314	6,70	0,0054	0,9840
A_2	4.236	5.279	5.405	6,49	0,0075	0,9812
A_3	4.130	5.053	5.137	6,56	0,0061	0,9825
N_A_1	3.029	3.892	3.888	6,22	0,0065	0,9851
N_A_2	3.537	4.680	4.695	5,72	0,0191	0,9820
N_A_3	3.643	4.675	4.768	6,30	0,0079	0,9809
B_1	4.215	5.223	5.304	6,74	0,0043	0,9824
B_2	4.219	5.212	5.261	6,69	0,0047	0,9826
B_3	3.559	4.172	4.152	6,69	0,0036	0,9897
N_B_1	4.145	4.911	4.990	6,68	0,0050	0,9852
N_B_2	4.034	5.175	5.245	6,54	0,0052	0,9808

Codis de mostra segons nomenclatura de la taula S1 (Annex I).

Sobs: nombre d'OUT observats; Chao1: riquesa estimada, incloent-hi tàxons poc abundants; Ace: riquesa estimada basada en tàxons poc abundants; Shannon: índex de biodiversitat basat en la riquesa i uniformitat; Simpson: índex de dominància d'espècies; Cobriment: índex de cobriment de Good.

Taula 9. Valors de riquesa i diversitat en OTU intramostra (alfa) en fongs.

Mostra	Sobs	Chao1	Ace	Shannon	Simpson	Cobriment
P_1	670	764	752	4,18	0,0531	0,9986
P_2	916	1.079	1.053	4,48	0,0614	0,9979
P_3	1.031	1.220	1.188	5,21	0,0153	0,9976
N_P_1	725	919	885	3,52	0,1698	0,9980
N_P_2	522	570	567	2,71	0,2264	0,9991
N_P_3	352	475	498	3,56	0,0886	0,9991
A_1	903	1.241	1.387	3,62	0,1433	0,9966
A_2	1.007	1.234	1.160	4,70	0,0266	0,9975
A_3	840	1.011	977	4,34	0,0368	0,9978
N_A_1	726	985	1.153	3,53	0,1155	0,9974
N_A_2	687	986	1.100	3,99	0,0581	0,9975
N_A_3	722	972	870	4,13	0,0418	0,9980
B_1	791	980	960	3,35	0,1251	0,9974
B_2	741	1.080	977	3,85	0,0486	0,9970
B_3	697	982	1.045	3,28	0,0875	0,9974
N_B_1	683	1.008	903	3,89	0,0514	0,9976
N_B_2	704	905	864	4,36	0,0386	0,9980

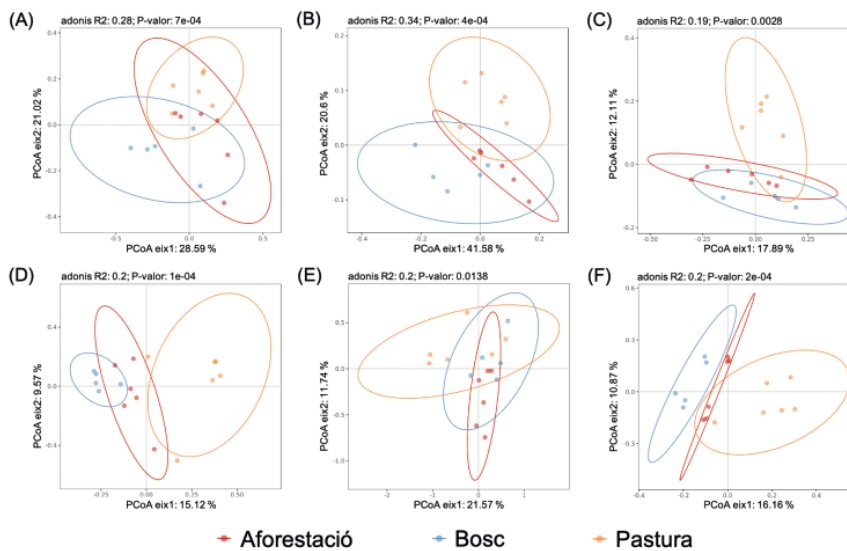
Codis de mostra segons nomenclatura de la taula S1 (Annex I).

Sobs: nombre d'OUT observats; Chao1: riquesa estimada, incloent-hi tàxons poc abundants; Ace: riquesa estimada basada en tàxons poc abundants; Shannon: índex de biodiversitat basat en la riquesa i uniformitat; Simpson: índex de dominància d'espècies; Cobriment: índex de cobriment de Good.

Per comparar les mostres de bacteris i fongs entre grups, es van fer tres anàlisis de coordenades principals (PCoA) basades en la distància beta segons Bray-Curtis, UniFrac ponderada i UniFrac no ponderada. En tots els casos, en la representació bidimensional les mostres s'agruparen segons el tipus de vegetació: pastura, bosc i aforestació. Els valors de significació van ser inferiors a $P = 0,05$ i els valors R^2 de l'Adonis —que indiquen el percentatge de variància en les dades metagenòmiques explicat per l'ús del sòl— foren moderats, entre 19 % i 34 % (figura 5). Cal destacar que les mostres de sòl

de les pastures aforestades se situen en posicions intermèdies entre les mostres de pastura activa i les de bosc, en tots els casos, encara que de forma menys evident per a UniFrac ponderat en fongs. Les pastures aforestades van mostrar més similitud als boscos que no pas a les pastures actives. També cal mencionar que les comunitats bacterianes van mostrar una dependència més clara de l'ús pastoral o forestal del sòl, possiblement perquè les comunitats fúngiques presentaven una variabilitat més elevada dins de cada grup (figura 5 i taula S2, annex III).

Figura 5. Anàlisi de coordenades principals (PCoA) basada en la distància beta segons Bray-Curtis i UniFrac ponderat i no ponderat, en bacteris i fongs



(A) distància de Bray-Curtis en bacteris; (B) distància UniFrac ponderada en bacteris; (C) distància UniFrac no ponderada en bacteris; (D) distància de Bray-Curtis en fongs; (E) distància UniFrac ponderada en fongs; (F) distància UniFrac no ponderada en fongs.

Per valorar la similitud metagenòmica entre les mostres, vàrem fer l'anàlisi MRPP, que va mostrar diferències significatives en totes les comparacions entre grups, per a bacteris i per a fongs, excepte per la comparació per bacteris entre

sòls de terrenys aforestats i bosc, que va quedar lleugerament per sobre del llindar de significació de $P=0,05$ (taula 10). Atès que ens interessava buscar signatures microbianes de l'antic ús pastoral que podrien ser usades com a marcadors històrics d'herbivorisme, vàrem fer una comparació més detallada entre les tipologies de sòl. L'objectiu fou identificar els possibles components característics i diferencials d'aquestes tipologies.

Taula 10. Valors d'MRPP per a bacteris i fongs i les tres tipologies d'ús de sòl

Regne	Grup	A	Delta observada	Delta esperada	P_val
bacteris	Aforestació-Bosc-Pastura	0,093	0,431	0,475	0,001
bacteris	Bosc-Pastura	0,104	0,434	0,484	0,007
bacteris	Aforestació-Pastura	0,058	0,427	0,453	0,010
bacteris	Aforestació-Bosc	0,059	0,434	0,461	0,065
fongs	Aforestació-Bosc-Pastura	0,045	0,867	0,908	0,001
fongs	Bosc-Pastura	0,064	0,857	0,915	0,002
fongs	Aforestació-Pastura	0,024	0,897	0,919	0,010
fongs	Aforestació-Bosc	0,018	0,846	0,861	0,024

Recerca de biomarcadors

Anàlisi de LEfSe

L'eina LEfSe (*linear discriminant analysis effect size*) s'empra habitualment per identificar possibles marcadors dels sòls, perquè determina els factors (organismes, OTU, gens, funcions microbianes) que expliquen millor les diferències entre grups tenint en compte la significança estadística i la consistència biològica. Les figures 6 i 7 mostren els tàxons amb abundàncies distintives en un dels tres grups de mostres i la mida d'aquest efecte ($\log LDA$ score) per a bacteris i fongs, respectivament.

Tant en bacteris com en fongs, els boscos van mostrar el nombre més alt de biomarcadors amb $\log LDA$ score ≥ 4 (dotze tàxons bacterians i vuit de fúngics). Les pastures actives mostraren onze biomarcadors, cinc de bacterians i sis de fúngics. Els terrenys aforestats mostraren el més petit nombre de biomarcadors, cinc, tots fúngics (figures 6 i 7). En general, els millors biomarcadors fúngics mostraren $\log LDA$ scores lleugerament més elevats que els biomarcadors bacterians.

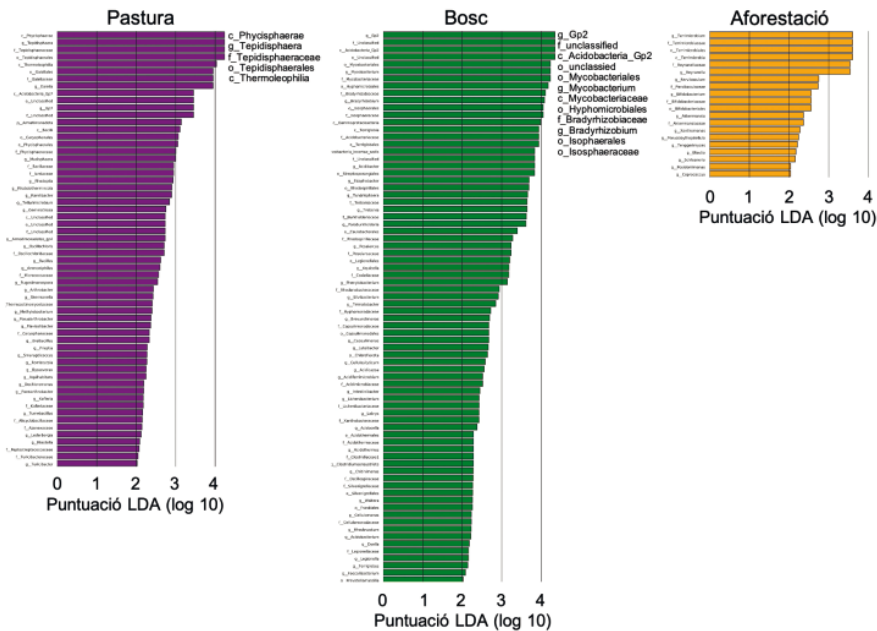
En l'anàlisi bacteriana, les pastures actives van destacar per presentar membres de la classe *Phycisphaerae* —incloent-hi l'ordre *Tepidisphaerales*, la família *Tepidisphaeraceae* i el gènere *Tepidisphaera*—, i la classe *Thermoleophilia*, com a biomarcadors amb valors d'LDA molt elevats ($\log LDA$ score ≥ 4 ; figura 6). En boscos, els tàxons amb efectes LDA més elevats ($\log LDA$ score ≥ 4) van incloure diversos nivells taxonòmics relacionats amb *Mycobacterium* (ordre, família i gènere), *Hyphomicrobiales*, *Bradyrhizobiaceae*, *Bradyrhizobium*, *Isosphaerales* i *Isosphaeraceae* (figura 6).

L'anàlisi LEfSe de la comunitat fúngica també va identificar diversos tàxons com a possibles marcadors per a cadascun dels tres usos del sòl. En les mostres de pastura activa van destacar diversos nivells taxonòmics relacionats amb *Geoglossaceae* (classe, ordre i família), i amb *Cladosporium* (ordre, família i gènere), tots amb valors de $\log LDA$ score compresos entre 4 i 5 (figura 7). Pel que fa als boscos, es van identificar com a possibles marcadors la família *Myxotrichaceae* i el gènere *Oidodendron*, l'ordre *Mytilinidales* i la família *Gloniaceae* —a què pertany—, el gènere *Cenococcum*, la família *Amanitaceae*, el gènere *Amanita* i el gènere *Piloderma*, també amb valors de $\log LDA$ score entre 4 i 5 (figura 7). Finalment, en les antigues pastures ara aforestades, els tàxons associats van incloure l'ordre *Trechisporales* i el gènere de *Trechispora*, les famílies *Hydrodontaceae* i *Hidnaceae* i el

gènere *Clitocybe*, amb valors de $\log LDA$ score entre 4 i 4,5 (figura 7).

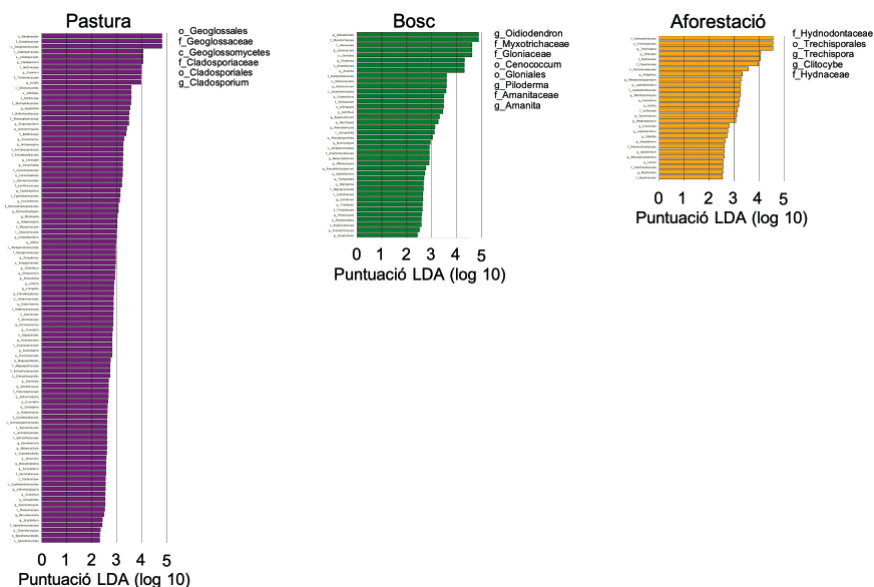
Amb els criteris de selecció descrits a la secció de materials i mètodes, es varen identificar força més possibles marcadors de bosc (vint-i-una OTU) que de pastura (quatre OTU). Aquests OTU estan descrits a la taula 11. Els més obvis per la distribució de la seva presència i abundància a les mostres són, com a marcadors de bosc, l'OTU fúngic Otu435 (*Capnoidiales_sp*) i el bacterià Otu458 (*Verrucomicrobiota*), seguits d'Otu928 (*Arachnopeziza aurelia*), Otu334 (*Acetobacteraceae*), Otu655 (*Acidimicrobiales*) i Otu1002 (*Gemmatimonadaceae*), i com a possible marcador de pastura, Otu248 (*Pleosporales*).

Figura 6. Anàlisi discriminant lineal (LDA) dels resultats LEfSe en bacteris.



A la dreta de cada histograma horitzontal, es mostren amb lletra més grossa els tàxons amb $\log_{10} LDA$ score ≥ 4 . En aforestació, cap tàxon supera el LDA de 4.

Figura 7. Linear Discriminant Analysis (LDA) dels resultats LEfSe en fongs.



A la dreta de cada histograma horitzontal, es mostren amb lletra més grossa els tàxons amb $\log_{10}$ LDA score ≥ 4 .



Registre de codis, coordenades i altra informació per a cada mostra.

Taula 11. Taxons amb potencial de ser marcadors de pastura o de bosc d'acord amb els resultats de les anàlisis. S'indica el nombre de presències detectades per tipologia mostra.

Regne/ domini	Taxó	Nivell taxonòmic	P_1	P_2	P_3	N_P_1	N_P_2
Fongs	Otu1176_Hypocreales	ordre	0	0	0	0	0
Fongs	Otu3360_Leptodontidium_sp	gènere	0	0	0	0	0
Fongs	Otu435_Capnodiales_sp	gènere	0	0	0	0	0
Fongs	Otu1542_Dothideomycetes	classe	0	0	0	0	0
Fongs	Otu912_Tremellales_sp	gènere	0	0	0	0	0
Fongs	Otu799_Ascomycota	fílum	0	0	0	0	0
Fongs	Otu1208_Cortinarius	gènere	0	0	0	0	0
Fongs	Otu928_Arachnopeziza aurelia	espècie	0	0	0	0	0
Fongs	Otu666_Helvellosebacina_sp	gènere	0	0	0	0	0
Fongs	Otu191_Russula fellea	espècie	0	0	0	0	0
Fongs	Otu248_Pleosporales	ordre	165	351	9	209	43
Bacteris	Otu1197_Bacteria	regne	3	0	1	0	0
Bacteris	Otu521_Aquicella siphonis	espècie	1	0	1	0	0
Bacteris	Otu1205_Acidibacter ferrireducens	espècie	4	0	1	0	0
Bacteris	Otu1660_Actinobacteria	classe	1	0	0	0	1
Bacteris	Otu655_Acidimicrobiales	ordre	12	0	0	0	0
Bacteris	Otu703_Acidobacteriaceae	família	2	0	0	0	0
Bacteris	Otu805_Azospirillaceae	família	0	0	0	0	0
Bacteris	Otu458_Verrucomicrobiota	fílum	0	0	0	0	0
Bacteris	Otu334_Acetobacteraceae	família	0	0	0	0	0
Bacteris	Otu1002_ Gemmatimonadaceae	família	0	0	0	0	0
Bacteris	Otu1113_Streptosporangiales	ordre	0	0	0	0	0
Bacteris	Otu1282_Aquisphaera giovannonii	espècie	1	4	7	9	11
Bacteris	Otu935_Acidobacterieris Gp16	subgrup dins de fílum	4	21	16	44	9
Bacteris	Otu869_Tepidisphaera mucosa	espècie	1	10	5	16	3

* OTU amb poca abundància en les pastures abandonades per ser considerats marcadors efectius a escala aplicada.

	N_P_3	A_1	A_2	A_3	N_A_1	N_A_2	N_A_3	B_1	B_2	B_3	N_B_1	N_B_2	Marcador de
	0	0	0	0	0	0	1	54	1	10	23	1	bosc
	0	0	0	6	0	0	0	4	32	46	14	1	bosc
	0	0	0	0	1	0	0	31	5	38	39	235	bosc
	0	0	0	0	0	0	1	13	18	28	1	0	bosc
	0	0	0	0	0	0	1	47	1	24	0	15	bosc
	0	0	0	5	0	0	0	42	0	36	4	6	bosc
	0	0	0	0	0	0	1	0	5	1	3	92	bosc
	0	50	0	0	0	0	0	22	20	13	13	0	bosc
	0	0	1	0	0	0	0	1	122	1	7	0	bosc
	0	1	0	0	0	0	0	2	731	1	4	0	bosc
	171	5	77	26	2	0	14	0	0	1	0	0	pastura
	0	0	4	4	0	0	0	19	23	2	3	4	bosc
	0	0	0	0	1	0	1	29	2	110	3	0	bosc
	0	1	0	0	0	4	0	20	4	29	0	4	bosc
	0	1	2	0	0	0	0	2	1	41	4	0	bosc
	0	10	0	3	0	0	0	35	6	32	9	8	bosc
	0	6	0	1	0	0	0	35	5	27	9	1	bosc
	0	3	0	1	0	0	0	74	55	32	1	0	bosc
	0	1	0	0	0	0	0	93	90	44	9	3	bosc
	0	0	0	0	0	0	1	101	32	32	0	30	bosc
	0	0	0	0	0	0	0	27	7	12	4	2	bosc
	0	0	0	0	0	0	0	7	9	44	1	0	bosc
	27	2	10	5	0	6	2	0	0	0	0	3	pastura
	17	2	10	9	0	2	3	0	0	0	0	3	pastura
	18	5	7	1	1	2	4	0	0	0	0	1	pastura*

4.

DISCUSSIÓ

El factor sòl

Per tal d'avaluar si les propietats fisicoquímiques del sòl podien influir en la composició del microbioma, es va dur a terme una anàlisi d'aquestes característiques. Es van detectar algunes diferències estadísticament significatives entre sòls granítics i no granítics i entre els diferents usos del sòl (taula 2), en les quals només el pH, que va mostrar diferències entre sòls granítics i no granítics ha estat prèviament associat a la composició del microbioma del sòl (Kielak et al., 2016). Aquestes diferències no es van considerar rellevants en el nostre cas: tots els sòls es trobaven dins d'un rang de pH lleugerament àcid i no presentaven un fort gradient com en estudis en què sí que va ser un factor determinant (Shen et al., 2020). Per aquest motiu, es va optar per no aplicar cap modelització estadística (com regressions lineals o logístiques) per corregir els valors metagenòmics en funció de les propietats fisicoquímiques del sòl.

Composició bacteriana i fúngica dels sòls

Un dels efectes dels grans herbívors és el de canviar els fluxos i els patrons espacials dels nutrients al sòl (Edwards et

al., 2022). El nitrogen en la femta dels remugants es troba principalment en forma orgànica com a proteïnes no digerides, biomassa microbiana i altres compostos orgànics. Només una fracció petita està en forma inorgànica. Això contrasta amb l'orina, on el nitrogen es troba sobretot com a urea o amoni, depenent de l'espècie. A diferència del nitrogen inorgànic, assimilable immediatament per les plantes, el nitrogen orgànic necessita ser mineralitzat per microorganismes del sòl per transformar-se en formes disponibles, primer com a amoni (NH_4^+) i després com a nitrat (NO_3^-). Per tant, la detecció de certs organismes es podria vincular a l'acceleració de la rotació dels nutrients provocada per l'herbivorisme. La nostra hipòtesi fou que certs organismes podrien mantenir-se com a traces d'herbivorisme històric i, així, esdevenir indicadors del passat en la vegetació actual.

Per provar la hipòtesi, vàrem fer l'anàlisi metagenòmica del sòl. Els valors de l'índex de cobriment de Good indiquen que s'han captat la majoria de tàxons i de la diversitat existent a les mostres (taules 8 i 9). La superior diversitat observada al regne bacterià (taula 8) respecte del fúngic (taula 9) era esperable i concorda amb altres estudis (Quinteros-Urquieta et al., 2024). En el taxó, entre els bacteris més abundants trobem *Acidobacteris* (annex III). Aquests organismes són molt freqüents i abundants al sòl. Alguns membres s'han associat al metabolisme dels sucres i polisacàrids com a font de carboni (Kielak et al., 2016). Força membres d'aquest fílum són acidòfils. Les dades genòmiques i metagenòmiques en prediuen diverses capacitats ecològicament rellevants, com ara la capacitat d'usar nitrats com a font de nitrogen i respondre als macronutrients i micronutrients del sòl i a l'acidesa del sòl. Tanmateix, no hi ha proves clares de la implicació dels acidobacteris en processos clau del cicle del N com la fixació del nitrogen i la nitrificació o la desnitrificació (Kielak et al., 2016).



La corona de rei (*Doronicum pardalianches*), pròpia de boscos humits, viu en alguns retalls aforestats.

Entre els bacteris més rellevants en l'amonificació, o descomposició de N orgànic a amoni (NH_4^+), es coneix l'acció dels bacteris amonificants (heteròtrofs) com *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, actinobacteris (per exemple, *Streptomyces*), *Proteus* spp. i algunes espècies de *Micrococcus*.¹ També hi participen fongs saprotròfics que descomponen material orgànic complex i alliberen compostos nitrogenats que els bacteris converteixen en amoni. En l'etapa de la nitrificació ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$), els bacteris quimioautòtrofs no descomponen matèria orgànica directament, però transformen el NH_4^+ alliberat pels bacteris amonificants en formes més mòbils i absorbibles per les plantes. Es coneix que en la nitrosació (amoni $\rightarrow$ nitrit, NO_2^-) hi intervenen *Nitrosomonas*, *Nitrosospira* o *Nitrosococcus*. En la nitratació

¹ Molts dels organismes esmentats en aquesta discussió no estan inclosos en cap taula del document: no es troben entre els més abundants. Per accedir a aquest material suplementari contacteu amb els autors.

(nitrit $\rightarrow$ nitrat, NO_3^-) s'ha esmentat *Nitrobacter*, *Nitrospira* o *Nitrococcus* (Brady, Weil, 2016; Paul, 2014; Stevenson, Cole, 1999; Sylvia et al., 2005). Alguns d'aquests bacteris també són solubilitzadors de fosfats, com *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Burkholderia*, *Streptomyces* i *Micromonospora*: converteixen el fòsfor en assimilable per les plantes (Pang et al., 2024).

Si ens centrem en la descomposició de N orgànic, com a primer pas del cicle del nitrogen provinent dels herbívors, observem com *Ureibacillus*, un ureolític aerobi (Parte et al., 2020), és present a totes les mostres de pastura i algunes d'aforestació. Les mostres sembla que evidencien un gradient de pèrdua de la funció d'aprofitament de la urea acusat: en sòls aforestats es detecta a nivells molt baixos o no es detecta. Ara bé, malgrat que no apareix mai en sòls forestals, la seva desaparició acusada en condicions d'aforestació probablement no permet detectar tendències històriques per a períodes de temps llargs.

Atès que un dels tàxons més detectats a les mostres és *Pseudomonadota*, i *Pseudomonas* és conegut per la descomposició de N orgànic, la seva possible relació amb l'herbivorisme podria fornir pistes de la història del lloc. Així, és rellevant que diversos *Pseudomonas* tenen, en el conjunt mostral, més presència en mostres de pastura i aforestades. Encara més, alguns (*Pseudomonas alcaligenes*) tenen únicament presència en mostres que no són forestals. Per tant, del conjunt dels organismes identificats en aquest gènere, un 75 % podrien indicar aquesta relació funcional. La resta de tàxons susceptibles d'amonificants (grup *Clostridium*) no mostren tendències clares en el procés d'aforestació.

D'aquests tàxons més coneguts pel seu paper en el cicle del nitrogen, en detectem actinobacteris (*Actinomycetota* o *Actinobacteria*), com ara l'Otu1660, en diverses mostres tant de

pastura com d'aforestació i boscos. Tanmateix, és a bosc on en trobem més freqüència d'aparició. Per tant, no és clara la relació amb el procés de l'herbivorisme. Això és consistent amb el fet que diverses espècies tenen capacitat fixadora de nitrogen, i *Frankia* en actinorrizes (Sellstedt, Richau, 2013) en dicotiledònies (Svistoonoff et al., 2014). Es creu que les interaccions entre les plantes hoste de *Frankia* són la principal font de noves aportacions de nitrogen en boscos temperats (Bhatti et al., 2017). Això concorda amb els nostres resultats, atès que hem trobat més presència i abundància de *Frankia* als sòls forestals (abundància = $16,8 \pm 2,6$) respecte a pastura (abundància = $6,3 \pm 0,6$) i aforestació (abundància = $2,8 \pm 0,6$). És a dir, la fixació de nitrogen hauria de ser un mecanisme independent de l'herbivorisme, probablement en medis pobres en nitrogen. De fet, aquesta adaptació a l'hàbitat terrestre és molt antiga i constitueix la major part de la biomassa bacteriana als sòls al món (Battistuzzi, Hedges, 2008). L'àmplia distribució i diversitat dels actinomicets al sòl suggereix que fan diferents funcions, incloent-hi transformar el nitrogen orgànic, si bé encara no ha estat ben investigat (Zhang et al., 2025).

Pel que fa al segon fílum més abundant (taula S1), es defineixen tres classes dins de *Verrucomicrobia*: *Opitutae* (subdivisió 4), *Spartobacteria* (subdivisió 2) i *Verrucomicrobiae* (subdivisió 1) (Cabello-Yeves et al., 2017). *Spartobacteria* és una classe de bacteris dominant en sòls de multitud de biomes al món (Bergmann et al., 2011). El conjunt dels OTU assignats a *Spartobacteria* apareixen representats en totes les mostres seguint un patró generalista. Això concorda amb sòls de diversos biomes a l'Antàrtida, Europa i Amèrica, on els membres de la classe *Spartobacteria* van dominar les comunitats verrucomicrobianes en gairebé tots els biomes i profunditats del sòl, si bé l'abundància relativa de *Verrucomicrobia* va ser més alta a les praderies (Bergmann et al., 2011). Un estudi a

l'Amazònia va identificar que aquesta classe redueix la seva abundància en sòls on el bosc s'ha talat per a activitats de pastura, encara que en tots dos casos continua sent el microorganisme més abundant (Ranjan et al., 2015). Aquests autors van trobar una forta correlació de *Verrucomicrobia* amb el contingut de C del sòl. Per tant, si bé els *Verrucomicrobia* podrien estar més associats amb la pastura, concretament la classe augmentaria en passar de pastura a bosc a causa del seu vincle amb el carboni. Això concordaria amb el fet que el carboni als sòls forestals, on és més abundant, es vehicularia més per descomposició que per herbivorisme.

En la nostra anàlisi, els gèneres més detectats apunten en la mateixa direcció que els tàxons previs, que solen estar vinculats a la fixació de nitrogen associada a nòduls simbiòtics. Cal destacar-ne *Paraburkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Mycobacterium* i *Sphingomonas*. *Paraburkholderia* és als nòduls radiculars d'algunes plantes, i *Bradyrhizobium* és el principal gènere a la rizosfera d'algunes lleguminoses, com ara la tribu *Genisteae* (Stępkowski et al., 2018), i contribueix a la fixació de nitrogen en les fabàcies. També s'han detectat *Mycobacterium* i *Sphingomonas* en multitud d'estudis de sòls i són un component habitual en aquests ecosistemes. *Mycobacterium* participa en els processos de desnitrificació (Zhang et al., 2025).

Els resultats en fongs mostren més especialització forestal, a excepció de l'Otu5, que és absent a totes, cinc i dues de les mostres de bosc, sòl aforestat i pastura, respectivament. Tanmateix, l'extrema abundància (nombre de reads, = 35.006) de l'Otu5 en tan sols una mostra (pastura) ens suggereix que podríem haver mostrejat un miceli ben desenvolupat en aquest sòl concret. És a dir, l'abundància vindria de l'estructura física del fong i no de l'especialització funcional. És possible que aquesta mostra outlier (valors atípics) tingués una

gran part de la seva massa corresponent a miceli o espores en el punt de mostratge en qüestió. Reforça aquest supòsit el fet que *Cortinarius*, amb cos fructífer de tipus agaricoide, domina en sòls forestals, seguit dels aforestats. Si bé aquest gènere és present als tres ambients, en pastura la seva abundància és molt baixa si s'exclou la mostra 2.

La distribució menys homogènia, en general, en fongs que en bacteris es podria explicar pel fet que els fongs tenen funcions de descomposició orgànica més especialitzades. Els fongs micorrízics són simbiotes de la majoria de plantes terrestres (Leifheit et al., 2014). És el cas de *Cenococcum*, un gènere localitzat a les nostres mostres, que actualment inclou principalment *C. geophyllum*, un complex d'espècies (Obase et al., 2017) àmpliament estudiat pel seu reconegut paper com a ectomicorriza d'un gran nombre d'espècies arbòries, arbustives i herbàcies. Té un paper rellevant com a colonitzador en la successió primària de boscos (LoBuglio, 1999). També és important en el metabolisme del nitrogen i del fòsfor (LoBuglio, 1999) i en la resistència vegetal a la sequera (Coleman et al., 1989).

En el global mostral, els valors de diversitat alfa mostraren menys homogeneïtat en fongs que en bacteris (taules 8 i 9). Addicionalment, l'abundància va ser força més variable a les mostres de pastura. No obstant això, sembla que hi ha una tendència a un augment d'abundància amb l'aforestació per després disminuir amb el pas a bosc. Aquest resultat concorda amb l'aforestació de pastures abandonades al nord-est d'Itàlia durant els darrers setanta anys, en què la diversitat α global de la comunitat fúngica va disminuir progressivament després d'un augment inicial a partir de les condicions de pastura (Panico et al., 2025), seguint l'acidificació del substrat i l'especialització tròfica. La diversitat bacteriana d'aquell estudi va ser més alta en les etapes inicials, i després va dis-



Les plantacions de coníferes presenten alguns microorganismes diferenciats, associats a aquesta vegetació d'origen antròpic (Pla de les Arenes, Sant Hilari Sacalm).

minuir progressivament en etapes posteriors, probablement limitada per una qualitat inferior de la matèria orgànica. Els canvis en la composició de la comunitat fúngica a Itàlia van incloure un augment dels *Basidiomycota* ectomicorrízics relacionats amb més proporció de SOC, N i C:N de la superfície del sòl. De manera diferent, la composició de la comunitat bacteriana va respondre substancialment al pH, amb l'acidesa de la superfície del sòl afavorint els *Proteobacteria* (*Pseudomonadota*) i els *Acidobacteria* (*Acidobacteriota*) en les etapes avançades de la forestació (Panico et al., 2025).

Diversitat

Per avaluar la variabilitat entre mostres, es van dur a terme anàlisis de diversitat. D'una banda, la variabilitat més gran en la riquesa i la diversitat es troba als sòls aforestats, cosa que probablement indica una situació de mosaic i un efecte vora.

L'anàlisi de diversitat alfa va mostrar una diferència significativa entre les pastures aforestades i els boscos establerts, només pel que fa al paràmetre Simpson en bacteris (taula 8). Aquest resultat indica que un nombre reduït de tàxons bacterians dominants presenta una diferència substancial en la seva abundància entre aquestes dues tipologies d'ús del sòl, probablement a causa d'un estat de transició en la composició microbiana dels terrenys aforestats. És esperable que el bosc més antic mostri una comunitat bacteriana més heterogènia i equilibrada, atès que ha estat menys pertorbat. En tot cas, la pertorbació hauria estat el carboneig, que incrementa l'entrada de llum, disminueix la competència per l'aigua i extreu nutrients per exportació de carbó. Malgrat tot, aquesta pertorbació no hauria aportat els macronutrients del procés d'herbivorisme, si més no a magnituds significatives, perquè els usos tradicionals haurien estat la pastura amb bestiar menor de petits ramats dels masos.

Pel que fa als fongs, la més gran variabilitat entre mostres dins del mateix grup podria explicar la manca de diferències significatives entre els tres grups de sòl. En conjunt, els resultats suggereixen que la reestructuració del microbioma bacterià després d'abandonar l'activitat herbívora no afecta la diversitat bacteriana global, sinó el catàleg de tàxons que resulten més o menys abundants (taula S2, annex III).

D'altra banda, la diversitat beta avaluada en projeccions bidimensionals (PCoA) mostra una posició intermèdia de les comunitats d'aforestació. Aquest fet podria reflectir una composició bacteriana i fúngica de transició entre els usos pastorals i forestals, i potser la coexistència d'elements característics de totes dues biocenosis (figura 7). Les micorriizes arbusculars (com ara Ascomycota) tenen tendència a ser més especialistes en taques obertes. Els acidobacteris i les ectomicorriizes són més especialistes forestals. Als llocs on el

contrast entre les taques obertes i el bosc és més pronunciat, tendeixen a tenir comunitats d'efecte vora (Winfrey et al., 2025). Aquests resultats són coincidents amb un estudi sobre aforestació de pastures (Jardim et al., 2025), en què es va trobar que les espècies de pastures s'adapten als sòls pobres en nutrients, amb una estratègia *do-it-yourself*, mentre que a les de boscos predomina una estratègia d'*outsourcing* amb possible col·laboració amb micorrizes.

La similitud més gran entre aforestació i bosc es fa especialment evident en l'anàlisi amb UniFrac ponderada, en què aquests dos tipus de sòl formen grups molt propers. Això podria indicar una recuperació parcial de les línies filogenètiques després de l'aforestació, malgrat que els perfils d'abundància encara poden diferir. En conjunt, aquests resultats apunten a una recuperació parcial del microbioma forestal després de l'abandonament de la pastura i l'aforestació, recuperació més pronunciada en bacteris que en fongs, els quals mostren una variabilitat interna més elevada dins de cada grup. Aquesta hipòtesi seria vàlida en el marc tradicionalment acceptat d'uns ecosistemes forestals primigenis desforestats per pasturar-hi i que ara recuperarien la vegetació potencial des d'un punt de vista fitosociològic. Ara bé, una hipòtesi alternativa fora que el bosc ocupa l'espai quan les pertorbacions que mantenen els ecosistemes oberts (Bond, 2019), herbivorisme i pastura (Pausas, Bond, 2020), disminueixen en freqüència i intensitat. Aquesta hipòtesi s'emmarca en el concepte dels sistemes oberts, del qual recentment es comença a tenir coneixement històric a Europa (Pearce et al., 2023).

A més a més, les distàncies de Bray-Curtis, que reflecteixen diferències en l'abundància sense considerar la filogènia, mostren un agrupament clar segons l'ús del sòl. Un cop més, els llocs aforestats se situen en una posició intermèdia en-



Antiga artiga per al conreu de la patata, ara reforestada, amb un estrat impenetrable d'esbarzer (Pla de les Arenes, Sant Hilari Sacalm).

tre pastures i boscos. Això suggereix un canvi gradual en la composició de la comunitat o assemblatge d'espècies, impulsat per variacions en les abundàncies relatives dels tàxons compartits.

L'anàlisi que incorpora tant l'abundància com la filogènia, la UniFrac ponderada, presenta un patró similar, malgrat situar els llocs aforestats més propers o fins i tot encavallats amb els boscos. Aquest patró indica que, a més de les abundàncies, les identitats filogenètiques dels microbis dominants als sòls aforestats tendeixen a assemblar-se a les dels boscos establerts.

En canvi, la UniFrac no ponderada, basada en presència/absència i filogènia, separa menys clarament les mostres aforestades de les de pastura. Aquest fet suggereix que els llinatges rars o de baixa abundància típics dels boscos encara no han colonitzat plenament els sòls aforestats.

En l'àmbit ecològic, aquests patrons indiquen que, mentre que els llinatges dominants dels sòls aforestats ja apunten cap a una comunitat de tipus forestal (segons la UniFrac ponderada), el conjunt complet de tàxons associats al bosc, especialment els més rars, pot requerir més temps per establir-s'hi (segons la UniFrac no ponderada). La posició intermèdia dels sòls aforestats en l'espai Bray-Curtis reforça la hipòtesi d'una successió microbiana gradual després de cessar la pertorbació herbívora. Per tant, l'absència dels tàxons forestals més rars podria esdevenir un indicador de l'antiguitat del procés. O en un altre sentit, l'absència en boscos podria indicar una història ecològica vinculada a boscos més aclarits o ecosistemes oberts d'acord amb Pearce i coautors (Pearce et al., 2023).

Aquests canvis taxonòmics podrien estar impulsats per modificacions concomitants en les propietats edàfiques, com el contingut de matèria orgànica, el pH o l'aportació de restes vegetals; factors coneguts pel fet de modular l'assemblatge de comunitats microbianes durant la regeneració forestal.

La major abundància i redundància d'OTU bacterians (9,6) respecte de la fúngica (2,2) pel que fa a tàxons indica que hi ha més variabilitat genètica en bacteris que en fongs. Està associada possiblement a tàxons i serotips bacterians que s'agrupen en una mateixa unitat taxonòmica. Això podria atribuir-se a una resolució limitada, que resollem en una taxonomia superior. Tanmateix, indagar els orígens d'aquesta variabilitat genètica no és objectiu d'aquest treball. Aquestes dades de redundància, amb més diversitat bacteriana, coincideixen amb un estudi sobre els efectes del pH del sòl en la diversitat bacteriana i fúngica dels boscos de la Xina (Huang et al., 2024), on es va trobar que els bacteris de sòls àcids presentaven més diversitat i complexitat de xarxa que els bacteris en sòls neutres i alcalins ($\text{pH} > 5,5$), com els de les Guàl·leries, i a l'inrevés en sòls àcids ($\text{pH} < 5,1$).

Els fongs tenen importants rols ecològics com a descomponedors, mutualistes i patògens de les plantes. Per tant, podríem plantejar la hipòtesi que podria existir una relació significativa entre la productivitat de les plantes i la diversitat fúngica al llarg d'un gradient d'herbivorisme. Tanmateix, a les nostres mostres no trobem una diferència significativa en fongs depenent del tipus de lloc.

En un estudi a través d'un gradient altitudinal al Kilimanjaro, es va trobar que la diversitat fúngica va disminuir amb l'elevació, segons la temperatura mitjana anual, mentre que el factor que més afectava la diversitat bacteriana era el pH (Shen et al., 2020). Aquest resultat s'alinearia amb un estudi global en què es va trobar que els fongs augmenten en ambients freds i d'alta latitud amb grans reserves de carboni del sòl, de manera similar al carboni als nostres sòls forestals. L'estudi va destacar que els fongs i bacteris representen canals d'energia del sòl «lents» i «ràpids», respectivament, amb fongs dominant en regions de baixes temperatura mitjana anual (MAT) i productivitat primària neta (NPP), i bacteris dominant en regions d'alta MAT i NPP (Yu et al., 2022). D'una banda, les distàncies de Bray-Curtis i UniFrac indiquen més similitud o encavallament de la comunitat de fongs entre bosc i aforestació; de l'altra, la distribució en forma de U dels fongs l'atribuïm a l'extrema abundància en una mostra de pastura amb valors atípicament alts a causa del mostratge. Així, els canals d'energia més lents dels nostres boscos tendirien a una presència superior de fongs, en concordança amb Yu i coautors (Yu et al., 2022).

Els resultats de les anàlisis MRPP, amb diferències significatives en totes les comparacions entre grups excepte per la comparació per bacteris entre sòls de terrenys aforestats i bosc (taula 10), s'alineen amb els detectats en la distància beta segons Bray-Curtis i UniFrac (figura 5), que mostren

diferències clares en el microbioma de les tres tipologies de sòl i que l'aforestació s'assembla més al bosc.

El fet que l'anàlisi MRPP de similitud metagenòmica entre les mostres no ofereixi diferències significatives entre aforestació i bosc pot ser atribuït a una mida mostral petita. En tot cas, les diferències trobades entre grups són menors que a la resta, la qual cosa podria indicar que en sòls de pastures aforestades romanguessin signatures microbianes de l'antic ús pastoral. Aquestes signatures podrien ser usades com a marcadors històrics d'herbivorisme.

Biomarcadors

La comparació dels microbiomes edàfics en un gradient de pertorbació herbívora ofereix l'oportunitat d'identificar les diferències en les seves comunitats microbianes i fúngiques, i especialment la identificació de biomarcadors d'aquest procés ecològic. El fet que al nostre estudi els terrenys aforestats exhibeixin el més petit nombre de biomarcadors, i a més a més tots fúngics (figures 6 i 7), d'una banda ens indica l'especialització dels fongs segons la vegetació a la qual es troben associats, sigui d'espais oberts o de boscos; de l'altra, ens indica que les comunitats microbianes del sòl de les pastures aforestades es troben en un estat de transició en què acullen tàxons tant de la pertorbació històrica com els que apareixen en absència d'aquesta pertorbació. És a dir, aquests llocs no reunirien els assemblatges d'espècies, i bàsicament els bacterians, típics de comunitats en un estat ecològic més estable. Per tant, la microbiota d'aforestació reflecteix un període o punt de canvi entre dos estats estables de l'ecosistema, desencadenat pel trànsit entre la pertorbació i la seva absència. Els nostres resultats assenyalen un canvi gradual i suau, que permetria la bidireccionalitat sense pèrdua de resiliència per histèresi (Scheffer et al., 2001).

En la nostra cerca de traces d'herbivorisme en àrees de pastura destaca com a possible biomarcador bacterià el gènere *Tepidisphaera*. Tanmateix, el coneixement que es té d'aquest gènere sols permet de relacionar-lo amb ambients moderadament termòfils i rics en nutrients (Dedysh et al., 2021). Complementàriament, com a possibles biomarcadors fúngics destaquen la família dels *Geoglossaceae* i també la família i el gènere *Cladosporium*. Aquest resultat concordaria amb el fet que a Europa *Geoglossaceae* es troba en herbassars (Nannfeldt, 1942; Watson, Dallwitz, 2010). A banda, el gènere *Cladosporium* s'ha associat als matollars xeròfits mediterranis (Quinteros-Urquieta et al., 2024) i són fongs presents en la vegetació herbàcia senescent o morta de la zona eurosiberiana (Mysterud et al., 2007), i arriben a ser dominants en pastures del Regne Unit (Lacey, 1975). Finalment, la majoria de les espècies de *Pleosporales* són sapròtrofs sobre material vegetal en descomposició, si bé algunes espècies estan associades amb plantes vives com a paràsits, epífits o endòfits (Zhang et al., 2009), i d'altres es troben en la femta dels animals (Kruys et al., 2006). En conjunt, doncs, aquests primers resultats suggereixen que els fongs podrien esdevenir marcadors més acurats de pastura que els bacterians gràcies a la seva especialització en relació amb la vegetació. En aquest sentit, és interessant destacar com la resposta de les plantes a l'herbivorisme pot dependre del fong micorríctic mutualista amb el qual s'associa la planta (Bennett, Bever, 2007).

Amb l'objectiu de buscar biomarcadors de pastura en els sòls aforestats que poguessin identificar l'antic ús pastoral de terrenys avui ocupats per bosc, vàrem agrupar les mostres de pastura activa i aforestació i les vàrem comparar amb les mostres de bosc. Així, en pastures aforestades destaca com a biomarcador *Clytobe nuda*. És un fong ectomicorríctic associat a multitud de coníferes al món (Barroetaveña et al., 2007; Chung et al., 2002) i a la promoció del creixement

en coníferes (Barroetaveña et al., 2007; Chung et al., 2002; Ekwebelam, 1980; Kasuya, Igarashi, 1996). En un estudi (Assad et al., 2022) proposaven, basant-se en els seus resultats, d'usar *Clitocybe nuda* i *Cortinarius distans* per afavorir l'ectomicorrització de les plàntules en la restauració de tres espècies de coníferes (*Abies pindrow*, *Cedrus deodara* i *Picea smithiana*) a l'Himàlaia (Assad et al., 2022). Aquesta vinculació amb coníferes, a les Guillerries l'atribuïm al fet que algunes pastures havien estat colonitzades o repoblades per coníferes, i en alguns casos no ens va ser possible trobar localitzacions sense aquesta interferència. Això concorda amb el relat històric dels informants, que descriu com a les antigues pastures o conreus s'hi van fer plantacions de coníferes per explotar-les. Aquests marcadors, doncs, cal descartar-los com a indicadors d'herbivorisme.

Addicionalment, a les antigues pastures ara aforestades, el gènere *Trechispora* també presenta una interpretació complexa. *Trechispora* s'identifica com a més abundant a les arrels



Pastura molt freqüentada que, amb excés de fertilitat, acusa l'entrada de flora ruderal (Les Fagedes, Vilanova de Sau).

de plantacions urbanes de roure colombià (*Quercus humboldtii*) comparades amb les de boscos naturals d'aquesta espècie, junt amb *Sclerodermai Hydnangium*, mentre que *Russula* i *Lactarius* són més abundants a les arrels dels boscos naturals d'aquest roure (Sánchez-Tello, Corrales, 2024). A falta de més estudis, sols podem valorar que aquest gènere es podria associar més a ambients pertorbats que no pas a forests no pertorbades. Aquesta situació coincidiria amb el nostre cas, malgrat no ser específica de la pertorbació herbívora.

El conjunt de marcadors de bosc és més ampli. Així trobem els *Capnodiales*, que inclouen epífits que creixen sobre fulles vegetals i que s'alimenten de la saba de les plantes, sapròtrofs, endòfits i fitopatògens. També detectem *Verrucomicrobiota*, si bé és un fílum bacterià abundant en mostres ambientals, com són els sòls. Més específic de boscos és *Arachnopeziza aurelia*, una espècie sapròfita ubiqua que creix sobretot en les restes de fusta d'arbres, encara que també pot créixer en altres restes vegetals. Val a destacar que tant acidobacteris com verrucomicrobis s'erigeixen en marcadors de bosc (taula 11), atès que la seva presència és molt inferior en pastures i aforestació. Aquests resultats concorden amb altres estudis (Cederlund et al., 2014), els quals observen un decreixement d'abundància d'aquests dos fílums amb la fertilització nitrogenada. Per tant, podrien esdevenir marcadors inversos d'activitat herbívora.

En conjunt, doncs, el factor principal que determina el canvi entre les comunitats microbianes sembla la vegetació associada i, probablement, els canvis en el cicle de nutrients associats a la pertorbació herbívora o alternativament a la descomposició de matèria vegetal forestal, malgrat que es requereix un estudi més aprofundit per esbrinar-ho. En tot cas, els assemblatges de fongs mostren més especialització que els bacterians, i es relacionen amb el canvi d'espècies

vegetals. Els nostres resultats suggereixen que podríem emprar dos tipus d'indicadors per a dues cronoseqüències d'aforestació. Per a un període tardà (1960-2020), l'ús conjunt dels marcadors de pastura i de sòls aforestats es revela d'utilitat. Per a un període primerenc (≤ 1960), del qual ja no disposem d'informació cartogràfica ni llegat cultural precís, el contrast entre marcadors d'aforestació i bosc podria revelar noves eines per a la reconstrucció del passat ecològic.

El fet que la majoria dels marcadors identificats corresponguin a bosc pot tenir causes tecnicoestadístiques i biològiques. D'una banda, s'han definit marcadors exclusius dels boscos i marcadors de pastura que també es detecten en terrenys aforestats per tal d'identificar indicadors d'un possible ús històric com a pastura en zones actualment forestals; això fa que la detecció de marcadors de pastura sigui més exigent i, per tant, menys freqüent. D'altra banda, és plausible que els boscos presentin comunitats microbianes més estables i especialitzades, amb espècies exclusives més fàcilment detectables que no pas en ecosistemes de pastura, que són més dinàmics i més influïts per pertorbacions.

Aquest és el primer estudi que compara directament la composició del microbioma del sòl entre pastures, terrenys aforestats i boscos a les Guàrdies. Malgrat que es tracta d'un estudi preliminar —amb un nombre limitat de mostres i una alta variabilitat de condicions ambientals entre si—, els resultats obtinguts són informatius i apunten a la possible existència de biomarcadors microbians indicatius de pertorbació històrica d'herbivorisme en zones forestals actuals.

Aquesta hipòtesi obre la porta a nous enfocaments per identificar empremtes biològiques d'usos del sòl passats, amb potencial aplicació en la gestió forestal en paisatges en mosaic. Tanmateix, caldria un estudi específic per avaluar quins factors ambientals tenen efectes sobre la composició micro-

biana més enllà de l'ús pastoral o forestal, i posteriorment aplicar models de regressió per identificar patrons corregits i robustos.

En aquest treball hem identificat tàxons candidats a biomarcadors segons el seu patró de presència/absència i una abundància relativa suficient per ser detectats amb tècniques convencionals. No obstant això, és probable que certes combinacions de microorganismes tinguin més capacitat predictiva que els tàxons per separat. En aquest sentit, més endavant explorarem la construcció de biomarcadors compostos, basats en la presència conjunta i l'abundància relativa de grups microbians bacterians i fúngics, mitjançant models multivariables o tècniques d'intel·ligència artificial.

Finalment, els perfils microbians no només podrien ajudar a reconstruir usos històrics del sòl, sinó que també poden tenir implicacions en l'estudi de processos clau com la fixació i el segrest de carboni, especialment rellevants en el context actual de crisi climàtica.

5.

CONCLUSIONS

1. La composició bacteriana i fúngica dels sòls analitzats en aquest estudi és consistent amb la que s'ha descrit habitualment en altres treballs sobre sòls edàfics.
2. Els nivells de diversitat alfa observats (dins de mostra) van ser intermedis, d'acord amb el que s'esperaria en sòls naturals no cultivats.
3. La composició fúngica va mostrar més variabilitat entre mostres (diversitat beta) que la bacteriana, probablement a causa d'una especialització funcional més estricta i una estructura pluricel·lular amb distribució espacial més delimitada.
4. Les composicions microbianes tant de bacteris com de fongs en els sòls d'aforestació es van situar en una posició intermèdia entre les de pastura i bosc, tot i que més properes al perfil dels boscos, cosa que indica un estat de transició ecològica de pastura cap a bosc.
5. Es van identificar diversos marcadors microbians tant de bosc com de pastura. No obstant això, la majoria foren específics de bosc.
6. Tot i que es requereix un estudi més aprofundit i contrastat en diversos hàbitats forestals, aquesta línia de recerca pot esdevenir d'utilitat per a l'adaptació i la mitigació del canvi climàtic, la pèrdua de biodiversitat i les pertorbacions associades.

Agraïments

Volem agrair la valuosa informació històrica obtinguda gràcies a Jaume Bruguera, Jaume Massó, Joan Arrom, Joan Busquets, Ester Ferrer i Xevi Roviró.

Aquest treball ha estat enriquit amb les aportacions de Marc Llorós, Jordi Villà i Mireia Bartrons, de la Universitat de Vic - Universitat Central de Catalunya.

El treball de camp ha comptat amb la col·laboració pacient de Benet Pauné.

També volem expressar el nostre agraïment a Anna Alba per haver connectat els dos autors del treball: una bona passejada amb conversa no té preu. Sense tu, aquest treball no hauria estat possible.

Aquest treball, a més del Premi de Recerca Guilleries 2023, ha tingut el suport del Programa CERCA / Generalitat de Catalunya. Ha comptat amb el suport financer de l'Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca (AGAUR) de la Generalitat de Catalunya (número d'ajut 2021 SGR 01176) i del Ministeri de Ciència i Innovació d'Espanya, mitjançant el Programa Severo Ochoa per a Centres d'Excel·lència en R+D+I 2020-2023 (subvenció CEX2019-000902-S finançada per MCIN / AEI / 10.13039 / 501100011033) i atorgada al CRAG. També ha comptat amb el suport financer de MCIU / AEI / 10.13039 / 501100011033 i de la Unió Europea, com a part de l'actuació PCI2024-153470, i dels programes BERC 2022-2024 i acreditació María de Maeztu per a Centres d'Excel·lència en R+D+I 2023-2026 (subvenció CEX2021-001201-M, finançada per MCIN / AEI / 1013039 / 501100011033) i atorgada al BC3.

BIBLIOGRAFIA

- Abarenkov, K.; Nilsson, R. H.; Larsson, K.-H. et al. (2023). The UNITE database for molecular identification and taxonomic communication of fungi and other eukaryotes: sequences, taxa and classifications reconsidered. *Nucleic Acids Research*, 52(D1), p. D791-D797. <<https://doi.org/10.1093/nar/gkad1039>>
- Assad, R.; Reshi, Z. A.; Rashid, I. (2022). Seedling ectomycorrhization is central to conifer forest restoration: a case study from Kashmir Himalaya. *Scientific Reports*, 12(1), p. 13321. <<https://doi.org/10.1038/s41598-022-17073-7>>
- Aymerich, P.; Cambra, J.; Carreras, J. et al. (2014). *Cartografia dels hàbitats a Catalunya. Versió 2. Manual d'interpretació*. Barcelona: Generalitat de Catalunya.
- Barroetaveña, C.; Cázares, E.; Rajchenberg, M. (2007). Ectomycorrhizal fungi associated with ponderosa pine and Douglas-fir: a comparison of species richness in native western North American forests and Patagonian plantations from Argentina. *Mycorrhiza*, 17(5), p. 355-373. <<https://doi.org/10.1007/s00572-007-0121-x>>
- Battistuzzi, F. U.; Hedges, S. B. (2008). A Major Clade of Prokaryotes with Ancient Adaptations to Life on Land. *Molecular Biology and Evolution*, 26(2), p. 335-343. <<https://doi.org/10.1093/molbev/msn247>>

- Bennett, A. E.; Bever, J. D. (2007). Mycorrhizal species differentially alter plant growth and response to herbivory. *Ecology*, 88(1), p. 210-218. <[https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2007\)88\[210:msdapg\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2007)88[210:msdapg]2.0.co;2)>
- Bergmann, G. T.; Bates, S. T.; Eilers, K. G. et al. (2011). The under-recognized dominance of Verrucomicrobia in soil bacterial communities. *Soil Biol Biochem*, 43(7), p. 1450-1455. <<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.03.012>>
- Bhatti, A. A.; Haq, S.; Bhat, R. A. (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial Pathogenesis*, 111, p. 458-467. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.036>>
- Bond, W. J. (2016). Ancient grasslands at risk. *Science*, 351(6269), p. 120-122. <<https://doi.org/doi:10.1126/science.aad5132>>
- (2019). *Open Ecosystems: ecology and evolution beyond the forest edge*. Oxford: Oxford University Press. <<https://doi.org/10.1093/oso/9780198812456.001.0001>>
- Brady, N. C.; Weil, R. R. (2016). *The nature and properties of soils*, 15a ed. Londres: Pearson Education.
- Cabello-Yeves, P. J.; Ghai, R.; Mehrshad, M. et al. (2017). Reconstruction of Diverse Verrucomicrobial Genomes from Metagenome Datasets of Freshwater Reservoirs [Original Research]. *Frontiers in Microbiology*, Volume 8 - 2017. <<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02131>>
- Caporaso, J. G.; Kuczynski, J.; Stombaugh, J. et al. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7(5), p. 335-336. <<https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>>
- Cederlund, H.; Wessén, E.; Enwall, K. et al. (2014). Soil carbon quality and nitrogen fertilization structure bacterial communities with predictable responses of major bacterial phyla. *Applied Soil Ecology*, 84, p. 62-68. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.06.003>>

- Chung, H.-C.; Kim, D.-H.; Lee, S.-S. (2002). Mycorrhizal Formations and Seedling Growth of *Pinus desiflora* by in vitro Synthesis with the Inoculation of Ectomycorrhizal Fungi. *Mycobiology*, 30(2), p. 70-75. <<https://doi.org/10.4489/MYCO.2002.30.2.070>>
- Coleman, M. D.; Bledsoe, C. S.; Lopushinsky, W. (1989). Pure culture response of ectomycorrhizal fungi to imposed water stress. *Canadian Journal of Botany*, 67(1), p. 29-39. <<https://doi.org/10.1139/b89-005>>
- Cortés, A. (1989). *Génesis y evolución de suelos desarrollados a partir de granodioritas en el área de influencia mediterránea (NE de España)*. Barcelona: Universitat de Barcelona.
- CREAF (2014). *Mapa de Cobertes del sòl de 1956 de la província de Barcelona*. Barcelona: Diputació de Barcelona. <http://www.sitxell.eu/ca/mapa_historics.asp>
- DARPA (2024). Registre d'explotacions ramaderes. <<https://agricultura.gencat.cat/ca/serveis/registres-oficials/ramaderia-sanitat-animal/registre-explotacions-ramaderes/index.html>>
- Dass, P.; Houlton, B. Z.; Wang, Y. et al. (2018). Grasslands may be more reliable carbon sinks than forests in California. *Environmental Research Letters*, 13(7), p. 074027. <<https://doi.org/10.1088/1748-9326/aacb39>>
- Dedysh, S. N.; Beletsky, A. V.; Ivanova, A. A. et al. (2021). Wide distribution of Phycisphaera-like planctomycetes from WD2101 soil group in peatlands and genome analysis of the first cultivated representative. *Environ Microbiol*, 23(3), p. 1510-1526. <<https://doi.org/10.1111/1462-2920.15360>>
- Delgado-Baquerizo, M.; Oliverio, A. M.; Brewer, T. E. et al. (2018). A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science*, 359(6373), p. 320-325. <<https://doi.org/doi:10.1126/science.aap9516>>

- DeSantis, T. Z.; Hugenholtz, P.; Larsen, N. et al. (2006). Green-
genes, a Chimera-Checked 16S rRNA Gene Database and
Workbench Compatible with ARB. *Applied and Environ-
mental Microbiology*, 72(7), p. 5069-5072. <[https://doi.org/
doi:10.1128/AEM.03006-05](https://doi.org/doi:10.1128/AEM.03006-05)>
- Droop, A. P. (2016). fqtools: an efficient software suite for
modern FASTQ file manipulation. *Bioinformatics*, 32(12),
p. 1883-1884. <[https://doi.org/10.1093/bioinformatics/
btw088](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw088)>
- Edgar, R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude
faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26(19), p. 2460-2461.
<<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>>
- (2013). UPARSE: highly accurate OTU sequences from mi-
crobial amplicon reads. *Nature Methods*, 10(10), p. 996-
998. <<https://doi.org/10.1038/nmeth.2604>>
- (2017). Accuracy of microbial community diversity estima-
ted by closed- and open-reference OTUs. *PeerJ* 5:e3889.
<<https://doi.org/https://doi.org/10.7717/peerj.3889>>
- Edgar, R. C.; Haas, B. J.; Clemente, J. C. et al. (2011). UCHI-
ME improves sensitivity and speed of chimera detec-
tion. *Bioinformatics*, 27(16), p. 2194-2200. <[https://doi.
org/10.1093/bioinformatics/btr381](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr381)>
- Edwards, P.; Cech, P.; Sitters, J. et al. (2022). Long-Term Ef-
fects of Cattle Ranching on Soil Nitrogen and Phosphorus
Balances in a Savanna Ecosystem. *Rangeland Ecology &
Management*, 84, p. 54-62. <[https://doi.org/https://doi.or-
g/10.1016/j.rama.2022.05.006](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rama.2022.05.006)>
- Ekwebelam, S. (1980). Effect of mycorrhizal fungi on the
growth and yield of *Pinus oocarpa* and *Pinus caribaea*
var. *bahamensis* seedlings. *East African Agricultural and
Forestry Journal*, 45(4), p. 290-295.
- Evans, S.; Llamas, B.; Wood, J. R. (2025). Sedimentary ancient
DNA from caves: Challenges and opportunities. *Journal
of Quaternary Science*, 40(4), p. 565-578. <[https://doi.org/
https://doi.org/10.1002/jqs.3712](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jqs.3712)>

- Fierer, N. (2017). Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 15(10), p. 579-590. <<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.87>>
- Gardes, M.; Bruns, T. D. (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes--application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol Ecol*, 2(2), p. 113-118. <<https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.1993.tb00005.x>>
- Gloor, G. B.; Macklaim, J. M.; Pawlowsky-Glahn, V. et al. (2017). Microbiome Datasets Are Compositional: And This Is Not Optional [Mini Review]. *Frontiers in Microbiology*, Volume 8 - 2017. <<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02224>>
- Green, J. K.; Konings, A. G.; Alemohammad, S. H. et al. (2017). Regionally strong feedbacks between the atmosphere and terrestrial biosphere. *Nature Geoscience*, 10(6), p. 410-414. <<https://doi.org/10.1038/ngeo2957>>
- Handelsman, J. (2004). Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(4), p. 669-685. <<https://doi.org/doi:10.1128/mmbr.68.4.669-685.2004>>
- Herrando Vila, S.; Anton, M.; Brotons, L. et al. (2016). La pèrdua de biodiversitat per abandonament rural en el LTER Montseny quantificada a partir del monitoratge d'aves. *Ecosistemes*, 25(1), p. 58-64. <<http://www.revistaecosistemes.net/index.php/ecosistemes/article/view/1081>>
- Huang, C.; He, Y.; Zhou, L. et al. (2024). Opposite effects of soil pH on bacteria and fungi β diversity in forests at a continental scale. *Journal of Environmental Management*, 370, p. 122428. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.122428>>
- ICC (2024). Mapa geològic de Catalunya 1:250.000. Barcelona: Institut Cartogràfic i Geològic de Catalunya (ICGC).
- ICGC (2018). Cartografia dels hàbitats a Catalunya, versió 2. Barcelona: Generalitat de Catalunya. <<https://territori.gen->

- cat.cat/ca/O1_departament/12_cartografia_i_toponimia/bases_cartografiques/medi_ambient_i_sostenibilitat/bases_miramon/territori/29_habitats_1_5000_perfulls/>
- Jakovac, C. C.; Junqueira, A. B.; Crouzeilles, R. et al. (2021). The role of land-use history in driving successional pathways and its implications for the restoration of tropical forests. *Biological Reviews*, 96(4), p. 1114-1134. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/brv.12694>>
- Jardim, R. I. L.; Marques, M. C. M.; do Carmo, M. R. B. et al. (2025). Unveiling above-and below-ground ecological strategies that underlie woody plant encroachment in grasslands. *Journal of Ecology*, 113(5), p. 1068-1086. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1365-2745.70003>>
- Kasuya, M. C. M.; Igarashi, T. (1996). In vitro ectomycorrhizal formation in *Picea glehnii* seedlings. *Mycorrhiza*, 6(5), p. 451-454. <<https://doi.org/10.1007/s005720050146>>
- Kearns, P. J.; Shade, A. (2018). Trait-based patterns of microbial dynamics in dormancy potential and heterotrophic strategy: case studies of resource-based and post-press succession. *The ISME Journal*, 12(11), p. 2575-2581. <<https://doi.org/10.1038/s41396-018-0194-x>>
- Kielak, A. M.; Barreto, C. C.; Kowalchuk, G. A. et al. (2016). The Ecology of Acidobacteria: Moving beyond Genes and Genomes [Review]. *Frontiers in Microbiology*, Volume 7 - 2016. <<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00744>>
- Kjær, K. H.; Winther Pedersen, M.; De Sanctis, B. et al. (2022). A 2-million-year-old ecosystem in Greenland uncovered by environmental DNA. *Nature*, 612(7939), p. 283-291. <<https://doi.org/10.1038/s41586-022-05453-y>>
- Köljalg, U.; Larsson, K.-H.; Abarenkov, K. et al. (2005). UNITE: a database providing web-based methods for the molecular identification of ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 166(3), p. 1063-1068. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01376.x>>

- Kruys, A.; Eriksson, O. E.; Wedin, M. (2006). Phylogenetic relationships of coprophilous Pleosporales (Dothideomycetes, Ascomycota), and the classification of some bitunicate taxa of unknown position. *Mycol Res*, 110(Pt 5), p. 527-536. <<https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.03.002>>
- Lacey, J. (1975). Airborne spores in pastures. *Transactions of the British Mycological Society*, 64(2), p. 265-281. <[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(75\)80112-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0007-1536(75)80112-4)>
- Leifheit, E. F.; Veresoglou, S. D.; Lehmann, A. et al. (2014). Multiple factors influence the role of arbuscular mycorrhizal fungi in soil aggregation—a meta-analysis. *Plant and Soil*, 374(1), p. 523-537. <<https://doi.org/10.1007/s11104-013-1899-2>>
- LoBuglio, K. F. (1999). *Cenococcum*. Dins: J. W. G. Cairney; S. M. Chambers (ed.). *Ectomycorrhizal Fungi key genera in profile*. Berlín: Springer, p. 287-309.
- Magoč, T.; Salzberg, S. L. (2011). FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 27(21), p. 2957-2963. <<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr507>>
- Maidak, B. L.; Olsen, G. J.; Larsen, N. et al. (1996). The Ribosomal Database Project (RDP). *Nucleic Acids Research*, 24(1), p. 82-85. <<https://doi.org/10.1093/nar/24.1.82>>
- Manzano, P.; Pardo, G.; Itani, M. A. et al. (2023). Underrated past herbivore densities could lead to misoriented sustainability policies. *NPJ Biodiversity*, 2(2). <<https://doi.org/10.1038/s44185-022-00005-z>>
- Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads [next generation sequencing; small RNA; microRNA; adapter removal]. *EM-Bnet.journal*, 17(1). <<https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>>
- McCune, B. (2006). Non-parametric habitat models with automatic interactions. *Journal of Vegetation Science*, 17(6),

- p. 819-830. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2006.tb02505.x>>
- Miralles, D. G.; Vilà-Guerau de Arellano, J.; McVicar, T. R. et al. (2025). Vegetation-climate feedbacks across scales. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1544(1), p. 27-41. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/nyas.15286>>
- Molina, D.; Castellnou, M.; Garcís-Marco, D. et al. (2010). Improving fire management success through fire behaviour specialists. Dins: *Towards Integrated Fire Management – Outcomes of the European Project Fire Paradox* (E. R. 23, ed. vol. EFI Report 23). EFI Report 23. European Forest Institute.
- Mysterud, I.; Høiland, K.; Koller, G. et al. (2007). Molecular characterization and evaluation of plant litter-associated fungi from the spring «grazing corridor» of a sheep herd vulnerable to alveld disease. *Mycopathologia*, 164(5), p. 201-215. <<https://doi.org/10.1007/s11046-007-9045-4>>
- Nannfeldt, J. A. (1942). The Geoglossaceae of Sweden (with regard also to the surrounding countries). *Arkiv för Botanik*, 30A(4), p. 1-67.
- Obase, K.; Douhan, G. W.; Matsuda, Y. et al. (2017). Progress and Challenges in Understanding the Biology, Diversity, and Biogeography of *Cenococcum geophilum*. Dins: L. Tedersoo (ed.). *Biogeography of Mycorrhizal Symbiosis*. Berlín: Springer, p. 299-317. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-56363-3_14>
- Pang, F.; Li, Q.; Solanki, M. K. et al. (2024). Soil phosphorus transformation and plant uptake driven by phosphate-solubilizing microorganisms [Review]. *Frontiers in Microbiology*, Volum 15 - 2024. <<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1383813>>
- Panico, S. C.; Alberti, G.; Foscari, A. et al. (2025). Bacterial and Fungal Communities Respond Differently to Changing Soil Properties Along Afforestation Dynamic. *Microb Ecol*, 88(2). <<https://doi.org/10.1007/s00248-025-02500-9>>

- Parada, A. E.; Needham, D. M.; Fuhrman, J. A. (2016). Every base matters: assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. *Environ Microbiol*, 18(5), p. 1403-1414. <<https://doi.org/10.1111/1462-2920.13023>>
- Parte, A. C.; Sardà Carbasse, J.; Meier-Kolthoff, J. P. et al. (2020). List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(11), p. 5607-5612. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004332>>
- Paul, E. A. E. (2014). *Soil microbiology, ecology and biochemistry*, 4a ed. Amsterdam: Academic Press.
- Pauné, F. (2021). *Bases ecològiques per a una gestió pastoral (Ecological bases for rangeland management)*. Lleida: Universitat de Lleida. <<https://www.tdx.cat/handle/10803/673004#page=1>>
- Pausas, J. G.; Bond, W. J. (2020). On the Three Major Recycling Pathways in Terrestrial Ecosystems. *Trends in Ecology & Evolution*, 35(9), p. 767-775. <<https://doi.org/10.1016/j.tree.2020.04.004>>
- Pearce, E. A.; Mazier, F.; Normand, S. et al. (2023). Substantial light woodland and open vegetation characterized the temperate forest biome before *Homo sapiens*. *Science Advances*, 9(45), eadi9135. <<https://doi.org/doi:10.1126/sciadv.adi9135>>
- Philippot, L.; Chenu, C.; Kappler, A. et al. (2024). The interplay between microbial communities and soil properties. *Nat Rev Microbiol*, 22(4), p. 226-239. <<https://doi.org/10.1038/s41579-023-00980-5>>
- Pielou, E. C. (1975). *Ecological diversity*. Hoboken: Wiley Interscience.
- Quast, C.; Pruesse, E.; Yilmaz, P. et al. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res*, 41 (Database issue), p. D590-596. <<https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>>

- Quinteros-Urquieta, C.; Francois, J. P.; Aguilar-Muñoz, P. et al. (2024). Microbial Diversity of Soil in a Mediterranean Biodiversity Hotspot: Parque Nacional La Campana, Chile. *Microorganisms*, 12(8). <<https://doi.org/10.3390/microorganisms12081569>>
- Ranjan, K.; Paula, F. S.; Mueller, R. C. et al. (2015). Forest-to-pasture conversion increases the diversity of the phylum Verrucomicrobia in Amazon rainforest soils [recerca original]. *Frontiers in Microbiology*, Volum 6 - 2015. <<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00779>>
- Ranjan, R.; Rani, A.; Metwally, A. et al. (2016). Analysis of the microbiome: Advantages of whole genome shotgun versus 16S amplicon sequencing. *Biochem Biophys Res Commun*, 469(4), p. 967-977. <<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.12.083>>
- Saeki, K.; Ihyo, Y.; Sakai, M. et al. (2011). Strong adsorption of DNA molecules on humic acids. *Environmental Chemistry Letters*, 9(4), p. 505-509. <<https://doi.org/10.1007/s10311-011-0310-x>>
- Sanchez-Tello, J. D.; Corrales, A. (2024). Ectomycorrhizal fungal communities in natural and urban ecosystems: *Quercus humboldtii* as a study case in the tropical Andes. *Mycorrhiza*, 34(1-2), p. 45-55. <<https://doi.org/10.1007/s00572-024-01140-0>>
- Scheffer, M.; Carpenter, S.; Foley, J. A. et al. (2001). Catastrophic shifts in ecosystems. *Nature*, 413(6856), p. 591-596. <<https://doi.org/10.1038/35098000>>
- Schloss, P. D.; Westcott, S. L.; Ryabin, T. et al. (2009). Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), p. 7537-7541. <<https://doi.org/doi:10.1128/AEM.01541-09>>
- Schoch, C. L.; Seifert, K. A.; Huhndorf, S. et al. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a

- universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(16), p. 6241-6246. <<https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>>
- Seabloom, E. W.; Caldeira, M. C.; Davies, K. F. et al. (2023). Globally consistent response of plant microbiome diversity across hosts and continents to soil nutrients and herbivores. *Nature Communications*, 14(1), p. 3516. <<https://doi.org/10.1038/s41467-023-39179-w>>
- Segata, N.; Izard, J.; Waldron, L. et al. (2011). Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology*, 12(6), p. R60. <<https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-6-r60>>
- Sellstedt, A.; Richau, K. H. (2013). Aspects of nitrogen-fixing Actinobacteria, in particular free-living and symbiotic Frankia. *FEMS Microbiol Lett*, 342(2), p. 179-186. <<https://doi.org/10.1111/1574-6968.12116>>
- Serrano-Zulueta, R.; Pardo, G.; Pauné, F. et al. (2023). Herbivory baseline estimates in Spanish protected areas, and environmental implications. *Landscape Ecology*. <<https://doi.org/10.1007/s10980-023-01783-y>>
- Shen, C.; Gunina, A.; Luo, Y. et al. (2020). Contrasting patterns and drivers of soil bacterial and fungal diversity across a mountain gradient. *Environmental Microbiology*, 22(8), p. 3287-3301. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1462-2920.15090>>
- Shrinivas, N. S.; Padmaja, P. S.; Krishnaraj, P. U. (2019). Soil Metagenomics: Concepts and Applications. Dins: N. H. Wael (ed.). *Metagenomics*. IntechOpen (p. Ch. 2). <<https://doi.org/10.5772/intechopen.88958>>
- Soga, M.; Gaston, K. J. (2018). Shifting baseline syndrome: causes, consequences, and implications. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 16(4), p. 222-230. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/fee.1794>>
- Stępkowski, T.; Banasiewicz, J.; Granada, C. E. et al. (2018). Phylogeny and Phylogeography of Rhizobial Symbionts

- Nodulating Legumes of the Tribe Genisteeae. *Genes*, 9(3), p. 163. <<https://www.mdpi.com/2073-4425/9/3/163>>
- Stevenson, F. J.; Cole, M. A. (1999). *Cycles of soil: Carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients*, 2a ed. Hoboken: John Wiley & Sons.
- Svistoonoff, S.; Hocher, V.; Gherbi, H. (2014). Actinorhizal root nodule symbioses: what is signalling telling on the origins of nodulation? *Current Opinion in Plant Biology*, 20, p. 11-18. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.03.001>>
- Sylvia, D. M.; Fuhrmann, J. J.; Hartel, P. G. et al. (2005). *Principles and applications of soil microbiology*, 2a ed. Londres: Pearson Prentice Hall.
- Tsilimigras, M. C.; Fodor, A. A. (2016). Compositional data analysis of the microbiome: fundamentals, tools, and challenges. *Ann Epidemiol*, 26(5), p. 330-335. <<https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2016.03.002>>
- Van Der Heijden, M. G. A.; Bardgett, R. D.; Van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11(3), p. 296-310. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>>
- Vigo, J.; Carreras, J.; Ferré, A. (2005). *Manual dels hàbitats de Catalunya*, vol. I, Introducció. Barcelona: Generalitat de Catalunya.
- Wang, Q.; Cole, J. R. (2024). Updated RDP taxonomy and RDP Classifier for more accurate taxonomic classification. *Microbiology Resource Announcements*, 13(4), e01063-01023. <<https://doi.org/doi:10.1128/mra.01063-23>>
- Warton, D. I.; Wright, S. T.; Wang, Y. (2012). Distance-based multivariate analyses confound location and dispersion effects. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(1), p. 89-101. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2011.00127.x>>

- Watson, L.; Dallwitz, M. (2010). The families of mushrooms and toadstools represented in the British Isles. Versió: 20 juny 2009.
- Winfrey, C. C.; Resasco, J.; Fierer, N. (2025). Habitat specialization and edge effects of soil microbial communities in a fragmented landscape. *Ecology*, 106(4), e70072. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ecy.70072>>
- Wydro, U. (2022). Soil Microbiome Study Based on DNA Extraction: A Review. *Water*, 14(24), p. 3999. <<https://www.mdpi.com/2073-4441/14/24/3999>>
- Yu, K.; van den Hoogen, J.; Wang, Z. et al. (2022). The biogeography of relative abundance of soil fungi versus bacteria in surface topsoil. *Earth Syst. Sci. Data*, 14(9), p. 4339-4350. <<https://doi.org/10.5194/essd-14-4339-2022>>
- Zhang, M.; He, T.; Wu, P. et al. (2025). Recent advances in the nitrogen cycle involving actinomycetes: Current situation, prospect and challenge. *Bioresource Technology*, 419, p. 132100. <<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2025.132100>>
- Zhang, Y.; Schoch, C. L.; Fournier, J. et al. (2009). Multi-locus phylogeny of Pleosporales: a taxonomic, ecological and evolutionary re-evaluation. *Studies in Mycology*, 64, p. 85-102. <<https://doi.org/https://doi.org/10.3114/sim.2009.64.04>>

ANNEXOS

Annex I. Mostratge

Taula S1. Coordenades dels punts de mostratge (UTM 31N ETRS89).

Nom	Coordenada X (m)	Coordenada Y (m)	Nom	Coordenada X (m)	Coordenada Y (m)
A-1-1	456888	4636016	N-A-1-1	448983	4645112
A-1-2	456784	4635936	N-A-1-2	448971	4645081
A-1-3	456758	4635901	N-A-1-3	449022	4645085
A-1-4	456782	4635865	N-A-1-4	449040	4645102
A-1-5	456797	4635825	N-A-1-5	449009	4645144
A-2-1	455614	4636662	N-A-2-1	449322	4644870
A-2-2	455557	4636606	N-A-2-2	449369	4644880
A-2-3	455582	4636579	N-A-2-3	449392	4644877
A-2-4	455471	4636543	N-A-2-4	449413	4644908
A-2-5	455420	4636571	N-A-2-5	449379	4644907
A-3-1	455090	4636018	N-A-2-6	449458	4644921
A-3-2	455105	4636055	N-A-3-1	449304	4645286
A-3-3	455072	4636208	N-A-3-2	449256	4645282
A-3-4	454792	4636115	N-A-3-3	449214	4645313
A-3-5	455148	4636064	N-A-3-4	449196	4645369
B-1-1	457036	4635908	N-A-3-5	449308	4645371
B-1-2	457090	4635940	N-B-1-1	448879	4645373

Nom	Coordenada X (m)	Coordenada Y (m)	Nom	Coordenada X (m)	Coordenada Y (m)
B-1-3	457133	4635863	N-B-1-2	448878	4645439
B-1-4	457173	4635832	N-B-1-3	448922	4645459
B-1-5	457206	4635864	N-B-1-4	448951	4645420
B-2-1	457080	4636123	N-B-1-5	448925	4645328
B-2-2	457168	4636119	N-B-2-1	448333	4645107
B-2-3	457352	4636114	N-B-2-2	448308	4645050
B-2-4	457258	4636114	N-B-2-3	448293	4645035
B-2-5	457471	4636098	N-B-2-4	448316	4644994
B-3-1	461661	4640793	N-B-2-5	448333	4645023
B-3-2	461624	4640737	N-B-3-1	447933	4644821
B-3-3	461629	4640685	N-B-3-2	447918	4644779
B-3-4	461626	4640487	N-B-3-3	447927	4644730
B-3-5	461566	4640405	N-B-3-4	447937	4644715
P-1-1	455818	4635822	N-B-3-5	447963	4644669
P-1-2	455847	4635842	N-P-1-1	449172	4643223
P-1-3	455938	4635835	N-P-1-2	449154	4643187
P-1-4	456041	4635921	N-P-1-3	449150	4643204
P-1-5	455629	4635722	N-P-1-4	449128	4643166
P-2-1	460199	4641024	N-P-1-5	449161	4643238
P-2-2	460144	4640952	N-P-2-1	449176	4643492
P-2-3	460242	4641007	N-P-2-2	449155	4643505
P-2-4	460470	4641077	N-P-2-3	433467	4670519
P-2-5	460400	4641050	N-P-2-4	449148	4643463
P-3-1	450565	4630309	N-P-2-5	449142	4643434
P-3-2	450649	4630369	N-P-3-1	449449	4643499
P-3-3	450696	4630395	N-P-3-2	449436	4643484
P-3-4	450882	4630595	N-P-3-3	449407	4643488
P-3-5	450958	4630701	N-P-3-4	449412	4643465
			N-P-3-5	433436	4670663

Annex II. Anàlisi metagenòmica

Regió 16S-V4 bacteriana

És un segment altament conservat però variable del gen 16S rRNA, comunament usat en metagenòmica bacteriana per a la identificació taxonòmica i l'elaboració de perfils de la comunitat.

La regió V4 forma part del gen 16S rRNA (11.500 pb de llarg en bacteris) i està flanquejada per seqüències conservades, així que és fàcil d'amplificar amb primers universals. La llargada és típicament entre 250 i 300 pb (depenent dels primers usats i la tecnologia de seqüenciació).

Aquests primers es dirigeixen a regions conservades flanquejant la V4 i permeten l'amplificació a través de diversos tàxons bacterians.

Regió ITS2 fúngica

La ITS2 (*internal transcribed spacer 2*) és una regió no codificant que es troba entre els gens 5.8S i 28S rRNA en l'ADN ribosòmic nuclear fúngic (ADNr). S'usa àmpliament com a codi de barres d'ADN per identificar i classificar fongs en mostres ambientals i clíniques.

Característiques clau de la regió ITS2: és molt variable entre espècies de fongs, cosa que la fa útil per identificar-la com a espècie. És flanquejada per regions conservades, cosa que permet el disseny de primers universals per a amplificació. Típicament de 200 a 450 pb de longitud, depenent del grup fúngic.

Si comparem la idoneïtat de la ITS1 versus la ITS2, trobem que la primera s'ubica entre 18S i 5.8S rRNA i la segona entre

5.8S i 28S rRNA. ITS1 té més variabilitat de longitud (150 a 400 pb), i a ITS2 la variabilitat és més petita (200 a 450 pb). Pel que fa a la resolució d'espècies, la regió ITS1 és adequada, però a vegades és problemàtica per a *Basidiomycota*. ITS2 és millor per a *Ascomycota* i *Basidiomycota*. En cobertura taxonòmica, ITS1 captura fongs divergents de manera més primerenca (com ara *Mucoromycota*). ITS2, en canvi, és més fiable per a fongs superiors (com ara *Ascomycota* i *Basidiomycota*). Des d'un punt de vista de desafiaments de seqüenciació, ITS1 és més propens a la variació de longitud i seqüències quimèriques, mentre que ITS2 ofereix una ampliació més estable a través dels tàxons. Si ens centrem en els casos d'ús, ITS1 recull una diversitat fúngica més àmplia, però a vegades amb soroll de fons. En canvi, ITS2 és preferible per a la metagenòmica.

En resum, es recomana usar ITS1 si es vol estudiar una àmplia gamma de fongs, incloent-hi llinatges que varien de forma primerenca, com *Mucoromycota*. Per contra, ITS2 sembla més adequat si se centra en *Ascomycota* i *Basidiomycota*, que dominen moltes comunitats de fongs, com ara en sòls o en simbionts vegetals. Així, ITS2 és més popular per a la metagenòmica perquè: 1) és més estable a través de tàxons fúngics i té menys biaixos d'amplificació; 2) ofereix una millor resolució taxonòmica per a la majoria de grups fúngics comuns, i 3) és menys propens a seqüenciar artefactes en comparació amb ITS1.

Annex III. Composició i diversitat

Taula S2. Llista dels 20 OTUs bacterians i els 20 OTUs fúngics més abundants per cada grup de mostres (pastura, aforestació i bosc).
M: Abundància mitjana del taxó en cada grup de mostres. R: Posició relativa del taxó, de major a menor, basada en l'abundància mitjana en el grup.

				Global		Pastura		Aforestació		Bosc	
Domini	OTU	Taxonomia	Nivell taxonòmic	M	R	M	R	M	R	M	R
Bacteri	Otu1	<i>Spartobacteria</i>	Classe	2.048	1	2.243	1	2.670	1	1.069	3
Bacteri	Otu3100	<i>Spartobacteria</i>	Classe	1.757	2	941	4	2.654	2	1.660	2
Bacteri	Otu2	<i>Bradyrhizobium canariense</i>	Espècie	1.097	3	553	10	1.129	4	1.710	1
Bacteri	Otu2708	<i>Spartobacteria</i>	Classe	1.034	4	921	5	1.366	3	772	6
Bacteri	Otu146	<i>Spartobacteria</i>	Classe	922	5	1.032	2	923	6	790	5
Bacteri	Otu1581	<i>Spartobacteria</i>	Classe	674	6	550	11	1.026	5	402	16
Bacteri	Otu3	<i>Spartobacteria</i>	Classe	655	7	972	3	778	7	128	94
Bacteri	Otu9	<i>Acidobacteria Gp6</i>	Filum	616	8	626	8	638	10	578	8
Bacteri	Otu1596	<i>Spartobacteria</i>	Classe	553	9	524	12	738	8	365	18
Bacteri	Otu7938	<i>Acidobacteria Gp6</i>	Filum	539	10	656	7	552	13	385	17
Bacteri	Otu2007	<i>Spartobacteria</i>	Classe	526	11	611	9	636	11	293	29
Bacteri	Otu2577	<i>Acidobacteria Gp6</i>	Filum	501	12	495	15	528	14	476	11
Bacteri	Otu13	<i>Mycobacterium</i>	Gènere	501	13	213	34	415	15	949	4
Bacteri	Otu185	<i>Spartobacteria</i>	Classe	486	14	435	18	693	9	300	26
Bacteri	Otu4	<i>Sphingomonas limnosediminicola</i>	Espècie	459	15	756	6	365	19	215	39
Bacteri	Otu5	<i>Acidobacteria Gp16</i>	Filum	360	16	440	17	391	17	226	35
Bacteri	Otu28	<i>Acidobacteria Gp6</i>	Filum	350	17	467	16	365	18	192	47
Bacteri	Otu6246	<i>Acidobacteria Gp6</i>	Filum	349	18	332	24	411	16	294	28
Bacteri	Otu7	<i>Acidobacteria Gp4</i>	Filum	348	19	503	14	362	20	147	75
Bacteri	Otu8525	<i>Spartobacteria</i>	Classe	332	20	53	206	604	12	340	19
Bacteri	Otu20	<i>Bradyrhizobiaceae</i>	Família	320	22	229	32	330	24	419	15
Bacteri	Otu4461	<i>Spartobacteria</i>	Classe	317	23	344	20	297	27	307	24

				Global		Pastura		Aforestació		Bosc	
Domini	OTU	Taxonomia	Nivell taxonòmic	M	R	M	R	M	R	M	R
Bacteri	Otu11	<i>Acidobacteria Gp4</i>	Fílum	314	24	504	13	211	40	210	41
Bacteri	Otu45	<i>Paraburkholderia</i>	Gènere	225	31	86	121	194	50	428	14
Bacteri	Otu18	<i>Gammaproteobacteria</i>	Classe	210	32	7	1.397	56	183	638	7
Bacteri	Otu16	<i>Acidobacteria Gp2</i>	Fílum	189	39	49	226	112	84	451	13
Bacteri	Otu39	<i>Acidobacteria Gp2</i>	Fílum	178	44	31	388	85	121	468	12
Bacteri	Otu8	<i>Mycobacterium</i>	Gènere	177	45	34	356	24	429	531	10
Bacteri	Otu12	<i>Spartobacteria</i>	Classe	176	46	2	2919	30	344	558	9
Bacteri	Otu25	<i>Tepidisphaera mucosa</i>	Espècie	160	51	351	19	81	128	27	477
Bacteri	Otu155	<i>Tundrisphaera lichenicola</i>	Espècie	132	71	46	239	62	164	321	20
Fong	Otu5	<i>Cortinarius incisor</i>	Espècie	2.080	1	5.861	1	32	288	0	1.804
Fong	Otu21	<i>Cenococcum_sp</i>	Espècie	2.023	2	347	33	1.754	6	4.357	2
Fong	Otu2	<i>Trechispora_sp</i>	Espècie	1.923	3	17	458	3.692	2	2.088	7
Fong	Otu1	<i>Geoglossum fallax</i>	Espècie	1.868	4	5.260	2	20	394	15	318
Fong	Otu9	<i>Oidiodendron griseum</i>	Espècie	1.735	5	579	21	1.093	12	3.892	3
Fong	Otu3	<i>Geastrum pectinatum</i>	Espècie	1.699	6	28	335	4.762	1	28	215
Fong	Otu4	<i>Cortinarius torvus</i>	Espècie	1.428	7	8	709	27	333	4.813	1
Fong	Otu26	<i>Oidiodendron chlamydosporicum</i>	Espècie	1.419	8	81	159	746	19	3.835	4
Fong	Otu7	<i>Inosperma acutofulvum</i>	Espècie	1.194	9	1.706	9	1.673	7	7	457
Fong	Otu20	<i>Piloderma bicolor</i>	Espècie	1.102	10	9	670	1.400	9	2.057	8
Fong	Otu6	<i>Trichoglossum_sp</i>	Espècie	1.095	11	3.085	3	18	428	0	1.834
Fong	Otu8	<i>Lactarius quietus</i>	Espècie	918	12	328	35	2.270	4	3	727
Fong	Otu10	<i>Nakaseomyces_sp</i>	Espècie	812	13	2.270	4	22	377	11	356
Fong	Otu11	<i>Elaphomyces anthracinus</i>	Espècie	809	14	5	900	2.283	3	5	586
Fong	Otu12	<i>Hygrophorus russula</i>	Espècie	785	15	3	1.194	16	473	2.648	5
Fong	Otu25	<i>Gliophorus psittacinus</i>	Espècie	692	16	1.950	5	12	541	0	1.532

				Global		Pastura		Aforestació		Bosc	
Domini	OTU	Taxonomia	Nivell taxonòmic	M	R	M	R	M	R	M	R
Fong	Otu13	<i>Pseudolaccaria pachyphylla</i>	Espècie	681	17	1.913	6	16	471	3	713
Fong	Otu29	<i>Cortinarius epipurpus</i>	Espècie	672	18	5	901	497	33	1.684	12
Fong	Otu19	<i>Ascomycota</i>	Filum	669	19	1.879	7	8	629	11	368
Fong	Otu14	<i>Wilcoxina mikolae</i>	Espècie	658	20	1.845	8	16	463	5	604
Fong	Otu17	<i>Amanita rubescens</i>	Espècie	641	21	14	525	190	74	1.933	9
Fong	Otu39	<i>Cortinarius</i>	Gènere	639	22	3	1.195	13	509	2.154	6
Fong	Otu15	<i>Cortinarius furvus</i>	Espècie	629	23	2	1.286	1.776	5	7	467
Fong	Otu24	<i>Glutinomyces_sp</i>	Espècie	618	24	29	332	602	25	1.343	17
Fong	Otu82	<i>Cenococcum geophilum</i>	Espècie	593	25	50	229	332	46	1.557	13
Fong	Otu49	<i>Oidiodendron pilicola</i>	Espècie	573	26	5	940	208	69	1.691	11
Fong	Otu16	<i>Cortinarius maculatocaesпитosus</i>	Espècie	569	27	4	1.026	1.599	8	11	371
Fong	Otu33	<i>Sebacina_sp</i>	Espècie	526	28	5	941	287	55	1.438	15
Fong	Otu23	<i>Russula cyanoxantha</i>	Espècie	515	29	4	1.027	5	887	1.743	10
Fong	Otu58	<i>Russula vesca</i>	Espècie	512	30	8	700	318	49	1.351	16
Fong	Otu32	<i>Penicillago nodositata</i>	Espècie	512	31	258	48	914	16	333	39
Fong	Otu22	<i>Cuphophyllus russocoriaceus</i>	Espècie	509	32	92	138	1.347	10	5	587
Fong	Otu18	<i>Hymenogastraceae</i>	Família	502	33	1.411	10	10	581	2	904
Fong	Otu31	<i>Cladosporium herbarum</i>	Espècie	489	34	1.160	11	157	89	83	107
Fong	Otu40	<i>Cortinarius diabolicorigens</i>	Espècie	436	35	1	1.710	5	890	1.477	14
Fong	Otu30	<i>Russula foetens</i>	Espècie	401	38	1.130	12	5	840	0	2.006
Fong	Otu28	<i>Clitocybe nebularis</i>	Espècie	398	39	4	1.006	1.118	11	6	496
Fong	Otu27	<i>Hygrophorus arbustivus</i>	Espècie	375	40	3	1.196	1.052	13	8	424
Fong	Otu36	<i>Neoschizothecium carpinicola</i>	Espècie	352	41	962	13	30	311	8	429
Fong	Otu47	<i>Sebacina_sp</i>	Espècie	340	42	3	1.106	955	14	7	442

				Global		Pastura		Aforestació		Bosc	
Domini	OTU	Taxonomia	Nivell taxonòmic	M	R	M	R	M	R	M	R
Fong	Otu37	<i>Inocybe calida</i>	Espècie	338	43	2	1.393	950	15	8	425
Fong	Otu63	<i>GS35_sp</i>	Espècie	336	44	3	1.107	108	117	1.009	20
Fong	Otu44	<i>Cortinarius tigrinipes</i>	Espècie	332	45	1	1.628	89	137	1.022	19
Fong	Otu65	<i>Hyaloscyphaceae_sp</i>	Espècie	323	46	3	1.148	53	197	1.033	18
Fong	Otu53	<i>Leohumicola</i>	Gènere	317	48	822	14	76	157	1	1.026
Fong	Otu38	<i>Inosperma dodonae</i>	Espècie	296	49	4	989	834	17	3	728
Fong	Otu54	<i>Hydnellum</i>	Gènere	293	51	8	697	818	18	4	621
Fong	Otu34	<i>Onygenales</i>	Ordre	288	53	813	15	4	931	0	2.053
Fong	Otu41	<i>Russula garyensis</i>	Espècie	281	54	619	19	125	107	63	123
Fong	Otu76	<i>Clavulinopsis trigonospora</i>	Espècie	261	57	1	1.442	737	20	2	825
Fong	Otu42	<i>Sclerogaster compactus</i>	Espècie	248	62	699	16	2	1.332	2	846
Fong	Otu57	<i>Fusarium</i>	Gènere	225	67	612	20	23	364	4	658
Fong	Otu79	<i>Knufia_sp</i>	Espècie	222	68	621	18	6	761	2	870
Fong	Otu66	<i>Inocybe curvipes</i>	Espècie	222	69	625	17	3	1.134	0	1.591

Mentre a les regions tropicals la industrialització de l'agricultura ha portat a la desforestació, als països temperats ha conduït a l'increment de la superfície forestal. La seqüència, en regions com les Guïlleries, ha estat l'abandonament rural, l'emmatament, l'aforestació, la pèrdua de biodiversitat, i l'increment dels incendis forestals i la disminució del cabal dels rius.

És per això que la gestió forestal ha esdevingut imprescindible per recuperar la resiliència dels ecosistemes de muntanya i adaptar-los a nous riscos.

Les darreres recerques sobre la prehistòria ens parlen d'uns boscos europeus més esclarissats i en mosaic i de més diversitat biològica, amb els herbívors com a agents de canvi del paisatge. Ara bé, decidir on i com aclarir bosc o obrir pastures no és tan evident. Els registres històrics són limitats en el temps i l'espai i esdevenen una llacuna per a la presa de decisions.

Aquesta obra pretén aportar noves eines per a una gestió forestal avançada. A partir de la utilització d'informació més precisa sobre la distribució de la coberta vegetal prèvia a l'antropocè i mitjançant l'anàlisi de l'ADN microbià del sòl, els autors proven de trobar indicadors de l'evolució històrica dels antics ecosistemes oberts —habitualment vinculats a l'activitat herbívora— que siguin útils avui per detectar els llocs susceptibles d'aclarida en mosaic i, per tant, de millora de la resiliència del terreny.

