

Efecto de la invasión de *Nicotiana glauca* sobre la funcionalidad de la comunidad microbiana del suelo en ecosistemas semiáridos mediterráneos

Fuensanta Caravaca^{1,*}, Gisela Díaz², Pilar Torres², Manuel Campoy¹, Antonio Roldán¹

¹ CSIC-Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura. Department of Soil and Water Conservation. P.O. Box 164, Campus de Espinardo 30100-Murcia (Spain).

² Universidad Miguel Hernández de Elche. Department of Applied Biology. Avda. de la universidad, s/n. Edf. Torreblanca- 03202-Elche, Alicante (Spain).

* fc@cebas.csic.es

Resumen

Las plantas exóticas invasoras son capaces de alterar la composición y función de la comunidad microbiana del suelo llegando a facilitar su invasión. Partimos de la hipótesis de que (i) la invasión de los ecosistemas semiáridos mediterráneos por *Nicotiana glauca* promovería una comunidad microbiana en su rizosfera con funciones específicas y (ii) la funcionalidad de la comunidad microbiana de la rizosfera asociada con la planta invasora sería independiente de las características edáficas del sitio invadido. Probamos estas hipótesis en cuatro sitios con diferentes características edáficas. Estas ubicaciones incluyeron dos ecosistemas alterados por el hombre y dos ecosistemas naturales mediterráneos con características inhóspitas para las plantas (un suelo salino y uno yesífero), donde *N. glauca* formaba rodales mezclados con las correspondientes comunidades de plantas nativas. La función microbiana de la rizosfera fue estimada mediante los algoritmos PICRUST y FUNGuild. Las funciones microbianas de la rizosfera diferían entre la planta invasora y las especies de plantas nativas dominantes. En la comunidad microbiana de la rizosfera de la planta invasora predominaban las funciones bacterianas implicadas en el metabolismo de los compuestos de carbono y azufre así como los gremios saprófitos de la comunidad fúngica. La respiración del suelo y las actividades enzimáticas relacionadas con el ciclo de nutrientes alcanzaron menores valores en la rizosfera de las plantas de *N. glauca* invadiendo los suelos salinos y yesíferos. En conclusión, *N. glauca* produjo cambios en la funcionalidad de la comunidad microbiana del suelo en ecosistemas semiáridos mediterráneos, incluidos suelos afectados por salinidad y yeso.

Palabras clave: actividades enzimáticas, bacterias, diversidad funcional, hongos, plantas invasoras.

1. Introducción

Las especies exóticas invasoras constituyen una de las mayores amenazas para la biodiversidad a nivel mundial, alterando la estructura y funcionamiento del ecosistema invadido y causando importantes daños ecológicos y socioeconómicos (Early *et al.*, 2016). Las interacciones establecidas entre las plantas invasoras y la microbiota del suelo invadido pueden dar lugar a

procesos de retroalimentación positivos que refuerzan la invasión y limitan la resistencia y resiliencia a la invasión del ecosistema afectado (Inderjit y Cahill, 2015). La hipótesis de partida de esta investigación fue que las comunidades microbianas mutualistas (bacterias y hongos saprófitos) en la rizosfera de las plantas son determinantes en los procesos de implantación y competencia en las comunidades vegetales. El objetivo de este estudio fue analizar los posibles cambios encontrados en la funcionalidad de las comunidades de bacterias y hongos de la rizosfera de *Nicotiana glauca* invadiendo distintas localizaciones con diferentes características edáficas y coberturas vegetales nativas.

2. Materiales y Métodos

Nicotiana glauca Graham. (Tabaco moruno, aciculito, calenturero, gandul, bobo, venenero). Arbusto o arbolillo perennifolio originario de Argentina, Paraguay y Bolivia. En España se introdujo con fines ornamentales, primero en el archipiélago canario y posteriormente en las costas mediterráneas de la Península. Actualmente es una especie muy invasora. Su alta tasa de transpiración puede generar problemas de competencia por los recursos hídricos, escasos en los ambientes en los que crece.

La investigación se realizó en cuatro localidades de la Región de Murcia con diferentes características edáficas, donde parches invadidos por plantas de *N. glauca* (alrededor del 40% de la cubierta), de más de 20 años de edad, estaban próximos a parches de vegetación nativa. Estas localidades incluyeron dos ecosistemas alterados por la acción antrópica y dos ecosistemas naturales inhóspitos para las plantas (un suelo salino y uno yesífero). El muestreo se realizó como un factorial de dos factores con tres repeticiones, distribuidas al azar, el primer factor fue "Sitio" con cuatro niveles, y el segundo factor fue "Carácter invasivo" de la planta con dos niveles. En cada sitio, se establecieron tres parcelas de muestreo (3 m por 3 m), separadas por 100 m, donde crecían la invasora y plantas nativas. Dentro de cada parcela, recolectamos una muestra de suelo de la rizosfera de la planta invasora y una muestra compuesta formada por muestras de las rizosferas de las especies nativas más abundantes (24 en total).

En las muestras de suelo rizosférico se determinaron la biomasa microbiana (BM) por el método de respiración inducida por sustrato (Anderson y Domsch, 1978), la respiración basal usando un respirómetro (Microtract), la actividad microbiana global (actividad deshidrogenasa) y las actividades enzimáticas relacionadas con la descomposición y ciclos de C, N y P: actividades β -glucosidasa, ureasa, proteasa y fosfomonoesterasa alcalina (Alef y Nannipieri, 1995).

El análisis de predicción del potencial funcional de la comunidad bacteriana y fúngica se realizó utilizando el software PICRUSt2 (Langille *et al.*, 2013; Douglas *et al.*, 2019) y FUNGuild (Nguyen *et al.*, 2016), respectivamente.

3. Resultados y Discusión

Todos los parámetros relacionados con la actividad microbiana de la rizosfera se vieron afectados por el carácter invasivo de la planta, mientras que solo las actividades deshidrogenasa, proteasa y fosfomonoesterasa alcalina diferían entre los sitios invadidos (Tabla 1). Las pruebas post hoc de Tukey HSD revelaron que las diferencias entre las plantas invasora y nativas solo fueron significativas en los suelos salino y yesífero. En ambos sitios, las plantas nativas tenían mayores niveles en las actividades deshidrogenasa (76% más en promedio), β -glucosidasa (91%), ureasa (74%), proteasa (89%) y fosfomonoesterasa alcalina (83%) y tasa de respiración del suelo (76%) que la planta invasora.

Tabla 1. Propiedades bioquímicas y biológicas de la rizosfera de la planta invasora (C= *N. glauca*) y la comunidad de plantas nativas (N = native) de 4 sitios invadidos. DH = actividad deshidrogenasa; BGL = actividad β -glucosidasa; ALP = actividad fosfomonoesterasa alcalina; URE = actividad ureasa; PRT = actividad proteasa; SR = respiración del suelo.

Sitio		DH	BGL	ALP	URE	PRT	SR
		($\mu\text{g INTF g}^{-1}$)	($\mu\text{mol PNF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	($\mu\text{mol PNF g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	($\mu\text{mol N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	($\mu\text{mol N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	($\text{mg C-CO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$)
M	MG	12.1c	0.13de	0.33d	0.32bc	0.10cd	1.7d
	MN	114.6 b	2.44a	6.09a	1.00a	1.67a	11.7a
A	AG	18.2c	0.35bcd	0.69bcd	0.48ab	0.47bc	5.5bcd
	AN	29.9c	0.98abc	1.41bc	0.46ab	0.33cd	6.2abc
B	BG	85.6b	0.29cde	0.61bcd	0.46ab	0.0 d	6. abc
	BN	96.0b	0.76bc	0.58cd	0.32bc	0.2 cd	6.8abc
LL	LLG	84.8b	0.11e	0.43d	0.14c	0.17cd	3.0cd
	LLN	227.7a	0.91ab	1.53b	0.71ab	1.13ab	8.8ab

El análisis funcional con PICRUST2 reveló un total de 269 rutas metabólicas para bacterias rizosféricas de las plantas invasora y la comunidad de plantas nativas. De acuerdo con la prueba t de Welch con la corrección Benjamini-Hochberg (valor $q < 0.05$), 67 rutas metabólicas fueron significativamente diferentes entre las bacterias rizosféricas de las plantas invasora y nativas. En aproximadamente el 55% de las rutas metabólicas previstas, las mayores abundancias relativas de tales funciones bacterianas se observaron en la rizosfera de las plantas invasoras (Tabla 2). La abundancia relativa de saprófitos fue aproximadamente 13 veces mayor en la rizosfera de *N. glauca*, mientras que la abundancia relativa de patógenos de plantas fue aproximadamente 92 veces mayor en la rizosfera de las plantas nativas (Tabla 3).

Tabla 2. Abundancia relativa de las funciones estimadas utilizando PICRUST para las comunidades bacterianas de la rizosfera de *N. glauca* y de la comunidad de plantas nativas.

Ruta metabólica	descripción	Ruta metabólica principal	Abundancia relativa (% Invasora)	Abundancia relativa (% Nativa)
PWY0-1061	superpathway of L-alanine biosynthesis	Amino Acid Biosynthesis	0.43	0.02
ANAEROFrucAT-PWY	homolactic fermentation	Fermentation to Short-Chain Fatty Acids	0.48	0.11
GLYCOLYSIS-TCA-GLYOX-BYPASS	superpathway of glycolysis, pyruvate dehydrogenase,	Glycolysis, pentose phosphate pathways, and TCA cycle	0.47	0.26
PWY-6901	superpathway of glucose and xylose degradation	Carbohydrate Degradation	0.23	0.03
PWY-621	sucrose degradation III (sucrose invertase)	Carbohydrate Degradation	0.22	0.02
HOMOSER-METSYN-PWY	L-methionine biosynthesis I	Amino Acid Biosynthesis	0.43	0.24
PWY0-1415	superpathway of heme biosynthesis from	Cofactors, Prosthetic Groups, Electron Carriers	0.29	0.11
PWY-5121	superpathway of geranylgeranyl diphosphate biosynthesis II (via MEP)	Cofactors, Prosthetic Groups, Electron Carriers, Secondary Metabolite Biosynthesis	0.52	0.36
MET-SAM-PWY	superpathway of S-adenosyl-L-methionine biosynthesis	Amino Acid Biosynthesis	0.47	0.31
RHAMCAT-PWY	L-rhamnose degradation I	Carbohydrate Degradation	0.15	0.01
ARGORNPROST-PWY	arginine, ornithine and proline interconversion	Amino Acid Degradation	0.15	0.01
P125-PWY	superpathway of (R,R)-butanediol biosynthesis	Biosynthesis of other secondary metabolites	0.17	0.02
PWY-7007	methyl ketone biosynthesis	Generation of Precursor Metabolite and Energy	0.24	0.11
NONOXPENT-PWY	pentose phosphate pathway (non-oxidative branch)	Generation of Precursor Metabolite and Energy	0.81	0.68
PENTOSE-P-PWY	pentose phosphate pathway	Generation of Precursor Metabolite and Energy	0.63	0.51
PANTO-PWY	phosphopantothenate biosynthesis I	Cofactor, Prosthetic Group, Electron Carrier, and	0.63	0.51
PWY-7616	methanol oxidation to carbon dioxide	Detoxification	0.14	0.02
P163-PWY	L-lysine fermentation to acetate and butanoate	Amino Acid Degradation	0.10	0.00
CALVIN-PWY	Calvin-Benson-Bassham cycle	CI Compound Utilization and Assimilation	0.73	0.65
PHOSLIPSYN-PWY	superpathway of phospholipid biosynthesis I (bacteria)	Fatty Acid and Lipid Biosynthesis	0.81	0.73
METHYLGALLATE-DEGRADATIO	methylgallate degradation	Aromatic Compound Degradation	0.09	0.01
ASPA5N-PWY	superpathway of L-aspartate and L-asparagine	Amino Acid Biosynthesis	0.09	0.01
PWY-5304	superpathway of sulfur oxidation (Acidians)	Sulfur Compound Metabolism	0.11	0.03
PWY-6338	superpathway of vanillin and vanillate degradation	Aromatic Compound Degradation	0.08	0.00
PWY-7097	vanillin and vanillate degradation I	Aromatic Compound Degradation	0.08	0.00
GLYCOLYSIS-E-D	superpathway of glycolysis and Entner-Doudoroff	Glycolysis	0.56	0.48
SER-GLYSYN-PWY	superpathway of L-serine and glycine biosynthesis I	Amino Acid Biosynthesis	0.74	0.67
P184-PWY	protocatechuate degradation I (meta-cleavage pathway)	Aromatic Compound Degradation	0.08	0.01
PWY-7098	vanillin and vanillate degradation II	Aromatic Compound Degradation	0.08	0.00
GALLATE-DEGRADATION-I-PWY	gallate degradation II	Aromatic Compound Degradation	0.08	0.01
GALLATE-DEGRADATION-II-PWY	gallate degradation I	Aromatic Compound Degradation	0.08	0.01
PWY-5747	2-methylcitrate cycle II	Carboxylate Degradation	0.07	0.01
PWY0-42	2-methylcitrate cycle I	Carboxylate Degradation	0.07	0.01
PWY4FS-7	phosphatidylglycerol biosynthesis I (plastidic)	Fatty Acid and Lipid Biosynthesis	0.75	0.69
PWY4FS-8	phosphatidylglycerol biosynthesis II (non-plastidic)	Fatty Acid and Lipid Biosynthesis	0.75	0.69
PWY-7446	sulfoglycolysis	Secondary Metabolite Degradation	0.07	0.01

Tabla 3. Abundancia relativa de las funciones estimadas utilizando FUNGuild para las comunidades fúngicas de la rizosfera de *N. glauca* y de la comunidad de plantas nativas.

Specie	Guild	Relativa abundancia (%)	Relativa abundancia (%)
		Invasora	Nativa
s__Didymella phacae	Animal Pathogen-Plant Pathogen-Undefined Saprotroph	0,01	0,92
s__Aspergillus fumigatiaffini	Undefined Saprotroph	0,66	0,06
s__Aspergillus lanosus	Undefined Saprotroph	0,48	0,03

4. Conclusiones

La invasión por *N. glauca* de diferentes ecosistemas semiáridos mediterráneos, expuestos a diferentes factores limitantes de carácter edáfico, produjo alteraciones en la funcionalidad de las comunidades rizosféricas tanto de bacterias como de hongos saprófitos. Cabe destacar que, en los suelos salinos o caracterizados por un elevado contenido en yeso, se encontraron valores más bajos en cuanto al ciclado de nutrientes y a la descomposición de materia orgánica para las muestras procedentes de la rizosfera de la planta invasora. Esto podría suponer un impacto negativo para el funcionamiento del ecosistema, que conduzca a un incremento posterior de la invasión.

5. Referencias

- Alef, K.; Nannipieri, P. 1995. *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. London: Academic Press.
- Anderson, J.P.E.; Domsch, K.H. 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* 10: 215-221.
- Early, R.; Bradley, B.A.; Dukes, J.S.; Lawler, J.J.; Olden, J.D.; Blumenthal, D.M.; Gonzalez, P.; Grosholz, E.D.; Ibañez, I.; Miller, L.P.; Sorte, C.J.B.; Tatem, A.J. 2016. Global threats from invasive alien species in the twenty-first century and national response capacities. *Nat. Commun.* 7: 12485.
- Inderjit; Cahill J.F. 2015. Linkages of plant-soil feedbacks and underlying invasion mechanisms. *AoB Plants* 7: plv022.
- Langille, M.G.I.; Zaneveld, J.; Caporaso, J.G.; McDonald, D.; Knights, D.; Reyes, J.A.; Clemente, J.C.; Burkepille, D.E.; Vega, Thurber, R.L.; Knight, R.; Beiko, R.G.; Huttenhower, C. 2013. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nat. Biotechnol.* 31: 814-821.
- Nguyen, N.H.; Song, Z.; Bates, S.T.; Branco, S.; Tedersoo, L.; Menke, J.; Kennedy, P.G. 2016. FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecol.* 20: 241-248.