



Universidad
Complutense
Madrid



Universidad
Rey Juan Carlos



TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

EFFECTO DEL INCREMENTO DE TEMPERATURA SOBRE LA ACTIVIDAD ALIMENTARIA DE LA FAUNA EDÁFICA Y LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN ANTROSOLES URBANOS



Máster Universitario en Restauración de Ecosistemas

DIRECTOR DEL TFM: JUAN ANTONIO DELGADO SÁEZ

TUTOR ACADÉMICO: SALVADOR REBOLLO DE LA TORRE

TRABAJO REALIZADO POR: FERNANDO JESÚS CLEMENT ORTIZ

Convocatoria ordinaria de julio de 2022

ÍNDICE

Resumen	1
<i>Abstract</i>	1
Palabras clave/keywords	2
Introducción	2
Materiales y métodos	8
Área de estudio	8
Cámaras de alta temperatura (OTC)	12
Láminas con cebo	14
Recopilación de datos y mediciones	16
Diseño experimental	16
Actividad alimentaria	16
Actividad enzimática	19
Análisis estadísticos	19
Resultados	20
Análisis de la actividad alimentaria	20
Análisis actividad enzimática	25
Glucosidasa	25
Ureasa	30
Fosfatasa	34
Discusión	38
Actividad alimentaria	38
Actividad enzimática	41
Conclusiones	44
Agradecimientos	45
BIBLIOGRAFÍA	45
Anexos	59
Anexo I	59
Anexo II	59
Anexo III	60
Anexo IV	60
Anexo V	61
Anexo VI	62
Anexo VII	63

Resumen

El suelo es importante para el funcionamiento de los ecosistemas terrestres. Este funcionamiento puede verse amenazado en las ciudades, donde el suelo que queda disponible se ve afectado por la contaminación, las labores de jardinería y el efecto isla de calor, disminuyendo su capacidad para proporcionar servicios ecosistémicos. Los beneficios de estos servicios sobre la salud humana se ven comprometidos por el aumento de la urbanización y el cambio climático. En este contexto, los jardines urbanos aparecen como enclaves en los que quizá sea posible la conservación de los procesos ecológicos del suelo. Para entender la sensibilidad de estos procesos al cambio climático, se escogieron tres áreas ajardinadas urbanas en la que se emplearon *open-top chambers* (OTCs) para incrementar la temperatura. Concretamente se midió la actividad enzimática del suelo y la actividad alimentaria de la fauna edáfica (usando el procedimiento *bait-lamina test*). Los resultados obtenidos demostraron distintos valores de alimentación de la fauna edáfica entre las zonas, existiendo una actividad notable en UCM y prácticamente nula en las otras dos localidades, así como variaciones de la actividad enzimática. Por otro lado, el tratamiento de calentamiento con OTCs tuvo efectos positivos sobre la actividad alimentaria en la localización donde fue más elevada (UCM), mientras que en la actividad enzimática se registraron casos en los que el efecto se produjo únicamente en determinados meses o fue inexistente. Muchas de las diferencias halladas pueden deberse al manejo y gestión que se dé en las zonas, por lo que sería de interés aumentar, en futuros estudios, el número de jardines urbanos para poder analizar cómo influyen las labores de mantenimiento a los procesos edáficos.

Abstract

Soil is important for the functioning of terrestrial ecosystems. This functioning can be threatened in cities, where the soil that remains available is affected by pollution, gardening and the heat island effect, reducing its ability to provide ecosystem services. The benefits of these services on human health are being compromised by urbanization and climate change. In this context, urban gardens appear as surfaces in which it may be possible to conserve ecological processes of the soil. To understand the sensitivity of these processes to climate change, three urban gardens were chosen in which open-top chambers (OTCs) were used to increase the temperature. Specifically, the enzymatic

activity of the soil and the feeding activity of the edaphic fauna were measured (using the bait-lamina test procedure). The results obtained showed different feeding values of the edaphic fauna between the zones, with a notable activity in UCM and practically null in the other two localities, as well as variations in the enzymatic activity. On the other hand, the heating treatment with OTCs had positive effects on feeding activity in the location where it was highest (UCM), while in enzymatic activity there were cases in which the effect occurred only in certain months or was non-existent. Many of the differences found may be due to the management that occurs in the areas, so it would be of interest to increase, in future studies, the number of urban gardens to be able to analyze how managements influences soil processes.

Palabras clave/keywords

Cámaras de alta temperatura, descomposición, fragmentación, prueba de la lámina de cebo, suelo, zonas verdes urbanas.

Open-top chambers, decomposition, fragmentation, bait-lamina test, soil, urban green areas.

Introducción

El suelo es un sistema complejo que contiene un gran número de organismos, y en el que existen múltiples interacciones entre los elementos bióticos y abióticos que lo componen (Menta, 2012). La funcionalidad de los ecosistemas terrestres, se encuentra muy influenciada por este sistema, que a su vez se ve modificado por variables climáticas y perturbaciones como incendios, o por las distintas especies vegetales que existen en él (Musso *et al.*, 2014). La humanidad requiere suelos en buen estado que proporcionen distintos bienes y servicios, desde el aprovisionamiento de alimentos o materiales como madera o fibras, hasta otros servicios como la retención de contaminantes, además de su importancia por el papel que desempeñan en los ciclos de nutrientes (Millennium Ecosystem Assessment, 2005) y en los procesos biogeoquímicos (Menta, 2012). En estos aspectos, la biodiversidad del suelo es de gran importancia porque, a través de las distintas actividades que realizan los organismos, se da lugar a muchas de las funciones que permiten la existencia de los servicios ecosistémicos (Griffiths, 2016). Sin embargo, una

parte de los ecosistemas terrestres mundiales se encuentran afectados y degradados, surgiendo por este motivo la necesidad de restaurar los suelos degradados y conservar aquellos no afectados para asegurar el mantenimiento de sus servicios (Keesstra *et al.*, 2016; Muñoz-Rojas, 2018). Además, estas actividades de restauración de los suelos se encuentran muy relacionadas con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (Keesstra *et al.*, 2016).

Los servicios ecosistémicos proporcionados por la naturaleza son vitales para las áreas urbanas, ya que en ellas reside una gran parte de la población mundial y es esperable que la tendencia siga al alza (Seto & Shepherd, 2009; Guterres & Spiegel, 2012), en línea con el proceso de urbanización en el que se concentra la actividad dentro de las zonas urbanas en detrimento de las rurales (Antrop, 2014). Además, este crecimiento poblacional normalmente está acompañado por un aumento del área ocupada por las ciudades (Barthelemy, 2019). Dentro de los elementos que constituyen la matriz urbana, los parques y jardines son puntos urbanos con importancia al ser capaces de proveer servicios ecosistémicos (Loures & Costa, 2012). En este contexto, las áreas y espacios verdes urbanos tienen multitud de impactos positivos sobre la salud humana, mejorando el estado físico y mental (Tzoulas *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2017). La existencia de los espacios verdes refuerza el sistema inmunitario humano y su microbioma (Ruokolainen *et al.*, 2016), motivado por la exposición a la diversidad microbiana natural (Robinson *et al.*, 2018), por lo que la restauración ecológica en núcleos urbanos puede ser de gran importancia en la recuperación de estos beneficios (Mills *et al.*, 2020). Además de los servicios ecosistémicos relacionados con la salud, estos espacios verdes brindan beneficios socioeconómicos a la sociedad (Tzoulas *et al.*, 2007), además de servir como promotores de la conectividad del paisaje y en la sostenibilidad urbana (Loures & Costa, 2012). Algunas de sus funciones pueden resultar de utilidad en las actividades de restauración de ecosistemas gracias a la capacidad que tienen los suelos en los jardines de, por ejemplo, retener y almacenar metales (Setälä *et al.*, 2017), o por colaborar en el secuestro y acumulación del carbono debido a que sus suelos retienen el carbono orgánico de la hojarasca, que con el tiempo será descompuesto para retornar a la atmósfera (Jo, 2002). También son de interés las actividades de restauración de las zonas verdes porque son de gran importancia para la conservación de la biodiversidad urbana (Aronson *et al.*, 2017).

No se tiene gran conocimiento aún de las interacciones entre el suelo de estas áreas y el resto del ecosistema urbano; ni tampoco sobre la totalidad de los servicios que brindan sus procesos, ya que no existen muchos trabajos que hayan abordado esta temática (Byrne, 2007). Sí que se sabe que los núcleos urbanos incentivan cambios en la biodiversidad y modifican los ciclos biogeoquímicos a nivel planetario (Grimm *et al.*, 2000). Esto es conocido por estudios que demuestran aumentos en la capacidad de nitrificación y en las tasas de descomposición de la hojarasca en zonas arboladas urbanas (McDonnell *et al.*, 1997; Pickett *et al.*, 2001), pese a que puedan presentar menor número de hongos y microartrópodos (McDonnell *et al.*, 1997). Además, es posible que los suelos urbanos reciban aportes de materia orgánica extra, a través de, por ejemplo, la adición de fertilizantes o suelos procedentes de otros lugares (Lorenz & Lal, 2009).

Dada la importancia de los organismos edáficos, conviene señalar a continuación algunas de sus características y funciones principales. Las comunidades de invertebrados son responsables del mantenimiento de la estructura física del suelo y permiten el reciclado de nutrientes, ya que realizan una gran parte del procesado de los detritus orgánicos, que a su vez permite su descomposición final al hacerlos más accesibles a la microbiota edáfica (Lavelle *et al.* 1997). Se ha demostrado que la presencia de la fauna edáfica incrementa la descomposición de la hojarasca, mientras que su ausencia posiblemente afecte negativamente a la tasa de descomposición (Njoroge *et al.*, 2021). El proceso de descomposición de la materia orgánica puede ser fácilmente definido como la pérdida de masa producida por la lixiviación de elementos solubles, por oxidaciones que dan como resultado agua, dióxido de carbono y energía, o por pérdida de integridad física a causa de acciones como la trituración (Seastedt, 1984). Concretamente, la acción trituradora y fragmentadora de los invertebrados origina partículas finas que, posteriormente, posibilitan los procesos finales de mineralización y descomposición al originar una superficie más apta para ser colonizada por microorganismos (Seastedt, 1984), siendo las bacterias y los hongos edáficos los máximos causantes de la mineralización de la materia orgánica (Hamel *et al.*, 2007). Para completar la descomposición en el caso de la hojarasca, se debe producir la humificación de compuestos como la celulosa y la lignina, así como el lixiviado de elementos con un contenido de nitrógeno y carbono que termina mineralizado e inmovilizado (Coûteaux *et al.*, 1995). Este proceso de descomposición final estará determinado no solo por aspectos biológicos, como puede ser la abundancia de especies descomponedoras, sino que

también se verán implicados otros factores como la climatología y la calidad de la hojarasca (Coûteaux *et al.*, 1995).

La calidad de la hojarasca (definida por características químicas como la cantidad de N) es importante al determinar, en gran parte, la velocidad de su descomposición (Ge *et al.*, 2013), ya que tiene un impacto en la abundancia, diversidad y actividad de las poblaciones de descomponedores (Gartner & Cardon, 2004). A su vez, la presencia de hojarasca en el suelo ha sido señalada como la fuente de energía esencial para las poblaciones de organismos edáficos, y, además, la diversidad de tipos de hojarasca y de descomponedores influye en los procesos de descomposición y mineralización, teniendo un efecto directo en el desarrollo de las comunidades vegetales y en el correcto funcionamiento de los ecosistemas (Hättenschwiler *et al.*, 2005). Resumiendo, factores como la calidad de la hojarasca, la climatología y las poblaciones de organismos fragmentadores-descomponedores, así como sus interacciones, son cruciales en la regulación de los procesos de descomposición de la materia orgánica y en el reciclaje de nutrientes (Gartner & Cardon, 2004).

Los invertebrados son un grupo con gran diversidad, incluyendo organismos que consumen hojarasca como los protozoos y enquitreidos, o microartrópodos como ácaros y colémbolos (Wallwok, 1970; Menta, 2012), con un papel importante por ser reguladores de la cantidad de microorganismos en el suelo, además de consumir cantidades destacables de hojarasca (Hamel *et al.*, 2007). Otras especies destacables, con mayor tamaño corporal, son los isópodos, anélidos como las lombrices de tierra, gran número de insectos, arácnidos, miriápodos y también gasterópodos (Wallwok, 1970; Menta, 2012). Habría que mencionar también a algunas especies de diplópodos, isópodos y enquitreidos, que movilizan y trituran la hojarasca del sustrato, dando lugar a heces que pueden ser fácilmente colonizadas por los descomponedores microbianos (Hamel *et al.*, 2007), además de las lombrices de tierra, que son anélidos oligoquetos que representan gran parte de la biomasa del suelo y son fundamentales en el funcionamiento del ecosistema del suelo, por lo que se les considera como ingenieros del ecosistema (Anderson, 1995; Bertrand *et al.*, 2015).

Los suelos urbanos se ven afectados por el predominio de infraestructuras creadas por el ser humano que podrían comprometer algunas de sus funciones (como las relacionadas con los ciclos biogeoquímicos), por lo que las zonas verdes aparecen como parches de suelo funcional (Ungaro *et al.*, 2022). En referencia al papel de los suelos y

sus comunidades biológicas dentro los ciclos biogeoquímicos, estos siguen dinámicas complejas en las que variables del suelo, como la temperatura o la humedad, controlan el reciclado de nutrientes (Manzoni *et al.*, 2004). A su vez, el suelo es un depósito de elementos como el carbono, nitrógeno y fósforo, por lo que tiene relevancia en estos ciclos (Quinton *et al.*, 2010).

El carbono es imprescindible para la vida por su importancia en el metabolismo celular y en procesos como la fotosíntesis (Tolbert & Zelitch, 1983). Su ciclo destaca especialmente por ser un factor determinante del clima global a través del balance entre el carbono contenido en los ecosistemas y en la atmósfera (De Graaf *et al.*, 2015), y dentro de este ciclo, el suelo permite el retorno del carbono a la atmósfera (en forma de CO₂) una vez que los organismos vegetales y animales mueren y son descompuestos (Bolin, 1970).

En cuanto al nitrógeno, es un elemento fundamental para la fertilidad edáfica (Rincón & Gutiérrez, 2012). Dentro del ciclo del nitrógeno, centrandó la atención en las partes donde se ve implicado el suelo y su biota, se debe nombrar al amoníaco o amonio liberado durante el proceso de amonificación en el que la materia orgánica se descompone, dándose una mineralización mediada por organismos heterótrofos en la zona más superficial del sustrato, en la que se encuentra la mayor parte de los restos animales y vegetales (McNeill & Unkovich, 2007; Klotz & Stein, 2008). El ser humano tiene también un impacto en el ciclo del nitrógeno y en los propios suelos al fabricar fertilizantes nitrogenados que posteriormente son aplicados en el terreno para, entre otros usos, mejorar las producciones agrícolas o en labores de paisajismo y jardinería (Hauck, 1985; Jenkinson, 2001).

Como se ha señalado antes, el fósforo también es un elemento químico con presencia en el suelo. Gran parte del fósforo terrestre forma parte de él, incorporándose por la deposición de los desechos de seres vivos (Rincón & Gutiérrez, 2012). La transformación del fósforo orgánico contenido en estos desechos a fosfatos inorgánicos, acción que permite su reciclado, es realizada por organismos descomponedores (Rincón & Gutiérrez, 2012), por lo que la fauna y la microbiología del suelo son estrictamente necesarios para completar el ciclo (Emsley, 1980). Estos organismos descomponedores también precisan fosfatos para sus propias rutas metabólicas, por lo que representan una fracción importante del fósforo edáfico y son fuente de este elemento al morir (Dalai, 1977; Emsley, 1980; Tate, 1984). Como punto final, indicar que el ciclo del fósforo

también se ve alterado por distintas actividades antrópicas en el suelo, como la extracción de rocas fosfóricas o la aplicación en masa de fertilizantes con este componente (Yuan *et al.*, 2018).

Los suelos son considerados como activos enzimáticamente, presentando un grado de actividad enzimática que es de utilidad para la medición de características como la actividad biológica, o el reciclado de nutrientes y de la materia orgánica (Ladd, 1985). Además, los niveles de actividad enzimática sufren variaciones por varias causas, entre las que se encuentran fluctuaciones de temperatura, humedad, el tipo de sustrato e incluso el tipo de manejo del suelo (Adetunji *et al.*, 2017).

En lo referente a las características de estas enzimas seleccionadas, la β -glucosidasa se encuentra presente en especies animales, plantas, hongos, levaduras y bacterias (Veena *et al.*, 2011) y colabora en la catalización y biodegradación de algunos β -glucósidos de origen vegetal (Martínez & Tabatabai, 1997). Muchas de las reacciones que catalizan terminan produciendo glucosa, que será fuente de energía para el desarrollo y actividad de los microorganismos edáficos (Merino *et al.*, 2016; Adetunji *et al.*, 2017).

En cuanto a la ureasa, se encuentra también en muchos organismos, incluyendo hongos, bacterias, plantas e incluso en desechos animales (Follmer, 2008; Adetunji *et al.*, 2017). Es la enzima que permite la hidrólisis de la urea a NH_3 y CO_2 , aumentando el pH edáfico (Follmer, 2008; Das & Varma, 2010), y su estabilidad se encuentra influida por la humedad y temperatura del entorno. Tal y como mostraron Machuca *et al.*, (2015), la velocidad catalítica de esta enzima, entre otras, se ve reducida al disminuir las temperaturas (en este caso, de 37°C a 12°C). Por ello, es esperable que la actividad se vea modificada con el tratamiento en las *open-top chambers* (OTCs) de este trabajo.

Por otra parte, las fosfatasas son fundamentalmente producidas por organismos vegetales y microorganismos (Adetunji *et al.*, 2017), teniendo importancia al ser las responsables de la degradación de ésteres de ortofosfato en el suelo, entre otros compuestos (Condrón *et al.*, 2005).

El marco en el que se desarrolla el trabajo que se presenta está enfocado en las zonas urbanas, las cuales pueden presentar unas condiciones climáticas particulares por el efecto de la llamada “isla de calor” (Yagüe *et al.*, 1991), y cuyos suelos tienen un origen derivado de las actividades humanas, incluyendo la translocación de materiales, que pueden producir la existencia de contaminantes (Craul, 1992; De Kimpe & Morel, 2000). Este

estudio parte de la importancia de los suelos, incluidos sus procesos que dan lugar a una serie de beneficios para la sociedad. Debido a la concentración de población en núcleos urbanos, es importante conocer la posible influencia de estos entornos en su estado y funcionalidad. Aquí, se estudiaron dos procesos básicos del reciclaje de nutrientes, como son la fragmentación y descomposición final de la materia orgánica, a través de mediciones de la actividad alimentaria y enzimática de los organismos edáficos, por lo que es interesante analizar cómo se comportan estos organismos en áreas afectadas por la actividad humana, siendo el caso de los parques y jardines urbanos, que además cuentan con una serie de especies vegetales y procesos ecológicos que podrán dar lugar a distintos servicios ecosistémicos. Se plantea una hipótesis en la que las variaciones de temperatura en estas áreas deberían tener repercusión en la actividad alimentaria y enzimática, pudiendo acelerar los procesos de descomposición en el caso de que estas temperaturas se vean incrementadas. Por ello, el objetivo del trabajo será analizar si existen cambios en los patrones de alimentación de fauna edáfica y en la actividad enzimática (mediante muestreos de la actividad de tres enzimas: β -glucosidasa, fosfatasa y ureasa), en los suelos de 3 áreas ajardinadas urbanas, así como el efecto de la ciudad sobre estos patrones, simulando distintas condiciones de humedad y temperatura con una metodología en la que se emplearán *open-top chambers* para comparar parcelas control y experimentales.

Materiales y métodos

Área de estudio

El estudio se ha realizado en 3 zonas verdes del espacio urbano de la ciudad de Madrid (40°24'59"N 3°42'09"O), seleccionadas como ejemplos de praderas ornamentales en ecosistemas de carácter urbano en las que dominan las especies herbáceas.

La ciudad, de acuerdo con la clasificación de Köppen-Geiger, presenta un clima mediterráneo prácticamente semiárido (Kottek *et al.*, 2006), habiendo fuertes contrastes térmicos caracterizados por inviernos fríos y veranos con altas temperaturas (Núñez-Peiró *et al.*, 2021), siendo el valor medio de las temperaturas 14,6°C aproximadamente (Soler-Rovira *et al.*, 2010). Asimismo, las precipitaciones son más abundantes en el otoño y la primavera (Núñez-Peiró *et al.*, 2021), con una media anual aproximada de 436 milímetros (Soler-Rovira *et al.*, 2010).

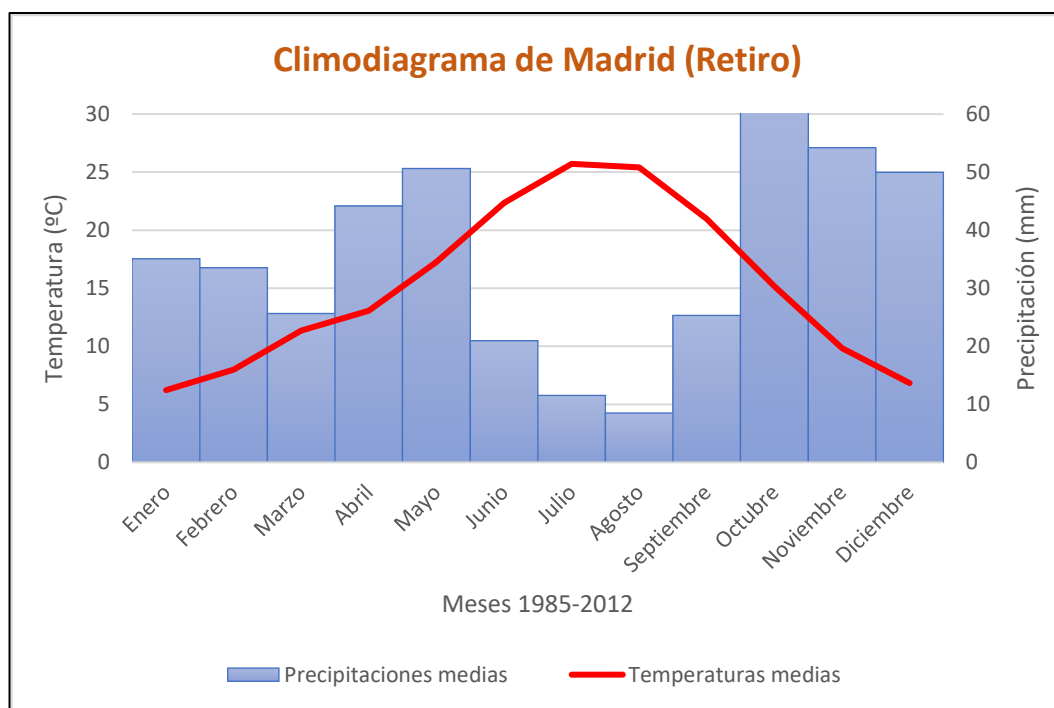


Figura 1. Climodiagrama que muestra los registros de precipitación y temperaturas medias de Madrid entre los años 1985 y 2012, elaborado a partir de las mediciones de la estación meteorológica del Retiro. Elaboración propia. Fuente de datos: Instituto de Estadística de la Comunidad de Madrid. Agencia Estatal de Meteorología (AEMET).

En cuanto a las agrupaciones litológicas más características de Madrid, cabe mencionar los depósitos de arcosas del Mioceno con gneises y granitos (Calvo Sorando *et al.*, 1994), llamadas “Facies Madrid” (Riba, 1957), además de afloramientos yesíferos en la zona sureste de la ciudad (Calvo Sorando *et al.*, 1994).

Como los enclaves escogidos son parques urbanos, es correcto clasificar los suelos en los que se realizaron los estudios de este trabajo como Antrosoles, ya que habrán sido altamente modificados y alterados por la presencia humana (IUSS Grupo de Trabajo WRB, 2007).

Las localizaciones de las zonas son las siguientes, referenciadas con el sistema geodésico de coordenadas WGS84:

1. Real Jardín Botánico de Madrid (abreviado: RJB) (40°24'36.01"N 3°41'21.24"O), en el distrito de Retiro.
2. Real Jardín Botánico Alfonso XIII (abreviado: UCM) (40°26'49.72"N 3°43'33.90"O), en la Universidad Complutense de Madrid, dentro del distrito Moncloa-Aravaca.

3. Canal de Isabel II (abreviado: CYII) ($40^{\circ}27'58.25''N$ $3^{\circ}41'9.95''O$), en una ubicación próxima al parque urbano Cuarto Depósito, perteneciente al distrito de Chamartín.

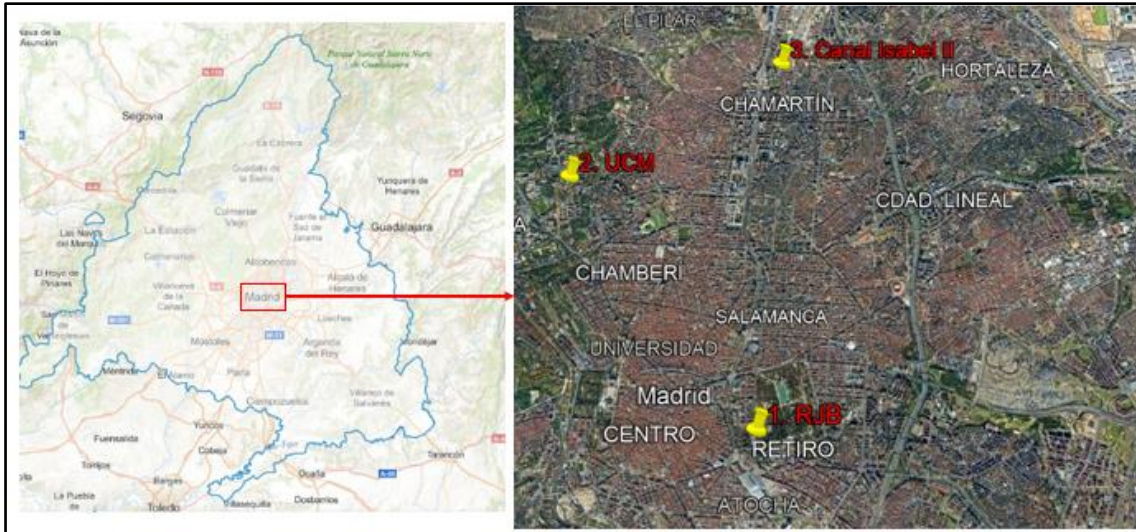


Figura 2. Ubicación de los puntos de estudio en la ciudad de Madrid (mapa e imagen aérea obtenidos del CNIG y Google Earth Pro).

Respecto a los usos y el estado de los suelos en tiempos pasados, dentro de las localizaciones seleccionadas, es necesario señalar que el Real Jardín Botánico de Madrid fue inaugurado en 1781 por Carlos III de España como emplazamiento para llevar a cabo actividades de carácter científico, ocupando un espacio en el que previamente existían zonas de labranza, eriales y áreas con huertas (Bolado Somolinos, 1981; Aparicio, 2000).

Por otra parte, el Real Jardín Botánico Alfonso XIII, en la Ciudad Universitaria de Madrid, abrió sus puertas el 24 de octubre de 2001, después de que durante el siglo XX se planteara la creación de un espacio ajardinado en un terreno que se podía considerar un erial, y en el que se desarrollaron prácticas como concursos de arada en la década de 1980 (Bueno, 2018). Tal y como se puede apreciar en la Figura 3, la imagen que presentaba la zona en la década de 1960 es totalmente distinta a la de hoy en día.



Figura 3. Izquierda: imagen aérea del RJB (señalado en rojo) y sus alrededores en 1964, procedente del Visor CartoMadrid. Derecha: imagen aérea del RJB (señalado en rojo) y los alrededores de Ciudad Universitaria en el año 2021, procedente de Google Earth Pro.

Por último, las instalaciones del Canal de Isabel II parecen contar con zonas ajardinadas desde, como mínimo, la década de 1950, tal y como se puede apreciar en la Figura 4.





Imagen aérea de las instalaciones del CYII y sus alrededores en 1972.



Imagen aérea del CYII y sus alrededores en el año 2021.

Figura 4. Imágenes aéreas históricas del CYII. En todas las imágenes se señala en rojo el área que ocupan las instalaciones. Fuentes: A y B, visor Nomecalles de la Comunidad de Madrid; C, visor cartoMadrid; D, Google Earth.

Cámaras de alta temperatura (OTC)

Existen múltiples procedimientos desarrollados para poder manipular variables climáticas, como la temperatura, sobre ecosistemas terrestres (Sun *et al.*, 2013). Estos sistemas pueden ser clasificados, según Wan *et al.*, (2002), en los siguientes tipos: 1) tubos calefactores del suelo, 2) reflectores infrarrojos, 3) calentadores infrarrojos y 4) *open-top chambers*.

Una de las metodologías que cada vez tiene más partidarios para la manipulación experimental de las temperaturas sobre el terreno es el empleo de cámaras con la parte superior abierta, también llamadas *open-top chambers* (Godfree *et al.*, 2011), ya que no implican unos altos costes económicos y son adecuadas para entornos donde la radiación solar es elevada (Sun *et al.*, 2013). Existen distintas clases de *open-top chambers*, con unas estructuras, medidas y características diferentes según el tipo de experimento para el que se utilicen, como las de tipo cilíndrico (Vapaavuori *et al.*, 2002), de forma cuadrada (Radin *et al.*, 1988), octogonales (Dore *et al.*, 2003), rectangulares (Idso & Kimball, 1995) o hexagonales (Bokhorst *et al.*, 2007). En el caso de las de tipo hexagonal, como

las empleadas en este trabajo (Figura 5), su diseño presenta una parte superior que cuenta con una abertura (Molau & Mølgaard, 1996; Marion *et al.*, 1997), a diferencia de otros diseños en los que se puede distinguir también una parte inferior que presenta una entrada al interior de la OTC (Bhattacharya *et al.*, 1990).

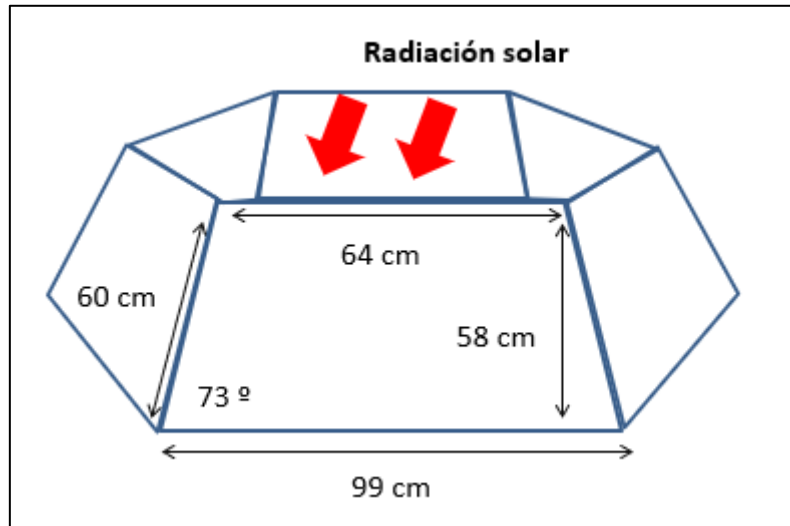


Figura 5. Representación visual de una *open-top chamber* (OTC) hexagonal y las dimensiones, que sirve como modelo de las empleadas en este trabajo. Cuentan con una abertura superior que permite el paso de la luz. Cada una de las láminas transparentes medían 99 cm en la base y tenían 58 cm de altura, englobando una zona interior de 110 cm de diámetro. Individualmente, las OTCs ocupaban una superficie aproximada de 2 m². Imagen basada en Jägerbrand (2005).

En cuanto a las características más reseñables de las OTCs, cabe destacar que la apertura en la parte superior posibilita el intercambio gaseoso, de forma ininterrumpida, entre el interior de la cámara y el ambiente exterior (Dore *et al.*, 2003). Tampoco constituyen una barrera para la entrada de las precipitaciones (Aronson & McNulty, 2009). A su vez, el calentamiento interno se produce de forma pasiva al no existir obstaculizaciones que impidan el acceso de la luz solar, por lo que no se precisa de tecnología de apoyo para modular las temperaturas (Jägerbrand, 2005), y sus láminas presentan una inclinación que favorece la conservación del calor en el interior e incrementa la temperatura (D'Andrea & Rinaldi, 2010). Todos estos puntos, junto con otros aspectos como la variación en la interacción entre el viento y el suelo contenido en la cámara (Hollister & Webber, 2000), o la reducción de la entrada de posibles herbívoros

(Marion, 1996), generan unas nuevas condiciones microclimáticas en las que se puede encontrar una interacción positiva entre la temperatura del aire contenido en la OTC y la del suelo (Klein *et al.*, 2005).

Es importante destacar que los aumentos de temperatura se producen, de forma general, durante las horas de luz (Klein *et al.*, 2005). Estos incrementos de la temperatura del aire pueden llegar a ser (empleando OTCs hexagonales en regiones mediterráneas) de casi 2, 5° C en meses de invierno hasta más de 6, 5° C en meses más próximos al verano (Ladrón de Guevara *et al.*, 2014). De la misma forma, en experimentos como el realizado por Ladrón de Guevara *et al.*, (2014), los suelos mostraron incrementos de temperatura de más de 3° C en los primeros 2 centímetros superficiales.

Respecto a los materiales utilizados en las OTCs, destacan la fibra de vidrio, el polimetilmetacrilato y el policarbonato; todos ellos transparentes, flexibles y con capacidad de resistencia frente a las condiciones ambientales (D'Andrea & Rinaldi, 2010). Las OTCs instaladas para este trabajo fueron en total 12 (4 en cada una de las localizaciones), con las dimensiones comentadas en la Figura 5. Cada una de ellas estaban formadas por 6 láminas de policarbonato trapezoidales dispuestas en forma de hexágono y ancladas al suelo. Por último, se llevaron a cabo registros de temperatura y humedad relativa dentro y fuera de las OTCs durante los meses de muestreo (Anexos V, VI y VII).

Láminas con cebo

La prueba de la lámina de cebo (abreviado como BLT en inglés) es un sistema que ha sido empleado, entre otros muchos usos, para observar el comportamiento de la fauna edáfica bajo distintas condiciones bióticas y abióticas (Musso *et al.*, 2014), para el diagnóstico de la actividad de organismos detritívoros del suelo en experimentos con mayor temperatura y menor precipitación que las existentes en las condiciones actuales, como una simulación de su posible respuesta frente al cambio climático (Thakur *et al.*, 2018), o para analizar la alimentación bajo la presencia de contaminantes (Larink & Sommer, 2002). Más concretamente, en ámbitos urbanos, BLT es una herramienta para evaluar la calidad de los suelos (Hartley *et al.*, 2008), así como para la observación de la capacidad de alimentación de saprófagos en áreas forestales urbanas (Bergman *et al.*, 2017). Una descripción específica del uso de esta técnica para la medición (en suelos) de la actividad biológica en campo aparece en la norma ISO 18311 (ISO, 2016), siendo una

metodología de especial utilidad para valorar la pérdida o consumo de la materia orgánica por su facilidad de uso y por no implicar elevados gastos monetarios (Pesce *et al.*, 2020), y que fue desarrollada en la última década del siglo XX por Von Törne (1990).

Más concretamente, la prueba refleja distintos grados de consumo del cebo por parte de invertebrados en el plano vertical del suelo (Römbke, 2014), entre los que se encuentran insectos, como hormigas y termitas, además de otros ejemplos de artrópodos como ácaros oribátidos y colémbolos (Römbke *et al.*, 2006), junto con anélidos oligoquetos, como las lombrices de tierra (Römbke *et al.*, 2006); y los enquitreidos, que también son anélidos (Van Gestel *et al.*, 2003; Römbke *et al.*, 2006). Cabe señalar que el nivel de consumo de cebo existente por parte de microorganismos es generalmente bajo para los tiempos de exposición que son habitualmente usados (Helling *et al.* 1998).

Las láminas utilizadas en este trabajo fueron adquiridas de Terra Protecta® GmbH, las cuales están fabricadas con materiales plásticos (PVC) perforados (Figura 6), dando un total de 16 aberturas a una distancia de 5 mm entre cada una de ellas y con un diámetro de 1,5 mm. Cada uno de los orificios se encuentran rellenos con una fórmula de polvo de celulosa, fragmentos de salvado molidos y tamizados a menos de 500 µm, y carbón activo, siguiendo una proporción 70:27:3 respectivamente (Protocolo Terra protecta, www.terra-protecta.de). Existen otros trabajos para los que se usan mezclas con productos o proporciones distintas, como por ejemplo el agar-agar y mezclas minerales como la bentonita (Sturm & Eisenbeis, 2002), o también especies vegetales como las ortigas (*Urtica dioica* L.) en polvo (Helling *et al.*, 1998). La longitud total de cada una de las láminas que fueron usadas es de 160 mm, por 6 mm de ancho y 1 mm de grosor.

Este sistema de estudio de la actividad del suelo presente una serie de ventajas, destacando que no es necesario contar con personal especializado para su uso o algún equipamiento especial, solo se necesitan períodos cortos de tiempo para obtener datos (generalmente días o unas pocas semanas) y el suelo no se daña en cada medición (Römbke *et al.*, 2006). Además, se ha demostrado la eficacia de su uso en otros experimentos realizados en Europa para la medición de la alimentación de la fauna edáfica (Geissen & Brummer, 1999). El principal inconveniente de las láminas de cebo es que, una vez que son retiradas del sustrato, pueden existir confusiones para diferenciar qué partes de los orificios son mezclas de cebo o materiales del suelo (Eisenhauer *et al.*, 2014).

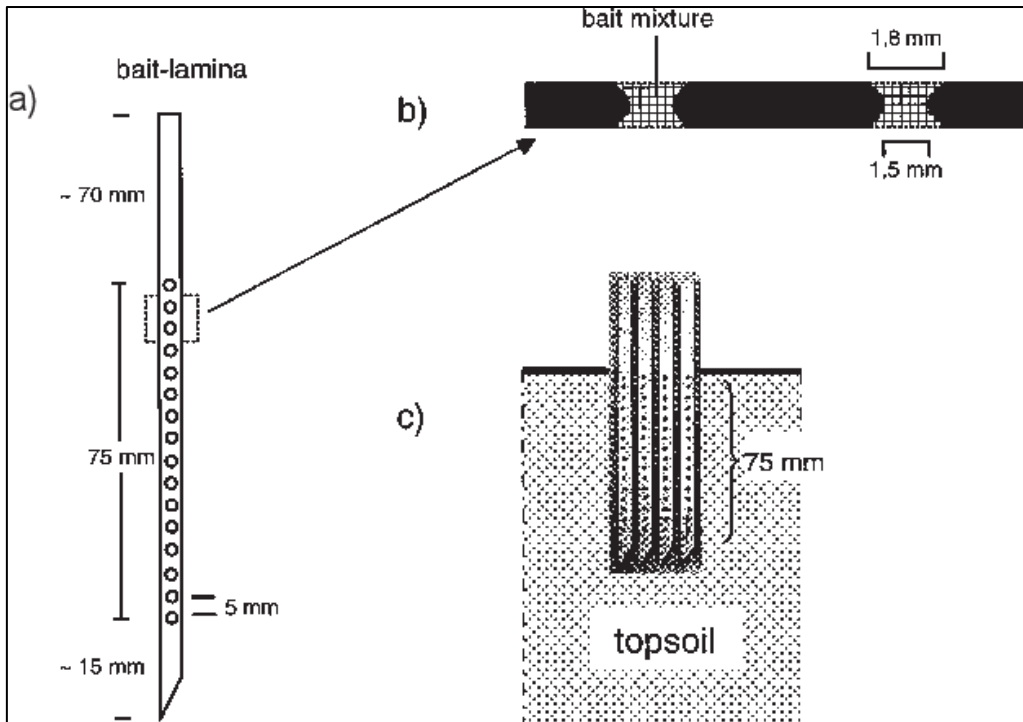


Figura 6. Representación esquemática de un modelo de lámina con cebo (*bait-lamina*), en la que se puede apreciar la disposición de los orificios y cómo es su colocación al ser insertadas en el terreno. Imagen obtenida de Sturm & Eisenbeis (2002).

Recopilación de datos y mediciones

Diseño experimental

El experimento fue dividido en 8 parcelas en cada una de las zonas de estudio. En 4 de ellas, se realizaron las medidas de la actividad enzimática y de la actividad alimentaria en el suelo (con las láminas de cebo) dentro de las OTCs, y otras 4 parcelas fueron utilizadas como control fuera de las OTCs, siempre próximas al lugar donde se aplica el tratamiento de aumento de temperatura. Las condiciones de humedad del suelo tendrán importancia en los resultados finales obtenidos con los cebos (Kratz & Pieper, 1999, según Römbke *et al.*, 2006).

Actividad alimentaria

En cada una de las 8 parcelas experimentales de cada ubicación, se insertaron 6 láminas verticalmente en una superficie rectangular de 800 cm² (40×20 cm, ver Figura 7), colocándolos a una distancia aproximada de 20 cm entre cada una de ellas.

Previamente todas las láminas eran marcadas para que, a la hora de disponerlas en el suelo, el primer orificio con mezcla quedase situado a 1,5 cm por debajo de la superficie. Adicionalmente, si existían dificultades para la colocación completa de las láminas, se recurrió a penetrar el suelo con instrumentos de medidas similares a los sticks, facilitando la tarea. Esto es especialmente útil en suelos arcillosos (Filzek *et al.*, 2004).



Figura 7. Imagen ejemplo de una de las parcelas fuera de las OTCs, ubicada en el Canal de Isabel II, en la que se puede apreciar la disposición de las 6 láminas con cebo, así como las distancias entre ellas.

En otros trabajos se han empleado distancias similares entre las láminas de cebo, como hileras separadas por 60 cm y respetando una distancia entre láminas de 15 cm aproximadamente (Gongalsky *et al.*, 2004). También se han utilizado en microparcels de 25 × 25 cm (Vorobeichik & Bergman, 2020), de 30 × 30 cm, donde se han formado cuadrículas con las tiras (Römbke *et al.*, 2006); y cuadrículas de 3 × 2 en las que se dejan 20 cm entre láminas (Woodham *et al.*, 2019). También hay ejemplos en los que se usan superficies de mayores dimensiones, como parcelas de 25 × 25 m en las que se emplean 25 láminas separadas por 1 metro (Bergman *et al.*, 2017).

El tiempo total de exposición de los cebos para este trabajo se estableció en 12 días (tiempo de exposición establecido que fue utilizado en un TFG anterior: San Miguel del Río, 2020) desde el momento en el que fueron insertados en las parcelas experimentales, haciendo una primera extracción y valoración a los 6 días. La finalidad de esta primera

extracción fue para valorar el nivel de consumo, ya que, si era muy acelerado, había que adelantar la retirada de las láminas. Tras esta primera medida, cada lámina se volvió a colocar en el agujero correspondiente hasta ser retirada de la parcela en el día 12, momento en el que se volvía a realizar una valoración del contenido consumido en los orificios.

Originalmente Von Törne (1990), mencionó que para valorar la actividad de alimentación en el sustrato era adecuado emplear una escala de únicamente 2 puntos: 0, cuando el cebo está intacto, y 1 cuando se aprecia algún signo de alimentación. Esta escala ha sido utilizada en algunos estudios posteriores (Pehle & Schirmel, 2015). La norma ISO 18311 también recomienda esta escala, con una diferencia, ya que se asigna el valor 1 cuando el cebo ha sido consumido en al menos el 50% del orificio, y en el resto de los casos se considera como consumo nulo (ISO, 2016). Esta norma también ha sido ligeramente modificada en estudios que han fijado que a partir del 30% hay consumo de cebo (Niemeyer *et al.*, 2018; de Santo *et al.*, 2019). Otras escalas también tienen en consideración la posibilidad de aparición de niveles de consumo intermedios o parciales (alrededor del 50%) (Thakur *et al.*, 2018; Pesce *et al.*, 2020). También, existen escalas de 5 valores en otros estudios previos (Bergman *et al.*, 2017; Vorobeichik & Bergman, 2020), siendo considerada como una escala acertada para cuantificar los niveles de actividad alimentaria en el suelo (Vorobeichik & Bergman, 2021). Para este trabajo, se empleó la escala de 2 puntos, considerando cada uno de los 16 agujeros como consumidos si el porcentaje alcanzaba un 50%.

Una vez que las láminas eran extraídas del suelo, se registró todo el consumo en estas haciendo fotografías sobre un fondo que permitiese distinguir más fácilmente el paso de la luz por los orificios. Para evitar errores en la visualización de cuánta cantidad de cebo restaba en los orificios, cada una de las fotografías de las láminas de cada parcela se tomó en dos condiciones de luminosidad (a la luz del sol y en sombra). Todas las estimaciones de consumo de cebos mediante BLT, en los proyectos hechos hasta el momento, se han realizado de manera visual con escalas de tipo discreto (Vorobeichik & Bergman, 2021), pudiendo ser examinados mediante microscopía binocular (Bergman *et al.*, 2017) o simplemente siendo expuestos a luz (Woodham *et al.*, 2019; Pesce *et al.*, 2020). En cuanto a las mediciones, para cada una de las láminas, se obtuvo el porcentaje del cebo comido al dividir el número de agujeros consumidos por el número total de agujeros, obteniendo de esta forma 6 medidas para cada parcela. A su vez, se prestó

especial atención en diferenciar el cebo no consumido del posible relleno de los agujeros con materiales del sustrato.

Actividad enzimática

Para la medición de la actividad enzimática, se extrajeron muestras de suelo de la parte superficial (hasta 10 cm de profundidad) en cada una de las parcelas (dentro y fuera de las OTCs) de las 3 localizaciones. Estas extracciones se llevaron a cabo en los meses de marzo, abril y finales de mayo. Posteriormente, todas las muestras de suelo se secaron a temperatura ambiente para ser desmenuzadas y tamizadas, eliminando grandes agregados, gravas y material vegetal. Una vez completado este procedimiento, se enviaron las muestras para analizar a *Nutrilab*, un laboratorio de la Universidad Rey Juan Carlos. En el caso de la actividad de la ureasa, esta es medida a través del total de NH_4^+ obtenido de una muestra de 0,5 gramos de suelo seco, que es incubado en un buffer de fosfatos que además contiene 0,5 ml de urea al 6,4% (Nannipieri *et al.*, 1980; Pascual *et al.*, 2002). Para la actividad de la fosfatasa, el procedimiento se basa en la determinación de la cantidad de *p*-nitrofenol filtrada de una suspensión de suelo en una solución de *Modified Universal Buffer* (MUB) y *p*-nitrofenil fosfato (Tabatabai & Bremner, 1969). Por último, para medir la actividad de la β -glucosidasa se emplea *p*-nitrofenil- β -D-glucopiranosido como sustrato en un buffer con tris (hidroximetil) aminometano (Tabatabai 1982).

Análisis estadísticos

Se realizaron análisis estadísticos para determinar la posible existencia de diferencias significativas en los niveles de consumo de las láminas, y en la actividad enzimática, por exponerse al tratamiento de incremento de temperatura en las OTCs, así como para observar los patrones que sigue la actividad alimentaria de la fauna edáfica y la actividad enzimática en las 3 localidades donde se realizaron los muestreos.

Los datos empleados para la actividad alimentaria fueron recopilados en forma de porcentaje, y fueron transformados para la elaboración de los modelos mediante el arcoseno de la raíz cuadrada del valor de porcentaje dividido entre cien.

En el caso de las enzimas, los resultados de la actividad tras los análisis en laboratorio fueron expresados en $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Aquellos datos enzimáticos que no seguían una distribución normal fueron transformados mediante la función inversa.

Todos estos datos obtenidos fueron analizados con el software Statgraphics Centurion XVIII, elaborando modelos lineales generales (GLM) para confirmar la existencia de relaciones entre los niveles de consumo de cebo por parte de la fauna edáfica o la actividad de las enzimas, el tratamiento (dentro de las OTCs o fuera), la parcela y la localización. En los modelos se consideró a las parcelas como anidadas dentro del tratamiento (para así evitar pseudorréplicas). Asimismo, se tuvo en cuenta los distintos momentos temporales de los muestreos. Por último, para comprobar la posible existencia de diferencias en las medias de actividad alimentaria y enzimática entre las 3 localidades, se planteó la prueba post-hoc de rango múltiple de Tukey (95% de intervalos HSD de Tukey).

Resultados

Análisis de la actividad alimentaria

Los resultados del modelo del primer período de muestreo (marzo de 2021) usando el tratamiento de calentamiento, la localidad y la parcela anidada en el tratamiento como factores fijos, se muestran en la Tabla 1. Existe una interacción marginalmente significativa de la interacción entre tratamiento y localidad, sugiriendo que los efectos del tratamiento pueden diferir entre localidades (Figura 8). El efecto del tratamiento es mayor en la UCM que en el resto (Figura 8). Se repitió el modelo eliminando la interacción para poder analizar los efectos independientes de los factores fijos (Tabla 2).

Tabla 1. Resultados del modelo lineal general de la actividad alimentaria para el primer período de muestreo (marzo 2021). Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	1,54978	11	0,140889	4,94	0,0000
Tratamiento	0,067514	1	0,067514	0,93	0,4376
Parcela(Tratamiento)	0,299754	6	0,0499589	1,75	0,1138
Localidad	1,03656	2	0,518279	7,1	0,1234
Tratamiento*Localidad	0,145954	2	0,0729768	2,56	0,0812
Residuo	3,76339	132	0,0285105		
Total (corregido)	5,31317	143			

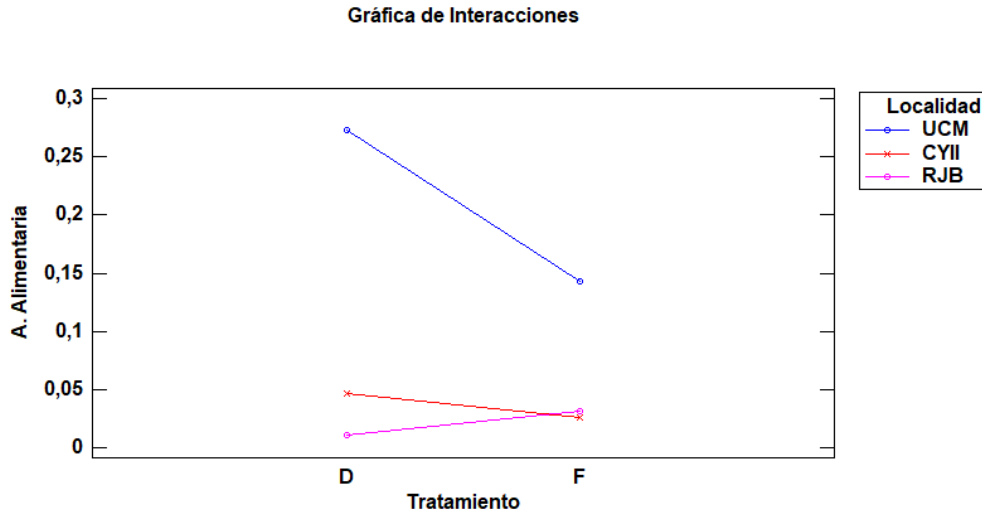


Figura 8. Interacción entre el tratamiento de calentamiento (dos niveles, dentro de la OTC y fuera de la OTC) y las localidades. Se muestran las medias de los porcentajes de cebo comido (datos transformados) como medida de la actividad alimentaria de la fauna del suelo en el primer período de muestreo (marzo 2021).

Los resultados del modelo sin interacción muestran un efecto significativo de la localidad, pero no del tratamiento (Tabla 2). La actividad alimentaria en la UCM es superior a las encontradas en las otras localidades, donde se mantienen valores muy bajos (Figura 9).

Tabla 2. Resultados del modelo lineal general de la actividad alimentaria para el primer período de muestreo (marzo 2021), sin interacción. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	1,40383	9	0,155981	5,35	0,0000
Tratamiento	0,067514	1	0,067514	2,31	0,1306
Parcela(Tratamiento)	0,299754	6	0,0499589	1,71	0,1227
Localidad	1,03656	2	0,518279	17,76	0,0000
Residuo	3,90934	134	0,0291742		
Total (corregido)	5,31317	143			

Medias y 95,0% Intervalos LSD

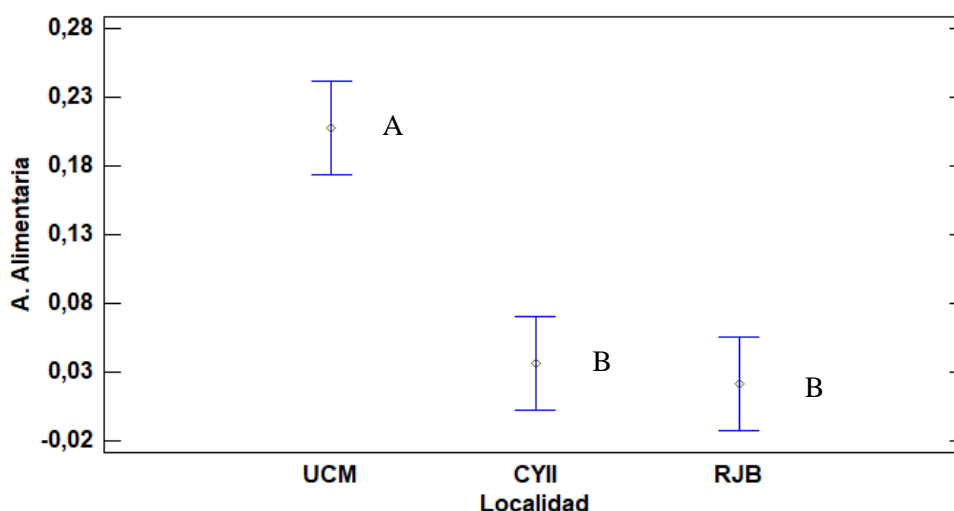


Figura 9. Medias de la actividad alimentaria en las localidades (UCM, CYII y RJB) durante el mes de marzo, con un nivel de confianza del 95% (datos transformados). En la gráfica, las medias marcadas con las mismas letras no difieren entre sí (intervalos HSD de Tukey en $P \leq 0,05$).

Respecto al segundo período de muestreo, en el mes de abril de 2021, tras haber retirado las láminas del suelo y considerando las mismas variables que en el primer período de muestreo, no se encontraron efectos significativos para la interacción entre las localidades y el tratamiento (Tabla 3). Por lo tanto, se repitió el modelo excluyendo los efectos de la interacción para poder analizar los efectos independientes de los factores fijos (Tabla 4).

Tabla 3. Resultados del modelo lineal general de la actividad alimentaria para el segundo período de muestreo (abril 2021). Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	3,77068	11	0,342789	5,68	0,0000
Tratamiento	0,0314442	1	0,0314442	2,04	0,2893
Parcela(Tratamiento)	0,517818	6	0,086303	1,43	0,208
Localidad	3,19061	2	1,5953	103,55	0,0096
Tratamiento*Localidad	0,030812	2	0,015406	0,26	0,7752
Residuo	7,97003	132	0,060379		
Total (corregido)	11,7407	143			

Los resultados del modelo sin interacción indican un efecto significativo de la localidad, pero no del tratamiento (Tabla 4). La actividad alimentaria en la UCM es claramente

mayor que en el resto de las localidades, donde se mantienen valores muy bajos (Figura 10).

Tabla 4. Resultados del modelo lineal general de la actividad alimentaria para el segundo período de muestreo (abril 2021), sin interacción. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	3,73987	9	0,415541	6,96	0,0000
Tratamiento	0,0314442	1	0,0314442	0,53	0,4693
Parcela(Tratamiento)	0,517818	6	0,086303	1,45	0,2019
Localidad	3,19061	2	1,5953	26,72	0,0000
Residuo	8,00084	134	0,0597077		
Total (corregido)	11,7407	143			

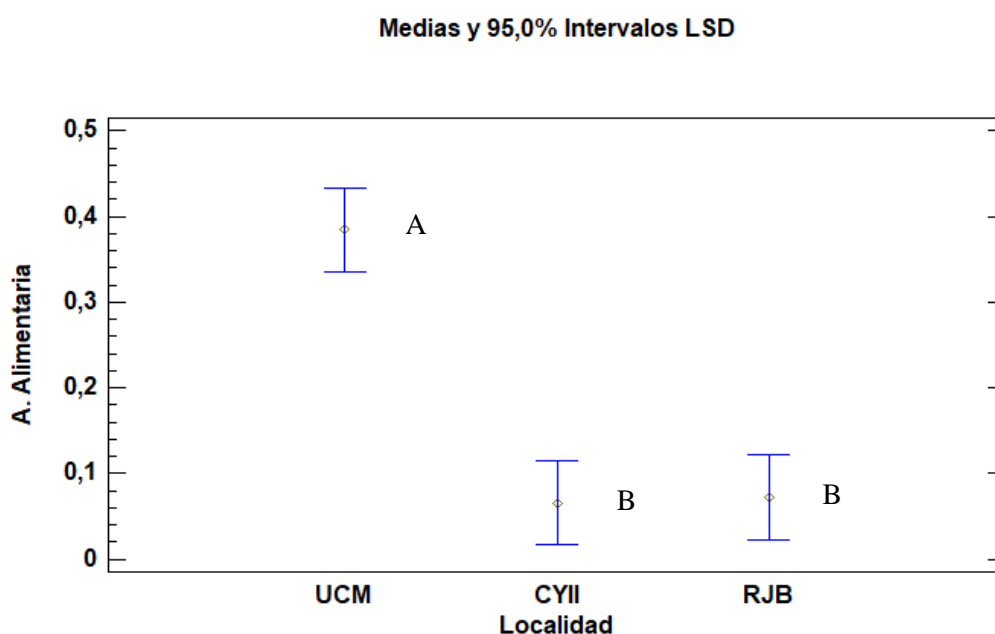


Figura 10. Medias de la actividad alimentaria en las localidades (UCM, CYII y RJB) durante el mes de abril, con un nivel de confianza del 95% (datos transformados). En la gráfica, las medias marcadas con las mismas letras no difieren entre sí (intervalos HSD de Tukey en $P \leq 0,05$).

En el tercer período de muestreo (junio de 2021), los resultados son relativamente parecidos a los del primer período, aunque ahora existe un efecto muy significativo de la interacción entre tratamiento y localidad, lo que sugiere, nuevamente, un efecto diferente del tratamiento de calentamiento en unas localidades frente a otras (Tabla 5). Concretamente, en la localidad UCM se muestran efectos significativos y positivos del tratamiento, mientras que no ocurre en el resto (Figura 11).

Tabla 5. Resultados del modelo lineal general de la actividad alimentaria para el tercer período de muestreo (junio 2021). Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	2,13754	11	0,194322	6,56	0,0000
Tratamiento	0,163767	1	0,163767	0,89	0,4454
Parcela(Tratamiento)	0,107808	6	0,017968	0,61	0,7246
Localidad	1,49736	2	0,748678	4,06	0,1975
Tratamiento*Localidad	0,368608	2	0,184304	6,22	0,0026
Residuo	3,90942	132	0,0296168		
Total (corregido)	6,04696	143			

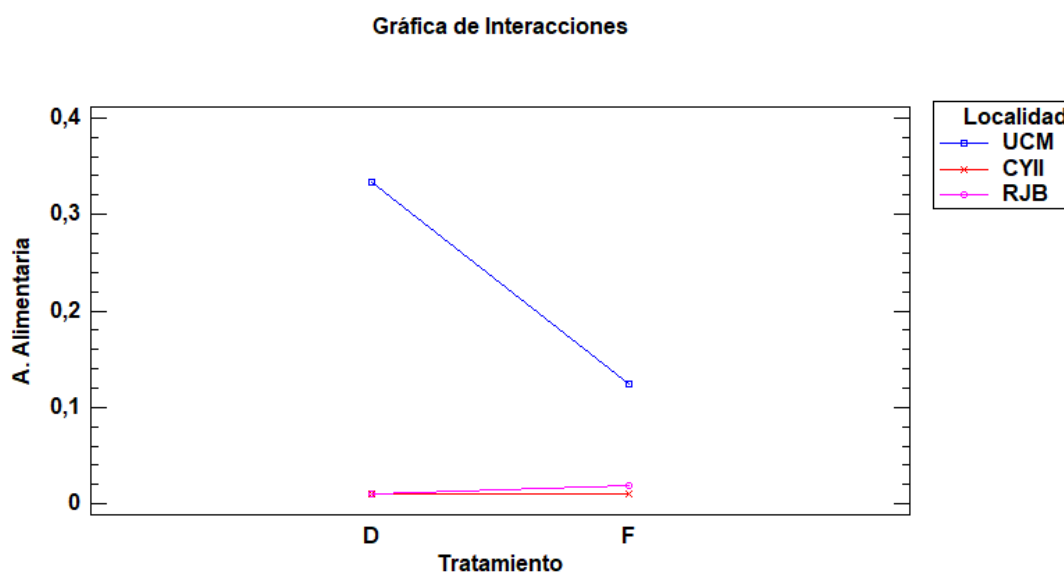


Figura 11. Interacción entre el tratamiento de calentamiento (dos niveles, dentro de la OTC y fuera de la OTC) y las localidades. Se muestran las medias de los porcentajes de cebo comido (datos transformados) como medida de la actividad alimentaria de la fauna del suelo en el tercer período de muestreo (junio 2021).

Los resultados del cuarto período, que sólo se realizó en la UCM, muestran efectos significativos del tratamiento (Tabla 6), con mayor actividad dentro de las OTC que fuera (Figura 12).

Tabla 6. Resultados del modelo lineal general para el cuarto período de muestreo (julio 2021) en la localidad UCM. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	1,69868	7	0,242669	3,3	0,0073
Tratamiento	0,370192	1	0,370192	5,03	0,0305
Parcela(Tratamiento)	1,32849	6	0,221415	3,01	0,016
Residuo	2,9438	40	0,0735949		
Total (corregido)	4,64248	47			

Medias y 95,0% Intervalos LSD

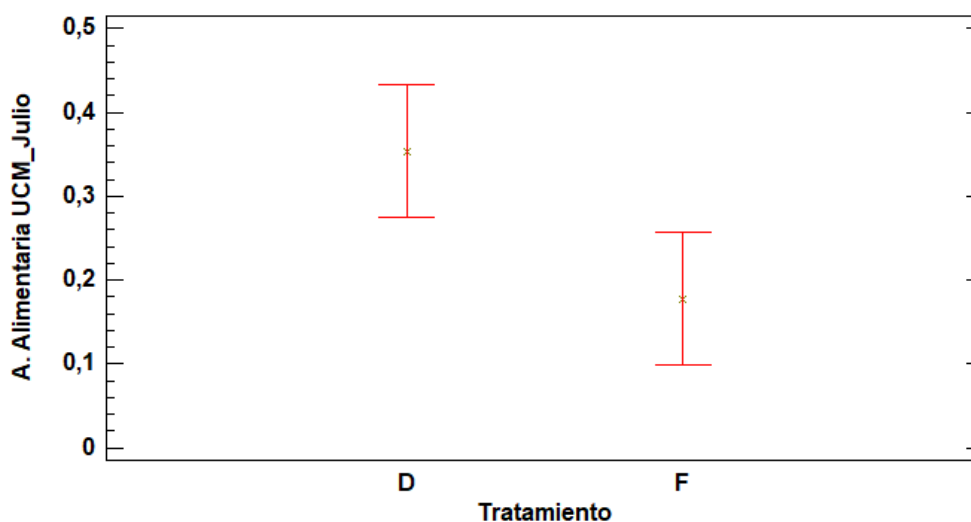


Figura 12. Medias e intervalos de confianza del 95% (datos transformados) de la actividad alimentaria para el tratamiento de calentamiento (dos niveles, dentro de la OTC y fuera de la OTC) para la UCM en el cuarto período de muestreo (julio 2021).

Análisis actividad enzimática

Glucosidasa

Los resultados del modelo del primer período de muestreo de la actividad enzimática de la glucosidasa (marzo de 2021), usando el tratamiento de calentamiento, la localidad y la parcela anidada en el tratamiento como factores fijos, se muestran en la Tabla 7. No se hallaron efectos significativos para la interacción entre la localidad y el tratamiento, por lo que, al igual que se hizo en la actividad alimentaria, se repitió el modelo eliminando los efectos de la interacción para así poder analizar los efectos independientes de los factores fijos (Tabla 8).

Tabla 7. Resultados del modelo lineal general del primer período de muestreo (marzo 2021) para la actividad de la glucosidasa. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	27,8219	11	2,52927	9,11	0,0003
Tratamiento	0,704865	1	0,704865	7,69	0,1091
Parcela(Tratamiento)	6,03577	6	1,00596	3,62	0,0275
Localidad	20,8981	2	10,449	114,07	0,0087
Tratamiento*Localidad	0,183204	2	0,091602	0,33	0,7253
Residuo	3,33132	12	0,27761		
Total (corregido)	31,1532	23			

Los resultados del modelo sin interacción reflejan un efecto significativo de la localidad, y de las parcelas anidadas en el tratamiento (Tabla 8). La actividad de la glucosidasa es mayor en el CYII, en contraste con la UCM, donde se mantienen los valores más bajos (Figura 13).

Tabla 8. Resultados del modelo lineal general de la actividad de la glucosidasa para el primer período de muestreo (marzo 2021), eliminando la interacción. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	27,6387	9	3,07097	12,23	0,0000
Tratamiento	0,704865	1	0,704865	2,81	0,116
Parcela(Tratamiento)	6,03577	6	1,00596	4,01	0,0152
Localidad	20,8981	2	10,449	41,62	0,0000
Residuo	3,51452	14	0,251037		
Total (corregido)	31,1532	23			

Medias y 95,0% Intervalos LSD

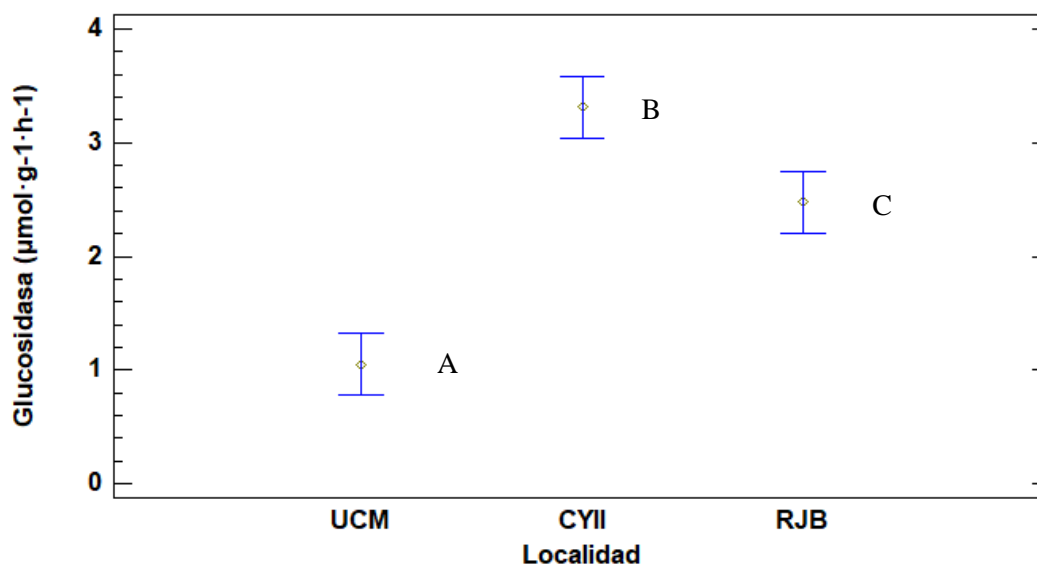


Figura 13. Medias de la actividad de la glucosidasa en las localidades (UCM, CYII y RJB) durante el mes de marzo, con un nivel de confianza del 95% (datos sin transformar). En la gráfica, las medias marcadas con las mismas letras no difieren entre sí (HSD de Tukey en $P \leq 0,05$ para datos transformados).

En cuanto al segundo período de muestreo, en el mes de abril de 2021 y considerando las mismas variables que en el primer período de muestreo, no se encontraron efectos significativos para la interacción entre las localidades y el tratamiento (Tabla 9). Por lo tanto, se repitió el modelo excluyendo los efectos de la interacción para poder analizar los efectos independientes de los factores fijos (Tabla 10).

Tabla 9. Resultados del modelo lineal general del segundo período de muestreo (abril 2021) para la actividad de la glucosidasa. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	31,3492	11	2,84992	11,65	0,0001
Tratamiento	0,005766	1	0,005766	0,05	0,8445
Parcela(Tratamiento)	2,9947	6	0,499116	2,04	0,1382
Localidad	28,116	2	14,058	120,83	0,0082
Tratamiento*Localidad	0,232684	2	0,116342	0,48	0,6328
Residuo	2,93623	12	0,244686		
Total (corregido)	34,2854	23			

Los resultados del modelo sin interacción reflejan un efecto significativo de la localidad, pero no del tratamiento (Tabla 10). La actividad de la glucosidasa es mayor en el CYII y en RJB, en contraste con la UCM, donde se mantienen los valores más bajos (Figura 14).

Tabla 10. Resultados obtenidos del modelo lineal general del segundo período de muestreo (abril 2021), eliminando la interacción. Tratamiento y localidad son factores fijos, y parcela, anidada en tratamiento, es también un factor fijo.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	31,1165	9	3,45739	15,27	0,0000
Tratamiento	0,005766	1	0,005766	0,03	0,8755
Parcela(Tratamiento)	2,9947	6	0,499116	2,21	0,1046
Localidad	28,116	2	14,058	62,11	0,0000
Residuo	3,16891	14	0,226351		
Total (corregido)	34,2854	23			

Medias y 95,0% Intervalos LSD

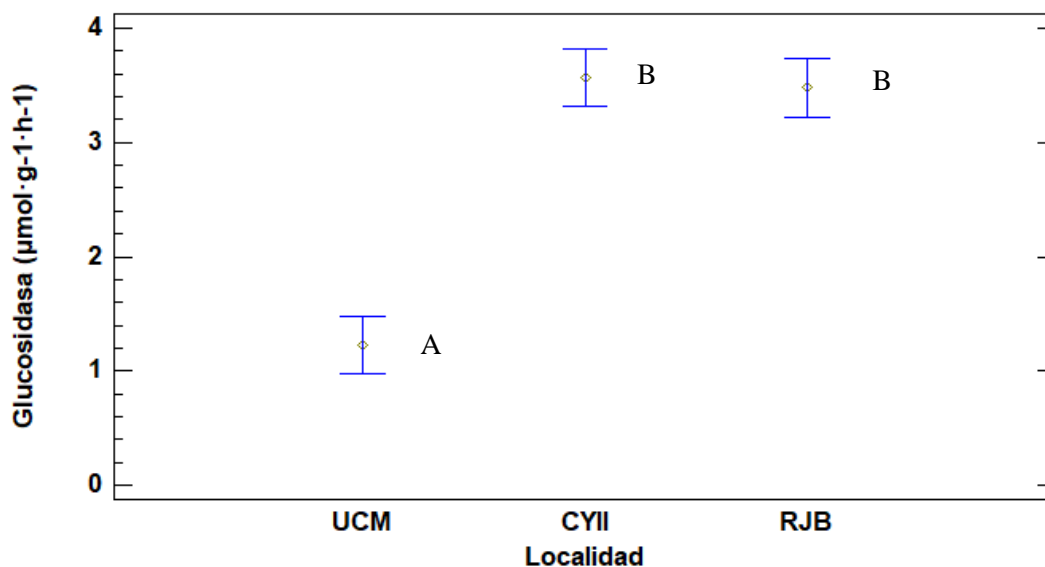


Figura 14. Medias de la actividad de la glucosidasa en las localidades (UCM, CYII y RJB) durante el mes de abril, con un nivel de confianza del 95% (datos sin transformar). En la gráfica, las medias marcadas con las mismas letras no difieren entre sí (intervalos HSD de Tukey en $P \leq 0,05$ para datos transformados).

En cuanto al tercer período de muestreo, realizado a finales de mayo de 2021, y considerando las mismas variables que en el primer y segundo período de muestreo, se encontraron efectos casi significativos para la interacción entre las localidades y el tratamiento (Tabla 11). Tal y como se ve en la Figura 15, el tratamiento incrementó la actividad con respecto al control en la UCM y RJB, mientras que en CYII sucede lo contrario.

Tabla 11. Resultados obtenidos del modelo lineal general del tercer período de muestreo (mayo 2021), para la actividad de la glucosidasa. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	14,579	11	1,32537	4,89	0,0054
Tratamiento	0,297037	1	0,297037	0,28	0,6474
Parcela(Tratamiento)	3,02266	6	0,503777	1,86	0,1698
Localidad	9,1675	2	4,58375	4,38	0,1858
Tratamiento*Localidad	2,09183	2	1,04591	3,86	0,0508
Residuo	3,25146	12	0,270955		
Total (corregido)	17,8305	23			

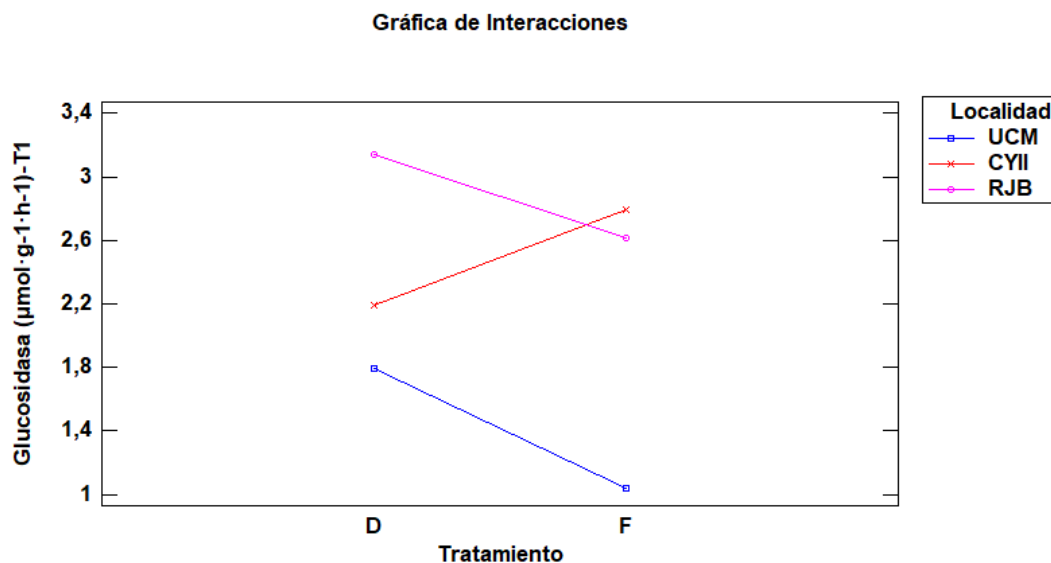


Figura 15. Interacción entre el tratamiento de calentamiento (dos niveles, dentro de la OTC y fuera de la OTC) y las localidades. Se muestran las medias (datos sin transformar) de la actividad de la glucosidasa en el suelo durante el tercer período de muestreo (mayo de 2021).

Los resultados del modelo sin interacción reflejan diferencias significativas entre localidades, pero no hay efecto del tratamiento (Tabla 12). La actividad de la glucosidasa es mayor en el CYII y en RJB, en contraste con la UCM, donde se mantienen los valores más bajos (Figura 16).

Tabla 12. Resultados obtenidos del modelo lineal general de la actividad glucosidasa para el tercer período de muestreo (mayo 2021), eliminando la interacción. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	12,4872	9	1,38747	3,64	0,0153
Tratamiento	0,297038	1	0,297038	0,78	0,3926
Parcela(Tratamiento)	3,02266	6	0,503777	1,32	0,3115
Localidad	9,1675	2	4,58375	12,01	0,0009
Residuo	5,34328	14	0,381663		
Total (corregido)	17,8305	23			

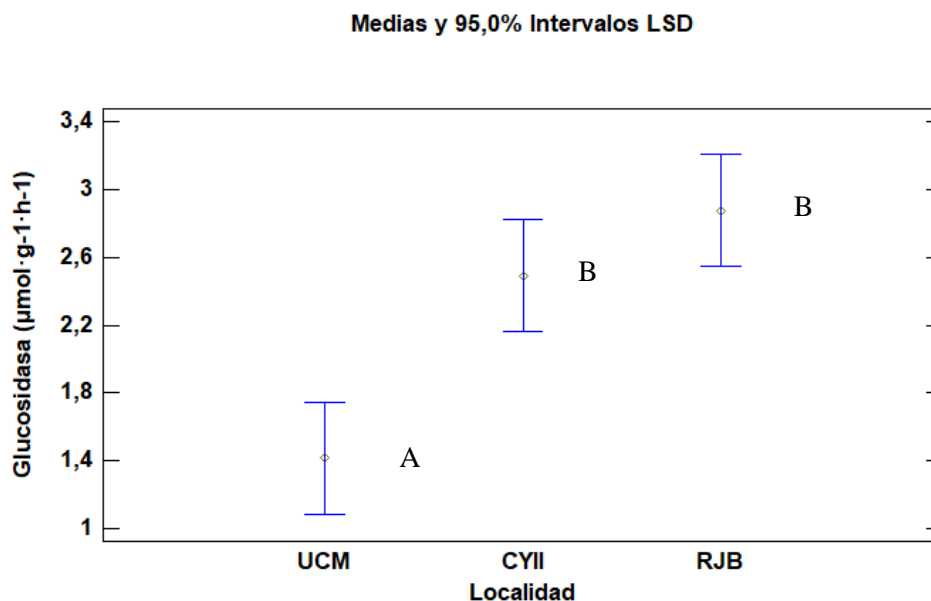


Figura 16. Medias de la actividad de la glucosidasa en las localidades (UCM, CYII y RJB) durante el mes de mayo, con un nivel de confianza del 95% (datos sin transformar). En la gráfica, las medias marcadas con las mismas letras no difieren entre sí (intervalos HSD de Tukey en $P \leq 0,05$ para datos transformados).

Ureasa

Los resultados del modelo del primer período de muestreo de la actividad de la ureasa (marzo de 2021), usando el tratamiento de calentamiento, la localidad y la parcela anidada en el tratamiento como factores fijos, se muestran en la Tabla 13. No se encontraron efectos significativos para la interacción entre la localidad y el tratamiento, por lo que, al igual que se hizo en el caso de la glucosidasa, se planteó otro modelo eliminando los efectos de la interacción, para así poder analizar los efectos independientes de los factores fijos (Tabla 14).

Tabla 13. Resultados del modelo lineal general del primer período de muestreo (marzo 2021) para la actividad de la ureasa. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	7813,19	11	710,29	2,49	0,0659
Tratamiento	868,909	1	868,909	1,59	0,3346
Parcela(Tratamiento)	4815,24	6	802,541	2,82	0,06
Localidad	1035,61	2	517,806	0,95	0,5136
Tratamiento*Localidad	1093,42	2	546,712	1,92	0,1894
Residuo	3420,97	12	285,081		
Total (corregido)	11234,2	23			

Los resultados del modelo sin interacción reflejan un efecto marginalmente significativo del anidamiento de las parcelas en el tratamiento (Tabla 14). El análisis muestra que no hay efecto del tratamiento ni diferencias entre localidades.

Tabla 14. Resultados obtenidos del modelo lineal general de la actividad ureasa para el primer período de muestreo (marzo 2021), eliminando la interacción. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	6719,77	9	746,641	2,32	0,077
Tratamiento	868,909	1	868,909	2,69	0,1229
Parcela(Tratamiento)	4815,24	6	802,541	2,49	0,075
Localidad	1035,61	2	517,806	1,61	0,2356
Residuo	4514,39	14	322,457		
Total (corregido)	11234,2	23			

Con respecto al segundo período de muestreo, en el mes de abril de 2021, considerando los mismos factores fijos que en el primer muestreo, los resultados del GLM planteado no muestran efectos significativos para la interacción del tratamiento y la localidad (Tabla 15). Por este motivo, se realizó otro GLM en el que se eliminó esta interacción (Tabla 16).

Tabla 15. Resultados del modelo lineal general del segundo período de muestreo (abril 2021) para la actividad de la ureasa. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	13796,4	11	1254,22	5,24	0,0041
Tratamiento	577,8	1	577,8	24,78	0,0381
Parcela(Tratamiento)	3321,95	6	553,658	2,31	0,102
Localidad	9850,07	2	4925,03	211,21	0,0047
Tratamiento*Localidad	46,6365	2	23,3183	0,1	0,9079
Residuo	2873	12	239,417		
Total (corregido)	16669,4	23			

Los resultados del modelo sin interacción del segundo período de muestreo reflejan un efecto marginalmente significativo del tratamiento, así como diferencias muy

significativas entre las localidades (Tabla 16). La actividad de la ureasa, fue mayor en RJB con respecto a las otras dos localidades (Figura 17).

Tabla 16. Resultados obtenidos del modelo lineal general de la actividad ureasa para el segundo período de muestreo (abril 2021), eliminando la interacción. Tratamiento y localidad son factores fijos, y parcela, anidada en tratamiento, es también un factor fijo.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	13749,8	9	1527,76	7,33	0,0006
Tratamiento	577,8	1	577,8	2,77	0,1182
Parcela(Tratamiento)	3321,95	6	553,658	2,65	0,062
Localidad	9850,07	2	4925,03	23,62	0,0000
Residuo	2919,64	14	208,546		
Total (corregido)	16669,4	23			

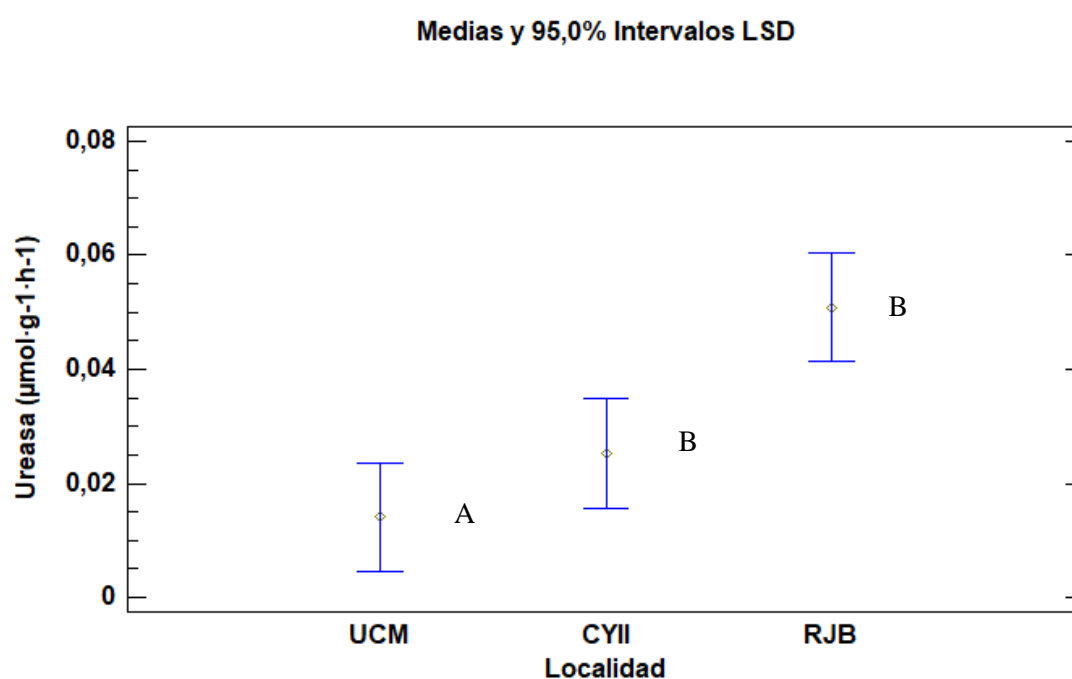


Figura 17. Medias de la actividad de la ureasa en las localidades (UCM, CYII y RJB) en el mes de abril, con un nivel de confianza del 95% (datos sin transformar). En la gráfica, las medias marcadas con las mismas letras no difieren entre sí (intervalos HSD de Tukey en $P \leq 0,05$ para datos transformados).

Ya en el tercer período de muestreo de la actividad ureasa, a finales de mayo de 2021, los resultados del modelo, en el que se incluyeron los mismos factores fijos que en los modelos anteriores, no muestran ningún tipo de efecto para la interacción entre el tratamiento y la localidad (Tabla 17). Por ello, se planteó otro GLM en el que se eliminaba la interacción (Tabla 18).

Tabla 17. Resultados del modelo lineal general del tercer período de muestreo (mayo 2021) para la actividad de la ureasa. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	5164,54	11	469,503	1,82	0,1583
Tratamiento	354,449	1	354,449	1,81	0,3111
Parcela(Tratamiento)	1383,96	6	230,661	0,9	0,528
Localidad	3033,66	2	1516,83	7,73	0,1145
Tratamiento*Localidad	392,459	2	196,229	0,76	0,4879
Residuo	3089,37	12	257,448		
Total (corregido)	8253,91	23			

Los resultados del modelo sin interacción del tercer período de muestreo revelan únicamente diferencias significativas entre las localidades (Tabla 18). La actividad de la ureasa en UCM y CYII es muy similar, con valores inferiores que en RJB (Figura 18).

Tabla 18. Resultados obtenidos del modelo lineal general de la actividad ureasa para el tercer período de muestreo (mayo 2021), eliminando la interacción. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	4772,08	9	530,231	2,13	0,0986
Tratamiento	354,449	1	354,449	1,43	0,2524
Parcela(Tratamiento)	1383,96	6	230,661	0,93	0,5049
Localidad	3033,66	2	1516,83	6,1	0,0124
Residuo	3481,83	14	248,702		
Total (corregido)	8253,91	23			

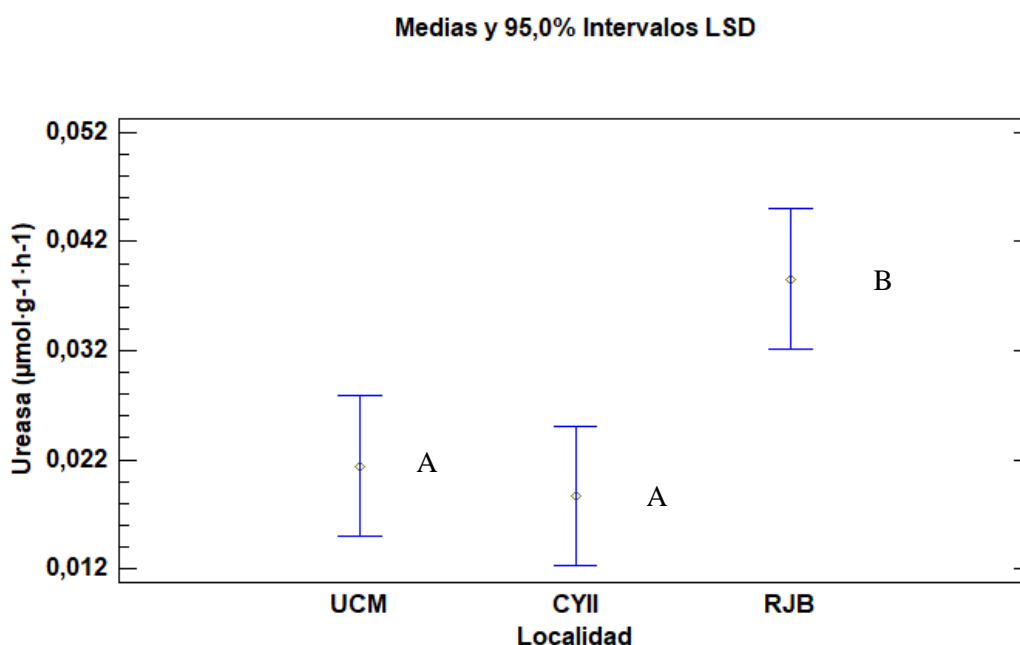


Figura 18. Medias de la actividad de la ureasa en las localidades (UCM, CYII y RJB) en el mes de mayo, con un nivel de confianza del 95% (datos sin transformar). En la gráfica, las medias marcadas con las mismas letras no difieren entre sí (intervalos HSD de Tukey en $P \leq 0,05$ para datos transformados).

Fosfatasa

Los resultados del modelo del primer período de muestreo de la actividad de la fosfatasa (marzo de 2021), tomando el tratamiento de calentamiento, la localidad y la parcela anidada en el tratamiento como factores fijos, se muestran en la Tabla 20. No se hallaron efectos significativos derivados de la interacción entre la localidad y el tratamiento, por lo que, al igual que en los casos de la glucosidasa y la ureasa, se hizo otro modelo eliminando los efectos de la interacción, para así poder analizar los efectos de los factores fijos de manera independiente (Tabla 21).

Tabla 20. Resultados del modelo lineal general de la actividad de la fosfatasa para el primer período de muestreo (marzo 2021). Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	0,21678	11	0,0197073	2,08	0,1117
Tratamiento	0,00717401	1	0,00717401	4,75	0,1611
Parcela(Tratamiento)	0,0831075	6	0,0138512	1,46	0,2701
Localidad	0,123479	2	0,0617397	40,89	0,0239
Tratamiento*Localidad	0,00301965	2	0,00150982	0,16	0,8543
Residuo	0,113573	12	0,00946444		
Total (corregido)	0,330354	23			

Los resultados del modelo sin interacción del primer período de muestreo no muestran efectos significativos del tratamiento, pero sí se encontraron diferencias muy significativas entre las localidades (Tabla 21). La actividad de la fosfatasa fue mayor en RJB con respecto a UCM (Figura 19).

Tabla 21. Resultados obtenidos del modelo lineal general del primer período de muestreo (marzo 2021), eliminando la interacción. Tratamiento y localidad son factores fijos, al igual que la parcela anidada en tratamiento.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	0,213761	9	0,0237512	2,85	0,0386
Tratamiento	0,00717401	1	0,00717401	0,86	0,3691
Parcela(Tratamiento)	0,0831075	6	0,0138512	1,66	0,2026
Localidad	0,123479	2	0,0617397	7,41	0,0064
Residuo	0,116593	14	0,00832807		
Total (corregido)	0,330354	23			

Medias y 95,0% Intervalos LSD

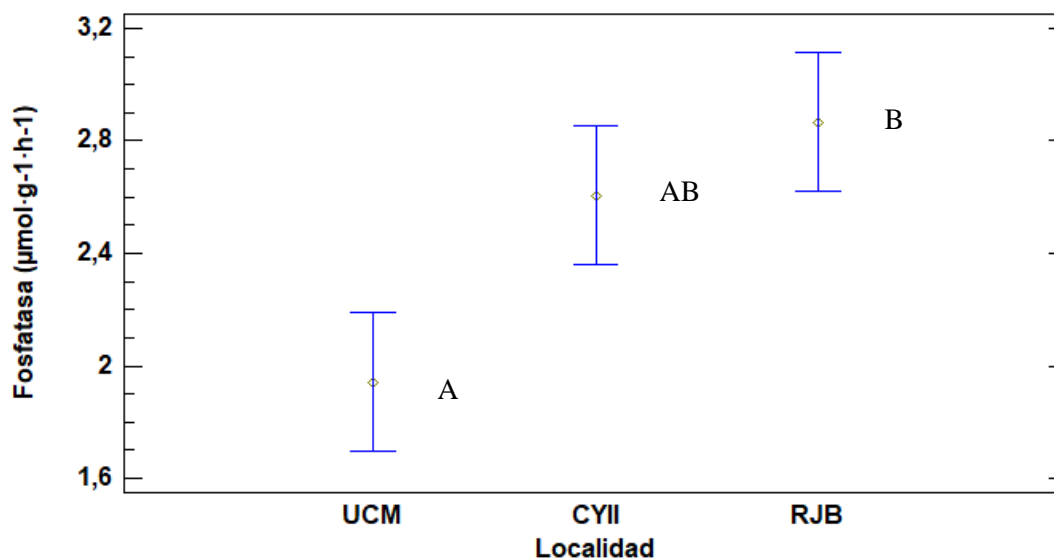


Figura 19. Medias de la actividad de la fosfatasa en las localidades (UCM, CYII y RJB) en el mes de marzo, con un nivel de confianza del 95% (datos sin transformar). En la gráfica, las medias marcadas con las mismas letras no difieren entre sí (intervalos HSD de Tukey en $P \leq 0,05$ para datos transformados).

En referencia al segundo período en el que se muestreó la actividad de la fosfatasa, en abril de 2021, y considerando los mismos factores de carácter fijo que en el primer período, se realizó un GLM cuyos resultados no mostraron un efecto significativo de la interacción entre la localidad y el tratamiento (Tabla 22). Dado que no hubo efectos significativos de la interacción, se realizó otro GLM en el que fue eliminada (Tabla 23).

Tabla 22. Resultados del modelo lineal general del segundo período de muestreo (abril 2021) para la actividad de la fosfatasa. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	0,266573	11	0,0242339	4,27	0,0095
Tratamiento	0,0147641	1	0,0147641	9,9	0,0879
Parcela(Tratamiento)	0,11549	6	0,0192484	3,39	0,0341
Localidad	0,133336	2	0,0666681	44,7	0,0219
Tratamiento*Localidad	0,00298273	2	0,00149137	0,26	0,7732
Residuo	0,0681088	12	0,00567573		
Total (corregido)	0,334682	23			

Los resultados de este segundo GLM en el que se eliminó la interacción, muestran un efecto significativo derivado del tratamiento, así como diferencias significativas entre las localidades de estudio. Los valores de actividad más elevados se encontraron en RJB (Figura 20).

Tabla 23. Resultados obtenidos del modelo lineal general de la actividad fosfatasa para el segundo período de muestreo (abril 2021), sin considerar la interacción. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	0,26359	9	0,0292878	5,77	0,0019
Tratamiento	0,0147641	1	0,0147641	2,91	0,1102
Parcela(Tratamiento)	0,11549	6	0,0192484	3,79	0,0187
Localidad	0,133336	2	0,0666681	13,13	0,0006
Residuo	0,0710915	14	0,00507796		
Total (corregido)	0,334682	23			

Medias y 95,0% Intervalos LSD

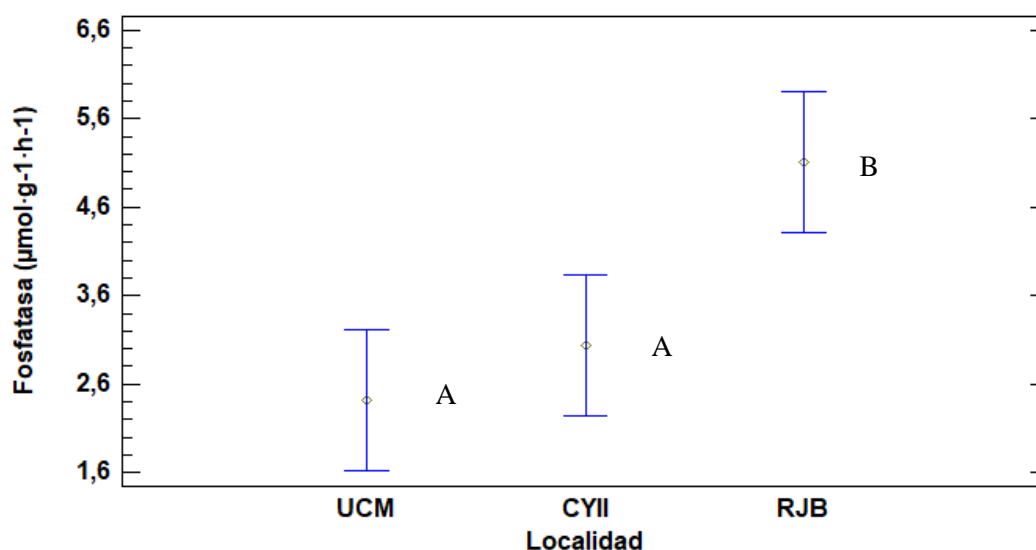


Figura 20. Medias de la actividad de la fosfatasa en las localidades (UCM, CYII y RJB) en el mes de abril, con un nivel de confianza del 95% (datos sin transformar). En la

gráfica, las medias marcadas con las mismas letras no difieren entre sí (intervalos HSD de Tukey en $P \leq 0,05$ para datos transformados).

Por último, con respecto al tercer período, en el que se muestreó la actividad de la fosfatasa finalizando el mes de mayo de 2021, y considerando los mismos factores de carácter fijo que en el primer y segundo período, se realizó un GLM cuyos resultados no revelaron un efecto significativo para la interacción entre la localidad y el tratamiento (Tabla 24). Como se hizo con los anteriores muestreos de la fosfatasa, se eliminó la interacción en un nuevo GLM para el estudio de los efectos de los demás factores (Tabla 25).

Tabla 24. Resultados del modelo lineal general del tercer período de muestreo (mayo 2021) para la actividad de la fosfatasa. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	P
Modelo	0,191221	11	0,0173837	4,99	0,005
Tratamiento	0,00282047	1	0,00282047	0,61	0,5167
Parcela(Tratamiento)	0,0679725	6	0,0113288	3,25	0,0389
Localidad	0,111173	2	0,0555863	12,01	0,0769
Tratamiento*Localidad	0,00925559	2	0,00462779	1,33	0,3012
Residuo	0,0418005	12	0,00348337		
Total (corregido)	0,233022	23			

Los resultados de este nuevo GLM en el que no se tuvo en cuenta la interacción, muestran un efecto significativo derivado del tratamiento, al igual que diferencias significativas entre las localidades de estudio. Tal y como sucedía en el segundo período de muestreo, los valores de actividad más elevados se encontraron en RJB (Figura 21).

Tabla 25. Resultados obtenidos del modelo lineal general de la actividad fosfatasa para el tercer período de muestreo (mayo 2021), sin considerar la interacción. Tratamiento, localidad y parcela (anidada en tratamiento) son factores fijos.

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	0,181966	9	0,0202184	5,54	0,0023
Tratamiento	0,00282047	1	0,00282047	0,77	0,394
Parcela(Tratamiento)	0,0679725	6	0,0113288	3,11	0,0377
Localidad	0,111173	2	0,0555863	15,24	0,0003
Residuo	0,0510561	14	0,00364686		
Total (corregido)	0,233022	23			

Medias y 95,0% Intervalos LSD

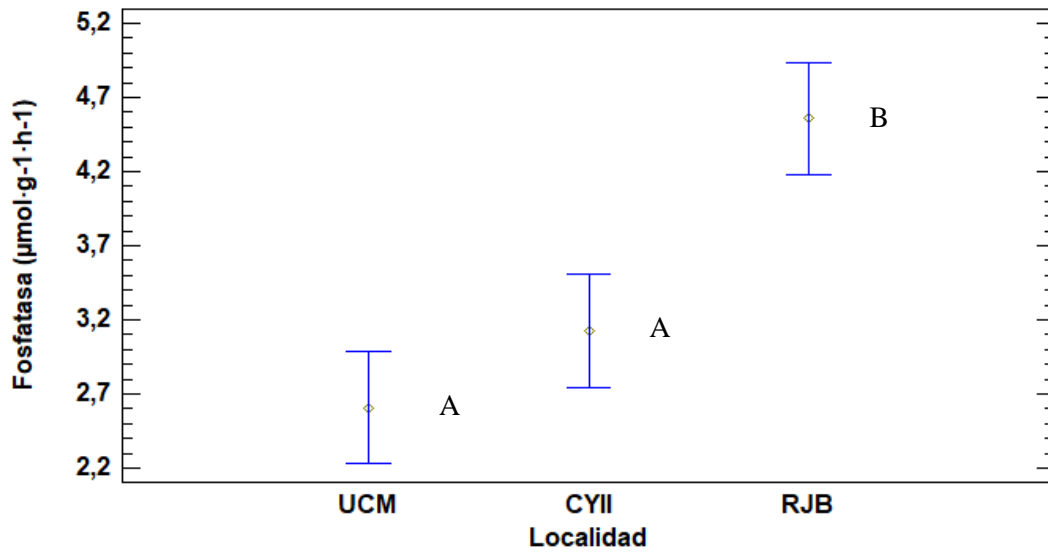


Figura 21. Medias de la actividad de la fosfatasa en las localidades (UCM, CYII y RJB) en el mes de mayo, con un nivel de confianza del 95% (datos sin transformar). En la gráfica, las medias marcadas con las mismas letras no difieren entre sí (intervalos HSD de Tukey en $P \leq 0,05$ para datos transformados).

Discusión

Actividad alimentaria

El registro de los invertebrados y su actividad es una metodología de diagnóstico del estado de los procesos biológicos de suelos tanto degradados como restaurados (Kooch *et al.*, 2018). En el trabajo aquí propuesto, los resultados obtenidos de la actividad alimentaria de los organismos edáficos, medida con el BLT, mostraron valores mayores en UCM durante todos los períodos de muestreo en comparación con RJB y CYII. A su vez, fue posible encontrar un efecto positivo del tratamiento de calentamiento en las OTCs de la UCM en tres períodos de muestreo distintos (marzo, junio y julio), muy diferente a lo que sucede en las otras 2 localidades en las que la actividad alimentaria es mínima. Dada esta actividad reducida, no parece extraño no haber obtenido efectos con el tratamiento con las OTCs.

La media total de consumo en este estudio fue de un 5,28% contando con todas las localidades y parcelas. Teniendo en cuenta únicamente a la UCM, zona en la que se

encontró la mayor actividad alimentaria, la media fue de 11,56% de agujeros consumidos. En CYII y en RJB, los porcentajes medios fueron 1,22 y 0,95 respectivamente. En otros trabajos que también utilizaron el BLT, como el de Hartley *et al.*, (2008), la media de consumo en zonas urbanas afectadas por la actividad humana oscilaba entre valores mínimos cercanos al 1% de consumo y un 12% aproximado como máximo. La escala que emplearon probablemente sea más flexible que la escogida en el presente estudio, porque únicamente clasificaron los agujeros como perforados o no perforados (Hartley *et al.*, 2008), sin establecer, aparentemente, un valor mínimo de consumo para clasificarlos como perforados. Este hecho, podría favorecer la obtención de valores más elevados. Asimismo, el tiempo de exposición también fue distinto (7 días) (Hartley *et al.*, 2008), más corto que el escogido en este estudio. La elección de los días de exposición es siempre una dificultad, ya que si las láminas son expuestas durante un tiempo muy reducido es posible que no se encuentren diferencias entre localidades porque la actividad alimentaria es baja en todas ellas. Contrariamente, si se exponen durante largos períodos, las diferencias pueden no quedar patentes porque se ha consumido prácticamente todo el cebo.

El BLT también ha sido empleado para medir la actividad alimentaria en áreas afectadas por actividad industrial. Un ejemplo es el trabajo de Filzek *et al.*, (2004), donde encontraron gradientes de consumo decreciente en pastizales según la cercanía a una fábrica. Los valores de consumo se encontraban entre el 1,5% y el 52%, habiendo diferencias notables por las distintas concentraciones de metales pesados en los suelos (Filzek *et al.*, 2004). Nuevamente la metodología varía porque clasificaron los agujeros como no perforados, parcialmente perforados o completamente perforados (Filzek *et al.*, 2004).

Otros estudios han demostrado el éxito del uso de las láminas para la medición de la actividad edáfica en pastizales sembrados en una zona semiárida, obteniendo unas tasas de consumo sorprendentemente bajas, con una media del 2,7% (Hamel *et al.*, 2007), a pesar de haberlas expuesto durante un largo tiempo (2 meses) durante los meses de verano. Es posible que los resultados que registraron estuvieran muy condicionados por la estación meteorológica en la que se encontraba esta zona geográfica. Además, el consumo lo midieron registrando el porcentaje de láminas que mostraban signos de alimentación. Es fundamental elegir períodos de exposición adecuados cuando se trabaja con BLT (Vorobeichik & Bergman, 2020). Los tiempos de exposición comunes en zonas

latitudinales templadas se establecen en 10 días mínimo y 20 como máximo (Römbke *et al.*, 2006). En el trabajo de Römbke *et al.*, (2006) las láminas fueron examinadas a los 2, 4, 6, 11 y 18 días después de su colocación, y en otros estudios también han utilizado períodos de tiempo similares al anteriormente mencionado, con comprobaciones del estado de los cebos a los 3, 5, 7, 10 y 14 días desde el momento de su colocación (Gongalsky *et al.*, 2004; Gongalsky *et al.*, 2008). Para las localizaciones en las que se registró menor actividad alimentaria (CYII y RJB), aumentar el número de días de exposición en cada muestreo podría haber aumentado el registro de actividad alimentaria, pudiendo de esta manera testar con mayor eficacia el efecto del tratamiento de calentamiento. Estos tiempos de exposición podrían ajustarse antes de comenzar el experimento, recurriendo a pruebas preliminares en las que se utilicen láminas control, que permitirían tener una guía del nivel de consumo en cada zona.

Además del tiempo, las diferencias encontradas entre UCM y las otras dos localidades pueden ser explicadas por factores relacionados con distintos niveles de contaminación, o también con las labores de jardinería que se lleven a cabo en cada localidad, las cuales pueden incluir distintos riegos, eliminación de malas hierbas, el laboreo de la tierra y el abonado, o el tipo de fertilizantes usados. Es conocido que organismos, como los artrópodos, tienen una gran capacidad de respuesta frente a los cambios provocados por la urbanización (McIntyre *et al.*, 2001), por lo que su número puede variar como consecuencia de las modificaciones que se realizan en estas zonas ajardinadas urbanas. Es muy posible que en las zonas ajardinadas elegidas para este trabajo haya diferentes trabajos de jardinería e incluso distintos niveles de contaminantes. Por ejemplo, en CYII, la zona donde se instalaron las parcelas experimentales era una pequeña superficie de césped con arbolado disperso que probablemente no exija gran cantidad de mantenimiento, que a su vez se encontraba en una zona con mucho tránsito automovilístico. En contraste, UCM y RJB son jardines dedicados a la botánica mucho más amplios, en los que es esperable que se realicen trabajos más intensos de riego y abonado. En RJB, gracias a los registros históricos, se sabe que la tierra de esta zona ha sido trabajada intensamente a lo largo de muchas décadas, por lo que cabe la posibilidad de que este hecho haya afectado a las comunidades edáficas que viven en él.

La actividad alimentaria podría estar condicionada y ser diferente en las zonas por las fluctuaciones poblacionales de los organismos edáficos. Aparte de la influencia de las labores de jardinería o la existencia de contaminantes, como ya se ha mencionado, la

variabilidad poblacional se puede relacionar con períodos en los que existen mejores o peores condiciones climáticas para las comunidades; o por los distintos ciclos de desarrollo de las especies que se encuentren en el suelo, entre otras causas, como ya fue estudiado en algunas poblaciones de microartrópodos en ciudades (Eitminaviciute, 2006). Las condiciones climáticas también tendrán impacto sobre otras especies edáficas como las lombrices, las cuales tendrán una presencia mínima o nula si las condiciones son áridas o semiáridas (Stanton, 1988). Este es un detalle para tener en cuenta, porque en otros trabajos, que usaron el BLT, se comprobó que la mayor parte de la actividad alimentaria observada con esta prueba es debida a las lombrices, que además, favorecen la presencia de otros grupos animales (como los colémbolos) que también pueden consumir los cebos (van Gestel *et al.*, 2003). Por este motivo, conocer la existencia o no de lombrices de tierra en las localidades del presente trabajo podría ser un buen complemento para discutir si influyen en los niveles de actividad alimentaria encontrados, por lo que se podrían llevar a cabo muestreos de la zona superficial de los suelos para conocer las densidades de estos anélidos u otros organismos que, a priori, van a ser los responsables del consumo de cebo.

Cabe resaltar que la comparación de los resultados obtenidos en este trabajo con los de otros estudios presenta dificultades ya que existen diferentes criterios de uso del BLT, que pueden ir desde la distinta composición de los cebos, variabilidad en los tiempos de exposición, distintas escalas de medida o el número de láminas empleadas, entre otros ejemplos. Otras variables que influyen en los resultados son la estacionalidad y la zona geográfica de estudio. Esta cuestión también fue mencionada por Bergman *et al.*, (2017).

Actividad enzimática

El registro de las actividades enzimáticas permite discernir los procesos existentes en los seres vivos del suelo y puede ser un buen indicador de la recuperación de las funciones de este sistema si ha sido restaurado (Tejada *et al.*, 2006). En este sentido, los resultados de los muestreos de la actividad enzimática en la superficie del suelo de las localidades estudiadas, en líneas generales, mostraron unos valores más reducidos en UCM. Por otro lado, en prácticamente todos los análisis, los valores fueron superiores en RJB. Es conocido que el suelo presenta un conjunto de enzimas intra y extracelulares producidas por la fauna y vegetación, además de las originadas por microorganismos como las bacterias y los hongos (Gianfreda *et al.*, 1996). Estas enzimas edáficas son

cruciales en los distintos ciclos biogeoquímicos, como la ureasa en el del nitrógeno, las fosfatasas en el del fósforo, la sulfatasa en el del azufre, o las glucosidasas y galactosidasas en el ciclo del carbono (Karaca *et al.*, 2010), por lo que, adicionalmente, son relevantes en el funcionamiento de los ecosistemas al catalizar muchas reacciones dentro de los ciclos de nutrientes (Bandick & Dick, 1999).

Comenzando con la β -glucosidasa, su actividad fue mayoritaria en 2 localidades (CYII y RJB). Solo se encontró un posible efecto del tratamiento con OTCs en el muestreo de mayo, que fue positivo en UCM y RJB. Las medias de actividad fueron $1'24 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en UCM, $3'124 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en CYII y $2'943 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en RJB, rangos que estarían en consonancia con los hallados en otros trabajos en los que la actividad enzimática fue de 0,67 a $4,58 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, dentro de zonas no perturbadas con vegetación arbórea (Trasar-Cepeda *et al.*, 2000). Sí que es cierto que los suelos en los que Trasar-Cepeda *et al.*, (2000) realizaron su estudio, probablemente, tengan distintas características que los antrosoles del presente trabajo. En muestras de 10 cm superficiales de 29 suelos de pastizales permanentes, la actividad de esta enzima osciló entre 1,12 y $6,12 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Turner *et al.*, 2002), valores también próximos a los encontrados en las 3 localidades. Sin embargo, comparativamente, en otros antrosoles de la zona mediterránea, los valores detectados de actividad de esta enzima durante un año fueron mucho más elevados, concretamente $23,6 \pm 1,1 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Jorge-Mardomingo *et al.*, 2013). Las diferencias de actividad de la glucosidasa halladas entre las localidades pueden ser debidas a la mayor o menor presencia de hongos, los cuales son considerados como importantes productores de esta enzima (Hayano & Tubaki, 1985), o por otras causas, como el tipo de fertilizantes que hayan sido aplicados al suelo, los cuales pueden modificar la actividad de la glucosidasa (Meyer *et al.*, 2015). Los valores hallados en el presente estudio, parecen demostrar que la liberación de compuestos con menor tamaño molecular mediada por esta enzima, involucrada en el ciclo del carbono, no estaría comprometida, por lo que las posteriores acciones enzimáticas microbianas de liberación de nutrientes (Sardans *et al.*, 2008) podrían darse sin problemas.

Centrando la atención en la ureasa, solo se encontraron diferencias entre las localidades a partir del muestreo del mes de abril. A partir de entonces, la actividad enzimática fue superior en RJB y menor en UCM. Por otra parte, no fue posible demostrar efectos significativos del tratamiento de incremento de temperatura con las OTCs en ninguno de los muestreos. Las medias de actividad ureasa fueron $0'016 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en

UCM, $0,02 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en CYII y $0,036$ en RJB $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. En muestreos de los 10 cm superficiales del suelo en otros trabajos llevados a cabo en la Península Ibérica, la ureasa variaba de 0,805 a 2,410 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, valores entre los que se registró la posible influencia de los árboles y arbustos en la actividad de esta enzima (Gómez-Rey *et al.*, 2013). Otros valores registrados presentaron mayor amplitud, concretamente, entre 3,17 y 49,78 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en horizontes Ah (Trasar-Cepeda *et al.*, 2000), y en los antrosoles analizados en Jorge-Mardomingo *et al.*, (2013) los registros en los suelos control fueron $0,17 \pm 0,02 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. En pastizales mediterráneos con una baja intensidad de pastoreo, se encontró aproximadamente 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ de ureasa en el mes de enero, mientras que en mayo fue ligeramente superior, en torno a 1,5 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Panayiotou *et al.*, 2017). Tal y como se aprecia al hacer la comparativa entre los resultados que se encuentran en la literatura, existe una gran variabilidad. Los valores hallados de actividad enzimática en este trabajo son menores que en algunos estudios anteriores. La activación de esta enzima se debe a la presencia de urea y otros compuestos que contengan nitrógeno, incluso aunque tengan un bajo contenido (Mobley *et al.*, 1995). Es una enzima fundamental dentro del ciclo del nitrógeno (Panayiotou *et al.*, 2017) y para la existencia de las comunidades biológicas, ya que cuando el nitrógeno es transformado a uno de sus estados reducidos (NO_2^- , NO_3^- y NH_4^+), se hace posible su incorporación a organismos vegetales (Crawford & Glass, 1998; Ahmed *et al.*, 2017). En cuanto a las posibles causas que podrían explicar la variabilidad encontrada de la actividad ureasa en las 3 localidades, esta puede variar por la magnitud de las alteraciones, como los laboreos, que hayan podido existir (Adetunji *et al.*, 2020) o por las concentraciones de metales pesados que estén presentes en el sustrato (Yang *et al.*, 2006). Se podría pensar que las diferencias fueron debidas a poblaciones microbianas, productoras de esta enzima, con diferente número de efectivos, pero quizá no sea adecuado establecer una relación entre la actividad de la ureasa y los microorganismos activos (Frankenberger Jr & Dick, 1983).

Respecto a la última enzima muestreada, los resultados fueron similares a los obtenidos con la ureasa, existiendo mayor actividad de la fosfatasa en RJB, más variabilidad temporal en CYII y valores mínimos de actividad en UCM. Se encontraron diferencias entre las 3 localidades en todos los meses muestreados, y el tratamiento con OTCs tuvo efectos significativos en los muestreos de abril y mayo. Las medias de actividad fueron $2,33 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en UCM, $2,92 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en CYII y $4,17 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en RJB. En ejemplos de trabajos previos, la actividad de esta enzima en otros suelos

fue de 1,213 a 1,313 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Gómez-Rey *et al.*, 2013), rangos de 2,23 a 15,76 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ según Trasar-Cepeda *et al.*, (2000), y, en antrosoles, los valores oscilaron entre 20 y 60 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Jorge-Mardomingo *et al.*, 2013), estos últimos muy elevados con respecto a lo obtenido en los muestreos realizados en el presente trabajo. Las actividades de las fosfatasas están implicadas en la mineralización del P orgánico a P inorgánico, el cual es absorbido por las raíces de las plantas o por los microorganismos edáficos, por lo que son necesarias para su nutrición (Speir & Cowling, 1991; Nannipieri *et al.*, 2011). La actividad de esta enzima se puede ver influida por diversos factores, como las concentraciones de metales pesados que pueden reducir su actividad (Bhattacharyya *et al.* 2008), u otros relacionados con el manejo del suelo, como puede ser el tipo de fertilizantes que se aplican o los laboreos (Banerjee *et al.*, 2012). Otras variables que explican su variabilidad de actividad son la vegetación que crece en cada suelo y el pH del sustrato (Herbien & Neal, 1990). Por ejemplo, es conocido que las leguminosas producen más fosfatasa que muchas gramíneas para poder fijar nitrógeno de manera más eficaz (Makoi & Ndakidemi, 2008).

Conclusiones

- El estudio ha demostrado la existencia de variabilidad en los patrones de actividad alimentaria de la fauna edáfica y actividad enzimática del suelo en tres zonas verdes de la ciudad de Madrid. La variabilidad encontrada podría deberse a diferencias en el manejo de las zonas.
- El tratamiento de calentamiento con OTCs tuvo éxito incrementando la actividad alimentaria en uno de los suelos de las localidades (UCM) en 3 períodos de muestreo distintos. La falta de efecto del tratamiento en las otras dos localidades se debió al bajo nivel de actividad alimentaria detectado en ellas.
- Respecto a la actividad enzimática, el tratamiento de calentamiento no tuvo ningún efecto en la ureasa, pero sí en la actividad glucosidasa durante el muestreo de mayo, viéndose incrementada la actividad en UCM y RJB; y en la fosfatasa durante los muestreos de abril y mayo en todas las localidades.
- La gestión de las zonas verdes urbanas puede afectar al funcionamiento del suelo y su biodiversidad, a pesar de la aparente homogeneidad de estos sistemas.
- Siguiendo el punto anterior, las diferencias existentes de funcionamiento y biodiversidad del suelo entre zonas verdes urbanas estructuralmente homogéneas,

indican la necesidad de ampliar el número de áreas verdes muestreadas y analizar el efecto de los distintos patrones de gestión.

Agradecimientos

En primer lugar, agradecer a todos los profesores que han colaborado en mi educación universitaria, tanto en los estudios de grado como en el máster. Especial mención a mi tutor del TFM, Juan, por su confianza, dirección, paciencia y apoyo, y que ha permitido que este proyecto sea una realidad. Gracias a todos los que han prestado su ayuda en muchos momentos, incluyendo a compañeros y amigos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid, y a profesoras, como Mariló. Agradecer al laboratorio *Nutrilab* los análisis de las muestras de suelo. Gracias a los amigos que han estado presentes durante esta etapa de mi vida. Por supuesto, también quiero mencionar a mi familia, por escucharme y alentarme en los momentos de dificultad, por enseñarme a perseverar, por dedicar todo su esfuerzo, recursos y cariño en mi formación, y sin los que hubiera sido imposible completar mi trayectoria académica. A todos ellos, mi más sincero agradecimiento.

BIBLIOGRAFÍA

Adetunji, A. T., Lewu, F. B., Mulidzi, R., & Ncube, B. 2017. The biological activities of β -glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators: a review. *Journal of soil science and plant nutrition*, 17(3), 794-807.

Adetunji, A. T., Ncube, B., Mulidzi, R., & Lewu, F. B. 2020. Potential use of soil enzymes as soil quality indicators in agriculture. *Front. Soil Environ. Microbiol*, 57-64.

Ahmed, M., Rauf, M., Mukhtar, Z., & Saeed, N. A. 2017. Excessive use of nitrogenous fertilizers: an unawareness causing serious threats to environment and human health. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(35), 26983-26987.

Anderson, J. M. 1995. Soil organisms as engineers: microsite modulation of macroscale processes. In *Linking Species & Ecosystems* (pp. 94-106). Springer, Boston, MA.

- Antrop, M. 2004. Landscape change and the urbanization process in Europe. *Landscape and urban planning*, 67(1-4), 9-26.
- Aparicio, C. L. 2000. *Origen y desarrollo de un eje periférico de la capital, Paseo de Agustinos Recoletos, Paseo del Prado Viejo de San Jerónimo y Paseo de Atocha* (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
- Aronson, E. L. & McNulty, S. G. 2009. Appropriate experimental ecosystem warming methods by ecosystem, objective, and practicality. *Agricultural and Forest Meteorology*, 149(11), 1791-1799.
- Aronson, M. F., Lepczyk, C. A., Evans, K. L., Goddard, M. A., Lerman, S. B., MacIvor, J. S., Nilon, C. H., & Vargo, T. 2017. Biodiversity in the city: key challenges for urban green space management. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 15(4), 189-196.
- Bandick, A. K., & Dick, R. P. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil biology and biochemistry*, 31(11), 1471-1479.
- Banerjee, A., Sanyal, S., & Sen, S. 2012. Soil phosphatase activity of agricultural land: A possible index of soil fertility. *Agricultural Science Research Journals*, 2(7), 412-419.
- Bergman, I. E., Vorobeichik, E. L. & Ermakov, A. I. 2017. The effect of megalopolis environment on the feeding activity of soil saprophages in urban forests. *Eurasian Soil Science*, 50(1), 106-117.
- Bertrand, M., Barot, S., Blouin, M., Whalen, J., de Oliveira, T., & Roger-Estrade, J. 2015. Earthworm services for cropping systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 553-567.
- Bhattacharya, N. C., Hileman, D. R., Ghosh, P. P., Musser, R. L., Bhattacharya, S., & Biswas, P. K. 1990. Interaction of enriched CO₂ and water stress on the physiology of and biomass production in sweet potato grown in open-top chambers. *Plant, Cell & Environment*, 13(9), 933-940.
- Bhattacharyya, P., Tripathy, S., Chakrabarti, K., Chakraborty, A., & Banik, P. 2008. Fractionation and bioavailability of metals and their impacts on microbial properties in sewage irrigated soil. *Chemosphere*, 72(4), 543-550.

- Bokhorst, S., Huiskes, A., Convey, P., & Aerts, R. 2007. The effect of environmental change on vascular plant and cryptogam communities from the Falkland Islands and the Maritime Antarctic. *BMC ecology*, 7(1), 1-13.
- Bolado Somolinos, J. M. 1981. Bicentenario del Real Jardín Botánico de Madrid. *Revista de bachillerato*.
- Bolin, B. 1970. The carbon cycle. *Scientific American*, 223(3), 124-135.
- Bueno, A. G. 2018. El Real Jardín Botánico" Alfonso XIII" y el ajardinamiento de la Universidad Complutense de Madrid. In *Anales del Instituto de Estudios Madrileños* (No. 58, pp. 421-462). Instituto de Estudios Madrileños.
- Byrne, L. B. 2007. Habitat structure: a fundamental concept and framework for urban soil ecology. *Urban Ecosystems*, 10(3), 255-274.
- Calvo Sorando, J. P., Gallego E., Goy, J. L., López-Martínez, N., Morales, J., Pérez-González, A., San José Lancha, M. A., Vegas Martínez, R., & Zazo, C. 1994. *Memoria de la Hoja nº559 (Madrid)*. Mapa Geológico de España E. 1:50.000 (MAGNA), Segunda Serie, Primera edición. IGME, 71 pp.
- Craul, P. J. 1985. A description of urban soils and their desired characteristics. *Journal of arboriculture*, 11(11), 330-339.
- Crawford, N. M., & Glass, A. D. 1998. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. *Trends in plant science*, 3(10), 389-395.
- Condrón, L. M., Turner, B. L., & Cade-Menun, B. J. 2005. Chemistry and dynamics of soil organic phosphorus. *Phosphorus: Agriculture and the environment*, 46, 87-121.
- Coûteaux, M. M., Bottner, P., & Berg, B. 1995. Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends in ecology & evolution*, 10(2), 63-66.
- D'Andrea, L., & Rinaldi, M. 2010. Systems to evaluate the effects of atmospheric CO₂ concentration on field crops: a review of open top chambers. *Ita. J. of Agrometeorology*, 1, 23-34.
- Dalai, R. C. 1977. Soil organic phosphorus. *Advances in agronomy*, 29, 83-117.
- Das, S. K., & Varma, A. 2010. Role of enzymes in maintaining soil health. In *Soil enzymology* (pp. 25-42). Springer, Berlin, Heidelberg.

- De Graaff, M. A., Adkins, J., Kardol, P., & Throop, H. L. 2015. A meta-analysis of soil biodiversity impacts on the carbon cycle. *Soil*, 1(1), 257-271.
- De Kimpe, C. R., & Morel, J. L. 2000. Urban soil management: a growing concern. *Soil science*, 165(1), 31-40.
- De Santo, F. B., Guerra, N., Vianna, M. S., Torres, J. P. M., Marchioro, C. A. & Niemeyer, J. C. 2019. Laboratory and field tests for risk assessment of metsulfuron-methyl-based herbicides for soil fauna. *Chemosphere*, 222, 645-655.
- Dore, S., Hymus, G. J., Johnson, D. P., Hinkle, C. R., Valentini, R., & Drake, B. G. 2003. Cross validation of open-top chamber and eddy covariance measurements of ecosystem CO₂ exchange in a Florida scrub-oak ecosystem. *Global Change Biology*, 9(1), 84-95.
- Eisenhauer N., Wirsch D., Cesarz S., Craven D., Dietrich P., Friese J., Helm J., Hines J., Schellenberg M., Scherreiks P., Schwarz B., Uhe C., Wagner K. & Steinauer K. 2014. Organic textile dye improves the visual assessment of the bait-lamina test. *Applied soil ecology*, 82, 78-81.
- Eitminavičiute, I. 2006. Microarthropod communities in anthropogenic urban soils. 1. Structure of microarthropod complexes in soils of roadside lawns. *Entomological Review*, 86(2), S128-S135.
- Emsley, J. 1980. The phosphorus cycle. In *The Natural Environment and the Biogeochemical Cycles* (pp. 147-167). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Filzek, P. D., Spurgeon, D. J., Broll, G., Svendsen, C., Hankard, P. K., Parekh, N., Stubberud, H. E. & Weeks, J. M. 2004. Metal effects on soil invertebrate feeding: measurements using the bait lamina method. *Ecotoxicology*, 13(8), 807-816.
- Follmer, C. 2008. Insights into the role and structure of plant ureases. *Phytochemistry*, 69(1), 18-28.
- Frankenberger Jr, W. T., & Dick, W. A. 1983. Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil. *Soil science society of America journal*, 47(5), 945-951.
- Gartner, T. B., & Cardon, Z. G. 2004. Decomposition dynamics in mixed-species leaf litter. *Oikos*, 104(2), 230-246.

- Ge, X., Zeng, L., Xiao, W., Huang, Z., Geng, X., & Tan, B. 2013. Effect of litter substrate quality and soil nutrients on forest litter decomposition: A review. *Acta Ecologica Sinica*, 33(2), 102-108.
- Geissen, V. & Brümmer, G. W. 1999. Decomposition rates and feeding activities of soil fauna in deciduous forest soils in relation to soil chemical parameters following liming and fertilization. *Biology and Fertility of Soils*, 29(4), 335-342.
- Gianfreda, L., & Bollag, J. M. 1996. Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. *Soil biochemistry*. Volume 9., 123-193.
- Godfree, R., Robertson, B., Bolger, T., Carnegie, M., & Young, A. 2011. An improved hexagon open-top chamber system for stable diurnal and nocturnal warming and atmospheric carbon dioxide enrichment. *Global Change Biology*, 17(1), 439-451.
- Gómez-Rey, M. X., Madeira, M., Gonzalez-Prieto, S. J., & Coutinho, J. 2013. Soil C and N dynamics in a Mediterranean oak woodland with shrub encroachment. *Plant and soil*, 371(1), 339-354.
- Gongalsky, K. B., Pokarzhevskii, A. D., Filimonova, Z. V. & Savin, F. A. 2004. Stratification and dynamics of bait-lamina perforation in three forest soils along a north-south gradient in Russia. *Applied Soil Ecology*, 25(2), 111-122.
- Gongalsky, K. B., Persson, T. & Pokarzhevskii, A. D. 2008. Effects of soil temperature and moisture on the feeding activity of soil animals as determined by the bait-lamina test. *Applied Soil Ecology*, 39(1), 84-90.
- Griffiths, B. S., Römbke, J., Schmelz, R. M., Scheffczyk, A., Faber, J. H., Bloem, J., Pèrés, G., Clezau, D., Chabbi, A., Suhadolc, M., Sousa, J. P., Martins da Silva, P., Carvalho, F., Mendes, S., Morais, P., Francisco, R., Pereira, C., Bonkowski, M., Geisen, S., Bardgett, R. D., de Vries F. T., Bolger, T., Dirilgen, T., Schmidt, O., Winding, A., Hendriksen, N. B., Johansen, A., Philippot, L., Plassart, P., Bru, N., Thomson, B., Griffiths, R. I., Bailey, M. J., Keith, A., Ruthers, M., Mulder, C., Hannula, S. E., Creamer, R., & Stone, D. 2016. Selecting cost effective and policy-relevant biological indicators for European monitoring of soil biodiversity and ecosystem function. *Ecological Indicators*, 69, 213-223.
- Grimm, N. B., Grove, J. G., Pickett, S. T., & Redman, C. L. 2000. Integrated approaches to long-term studies of urban ecological systems: Urban ecological systems present

- multiple challenges to ecologists—Pervasive human impact and extreme heterogeneity of cities, and the need to integrate social and ecological approaches, concepts, and theory. *BioScience*, 50(7), 571-584.
- Guterres, A., & Spiegel, P. 2012. The state of the world's refugees: adapting health responses to urban environments. *Jama*, 308(7), 673-674.
- Hamel, C., Schellenberg, M. P., Hanson, K. & Wang, H. 2007. Evaluation of the “bait-lamina test” to assess soil microfauna feeding activity in mixed grassland. *Applied soil ecology*, 36(2-3), 199-204.
- Hartley, W., Uffindell, L., Plumb, A., Rawlinson, H. A., Putwain, P., & Dickinson, N. M. 2008. Assessing biological indicators for remediated anthropogenic urban soils. *Science of the Total Environment*, 405(1-3), 358-369.
- Hättenschwiler, S., Tiunov, A. V., & Scheu, S. 2005. Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 36, 191-218.
- Hauck, R. D. 1985. Slow-release and bioinhibitor-amended nitrogen fertilizers. *Fertilizer technology and use*, 293-322.
- Hayano, K., & Tubaki, K. 1985. Origin and properties of β -glucosidase activity of tomato-field soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 17(4), 553-557.
- Helling, B., Pfeiff, G. & Larink, O. 1998. A comparison of feeding activity of collembolan and enchytraeid in laboratory studies using the bait-lamina test. *Applied Soil Ecology*, 7(3), 207-212.
- Herbien, S. A., & Neal, J. L. 1990. Soil pH and phosphatase activity. *Communications in soil science and plant analysis*, 21(5-6), 439-456.
- Hollister, R. D. & Webber, P. J. 2000. Biotic validation of small open-top chambers in a tundra ecosystem. *Global Change Biology*, 6(7), 835-842.
- Idso, S. B., & Kimball, B. A. 1995. Effects of atmospheric CO₂ enrichment on the growth of a desert succulent: *Agave vilmoriniana* Berger. *Journal of Arid Environments*, 31(4), 377-382.

- ISO, 2016. Method for testing effects of soil contaminants on the feeding activity of soil dwelling organisms — Bait-lamina test. 18311. *International Organization for Standardization*, Geneva.
- IUSS Grupo de Trabajo WRB. 2007. Base Referencial Mundial del Recurso Suelo. Primera actualización 2007. *Informes sobre Recursos Mundiales de Suelos No. 103*. FAO, Roma.
- Jägerbrand, A. K. 2005. *Subarctic bryophyte ecology: phenotypic variation and responses to simulated environmental change*. Sweden: Göteborg University.
- Januszek, K. 2011. The enzyme activity of the forest soils of southern Poland as a measure of soil quality. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 14(2).
- Jorge-Mardomingo, I., Soler-Rovira, P., Casermeiro, M. Á., de la Cruz, M. T., & Polo, A. 2013. Seasonal changes in microbial activity in a semiarid soil after application of a high dose of different organic amendments. *Geoderma*, 206, 40-48.
- Karaca, A., Cetin, S. C., Turgay, O. C., & Kizilkaya, R. 2010. Soil enzymes as indication of soil quality. In *Soil enzymology* (pp. 119-148). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Keesstra, S. D., Bouma, J., Wallinga, J., Tittonell, P., Smith, P., Cerdà, A., Montanarella, L., Quinton, J. N., Pachepsky, Y., van der Putten, W. H., Bardgett, R. D, Moolenaar, S., Mol, G., Jansen, B., & Fresco, L. O. 2016. The significance of soils and soil science towards realization of the United Nations Sustainable Development Goals. *Soil*, 2(2), 111-128.
- Klein, J. A., Harte, J. & Zhao, X. Q. 2005. Dynamic and complex microclimate responses to warming and grazing manipulations. *Global Change Biology*, 11(9), 1440-1451.
- Klotz, M. G., & Stein, L. Y. 2008. Nitrifier genomics and evolution of the nitrogen cycle. *FEMS microbiology letters*, 278(2), 146-156.
- Kooch, Y., Tavakoli, M., & Akbarinia, M. 2018. Tree species could have substantial consequences on topsoil fauna: a feedback of land degradation/restoration. *European Journal of Forest Research*, 137(6), 793-805.
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B. & Rubel, F. 2006. World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorol. Z.* 15, 259–263.

- Kratz, W. & Pieper, S. 1999. Der Beitrag des Koderstreifentests " bei der Entwicklung von bodenbiologischen Bodenguteklassen " nach dem Bundes-Bodenschutzgesetz. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 91/2:654–657.
- Ladd, J. N. 1985. Soil enzymes. In *Soil organic matter and biological activity* (pp. 175-221). Springer, Dordrecht.
- Ladrón de Guevara, M. L., Lázaro, R., Quero, J. L., Ochoa, V., Gozalo, B., Berdugo, M., Ucles, O., Escolar, C. & Maestre, F. T. 2014. Simulated climate change reduced the capacity of lichen-dominated biocrusts to act as carbon sinks in two semi-arid Mediterranean ecosystems. *Biodiversity and Conservation*, 23(7), 1787-1807.
- Larink, O. & Sommer, R. 2002. Influence of coated seeds on soil organisms tested with bait lamina. *European journal of soil biology*, 38(3-4), 287-290.
- Lavelle, P., Bignell, D., Lepage, M., Wolters, V., Roger, P. A., Ineson, P. O. W. H., & Dhillon, S. 1997. Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. *European Journal of soil biology*, 33(4), 159-193.
- Lorenz, K., & Lal, R. 2009. Biogeochemical C and N cycles in urban soils. *Environment international*, 35(1), 1-8.
- Loures, L., & Costa, L. 2012. The role of urban parks to enhance metropolitan sustainability: the case of Oporto. *International Journal of energy and environment*, 6(4), 453-461.
- Machuca, A., Cuba-Díaz, M., & Córdova, C. 2015. Enzymes in the rhizosphere of plants growing in the vicinity of the Polish Arctowski Antarctic Station. *Journal of soil science and plant nutrition*, 15(4), 833-838.
- Makoi, J. H., & Ndakidemi, P. A. 2008. Selected soil enzymes: examples of their potential roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology*, 7(3).
- Manzoni, S., Porporato, A., d'Odorico, P., Laio, F., & Rodriguez-Iturbe, I. 2004. Soil nutrient cycles as a nonlinear dynamical system. *Nonlinear Processes in Geophysics*, 11(5/6), 589-598.
- Marion, G. M. 1996. Temperature enhancement experiments. In: ITEX Manual (eds Molau U, Mølgaard P), pp. 17-22. Danish Polar Center, *Copenhagen, Denmark*.

- Marion, G. M., Henry, G. H. R., Freckman, D. W., Johnstone, J., Jones, G., Jones, M. H., Lévesque, E., Molau, U., Mølgaard, P., Parsons, A. N., Svoboda, J. & Virginia, R. A. 1997. Open-top designs for manipulating field temperature in high-latitude ecosystems. *Global Change Biology*, 3(S1), 20-32.
- Martinez, C. E., & Tabatabai, M. A. 1997. *Decomposition of biotechnology by-products in soils* (Vol. 26, No. 3, pp. 625-632). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America.
- McDonnell, M. J., Pickett, S. T., Groffman, P., Bohlen, P., Pouyat, R. V., Zipperer, W. C., Parmelee, R. W., Carreiro, M. M., & Medley, K. 2008. Ecosystem processes along an urban-to-rural gradient. In *Urban Ecology* (pp. 299-313). Springer, Boston, MA.
- McIntyre, N. E., Rango, J., Fagan, W. F., & Faeth, S. H. 2001. Ground arthropod community structure in a heterogeneous urban environment. *Landscape and urban planning*, 52(4), 257-274.
- McNeill, A., & Unkovich, M. 2007. The nitrogen cycle in terrestrial ecosystems. In *Nutrient cycling in terrestrial ecosystems* (pp. 37-64). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Menta, C. 2012. Soil fauna diversity-function, soil degradation, biological indices, soil restoration. *Biodiversity conservation and utilization in a diverse world*, 59-94.
- Merino, C., Godoy, R., & Matus, F. 2016. Soil enzymes and biological activity at different levels of organic matter stability. *Journal of soil science and plant nutrition*, 16(1), 14-30.
- Meyer, A. H., Wooldridge, J., & Dames, J. F. 2015. Effect of conventional and organic orchard floor management practices on enzyme activities and microbial counts in a 'Cripp's Pink'/M7 apple orchard. *South African Journal of Plant and Soil*, 32(2), 105-112.
- Millennium Ecosystem Assessment, 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Island Press, Washington, DC.
- Mobley, H. L., Island, M. D., & Hausinger, R. P. 1995. Molecular biology of microbial ureases. *Microbiological reviews*, 59(3), 451-480.
- Molau U & Mølgaard P. 1996. *The International Tundra Experiment Manual*. Danish Polar Center, Copenhagen.

- Muñoz-Rojas, M. 2018. Soil quality indicators: critical tools in ecosystem restoration. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 5, 47-52.
- Musso, C., Miranda, H. S., Soares, A. M., & Loureiro, S. 2014. Biological activity in Cerrado soils: evaluation of vegetation, fire and seasonality effects using the “bait-lamina test”. *Plant and soil*, 383(1), 49-58.
- Nannipieri, P., Ceccanti, B., Cervelli, S., & Matarese, E. 1980. Extraction of phosphatase, urease, proteases, organic carbon, and nitrogen from soil. *Soil Science Society of America Journal*, 44(5), 1011-1016.
- Nannipieri, P., Giagnoni, L., Landi, L., & Renella, G. 2011. Role of phosphatase enzymes in soil. In *Phosphorus in action* (pp. 215-243). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Niemeyer, J. C., de Santo, F. B., Guerra, N., Ricardo Filho, A. M. & Pech, T. M. 2018. Do recommended doses of glyphosate-based herbicides affect soil invertebrates? Field and laboratory screening tests to risk assessment. *Chemosphere*, 198, 154-160.
- Njoroge, D. M., Chen, S. C., Zuo, J., Dossa, G. G., & Cornelissen, J. H. Soil fauna accelerate litter mixture decomposition globally, especially in dry environments. *Journal of Ecology*. Doi: 10.1111/1365-2745.13829.
- Núñez-Peiró, M., Sanchez, C. S. G., & González, F. J. N. 2021. Hourly evolution of intra-urban temperature variability across the local climate zones. The case of Madrid. *Urban Climate*, 39, 100921.
- Panayiotou, E., Dimou, M., & Monokrousos, N. 2017. The effects of grazing intensity on soil processes in a Mediterranean protected area. *Environmental monitoring and assessment*, 189(9), 1-11.
- Pascual, J. A., Moreno, J. L., Hernández, T., & García, C. 2002. Persistence of immobilised and total urease and phosphatase activities in a soil amended with organic wastes. *Bioresource technology*, 82(1), 73-78.
- Pehle, A. & Schirmel, J. 2015. Moss invasion in a dune ecosystem influences ground-dwelling arthropod community structure and reduces soil biological activity. *Biological invasions*, 17(12), 3467-3477.
- Pesce, S., Campiche, S., Casado-Martinez, C., Mahamoud Ahmed, A., Bonnineau, C., Dabrin, A., Lyautey, E. & Ferrari, B.J.D. 2020. Towards simple tools to assess functional

effects of contaminants on natural microbial and invertebrate sediment communities. *Environ Sci Pollut Res* 27, 6680–6689.

Pickett, S. T., Cadenasso, M. L., Grove, J. M., Nilon, C. H., Pouyat, R. V., Zipperer, W. C., & Costanza, R. 2001. Urban ecological systems: linking terrestrial ecological, physical, and socioeconomic components of metropolitan areas. *Annual review of ecology and systematics*, 32(1), 127-157.

Quinton, J. N., Govers, G., Van Oost, K., & Bardgett, R. D. 2010. The impact of agricultural soil erosion on biogeochemical cycling. *Nature Geoscience*, 3(5), 311-314.

Radin, J. W., Hartung, W., Kimball, B. A., & Mauney, J. R. 1988. Correlation of stomatal conductance with photosynthetic capacity of cotton only in a CO₂-enriched atmosphere: Mediation by abscisic acid? *Plant Physiology*, 88(4), 1058-1062.

Riba, O. 1957. Terrasses du Manzanares et du Jarama aux environs de Madrid. INQUA, *V. Congr. Intern. Livret. Guide, Exc.*, 5-55.

Rincón, L. E. C., & Gutiérrez, F. A. A. 2012. Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. *Revista colombiana de Biotecnología*, 14(1), 285-295.

Römbke, J., Höfer, H., Garcia, M. V. & Martius, C. 2006. Feeding activities of soil organisms at four different forest sites in Central Amazonia using the bait lamina method. *Journal of Tropical Ecology*, 22(3), 313-320.

Römbke, J. 2014. The feeding activity of invertebrates as a functional indicator in soil. *Plant and soil*, 383(1), 43-46.

San Miguel del Río, Y. 2020. Caracterización de la actividad biológica del suelo de una pradera ornamental debido al aumento de temperatura en un escenario de cambio climático. Tutores: Juan Antonio Delgado Sáez, María Dolores Jiménez Escobar. *TRABAJO DE FIN DE GRADO*. Mención Ambiental. Madrid, Convocatoria Ordinaria.

Sardans, J., Peñuelas, J., & Estiarte, M. 2008. Changes in soil enzymes related to C and N cycle and in soil C and N content under prolonged warming and drought in a Mediterranean shrubland. *Applied Soil Ecology*, 39(2), 223-235.

Seastedt, T. R. 1984. The role of microarthropods in decomposition and mineralization processes. *Annual review of entomology*, 29(1), 25-46.

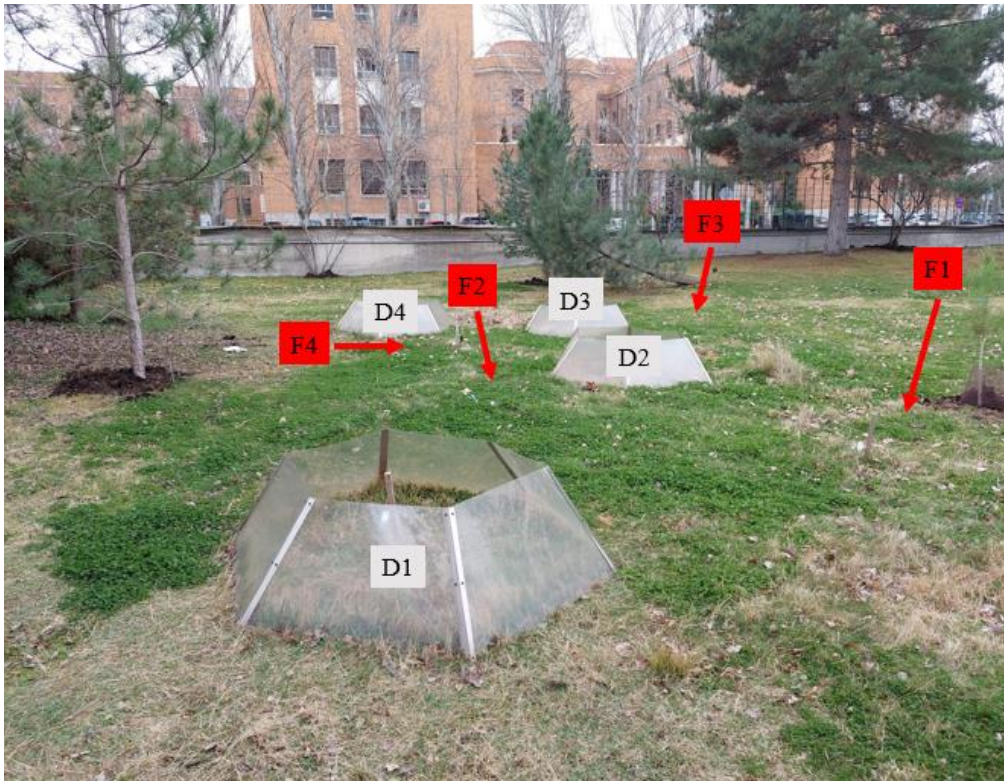
- Setälä, H., Francini, G., Allen, J. A., Jumpponen, A., Hui, N., & Kotze, D. J. 2017. Urban parks provide ecosystem services by retaining metals and nutrients in soils. *Environmental Pollution*, 231, 451-461.
- Seto, K. C., & Shepherd, J. M. 2009. Global urban land-use trends and climate impacts. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 1(1), 89-95.
- Skujiņš, J., & Burns, R. G. 1976. Extracellular enzymes in soil. *CRC critical reviews in microbiology*, 4(4), 383-421.
- Soler-Rovira, J., Arroyo-Sanz, J. M., Conde-Marcos, H., Sanz-Zudaire, C., Mesa-Moreno, A., & Gil-Pascual, S. 2010. Regional water footprint and water management: the case of Madrid region (Spain).
- Speir, T. W., & Cowling, J. C. 1991. Phosphatase activities of pasture plants and soils: relationship with plant productivity and soil P fertility indices. *Biology and Fertility of Soils*, 12(3), 189-194.
- Stanton, N. L. 1988. The underground in grasslands. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 19(1), 573-589.
- Sturm, M. & Eisenbeis, G. 2002. Recovery of the biological activity in a vineyard soil after landscape redesign: A three-year study using the bait-lamina method. *Vitis: Journal of Grapevine Research*, 41, 43-45.
- Sun S, Peng L, Wang G, Wu Y, Zhou J, Bing H, Yu D & Luo J. 2013. An improved open-top chamber warming system for global change research. *Silva Fenn* 47:960.
- Tabatabai, M. A., & Bremner, J. M. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil biology and biochemistry*, 1(4), 301-307.
- Tabatabai M.A., 1982. Soil Enzymes. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds). *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. Soil Science Society of America, Inc, Madison. WI, pp.903-947.
- Tate, K. R. 1984. The biological transformation of P in soil. In *Biological processes and soil fertility* (pp. 245-256). Springer, Dordrecht.

- Tejada, M., Hernandez, M. T., & Garcia, C. 2006. Application of two organic amendments on soil restoration: effects on the soil biological properties. *Journal of Environmental Quality*, 35(4), 1010-1017.
- Thakur, M. P., Reich, P. B., Hobbie, S. E., Stefanski, A., Rich, R., Rice, K. E., Eddy, W. C. & Eisenhauer, N. 2018. Reduced feeding activity of soil detritivores under warmer and drier conditions. *Nature climate change*, 8(1), 75-78.
- Tolbert, N. E. and Zeltich, I. 1983. Carbon metabolism. In: E. R. Lemon (ed.) CO₂ and Plants: The Response of Plants to Rising Levels of Atmospheric Carbon Dioxide 63, 145-152. *AAAS Selected Symposia Vol. 84*, pp. 21-64. Westview Press: Boulder.
- Trasar-Cepeda, C., Leiros, M. C., & Gil-Sotres, F. 2000. Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oakwood) in an area of the European temperate-humid zone (Galicia, NW Spain): specific parameters. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(6), 747-755.
- Turner, B. L., Hopkins, D. W., Haygarth, P. M., & Ostle, N. 2002. β -Glucosidase activity in pasture soils. *Applied Soil Ecology*, 20(2), 157-162.
- Ungaro, F., Maienza, A., Ugolini, F., Lanini, G. M., Baronti, S., & Calzolari, C. 2022. Assessment of joint soil ecosystem services supply in urban green spaces: A case study in Northern Italy. *Urban Forestry & Urban Greening*, 67, 127455.
- Van Gestel, C. A., Kruidenier, M. & Berg, M. P. 2003. Suitability of wheat straw decomposition, cotton strip degradation and bait-lamina feeding tests to determine soil invertebrate activity. *Biology and Fertility of Soils*, 37(2), 115-123.
- Vapaavuori E., Oksanen T., Holopainen J.K., Holopainen T., Heiskanen J., Julkunen-Tiitto R., Kasurinen A., Laitinen J., Oksanen E., Peltonen, P., Poteri M., Repo T., Riikonen J. & Syrjälä L. 2002. Technical Report: Open-top Chamber Fumigation of Cloned Silver Birch (*Betula pendula* Roth) Trees to Elevated CO₂ and Ozone: Description of the Fumigation System and the Experimental Site. *The Finnish Forest Research Institute, Research Papers* 838, 28.
- Veena, V., Poornima, P., Parvatham, R., & Kalaiselvi, K. 2011. Isolation and characterization of β -glucosidase producing bacteria from different sources. *African Journal of Biotechnology*, 10(66), 14891-14906.

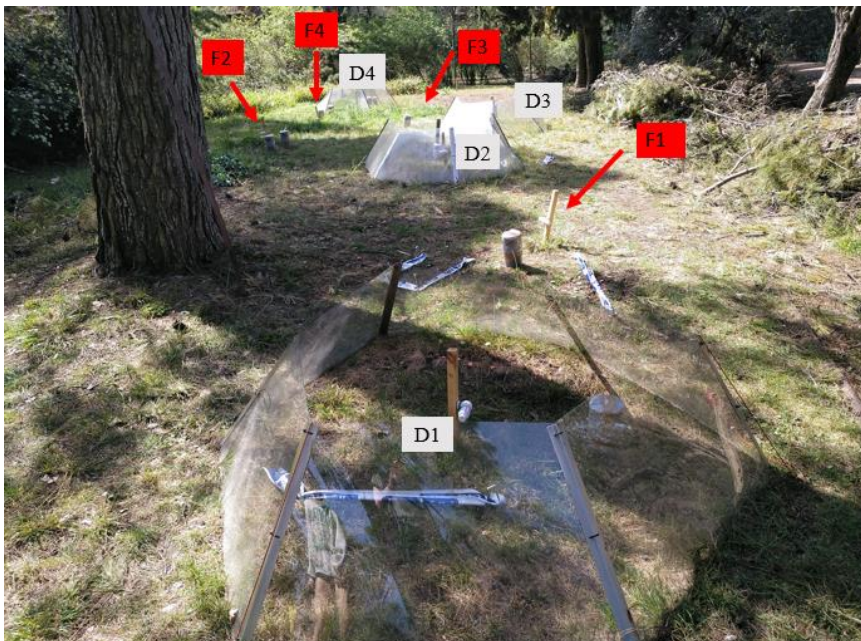
- Von Törne, E. 1990. Assessing feeding activities of soil-living animals. I. Bait-lamina-tests. *Pedobiologia*, 34(2), 89-101.
- Vorobeichik, E. L. & Bergman, I. E. 2020. Bait-lamina test in the assessment of polluted soils: choice of exposure duration. *Russian Journal of Ecology*, 51(5), 430-439.
- Vorobeichik, E. L. & Bergman, I. E. 2021. Bait-lamina test for assessment of polluted soils: Rough vs. Precise scales. *Ecological Indicators*, 122, 107277.
- Wallwork, J. A. 1970. Ecology of soil animals. Ecology of soil animals. McGraw-Hill, London.
- Wan, S., Luo, Y., & Wallace, L. L. 2002. Changes in microclimate induced by experimental warming and clipping in tallgrass prairie. *Global Change Biology*, 8(8), 754-768.
- Woodham, C. R., Aryawan, A. A. K., Luke, S. H., Manning, P., Caliman, J. P., Naim, M., Turner, E. C. & Slade, E. M. 2019. Effects of replanting and retention of mature oil palm riparian buffers on ecosystem functioning in oil palm plantations. *Frontiers in Forests and Global Change*, 2, 29.
- Yagüe, C., Zurita, E., & Martinez, A. 1991. Statistical analysis of the Madrid urban heat island. Atmospheric Environment. Part B. *Urban Atmosphere*, 25(3), 327-332.
- Yang, Z. X., Liu, S. Q., Zheng, D. W., & Feng, S. D. 2006. Effects of cadmium, zinc and lead on soil enzyme activities. *Journal of Environmental Sciences*, 18(6), 1135-1141.
- Yuan, Z., Jiang, S., Sheng, H., Liu, X., Hua, H., Liu, X., & Zhang, Y. 2018. Human perturbation of the global phosphorus cycle: changes and consequences. *Environmental science & technology*, 52(5), 2438-2450.

Anexos

Anexo I. Distribución de las parcelas, dentro (D) y fuera (F), en el Real Jardín Botánico Alfonso XIII (UCM).



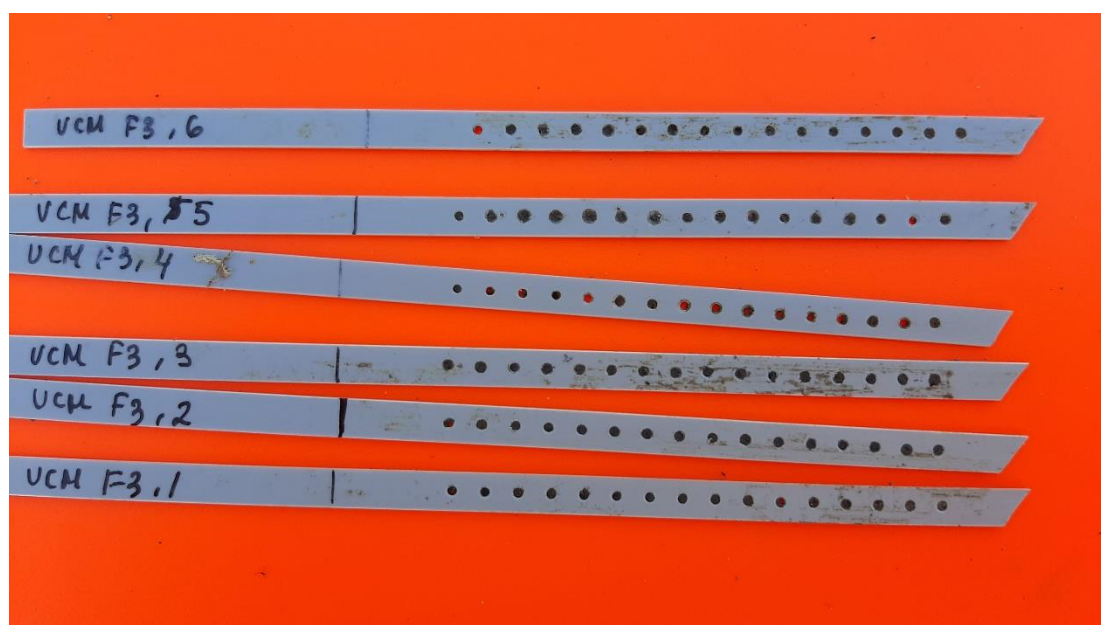
Anexo II. Distribución de las parcelas, dentro (D) y fuera (F), en el Real Jardín Botánico de Madrid (RJB).



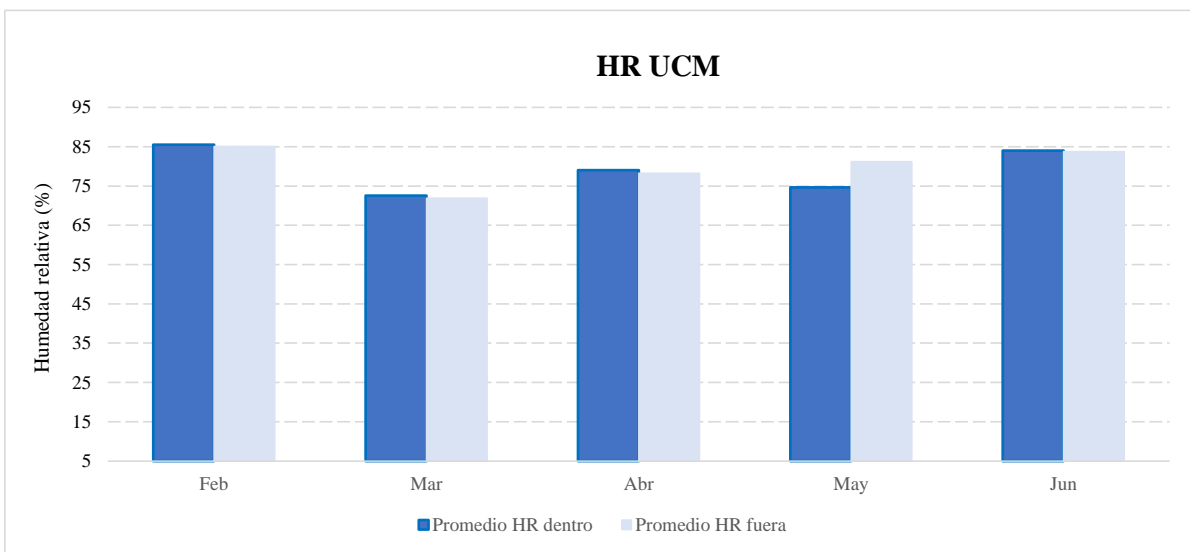
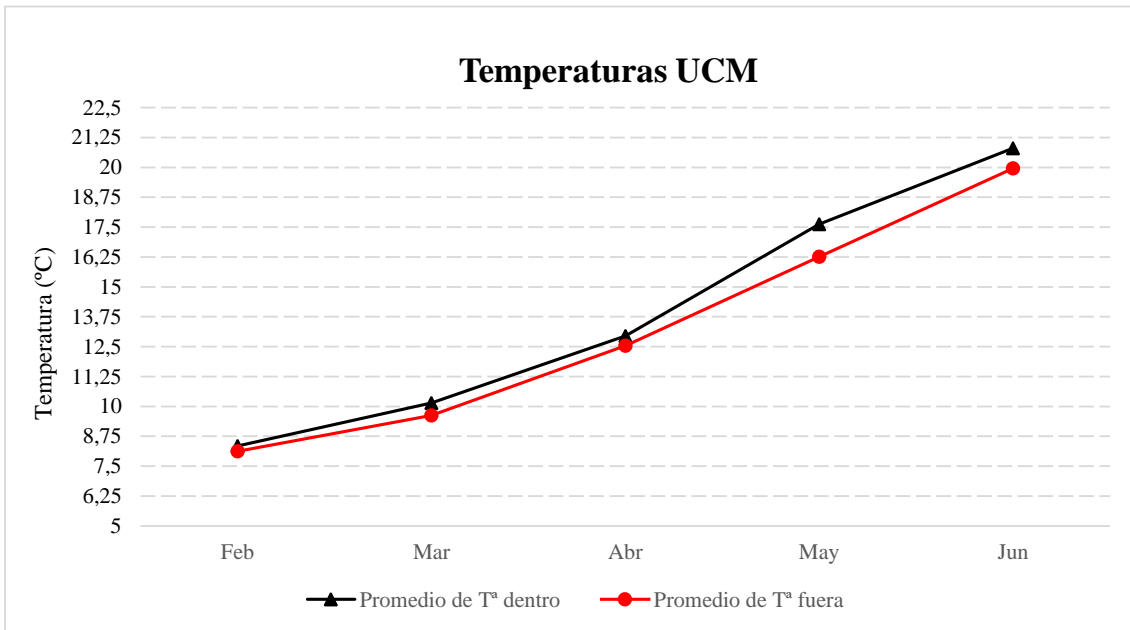
Anexo III. Distribución de las parcelas, dentro (D) y fuera (F), en el Canal de Isabel II (CYII).



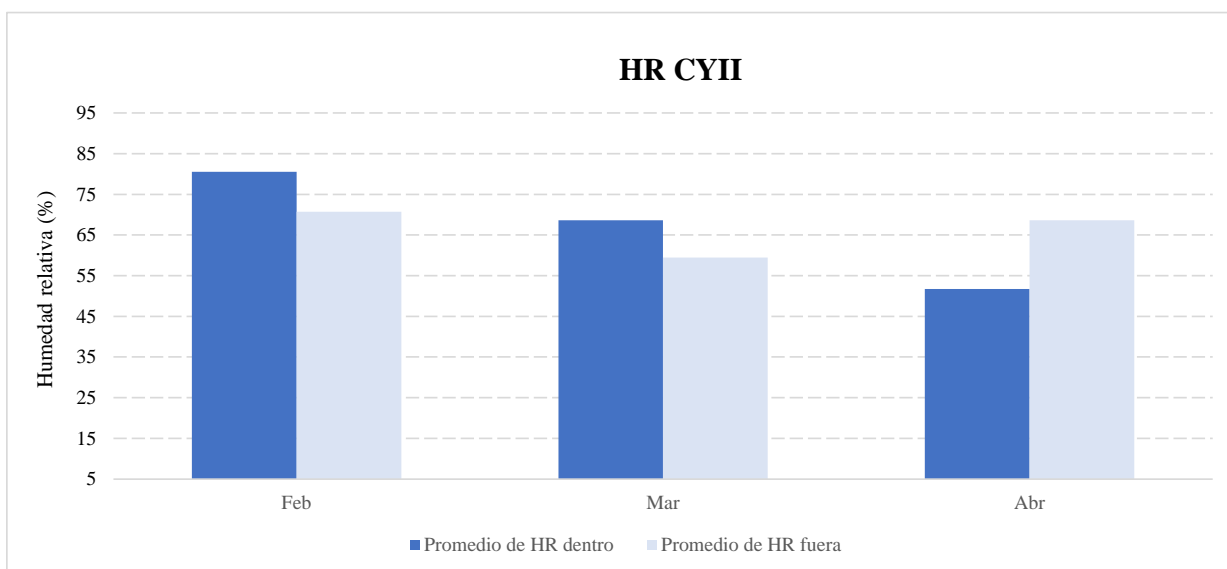
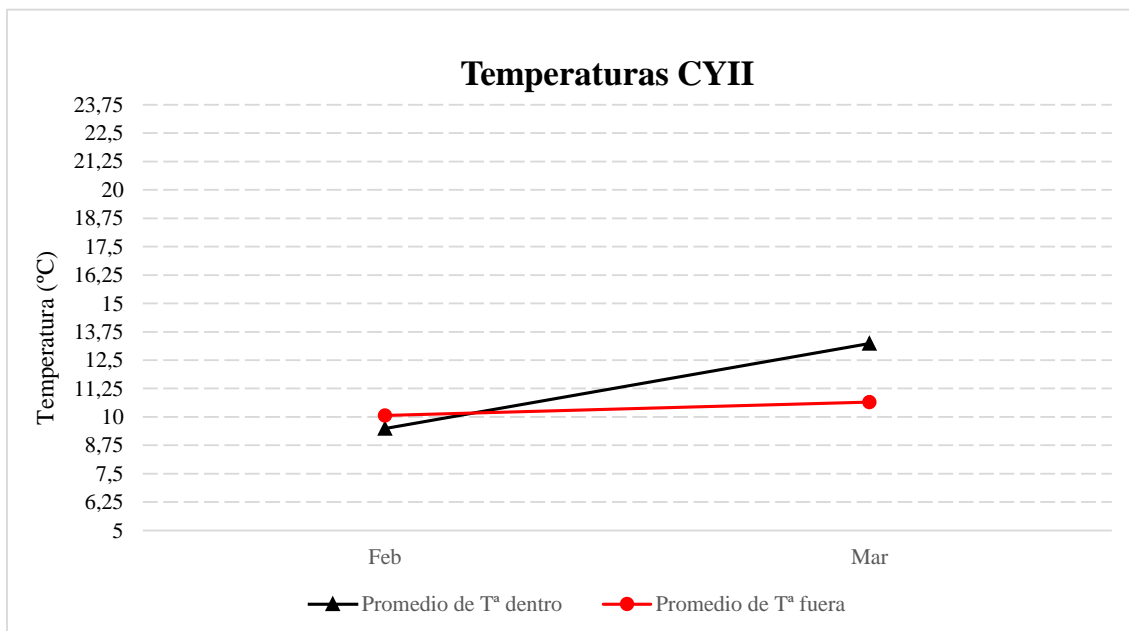
Anexo IV. Fotografía ejemplo de la extracción de 6 láminas en uno de los muestreos en UCM.



Anexo V. Gráficos del promedio de temperaturas y humedad relativa en UCM entre los meses de febrero y junio de 2021, dentro de las OTCs y fuera.



Anexo VI. Gráficos del promedio de temperaturas y humedad relativa en CYII entre los meses de febrero y abril de 2021, dentro de las OTCs y fuera. El registro de temperatura presentado comprende únicamente 2 meses debido a errores de medición del sensor.



Anexo VII. Gráficos del promedio de temperaturas y humedad relativa en RJB entre los meses de febrero y junio de 2021, dentro de las OTCs y fuera.

