



Universidad
Complutense
Madrid



EFEECTO DE LOS SETOS PLANTADOS SOBRE LA BIODIVERSIDAD EDÁFICA Y SU ACTIVIDAD EN UNA FINCA AGRÍCOLA MEDITERRÁNEA

Máster Universitario en Restauración de Ecosistemas

Presentado por:

D^a PAULA LILLO APARICI

Directora:

Dra. D^a SARA SÁNCHEZ MORENO

Codirectora:

D^a. MIRIAM PAJARES GUERRA

Tutor académico:

Dr. D JOSÉ MARÍA REY BENAYAS

En Madrid, a 23 de septiembre de 2019.

ÍNDICE

Resumen.....	5
Palabras clave.....	5
Abstract	6
Keywords	6
1.-INTRODUCCIÓN	7
<i>1.1.-La paradoja de la agricultura y la conservación de la naturaleza</i>	<i>7</i>
<i>1.2.- La restauración de la biodiversidad y los servicios ecosistémicos en paisajes agrícolas</i>	<i>9</i>
<i>1.3.- Ecología edáfica: propiedades del suelo, su actividad biológica y los nematodos como bioindicadores</i>	<i>11</i>
2.-OBJETIVOS E HIPÓTESIS	15
3.-MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1.- <i>Área de estudio</i>	<i>16</i>
3.2.- <i>Diseño de muestreo</i>	<i>17</i>
3.3.- <i>Análisis de las propiedades físicas y químicas</i>	<i>18</i>
3.4.- <i>Extracción, conteo e identificación de nematodos.</i>	<i>19</i>
3.5.- <i>Estimación de la actividad de la mesofauna</i>	<i>19</i>
3.6.- <i>Tasa de descomposición de materia orgánica.</i>	<i>20</i>
3.6.- <i>Análisis de los datos.</i>	<i>21</i>
4.-RESULTADOS	22
4.1.- <i>Análisis de las propiedades físicas y químicas</i>	<i>22</i>
4.2.- <i>Características de la comunidad de nematodos</i>	<i>25</i>
4.2.1.- <i>Composición de la comunidad de nematodos</i>	<i>25</i>
4.2.2.- <i>Índices ecológicos</i>	<i>26</i>
4.2.3.- <i>Diagnóstico de la red trófica</i>	<i>29</i>
4.3.- <i>Actividad de la mesofauna</i>	<i>31</i>
4.4.- <i>Tasa de descomposición de la materia orgánica</i>	<i>32</i>
5.-DISCUSIÓN	33
6.-CONCLUSIONES	36
7.-AGRADECIMIENTOS	37
8.-REFERENCIAS	38
9.-ANEXOS	45

Resumen

En un planeta dónde la agricultura es una de las principales causas de degradación y pérdida de biodiversidad pero que a la vez la seguridad alimentaria mundial cada vez es más apremiante, será importante desarrollar estrategias y actuaciones que permitan un uso y gestión sostenible de la tierra. El suelo, elemento clave en suministro de servicios ecosistémicos en los sistemas agrícolas, es uno de los primeros factores en verse afectado por la intensificación agraria. La restauración ecológica en agroecosistemas es la herramienta capaz de conciliar la agricultura y la biodiversidad mediante actuaciones que asisten a la mejora y recuperación de los servicios ecosistémicos sin competir por el uso de la tierra. En este trabajo se han analizado y evaluado los efectos de la instalación de setos de especies leñosas nativas en las lindes de una parcela agrícola de secano sobre los procesos y servicios ecosistémicos del suelo y su biodiversidad. Para ello, se midieron las propiedades físicas y químicas del suelo (C, N, NO₃⁻, NH₄⁺, P, pH), se estudió la comunidad de nematodos mediante índices ecológicos y se midió la actividad de la mesofauna edáfica, así como la tasa de descomposición de la materia orgánica. Los resultados obtenidos mostraron una influencia significativa de la presencia de setos sobre el ecosistema edáfico. La zona con seto presentó mayor retención de fósforo, así como mayor tasa de mineralización y, por consiguiente, de fertilidad, en base a la comunidad de nematodos como bioindicadora. Se pudo observar una red trófica estructurada de nematodos en la linde revegetada, lo cual indica una mayor resiliencia del sistema ante plagas. Se puede concluir, por lo tanto, que los setos plantados como medida de restauración mejoran los servicios ecosistémicos de retención de nutrientes, mineralización y control biológico.

Palabras clave

Servicios ecosistémicos, restauración ecológica, revegetación, agroecosistemas, nematodos, propiedades del suelo

Abstract

In a planet where agriculture is one of the main causes of degradation and loss of biodiversity but at the same time global food security is increasingly pressing, it will be important to develop strategies and actions to enable sustainable land use and management. Soil, a key element in the provision of ecosystem services in agricultural systems, is one of the first factors to be affected by agricultural intensification. Ecological restoration in agro-ecosystems is the tool capable of reconciling agriculture and biodiversity through actions that assist in the improvement and recovery of ecosystem services without competing for land use. In this work, the effects of the installation of hedgerows of native woody species on the borders of a dry farming plot on the processes and ecosystem services of the soil and its biodiversity have been analysed and evaluated. The physical-chemical properties of the soil were measured (C, N, NO₃⁻, NH₄⁺, P, pH), the nematode community was studied using ecological indices and the activity of the soil mesofauna was measured, as well as the rate of decomposition of organic matter. The results obtained showed a significant influence of the presence of hedges on the soil ecosystem. The area with hedges presented higher phosphorus retention, as well as higher mineralization rate and, consequently, fertility, based on the community of nematodes as bioindicator. A structured trophic network of nematodes in the revegetated boundary could be observed, which indicates a greater resilience of the system to pests. It can therefore be concluded that hedgerows planted as a restoration measure improve ecosystem services of nutrient retention, mineralization and biological control.

Keywords

Ecosystem services, ecological restoration, revegetation, agroecosystems, nematodes, soil properties

1.-INTRODUCCIÓN

1.1.-La paradoja de la agricultura y la conservación de la naturaleza

La agricultura es una de las principales causas de los impactos antrópicas del planeta y de su degradación; estando ocupado un 40% de la superficie terrestre por cultivos y pastos (Foley *et al.*, 2011). Ante el aumento exponencial de la población mundial, traducido en una creciente demanda de alimentos, la FAO (Bruinsma, 2009) estimó que será necesario aumentar en un 70% la producción agraria mundial para alimentar a la población en 2050. Debe existir por lo tanto un compromiso entre seguridad alimentaria y biodiversidad, quedando como escenario de doble ganancia los paisajes agroecológicos, donde una agricultura sostenible sea capaz de mantener niveles aceptables de producción de alimentos sin poner en juego la biodiversidad (Fischer *et al.*, 2017). Actualmente nos encontramos ante un desafío social, en el cual debemos encontrar alternativas de manejo agrícola para conciliar la producción agraria con el mantenimiento y mejora de la biodiversidad y servicios ecosistémicos en agroecosistemas.

No es hasta finales del s. XX cuando se comienza a extender el uso del concepto “*servicios de los ecosistemas*”, descrito como los procesos encargados de mantener la biodiversidad y la producción de bienes tales como la madera o los alimentos necesarios para el bienestar humano (Daily, 1997). Para Costanza *et al.* (1997), los bienes y servicios ecosistémicos son los beneficios obtenidos del ecosistema a través de las funciones ecosistémicas. Así, en 2005 tiene lugar el “Millenium Ecosystem Assessment”, un punto de inflexión en el uso y el desarrollo del concepto de los servicios ecosistémicos. Su definición trata a los servicios como beneficios tanto tangibles como intangibles que las poblaciones humanas obtienen de los ecosistemas, que fueron clasificados en cuatro categorías: (a) **abastecimiento** o provisión, productos tangibles obtenidos de los ecosistemas -incluye combustible, alimentos y madera-, (2) **regulación**, beneficio a partir de procesos ecosistémicos -incluida la regulación climática, el control de plagas y la polinización-, (3) **culturales**, beneficios intangibles obtenidos del ecosistema -que incluyen proporcionar a los humanos valores recreativos, espirituales y estéticos- y (4) servicios de **soporte**, aquellos de los que dependen los demás servicios -propiedades y procesos ecológicos básicos como la formación del suelo, ciclo de nutrientes y producción primaria- (Millennium Ecosystem Assessment, 2005).



Figura 1. Esquema de los servicios ecosistémicos de la agricultura (elaboración propia a partir de Power, 2010).

Los sistemas agrícolas son a la vez proveedores y consumidores de servicios ecosistémicos (Figura 1) y están caracterizados por potenciar los servicios de aprovisionamiento frente a los de regulación (Rey Benayas y Bullock, 2012). Dichos servicios de regulación se han visto dañados la creciente agricultura intensiva (Power, 2010); como el control de plagas (Landis *et al.*, 2008) y polinización (Kremen *et al.*, 2007). Sin embargo, cada vez se pone más énfasis en asegurar mayores servicios ecosistémicos además de los de aprovisionamiento, como mejorar la calidad del agua e incrementar el secuestro de carbono, funciones que se pueden obtener mediante el manejo multifuncional de la agricultura (Bennett *et al.*, 2009).

Descrito por Zhang *et al.*, (2007), se encuentra el término “*ecosystem disservices*”, referido a los impactos de la agricultura en el medio, como la pérdida de biodiversidad y la escorrentía de sedimentos y nutrientes, los cuales dependerán de las técnicas agrícolas llevadas a cabo en el paisaje agrícola (Figura 1). Según Millennium Ecosystem Assessment, (2005), dicho paisaje agrícola se considera como ecosistema cuando es un área en la cual al menos un 30% del paisaje está siendo cultivado.

El elemento natural dinámico del cual dependen gran parte de los servicios ecosistémicos y los “*disservices*” en la agricultura es el suelo. Constituido por minerales y materia orgánica, junto con líquidos y gases, que se encuentra en la superficie terrestre, es capaz de mantener

una cubierta vegetal y está organizado en horizontes o capas con diferentes características a la roca madre o material original (Soil Science Society of America, 2008), debido a los factores ambientales, tanto abióticos como bióticos a los que está sometido. Es un recurso no renovable del cual depende la actividad biológica (Blum, 2005). Para este autor, el suelo es el encargado de funciones ecológicas tales como la producción de biomasa, procesos de filtración, almacenamiento y transformación en los ciclos de carbono y nutrientes y actúa como reserva genética. Además, es la base física sobre la que se desarrollan las actividades humanas, es una fuente de materias prima, energía y agua además de considerarse patrimonio cultural y ecológico. Según Bai *et al.* (2008), un 19% de la superficie terrestre cultivada presenta una degradación del suelo, lo que se traduce en una pérdida de sus funciones y, por consiguiente, de su productividad. Además, uno de Objetivos de Desarrollo Sostenible (ONU), en concreto el nº 15, recoge la necesidad de invertir y detener la degradación de la tierra y la pérdida de diversidad biológica.

1.2.- La restauración de la biodiversidad y los servicios ecosistémicos en paisajes agrícolas

En este contexto de demanda creciente de alimentos y degradación de los agroecosistemas, con su consiguiente efecto negativo sobre la biodiversidad y la capacidad de suministrar servicios ecosistémicos, la restauración de los agroecosistemas puede ser una herramienta fundamental para detener estas tendencias (Barral *et al.*, 2015). La restauración ecológica es un proceso mediante el cual podemos asistir o ayudar a la recuperación de un ecosistema que ha sido degradado, dañado o destruido, según la “*Society for Ecological Restoration*” (SER, 2004).

Para Phalan *et al.* (2011), la restauración en agroecosistemas puede seguir dos estrategias:

- a) Compartir la tierra mediante una agricultura amiga de la naturaleza, compatible con la biodiversidad y los servicios ecosistémicos diferentes a los de provisión, conciliando la producción agrícola a la vez que mejoran los niveles de biodiversidad.
- b) Separar la tierra restaurando hábitats no agrícolas a expensas del hábitat agrícola, quedando su foco en la conservación del hábitat restaurado en vez de la producción agrícola.

Restaurar compartiendo la tierra aboga por conservar y mejorar los niveles de biodiversidad a escala local y de paisaje agrícola, mientras que la separación de tierra permite el conjunto de estos beneficios sólo a escala de paisaje, pues se busca dividir el territorio en tierras cultivables y tierras que maximicen la biodiversidad y servicios

ecosistémicos (Barral *et al.*, 2015).

Dentro de las actuaciones que pueden llevarse a cabo dentro del marco de compartir de la tierra, se encuentra la instalación de elementos, tanto naturales como artificiales, que potencian servicios ecosistémicos y mejoran la biodiversidad. Dichas medidas no compiten por el uso de la tierra, lo que las hace potencialmente más adoptables por los productores.

Una de esas acciones de “manicura” dentro de los campos agrícolas es la revegetación de los márgenes o lindes de los cultivos con especies leñosas nativas (Figura 2), dando lugar a formaciones vegetales conocidas como setos. Sus beneficios potenciales son: delimitación de las propiedades, provisión de productos como la madera y los frutos, reducción de la intensidad del viento y sus beneficios asociados -erosión y desecación del suelo-, reducción de la escorrentía y contaminación difusa, y sus beneficios asociados -ciclo de nutrientes y retención de sedimentos- (Borin *et al.*, 2010) y aumento de la biodiversidad y sus beneficios asociados, -el control biológico de plagas y la polinización- (Morandin *et al.*, 2016). Además, exportan propágulos para la restauración pasiva (Ibero, 1998; Rey Benayas y Bullock, 2012).



Figura 2. Seto plantado en la linde de un cultivo de secano mediterráneo en Novés, Toledo (elaboración propia).

En el meta-análisis realizado por Van Vooren *et al.* (2017), se analizaron 60 estudios sobre el efecto de los setos en los agrosistemas y sobre cómo su presencia contribuye a la provisión de servicios ecosistémicos como el ciclado y la mineralización de nutrientes. Van Vooren y sus colaboradores observaron que los setos incrementan la retención de fósforo y nitrógeno disponible en el suelo en torno a un 70 %, y en torno al 90% de sedimentos. Los setos almacenan un 16% más de carbono a la vez que favorece a los enemigos naturales de las plagas. Si bien cada vez es mayor la literatura sobre los efectos de esta medida de restauración, en numerosas ocasiones son llevados a cabo en zonas templadas, por lo que hace interesante evaluar en que forma la implantación de setos ofrece una oportunidad para mejorar y aumentar los servicios ecosistémicos en las zonas mediterráneas.

1.3.- Ecología edáfica: propiedades del suelo, su actividad biológica y los nematodos como bioindicadores

Los servicios ecosistémicos proporcionados por los organismos del suelo incluyen el ciclado de los nutrientes minerales y la regulación de las especies de plagas; contribuyen de manera importante a la disponibilidad de nutrientes vegetales y a mantener la producción de alimentos y fibras (de Vries *et al.*, 2013). A su vez, el crecimiento de las plantas y la productividad de los ecosistemas es dependiente de la disponibilidad de los nutrientes limitantes, como el nitrógeno y el fósforo.

La fracción biótica del suelo es un componente esencial de los ecosistemas terrestres, pues es el encargado de procesos ecológicos clave como la mineralización de nutrientes o el secuestro de carbono a la vez que es capaz de reflejar las perturbaciones que están teniendo lugar debido a su vulnerabilidad (Bongers, 1990; Sánchez-Moreno y Talavera, 2013).

La teoría ecológica sugiere que el manejo de la diversidad puede mejorar las funciones ecológicas relacionadas tanto con la producción como con calidad ambiental de los paisajes agrícolas, derivando así en redes tróficas del suelo más complejas para regular el ciclo de nutrientes, mineralización del nitrógeno y la tasa de descomposición de la materia orgánica (Brussaard *et al.*, 2007; Minoshima *et al.*, 2007), y zonas de amortiguamiento vegetadas para aumentar la retención de carbono y otros nutrientes (Young-Mathews *et al.*, 2010). Las prácticas de manejo agrícola impactan los niveles de materia orgánica del suelo y, directa e indirectamente, la biomasa y diversidad de nematodos del suelo, con los consiguientes efectos en el ciclo de nutrientes.

La degradación del suelo afecta directamente a los organismos que habitan en él, los cuales se pueden clasificar como: mesofauna (artrópodos y nematodos), microfauna (protozoos y tardígrados) y microbioma (bacterias, hongos y algas). De estos grupos, destacan por su uso como indicadores biológicos los nematodos, debido a su ubicuidad, su diversidad taxonómica y funcional y su con una elevada abundancia en los sistemas edáficos (en torno a varios millones de individuos por m²) (Sánchez-Moreno y Talavera, 2013), además de ser los consumidores más importantes dentro de la microfauna del suelo (Mulder *et al.*, 2005). Son invertebrados pseudocelomados de entre 0,3 y 0,5 mm de largo, con representación en todos los grupos tróficos, siendo posible diferenciarlos de manera sencilla debido a que cada taxón tiene una morfología adaptada a sus hábitos alimenticios (Yeates *et al.*, 1993). Se trata de organismos suficientemente grandes para ser identificados con el microscopio y a la vez suficientemente pequeños para habitar en las películas de agua que rodean las partículas del suelo y estar así en contacto directo con los contaminantes. Además, pueden ser categorizados por grupos funcionales según respondan al enriquecimiento de la red trófica y a las perturbaciones ambientales, pudiéndose definir así índices que informen sobre la perturbación del ecosistema edáfico y es una útil herramienta para evaluar la estructura, función y resiliencia de la red trófica (Ferris *et al.*, 2001).

Según Bongers, (1990) y Yeates *et al.*, (1993), los nematodos se pueden clasificar en cinco grupos tróficos (Figura 3):

- a) **Bacterívoros (Ba)**; se alimentan de organismos procariotas, regulando así las poblaciones bacterianas. Están implicados en los ciclos de nutrientes.
- b) **Fungívoros (Fu)**; se alimentan de hongos, y junto a los bacterívoros, son los encargados de regular las comunidades microbianas. También están implicados en los ciclos de nutrientes.
- c) **Herbívoros (He)**; se alimentan de plantas vasculares. Incluye ectoparásitos, semiendoparásitos, endoparásitos migratorios y sedentarios de plantas vasculares, así como aquellos que se alimentan de células epidérmicas de las raíces, algas, líquenes o musgos. Pueden provocar problemas fitosanitarios en los cultivos.
- d) **Depredadores (De) y Omnívoros (Om)**; se alimentan de invertebrados como protozoos, nematodos y rotíferos. Son los más sensibles a las perturbaciones y juegan un papel clave en la regulación de plagas.

Los micróvoros (bacterívoros y fungívoros) son intermediarios clave en los procesos de descomposición y el ciclado de los nutrientes; aumentan la rotación bacteriana y aceleran la descomposición de la materia orgánica del suelo (Yeates, 2003).

Junto con esta clasificación, Bongers, (1990) desarrolló la escala colonizador-persistente (c-p), la cual clasifica a los nematodos en cinco niveles (Figura 3) según la cual clasifica cada familia de nematodos en función de su ciclo de vida. Esta escala se basa en los diferentes taxones están adaptados a las fuentes de alimento y condiciones y por ello presentan unas características anatómicas y fisiológicas propias (Ferris *et al.*, 2001).

		Grupos tróficos				
		Ba	Fu	He	De	Om
Grupos c-p	1 Ciclos de vida cortos, huevos pequeños y elevada fecundidad. Se alimentan en medios enriquecidos y forman dauer larvas como estados de resistencia.	Ba1				
	2 Ciclos de vida algo más largos y menor fertilidad que los cp-1. Son muy tolerantes a los contaminantes y perturbaciones y ocurren en condiciones ricas en alimentos, así como en condiciones de pobreza alimentaria.	Ba2	Fu2	He2	De2	
	3 Ciclos de vida más largos, sensibilidad intermedia a las perturbaciones.	Ba3	Fu3	He3	De3	Om3
	4 Baja fertilidad, ciclos de vida largos y gran sensibilidad a las perturbaciones. Cutícula permeable.	Ba4	Fu4	He4	De4	Om4
	5 Poseen los ciclos de vida más largos, baja tasa de reproducción y mayor tamaño corporal. Con una cutícula permeable, son muy sensibles a los contaminantes y otras perturbaciones.	Ba5	Fu5	He5	De5	Om5

Figura 3. Diagrama funcional con posibles combinaciones de grupos de alimentación y características del ciclo vital (elaboración propia a partir de Bongers (1998)).

Basándose en la comunidad de nematodos a través de la clasificación c-p, Bongers, (1990) propuso el Índice de Madurez (MI), el cual muestra un valor semicuantitativo sobre el estado del ecosistema. Para ello, toma el valor c-p de cada taxón presente y su frecuencia en la muestra, obteniendo valores altos cuando están presentes los grupos sensibles a las perturbaciones, indicando que el sistema se encuentra en buen estado ecológico. En este índice quedan excluidos las familias de nematodos parásitos obligados de plantas, debido a su incapacidad de colonización independiente, existiendo el Índice de Parásitos de Plantas (PPI) centrado en este grupo trófico. Sin embargo, Yeates (Yeates *et al.*, 1994) justifica que los nematodos fitoparásitos no deben excluirse, por lo que propone el Σ del Índice de Madurez (Σ MI), en el que si se incluye a los fitoparásitos con el fin de obtener un índice que refleje la estructura de la comunidad de nematodos.

La clasificación c-p junto con los grupos tróficos permite también analizar el estado de la red trófica edáfica. Para ello, Ferris (Ferris *et al.*, 2001) describió cuatro Índices de la Red Trófica:

- **Índice del Canal (CI):** informa sobre la vía principal de descomposición de materia orgánica, pudiéndose llevar a cabo por bacterias o por hongos, o estar en equilibrio. Valores altos de este índice señalan que la descomposición está mediada por hongos, lo que indica que la materia orgánica presente en el suelo es más recalcitrante.
- **Índice del Enriquecimiento (EI):** basado en la prevalencia de nematodos oportunistas de enriquecimiento de crecimiento rápido, es un indicador de la descomposición rápida de la materia orgánica mediada por bacterias y de fertilidad del suelo.
- **Índice Basal (BI):** calculado a partir de los grupos funcionales correspondientes a los nematodos “basales” (Ba2 y Fu2), típicos de ambientes degradados. Tienen una gran capacidad de supervivencia debido a sus múltiples adaptaciones fisiológicas y de comportamiento. Es un indicador de redes tróficas degradadas.
- **Índice de Estructura (SI):** indicador de la complejidad de la red trófica puesto que se basa en las poblaciones de los grupos funcionales más longevos, de mayor tamaño corporal y más sensibles a las perturbaciones. Pondera la prevalencia de nematodos omnívoros y depredadores en la red alimenticia del suelo como un indicador de las redes tróficas largas y complejas del suelo con alta conectividad y numerosos enlaces tróficos.

Con el objetivo de aportar mayor información sobre la red trófica y la magnitud de los procesos que lleva a cabo, Ferris (Ferris *et al.*, 2010) desarrolló el concepto de Huella Metabólica. Este bioindicador, junto a las características tróficas y de los ciclos de vida de los nematodos edáfico, tiene en cuenta el volumen de carbono que destinan estos organismos a su crecimiento y producción de huevos (entendido como la biomasa que supone cada familia), además del que utilizan en su actividad metabólica (obtenido a partir de la tasa de respiración de cada taxón). Se describen ocho Huellas Metabólicas (Ferris, 2010): Huella de Enriquecimiento, Huella de Estructura, Huella de Bacterívoros, Huella de Fungívoros, Huella de Herbívoros, Omnívoros y Depredadores, y Huella Compuesta (representa todos los nematodos de la comunidad sin tener en cuenta al grupo).

Este concepto de Huella Metabólica permite conocer el estado en el que se encuentran los recursos disponibles del suelo a la vez que proporcionan una evaluación cuantitativa de la magnitud de las funciones y servicios de los ecosistemas del suelo (Ferris *et al.*, 2012b). Así, los índices de la red trófica del suelo reflejan los atributos estructurales de la comunidad de nematodos, mientras que los metabólicos reflejan la magnitud de las

funciones ecológicas realizadas por los nematodos que participan en diferentes funciones y servicios ecológicos.

La complejidad de la red trófica del suelo en sistemas agrícolas viene influenciada por numerosos factores ambientales que pueden diferir entre distintos ciclos agrícolas, como la presencia de perturbación mecánica debida al laboreo, la incorporación y movimiento de nutrientes debido a la fertilización o el flujo de agua superficial entre distintos hábitats en la escala de la finca (Sanchez-Moreno *et al.*, 2008).

2.-OBJETIVOS E HIPÓTESIS

El objetivo general de este proyecto es analizar los efectos de los setos plantados sobre la biodiversidad edáfica y su actividad en una finca agrícola mediterránea. Los objetivos específicos son:

1. Evaluar procesos ecológicos clave, en particular la retención de nutrientes y carbono y la mineralización del nitrógeno y control de plagas, tras plantar los setos.
2. Examinar la comunidad de nematodos con el fin de obtener bioindicadores del estado ecológico
3. Analizar la actividad de la mesofauna edáfica y la tasa de descomposición de la materia orgánica como indicadores del estado funcional

La hipótesis de trabajo es que el establecimiento de setos mediante la revegetación de especies leñosas nativas favorecerá la diversidad edáfica y los servicios ecosistémicos que proporciona en comparación con una zona sin setos. Además, existirá un gradiente decreciente de diversidad edáfica y servicios desde los setos hacia el interior del cultivo.

3.-MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- Área de estudio

El área de estudio elegida para la realización del muestreo es una parcela agrícola de secano, con rotaciones trianuales con trigo, cebada y garbanzo y su correspondiente año de barbecho y gestionada como ecológica durante los últimos 9 años. Dicha parcela está localizada en el municipio de Novés (Toledo, Castilla La Mancha), tiene una extensión de 13,25 ha, un perímetro de 1680 metros y sus coordenadas son: 40°46'13.01" N 3°31'2.88" O (Figura 4).

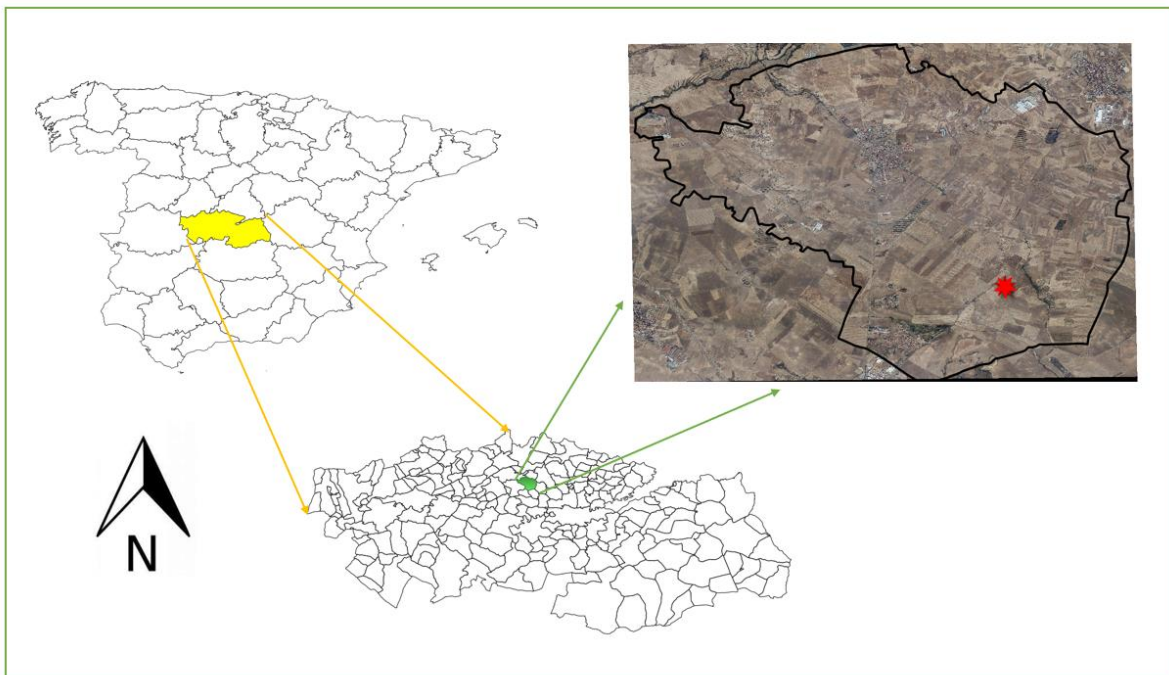


Figura 4. Mapa de localización de la parcela  (Novés, Toledo).

El régimen climático de la zona está definido como mediterráneo continental, con una acusada sequía estival y temperaturas extremas a lo largo del año, siendo julio el mes más seco y cálido, mayo el más húmedo y enero el más frío. La temperatura media anual es de 14,5 °C y la precipitación de 385 mm al año.

En 2012, la Fundación Internacional para la Restauración de Ecosistemas (FIRE, www.fundacionfire.org), llevó a cabo el establecimiento de setos leñosos con especies autóctonas en las lindes de la parcela de trabajo. La actuación quedó enmarcada bajo el proyecto “Campos de Vida”, el cual trabaja en la restitución de la complejidad y heterogeneidad de los paisajes agrícolas en un medio cada vez más intensificado gracias a

la firma de acuerdos de custodia del territorio con los propietarios de los terrenos agrícolas. De esta manera, se promueve la restauración y conservación de la biodiversidad y los servicios ecosistémicos asociados a los agroecosistemas, sin poner en compromiso a la producción agrícola. Además de la instalación de los setos leñosos, la fundación también desarrolla actuaciones como la construcción de charcas o la instalación de cajas nidos para las aves.

Tras la primera actuación de revegetación, tuvo lugar una segunda actuación en el año 2015 (Crespo-Cepas, 2016). Con el objetivo de instaurar un seto denso y correctamente estructurado, se plantaron especies de tres tamaños vegetativos, siendo *Crataegus monogyna* la especie de mayor porte. Como especies de matorral de porte medio se plantaron individuos de *Colutea arborescens*, *Phyllirea angustifolia*, *Pistacia terebinthus*, *Quercus coccifera*, *Retama sphaerocarpa*, *Rosa canina*, *Rhamnus alaternus* y *Rhamnus lycioides*; y como matorral de porte bajo las especies *Prunus spinosa*, *Jasminum fruticans*, *Daphne gnidium*, *Ephedra nebrodensis* y *Genista scorpius* fueron las elegidas para la revegetación. Su disposición en el espacio está constituida por dos líneas de plantación paralelas, con un metro de separación entre ellas y al tresbolillo. Las actuaciones de revegetación no se llevaron a cabo en todo el perímetro de la parcela, característica que permitió su uso para este trabajo, pues permite comparar y estudiar los efectos de revegetar las lindes con setos leñosos frente a no realizar acción alguna sobre ellas.

3.2.- Diseño de muestreo

El muestreo del suelo se llevó a cabo el 7 de marzo de 2019. Se recogieron un total de 65 muestras repartidas entre la zona revegetada (con seto), la zona sin seto y la matriz de la parcela. Tanto en la linde con seto (CS) como en el margen sin seto (SS), fueron ubicados cinco puntos separados longitudinalmente entre sí 10 metros, tal y como indica la figura 5. A partir de cada punto muestreado en la linde, se tomaron transectos siguiendo un gradiente hacia el interior del cultivo, ubicando puntos de muestreo a 4, 8, 12, 16 y 20 metros del margen de la parcela. Dentro de la matriz, se tomaron cinco muestras con 10 metros de separación entre cada una. Para cada muestra se recogieron aproximadamente 800 g del horizonte superficial del suelo (primeros 20 cm de profundidad) con la ayuda de palas.

Cada muestra de suelo recogida se dividió en dos submuestras: en torno a 100g fueron usados para el análisis de las propiedades físicas y químicas del suelo y se usaron 200 g de suelo fresco para el estudio de la comunidad de nematodos. Las muestras utilizadas para la extracción de nematodos se mantuvieron en una cámara fría a 4 ° C hasta su procesamiento

mientras que las submuestras usadas para medir las propiedades fisicoquímicas se almacenan en seco y a temperatura ambiente

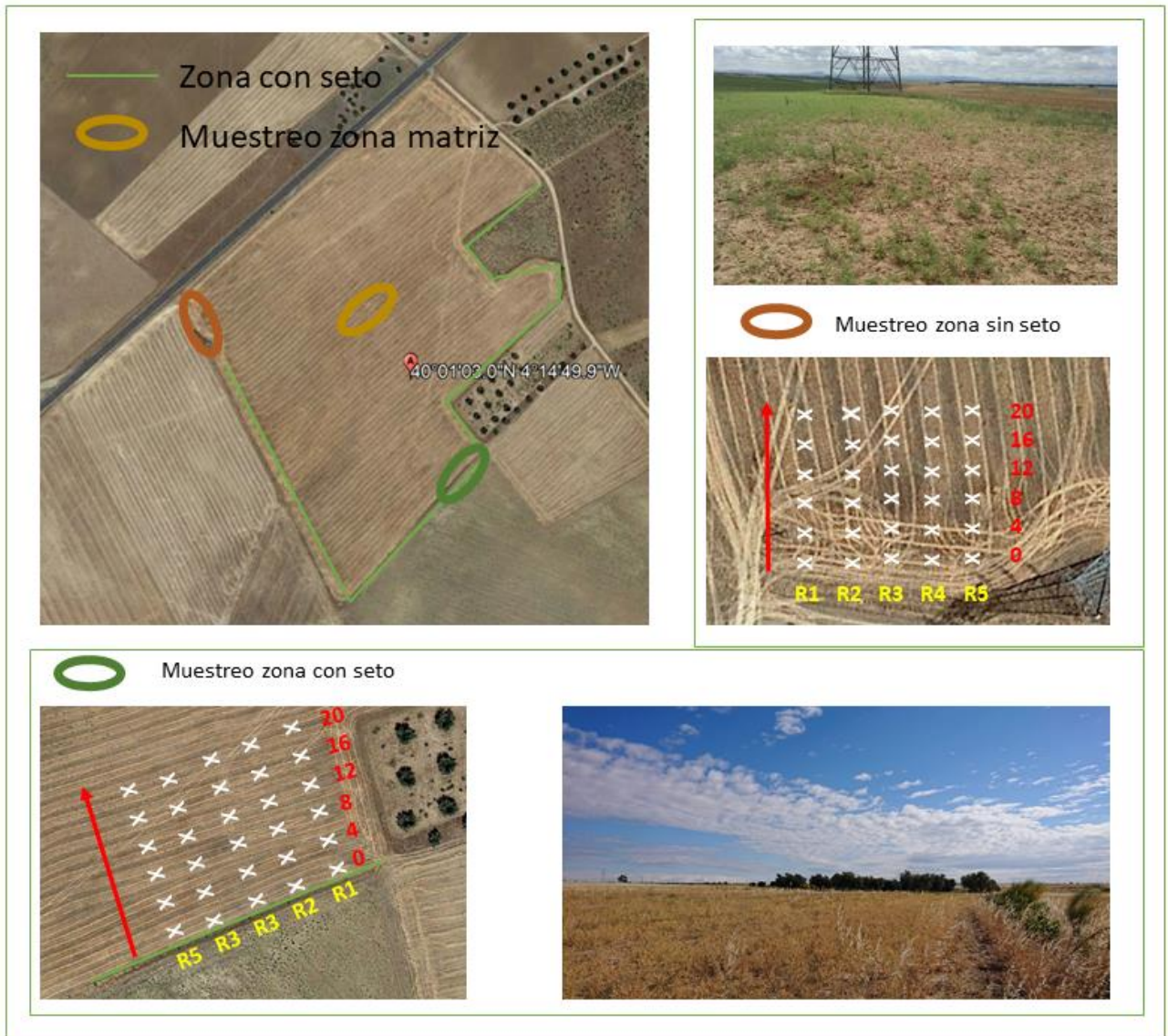


Figura 5. Diseño de muestreo e imágenes de las zonas de la parcela.

3.3.- Análisis de las propiedades físicas y químicas

La submuestra de suelo destinada al análisis de las características físicas y químicas del suelo se tamizó con un tamiz de 2 mm de luz con el fin de homogeneizar la muestra y eliminar piedras y restos de materia orgánica. Con el objetivo de determinar la humedad relativa y secar cada muestra para su posterior análisis en seco, se pesaron en torno a 100 g de suelo y se secaron en una estufa durante 24h a 60 C°.

A partir de la diferencia entre el peso en fresco (PF) y en seco (PS) se calculó la humedad relativa (HR) de cada muestra utilizando la ecuación:

$$\mathbf{HR = (PF - PS) / PF}$$

Tras determinar la humedad relativa, las muestras de suelo seco fueron utilizadas para analizar las propiedades químicas del suelo. El nitrógeno (N) biodisponible (NH_4^+ y NO_3^-) se analizó a partir de una extracción con un tampón KCl 2 M, obteniendo así el nitrato y amonio de la muestra, que se valoró por colorimetría en un autoanalizador Fiastar de PerkinElmer. El pH se determinó con la ayuda de pHmetro y el fósforo (P) biodisponible fue determinado por espectrofotometría mediante método colorimétrico del ácido ascórbico (Murphy y Riley, 1962). Dichos análisis se realizaron en laboratorios del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). El carbono (C) y nitrógeno (N) total fueron determinados mediante el método Dumas (Holmes, 1963) en el centro de La Canaleja (INIA). En los Anexos pueden consultarse los protocolos de las mediciones utilizadas.

3.4.- Extracción, conteo e identificación de nematodos.

Para la extracción de nemátodos edáficos de las muestras de suelo, se procedió con un tamizado y el empleo del método de los embudos Baermann (Anexos). Los nematodos extraídos de cada muestra fueron contados con la ayuda de la lupa binocular y posteriormente al menos 100 individuos fueron identificados a nivel de género o familia en el microscopio por la Dra. Sánchez Moreno, directora de este Trabajo de Fin de Master.

Tras su identificación y conociendo el peso en fresco y en húmedo de cada muestra, calculado previamente, se pudo estimar el número de nematodos de cada taxón presentes en 100 g de suelo seco. A partir de estos datos fue posible calcular la riqueza de taxones y la abundancia de cada uno de ellos, Índice de Madurez y sus variantes, el Índice de Parásitos de Plantas, los Índices de la Red Trófica y las Huellas Metabólicas, usando el programa NINJA (Sieriebriennikov *et al.*, 2014)

3.5.- Estimación de la actividad de la mesofauna

El test mediante lámina cebo (“*bait-lamina*”) consiste en la utilización de pequeños cebos compuestos por la mezcla de un sustrato estándar hecho de polvo de celulosa, copos de salvado y carbón activo fijados en 16 pequeños agujeros de 1,5 mm a lo largo de una tira de PVC de 120x6x1 mm (Kratz, 1998).

Las láminas fueron enterradas verticalmente en los primeros 10 cm de suelo en los puntos donde se realizó el muestreo de suelo (Figura 6), a 0, 8 y 16 metros desde la linde hacia el cultivo, tanto en la zona con seto como sin seto y en la matriz en tres puntos separados entre sí 10 metros. El 2 de abril de 2019 fueron colocadas 3 láminas en cada punto de muestreo, y tras un periodo de 40 días fueron retiradas y se contó in situ el cebo ingerido, indicando así la actividad de alimentación de la mesofauna edáfica como el porcentaje de cebo ingerido.

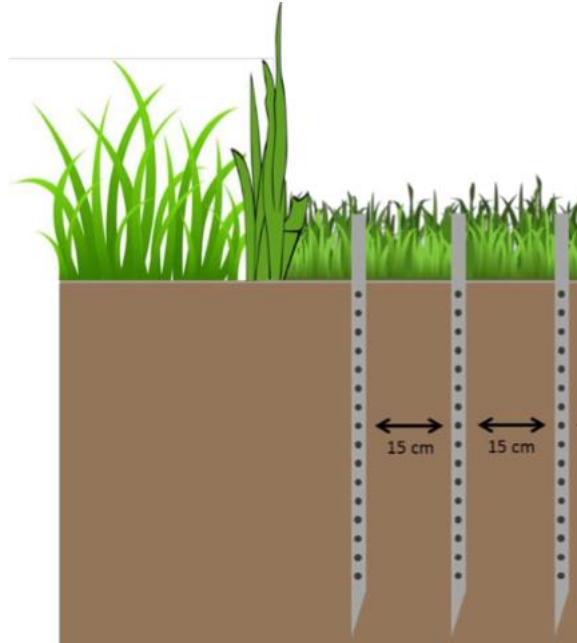


Figura 6. Esquema de la disposición de las láminas cebo (Fuente <http://www.nutnet.umn.edu/methods/soil-microbes-animals>)

3.6.- Tasa de descomposición de materia orgánica.

Para cuantificar la tasa de descomposición de la materia orgánica del suelo se utilizó el método del Índice de Bolsas de Té (“Tea Bag Index”), descrito en Keuskamp *et al.*, (2013). Este método consiste en la utilización de bolsas de té verde LipTon y té rooibos Lipton (Figura 6) como estandarizados kits de testeo de la descomposición de la materia orgánica.

Se midió el peso inicial de cada una de las bolsas de té. Una vez marcadas, se enterraron dos bolsitas de ambos tipos de té a unos 8 cm de profundidad en los mismos puntos dónde fueron depositadas las láminas cebo, también el 2 de abril. Tras 70 días, se recuperaron, secaron en una estufa durante 48h a 70°C y sus superficies se limpiaron cuidadosamente. Se determinó el peso del contenido de la bolsa de té para calcular la velocidad de descomposición (k), así como el factor de estabilización (S), utilizando los datos de masa de ambos tipos de té y las ecuaciones de Keuskamp *et al.* (2013).



Figura 7. Izq: Bolsas de té utilizadas en el trabajo. Drcha: disposición de las bolsas de té en el cultivo (Fuente propia y Keuskamp et al (2013))

3.6.- Análisis de los datos.

Con el fin de poder explicar y conocer la influencia de la presencia de los setos revegetados sobre las variables estudiadas, se procedió a realizar análisis de la varianza (ANOVA) para comparar los valores medios obtenidos para las variables físicas y químicas, los índices ecológicos sobre la red trófica de los nematodos, la tasa de descomposición y el porcentaje de cebo ingerido por la mesofauna edáfica entre grupos de muestras. Las variables independientes (factores) fueron:

- a) **ZONA** de la parcela: zona con seto (CS), zona sin seto (SS) y matriz del cultivo (M)
- b) **POSICIÓN** en el gradiente desde la linde hacia el interior del cultivo: desde P0 (dentro de la linde), P4 (cuatro metros hacia el interior), P8 (ocho metros hacia el interior), P12 (doce metros hacia el interior del cultivo), P16 (dieciséis metros hacia el interior), P20 (veinte metros hacia el interior) y M.

Los datos fueron transformados usando $\ln x+1$ antes de su análisis. Una vez realizado el análisis de la varianza (ANOVA), los residuos del modelo fueron sometidos a análisis de la normalidad (Shapiro-Wilk) y de homogeneidad (Fligner-Killeen). Aquellos análisis que no cumplieran normalidad fueron analizados con el test Kruskal-Wallis. Como análisis post hoc, se aplicó el test Bonferroni.

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa R Statistical Software (R Core Team, 2018).

4.-RESULTADOS

4.1.- Análisis de las propiedades físicas y químicas

Una vez evaluadas las propiedades físicas y químicas del suelo (fósforo biodisponible, carbono total, nitrógeno total, nitratos, amonio, pH y humedad relativa) y realizados los análisis ANOVA, los resultados señalan que el factor “zona” (presencia/ausencia de seto) afectó significativamente ($p < 0,05$) al fósforo biodisponible y la humedad relativa (Tabla 1). En cuanto al fósforo biodisponible, su concentración en el suelo es mayor en la zona con seto que en la zona sin seto y matriz del cultivo. Por el contrario, la humedad relativa es mayor en la zona sin seto frente a la zona con seto y la matriz (Figura 8).

El factor “posición” (gradiente de distancia desde la linde hacia el interior del cultivo), tiene un efecto significativo sobre el nitrato y la humedad relativa (Tabla 1). En el caso del nitrato, existe un aumento de su concentración en el suelo a medida que aumenta la distancia a la linde (Figura 8); siendo significativamente mayor a 12, 16 y 20 metros con respecto a la linde. Si bien para los nitratos sí se puede observar dicho gradiente, en los valores de humedad relativa no se observa dicho gradiente, aunque existan diferencias significativas entre algunas posiciones con respecto a la linde (Figura 8).

La interacción de los dos factores solo resulta significativa en el caso del fósforo biodisponible (Tabla 1, Figura 7). Los niveles de fósforo son significativamente mayores en la zona con seto con respecto a la zona sin seto, en la cual además existen diferencias significativas entre la posición 0 (P0) y las demás posiciones dentro cultivo, siendo mayor en la linde sin revegetar.

Tabla 1 Resultados del ANOVA de las propiedades físicas y químicas (* indica R^2 de Kruskal-Wallis).

	ZONA		POSICION		ZONA*POSICION	
	F	p-value	F	p-value	F	p-value
Carbono total	0,16	NS	0,8	NS	1,67	NS
Fósforo	*45,53	<0,05	*7,41	NS	4,25	<0,05
Nitrógeno total	0,70	NS	1,88	NS	1,95	NS
NO ₃ -	0,43	NS	3,89	<0,05	1,87	NS
NH ₄ ⁺	*2,39	NS	*2,37	NS	0,56	NS
pH	*2,81	NS	* 2,85	NS	*14,23	NS
Humedad relativa	12,27	<0,05	2,3	<0,05	1,25	NS



Figura 8. Propiedades del suelo (Comparación de las medias con desviación estándar según factor ZONA y POSICIÓN). Letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

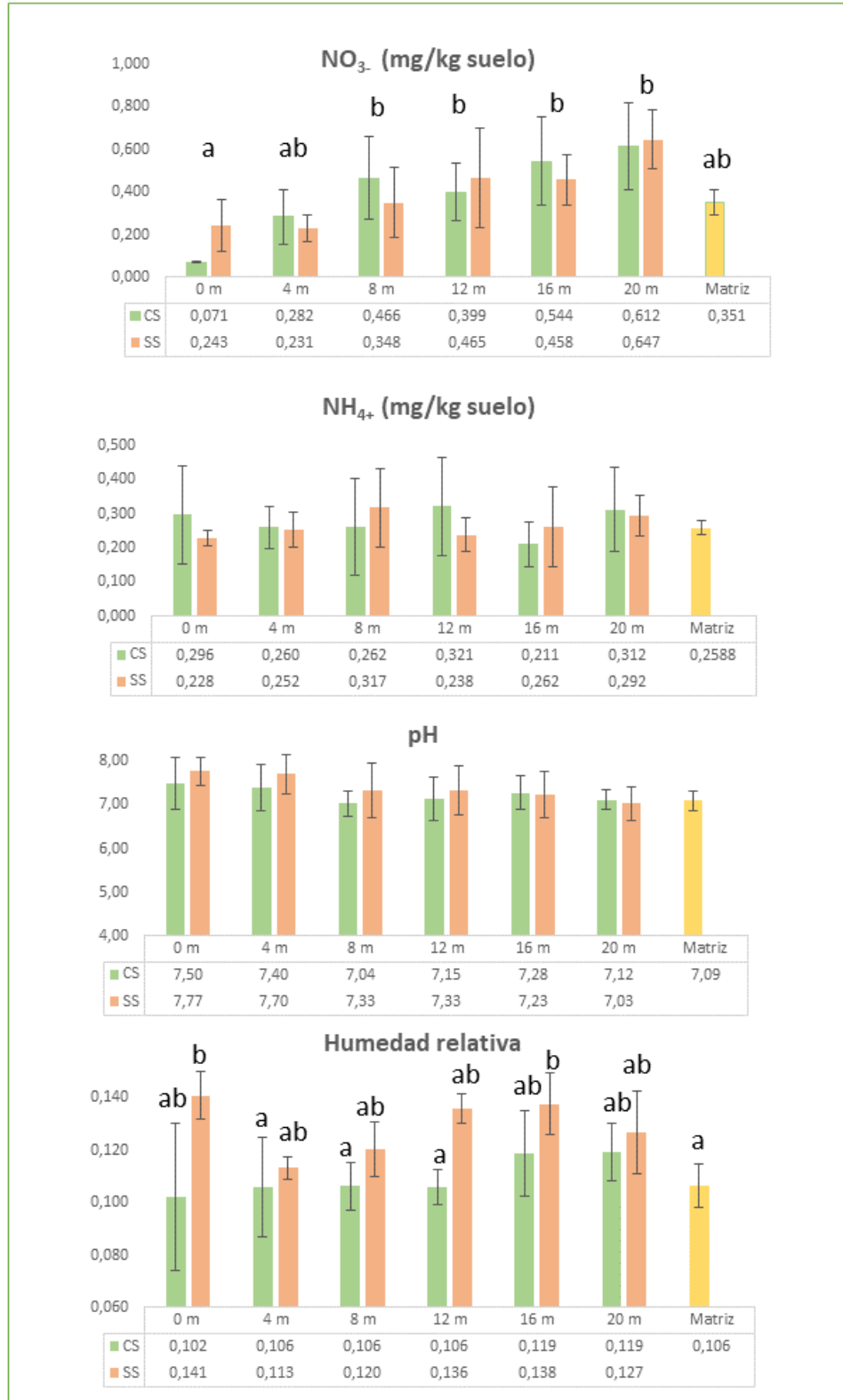


Figura 9. Propiedades del suelo (Comparación de las medias con desviación estándar según factor ZONA y POSICIÓN). Letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

4.2.-Características de la comunidad de nematodos

4.2.1.- Composición de la comunidad de nematodos

Se han identificado un total de 39 taxones de nematodos, de los cuales, 15 son bacterívoros (además de las larvas dauer, formas dispersivas específicas de algunas familias de nematodos bacterívoros), 5 fungívoros, 9 herbívoros o fitoparásitos, 3 depredadores y 7 omnívoros (Tabla 2).

Los nematodos depredadores solo aparecieron en la zona CS0, CS4 y CS16 (Tabla 2). La abundancia media de nematodos en la finca es de 1370 nematodos/100g de suelo seco.

Tabla 2. Clasificación de los géneros y familias de nematodos identificados en las muestras de suelo en función del grupo trófico y grupo cp al que pertenecen.

Bacterívoros	Fungívoros	Herbívoros	Depredadores	Omnívoros
Ba1				
<i>Mesorhabditis</i>				
<i>Rhabditis</i>				
<i>Panagrolaimus</i>				
<i>Eumonhystera</i>				
<i>Peltamigratus</i>				
*larva dauer				
Ba2	Fu2	He2	De2	
<i>Cervidellus</i>	<i>Aphelenchus</i>	<i>Psilenchus</i>	<i>Seinura</i>	
<i>Acrobeles</i>	<i>Aphelenchoides</i>	<i>Paratylenchus</i>		
<i>Acrobeloides</i>	Tylenchidae			
<i>Plectus</i>				
<i>Cephalobus</i>				
<i>Wilsonema</i>				
<i>Heterocephalobus</i>				
Ba3	Fu3	He3	De3	Om3
<i>Metateratocephalus</i>	<i>Diphtherophora</i>	<i>Tylenchorhynchus</i>		<i>Achromadora</i>
<i>Prismatolaimus</i>		<i>Pratylenchus</i>		
		<i>Helicotylenchus</i>		
		<i>Telotylenchus</i>		
		<i>Trophurus</i>		
Ba4	Fu4	He4	De4	Om4
<i>Alaimus</i>	<i>Tylencholaimus</i>	<i>Longidorella</i>	<i>Clarkus</i>	<i>Eudorylaimus</i>
				<i>Thornia</i>
Ba5	Fu5	He5	De5	Om5
		<i>Dorylaimellus</i>	<i>Discolaimus</i>	<i>Prodorylaimus</i>
				<i>Mesodorylaimus</i>
				Aporcelaimidae
				Chrysonematidae

Una vez realizada la identificación y conteo de los nematodos edáficos, se procedió a calcular la proporción de cada grupo trófico en cada muestra de suelo (figura 10), los diferentes índices y las huellas metabólicas correspondientes, descritos en los siguientes apartados.

Se puede apreciar que el número de individuos totales es significativamente mayor en la zona con seto (Tabla 3); sin embargo, el único grupo trófico que mostró diferencias significativas en su proporción fueron los herbívoros. A nivel ZONA, la proporción de herbívoros presentes en las muestras de suelo es significativamente menor en la zona con seto frente a la zona sin seto ($F=5,36$, $p<0,05$). A nivel POSICION, hubo diferencias significativas entre P0 y P4 ($F=3,5$, $p<0,05$). Cabe destacar la variación entre CS0 y CS4, pasando de un 39% a un 10% de herbívoros (Figura 10).

Si bien no significativo, se observa la presencia del grupo trófico de los depredadores en la linde revegetada frente a la ausencia en la zona de la parcela carente de seto (Figura 10).

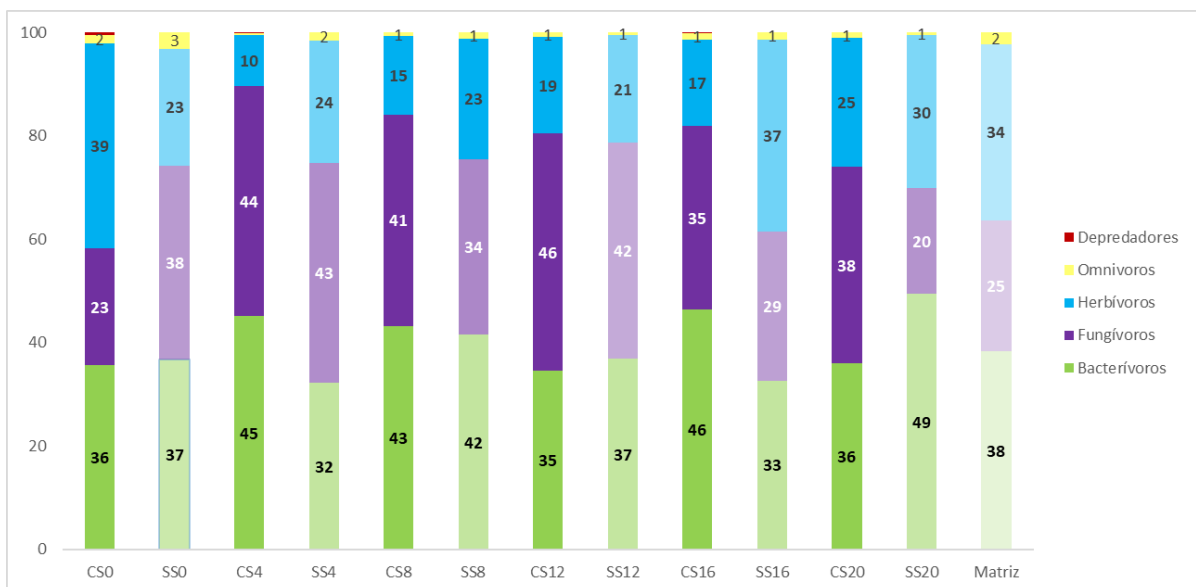


Figura 10. Porcentaje de grupos tróficos presentes en cada punto de muestreo de cada parcela

4.2.2.- Índices ecológicos

Una vez realizado el análisis ANOVA, se puede observar que, para el factor “zona”, no existen diferencias significativas para ningún índice de la red trófica. Sin embargo, sí que existen diferencias significativas para el factor “posición” en el Índice de Estructura, siendo mayor en la P0 con respecto a P4. Para el resto de las posiciones no se aprecian diferencias significativas (Tabla 3).

En la interacción de ambos factores, el Índice de Madurez y su correspondiente sumatorio, CS0 es significativamente mayor con respecto al resto de zonas y posiciones (Tabla 3), lo que indica mayor contribución de los nematodos sensibles a las perturbaciones.

Los valores obtenidos para el Índice de Canal (tomando como referencia los valores presentes en (Sánchez-Moreno y Ferris, 2017)), si bien no muestran diferencias significativas, presentan valores de medios a altos, indicando una alta participación de los nematodos fungívoros en la descomposición de la materia orgánica. Tampoco aparecen diferencias significativas para el Índice Basal, aunque sus valores muestran perturbación en el sistema edáfico (Tabla 3).

En el caso del Índice de Enriquecimiento, los valores de todos los puntos de muestreo informan de aportes de materia orgánica al sistema y, por consiguiente, una fertilidad de media a alta. Sin embargo, para el Índice de Estructura sí que existe una amplia variación, pues aquellos que se encuentran por encima de 30, son el resultado de una red alimentaria de media a alto desarrollo, en especial CS0, cuyos eslabones tróficos superiores se encuentran en buen estado y pueden ofrecer resistencia a las plagas (Tabla 3), lo que se traduce en una mejora del servicio ecosistémico de control biológico.

Tanto la biomasa total de nematodos como en la huella metabólica compuesta, de enriquecimiento, de bacterívoros y de fungívoros, presentan valores mayores en la zona con seto que en la zona sin seto (Tabla 3). Los valores altos de huellas metabólicas de los bacterívoros, fungívoros e indicadores de enriquecimiento en el cultivo indican una mayor fertilidad del suelo y una mayor contribución de los nematodos a la mineralización de los nutrientes (Figura 5).

Trabajo Fin de Máster

Tabla 3. Media y desviación estándar de los índices utilizados para la evaluación de la comunidad de nemátodos y resultados ANOVA (NS indica no diferencia significativa)

ÍNDICE	CON SETO (CS)						SIN SETO (SS)						MATRIZ	ZONA	POSICION	ZONA*POSICION
	0	4	8	12	16	20	0	4	8	12	16	20	M	p-value	p-value	p-value
Nº total de individuos	1255 ±	1897 ±	1341 ±	1211 ±	2341 ±	1961 ±	971 ±	1199 ±	934 ±	846 ±	1057 ±	1276 ±	1479,12 ±	<0,05 (CS>SS)	NS	NS
	778	365	273	644	1084	920	520	480	585	233	183	461	584,47			
Índice de madurez	2,43 ±	1,84 ± ±	2,03 ± ±	2,12 ±	1,88 ±	2,15 ±	2,11 ±	2,07 ±	2,06 ±	2,14 ±	2,22 ±	2,01 ±	2,02 ±	NS	NS	<0,05 (CS0>>CS,SS)
	0,21	0,13	0,16	0,06	0,17	0,14	0,28	0,12	0,16	0,10	0,18	0,13	0,34			
Σ del Índice de Madurez	2,38 ±	1,86 ±	2,04 ±	2,15 ±	1,93 ±	2,15 ±	2,11 ±	2,17 ±	2,08 ±	2,15 ±	2,18 ±	2,03 ±	2,06 ±	NS	NS	<0,05 (CS0>CS4,CS16)
	0,17	0,13	0,15	0,05	0,17	0,14	0,21	0,10	0,13	0,10	0,11	0,12	0,30			
Ín. Parásitos de Plantas	2,32 ±	2,09 ±	2,14 ±	2,27 ±	2,35 ±	2,30 ±	2,18 ±	2,50 ±	2,15 ±	2,30 ±	2,13 ±	2,10 ±	2,22 ±	NS	NS	NS
	0,24	0,09	0,08	0,05	0,36	0,35	0,09	0,28	0,15	0,35	0,06	0,11	0,09			
Índice de Canal	50,19 ±	45,42 ±	64,08 ±	68,12 ±	44,90 ±	58,40 ±	65,33 ±	67,43 ±	53,24 ±	68,13 ±	64,83 ±	50,17 ±	45,05 ±	NS	NS	NS
	31,31	21,04	30,46	8,95	32,60	27,61	30,40	8,78	27,55	20,89	16,24	27,45	24,48			
Índice Basal	33,26 ±	39,78 ±	44,91 ±	43,72 ±	36,60 ±	43,15 ±	39,79 ±	46,96 ±	42,73 ±	44,80 ±	42,45 ±	54,17 ±	33,29 ±	NS	NS	NS
	16,69	10,16	14,23	7,69	13,63	7,32	15,15	8,66	9,45	9,40	6,29	7,49	14,37			
Índice de Enriquecimiento	42,41 ±	58,93 ±	48,13 ±	46,95 ±	59,23 ±	44,05 ±	49,10 ±	46,22 ±	47,07 ±	44,68 ±	40,41 ±	40,33 ±	55,67 ±	NS	NS	NS
	13,27	10,96	14,40	5,22	16,45	5,92	16,72	4,91	11,03	6,23	6,02	5,91	19,83			
Índice de Estructura	57,88 ±	6,12 ±	22,42 ±	29,54 ±	19,29 ±	32,33 ±	31,40 ±	21,33 ±	27,02 ±	30,08 ±	37,32 ±	13,86 ±	33,98 ±	NS	<0,05 (P0>P4)	NS
	19,45	3,76	15,69	10,96	7,96	17,38	22,46	16,99	19,15	15,60	16,70	13,34	18,72			
Biomasa total (mg)	0,44 ±	0,57 ±	0,50 ±	0,36 ±	2,05 ±	0,59 ±	0,42 ±	0,37 ±	0,30 ±	0,29 ±	0,30 ±	0,37 ±	0,72 ±	<0,05 (CS>SS)	NS	NS
	0,24	0,17	0,22	0,21	2,81	0,26	0,24	0,16	0,16	0,19	0,06	0,17	0,56			
Huella compuesta	163,49 ±	241,52 ±	189,71 ±	144,76 ±	641,36 ±	233,81 ±	130,92 ±	140,55 ±	116,49 ±	101,54 ±	118,02 ±	149,36 ±	235,35 ±	<0,05 (CS>SS)	NS	NS
	93,29	68,29	65,09	78,69	758,01	103,81	37,20	54,43	68,75	39,84	22,32	67,39	143,39			
Huella de Enriquecimiento	29,52 ±	173,05 ±	104,64 ±	68,09 ±	534,58 ±	89,03 ±	55,39 ±	56,84 ±	47,35 ±	34,72 ±	29,61 ±	43,09 ±	105,85 ±	<0,05 (CS>SS)	NS	NS
	17,32	76,65	64,38	40,25	751,31	73,81	41,31	19,32	44,35	9,51	10,74	23,13	118,62			
Huella de Estructura	52,11 ±	9,51 ±	15,99 ±	22,05 ±	23,00 ±	42,05 ±	31,44 ±	23,05 ±	17,54 ±	14,29 ±	25,59 ±	12,05 ±	52,74 ±	NS	NS	NS
	30,02	5,43	11,17	19,61	2,50	22,96	39,73	17,72	18,00	8,68	10,54	16,10	70,64			
Huella de Bacterívoros	57,11 ±	135,50 ±	118,96 ±	55,85 ±	510,54 ±	97,13 ±	54,97 ±	51,92 ±	59,48 ±	36,39 ±	42,27 ±	89,22 ±	118,19 ±	<0,05 (CS>SS)	NS	NS
	24,29	66,52	59,69	16,41	747,87	35,14	36,35	18,65	46,30	13,30	9,62	86,23	105,02			
Huella de Fungívoros	43,25 ±	85,50 ±	51,32 ±	61,20 ±	94,01 ±	80,65 ±	35,56 ±	45,63 ±	32,15 ±	34,98 ±	32,80 ±	23,76 ±	38,90 ±	<0,05 (CS>SS)	NS	NS
	33,40	27,92	8,09	41,13	77,44	69,78	18,90	11,49	15,00	10,58	8,08	19,37	15,84			
Huella de Herbívoros	47,13 ±	13,97 ±	16,04 ±	18,17 ±	26,20 ±	39,75 ±	15,97 ±	25,99 ±	17,01 ±	28,05 ±	31,27 ±	28,86 ±	38,50 ±	NS	NS	NS
	38,70	6,85	6,53	12,30	23,71	26,97	15,72	18,38	11,41	36,80	14,45	20,45	22,91			
Huella de Depredadores	3,52 ±	1,69 ±	0 ±	0 ±	0,21 ±	0 ±	0 ±	0 ±	0 ±	0 ±	0 ±	0 ±	0 ±	NS	NS	NS
	4,86	3,38	0	0	0,42	0	0	0	0	0	0	0	0,00			
Huella de Omnívoros	12,48 ±	4,87 ±	3,39 ±	9,54 ±	10,40 ±	16,27 ±	24,42 ±	17,01 ±	7,84 ±	2,12 ±	11,68 ±	7,52 ±	39,75 ±	NS	NS	NS
	10,30	4,73	4,88	12,37	5,81	17,20	41,66	16,89	10,13	2,65	7,92	11,31	64,17			

4.2.3.- Diagnóstico de la red trófica

En cuanto al diagnóstico del estado de la red trófica, la representación del índice de estructura frente al de enriquecimiento, indicadores del mantenimiento de la fertilidad del suelo y supresión

de especies plaga, en el caso de la zona con seto se encuentra en un estado entre degradado y perturbado, teniendo un estado estructurado la linde revegetada (CS0, Figura 11). Dicho estado es característico de las redes tróficas en que los recursos son más abundantes y en las que se está produciendo una recuperación del estrés y dónde los canales de descomposición se encuentran en equilibrio. Además, tal y como se puede apreciar cualitativamente en la figura 11 y tabla 3, la comunidad de nematodos en el suelo de la linde revegetada tiene un mayor índice de estructura debido a la presencia de depredadores, ausentes en la zona sin seto y matriz.

Los puntos muestreados en la zona sin seto se encuentran en el cuadrante de estado degradado y basal, pues existe algún tipo de perturbación y hay escasez de recursos, mientras que la red trófica de la matriz se encuentra en estado perturbado, con mayor número de recursos disponibles pudiéndose deber al aporte de nutrientes característico de los sistemas agrícolas.

Utilizando las huellas metabólicas como indicadores de la magnitud de los servicios ecosistémicos derivados de la actividad de la fauna edáfica (Sánchez-Moreno y Ferris, 2017), en la Figura

12 se observa que la zona asociada al margen con seto muestra una magnitud del servicio de mineralización en torno a 4 veces mayor que la zona sin seto, mientras que la matriz presenta valores intermedios de dicho servicio. Por el contrario, el factor ZONA no presenta apenas diferencias en lo que se refiere al servicio de supresión de plagas, presentando valores muy bajos en toda la finca del estudio. No se observa presión de plagas (Figura 12), pues, aunque hay presencia de nematodos fitoparásitos, su huella metabólica es baja comparada a la huella de los nematodos bacterívoros.

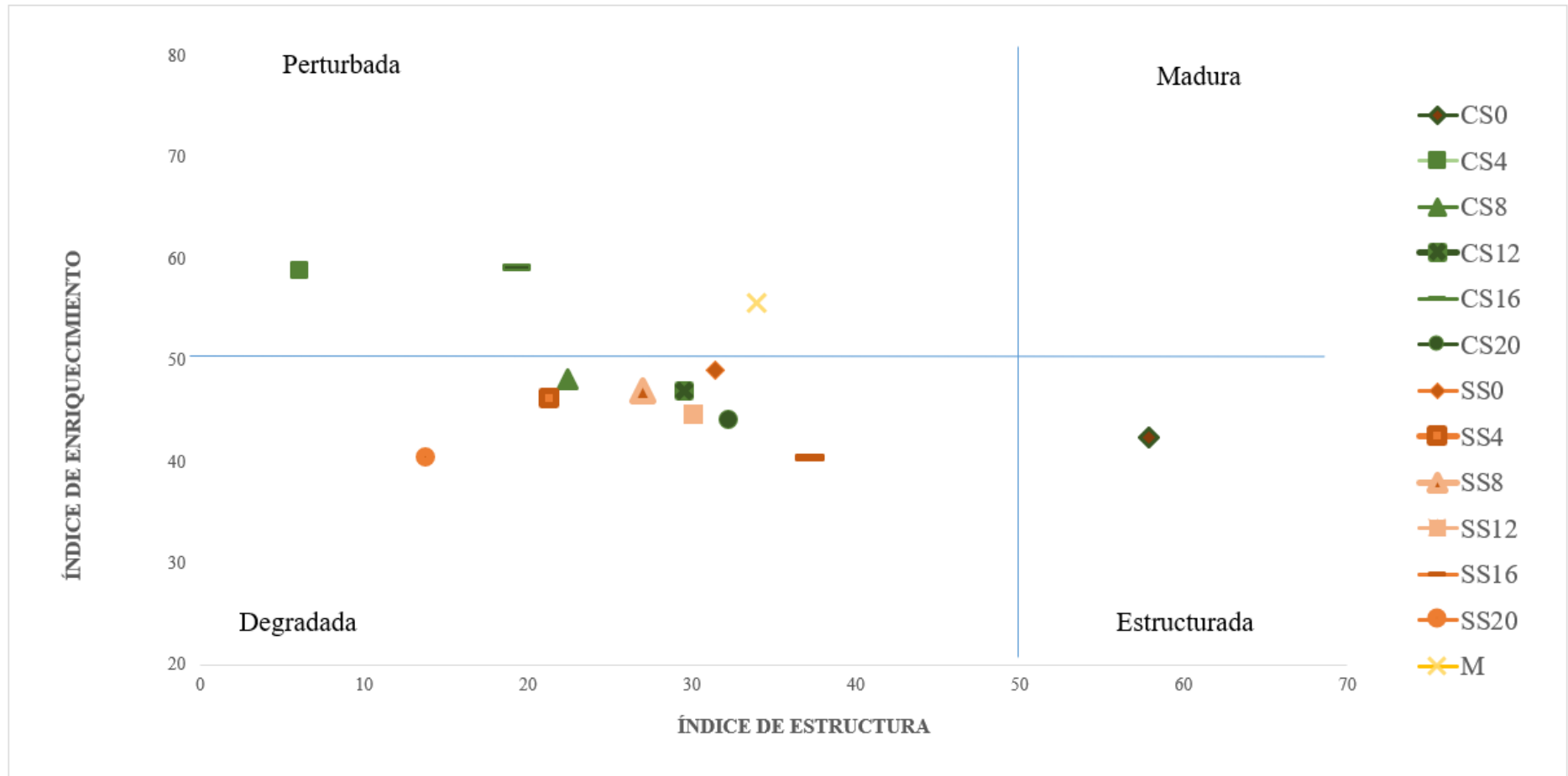


Figura 11. Diagnóstico del estado de la red trófica edáfica (valores entre 0 y 100, escala ajustada).

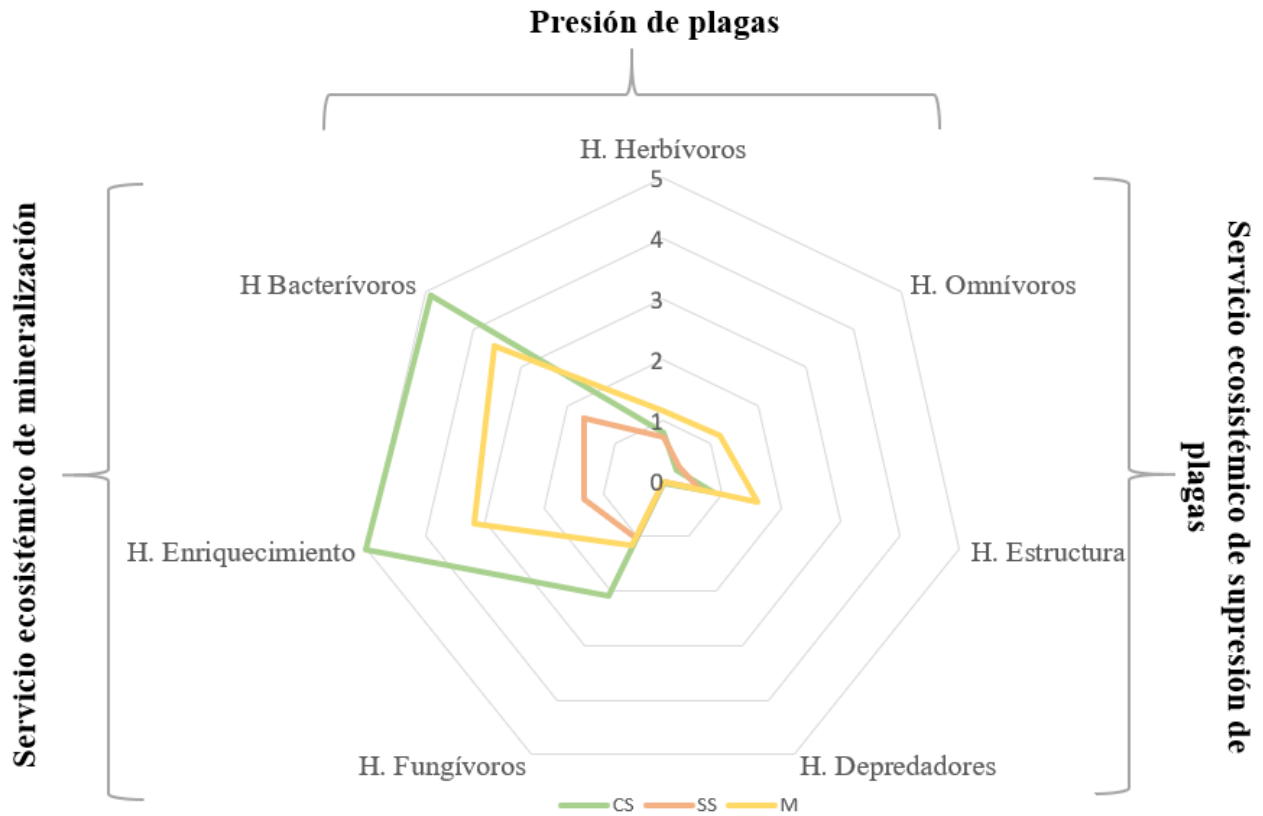


Figura 12. Diagrama de las huellas metabólicas (H) de los nematodos como indicadores de la magnitud de los servicios ecosistémicos proporcionados en función del factor ZONA (datos propios, adaptación (Sánchez-Moreno y Ferris, 2017))

4.3.-Actividad de la mesofauna

El test mediante lámina cebo (“*bait-lamina*”) consiste en la fijación de pequeños cebos que son ingeridos por la mesofauna edáfica que se encuentran en el suelo. Es un indicador funcional que mide la influencia y actividad de estos grupos de organismos mediante su alimentación.

Los resultados ponen de manifiesto que si existen diferencias significativas entre la actividad de la mesofauna edáfica en la zona con seto y la zona sin seto y la matriz, siendo mayor en la zona del cultivo con la linde revegetada (Figura 13).

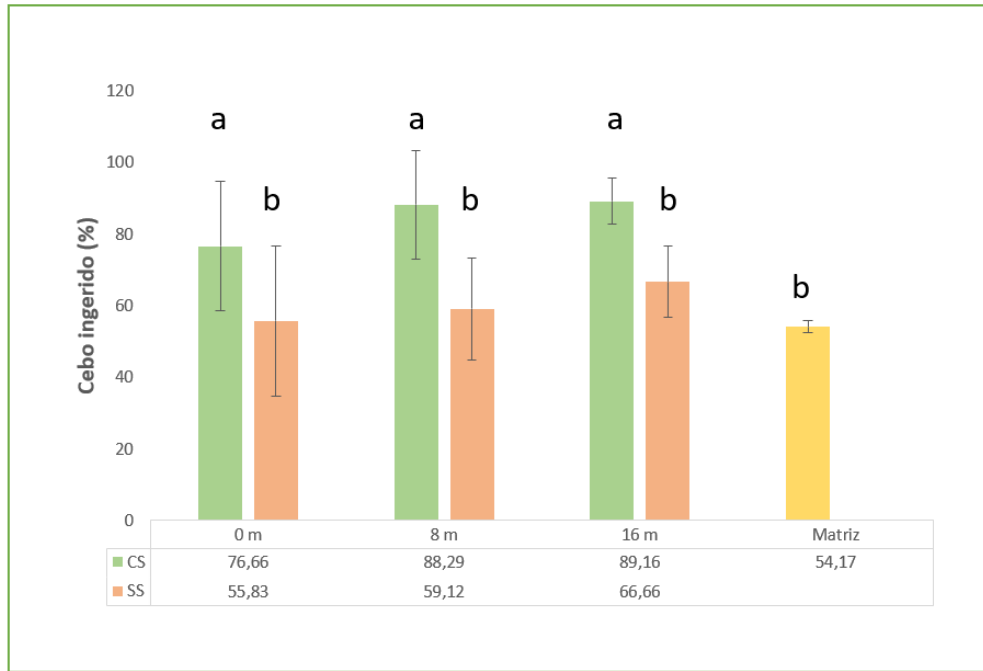


Figura 13.. Medias y desviaciones estándar del cebo ingerido por la mesofauna (Letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ($p < 0.05$)).

4.4.-Tasa de descomposición de la materia orgánica

Los análisis estadísticos ANOVA realizados sobre la constante k descrita en (Keuskamp *et al.*, 2013) muestran que existen diferencias significativas entre la zona con seto y la matriz, siendo mayor en la zona con seto (Figura 14). Sin embargo, las medias de los valores obtenidos en la zona sin seto no son significativamente diferentes a las obtenidas en la zona con seto.

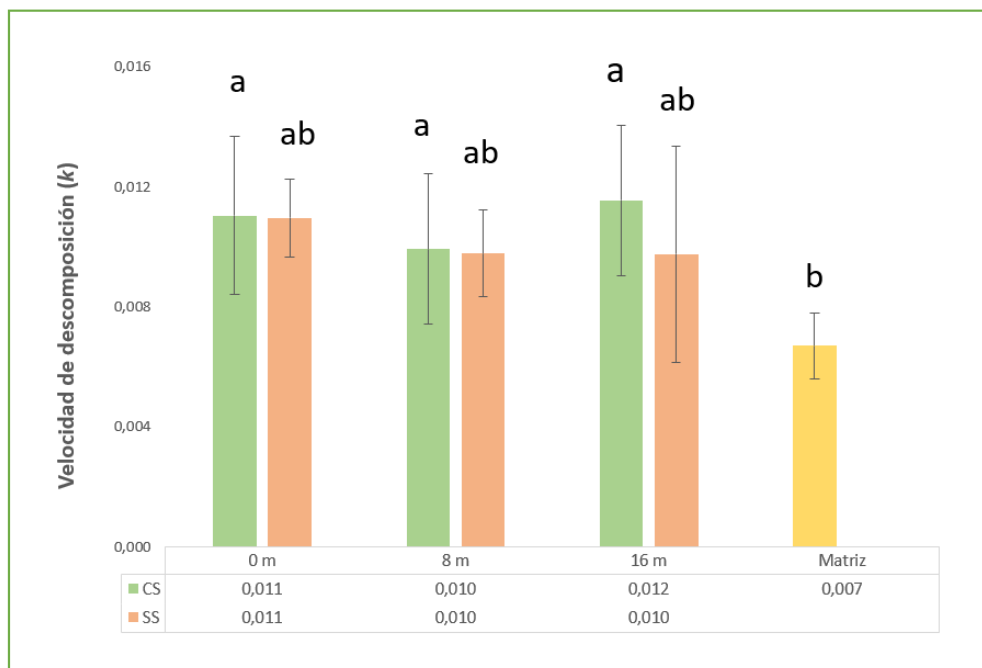


Figura 14.. Media y desviación estándar de la tasa de descomposición de la materia orgánica (Letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ($p < 0.05$)).

5.-DISCUSIÓN

El establecimiento de especies leñosas formando setos en las lindes de la parcela agrícola parece influir en los procesos ecológicos clave que tienen lugar en el suelo.

En lo referente a las propiedades físicas y químicas que informan sobre la mineralización que está teniendo lugar en el sistema, se observa un gradiente ascendente, de la concentración de nitrato hacia el interior del cultivo, al contrario que lo obtenido por Holden *et al.* (2019), quién obtuvo concentraciones de nitrato tres veces mayores en la zona con seto comparado con el resto del cultivo. Este hecho puede deberse a que el cultivo de este año ha sido garbanzo (*Cicer arietinum*), una leguminosa que permite la fijación de nitrógeno y, por lo tanto, su mineralización y consiguiente aumento de la concentración de nitrato (Parfitt *et al.*, 2005). Si bien en la linde también existen otras especies de leguminosas, el aporte de materia orgánica junto con la alternancia de distintos tipos de cultivos llevados a cabo por el agricultor podría explicar el gradiente obtenido, pues se da en ambas zonas del muestreo.

Si bien no se observan diferencias significativas en el nitrógeno total, la mineralización neta se relaciona inversamente con la relación C:N (Parfitt *et al.*, 2005) y por lo tanto, debido a los resultados obtenidos de nitrato, también era de esperar un gradiente en el nitrógeno total.

En cuanto a la mayor acumulación del fósforo biodisponible en la zona revegetada, indica que el seto está cumpliendo la función de retención de dicho nutriente, como demuestra Holden, *et al.*, (2019) en su trabajo, dónde obtuvo concentraciones de fósforo hasta diez veces mayores en el suelo bajo los setos con respecto al suelo de los campos de cultivo.

Las diferencias en la humedad relativa pueden deberse a una diferencia en la textura del suelo en la zona con seto y la zona sin seto, tal y como recoge el proyecto de revegetación llevado a cabo en la parcela (Crespo-Cepas, 2016). La zona sin seto presenta una textura más arcillosa frente a la zona con seto, la cual es más arenosa.

Contrario a la hipótesis de partida, no se han observado diferencias significativas en el carbono total. Smukler *et al.* (2010) estimó que los setos almacenaban el 18% de carbono total del paisaje agrícola mientras que Monokrousos *et al.* (2006) observaron que las concentraciones de carbono total bajo los setos eran el doble que en los cultivos adyacentes.

Si bien la comunidad de nematodos y su complejidad en el cultivo, basada en los índices, presenta valores bajos debido a las continuas perturbaciones y presiones (Sanchez-Moreno *et al.*, 2009), sí que se han encontrado diferencias entre la comunidad de nemátodos del cultivo con respecto a la zona de la linde, donde se ha obtenido un mayor Índice de Madurez, lo que indica que el suelo bajo el seto presenta un mayor estado de sucesión ecológica que el suelo del cultivo.

El Índice de Estructura, el cual indica la conexión de la red trófica, está a menudo correlacionado negativamente con el contenido de nitrógeno en el suelo, sobre todo en ecosistemas perturbados (Sanchez-Moreno *et al.* 2006), lo que podría explicar también la escasa concentración de nitrato en la linde con seto, donde el valor de este Índice presenta un valor alto.

La zona con seto está formada por una red trófica con Huellas Metabólicas de Enriquecimiento, Bacterívoros y Fungívoros significativamente mayores que la zona sin seto e interior del cultivo, lo cual indica una mayor fertilidad del suelo (Gebremikael *et al.*, 2016), llegando a representar hasta un 25% de la mineralización de nitrógeno en el suelo (Ferris *et al.*, 2012b). Tal y como mostraron Mikola y Setälä (1998), la mayor abundancia de nematodos micróvoros resulta en una mayor actividad microbiana, lo que a su vez aumenta la mineralización y, por consiguiente, la cantidad de nitrógeno disponible para el cultivo (Ferris *et al.* 2004). Además, la elevada presencia de este grupo trófico en cultivos orgánicos como en este trabajo viene explicada por los mayores aportes de materia orgánica (Yeates *et al.*, 1997).

Además, según Ferris *et al.*, (2012a) los micróvoros juegan un papel de servicio indirecto al proporcionar presas a los depredadores, mejorando así el estado de la red trófica, pues el sistema es capaz de regular y suprimir las plagas ocasionadas por las especies de nematodos fitoparásitos (Steel y Ferris, 2016).

De esta manera, puede explicarse la presencia, aunque escasa, de depredadores en la zona con seto, pues existe mayor abundancia de presas en la zona de la linde revegetada y en algunos puntos del cultivo cercano (Sanchez-Moreno *et al.*, 2011). Otro indicador de este proceso es el elevado Índice de Estructura que presenta dicha linde, la cual presenta un estado más cercano a un área natural que al característico de los campos de cultivo (Neher, 2001). Los niveles más altos de la cadena trófica pueden establecerse en suelos enriquecidos cuando cesa la perturbación física, como es el caso del suelo donde se encuentran los setos. Sin embargo, esta zona tiene un porcentaje significativamente mayor de herbívoros y fitoparásitos, lo que indica

que, si bien el sistema está mejor preparado para enfrentarse a estos organismos, también contiene mayor abundancia de ellos.

En cambio, en los sistemas con una red trófica en estado perturbado como la zona del cultivo sin seto, existe menor diversidad en los niveles tróficos superiores, lo que se traduce en una menor resiliencia y resistencia frente a especies oportunistas y capacidad del sistema para la supresión de plagas (Sanchez-Moreno *et al.*, 2008).

De acuerdo con los resultados anteriores, la red trófica de la zona de influencia del seto, a través de los índices y huellas metabólicas, muestra una mejora en una de las funciones más importantes en los agroecosistemas: el mantenimiento de la fertilidad del suelo (Sánchez-Moreno y Ferris, 2017).

Otro resultado que refleja los procesos que está teniendo lugar en la zona con seto es la actividad biológica de la mesofauna, la cual es significativamente mayor en la zona con seto que en la zona sin seto y el interior del cultivo, traduciéndose esa actividad en una mejora de la biodiversidad edáfica según (Siebert *et al.*, 2019).

Si bien, en la zona influenciada por el seto, en base a la evidencia de un aumento de la mineralización y fertilidad en la zona influenciada por el seto, esperaríamos también mayor tasa de descomposición de la materia orgánica como resultado de ese proceso (Pingel *et al.*, 2019), solo hay diferencias significativas entre la zona con seto y la matriz, pero no con la zona sin seto.

En vista a que no todos los resultados descritos se ajustan a lo esperado, en posteriores estudios se tendrían que tener en cuenta factores como el tiempo, las especies leñosas plantadas o la anchura y altura del seto, tal y como sostienen Holden, J. *et al.* (2019), y Van Vooren *et al.*, (2017) con el fin de detectar mayores cambios en los organismos del suelo y los procesos que llevan a cabo.

6.-CONCLUSIONES

De acuerdo con nuestras expectativas, los resultados muestran una mejora significativa en el servicio ecosistémico de retención de nutrientes, en concreto del fósforo, en detrimento del “*ecosystem disservice*” de escorrentía de nutrientes.

La comunidad de nematodos como representante de la biodiversidad edáfica y el estado ecológico del suelo, presentó valores significativamente mayores en la zona de influencia del seto. Las Huellas Metabólicas de Enriquecimiento, Bacterívoros y Fungívoros obtenidas en esa zona indicaron una mejora del servicio ecosistémico de mineralización de nutrientes, lo que se traduce en un aumento de la fertilidad del suelo.

Además, los niveles de actividad de la mesofauna (artrópodos y nematodos), también fueron significativamente mayores en la zona de influencia del seto con respecto a la zona sin seto y el interior del cultivo, lo que apoya los resultados obtenidos de la mejora de las funciones y servicios ecosistémicos del suelo. La tasa de descomposición de la materia orgánica fue mayor en la zona con seto con respecto al interior del cultivo, lo que indica una mayor actividad microbiana y, por lo tanto, un aumento en el reciclado de los nutrientes.

La red trófica edáfica de la linde con seto presentó un estado estructurado y mayor Índice de Madurez, atributos característicos de ecosistemas edáficos donde están presentes grupos sensibles a las perturbaciones, con un mayor grado de sucesión ecológica y, por consiguiente, el servicio ecosistémico de control y supresión de plagas aumenta, otorgando mayor resistencia y resiliencia al sistema.

En conclusión, los resultados obtenidos en el presente trabajo indican un efecto positivo de los setos plantados en las lindes de los cultivos, presentándose como una útil herramienta de restauración en agroecosistemas, mejorando los niveles de biodiversidad y servicios ecosistémicos edáficos.

7.-AGRADECIMIENTOS

Gracias a Sara Sánchez Moreno, investigadora del INIA, por su inestimable esfuerzo y apoyo prestado, por la confianza depositada en mí y el tiempo invertido en dirigir este trabajo.

A Mar Albarrán y Carlos Cadórniga, investigadores del INIA, y a Nacho y Belén, por su colaboración durante sus prácticas en el INIA, tanto en el muestreo de campo como en el procesado de muestras en el laboratorio.

A la FIRE y en especial, a Miriam Pajares, por proporcionar la parcela para llevar a cabo este estudio y codirigir este trabajo, además de ayudar en la recolección de muestras. Al agricultor Román Benayas por permitirnos utilizar su parcela.

A José María Rey Benayas por su papel como tutor académico, así como a la Universidad de Alcalá, a la Universidad Complutense de Madrid, a la Universidad Politécnica de Madrid y a la Universidad Rey Juan Carlos por brindarme la oportunidad de realizar este máster.

A mis padres, por ayudarme a llegar hasta aquí, apoyándome a lo largo de mi formación académica.

8.-REFERENCIAS

- Bai, Z.G., Dent, D. L., Olsson, L., & Schaepman, M. E. 2008. Proxy global assessment of land degradation. *Soil Use and Management* 24:223-234.
- Barral, M.P., Rey Benayas, J.M., Meli, P. & Oscar Maceira, N. 2015. Quantifying the impacts of ecological restoration on biodiversity and ecosystem services in agroecosystems: A global meta-analysis. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 202: 223-231.
- Bennett, E.M., Peterson, G.D. & Gordon, L.J. 2009. Understanding relationships among multiple ecosystem services. *Ecology Letters*, 12(12): 1394-1404.
- Blum, W.E.H.. 2005. Functions of Soil for Society and the Environment. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 4(3): 75-79.
- Bongers, T. 1990. The Maturity Index - an Ecological Measure of Environmental Disturbance Based on Nematode Species Composition. *Oecologia*, 83(1): 14-19.
- Borin, M., Passoni, M., Thiene, M. & Tempesta, T. 2010. Multiple functions of buffer strips in farming areas. *European Journal of Agronomy*, 32(1): 103-111.
- Bruinsma, J. 2009. The resource outlook to 2050: by how much do land, water and crop yields need to increase by 2050? . FAO, Rome.
- Brussaard, L., de Ruiter, P.C. & Brown, G.G. 2007. Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 121(3): 233-244.
- Costanza, R., dArge, R., deGroot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., ONeill, R.V., Paruelo, J., Raskin, R.G., Sutton, P. & vandenBelt, M. 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387(6630): 253-260.
- Crespo-Cepas, G. 2016. *Restauración agroecológica estratégica en un cultivo de secano herbáceo*. Trabajo Fin de Máster. Universidad de Alcalá.
- Daily, G.C. 1997. *Nature's Services. Societal Dependence on Natural Ecosystems*. Island Press, Washington DC.

- de Vries, F.T., Thebault, E., Liiri, M., Birkhofer, K., Tsiafouli, M.A., Bjornlund, L., Jorgensen, H.B., Brady, M.V., Christensen, S., de Ruiter, P.C., d'Hertefeldt, T., Frouz, J., Hedlund, K., Hemerik, L., Hol, W.H.G., Hotes, S., Mortimer, S.R., Setälä, H., Sgardelis, S.P., Uteseny, K., van der Putten, Wim H., Wolters, V. & Bardgett, R.D. 2013. Soil food web properties explain ecosystem services across European land use systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(35): 14296-14301.
- Ferris, H. 2010. Form and function: Metabolic footprints of nematodes in the soil food web. *European Journal of Soil Biology*, 46(2): 97-104.
- Ferris, H., Bongers, T. & de Goede, R. G. M. 2001. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology*, 18(1): 13-29.
- Ferris, H., Pocasangre, L.E., Serrano, E., Muñoz, J., García, S., Perichi, G. & Martínez, G. 2012a. Diversity and complexity complement apparent competition: Nematode assemblages in banana plantations. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology*, 40: 11-18.
- Ferris, H., Sanchez-Moreno, S. & Brennan, E.B. 2012b. Structure, functions and interguild relationships of the soil nematode assemblage in organic vegetable production. *Applied Soil Ecology*, 61: 16-25.
- Fischer, J., Abson, D.J., Bergsten, A., Collier, N.F., Dorresteyn, I., Hanspach, J., Hylander, K., Schultner, J. & Senbeta, F. 2017. Reframing the Food-Biodiversity Challenge. *Trends in Ecology & Evolution*, 32(5): 335-345.
- Foley, J.A., Ramankutty, N., Brauman, K.A., Cassidy, E.S., Gerber, J.S., Johnston, M., Mueller, N.D., O'Connell, C., Ray, D.K., West, P.C., Balzer, C., Bennett, E.M., Carpenter, S.R., Hill, J., Monfreda, C., Polasky, S., Rockstrom, J., Sheehan, J., Siebert, S., Tilman, D. & Zaks, D.P.M. 2011. Solutions for a cultivated planet. *Nature*, 478(7369): 337-342.
- Gebremikael, M.T., Steel, H., Buchan, D., Bert, W. & De Neve, S. 2016. Nematodes enhance plant growth and nutrient uptake under C and N-rich conditions. *Scientific Reports*, 6: 32862.

- Holden, J., Grayson, R.P., Berdeni, D., Bird, S., Chapman, P.J., Edmondson, J.L., Firbank, L.G., Helgason, T., Hodson, M.E., Hunt, S.F.P., Jones, D.T., Lappage, M.G., Marshall-Harries, E., Nelson, M., Prendergast-Miller, M., Shaw, H., Wade, R.N. & Leake, J.R. 2019. The role of hedgerows in soil functioning within agricultural landscapes. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 273: 1-12.
- Holden, J., Haygarth, P.M., Dunn, N., Harris, J., Harris, R.C., Humble, A., Jenkins, A., MacDonald, J., McGonigle, D.F., Meacham, T., Orr, H.G., Pearson, P.L., Ross, M., Sapiets, A. & Benton, T. 2017. Water quality and UK agriculture: challenges and opportunities. *Wiley Interdisciplinary Reviews-Water*, 4(2): UNSP e1201.
- Holmes, F.L. 1963. Elementary Analysis and the Origins of Physiological Chemistry. *Isis*, 54(175): 50-81.
- Ibero, C. 1998. Sobre los beneficios de los setos en las lindes de los cultivos: Setos, linderos y sotos de ribera. *Pulso Agrario/Monografía*.
- Keuskamp, J.A., Dingemans, B.J.J., Lehtinen, T., Sarneel, J.M. & Hefting, M.M. 2013. Tea Bag Index: a novel approach to collect uniform decomposition data across ecosystems. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(11): 1070-1075.
- Kratz, W. 1998. The bait-lamina test - General aspects, applications and perspectives. *Environmental Science and Pollution Research*, 5(2): 94-96.
- Kremen, C., Williams, N.M., Aizen, M.A., Gemmill-Herren, B., LeBuhn, G., Minckley, R., Packer, L., Potts, S.G., Roulston, T., Steffan-Dewenter, I., Vazquez, D.P., Winfree, R., Adams, L., Crone, E.E., Greenleaf, S.S., Keitt, T.H., Klein, A., Regetz, J. & Ricketts, T.H. 2007. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology Letters*, 10(4): 299-314.
- Landis, D.A., Gardiner, M.M., van der Werf, W. & Swinton, S.M. 2008. Increasing corn for biofuel production reduces biocontrol services in agricultural landscapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(51): 20552-20557.

- Mikola, J. & Setälä, H. 1998. Productivity and trophic-level biomasses in a microbial-based soil food web. *Oikos*, 82(1): 158-168.
- Millennium Ecosystem Assessment. 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Island Press, Washington, DC.
- Minoshima, H., Jackson, L.E., Cavagnaro, T.R., Sanchez-Moreno, S., Ferris, H., Temple, S.R., Goyal, S. & Mitchell, J.P. 2007. Soil food webs and carbon dynamics in response to conservation tillage in California. *Soil Science Society of America Journal*, 71(3): 952-963.
- Monokrousos, N., Papatheodorou, E.M., Diamantopoulos, J.D. & Stamou, G.P. 2006. Soil quality variables in organically and conventionally cultivated field sites. *Soil Biology & Biochemistry*, 38(6): 1282-1289.
- Morandin, L.A., Long, R.F. & Kremen, C. 2016. Pest Control and Pollination Cost-Benefit Analysis of Hedgerow Restoration in a Simplified Agricultural Landscape. *Journal of Economic Entomology*, 109(3): 1020-1027.
- Mulder, C., Schouten, A.J., Hund-Rinke, K. & Breure, A.M. 2005. The use of nematodes in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(2): 278-289.
- Murphy, J. & Riley, J.P. 1962. A Modified Single Solution Method for Determination of Phosphate in Natural Waters. *Analytica Chimica Acta*, 26(1): 3-&.
- Neher, D.A. 2001. Role of nematodes in soil health and their use as indicators. *Journal of Nematology*, 33(4): 161-168.
- ONU. *Objetivos de Desarrollo Sostenible*. Disponible en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/> [consulta: Sep 20, 2019].
- Parfitt, R.L., Yeates, G.W., Ross, D.J., Mackay, A.D. & Budding, P.J. 2005. Relationships between soil biota, nitrogen and phosphorus availability, and pasture growth under organic and conventional management. *Applied Soil Ecology*, 28(1): 1-13.
- Phalan, B., Onial, M., Balmford, A. & Green, R.E. 2011. Reconciling Food Production and Biodiversity Conservation: Land Sharing and Land Sparing Compared. *Science*, 333(6047): 1289-1291.

- Pingel, M., Reineke, A. & Leyer, I. 2019. A 30-years vineyard trial: Plant communities, soil microbial communities and litter decomposition respond more to soil treatment than to N fertilization. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 272: 114-125.
- Power, A.G. 2010. Ecosystem services and agriculture: tradeoffs and synergies. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 365(1554): 2959-2971.
- R Core Team (2018). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible en: <http://www.R-project.org/>.
- Rey Benayas, J.M. & Bullock, J.M. 2012. Restoration of Biodiversity and Ecosystem Services on Agricultural Land. *Ecosystems*, 15(6): 883-899.
- Sanchez-Moreno, S., Minoshima, H., Ferris, H. & Jackson, L.E. 2006. Linking soil properties and nematode community composition: effects of soil management on soil food webs. *Nematology*, 8: 703-715.
- Sanchez-Moreno, S., Smukler, S., Ferris, H., O'Geen, A.T. & Jackson, L.E. 2008. Nematode diversity, food web condition, and chemical and physical properties in different soil habitats of an organic farm. *Biology and Fertility of Soils*, 44(5): 727-744.
- Sanchez-Moreno, S., Nicola, N.L., Ferris, H. & Zalom, F.G. 2009. Effects of agricultural management on nematode-mite assemblages: Soil food web indices as predictors of mite community composition. *Applied Soil Ecology*, 41(1): 107-117.
- Sanchez-Moreno, S., Ferris, H., Young-Mathews, A., Culman, S.W. & Jackson, L.E. 2011. Abundance, diversity and connectance of soil food web channels along environmental gradients in an agricultural landscape. *Soil Biology & Biochemistry*, 43(12): 2374-2383.
- Sánchez-Moreno, S. & Talavera, M. (2013). Los nematodos como indicadores ambientales en agroecosistemas. *Ecosistemas*: 22(1): 5-55.
- Sánchez-Moreno, S. & Ferris, H. 2017. Nematode ecology and soil health. En: Sikora, R.A., Coyne, D., Hallmann, J. y Timper, P. (Eds.), *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture, 3rd edition*. CAB International in press.

- SER. 2004. *Society for ecological restoration international's primer of ecological restoration*. Disponible en: <http://www.ser.org/resources/resources-detail-view/ser-international-primer-on-ecological-restoration>.
- Siebert, J., Thakur, M.P., Reitz, T., Schaedler, M., Schulz, E., Yin, R., Weigelt, A. & Eisenhauer, N. 2019. Extensive grassland-use sustains high levels of soil biological activity, but does not alleviate detrimental climate change effects. *Resilience in Complex Socio-Ecological Systems*, 60: 25-58.
- Sieriebriennikov, B., Ferris, H. & de Goede, R. G. M. 2014. Ninja: an Automated Calculation System for Nematode-Based Biological Monitoring. *Journal of Nematology*, 46(2): 235.
- Smukler, S.M., Sanchez-Moreno, S., Fonte, S.J., Ferris, H., Klonsky, K., O'Geen, A.T., Scow, K.M., Steenwerth, K.L. & Jackson, L.E. 2010. Biodiversity and multiple ecosystem functions in an organic farmscape. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 139(1-2): 80-97.
- Soil Science Society of America. 2008. *Glossary of Soil Science Terms*. Madison, WI, USA.
- Steel, H. & Ferris, H. 2016. Soil nematode assemblages indicate the potential for biological regulation of pest species. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology*, 73: 87-96.
- Van Vooren, L., Reubens, B., Broekx, S., De Frenne, P., Nelissen, V., Pardon, P. & Verheyen, K. 2017. Ecosystem service delivery of agri-environment measures: A synthesis for hedgerows and grass strips on arable land. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 244: 32-51.
- Yeates, G.W., Bongers, T., DeGoede, R.G.M., Freckman, D.W. & Georgieva, S.S. 1993. Feeding-Habits in Soil Nematode Families and Genera - an Outline for Soil Ecologists. *Journal of Nematology*, 25(3): 315-331.
- Yeates, G.W. 1994. Modification and Qualification of the Nematode Maturity Index. *Pedobiologia*, 38(2): 97-101.

- Yeates, G.W., Bardgett, R.D., Cook, R., Hobbs, P.J., Bowling, P.J. & Potter, J.F. 1997. Faunal and microbial diversity in three Welsh grassland soils under conventional and organic management regimes. *Journal of Applied Ecology*, 34(2): 453-470.
- Yeates, G.W. 2003. Nematodes as soil indicators: functional and biodiversity aspects. *Biology and Fertility of Soils*, 37(4): 199-210.
- Young-Mathews, A., Culman, S.W., Sanchez-Moreno, S., O'Geen, A.T., Ferris, H., Hollander, A.D. & Jackson, L.E. 2010. Plant-soil biodiversity relationships and nutrient retention in agricultural riparian zones of the Sacramento Valley, California. *Agroforestry Systems*, 80(1): 41-60.
- Zhang, W., Ricketts, T.H., Kremen, C., Carney, K. & Swinton, S.M. 2007. Ecosystem services and dis-services to agriculture. *Ecological Economics*, 64(2): 253-260.

9.-ANEXOS

a) **Medición del pH**

Tras pesar 20 g de suelo seco y tamizado en una botella de plástico con tapón de estrella de 500 ml, se añaden, con ayuda de una pipeta, 50 ml de agua destilada y se agita con un agitador de rotación durante 5 min a aproximadamente 75 rpm. Tras dejar reposar la mezcla durante 30 min, se mide con un pHmetro el pH de la fase acuosa.

b) **Protocolo de medida del P disponible**

El fósforo disponible se determinó mediante el método del ácido ascórbico colorimétrico. Se pesan 5 g de suelo tamizado a 2 mm en un bote de estrella de 500 ml. La extracción se realiza añadiendo 100 ml de bicarbonato sódico (NaHCO_3) 0.5 M, pH= 8.5 (ajustar con NaOH) y agitar 30 minutos. Filtrar con Whatman n°40.

Pipetear una alícuota de 5 ml del filtrado en un matraz de 50 ml: 50/5. Añadir un poco de agua destilada y a continuación añadir 1 ml de ácido sulfúrico 1.5 M; se deja reposar para que se desprenda el gas (CO_2). Dejar a temperatura ambiente. Guardar el resto del extracto en el frigorífico. Blanco: se filtra parte de la solución de bicarbonato sódico y se le añade un poco de agua y 1 ml de sulfúrico.

Pasadas 24 horas, la solución patrón debe guardarse en el frigorífico, pero antes de preparar los patrones debe encontrarse a temperatura ambiente. Preparar los patrones a partir de la solución de 2mg/L (2 ppm): A 0, 1, 3, 5 ml de la solución patrón, se le añade un poco de agua y 1 ml de ácido sulfúrico. A continuación, tanto a los patrones como a las muestras como al blanco se les añade 8 ml del reactivo 2 y se enrasan a 50 ml con agua destilada.

Esperar 20 minutos y medir a 667 nm. Dejar en la posición 1 siempre el patrón 0 (asignarle 100% T, 0% Abs) y medir en la posición 2 las muestras y el resto de los patrones y el blanco.

- Reactivo 2:

El mismo día en el que se mide se prepara el reactivo 2: 1.056 g de ácido ascórbico en 200 ml del reactivo 1, agitar bien y dejar 30 minutos.

Reactivo 1:

12 g de molibdato amónico $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ en 250 ml de agua destilada.

+ 0.2908 g de tartrato antimónico potásico $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 0.5 \text{H}_2\text{O}$ en 100 ml de agua.

+ 1 L de ácido sulfúrico 5 N. Llevar todo a un volumen de 2 L. Esta solución debe almacenarse en el frigorífico.

c) **Protocolo de medida del nitrógeno biodisponible (NH_4^+ , NO_3^-)**

Preparar la solución de extracción KCl 2M (150g KCl enrasado a 1l con agua destilada). Preparar 110 ml por cada muestra que se vaya a extraer.

Pesar 10g de suelo fresco de cada muestra y ponerlo en un matraz de 1l. Rotular con cinta cada matraz. Evitar tomar piedras o trozos grandes de materia orgánica como ramitas o raíces. Añadir a cada matraz 100 ml de solución de extracción.

Agitar en horizontal a 200 rpm durante 1h. Sacar del agitador y dejar reposar durante 30 min. Con una micropipeta de 10 ml tomar 30 ml de sobrenadante y pasarlo a los viales grandes de plástico. Cambiar la cinta rotulada a cada vial. Centrifugar durante 5 min a 6680 rpm (o el programa grabado en la centrífuga).

Rotular dos tubos de plástico de tapón verde y pasar 10 ml de sobrenadante de cada vial a dos tubos. Congelar inmediatamente.

d) **Protocolo de medida del C y N total por método Dumas**

Los contenidos de N total y C total en el suelo se determinaron mediante la técnica de Dumas modificada, en un analizador elemental Perkin Elmer CHNO 2400 Series II, en el centro la Canaleja del INIA, situada en Alcalá de Henares. En esta técnica las muestras se someten a combustión completa en una cámara a alta temperatura en la que el aire ha sido sustituido por oxígeno puro. En estas condiciones todo el carbono de la muestra se convierte en CO_2 y todo el nitrógeno se convierte en NO_x y N_2 . A continuación la mezcla de gases atraviesa una columna reductora, fundamentalmente a base de Cu, que elimina el exceso de O_2 y reduce los NO_x a N_2 , y pasa a una zona de control donde se homogeniza la mezcla y se lleva a condiciones de temperatura y presión prefijadas.

e) **Método de extracción, conteo e identificación de nematodos edáficos**

Pesar entre 250 y 400 g de suelo fresco y poner en los vasos plásticos de 1l. Rotular cada vaso, y dejar en agua 24h. Pasadas las 24h, tomar la primera muestra y ponerla en la jarra de 2.5 l, enrasando con agua. Pasar la muestra de una jarra a otra 10 veces, de forma enérgica y asegurándose que todo el suelo cambia de jarra cada vez. Pasar el sobrenadante a la jarra grande a través del tamiz de 2 mm. Rellenar la jarra de 2.5 l de agua y repetir la operación.

Agitar el contenido de la jarra grande hasta estar seguro de que todo el sustrato está en suspensión. Dejar reposar y una vez el movimiento del agua esté casi parado, tamizar el sobrenadante a través del tamiz de 40 μm .

Recoger el sustrato que queda en el tamiz con la ayuda del frasco lavador. Pasar a un vaso de plástico con un embudo y rotular el vaso.

Una vez extraídas todas las muestras preparar los embudos Baermann: Llenar cada embudo con agua fresca y poner encima un tamiz grueso. Cubrir cada vaso con muestra con un papel fino doblado y cerrar con una goma, asegurándose de que no se han producido roturas. Agitar el vaso para poner la muestra en suspensión y depositar boca abajo encima de cada embudo.

Dejar extraer durante al menos 24h. Después, abrir la pinza para tomar aprox. 50 ml de agua limpia con nematodos y dejar reposar en el frigorífico con el fin de que los nematodos se concentren en el fondo del vaso

Al día siguiente se retira con ayuda de una pipeta Pasteur el agua de las capas superficiales, hasta únicamente dejar los últimos 20 ml. Se agita para resuspender nuevamente los nematodos y se vierten en una placa de conteo cuadrículada. El conteo de nematodos se realiza con ayuda de una lupa binocular, contando los localizados en uno de los cuadrantes de la placa. Posteriormente este número se multiplica por 4 para obtener el número total de nematodos presentes en la submuestra de suelo. A partir de este valor, del peso fresco de la submuestra empleada y de su humedad relativa calculada, se calcula el número total de nematodos presentes en 100g de peso seco de suelo.

Posteriormente, los 20 ml empleados para el conteo de los nematodos se vuelcan en un tubo de ensayo y se centrifugan a 1500 rpm durante 3 min. El objetivo es concentrar todos los nematodos en el sedimento resultante. Se elimina después el sobrenadante cuidadosamente con una pipeta Pasteur y el sedimento se vuelve a resuspender burbujeando con la misma pipeta. Se coloca el contenido del tubo sobre un portaobjetos y se cubre con un cubreobjetos. Con la ayuda de un microscopio se identifican en base a su morfología los 100 primeros nematodos, anotando el número de individuos de cada género o familia. Teniendo en cuenta el número total de nematodos estimados para 100 g de peso seco de suelo, se calcula la abundancia de cada uno de ellos por cada 100 g de peso seco.