

Trabajo Final de Máster

Impacto del calentamiento en el ciclo del nitrógeno en suelos de altas latitudes: Los gradientes geotermales de Islandia como laboratorio natural

Máster en Biodiversidad Terrestre y Conservación en Islas

Laia Bosch de Basea Moreno

Tutora: Dra. Sara Marañón Jiménez y Cotutor: Dr. Francisco Javier Díaz Peña

Julio de 2023





*How can I stand on the ground every day and not
feel its power? How can I live my life stepping on
this stuff and not wonder at it?*

W. B. Logan

*Soils are home to more than 25% of the
earth's total biodiversity.*

Elizabeth M. Bach

Agradecimientos

En primer lugar, me gustaría agradecer a Sara por haberme guiado en este proceso y por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo. En segundo lugar, quería dar las gracias a Paco, por todo el tiempo que me ha dedicado tanto con el Trabajo de Final de Máster como con la memoria de Prácticas Externas. También quería agradecerle sobre todo el haberme transmitido y despertado durante el máster el interés por la importancia que tienen los suelos en los ecosistemas. Creo que este es el gran reto que tienen los profesores, generar inquietudes en sus alumnos para que quieran seguir aprendiendo fuera de sus aulas y Paco lo ha conseguido con creces. ¡Muchas gracias!

En tercer lugar, dar gracias infinitas a Nadal, María y Marta. Llegué un día de finales de septiembre de hace casi dos años a Tenerife, con unas cuantas maletas y todo por conocer, y ellos se convirtieron en mi familia tinerfeña. Mil gracias por haber hecho todo lo complicado, infinitamente más fácil; y por hacer de lo bonito, mil veces más hermoso. Espero que nos sigamos reencontrando allí donde fuere. ¡Os quiero, gracias por todo Tarentolas!

También, agradecer a Irene toda su ayuda. Empezamos juntas la carrera y aquí seguimos la una al lado de la otra, acompañándonos en todas nuestras nuevas aventuras.

Además, quería agradecer a mi familia todo el apoyo incondicional que siempre me dan en todas las decisiones que voy tomando a lo largo del camino. En especial, gracias a la Baba Carme y a l'Avi Lluís. Ellos siempre tan orgullosos de mí, cuando el orgullo es mío de ser su nieta. *Sempre amb nosaltres, avi.*

Gainera, mila esker, Ander. Eskerrik asko por ser mi faro, por saber mostrarme el camino cuando me siento perdida, por llenarme de fuerza de voluntad cuando a mí me falta y, por ser, en definitiva, mi mejor compañero de viaje y de vida. *Askó maite zaitut.*

Finalmente, agradecer también al destino que hizo que pudiera hacer un Trabajo de Final de Máster vinculado a Islandia, esta isla mágica *in the middle of nowhere* donde tan feliz he sido y en la cual, tal y como alguien me dijo una vez, siempre se vuelve. *Takk fyrir!*

"I quan les brises primaverals bufen a la vall; quan el sol de primavera brilla sobre l'herba seca de l'any passat que cobreix les vores del riu, i sobre el llac, i sobre els dos cignes blancs del llac, i fa sortir amb els seus afalacs l'herba nova del terra esponjós dels pantans..., qui es creuria en un dia així que aquesta vall verda i pacífica atresora la història del nostre passat i dels seus espectres?"

Halldór Laxness

Resumen

Los suelos de altas latitudes se caracterizan por tener elevadas reservas de carbono orgánico que pueden contribuir de forma significativa a las emisiones globales de dióxido de carbono (CO₂) debido al calentamiento global y generar así una retroalimentación positiva al cambio climático. Aunque las pérdidas de C en los suelos nórdicos debidas al calentamiento están bien documentadas en la literatura científica, mucha menos atención se les ha prestado a los potenciales efectos en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno (N). El presente Trabajo de Fin de Máster pretende contribuir al avance del conocimiento sobre los procesos que pueden provocar la pérdida de N en respuesta al aumento de temperaturas en estos ecosistemas. Para ello, se procesaron datos obtenidos mediante la técnica de dilución isotópica (IPD) de muestras de suelos minerales, tomadas estacionalmente, procedentes de praderas subárticas de Islandia, las cuales estuvieron sometidas a un gradiente de temperaturas creciente debido a la actividad geotermal. Tras diez años de calentamiento, las tasas netas de despolimerización y nitrificación no se modificaron con el aumento de la temperatura. Sin embargo, la mineralización disminuyó con el calentamiento en las estaciones más frías. Esto fue consistente con un aumento de la limitación microbiana por N en otoño, que llevó a los microorganismos a aumentar la inmovilización de amonio (NH₄⁺), mientras que en verano esta limitación disminuyó con el calentamiento. Las reservas de N del suelo disminuyeron significativamente con la temperatura, pero no se observaron pérdidas adicionales a partir del quinto año desde el inicio del calentamiento. Los resultados obtenidos sugieren que el sistema llegó a un nuevo estado estacionario gracias fundamentalmente al papel de los microorganismos en la retención de N, particularmente durante las estaciones frías, justo cuando la vegetación está inactiva y no absorbe el N liberado de la materia orgánica (MO). Así, preservar la integridad de los microorganismos edáficos es de vital importancia para evitar la pérdida de nutrientes y garantizar la estabilidad y la resiliencia de los ecosistemas nórdicos frente al cambio climático.

Palabras clave: cambio climático; ciclos biogeoquímicos; microbiota edáfica; despolimerización; nitrificación; mineralización

Listado de abreviaturas

Tabla 1. Listado de abreviaturas por orden de aparición

MO	Materia orgánica
COS	Carbono orgánico del suelo
CO₂	Dióxido de carbono
C	Carbono
N	Nitrógeno
AA	Aminoácidos
NH₄⁺	Amonio
NO₂⁻	Nitrito
NO₃⁻	Nitrato
N₂	Gas nitrógeno
N₂O	Óxido nitroso
TFM	Trabajo final de Máster
IPD	Dilución isotópica
K₂SO₄	Sulfato de potasio
DOC	Carbono orgánico disuelto
DON	Nitrógeno orgánico disuelto
C_{mic}	Carbono de la biomasa microbiana
N_{mic}	Nitrógeno de la biomasa microbiana
TN	Nitrógeno total

Contribución específica de la estudiante

Los muestreos de campo y análisis de laboratorio fueron llevados a cabo por la Dra. Sara Marañón Jiménez y su equipo a lo largo de los años 2017 y 2018. La contribución de la alumna de Máster en el presente estudio ha consistido en el procesamiento de los datos, el cálculo de diferentes índices bioquímicos, la realización de análisis estadísticos y la redacción de la presente memoria.

Índice

1. Introducción	9
2. Objetivo e hipótesis	14
3. Materiales y métodos.....	15
3.1. Zona de estudio.....	15
3.2. Diseño experimental	17
3.3. Muestreo del suelo	17
3.4. Análisis de los parámetros del suelo.....	17
3.4.1. Despolimerización, mineralización y nitrificación	17
3.4.2. Carbono y nitrógeno orgánicos disueltos y microbianos	18
3.5. Cálculos y análisis estadístico	18
3.5.1. Cálculos.....	19
3.5.2. Análisis estadístico	20
4. Resultados.....	21
4.1. Despolimerización de proteínas.....	21
4.2. Nitrificación	22
4.3. Mineralización.....	23
4.3.1. Consumo bruto de amonio	24
4.3.2. Producción bruta de amonio.....	25
4.4. Limitación relativa por N de las comunidades microbianas	26
4.5. Reservas de nitrógeno.....	27
4.6. Tabla resumen de los resultados obtenidos.....	28
5. Discusión.....	29
6. Conclusiones	33
7. Bibliografía.....	34

1. Introducción

Los suelos de altas latitudes se caracterizan por tener una descomposición de la materia orgánica (MO) ralentizada debido a las bajas temperaturas (Hobbie et al., 2000; Jeyakumar et al., 2020). Estos suelos son especialmente vulnerables al calentamiento global, puesto que un incremento significativo de la temperatura podría aumentar drásticamente la actividad biológica de las comunidades microbianas y acelerar los procesos de descomposición de la MO almacenada (Smith et al., 2015; Crowther et al., 2016). Esto produciría pérdidas del carbono orgánico del suelo (COS) debidas a que la tasa de respiración de los microorganismos edáficos está correlacionada con la temperatura, estimulando así una mayor emisión de dióxido de carbono (CO_2) a la atmósfera y una retroalimentación positiva al cambio climático (Bardgett et al., 2008; Mcguire et al., 2009; Walker et al., 2018). Si bien las relaciones entre temperatura y el ciclo biogeoquímico del carbono (C) han sido ampliamente abordadas en la literatura científica (Crowther et al., 2016), mucha menos importancia se le ha prestado a los potenciales efectos del cambio climático en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno (N), efectos que pueden ser especialmente relevantes en los suelos de los ecosistemas nórdicos.

El ciclo biogeoquímico del N en los suelos implica una serie de procesos que transforman el N orgánico en N inorgánico y viceversa (Figura 1), y que están fundamentalmente catalizados por microorganismos (Hayatsu et al., 2008). La despolimerización es la conversión de compuestos nitrogenados complejos, como las proteínas, en compuestos nitrogenados más simples, como los aminoácidos (AA). La mineralización es el proceso mediante el cual la MO nitrogenada es degradada y transformada en amonio (NH_4^+) por la acción de los microorganismos. La nitrificación convierte el NH_4^+ en nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-), que son, además del NH_4^+ , formas inorgánicas de N disponibles para las plantas. La desnitrificación es la reducción del NO_3^- a gas nitrógeno (N_2) y óxido nitroso (N_2O), lo que resulta en la pérdida de N del suelo (Van Groenigen et al., 2015; Stein y Klotz, 2016).

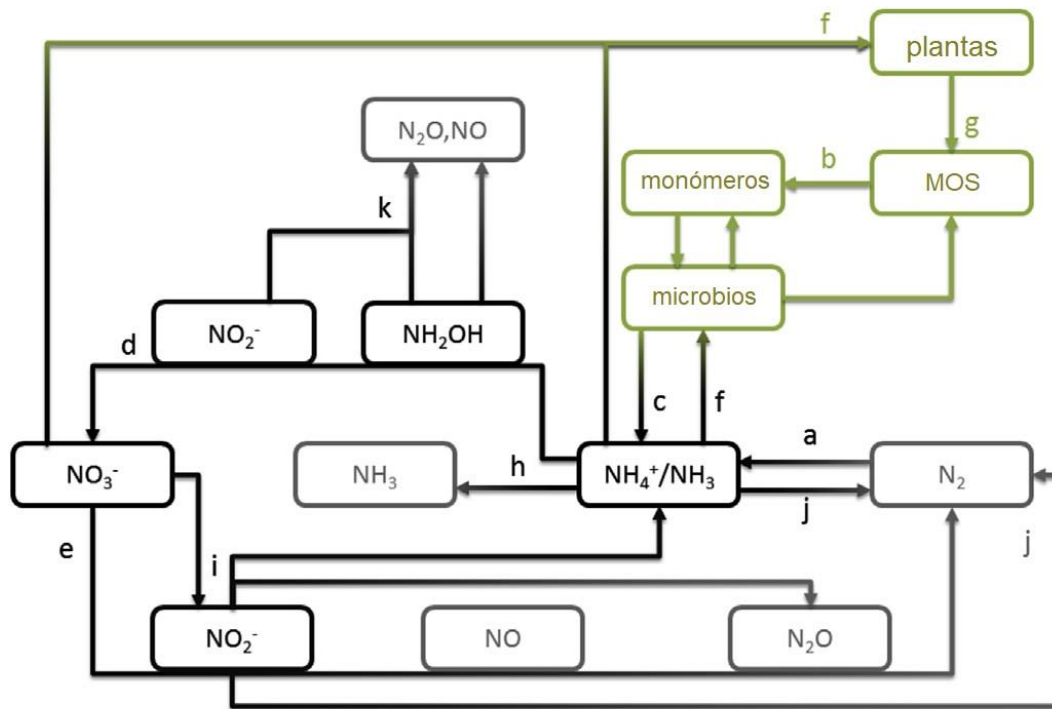


Figura 1. Ciclo del nitrógeno. Procesos implicados en el ciclo del nitrógeno (N) en los ecosistemas terrestres: a) fijación biológica del nitrógeno atmosférico (N_2), b) despolimerización, c) mineralización, d) nitrificación, e) desnitrificación, f) inmovilización y absorción por las plantas, g) senescencia, h) volatilización, i) reducción desasimilatoria del nitrato a amonio, j) oxidación anaeróbica del amonio, k) producción abiótica de N_2O . Los compuestos de N del suelo se muestran en negro, los compuestos gaseosos en gris y el N orgánico en verde. MOS: materia orgánica del suelo; NH_4^+ : amonio; NH_3 : amoníaco; N_2 : gas nitrógeno; N_2O : óxido nitroso; NO: monóxido de nitrógeno; NO_2^- : nitrito; NO_3^- : nitrato; NH_2OH : oxiamoníaco. Adaptada de Denk et al. (2017)

El ciclo del N es crucial para la productividad y la conservación de la biodiversidad de los ecosistemas, ya que el N suele ser un factor limitante para el crecimiento de las plantas (Morgan y Connolly, 2013) y la producción de biomasa (Galloway et al., 2008). Además, la disponibilidad de N en el suelo puede influir en la diversidad y composición de las comunidades de microorganismos (Frey et al., 2004; Fierer et al., 2012; Yang et al., 2020) micro- meso- y macroinvertebrados edáficos (Neher et al., 2012). Sin embargo, la actividad microbiana y, por tanto, los procesos de transformación del N son muy sensibles a los cambios en la temperatura y la disponibilidad de agua (Greaver et al., 2016), lo que hace que el N de los suelos de las regiones nórdicas pueda verse afectado por el cambio climático.

Diversos estudios demuestran que en altas latitudes, debido a las bajas temperaturas, existe una desaceleración de todo el ciclo del N, en especial de las tasas de mineralización y de despolimerización (considerado este último el paso limitante del ciclo), lo que produce una ralentización del crecimiento de la vegetación (Hobbie et al.,

2002; Schimel y Bennett, 2004; Todd-Brown et al., 2013). Sin embargo, modelos de cambio climático predicen una mayor mineralización del N con el calentamiento global, debido, como se ha comentado, al aumento de la actividad microbiana, lo que resultaría en una mayor liberación de éste en forma de NH_4^+ y NO_3^- y, por tanto, se produciría un incremento de su disponibilidad para las plantas (Rustad et al., 2001; Dormann y Woodin, 2002; Wu et al., 2011).

La biomasa microbiana del suelo desempeña un papel fundamental en la estabilización del COS y también como reservorio de N a corto, medio y largo plazo (Liang et al., 2017). Gran parte de las reservas de N en ecosistemas de regiones frías se encuentra en forma orgánica, contenido dentro de la biomasa microbiana formando parte de proteínas intracelulares, de la pared celular o de los ácidos nucleicos (Geisseler et al., 2010). Esta retención de N es crucial en ecosistemas de altas latitudes, ya que la vegetación sufre períodos de latencia o senescencia debido al corto fotoperiodo y a las bajas temperaturas que disminuyen la absorción de N por parte de las plantas (Bardgett et al., 2005; Séneca et al., 2021). Es por ello por lo que esta forma de almacenaje es de vital importancia para minimizar las pérdidas potenciales de N del sistema (Kaiser et al., 2011).

El ensamblaje entre los ciclos biogeoquímicos de C y N es especialmente estrecho en los ecosistemas nórdicos (Marañón-Jiménez et al., 2019). Aunque el suelo es el mayor reservorio de C en los ecosistemas terrestres, se ha demostrado que las comunidades microbianas edáficas están limitadas principalmente por el COS en los suelos minerales (Lehmann y Kleber, 2015). Dicha limitación se debe a que la mayor parte de los microorganismos edáficos son heterótrofos y, por tanto, necesitan C tanto como fuente de energía como para construir sus estructuras celulares (Soong et al., 2020). Además, esta limitación de C también es debida a la protección física y química de la MO que se encuentra asociada a la matriz mineral del suelo (Lehmann y Kleber, 2015).

De acuerdo con la teoría estequiométrica ecológica, los microorganismos del suelo regulan su composición elemental reteniendo los elementos que se encuentran en concentraciones limitantes y liberando los que están en exceso (Sturner y Elser, 2003). Por ello, los microorganismos edáficos ajustan sus actividades metabólicas en función de la disponibilidad relativa de ambos nutrientes en el suelo. Así, si hay una menor disponibilidad de N, los microorganismos tienden a inmovilizar el N contenido en la MO (asegurando así una cantidad suficiente para su metabolismo y crecimiento) y a liberar el C, con lo cual, habría menos N disponible para las plantas. Por contra, si hay un exceso relativo de N disponible, los microorganismos tienden a liberarlo a través de la

mineralización y, en cambio, van a tender a inmovilizar el C (Mooshammer et al., 2014; Li et al., 2021).

Por tanto, la limitación constante de C en los microorganismos de los suelos minerales implica que estos utilicen la MO principalmente como fuente de C y que liberen el N en exceso mediante la mineralización. Así, la liberación de N predomina frente a la inmovilización en muchos suelos minerales de altas latitudes (Mooshammer et al., 2014). El calentamiento de los suelos árticos debido al cambio climático implicaría que la limitación de C en los microorganismos se vería potenciada debido al aumento de la respiración microbiana y, en consecuencia, se esperaría también un incremento de las tasas de mineralización de N.

Tal y como se ha introducido anteriormente, los modelos actuales de cambio climático global predicen que el aumento de temperatura producirá un incremento de las tasas de transformación microbiana de N en los suelos nórdicos y la consiguiente liberación al suelo de formas de N asimilables para las plantas (Rustad et al., 2001; Dormann y Woodin, 2002; Wu et al., 2011). Con ello, se aliviarían las limitaciones de N para la vegetación y, por lo tanto, se esperaría una mayor producción de biomasa vegetal que, a su vez, incrementaría la fijación de C a través de la fotosíntesis contribuyendo al reservorio de COS (Melillo et al., 2002; Elbasiouny et al., 2022). Este proceso podría compensar, al menos parcialmente, las pérdidas de C asociadas a las tasas aceleradas de respiración microbiana. Sin embargo, estas predicciones se mantienen bajo el supuesto de un ciclo del N cerrado con ausencia de pérdidas de N y de que la vegetación tenga la capacidad de beneficiarse de este nutriente. No obstante, como ocurre en algunas ocasiones con diferentes procesos ecológicos, los modelos teóricos presentan ciertas discrepancias con lo observado hasta el momento (Leblans, 2016; Todd-Brown et al., 2013; Marañón-Jiménez et al., 2019).

Las regiones geotérmicamente activas de Islandia proporcionan gradientes de temperatura del suelo amplios, estables y continuos (Sigurdsson et al., 2016) que cubren todos los escenarios de calentamiento proyectados por el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático para las regiones de altas latitudes (IPCC, 2021). Esto hace posible evaluar respuestas no lineales al calentamiento del suelo y derivar predicciones realistas para los procesos biogeoquímicos del mismo. En un estudio previo en el que se utilizó como modelo los gradientes geotermiales de los suelos islandeses se demostró que el aumento de temperatura, además de provocar pérdidas de C debido al aumento de la mineralización de la MO (Marañón-Jiménez et al., 2018), también incrementó la pérdida neta de N del suelo (Marañón-Jiménez et al., 2019). Sin embargo, contrariamente a lo que predicen la mayoría de los modelos de ecosistemas,

la vegetación no se vio beneficiada por el N liberado a temperaturas más altas (Todd-Brown et al., 2013). Además, el calentamiento tampoco afectó a la relación C:N del suelo, lo que indica que las pérdidas de estos dos elementos en el suelo fueron proporcionales (Marañón-Jiménez et al., 2019).

Las pérdidas de N del suelo pueden afectar a la biodiversidad edáfica a distintos niveles. Por un lado, se podría ver alterada la proporción relativa de hongos y bacterias (Rousk y Bååth, 2007; Meidute et al., 2008; Kamble y Bååth, 2016). Por otro lado, la abundancia de algunos grupos de microorganismos edáficos podría verse disminuida, ya que estos dependen del N para su crecimiento (Zhang et al., 2019). En consecuencia, se podrían potencialmente ver afectadas tanto las poblaciones de fauna edáfica del sistema, debido principalmente a que la biomasa microbiana del suelo constituye la base de las cadenas tróficas en los ecosistemas terrestres (Scheu, 2002; Crotty et al., 2012; Zhu et al., 2021); como las plantas, ya que los microorganismos edáficos son los encargados de liberar nutrientes en formas disponibles para las plantas e influyen indirecta y directamente en la productividad, diversidad y composición de las comunidades vegetales (Van Der Heijden et al., 2008).

Considerando lo expuesto anteriormente y reconociendo la falta de estudios acerca de los posibles efectos del calentamiento global en el ciclo del N en latitudes altas, este Trabajo de Fin de Máster (TFM) pretende contribuir al avance del conocimiento sobre los procesos que provocan la pérdida de N en el suelo en respuesta al aumento de temperaturas en suelos minerales de praderas en Islandia. Los resultados obtenidos podrían ser de gran utilidad para predecir posibles cambios en los ciclos biogeoquímicos de diversos ecosistemas nórdicos, teniendo en cuenta los escenarios climáticos proyectados y las consecuencias potenciales para la biodiversidad.

2. Objetivo e hipótesis

El objetivo del presente trabajo fue evaluar cómo afecta el aumento de la temperatura al ciclo biogeoquímico del N en suelos minerales subárticos de Islandia. De igual forma se pretendió identificar cuáles son los mecanismos que están involucrados en las potenciales pérdidas de N del suelo en ese contexto. Para ello, se analizaron y procesaron datos obtenidos mediante la técnica de dilución isotópica (IPD) a partir de suelos de praderas expuestas a un rango creciente de temperaturas durante diez años debido a la actividad geotermal.

La hipótesis de trabajo es que el calentamiento del suelo producirá una pérdida de N debido fundamentalmente a un aumento neto de las tasas de transformación del N a mayores temperaturas y a la incapacidad del sistema de retener el N liberado. Además, se espera que dicha pérdida de N sufra cambios estacionales, de manera que en las épocas más frías se produzca una mayor retención de N por parte de los microorganismos edáficos.

3. Materiales y métodos

3.1. Zona de estudio

Los suelos evaluados en este estudio, clasificados como Andosoles (WRB, 2022) presentan una textura franco-limosa. Las muestras de suelos se recogieron en las parcelas experimentales ForHot de la zona geotérmica de Hengil, a 40 km al este de Reikjavik, Islandia ($64^{\circ}00'01''N$, $21^{\circ}11'09''W$; 83-168 m s.n.m.) (Figura 2). Las características de esta área han sido descritas en detalle por Sigurdsson et al. (2016). El clima es oceánico subpolar, con oscilaciones anuales de temperatura relativamente bajas y precipitaciones abundantes durante todo el año. La temperatura media anual del aire en el sitio de estudio fue de aproximadamente $5,1^{\circ}C$. En 2016 las temperaturas medias de los meses más cálidos y fríos en la localidad vecina de Eyraðakki, donde se encuentra la estación sinóptica más cercana (9 km al sur de Hveragerði), fueron de $-12,3^{\circ}C$ y $21,6^{\circ}C$, respectivamente, la precipitación media anual del mismo año fue de 1153 mm (Icelandic Meteorological Office, 2016).

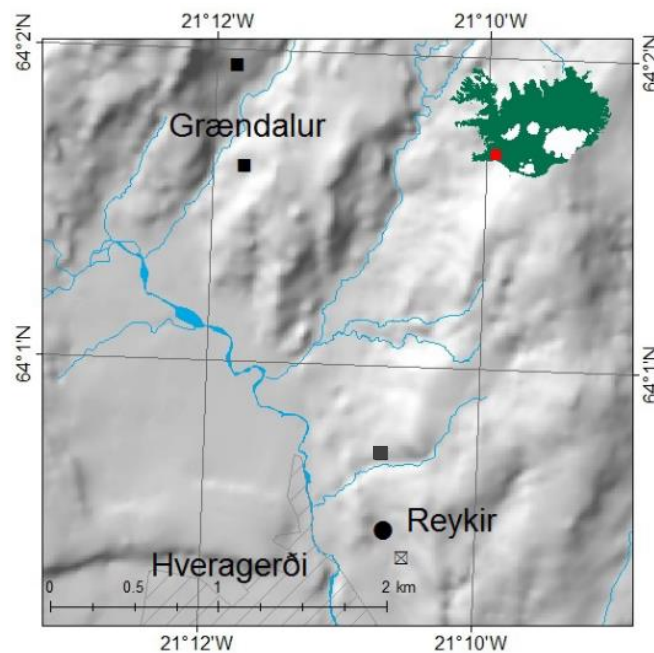


Figura 2. Localización del sitio de estudio ForHot en el sur de Islandia. El cuadrado con la cruz (⊠) representa la zona de muestreo del presente estudio. El área sombreada representa el pueblo de Hveragerði. Figura adaptada de Sigurdsson (2016)

La temporada de crecimiento de la vegetación comienza normalmente a finales de mayo y termina a finales de agosto. La capa de nieve no es permanente durante el invierno debido al suave clima oceánico, pero el suelo suele congelarse durante al menos dos meses en pleno invierno. La vegetación está dominada por *Agrostis capillaris*, *Ranunculus acris* y *Equisetum pratense*, todas ellas especies perennes con partes aéreas efímeras que vuelven a crecer cada año a partir de tallos subterráneos o rizomas. Esta área había sido aprovechada en el pasado para pastoreo de baja intensidad con ovejas, pero esta práctica se abandonó en la década de 1970 (Sigurdsson et al., 2016) (Figura 3).



Figura 3. Fotografías del sitio de estudio (ForHot) en el sur de Islandia. La imagen de la izquierda fue tomada en verano (agosto de 2017) y la de la derecha en primavera (junio de 2018).

El suelo de la zona ha estado sometido al calentamiento desde mayo de 2008 debido a la actividad geotermal, cuando un terremoto, de magnitud 6,3 en la escala de Richter originado en el sur de la isla, desplazó los sistemas geotérmicos a zonas que antes no estaban afectadas por el calentamiento. Las aguas subterráneas a altas temperaturas calentaron el lecho rocoso subyacente y salieron a la superficie a lo largo de fallas en la corteza terrestre. Las temperaturas del suelo son más altas cerca de estas fallas y disminuyen perpendicularmente con la distancia a las mismas (Marañón-Jiménez et al., 2019). No se encontraron signos de contaminación del suelo por subproductos geotérmicos, como el azufre intercambiable (Sigurdsson et al., 2016).

3.2. Diseño experimental

En 2012 se establecieron cinco transectos, cada uno de los cuales comprendía temperaturas medias anuales del suelo (en los 10 cm superiores) entre -0,03 y +7,01 °C por encima de la temperatura ambiente. En cada transecto, se establecieron 3 parcelas de 0,5x0,5 m con temperaturas del suelo contrastadas para el muestreo del suelo (n = 3 parcelas x 5 transectos = 15 parcelas) (Marañón-Jiménez et al., 2019). La temperatura del suelo se monitorizó cada hora a 10 cm de profundidad mediante Data Loggers HOBO TidbiT v2 (Onset Computer Corporation, Bourne, EE. UU.).

3.3. Muestreo del suelo

Se realizaron muestreos estacionales en verano (agosto de 2017), otoño (noviembre de 2017), época de deshielo (abril de 2018) y primavera (junio de 2018), en los cuales se tomaron muestras de la capa superficial del suelo (0 - 10 cm). Las muestras fueron tamizadas en fresco utilizando tamices de 2 mm de luz de malla para excluir los fragmentos gruesos y las raíces, y se almacenaron inmediatamente a 4°C. Posteriormente, las muestras fueron procesadas en el *Terrestrial Ecosystem Laboratories* (Universidad de Viena, Austria) donde se incubaron a la misma temperatura a la que estaban en campo.

3.4. Análisis de los parámetros del suelo

3.4.1. Despolimerización, mineralización y nitrificación

Las tasas de transformación del N por los microorganismos edáficos a lo largo de los gradientes de temperatura del suelo se analizaron mediante la técnica de IPD. Esta técnica se basa en la adición de cantidades conocidas de un elemento o compuesto enriquecido isotópicamente y la posterior medida de las relaciones isotópicas (Di et al., 2000). En este caso, se añadieron sustratos enriquecidos isotópicamente en ^{15}N a las muestras de suelo (AA para la despolimerización de proteínas, NH_4^+ para la mineralización bruta y NO_3^- para la nitrificación bruta). Los flujos de transformación de N se calcularon a partir de los cambios de concentración y composición isotópica entre dos puntos temporales (Figura 4). Las tasas de despolimerización de proteínas se evaluaron con la técnica ^{15}N -AA IPD detallada por Wild et al. (2013), la mineralización bruta de N y la absorción de NH_4^+ se evaluaron con la técnica ^{15}N - NH_4^+ IPD explicada con detalle por Kaiser et al. (2011), y la nitrificación bruta y la absorción de NO_3^- con la técnica ^{15}N - NO_3^- IPD detallada por Aldén et al. (2001).

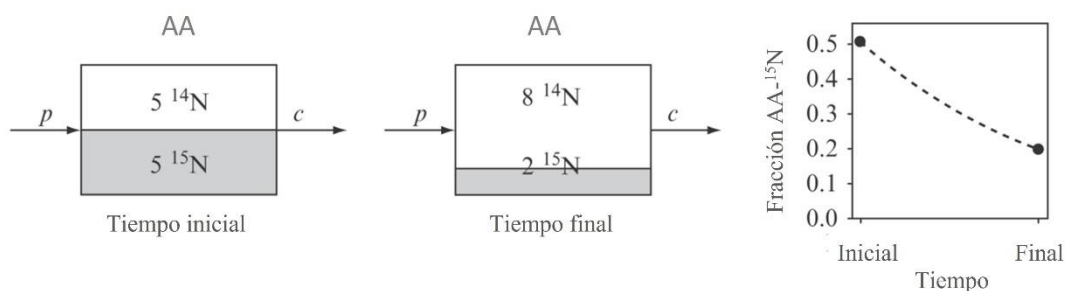


Figura 4. Técnica de dilución isotópica (IPD). Representación esquemática del funcionamiento de la técnica de dilución isotópica para la determinación de la despolimerización de proteínas (^{15}N -AA). Para medir la cinética de la despolimerización bruta de proteínas y la inmovilización microbiana de aminoácidos (AA) la reserva de AA libres se marca mediante la adición de AA enriquecidos con ^{15}N (tiempo inicial), y se cuantifica la subsiguiente disminución (tiempo final) y el cambio en la concentración de AA libres. Figura basada según Wanek et al. (2010)

3.4.2. Carbono y nitrógeno orgánicos disueltos y microbianos

Dentro de las 24 h siguientes al muestreo, una submuestra de 7 g de suelo fresco se agitó en una solución de sulfato de potasio (K_2SO_4) 0.5 M en una proporción 1:5 (peso:volumen), la cual extrae la porción de C y N más soluble del suelo. El extracto se filtró con un filtro Watmann, y de la solución resultante se determinó el carbono orgánico disuelto (DOC) y el nitrógeno orgánico disuelto (DON). El C y N en la biomasa microbiana se determinó con la técnica de fumigación-extracción (Jenkinson y Powlson, 1976). Para ello, una submuestra de suelo fresco similar a la anterior fue fumigada durante 24 h con cloroformo para romper las membranas celulares de los microorganismos y a continuación, fue extraída de manera similar con K_2SO_4 0.5 M. El carbono de la biomasa microbiana (C_{mic}) y el nitrógeno microbiano (N_{mic}) total se calcularon como la diferencia de $\text{DOC}_{\text{K}_2\text{SO}_4}$ y nitrógeno total ($\text{TN}_{\text{K}_2\text{SO}_4}$) entre las submuestras fumigadas y no fumigadas, respectivamente. Todos los análisis se realizaron mediante detección colorimétrica con un analizador de flujo continuo San ++ (Skalar Analytical B.V, Breda, Países Bajos).

3.5. Cálculos y análisis estadístico

Los cálculos fueron realizados con el programa Excel Office 16 (Microsoft Excel, Jones, Chicago, USA). Los gráficos se realizaron con el *software* RStudio (versión 2022.07.2+576) (RStudio Team, Boston, MA, EE. UU.), utilizando el paquete ggplot2 (Wickham, 2016). Para el análisis estadístico se utilizaron los *softwares* GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, La Jolla, California, USA) y RStudio (versión 2022.07.2+576) (RStudio Team, Boston, MA, EE. UU.).

3.5.1. Cálculos

Para la determinación del calentamiento del suelo de cada parcela, primero se calculó la temperatura media de las parcelas a temperatura ambiente durante las dos semanas previas al muestreo. A continuación, se restó dicho valor a la temperatura media de cada parcela.

En los tres procesos principales del ciclo del N (despolimerización de proteínas, nitrificación y mineralización) se ha calculado el balance neto (diferencia entre producción y consumo brutos) y se ha estandarizado dividiendo la tasa neta por la biomasa microbiana, para determinar cómo afecta la temperatura a los microorganismos a nivel fisiológico. También se han estandarizado por la biomasa microbiana la producción y el consumo brutos de NH_4^+ .

La limitación relativa por N de las comunidades microbianas se calculó a partir del desbalance estequiométrico de C:N entre los depósitos orgánicos más disponibles del suelo y la biomasa microbiana según Mooshammer et al., (2014):

$$\text{Limitación relativa por N de las comunidades microbianas} = \frac{\text{DOC} / \text{DON}}{\text{Cmic} / \text{Nmic}} \quad (1)$$

La ratio resultante es un indicador de la limitación que tienen los microorganismos por N con relación a la necesidad de C. Así, si la limitación relativa por N es > 1 existe una mayor limitación por N que por C, ya que hay más C disponible del que necesitan los microorganismos; por el contrario, si la limitación relativa por N es < 1 existe una menor limitación por N, ya que tendrán más N disponible, y una mayor limitación por C.

Las reservas de N del suelo (expresadas en kg ha^{-1}) se calcularon con el objetivo de compararlas al cabo de cinco y diez años después del inicio del calentamiento. Para ello, se utilizaron datos obtenidos anteriormente por el grupo de investigación: año 2013 (cinco años después del inicio del calentamiento) y año 2018 (diez años después del inicio del calentamiento). Las reservas de N fueron calculadas a partir de los primeros 10 cm teniendo en cuenta: la densidad aparente (expresada en kg m^{-3}), la cual se utilizó para obtener el peso (kg) correspondiente al volumen de cada horizonte; el peso de tierra fina (el cual se obtuvo de restar previamente el porcentaje de pedregosidad del peso total del horizonte); y, por último, la concentración de N de cada parcela. Se debe tener en cuenta que se utilizó la misma densidad aparente para el cálculo de ambos años.

3.5.2. Análisis estadístico

Las condiciones de normalidad y de homogeneidad de varianza fueron evaluadas con los test de Shapiro-Wilk y Levene's, respectivamente. Debido a que en ningún caso se cumplieron ambas condiciones a la vez, la relación entre la variable estudio y el calentamiento del suelo se evaluaron mediante la correlación rho de Spearman (r) considerando significativos los valores $P \leq 0,05$ (Bishara y Hittner, 2017). Se aplicó dicho test estadístico a los datos separando por estación y, también, a la totalidad de los datos sin hacer distinción estacional. Para analizar si el efecto de la temperatura (calentamiento) sobre las reservas de N difería entre los años, se aplicó un análisis de la covarianza (ANCOVA), con la temperatura (calentamiento) como variable continua, año como factor fijo y la interacción entre calentamiento y año. La existencia de significación estadística entre la variable de estudio y la variable calentamiento se representa en los gráficos con la presencia de la línea de tendencia.

4. Resultados

4.1. Despolimerización de proteínas

No se observó una correlación estadísticamente significativa entre la despolimerización neta de proteínas por unidad de biomasa microbiana y el calentamiento del suelo, en ninguna de las tres estaciones analizadas: verano (coeficiente de correlación de Spearman (r) = 0,018; P = 0,967), otoño (r = 0,236; P = 0,396) y primavera (r = 0,137; P = 0,576) (Figura 5). Tampoco alcanzó la significación estadística cuando se analizaron conjuntamente los datos de las tres estaciones (r = 0,071; P = 0,642).

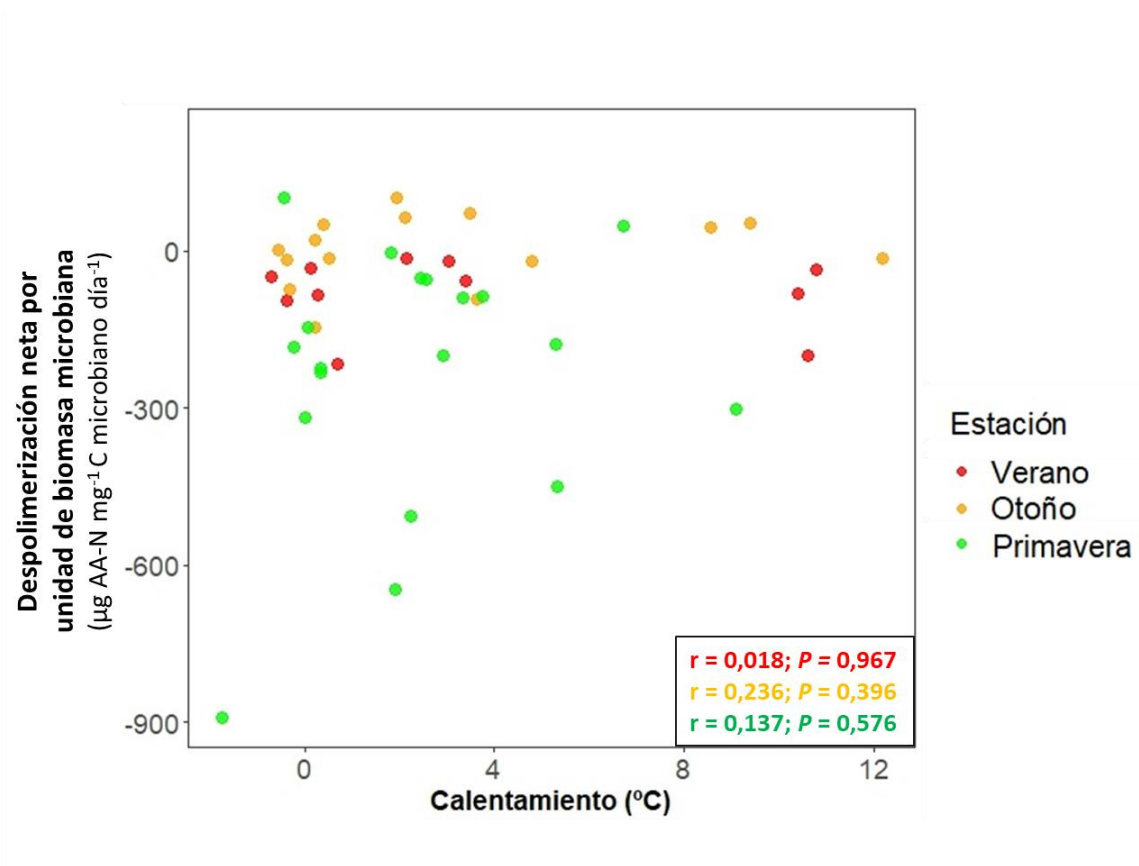


Figura 5. Valores de despolimerización neta por unidad de biomasa microbiana ($\mu\text{g AA-N mg}^{-1} \text{C microbiano día}^{-1}$) respecto el calentamiento del suelo ($^{\circ}\text{C}$), en las estaciones de verano (rojo), otoño (naranja) y primavera (verde).

4.2. Nitrificación

Al igual que ocurrió con la despolimerización, no se obtuvo una correlación estadísticamente significativa entre la nitrificación neta por unidad de biomasa microbiana y el calentamiento del suelo en ninguna de las cuatro estaciones analizadas: verano ($r = 0,166$; $P = 0,551$), otoño ($r = -0,037$; $P = 0,903$), época de deshielo ($r = 0,283$; $P = 0,325$) y primavera ($r = 0,150$; $P = 0,593$) (Figura 6). Igualmente, la correlación no fue significativa cuando se analizaron los datos de las cuatro estaciones en conjunto ($r = 0,169$; $P = 0,202$).

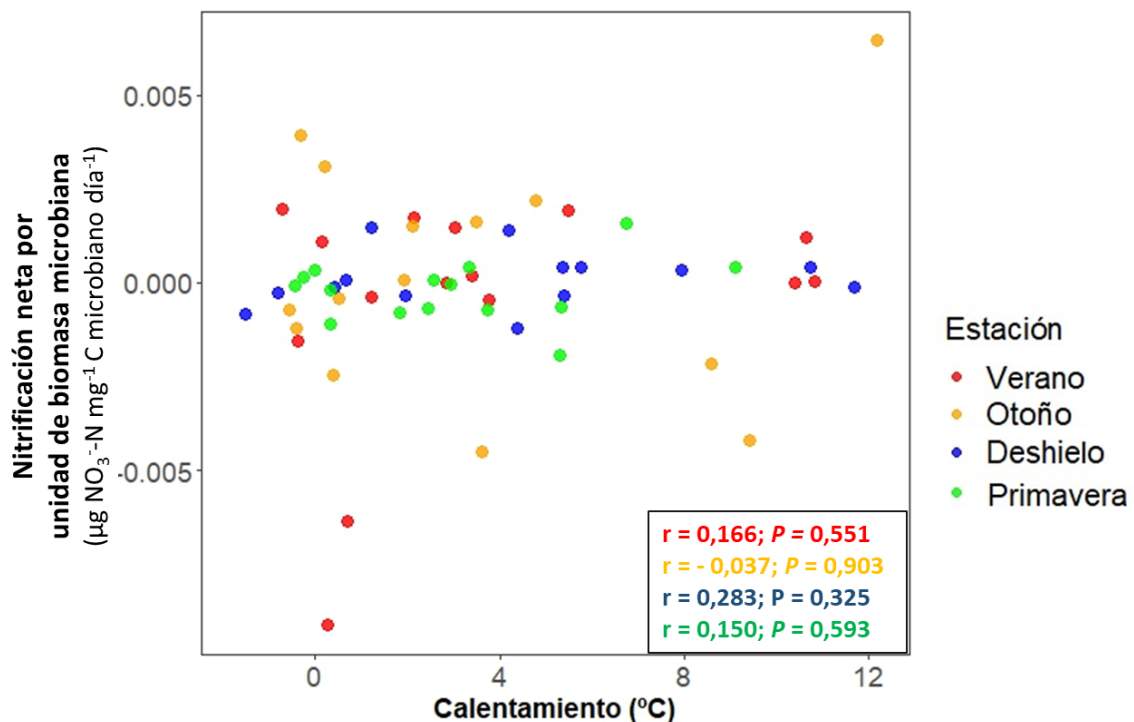


Figura 6. Valores de nitrificación neta por unidad de masa microbiana ($\mu\text{g NO}_3\text{-N mg}^{-1}\text{ C microbiano día}^{-1}$) respecto al calentamiento del suelo ($^{\circ}\text{C}$), en las estaciones de verano (rojo), otoño (naranja), deshielo (azul) y primavera (verde).

4.3. Mineralización

En este caso, se determinó una correlación negativa estadísticamente significativa de la mineralización neta por unidad de biomasa microbiana con el calentamiento del suelo, en el análisis del conjunto de datos de las cuatro estaciones (Total) ($r = -0,482$; $P < 0,0001$) (Figura 7). Es decir, a medida que aumenta la temperatura del suelo disminuye la mineralización, y, por tanto, decrece la tasa de liberación de N en forma de NH_4^+ por parte de los microorganismos. En el análisis de las estaciones por separado se observa que las estaciones de otoño ($r = -0,807$; $P = 0,0005$) y de deshielo ($r = -0,636$; $P = 0,013$) presentaron una correlación negativa estadísticamente significativa con el calentamiento del suelo, mientras que en las estaciones de verano ($r = -0,129$; $P = 0,648$) y primavera ($r = -0,296$; $P = 0,283$) no fue significativa.

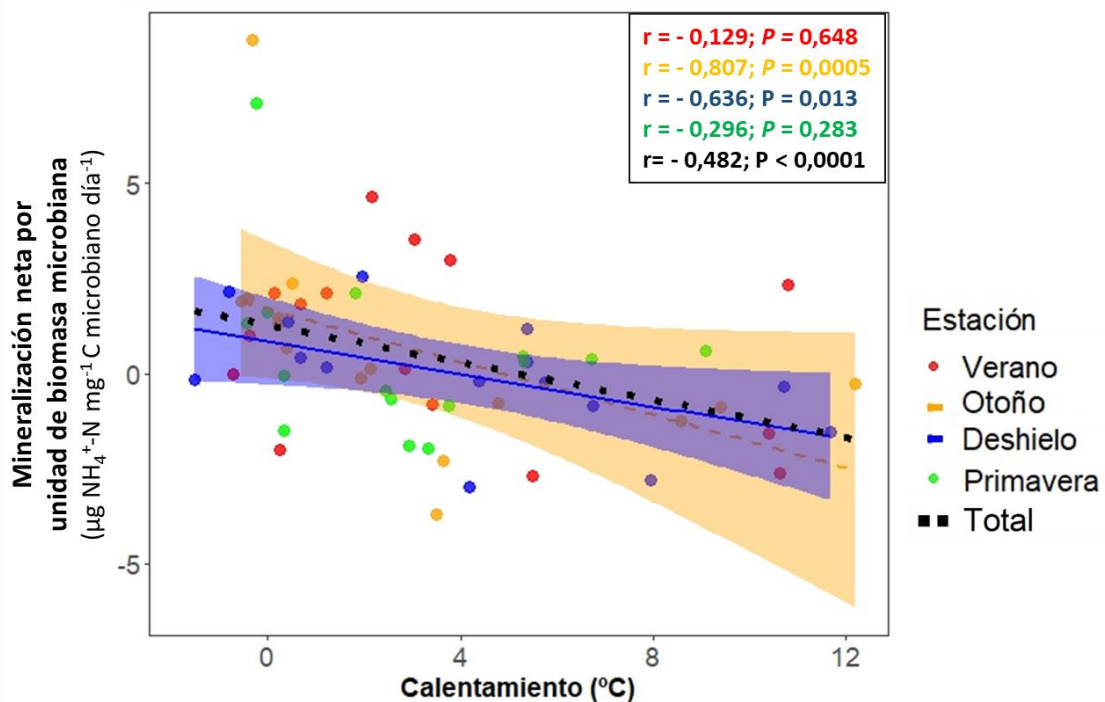


Figura 7. Valores de mineralización neta por unidad de masa microbiana ($\mu\text{g NH}_4^+\text{-N mg}^{-1}\text{ C microbiano día}^{-1}$) respecto el calentamiento del suelo ($^{\circ}\text{C}$), en las estaciones de verano (rojo), otoño (naranja), deshielo (azul), primavera (verde) y el conjunto de los datos de las cuatro estaciones (negro).

Dado el efecto significativo del calentamiento del suelo sobre la tasa de mineralización neta y con el objetivo de profundizar en los mecanismos fisiológicos que lo generan, se analizó por separado la influencia del calentamiento sobre las tasas de producción y consumo brutos de NH_4^+ :

4.3.1. Consumo bruto de amonio

En el análisis de los datos de las cuatro estaciones juntas (Total), se observó una correlación positiva estadísticamente significativa del consumo bruto de NH_4^+ por unidad de biomasa microbiana con el calentamiento del suelo ($r = 0,486$; $P < 0,0001$) (Figura 8). Es decir, a medida que aumenta la temperatura del suelo aumenta el consumo de NH_4^+ por parte de los microorganismos. En el análisis individual por estaciones se observó que las estaciones de verano ($r = 0,739$; $P = 0,002$), otoño ($r = 0,868$; $P < 0,0001$) y deshielo ($r = 0,575$; $P = 0,027$) fueron las que presentaron una correlación positiva estadísticamente significativa, mientras que en la estación de primavera no se alcanzó la significación estadística ($r = 0,018$; $P = 0,954$).

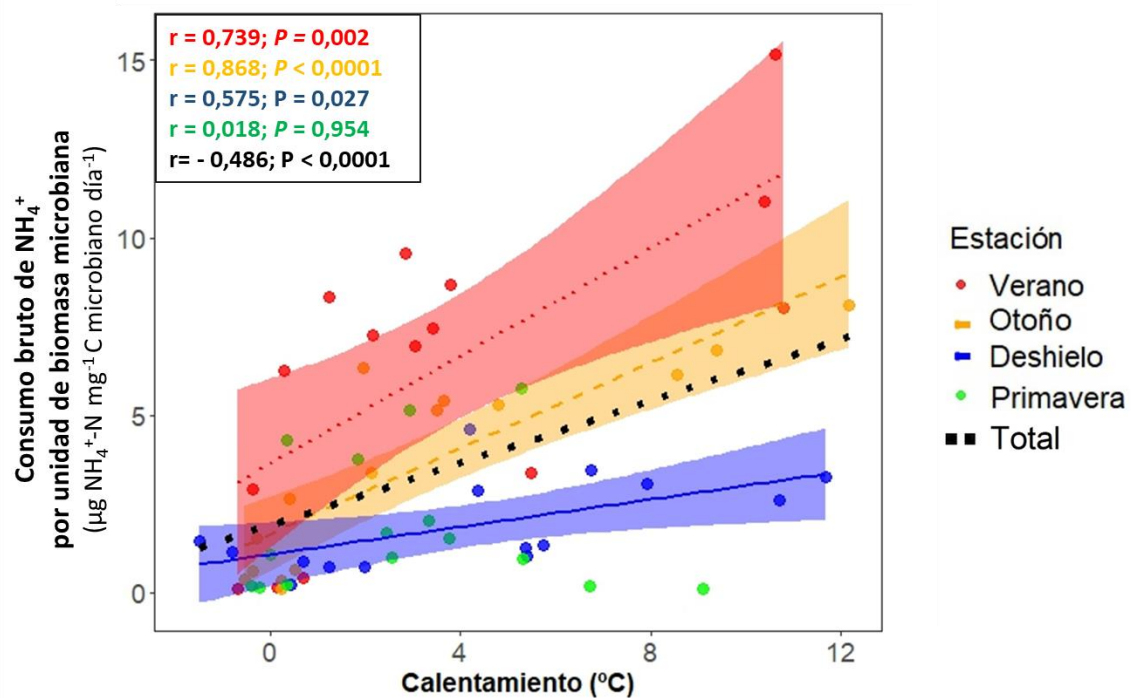


Figura 8. Valores de consumo bruto de amonio (NH_4^+) por unidad de masa microbiana ($\mu\text{g NH}_4^+\text{-N mg}^{-1}\text{ C microbiano día}^{-1}$) respecto el calentamiento del suelo ($^{\circ}\text{C}$), en las estaciones de verano (rojo), otoño (naranja), deshielo (azul), primavera (verde) y el conjunto de los datos de las cuatro estaciones (negro).

4.3.2. Producción bruta de amonio

Durante el verano, se observó una correlación positiva estadísticamente significativa entre la producción bruta de NH_4^+ por unidad de biomasa microbiana y el calentamiento del suelo, como se muestra en la Figura 9 ($r = 0,525$; $P = 0,047$). Esto indica que a medida que aumenta la temperatura del suelo en esta estación, los microorganismos aumentan su producción de NH_4^+ . Sin embargo, en las demás estaciones del año no se han encontrado correlaciones estadísticamente significativas: otoño ($r = 0,443$; $P = 0,100$), época de deshielo ($r = 0,007$; $P = 0,985$) y primavera ($r = -0,307$; $P = 0,265$). Igualmente, la correlación no fue significativa cuando se analizaron los datos de las cuatro estaciones en conjunto ($r = 0,169$; $P = 0,2023$).

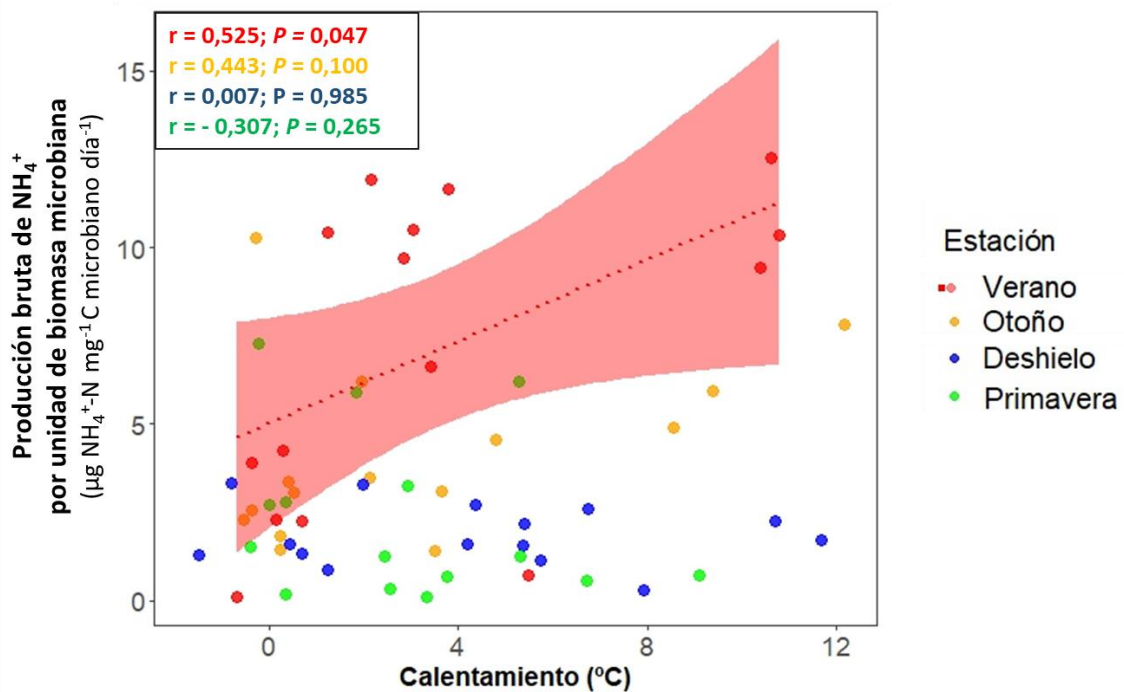


Figura 9. Valores de producción bruta de amonio (NH_4^+) por unidad de masa microbiana ($\mu\text{g NH}_4\text{-N mg}^{-1}\text{ C microbiano día}^{-1}$) respecto al calentamiento del suelo ($^{\circ}\text{C}$), en las estaciones de verano (rojo), otoño (naranja), deshielo (azul) y primavera (verde).

4.4. Limitación relativa por N de las comunidades microbianas

La limitación relativa por N de las comunidades microbianas en otoño presentó una correlación positiva estadísticamente significativa con el calentamiento del suelo ($r = 0,536$; $P = 0,042$) (Figura 10). Es decir, en esta estación los microorganismos se ven más limitados por N a mayores temperaturas y, por lo tanto, tienen una mayor disponibilidad de C. Por el contrario, en verano la limitación relativa por N estuvo negativamente correlacionada con el calentamiento del suelo ($r = - 0,575$; $P = 0,027$). Por lo tanto, en esta estación disminuye dicha limitación relativa por N con el aumento de temperatura lo que implica una menor disponibilidad de C y una mayor disponibilidad de N para los microorganismos del suelo. En las estaciones de la época de deshielo ($r = - 0,232$; $P = 0,404$) y primavera ($r = 0,119$; $P = 0,618$), y los datos de las cuatro estaciones en conjunto ($r = - 0,119$; $P = 0,341$) no se obtuvieron correlaciones significativas con la temperatura.

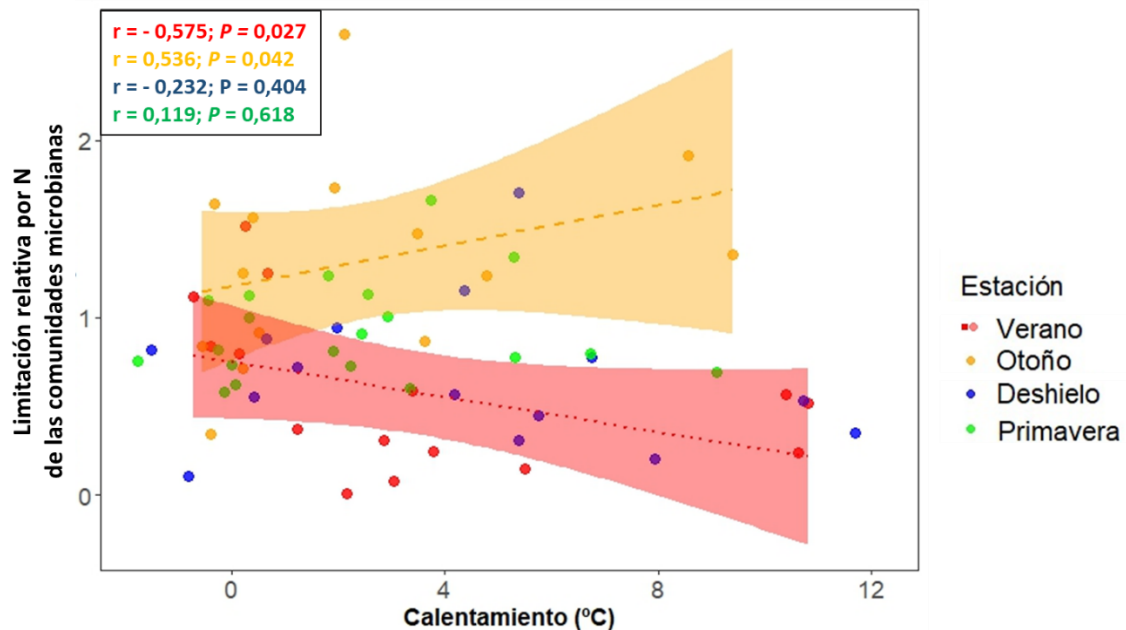


Figura 10. Valores de limitación relativa por nitrógeno (N) de las comunidades microbianas respecto el calentamiento del suelo (°C), en las estaciones de verano (rojo), otoño (naranja), deshielo (azul) y primavera (verde).

4.5. Reservas de nitrógeno

Los datos obtenidos mostraron que el calentamiento del suelo tuvo un efecto negativo estadísticamente significativo en las reservas edáficas de N (t ratio = - 2,485, $P = 0,021$) (Figura 11). Así, a medida que aumentó la temperatura del suelo, disminuyeron las reservas de N. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en las reservas de N entre los años 2013 y 2018 ($P = 0,680$), y tampoco alcanzó la significación estadística la interacción entre la temperatura del suelo y el año ($P = 0,247$).

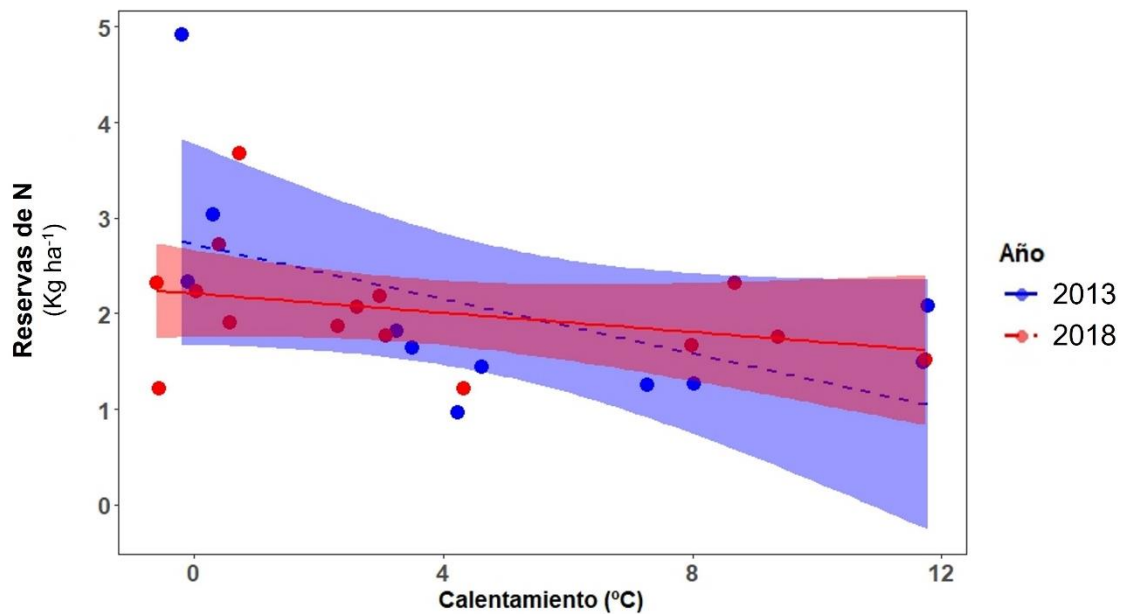












Figura 11. Valores de las reservas de nitrógeno (kg ha^{-1}) de los 10 primeros cm de suelo respecto el calentamiento del suelo ($^{\circ}\text{C}$) del año 2013, cinco años después del inicio del calentamiento (azul); y del año 2018, diez años después del inicio del calentamiento (rojo).

4.6. Tabla resumen de los resultados obtenidos

El resumen de los resultados obtenidos se expone en la Tabla 1. En las épocas frías (otoño y deshielo) se observa una disminución significativa de la liberación de N en forma de NH_4^+ (mineralización neta) por parte de los microorganismos. En verano, aumenta tanto la producción bruta como el consumo bruto de NH_4^+ , por lo que no existen cambios significativos en la mineralización neta. La limitación relativa por N de las comunidades microbianas disminuye significativamente en verano mientras que, por el contrario, aumenta de forma significativa en otoño.

Tabla 1. Resumen de los resultados obtenidos.

	Verano	Otoño	Deshielo	Primavera	TOTAL
Despolimerización neta (por unidad de biomasa microbiana)					
Nitrificación neta (por unidad de biomasa microbiana)					
Mineralización neta (por unidad de biomasa microbiana)					
Consumo bruto de NH_4^+ (por unidad de biomasa microbiana)					
Producción bruta de NH_4^+ (por unidad de biomasa microbiana)					
Limitación relativa por N (de las comunidades microbianas)					

5. Discusión

Los ciclos biogeoquímicos desempeñan un papel crucial en el buen funcionamiento de los ecosistemas ya que de ellos depende la producción primaria, que constituye la base de las cadenas tróficas (Crotty et al., 2012; Zhu et al., 2021). Por lo tanto, su estudio es indispensable para la conservación de la biodiversidad (Norris et al., 2020), sobre todo en los suelos de los ecosistemas nórdicos los cuales son más vulnerables al aumento de temperaturas vinculado al cambio climático (Smith et al., 2015; Crowther et al., 2016). Particularmente, el ciclo biogeoquímico del N tiene un papel vital en la conservación de la diversidad biológica, por ser un factor limitante del crecimiento de las plantas en ecosistemas de altas latitudes (Morgan y Connolly, 2013), e influir en la diversidad y composición de las comunidades de microorganismos y fauna edáfica (Neher et al., 2012; Yang et al., 2020).

La mayoría de los modelos ecosistémicos predicen que el aumento de las temperaturas acelera las tasas de transformación del N por parte de los microorganismos (Wu et al., 2011). Sin embargo, de forma contraria a la hipótesis inicial del presente estudio, los resultados obtenidos demuestran que no existe un aumento en las tasas netas de transformación del N con el calentamiento (Figuras 5 y 6). Por el contrario, se observa una disminución neta de la mineralización, especialmente en las estaciones más frías (Figura 7). Las necesidades estequiométricas de C y N de los microorganismos edáficos pueden haber determinado los presentes resultados.

Esta disminución de las tasas de mineralización neta de NH_4^+ con el calentamiento en las estaciones frías puede deberse principalmente a un aumento del consumo bruto de NH_4^+ para su inmovilización (Figura 8), mientras que no se observa ningún cambio significativo en la producción bruta en dichas estaciones (Figura 9). Estos resultados concuerdan con un aumento de la limitación relativa por N de las comunidades microbianas, especialmente en otoño (Figura 10), y la consiguiente reducción de la limitación microbiana por C, lo que puede ser consecuencia de la combinación de varios procesos. En primer lugar, debido a las bajas temperaturas ambientales, los microorganismos tienen menores requerimientos de C ya que disminuyen las tasas de respiración (Pietikäinen et al., 2005). En segundo lugar, en otoño, con la llegada del frío, se produce una acumulación de materiales orgánicos debido a la disminución de las actividades metabólicas (Edwards et al., 2006) y al aporte de raíces finas y hojas senescentes (Estiarte y Peñuelas, 2015). En tercer lugar, en la época de deshielo, sobre todo con el calentamiento, se produce una liberación de componentes orgánicos que habían permanecido atrapados y congelados en los poros minerales del suelo y que, por tanto, no habían sido mineralizados (Kaštovská et al., 2022). En cuarto lugar, el

aumento de temperatura conlleva un alargamiento de la estación de crecimiento para las plantas, con un inicio del crecimiento vegetal más temprano y una senescencia más tardía (Leblans et al., 2017), lo que puede generar una mayor producción de restos orgánicos en el momento en que se realizó el muestreo de otoño (octubre). Por tanto, aunque es cierto que existen mayores pérdidas de C debidas al aumento de la respiración microbiana con la temperatura (Marañón-Jiménez et al., 2018), en las estaciones invernales los microorganismos están teniendo un aporte elevado de restos orgánicos que los capacitan para producir biomasa y, en consecuencia, poder consumir e inmovilizar el N, resultando en un almacenamiento de N temporal / estacional.

En verano, no se observa un cambio significativo de la mineralización neta con la temperatura (Figura 7), debido a que tanto la producción como el consumo bruto de NH_4^+ aumentan con el calentamiento (Figuras 8 y 9). En cambio, sí que se produce una disminución significativa de la limitación relativa por N de las comunidades microbianas (Figura 10), o lo que es igual, un aumento relativo de la limitación por C. En esta estación se produce un aumento de la demanda respiratoria y la actividad metabólica (Dijkstra et al., 2011; Schindlbacher et al., 2011) y, en consecuencia, los microorganismos tienen mayores necesidades estequiométricas de C. Así, en verano los microorganismos capturan el C de la MO y lo utilizan para respirar o para producir biomasa y, como resultado, liberan el N en exceso como NH_4^+ .

A diferencia de lo previsto por los modelos teóricos (Rustad et al., 2001; Dormann y Woodin, 2002; Wu et al., 2011), la productividad de la vegetación, y, por tanto, los aportes de sustratos orgánicos al suelo, no aumentan a lo largo del gradiente de temperatura en los sitios de estudio (Leblans, 2016), probablemente debido a las pérdidas de N que se produjeron durante los primeros años de calentamiento (Figura 11). Sin embargo, otros autores sí han reportado un aumento de la biomasa vegetal asociado al calentamiento del suelo (Sistla et al., 2013; Yun et al., 2023). A diferencia del presente estudio, dichas investigaciones han sido realizadas en suelos orgánicos caracterizados por tener un elevado contenido de C (Devos et al., 2022). En estos casos, los microorganismos del suelo estarían menos limitados por C y, en consecuencia, podrían retener N de forma temporal y liberarlo en periodos en los que es más necesario para la vegetación (Kaiser et al., 2011).

La retención del N de forma orgánica en la biomasa microbiana es crucial en los ecosistemas de altas latitudes debido a la inactividad de las plantas para absorber dicho nutriente durante las estaciones invernales (Liang et al., 2017; Séneca et al., 2021). Aunque el presente trabajo no explora específicamente los cambios en la composición de las comunidades microbianas, diversos estudios demuestran que estas sufren

cambios estacionales que afectan también a la retención de nutrientes. En invierno, generalmente, dominan las comunidades microbianas ricas en hongos que utilizan residuos vegetales complejos e inmovilizan el N cuando disminuye la demanda por parte de las plantas. En verano, sin embargo, prosperan las comunidades bacterianas, las cuales están más activas y mineralizan la MO liberando nutrientes para uso de las plantas (Schadt et al., 2003; Lipson y Schmidt, 2004; Bardgett et al., 2005). Las pérdidas de N observadas con el calentamiento (Marañón-Jiménez et al., 2019) pueden haber estado vinculadas al colapso de la comunidad fúngica con el aumento de temperatura (Leblans, 2016; Radujković et al., 2018).

No obstante, la biomasa microbiana no solo sufre cambios estacionales en su composición, sino que también se han observado cambios en la abundancia. En esta línea, estudios realizados en altas latitudes demuestran un patrón general consistente en una mayor acumulación de C en la biomasa microbiana durante el invierno (Edwards y Jefferies, 2013; Zhao et al., 2022) asociada a una disminución de la actividad metabólica y a la acumulación de los biomateriales vegetales senescentes. En cambio, en verano se produce una disminución de dicha biomasa debido al aumento de las necesidades metabólicas con la temperatura (Lipson et al., 2000). Según la ley estequiométrica, el aumento de la acumulación de C_{mic} en las estaciones invernales permitiría a los microorganismos retener el N. Así, a pesar de que el aumento de la temperatura ha demostrado provocar pérdidas de N en estos sitios experimentales (Marañón-Jiménez et al., 2019), el presente estudio apunta la gran importancia que desempeña la biomasa microbiana edáfica en la prevención de pérdidas de N adicionales del sistema, especialmente en las estaciones frías cuando, además, las plantas están menos activas para absorber N en forma de NH_4^+ y NO_3^- .

Precisamente, los resultados del efecto de las reservas de N en función del aumento de temperatura del suelo, cinco y diez años después del calentamiento, indican que, efectivamente, el N no se está perdiendo de forma adicional, ya que no se observan diferencias significativas en las reservas de N entre años (Figura 11). En la misma línea, un estudio publicado recientemente, realizado en las mismas parcelas de Islandia, mostró que, a pesar de que las reservas de COS disminuyeron con el aumento de temperatura, esta disminución se produjo principalmente durante los primeros cinco años de calentamiento, tras los cuales el aumento de temperatura ya no redujo más estas reservas (Verbrugghe et al., 2022). Así, los resultados del presente TFM indican que podría haber sucedido de la misma forma en el caso del N. Estos datos, por tanto, apuntan a que el sistema habría llegado a un estado estacionario en el cual no se

producen pérdidas adicionales de N debido, principalmente, a los microorganismos edáficos, los cuales actúan como reservorios de N durante el periodo invernal.

La prevención en la pérdida adicional de N a largo plazo es crucial para evitar que estos desequilibrios puedan afectar a la biodiversidad edáfica. En este sentido, un estudio reciente sobre el impacto del calentamiento del suelo y la adición de N en la composición de la comunidad de macroinvertebrados edáficos, realizado en las mismas parcelas experimentales que el presente TFM, establece que la variación de N del suelo se correlacionó con cambios en la composición de insectos a través de su efecto en el Nmic. Este estudio sugiere que el aumento de la biomasa bacteriana favorece a los insectos bacterívoros y disminuye la abundancia y diversidad de otras comunidades de mesofauna edáfica como, por ejemplo, los microartrópodos (ácaros y colémbolos) (Siebert et al., 2019; Peguero et al., 2021). Además, los autores observaron que el aumento del DON del suelo ejerce un efecto positivo en las comunidades de insectos detritívoros. Por tanto, en este estudio se demuestra cómo la respuesta de los insectos del suelo está asociada a cambios en la biomasa microbiana, cuya abundancia y composición, depende de la disponibilidad de N del suelo (Ferrín et al., 2023).

En resumen, el presente trabajo sobre el efecto del calentamiento del suelo en el ciclo del N, constata que los aumentos de temperatura provocan pérdidas acopladas de C y N del sistema (Marañón-Jiménez et al., 2019). Sin embargo, estas pérdidas seguramente se produjeron principalmente durante los primeros años después del inicio del calentamiento del suelo, dado que el sistema parece actualmente haber llegado a un nuevo estado estacionario en el cual no se producen pérdidas adicionales de N. Este trabajo aporta así información sobre el papel fundamental de los microorganismos edáficos y sus oscilaciones de biomasa y necesidades estequiométricas estacionales, las cuales permiten almacenar el N de forma temporal principalmente en las estaciones frías.

6. Conclusiones

El calentamiento geotermal de praderas subárticas de Islandia durante 10 años no ha generado, contrariamente a la hipótesis inicial, un aumento significativo en las tasas de transformación neta de N. Es más, el aumento de las temperaturas ha llevado a una disminución en la mineralización, especialmente durante las estaciones más frías, y a un incremento de la limitación relativa por N de los microorganismos del suelo, resultando en una mayor inmovilización temporal de este elemento en dichas estaciones. En los meses más cálidos, sin embargo, se produce una disminución de la limitación relativa por N de los microorganismos y un aumento de la limitación por C debido a mayores necesidades metabólicas, implicando la liberación del exceso de N como NH_4^+ al suelo.

Como resultado de las oscilaciones estacionales en las necesidades estequiométricas de los microorganismos del suelo y de su capacidad de retención temporal de N durante las estaciones frías, el calentamiento produjo pérdidas de C y N principalmente en los primeros cinco años, pero alcanzó posteriormente un estado estacionario, como muestra la ausencia de pérdidas adicionales de N entre los cinco y diez años después del calentamiento. Este estudio, por tanto, subraya el papel vital de los microorganismos edáficos en la retención temporal de N, sobre todo en las estaciones invernales, cuando la absorción de este nutriente por las plantas se ve minimizada. Así, la biomasa microbiana es crucial para la prevención de las pérdidas potenciales de N del sistema ante los aumentos de temperatura asociados al cambio climático que, a su vez, podrían poner en peligro la estabilidad de los ecosistemas generando implicaciones negativas para la conservación de la biodiversidad.

7. Bibliografía

- Aldeán, L., Demoling, F., & Bååth, E. (2001). Rapid Method of Determining Factors Limiting Bacterial Growth in Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(4), 1830. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.4.1830-1838.2001>
- Bardgett, R. D., Bowman, W. D., Kaufmann, R., & Schmidt, S. K. (2005). A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(11), 634–641. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2005.08.005>
- Bardgett, R. D., Freeman, C., & Ostle, N. J. (2008). MINI-REVIEW Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks. *The ISME Journal*, 2, 805–814. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.58>
- Bishara, A. J., & Hittner, J. B. (2017). *Confidence intervals for correlations when data are not normal*. <https://doi.org/10.3758/s13428-016-0702-8>
- Crotty, F. V., Adl, S. M., Blackshaw, R. P., & Murray, P. J. (2012). Using Stable Isotopes to Differentiate Trophic Feeding Channels within Soil Food Webs. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 59(6), 520–526. <https://doi.org/10.1111/J.1550-7408.2011.00608.X>
- Crowther, T. W., Todd-Brown, K. E. O., Rowe, C. W., Wieder, W. R., Carey, J. C., MacHmuller, M. B., Snoek, B. L., Fang, S., Zhou, G., Allison, S. D., Blair, J. M., Bridgham, S. D., Burton, A. J., Carrillo, Y., Reich, P. B., Clark, J. S., Classen, A. T., Dijkstra, F. A., Elberling, B., ... Bradford, M. A. (2016). Quantifying global soil carbon losses in response to warming. *Nature*, 540(7631), 104–108. <https://doi.org/10.1038/NATURE20150>
- Denk, T. R. A., Mohn, J., Decock, C., Lewicka-Szczebak, D., Harris, E., Butterbach-Bahl, K., Kiese, R., & Wolf, B. (2017). The nitrogen cycle: A review of isotope effects and isotope modeling approaches. *Soil Biology and Biochemistry*, 105, 121–137. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.11.015>
- Devos, C. C., Ohlson, M., Næsset, E., & Bollandsås, O. M. (2022). Soil carbon stocks in forest-tundra ecotones along a 500 km latitudinal gradient in northern Norway. *Scientific Reports 2022 12:1*, 12(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17409-3>
- Di, H. J., Cameron, K. C., & McLaren, R. G. (2000). Isotopic dilution methods to determine the gross transformation rates of nitrogen, phosphorus, and sulfur in soil: a review of the theory, methodologies, and limitations. *Soil Research*, 38(1), 213–230. <https://doi.org/10.1071/SR99005>
- Dijkstra, P., Thomas, S. C., Heinrich, P. L., Koch, G. W., Schwartz, E., & Hungate, B. A. (2011). Effect of temperature on metabolic activity of intact microbial communities: Evidence for altered metabolic pathway activity but not for increased maintenance respiration and reduced carbon use efficiency. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(10), 2023–2031. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2011.05.018>
- Dormann, C. F., & Woodin, S. J. (2002). Climate change in the Arctic: using plant functional types in a meta-analysis of field experiments. *Functional Ecology*, 16(1), 4–17. <https://doi.org/10.1046/J.0269-8463.2001.00596.X>
- Edwards, K. A., & Jefferies, R. L. (2013). Inter-annual and seasonal dynamics of soil microbial biomass and nutrients in wet and dry low-Arctic sedge meadows. *Soil Biology and Biochemistry*, 57, 83–90. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2012.07.018>

- Edwards, K. A., McCulloch, J., Kershaw, G. P., & Jefferies, R. L. (2006). Soil microbial and nutrient dynamics in a wet Arctic sedge meadow in late winter and early spring. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(9), 2843–2851. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2006.04.042>
- Elbasiouny, H., El-Ramady, H., Elbehiry, F., Rajput, V. D., Minkina, T., & Mandzhieva, S. (2022). Plant Nutrition under Climate Change and Soil Carbon Sequestration. *Sustainability 2022*, Vol. 14, Page 914, 14(2), 914. <https://doi.org/10.3390/SU14020914>
- Estiarte, M., & Peñuelas, J. (2015). Alteration of the phenology of leaf senescence and fall in winter deciduous species by climate change: effects on nutrient proficiency. *Global Change Biology*, 21(3), 1005–1017. <https://doi.org/10.1111/GCB.12804>
- Ferrín, M., Peñuelas, J., Gargallo-Garriga, A., Iribar, A., Janssens, I. A., Marañón-Jiménez, S., Murienne, J., Richter, A., Sigurdsson, B. D., & Peguero, G. (2023). Responses of soil hexapod communities to warming are mediated by microbial carbon and nitrogen in a subarctic grassland. *European Journal of Soil Biology*, 117, 103513. <https://doi.org/10.1016/J.EJSOBI.2023.103513>
- Fierer, N., Lauber, C. L., Ramirez, K. S., Zaneveld, J., Bradford, M. A., & Knight, R. (2012). Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. *ISME Journal*, 6(5), 1007–1017. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.159>
- Frey, S. D., Knorr, M., Parrent, J. L., & Simpson, R. T. (2004). Chronic nitrogen enrichment affects the structure and function of the soil microbial community in temperate hardwood and pine forests. *Forest Ecology and Management*, 196(1), 159–171. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.03.018>
- Galloway, J. N., Townsend, A. R., Erisman, J. W., Bekunda, M., Cai, Z., Freney, J. R., Martinelli, L. A., Seitzinger, S. P., & Sutton, M. A. (2008). Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science (New York, N.Y.)*, 320(5878), 889–892. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1136674>
- Geisseler, D., Horwath, W. R., Joergensen, R. G., & Ludwig, B. (2010). Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms – A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(12), 2058–2067. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2010.08.021>
- Greaver, T. L., Clark, C. M., Compton, J. E., Vallano, D., Talhelm, A. F., Weaver, C. P., Band, L. E., Baron, J. S., Davidson, E. A., Tague, C. L., Felker-Quinn, E., Lynch, J. A., Herrick, J. D., Liu, L., Goodale, C. L., Novak, K. J., & Haeuber, R. A. (2016). Key ecological responses to nitrogen are altered by climate change. *Nature Climate Change*, 6(9), 836–843. <https://doi.org/10.1038/nclimate3088>
- Hayatsu, M., Tago, K., & Saito, M. (2008). Various players in the nitrogen cycle: Diversity and functions of the microorganisms involved in nitrification and denitrification. *Soil Science & Plant Nutrition*, 54(1), 33–45. <https://doi.org/10.1111/J.1747-0765.2007.00195.X>
- Hobbie, S. E., Nadelhoffer, K. J., & Högberg, P. (2002). A synthesis: The role of nutrients as constraints on carbon balances in boreal and arctic regions. *Plant and Soil*, 242(1), 163–170. <https://doi.org/10.1023/A:1019670731128/METRICS>
- Hobbie, S. E., Schimel, J. P., Trumbore, S. E., & Randerson, J. R. (2000). Controls over carbon storage and turnover in high-latitude soils. *Global Change Biology*, 6(S1), 196–210. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2486.2000.06021.X>
- Icelandic Meteorological Office. (2016). *Climate archives for weather stations*. Downloaded on Sep 10 2016

from <http://www.vedur.is/vedur/vedurfur/medaltalstoflur/>.

- IPCC. (2021). *Summary for Policymakers. In: Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Masson-Delmotte, V., P. Zhai, A. Pirani, S.L. Connors, C. Péan, . <https://doi.org/10.1017/9781009157896.001>.
- Jenkinson, D. S., & Powlson, D. S. (1976). The effects of biocidal treatments on metabolism in soil—V: A method for measuring soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 8(3), 209–213. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(76\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0038-0717(76)90005-5)
- Jeyakumar, S. P., Dash, B., Singh, A. K., Suyal, D. C., & Soni, R. (2020). *Nutrient Cycling at Higher Altitudes*. 293–305. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1902-4_15
- Kaiser, C., Fuchslueger, L., Koranda, M., Gorfer, M., Stange, C. F., Kitzler, B., Rasche, F., Strauss, J., Sessitsch, A., Zechmeister-Boltenstern, S., & Richter, A. (2011). Plants control the seasonal dynamics of microbial N cycling in a beech forest soil by belowground C allocation. *Ecology*, 92(5), 1036–1051. <https://doi.org/10.1890/10-1011.1>
- Kamble, P. N., & Bååth, E. (2016). Comparison of fungal and bacterial growth after alleviating induced N-limitation in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 103, 97–105. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2016.08.015>
- Kaštovská, E., Choma, M., Čapek, P., Kaňa, J., Tahovská, K., & Kopáček, J. (2022). Soil warming during winter period enhanced soil N and P availability and leaching in alpine grasslands: A transplant study. *PLoS ONE*, 17(8). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0272143>
- Leblans, N. (2016). *Natural gradients in temperature and nitrogen: Iceland represents a unique environment to clarify long-term global change effects on carbon dynamics*. Universiteit Antwerpen.
- Leblans, N. I. W., Sigurdsson, B. D., Vicca, S., Fu, Y., Penuelas, J., & Janssens, I. A. (2017). Phenological responses of Icelandic subarctic grasslands to short-term and long-term natural soil warming. *Global Change Biology*, 23(11), 4932–4945. <https://doi.org/10.1111/GCB.13749>
- Lehmann, J., & Kleber, M. (2015). The contentious nature of soil organic matter. *Nature* 2015 528:7580, 528(7580), 60–68. <https://doi.org/10.1038/nature16069>
- Li, T., Wang, R., Cai, J., Meng, Y., Wang, Z., Feng, X., Liu, H., Turco, R. F., & Jiang, Y. (2021). *Enhanced carbon acquisition and use efficiency alleviate microbial carbon relative to nitrogen limitation under soil acidification*. <https://doi.org/10.1186/s13717-021-00309-1>
- Liang, C., Schimel, J. P., & Jastrow, J. D. (2017). The importance of anabolism in microbial control over soil carbon storage. *Nature Microbiology*, 2(8). <https://doi.org/10.1038/NMICROBIOL.2017.105>
- Lipson, D. A., & Schmidt, S. K. (2004). Seasonal Changes in an Alpine Soil Bacterial Community in the Colorado Rocky Mountains. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5), 2867. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.5.2867-2879.2004>
- Lipson, D. A., Schmidt, S. K., & Monson, R. K. (2000). Carbon availability and temperature control the post-snowmelt decline in alpine soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(4), 441–448. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00068-1](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00068-1)
- Marañón-Jiménez, S., Peñuelas, J., Richter, A., Sigurdsson, B. D., Fuchslueger, L., Leblans, N. I. W., & Janssens, I. A. (2019). Coupled carbon and nitrogen losses in response to seven years of chronic

- warming in subarctic soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 134, 152–161. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2019.03.028>
- Marañón-Jiménez, S., Soong, J. L., Leblans, N. I. W., Sigurdsson, B. D., Peñuelas, J., Richter, A., Asensio, D., Fransen, E., & Janssens, I. A. (2018). Geothermally warmed soils reveal persistent increases in the respiratory costs of soil microbes contributing to substantial C losses. *Biogeochemistry*, 138(3), 245–260. <https://doi.org/10.1007/S10533-018-0443-0/FIGURES/5>
- Mcguire, A. D., Anderson, L. G., Christensen, T. R., Scott, D., Laodong, G., Hayes, D. J., Martin, H., Lorenson, T. D., Macdonald, R. W., & Nigal, R. (2009). Sensitivity of the carbon cycle in the Arctic to climate change. *Ecological Monographs*, 79(4), 523–555. <https://doi.org/10.1890/08-2025.1>
- Meidute, S., Demoling, F., & Bååth, E. (2008). Antagonistic and synergistic effects of fungal and bacterial growth in soil after adding different carbon and nitrogen sources. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9), 2334–2343. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2008.05.011>
- Melillo, J. M., Steudler, P. A., Aber, J. D., Newkirk, K., Lux, H., Bowles, F. P., Catricala, C., Magill, A., Ahrens, T., & Morrisseau, S. (2002). Soil warming and carbon-cycle feedbacks to the climate system. *Science (New York, N. Y.)*, 298(5601), 2173–2176. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1074153>
- Mooshammer, M., Wanek, W., Hämmerle, I., Fuchslueger, L., Hofhansl, F., Knoltsch, A., Schneckner, J., Takriti, M., Watzka, M., Wild, B., Keiblinger, K. M., Zechmeister-Boltenstern, S., & Richter, A. (2014). Adjustment of microbial nitrogen use efficiency to carbon:nitrogen imbalances regulates soil nitrogen cycling. *Nature Communications* 2014 5:1, 5(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/ncomms4694>
- Morgan, J. ., & Connolly, E. . (2013). Plant-Soil Interactions: Nutrient Uptake. *Nature Education*.
- Neher, D. A., Weicht, T. R., & Barbercheck, M. E. (2012). Linking invertebrate communities to decomposition rate and nitrogen availability in pine forest soils. *Applied Soil Ecology*, 54, 14–23. <https://doi.org/10.1016/J.APSOIL.2011.12.001>
- Norris, K., Terry, A., Hansford, J. P., & Turvey, S. T. (2020). Biodiversity Conservation and the Earth System: Mind the Gap. *Trends in Ecology and Evolution*, 35(10), 919–926. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2020.06.010>
- Peguero, G., Folch, E., Liu, L., Ogaya, R., & Peñuelas, J. (2021). Divergent effects of drought and nitrogen deposition on microbial and arthropod soil communities in a Mediterranean forest. *European Journal of Soil Biology*, 103, 103275. <https://doi.org/10.1016/J.EJSOBI.2020.103275>
- Pietikäinen, J., Pettersson, M., & Bååth, E. (2005). Comparison of temperature effects on soil respiration and bacterial and fungal growth rates. *FEMS Microbiology Ecology*, 52(1), 49–58. <https://doi.org/10.1016/J.FEMSEC.2004.10.002>
- Radujković, D., Verbruggen, E., Sigurdsson, B. D., Leblans, N. I. W., Janssens, I. A., Vicca, S., & Weedon, J. T. (2018). Prolonged exposure does not increase soil microbial community compositional response to warming along geothermal gradients. *FEMS Microbiology Ecology*, 94(2), 1–10. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix174>
- Rousk, J., & Bååth, E. (2007). Fungal and bacterial growth in soil with plant materials of different C/N ratios. *FEMS Microbiology Ecology*, 62(3), 258–267. <https://doi.org/10.1111/J.1574-6941.2007.00398.X>
- Rustad, L. E., Campbell, J. L., Marion, G. M., Norby, R. J., Mitchell, M. J., Hartley, A. E., Cornelissen, J. H. C., Gurevitch, J., Alward, R., Beier, C., Burke, I., Canadell, J., Callaghan, T., Christensen, T. R.,

- Fahnestock, J., Fernandez, I., Harte, J., Hollister, R., John, H., ... Wright, R. (2001). A meta-analysis of the response of soil respiration, net nitrogen mineralization, and aboveground plant growth to experimental ecosystem warming. *Oecologia*, 126(4), 543–562. <https://doi.org/10.1007/S004420000544/METRICS>
- Schadt, C. W., Martin, A. P., Lipson, D. A., & Schmidt, S. K. (2003). Seasonal dynamics of previously unknown fungal lineages in tundra soils. *Science (New York, N.Y.)*, 301(5638), 1359–1361. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1086940>
- Scheu, S. (2002). The soil food web: structure and perspectives. *European Journal of Soil Biology*, 38(1), 11–20. [https://doi.org/10.1016/S1164-5563\(01\)01117-7](https://doi.org/10.1016/S1164-5563(01)01117-7)
- Schimel, J. P., & Bennett, J. (2004). Nitrogen mineralization: challenges of a changing paradigm. *Ecology*, 85(3), 591–602. <https://doi.org/10.1890/03-8002>
- Schindlbacher, A., Rodler, A., Kuffner, M., Kitzler, B., Sessitsch, A., & Zechmeister-Boltenstern, S. (2011). Experimental warming effects on the microbial community of a temperate mountain forest soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 43(7), 1417. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2011.03.005>
- Séneca, J., Söllinger, A., Herbold, C. W., Pjevac, P., Prommer, J., Verbruggen, E., Sigurdsson, B. D., Peñuelas, J., Janssens, I. A., Urich, T., Tveit, A. T., & Richter, A. (2021). Increased microbial expression of organic nitrogen cycling genes in long-term warmed grassland soils. *ISME Communications*, 1(1). <https://doi.org/10.1038/s43705-021-00073-5>
- Siebert, J., Sünnemann, M., Auge, H., Berger, S., Cesarz, S., Ciobanu, M., Guerrero-Ramírez, N. R., & Eisenhauer, N. (2019). The effects of drought and nutrient addition on soil organisms vary across taxonomic groups, but are constant across seasons. *Scientific Reports 2019 9:1*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36777-3>
- Sigurdsson, B. D., Leblans, N. I. W., Dauwe, S., Gudmundsdóttir, E., Gundersen, P., Gunnarsdóttir, G. E., Holmstrup, M., Ilieva-Makulec, K., Kätterer, T., Marteinsdóttir, B., Maljanen, M., Oddsdóttir, E. S., Ostonen, I., Peñuelas, J., Poeplau, C., Richter, A., Sigurdsson, P., Van Bodegom, P., Wallander, H., ... Janssens, I. (2016). Geothermal ecosystems as natural climate change experiments: The ForHot research site in Iceland as a case study. *Icelandic Agricultural Sciences*, 29(1), 53–71. <https://doi.org/10.16886/IAS.2016.05>
- Sistla, S. A., Moore, J. C., Simpson, R. T., Gough, L., Shaver, G. R., & Schimel, J. P. (2013). Long-term warming restructures Arctic tundra without changing net soil carbon storage. *Nature 2013 497:7451*, 497(7451), 615–618. <https://doi.org/10.1038/nature12129>
- Smith, S. J., Edmonds, J., Hartin, C. A., Mundra, A., & Calvin, K. (2015). Near-term acceleration in the rate of temperature change. *Nature Climate Change 2014 5:4*, 5(4), 333–336. <https://doi.org/10.1038/nclimate2552>
- Soong, J. L., Fuchslueger, L., Marañon-Jimenez, S., Torn, M. S., Janssens, I. A., Penuelas, J., & Richter, A. (2020). Microbial carbon limitation: The need for integrating microorganisms into our understanding of ecosystem carbon cycling. *Global Change Biology*, 26(4), 1953–1961. <https://doi.org/10.1111/gcb.14962>
- Stein, L. Y., & Klotz, M. G. (2016). The nitrogen cycle. *Current Biology*, 26(3), R94–R98. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.12.021>

- Sterner, R. W., & Elser, J. J. (2003). Ecological Stoichiometry. *Ecological Stoichiometry*. <https://doi.org/10.1515/9781400885695/HTML>
- Todd-Brown, K. E. O., Randerson, J. T., Post, W. M., Hoffman, F. M., Tarnocai, C., Schuur, E. A. G., & Allison, S. D. (2013). Causes of variation in soil carbon simulations from CMIP5 Earth system models and comparison with observations. *Biogeosciences*, *10*(3), 1717–1736. <https://doi.org/10.5194/BG-10-1717-2013>
- Van Der Heijden, M. G. A., Bardgett, R. D., & Van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, *11*(3), 296–310. <https://doi.org/10.1111/J.1461-0248.2007.01139.X>
- Van Groenigen, J. W., Huygens, D., Boeckx, P., Kuiper, T. W., Lubbers, I. M., Rütting, T., & Groffman, P. M. (2015). The soil n cycle: New insights and key challenges. *Soil*, *1*(1), 235–256. <https://doi.org/10.5194/soil-1-235-2015>
- Verbrugghe, N., Leblans, N. I. W., Sigurdsson, B. D., Vicca, S., Fang, C., Fuchslueger, L., Soong, J. L., Weedon, J. T., Poeplau, C., Ariza-Carricondo, C., Bahn, M., Guenet, B., Gunnarsdóttir, G. E., Kätterer, T., Liu, Z., Maljanen, M., Marañón, S., Van Bodegom, P. M., Verbruggen, E., ... Janssens, I. A. (2022). Soil carbon loss in warmed subarctic grasslands is rapid and restricted to topsoil. *Biogeosciences*, *19*, 3381–3393. <https://doi.org/10.5194/bg-19-3381-2022>
- Walker, T. W. N., Kaiser, C., Strasser, F., Herbold, C. W., Leblans, N. I. W., Woebken, D., Janssens, I. A., Sigurdsson, B. D., & Richter, A. (2018). Microbial temperature sensitivity and biomass change explain soil carbon loss with warming. *Nature Climate Change*, *8*(10), 885–889. <https://doi.org/10.1038/s41558-018-0259-x>
- Wanek, W., Mooshammer, M., Blöchl, A., Hanreich, A., & Richter, A. (2010). Determination of gross rates of amino acid production and immobilization in decomposing leaf litter by a novel ¹⁵N isotope pool dilution technique. *Soil Biology and Biochemistry*, *42*(8), 1293–1302. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.04.001>
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4>
- Wild, B., Schneckner, J., Bárta, J., Čapek, P., Guggenberger, G., Hofhansl, F., Kaiser, C., Lashchinsky, N., Mikutta, R., Mooshammer, M., Šantrůčková, H., Shibistova, O., Urich, T., Zimov, S. A., & Richter, A. (2013). Nitrogen dynamics in Turbic Cryosols from Siberia and Greenland. *Soil Biology and Biochemistry*, *67*, 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.08.004>
- WRB. (2022). *World Reference Base for Soil Resources. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. 4th edition*.
- Wu, Z., Dijkstra, P., Koch, G. W., Peñuelas, J., & Hungate, B. A. (2011). Responses of terrestrial ecosystems to temperature and precipitation change: a meta-analysis of experimental manipulation. *Global Change Biology*, *17*(2), 927–942. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2486.2010.02302.X>
- Yang, Y., Cheng, H., Gao, H., & An, S. (2020). Response and driving factors of soil microbial diversity related to global nitrogen addition. *Land Degradation and Development*, *31*(2), 190–204. <https://doi.org/10.1002/ldr.3439>
- Yun, H., Zhu, Q., Tang, J., Zhang, W., Chen, D., Ciais, P., Wu, Q., & Elberling, B. (2023). Warming,

permafrost thaw and increased nitrogen availability as drivers for plant composition and growth across the Tibetan Plateau. *Soil Biology and Biochemistry*, 182, 109041. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2023.109041>

Zhang, S., Zheng, Q., Noll, L., Hu, Y., & Wanek, W. (2019). Environmental effects on soil microbial nitrogen use efficiency are controlled by allocation of organic nitrogen to microbial growth and regulate gross N mineralization. *Soil Biology and Biochemistry*, 135, 304–315. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2019.05.019>

Zhao, F., He, L., Bond-Lamberty, B., Janssens, I. A., Wang, J., Pang, G., Wu, Y., & Xu, X. (2022). Latitudinal shifts of soil microbial biomass seasonality. *PNAS Nexus*, 1(5), 1–11. <https://doi.org/10.1093/PNASNEXUS/PGAC254>

Zhu, D., Delgado-Baquerizo, M., Ding, J., Gillings, M. R., & Zhu, Y. G. (2021). Trophic level drives the host microbiome of soil invertebrates at a continental scale. *Microbiome*, 9(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/S40168-021-01144-4/FIGURES/7>