

**MEMORIA PARA LA CONTRATACIÓN DE APOYO
EXTERNO EN EL SEGUIMIENTO DE LA
BIODIVERSIDAD, ACCIÓN A1.2. DEL PROYECTO
MULTICAS. FINANCIADO POR FONDOS
FEADER**

El proyecto MULTICAS es un proyecto de la convocatoria de subvenciones de la Fundación Biodiversidad, F.S.P., en régimen de concurrencia competitiva, para apoyo a programas y proyectos de impulso a la bioeconomía, cofinanciada por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER)

1. Trabajos a realizar

Se busca realizar el seguimiento y evaluación de la biodiversidad en distintos sistemas agroforestales de Castilla y León y con el objetivo final de identificar acciones de gestión o restauración que tengan un efecto sostenible en el tiempo y contribuyan a la conservación y restauración de los valores ecológicos de referencia para cada uno de ellos.

Dentro de cada sitio de evaluación se establecerán una serie de parcelas, donde se llevarán a cabo evaluaciones de alto rendimiento de la biodiversidad. Por una parte, se muestrearán artrópodos voladores mediante trampas Malaise y se extraerán muestras de suelo para detectar cambios en la biodiversidad, haciendo hincapié en los grupos biológicos relacionados con la función y que responden rápidamente a los cambios del ecosistema, es decir, invertebrados y hongos para el caso de las muestras de suelo.

Además, también se recogerán y procesarán datos bioacústicos para la identificación automatizada de especies de aves y quirópteros.

a. Condicionantes para la ejecución

- Es necesario que el proveedor del servicio disponga de un **vehículo todoterreno** para poder acceder a todas las zonas de muestreo, puesto que existe una alta variabilidad en cuanto al estado de conservación de los diferentes accesos e infraestructuras viarias, especialmente en las relativas a los sistemas silvopastorales en zonas de montaña.
- El presupuesto base de licitación para cada uno de los lotes a continuación descritos, se encuentra referido al número máximo de visitas a campo necesarias para ejecutar el seguimiento de la biodiversidad de acuerdo a los protocolos establecidos y el cumplimiento de los objetivos fijados. El número **mínimo** de visitas se establece en **29 días por periodo de muestreo**.

2. Calendario

El cronograma del proyecto inicialmente preveía el comienzo del mismo en marzo 2026, sin embargo debido a ligeros retrasos en la resolución de la convocatoria, la definición de las zonas a muestrear y el suministro de los equipos y materiales necesarios para la evaluación de la biodiversidad, se han visto retrasados hasta los meses de mayo-junio, sin que ello signifique que puedan prolongarse los mismos más allá del 31 de diciembre de 2026 para compensar dicha demora, al tratarse de la fecha límite de finalización del proyecto.

Los trabajos de evaluación de la biodiversidad se ejecutarán en los siguientes periodos:

- Periodo 2026: Muestreos de finales de mayo a septiembre de 2026.

Actuación	Abr 2026	May. 2026	Jun. 2026	Jul. 2026	Ago. 2026	Sep. 2026
Grabadoras acústicas						
Trampas Malaise						
Muestreos de suelo						

1. El calendario depende fuertemente de la colocación de las trampas Malaise, ya que esto es lo que más tiempo consume. La mejor estrategia consiste en colocar las trampas en todas las ubicaciones de muestreo (1 trampa por cada parcela) en el menor tiempo posible y que no exceda una semana para limitar al máximo los errores con el calendario. Todas las trampas deberían ser desplegadas en un día en el mejor escenario, pero esto es demasiado costoso y probablemente impráctico. Por lo tanto, se asumirá el escenario mínimo que supone que todas las trampas se despliegan dentro de una semana con muestras recolectadas durante las semanas sucesivas. Este sería un muy buen compromiso para controlar posibles sesgos a lo largo de las estaciones, es decir, para evitar que las diferencias sean provocadas por el paso de la primavera o el verano.

2. Es importante no extender el período de muestreo más allá de 5 semanas porque es cada vez más probable que los efectos estacionales comiencen a afectar los muestreos. El calendario para visitar las parcelas está dictado por los tiempos de viaje entre los sitios.

Anexo II. Protocolo de muestreo de artrópodos

Objetivo: El metabarcoding de ADN de insectos voladores permite evaluar cambios en la composición de los invertebrados y que responden rápidamente a la restauración del ecosistema en el espacio y el tiempo.

Resumen: Las trampas Malaise son como una tienda de campaña con los lados retirados en la que los insectos que vuelan dentro son dirigidos hacia arriba y hacia un frasco colector con alcohol. Con temperaturas altas, puede ser necesario revisar la trampa para evitar que el alcohol se evapore, pero por lo demás son muy fáciles de montar. Los frascos de muestreo nuevos se pueden cambiar directamente por los ya instalados en las trampas Malaise, que luego se almacenan en un lugar fresco, idealmente en una nevera. Solo se deben enviar botellas de muestra que contengan hasta 100 ml de alcohol en cada contenedor durante el envío, y 1 litro en total. Por lo tanto, el volumen de alcohol debe reducirse antes del envío decantando el exceso de alcohol mediante un filtro de microfibras limpio.

Tamaño de muestra: Para limitar los viajes y el tiempo total de los muestreos, se tomarán 5 muestras replicadas en 18 parcelas. Por lo tanto, se recogerán al menos 240 muestras Malaise por año (18 parcelas * 5 réplicas).

En resumen, la duración se basa en un diseño que utiliza 18 trampas Malaise, las trampas en todas las parcelas deben ser colocadas dentro de una semana, y cada parcela deberá ser revisitada a intervalos de 7 días durante 5 semanas.

Para mantener el periodo de colocación de 7 días las parcelas deberán visitarse en el mismo orden que la primera semana. Por lo tanto, si todas las trampas se colocan un lunes, puede llevar todo el día revisarlas todas, pero también significa que las trampas solo se revisan los lunes durante las próximas cinco semanas en lugar de volver a visitar los sitios todos los días, lo que puede resultar más costoso.

Los trabajos deben realizarse cuando la diversidad y actividad de insectos esté en su máximo, generalmente para la mayoría de sistemas agroforestales, de abril a julio.

Equipo

Equipo recibido:

- kits de trampas Malaise que incluyen instrucciones sobre cómo montarlas.
- Frascos de recolección de repuesto (capacidad de 500 mL).

Equipo para llevar al campo:

- Papel impermeable para etiquetar la trampa,
- Nevera portátil.
- Papel impermeable para etiquetar las botellas por fuera y por dentro (en caso de que las etiquetas exteriores se borren de la botella (frecuente con el alcohol)
- Lápiz
- Estacas (vientos) para la tienda-trampa (9 para cada trampa), cuerdas tensoras (6 para cada trampa) y postes de soporte (2 para cada trampa) necesarios para la instalación de la trampa, que NO están incluidos en el paquete.
- 100 ml de etanol al 95% o más fuerte por botella, NO desnaturalizado, para conservar las muestras.
- Varios pares de guantes de nitrilo.
- Plumero o algo similar para limpiar la trampa.
- Papel de aluminio (si hace calor)
- Un smartphone cargado con Google Maps y GPS o GPS para localizar las coordenadas exactas de las trampas

Equipo para después del campo:

- Contenedor para el alcohol desechado
- Congelador adecuado (a prueba de chispas/explosiones debido al material inflamable) para almacenar las muestras después del día en el campo. Si no es posible, en una nevera o en un lugar fresco.
- Filtro limpio de microfibra (antes del envío)
- Banda elástica (antes del envío)
- Cajas de guantes desechables de nitrilo.

Instrucciones antes del campo:

1. Imprimir la hoja de datos recibida.
2. Llenar la botella que planeas colocar durante el día con 30cl de alcohol al 95% (o más).
3. Etiquetar las botellas que llevarás al campo por dentro y por fuera usando el papel impermeable según el sistema de nombres que describimos a continuación. La etiqueta debe incluir el nombre "Malaise", el número de parcela, el número de semana y la fecha del día.

Instrucciones en campo:

• Primera colocación, recolección y almacenamiento

1- Seleccione un lugar que sea y esté:

- a. cerca del centro de la parcela o al menos a 30 metros del límite de la parcela (recordando que los límites de la parcela son donde el bosque ya no se encuentra en un punto similar a lo largo del gradiente de restauración)
- b. fácil de visitar y donde se puede regresar constantemente durante el período de muestreo
- c. Poco probable que sea molestado por animales o humanos.

2- Montar las trampas Malaise siguiendo las instrucciones proporcionadas (ver también <https://www.youtube.com/watch?v=sU9rW71f5ZA>)

a. La parte recolectora de la trampa debe estar:

- i. en el punto más alto de la trampa (evitar colocar la trampa en una pendiente pronunciada).
- ii. Perpendicular a la línea de vuelo de los insectos y evitar la obstrucción directa de la trampa por la maleza. Se recomiendan áreas con coberturas más abiertas y claros de sotobosque, o sitios ligeramente elevados.

3- Si es posible, fijar la trampa más, atando las cuerdas delantera y trasera a los árboles cercanos (ver también el video arriba).

4- Fijar los postes de la trampa a una estaca alta para proteger la trampa contra caídas debido al viento.

5- Envolver la botella correspondiente (con alcohol) en papel de aluminio para protegerla del sol y evitar que el etanol se evapore.

6- Utilizar guantes de nitrilo siempre que sea posible y evitar tocar el interior de la botella o la tapa.

7- Colocar firmemente la botella recolectora preparada en el cabezal de la trampa y atar las cuerdas de la trampa alrededor de la botella para asegurarla.



8- Recopilar las coordenadas GPS exactas con la mayor precisión posible. Preferiblemente en formato decimal (por ejemplo, "63,1234567, 20,1234567"):

a. Encuentra tus coordenadas actuales:

- i. Iniciar Google Maps asegurándose de tener Internet y ubicación habilitados.
- ii. Ubicarte utilizando el botón de ubicación.
- iii. Ampliar la ubicación al máximo y mantener presionado el dedo en la pantalla táctil del mapa en la ubicación exacta en la que se encuentra. Esta acción le permite establecer un punto de referencia y debería aparecer un menú desplegable en la parte inferior de la pantalla.

b. Guarda tus coordenadas:

- i. Hacer clic en la opción guardar.
- ii. Crear una nueva lista y llámala "Trampa Malaise".
- iii. Guardar el nuevo punto de referencia en esta lista con un comentario en el formato PARCELAXX (Este paso te permitirá guardar todos los puntos en un solo lugar para verificar más tarde que la información en la hoja de campo es correcta; cualquier nueva coordenada de trampa de Malaise tomada debe guardarse con un comentario similar en la misma lista). Luego regresa al mapa de Google.
- iv. Hacer clic en el punto de referencia rojo que acaba de guardar: Aparece una nueva pantalla con varias informaciones y opciones.

v. Presionar sobre las coordenadas GPS que se muestran en la parte inferior en formato decimal “63,1234567, 20,1234567”. Se copian inmediatamente al portapapeles de su dispositivo.

vi. Pegar la información en un documento de texto o nota para guardarla o en un mensaje para enviarlo más tarde. Al guardar o enviarlo por mensaje, agregar también el comentario en el mismo formato que antes (PARCELAXX).

c. Finalmente, coloca la información en las columnas correspondientes de latitud y longitud en la hoja de campo.

9- Cada semana (a partir de la primera semana), recoger los siguientes datos:

a. la hora exacta

b. el nombre del técnico

c. y toda la información que pueda proporcionar sobre las condiciones climáticas (esto es muy útil y simplemente apuntar los pronósticos diarios es mejor que nada):

i. Al menos precipitaciones (en mm, 0 si no hay ninguna)

ii. Temperatura diaria (media, máxima, mínima °C)

iii. y si es posible, la velocidad del viento (km/h).

iv. Colocar esta información en las columnas apropiadas de la hoja de metadatos.

10- Las trampas Malaise deben estar en la parcela durante al menos una semana en cada ubicación.

11- Recoger los botes una vez por semana y el mismo día cada semana:

a. Como se indicó anteriormente, usar guantes de nitrilo siempre que sea posible y evitar tocar el interior de la botella, la tapa o manipular los insectos.

b. Preparar botellas nuevas y llenarlas con 30 cl de alcohol, etiquetarlas (por dentro y por fuera) con el tipo de muestra (en este caso “Malaise”), país, número de demostración, número de stand, número de sitio, número de semana y la fecha del día antes de ir en el campo.

c. Una vez en el campo, envuélvelas en papel de aluminio.

d. Retirar el papel de aluminio del frasco viejo.

e. Verificar el nivel de etanol y la masa de insectos:

- i. Si el etanol se ha evaporado por completo, es necesario aumentar la cantidad la semana siguiente.
 - ii. Si la botella está llena de insectos, es necesario reducir la cantidad de etanol.
- f. Desenroscar la botella recolectora del anillo de unión con guantes
- g. Limpiar el cabezal de la trampa con un plumero limpio para evitar que queden insectos muertos entre las semanas de muestreo.
- h. Agregar alcohol fresco si es necesario para que toda la masa de insectos quede completamente sumergida.
- i. Colocar la nueva botella.
- j. Cambiar los guantes en cualquier momento cada vez que se recoja otra muestra.
- k. Recopilar información sobre la hora y las condiciones climáticas (ver el paso 9) y anotarla en las columnas de la hoja de metadatos.

12- En el campo, almacenar la muestra en una nevera (o en un lugar fresco y con sombra).

13- Cuando se regrese del campo, colocar las muestras en un congelador apropiado (ver arriba), o si no está disponible, en una nevera o en el lugar más fresco posible. Este paso ayuda enormemente a evitar la degradación del ADN en la muestra.

14- Pasar la información recopilada en el campo de la hoja impresa al documento en línea disponible.

ANEXO III. Protocolo de recolección de muestras de suelo

1. Objetivos y diseño de los muestreos

El diseño de muestreo está optimizado para detectar cambios frente a la variabilidad de las mediciones, al incluir réplicas anuales y espaciales sobre el gradiente del paisaje. El objetivo general es la metataxonomía microbiana del suelo de parcelas forestales mediante metabarcodificación de ADN del suelo, la cual va a permitir evaluar cambios en los hongos y bacterias presentes, los cuales responden rápidamente a la restauración del ecosistema.

Es importante recalcar que:

- Las comunidades de hongos cambian mucho en el espacio y normalmente se estructuran en áreas que no superan los 2 m.
- Las comunidades de hongos no cambian mucho en el tiempo dentro de una temporada, pero cambian mucho entre años y/o estaciones.

Generalmente no es fácil evaluar exhaustivamente la biodiversidad de hongos del suelo en un área tan grande como 1 ha con un número limitado de muestras. Por lo tanto, será difícil dar cuenta de manera efectiva de la variación espacial dentro de cada rodal, especialmente porque la escala de variación espacial probablemente variará de un rodal a otro.

2. Antecedentes

Este protocolo de toma y procesamiento de muestras está basado en el empleado para el análisis metataxonómico del proyecto FOR-60-2021, *Caracterización del aprovechamiento, la producción y diversidad micológica de las masas de Quercus pyrenaica y repoblaciones de coníferas en Castilla y León*, realizado en el primer trimestre de 2022.

Para ese proyecto se recogieron 24 submuestras de cada parcela, 3 submuestras por subparcela. Además, como control del muestreo, en una parcela se recogieron el doble de muestras. La posición del taladro del suelo se determinó aleatoriamente según se indica en los anexos. Cada muestra compuesta fue mezclada exhaustivamente y filtrada a través de un tamiz para quedarse con la *tierra fina*. De 0,25 g de tierra fina se extrae el ADN; se obtuvieron dos muestras de ADN por parcela (réplicas técnicas de ADN).

3. Muestreo del suelo de parcelas forestales. MULTICAS

El diseño de muestreo seguirá el de la colocación de las trampas Malaise, es decir, se recolectarán muestras de suelo en los 18 sitios previamente definidos. Como el diseño del muestreo de suelo depende en gran medida de la colocación de trampas Malaise, las muestras de suelo se pueden recolectar durante la primera visita al rodal y, por lo tanto, no son una limitación importante.

1. PROFUNDIDAD. Tras descartar los restos vegetales superficiales, se extraerá la capa del suelo entre **0 cm y 21 cm** por medio de una broca de 2,5 cm de diámetro.
2. PUNTOS DE MUESTREO. Se recogerán **5 submuestras** de cada parcela (salvo lo indicado en el apartado anterior) que formarán una única **muestra compuesta** por parcela. El punto de muestreo se determinará por coordenadas aleatorias; véase anexo I.
3. EMBOLSADO. Las submuestras de suelo se empaquetan en **bolsas de plástico transparente** con cierre de tipo zip. Se pueden combinar 2 o 3 submuestras en la misma bolsa (si son, obviamente, de la misma parcela). La masa de suelo de tres submuestras estaría entre 500 g y 750 g (0,6 L). La etiqueta de la bolsa indicará la parcela, la subparcela (con un sistema de numeración de subparcela que sea el mismo en todas las parcelas, como se muestra en anexo I) y la fecha de recolección.
4. EVITAR CONTAMINACIÓN. La **barrena**, entre parcelas, se limpiará bien de tierra y se lavará para evitar contaminaciones de las muestras entre sí.
5. CONSERVACIÓN. Para evitar el crecimiento de los hongos u otros microorganismos y que se altere la representatividad de las muestras, desde que se recojan hasta que lleguen al lugar de análisis, las muestras se mantendrán en lo posible refrigeradas (entre 0 °C y 4 °C).

Idealmente, el tiempo de conservación entre recolección y procesamiento habría de ser inferior a 24 h. Quizá no sea posible recoger todas las muestras el mismo día, ni procesarlas en Inbiotec en la misma jornada; pero es especialmente clave que las muestras de las diferentes parcelas experimenten las mismas condiciones de conservación (temperatura y tiempo).

3.1. Fecha y duración

Se pueden recolectar muestras de suelo durante una sola visita de campo al mismo tiempo que se realiza las labores relacionadas con las trampas Malaise. Es mejor si las muestras se toman lo más cerca posible en el tiempo para no introducir ningún efecto estacional.

3.2. Equipo

Equipo necesario para el campo:

- a. Hoja de metadatos impresa y lápiz
- b. Papel impermeable y bolígrafo para etiquetar la bolsa de papel y las bolsas zip-loc.
- c. Brújula
- d. Cajas de guantes desechables de nitrilo.

- e. Bolsas de plástico transparente para mezclar muestras de suelo. Incluirán **8** submuestras de suelo juntas.
- f. Bolsas herméticas Zip-loc
- g. Gel de sílice con indicador de humedad
- h. Barrena de 2.5 cm de diámetro y al menos 30 cm de largo.
- i. Cinta métrica para medir distancias y profundidad.
- j. Alcohol
- k. Nevera: poliestireno o similar
- l. Un smartphone cargado con GPS o un dispositivo GPS para localizar las coordenadas exactas de las parcelas
- m. Opcional: Cámara
- n. Opcional: Spray para marcado del centro de la parcela

Equipo que se necesita después del campo:

- o. Congelador (preferible) o frigorífico para almacenar las muestras (después del día en el campo).

3.3. Instrucciones

Instrucciones en el campo:

1. Dentro de cada rodal, seleccionar una parcela de muestreo adecuada (un círculo con un radio de **8** m) cerca del centro del rodal. La parcela apropiada suele ser representativa del tratamiento (es decir, el rodal) por la composición de los árboles de alrededor, la vegetación del suelo y otras propiedades y está DENTRO del rodal, de manera óptima a más de 10 m de cada borde y de otras parcelas del rodal, pero no a más de 40 metros.
2. Asegurarse de que todas las herramientas estén esterilizadas.
3. Definir el centro de la parcela en el terreno.
4. Tomar la muestra compuesta de suelo. Cada muestra compuesta se compone de **5** submuestras según lo descrito en el anexo I.
 - a. Utilizar guantes desechables (nuevos) para evitar contaminar las muestras.
 - b. Retirar cualquier capa de criptógamas vivas (por ejemplo: musgo, líquenes o algas) y restos sueltos del área de muestreo (como hojas, ramas, ramillas y agujas). Conservar la capa de hojarasca, es decir, las capas que quedan pegadas al suelo. En hábitats que tienen mucha capa de hojarasca, tomar la

muestra cuando haya 2 cm de hojarasca o menos por encima de la capa del suelo. Para hábitats de turba, comenzar la muestra donde la materia orgánica descompuesta tenga menos de 1 cm. Nota: Retirar cualquier parte verde de la planta. Las plantas vivas se pueden cortar al nivel de la superficie del suelo.

- c. Repetir la operación para las 8 submuestras adicionales, utilizar la brújula y la cinta métrica para encontrar las direcciones correctas desde el centro de la parcela.
- d. Colocar las ocho submuestras juntas en una misma bolsa de plástico.
- e. Mezclar la tierra en la bolsa manteniéndola cerrada con una mano y arrugando el exterior de la bolsa con la otra. Se puede descomponer los trozos de tierra más grande. Separar los trozos descompuestos de hojarasca y tierra que puedan haberse agregado.
- f. Retirar las partículas grandes como piedras, madera o raíces y hojas de plantas. El suelo restante puede incluir materia orgánica con un tamaño de partícula de 1 cm o menos.
- g. Etiquetar la bolsa con la muestra de suelo usando papel indeleble. Deberá seguir el sistema de nomenclatura sistemática (hoja de metadatos).
- h. Limpiar las herramientas con etanol entre cada punto de muestreo (no es necesario entre las 5 submuestras).

5- Recopilar las coordenadas GPS exactas del punto central con la mayor precisión posible para asegurarse de que el equipo de detección remota pueda encontrar el lugar fácilmente cuando llegue al sitio. Preferiblemente en formato decimal (por ejemplo, "63,1234567, 20,1234567").

6- Si el equipo de inventario forestal o el equipo de suelos ya llegaron al sitio, utilice (si es posible) las mismas parcelas que utilizaron para el muestreo utilizando el árbol etiquetado y una brújula.

7- Si ningún otro equipo ha estado en el lugar, buscar el árbol vivo sano más cercano al centro de la parcela y marcarlo con spray. Se emplean dos líneas horizontales visibles desde todos los lados del árbol (dos anillos). Si hay muy pocos árboles (o ninguno) en el rodal, colocar un palo de madera en el suelo para marcar la ubicación, o una varilla de acero corrugado o tetracero en su defecto.

8- Usando una cinta métrica, medir la distancia entre el árbol etiquetado y el punto central. Usando una brújula, medir el ángulo entre el norte y la dirección desde el árbol hasta el punto central y reflejar esta información en la hoja de cálculo de Excel.

9- Para cada ubicación (5 dentro de cada parcela) recopilar también:

- a. Hora exacta de recolección
- b. Nombre del recolector
- c. Toda la información que pueda proporcionar sobre las condiciones climáticas (esto es muy útil y simplemente apuntando la previsión de temperatura diaria es mejor que no poner nada).
 - Precipitaciones (en mm, 0 si no llueve)
 - Temperatura diaria (media, max, min en °C)
 - Si es posible, velocidad del viento (km/h).

Opcional para cada registro de ubicación

1. Si es posible, tomar fotografías definidas del sitio: (a) rodal forestal, (b) terreno forestal (que muestre de manera óptima el área entre y alrededor de los cinco núcleos + la etiqueta del árbol, (c) dosel arbóreo. Los pasos 8 y 9 serán útiles para garantizar que las muestras reflejen la biodiversidad del rodal en lugar de la biodiversidad del árbol más cercano. Esta información podría usarse para corroborar los datos de detección remota.
2. Incluir esta información (paso 6-10) en las columnas dedicadas de la hoja de metadatos impresa.
3. Utilizar la brújula para determinar los cuatro puntos cardinales y delimitar los cuadrantes.
4. Una vez que hayas regresado del campo, anotar la información del día en la hoja de Excel y almacenarla convenientemente.

3.4. Secado de la muestra y almacenamiento

1. Colocar la bolsa que contiene la muestra compuesta en una bolsa zip-loc que contiene gel sílice naranja (por el indicador de humedad).
2. Etiquetar las bolsas zip-loc (que coincidan con el nombre de la etiqueta de la muestra compuesta) usando papel indeleble y siguiendo el sistema de etiquetado anterior.
3. Retirar un poco de aire de la bolsa antes de sellarla.
4. Una vez que el sílice se vuelva azul, abrir la bolsa de nuevo y reemplazar el sílice azul con sílice naranja.

5. Repetir la operación cada pocas horas hasta que el sílice permanezca de color naranja. (La duración total del proceso depende de la humedad del suelo).
6. Colocar las muestras en el congelador cuando el sílice permanezca de color naranja y deje una pequeña cantidad de perlas de sílice para garantizar que el ambiente permanezca seco.
7. Para reutilizar el sílice que se utilizó para otras muestras, hornear el sílice azul en un horno a 150 grados centígrados hasta que vuelva a tomar un color naranja. El proceso dura un poco más de una hora. Tenga cuidado de no calentar directamente las muestras de suelo.

3.4. Envío

El personal de Cesefor recomienda utilizar MRW como su mensajería preferente por la existencia de una mayor oferta de servicios de mensajería urgente. No obstante, recomendamos que se ponga en contacto con su mensajería preferida para obtener más información sobre las modalidades de envío existentes.

Al preparar las muestras de suelo para su envío, asegurarse de que las bolsas estén selladas con cinta adhesiva para evitar aperturas accidentales, y de que cada muestra esté etiquetada.

Asegurarse de que cada zip-loc contenga algo de sílice naranja (es decir que está seco).

Notificar al personal del Cesefor que enviará el paquete, detalles de seguimiento, fecha estimada de llegada e indicar el número de muestras.

Enviar el archivo de metadatos completo por correo electrónico y también una copia impresa con las muestras.

Para el envío de las bolsas a Inbiotec parece conveniente el uso de cajas de poliestirén con bloques térmicos que se hubiesen metido el día anterior en un congelador y encargar un servicio de mensajería de un día para otro. Habrían de llegar a Inbiotec con tiempo suficiente para procesarlas en el día (no un viernes al mediodía, por ejemplo).

Enviar a:

Inbiotec-Cesefor

Av. Real, 1, 24006 León, España

Teléfono: [+34 987 21 03 08](tel:+34987210308)

ANEXO IV. Protocolo de grabaciones acústicas de aves y quirópteros

Como parte de los estudios de biodiversidad, se utilizarán grabadores acústicos pasivos para caracterizar el "paisaje sonoro" de diferentes bosques e identificar la variedad de especies que emiten sonidos.

Para ello, se proporcionarán grabadores *Wildlife Acoustic SongMeter MiniBat*. Cada uno dotado con un micrófono acústico adicional, 4 pilas AA recargables y una tarjeta SD de 256 GB. Se han elegido estos dispositivos porque son muy fiables, además de que la empresa *Wildlife Acoustic* (WA) (<https://www.wildlifeacoustics.com/resources/>) proporciona mucha documentación sobre cómo utilizarlos y porque tiene la capacidad de registrar aves y murciélagos, los cuales son de gran interés para la restauración forestal.

Para este dispositivo, la mayoría de los controles y la interacción se realizan a través de una aplicación móvil. Para obtener más información sobre cómo comenzar a usar las grabadoras MiniBat la mejor opción es ver los tutoriales aquí (los vídeos también están disponibles en español).

<https://www.wildlifeacoustics.com/resources/video-tutorials/song-meter-mini-bat/en/song-meter-mini-song-meter-mini-bat-quick-start>

Estas instrucciones engloban:

1. Interior físico de la grabadora.
2. Cómo agregar el micrófono acústico.
3. Cómo ver el estado de la grabadora.
4. Cómo configurar la grabadora.

Los dos últimos vídeos sobre paquetes de baterías de iones de litio y soportes de seguridad no son relevantes.

Configuración

A su vez es importante comprender cómo utilizar la aplicación móvil para ingresar a una configuración de una grabación. Dentro del MiniBat, encenderlo y luego presionar el botón de emparejamiento de al lado durante tres segundos. En este punto, la aplicación resaltará el dispositivo MiniBat y le permitirá emparejar su teléfono/tableta con el MiniBat. Los vídeos describen cómo se puede guardar esta configuración en su teléfono para ayudar a ahorrar tiempo al ingresar varias veces.

Al configurar el MiniBat, cambia el nombre de la grabadora a "RodalXX", donde XX especifica el número del rodal. Este prefijo luego se escribirá al inicio de cada archivo de audio.

El MiniBat está diseñado para grabar murciélagos en frecuencias ultrasónicas, pero el micrófono acústico adicional significa que también puede grabar aves. La principal limitación para una mayor recopilación de datos es la duración de la batería, por lo que el programa se centrará en períodos clave para las aves alrededor del amanecer y el atardecer, y luego permanecerá activo para los murciélagos el resto de la noche.

1. Grabación acústica: 1 hora antes del amanecer hasta 3 horas después.
2. Grabación acústica: 1 hora antes del atardecer hasta el atardecer.
3. Grabación ultrasónica: desde el atardecer hasta 1 hora antes del amanecer.

Según las últimas investigaciones se ha podido ajustar y reducido el tiempo hasta 10 minutos. Si está interesado está desarrollado en el artículo científico de Wood et al. (2021) donde se explora la suficiencia de tiempo de muestreo.

Protocolo de campo

Al transportar los MiniBats, hay que hacerlo con cuidado con ambos micrófonos, ya que obviamente son las partes más sensibles del dispositivo.

- Antes de ir al campo, verifique que todas las baterías/pilas estén completamente cargadas.
- Una vez en campo, conectar las grabadoras a los árboles en el centro del rodal y registrar la posición GPS (la ubicación también se actualiza en el MiniBat desde la aplicación del teléfono). Utilice bridas o correas de velcro para fijar el MiniBat a un árbol de aproximadamente a 1 ó 2 metros de altura. Si no hay árboles, colocar un poste resistente para poder montarlos. Cuando se vuelve al rodal para recoger la grabadora, se apaga la grabadora, retira la tarjeta SD y se lee los datos en un portátil (que tenga un lector de tarjetas SD). Una vez descargados los datos, se reemplaza la tarjeta SD, se coloca un juego de pilas cargadas y se colocan de nuevo.

Si las grabaciones se realizan en terrenos públicos, es **MUY** importante que se tenga cuidado de ubicarlas fuera de la vista y de los caminos. Notificar también a los propietarios que se están realizando estudios acústicos. El principal riesgo para este elemento del proyecto será la interferencia humana y el robo.

Si las pilas están completamente cargadas en el momento de la colocación, este programa debería poder funcionar de 9 a 10 días. Dado que esta sería la duración máxima de las mismas, se ha propuesto la instalación de las grabadoras en cada sitio de muestreo durante 7 días.

Esto implica que ante la disponibilidad de menos grabadoras, y la existencia de 18 sitios de muestreo, es necesaria la rotación de los dispositivos entre los diferentes sitios para poder abarcar todos.

Datos

La configuración de grabación acústica a 10 minutos es para mantener los archivos individuales más pequeños (26 Mb). Sin embargo, esto rápidamente se escala:

	Número de archivos	Tamaño total de archivos
1 día: 4 horas por la mañana y una hora por la noche	30	780 MB
7 días: (30-35 horas)	210	5,4 GB
24 grabadoras por 7 días	5040	130 GB

Este total no incluye las grabaciones de ultrasonidos provocadas por el paso de los murciélagos. En principio, la transferencia de datos se puede lograr almacenando las grabaciones en un disco duro externo que luego será entregado/enviado a Cesefor desde donde se podrán descargar y almacenar localmente. Una vez descargada la copia localmente, se hará saber para que se pueda eliminar las copias del disco duro si fuera necesario para liberar espacio. Si esto no resulta práctico, se identificará una mejor solución en común.

Se debe proporcionar los siguientes metadatos con los archivos acústicos:

- Rodal (como arriba, en el formato 'RodalXX' para que coincida con los nombres de archivos)
- Fecha de inicio de la grabación
- Fecha en que finalizó la grabación
- Coordenadas GPS dentro del rodal.
- Condiciones climáticas durante la colocación (esto es muy útil y simplemente anotar los pronósticos diarios regionales es mejor que nada)
 - Temperatura diaria (min, media, max)
 - Días en los que hubo lluvia
 - Velocidad del viento
- Una lista de cualquier especie de ave registrada/observada en esta área (esto es opcional, pero será útil para tener una idea de qué buscar en las grabaciones).

