
Efectos del uso del suelo sobre la
variabilidad genética de poblaciones de
lombrices de tierra

Trabajo de tesis para optar por el título de Doctora en Ciencia y Tecnología de la
Universidad Nacional de General Sarmiento

Autora: **Lic. Macarena Haydeé Rionda**

Director: Dr. Pedro Fernández Iriarte

Consejero de tesis: Dr. Fernando Roberto Momo

Marzo de 2019

FORMULARIO "E"

NIVELES DE ACCESO AL DOCUMENTO AUTORIZADOS POR EL AUTOR

El autor de la tesis puede elegir entre las siguientes posibilidades para autorizar a la UNGS a difundir el contenido de la tesis: a)

- a) *Liberar el contenido de la tesis para acceso público.*
- b) *Liberar el contenido de la tesis solamente a la comunidad universitaria de la UNGS:*
- c) *Retener el contenido de la tesis por motivos de patentes, publicación y/o derechos de autor por un lapso de cinco años.*

a. Título completo del trabajo de Tesis: **Efectos del uso del suelo sobre la variabilidad genética de poblaciones de lombrices de tierra**

b. Presentado por: **Lic. Macarena Haydeé Rionda**

c. E-mail del autor: **mrionda@ungs.edu.ar**

d. Estudiante del Posgrado: **Doctorado en Ciencia y Tecnología**

e. Institución o Instituciones que dictaron el Posgrado: **Universidad Nacional de General Sarmiento**

f. Para recibir el título de (consignar completo):

a) Grado académico que se obtiene: **Doctora**

b) Nombre del grado académico: **Doctora en Ciencia y Tecnología**

g. Fecha de la defensa: / /

h. Director de la Tesis: **Dr. Pedro Fernández Iriarte**

i. Tutor de la Tesis: **Dr. Fernando R. Momo**

j. Colaboradores con el trabajo de Tesis:

k. Descripción física del trabajo de Tesis: la presente tesis consta de 144 páginas, 12 tablas y 58 figuras.

l. Alcance geográfico y/o temporal de la Tesis: Los resultados de la presente tesis corresponden a sitios de la localidad de Luján, Buenos Aires y son extrapolables a sitios con el mismo tipo de suelo de la Región Pampeana. La variación temporal de las variables fue registrada durante 7 años.

m. Temas tratados en la Tesis (palabras claves):

uso del suelo – agricultura – ganadería – variabilidad genética – *Aporrectodea caliginosa*- ISSR

n. Resumen en español (hasta 1000 caracteres):

En Argentina el 54% del suelo cultivable se utiliza para agricultura. El grado de perturbación del sistema edáfico puede medirse a través de variables físicas, químicas y biológicas. Nos interesan más las que dan una alerta temprana de los efectos de la perturbación. El componente genético nos señala la capacidad adaptativa de una especie para responder a perturbaciones ambientales.

Se estudió el efecto de varios usos del suelo sobre la fauna edáfica midiendo las variables físicas y químicas y analizando las comunidades de macro y mesofauna. Al mismo tiempo se cuantificó y comparó la variabilidad genética de poblaciones de la lombriz *Aporrectodea caliginosa* en lotes con tres usos diferentes. La variabilidad genética se caracterizó mediante la técnica de ISSR-PCR.

Se reconocieron variables físicas y químicas con umbral de detección alto, que discriminan lotes muy perturbados del resto. Las variables biológicas y el pH tuvieron un umbral de detección más bajo, por lo tanto sirven como alerta temprana de cambios. En particular, las variables genéticas, guardan además un registro acumulado de las expansiones y reducciones poblacionales, lo que las hace sumamente valiosas para diseñar un indicador integral de la perturbación del suelo.

o. Resumen en portugués (hasta 1000 caracteres):

Na Argentina, o 54% do solo cultivável utiliza-se para a agricultura provocando diferentes perturbações no sistema. Inúmeras variáveis físicas, químicas e biológicas medem o grau de perturbação produzido. Das variáveis afetadas interessam-nos aquelas que detectam perturbações precocemente. O componente genético assinala a capacidade adaptativa de uma espécie para responder às perturbações ambientais.

Visamos estudar o impacto de diversos usos do solo sobre a fauna no nível genético-populacional. Para isso temos quantificado e comparado, pela técnica do ISSR-PCR, a variabilidade genética de populações da espécie de minhoca *Aporrectodea caliginosa* em lotes com diferentes usos, e temos avaliado o efeito dos usos sobre a variabilidade genética.

Temos reconhecido variáveis físicas e químicas com umbral de detecção alto, que discriminam lotes muito perturbados dos restantes. As variáveis biológicas junto com o pH tem um nível de detecção mais baixo, portanto servem como alerta precoce de mudanças. Particularmente, as variáveis genéticas, além de detectar pequenas mudanças, guardam um registro acumulado das expansões e reduções do número de indivíduos da população, o que as faz sumamente valiosas na hora de desenhar um indicador integral da perturbação do solo.

p. Resumen en inglés (hasta 1000 caracteres):

In Argentina 54% of arable land is used for agriculture and the largest percentage of this exploitation is carried out in the Pampean region causing different disturbances to the system. Several physical, chemical and biological variables measure the degree of disturbance produced. We are interested in those variables that detect disturbances early because they can be useful as alert signals. Within the biological variables, the genetic component represents the adaptive capacity of a species to respond to environmental disturbances.

In this work soil physical and chemical variables were measured and the macro and mesofauna was analyzed. Also the genetic variability of populations of the species

Aporrectodea caliginosa was quantified by ISSR-PCR technique and compared for different land uses.

Physical and chemical variables with a high detection threshold were recognized. These variables discriminate very disturbed lots from the rest. We also found variables with a lower detection threshold which serve as early warning of small changes. In this group of variables we include pH and the biological ones. In particular, genetic variables are capable to detect small changes in the soil status which makes them extremely valuable when we design soil disturbance indicators.

q. Aprobado por:

Dra. Anahí Domínguez

Dra. Ada Albanese

Dr. Di Ciocco César

Firma y aclaración de la firma de la Presidenta del Jurado:

Firma de la autora de la tesis:

Efectos del uso del suelo sobre la variabilidad genética de poblaciones de lombrices de tierra

Aportes Originales:

En la presente tesis se identifican variables útiles para la detección de deterioro en el suelo y demuestra que los cambios genéticos en especies testigo pueden ser un indicador temprano de cambios posiblemente irreversibles en el funcionamiento del ecosistema. En particular, en este trabajo se estima por primera vez la variabilidad genética de esta especie de lombriz en relación con el uso del suelo que habita y el resto de las variables físicas, químicas y biológicas que habitualmente dan cuenta de la perturbación del sistema. En este sentido se reafirma la importancia de las variables biológicas y dentro de ellas, de las variables genético-poblacionales, en la detección temprana de cambios ambientales que colaboren en el monitoreo y el manejo de suelos.

A María Eva y José Francisco

AGRADECIMIENTOS

A Juan Manuel, por su invaluable aporte a este trabajo, allanando el camino que transité en esta etapa en una reiterada muestra de amor.

A mis hijes, por acompañar y entender las momentáneas ausencias.

A mi mamá que me enseñó a escribir.

A mi familia, de aquí y de allá, que me apoyó y acompañó en este proceso.

A María del Carmen, por ser una pieza clave en la organización familiar y por cocinar tan rico.

A mi consejero, compañero y amigo Fernando, que confió en mí para desarrollar esta línea y me dio ánimo y confianza para lograr este manuscrito.

A Pedro, mi director, por su confianza, paciencia y aportes al escrito.

A Marcelo Massobrio por influir en mi decisión de iniciar este doctorado.

A les jurades de esta tesis, por aceptar esta tarea y enriquecer enormemente este trabajo con sus comentarios.

A Lili Falco, a Andrés Duhour y a les estudiantes y amigos que colaboraron en los muestreos y me enseñaron a mirar el suelo y a descubrir sus secretos.

A mis compañeres de laboratorio y amigos de la UNGS por compartir avances y mitigar con unos mates la desolación del gel en “blanco”.

A les colegas, que en cada CONEBIOS enriquecieron mis conclusiones y abrieron nuevas puertas para seguir investigando.

A les compañeres del gremio docente ADIUNGS por darme aliento y enseñarme a defender otras tantas cosas necesarias para mejorar el trabajo científico universitario.

Al Instituto de Ciencias y a la Universidad Nacional de General Sarmiento por su apuesta y financiamiento al desarrollo de nuevas líneas de investigación.

Al la Universidad Nacional de Luján por permitirme trabajar en sus lotes experimentales y brindarme la infraestructura necesaria.

A la Universidad Nacional de Mar del Plata por recibirme en su laboratorio de Genética para poner a punto la técnica de ISSR.

Al proyecto político, que me permitió vivir dignamente de lo que elegí y en mi país.

INDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	7
II. MATERIALES Y MÉTODOS	17
II.1 ÁREA DE ESTUDIO Y MUESTREO	17
II.1.1 UNLu	20
II.1.2 Etchegoyen	23
II.2 METODOLOGÍA DE MUESTREO	25
II.2.1. En el campo	25
II.2.2 En el laboratorio	26
II.2.2.1 Obtención y amplificación de ADN	26
II.2.2.2 Medición de biodiversidad edáfica	29
II.2.2.3 Medición de variables químicas del suelo	31
II.2.2.4 Medición de variables físicas del suelo	32
II.3 ANÁLISIS DE LOS DATOS	34
II.3.1 Datos genéticos	34
II.3.2 Datos faunísticos, químicos y físicos del suelo	38
III. RESULTADOS	40
III.1 VARIABLES BIOLÓGICAS DEL SUELO	40
III.1.1 Variabilidad genética en poblaciones de lombrices (<i>Aporrectodea caliginosa</i>)	40
III.1.1.1 Descriptiva de los marcadores	40
III.1.1.2 Medidas de variabilidad genética en cada población	41
III.1.2 Variabilidad ecológica del suelo	63
III.1.2.1 Medidas de variabilidad de la mesofauna del suelo	63
III.1.2.2 Medidas de variabilidad de la comunidad de lombrices de tierra	74
III.2 VARIABLES QUÍMICAS DEL SUELO	82
III.2.1 Nitrógeno total del suelo	83

<i>III.2.2 pH del suelo</i>	85
<i>III.2.3 Materia orgánica del suelo</i>	87
III.3 VARIABLES FÍSICAS DEL SUELO	90
<i>III.3.1 Densidad Aparente</i>	94
<i>III.3.2 Porosidad del suelo</i>	96
<i>III.3.3 Humedad del suelo</i>	104
IV. DISCUSIÓN	110
V.CONCLUSIONES	123
ANEXOS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
VI.BIBLIOGRAFÍA	129



Existen numerosas definiciones del suelo y paradigmas que subyacen a su estudio. Desde la definición netamente estructural del suelo como **entidad geológica**, producto de alteraciones que el clima y los organismos producen en sus materiales: rocas, minerales, etc. (Simonson, 1984), hasta la consideración del suelo como **ente holístico de la edafósfera**, donde el suelo es definido como una esfera de frontera, con rasgos organizativos propios y en interacción con otras esferas primarias como la atmósfera, la litosfera, la hidrosfera, o la biosfera (Ibáñez y García Álvarez, 1991).

El punto de vista que se adopte nos permite describirlo de acuerdo a sus propiedades químicas y físicas, sus procesos, los servicios ecosistémicos que brinde, etc. En esta tesis se concibe al suelo como un **subsistema de los ecosistemas terrestres** y se lo estudia poniendo énfasis en los aspectos biológicos, bioquímicos y ecológicos. Se evaluó el impacto del uso del suelo sobre distintas variables, en relación con los procesos biológicos que en él ocurren y se destacó su naturaleza dinámica. Se entiende que algunas de las características del suelo se mantienen casi invariables en la escala temporal del estudio, mientras que otras cambian notablemente en asociación al uso que de él se haga. El estudio de estas últimas permitirá detectar cambios en la funcionalidad del ecosistema.

Comprender la escala temporal que rige cada grupo de variables posibilita la comprensión de la dinámica de estas variables y el diseño de muestreos que permitan responder preguntas en esa escala temporal, acercándonos a la propuesta de Lavelle (2002) que propone estudiar al suelo con una visión holística al analizar sus dominios funcionales. Además permitirá proyectar el tiempo que insume volver a una condición de interés (por ser más sustentable o más productiva u otras razones).

Desde comienzos de la Edad Antigua (3500 años a.C.) hasta la actualidad se registra un creciente uso del suelo con fines productivos (explotación ganadera, agrícola, forestal, minera e industrial). A nivel mundial el 11% de la superficie de suelos (cerca de 1500 millones de hectáreas) se explota con fines agrícola-ganaderos y el 1.9% con fines forestales maderables, que consisten en bosques plantados (FAO 2006 y Evaluación de recursos forestales mundiales, FRA 2010). En Argentina el 52 % de su superficie está cubierta por pasturas permanentes o praderas, del resto, cerca del 12% se explota con fines agrícolas (33 millones de has.). Si lo ponemos en relación al total de la superficie cultivable, en Argentina, el 54% del suelo cultivable se utiliza para agricultura (FAOSTAT, 2014). En particular en la región en estudio, la pampeana, se practica el 80% de la explotación agrícola de todo el país (Pizarro, 2003; Vázquez y Rotondaro, 2005). El uso del suelo con fines productivos involucra diferentes perturbaciones en el sistema como la labranza, la aplicación de agrotóxicos o la introducción de ganado.

Numerosos estudios reflejan el impacto del uso del suelo sobre diferentes variables física y químicas como el incremento de la densidad aparente del suelo y la reducción de la porosidad en suelos agrícolas (Sanzano et al., 2012), la reducción del contenido de materia orgánica (Dexter, 1991; Sanzano et al., 2012) y la disminución del carbono orgánico en suelos agrícolas (Poeplau et al., 2011), la acidificación en suelos bajo explotación forestal (Gelati y Vázquez, 2008), y agrícola (Andreau et al., 2012), por mencionar solo algunos trabajos. Unos pocos estudios proponen la incorporación de nutrientes mediante enmiendas (Andreau et al., 2012) o algún tipo de labranza (Álvarez et al., 2006; Alzugaray et al., 2008) con el objeto de recuperar las características que se modificaron en el sistema bajo explotación.

Como comenta van Straalen (1998), si bien se comenzaron a publicar trabajos sobre indicadores biológicos a principios del siglo XX, fue a fines de ese siglo cuando algunos estudios comenzaron a considerar a la fauna edáfica como variable afectada

por el uso del suelo. Muchos trabajos estudian el efecto del uso agrícola o ganadero y toman como referencia el suelo del borde, o del pastizal o de un bosque cercano y registran un impacto negativo en la abundancia, en la densidad y en la biomasa de la macrofauna (organismos mayores a 2mm de diámetro) y de la mesofauna (organismos con diámetro corporal entre 0.2 y 2 mm). Mencionamos por ejemplo el estudio de Díaz Porres et. al (2014) que informan una menor densidad y biomasa de la macrofauna en suelos agrícolas o el trabajo de Menta et.al (2011) que muestra una menor riqueza de taxones de la mesofauna en suelos agrícolas, comparativamente con la registrada en el suelo del bosque o del pastizal. Estudios sobre algunos grupos particulares de la macrofauna lo corroboran, como el de Domínguez et.al (2010) que registra una caída en la abundancia de lombrices, hormigas, carábidos y arañas del suelo agrícola con siembra directa en comparación con el pastizal, o el de Bedano et. al (2016) que muestra una reducción en la cantidad de hormigas de suelos agrícolas con labranza convencional o siembra directa o los trabajos de Duhour et al (2009); de Roart y Schmidt (2013); de Crittenden et al. (2015) y de Falco et al (2015) que muestran una menor densidad de lombrices en suelos agrícolas con labranza convencional o reducida en comparación con la densidad de lombrices del borde o del pastizal naturalizado.

En la mesofauna también se registran los mismos efectos. Diferentes autores publican una menor abundancia de ácaros en suelos agrícolas (Bedano et. al, 2006a; Arolfo et. al, 2010; Bedano et. al, 2011 y Bedano et.al, 2016), de colémbolos y paurópodos (Bedano et.al, 2006b), al compararla con las abundancias registradas en pastizales. En algunos grupos de la fauna el efecto del uso del suelo es diferente, varios trabajos registran variaciones en la abundancia de familias de colémbolos que acompañan una mayor abundancia y diversidad de colémbolos en sitios agrícolas (Sandler et.al, 2016) o de Symphyla (Bedano, et. al, 2006b) o de enquitreidos (Domínguez y Bedano 2016).

En la mayoría de los trabajos, la reducción de la abundancia acompaña una disminución de la diversidad en la comunidad del suelo. Algunos trabajos nos

muestran que la diversidad y la riqueza de especies (Domínguez et. al, 2010; García et. al, 2014) y la diversidad de grupos funcionales (Cabrera, 2012; Díaz Porres et. al, 2014) de la macrofauna es menor en sitios agrícolas que en pastizales. En el mismo sentido, la diversidad, la equitatividad y la riqueza de taxones de la macro y mesofauna (Menta et. al, 2011) y la conectividad entre especies de la mesofauna en suelos agrícolas también es menor que la del pastizal (Creamer et. al, 2016). Otros estudios no registran diferencias en la riqueza o la diversidad de lombrices que habitan diferentes suelos, mencionamos el trabajo de Falco et. al (2015) donde se informan valores similares de diversidad de Shannon en el pastizal y en el suelo agrícola con uso intensivo. En ese mismo trabajo no se observan diferencias en la riqueza de especies de lombrices en suelos con distinta intensidad de explotación, aunque si muestra mayores valores de riqueza de especies únicas (Chao) en suelos con elevada intensidad de explotación agrícola. En este mismo sentido el estudio de Frazão et. al (2017) no registra diferencias significativas en la riqueza de especies de lombriz de suelos agrícolas y del borde.

El advenimiento de nuevos sistemas de labranza, trae aparejado el estudio de su impacto en la fauna del suelo. En este sentido, numerosos estudios se centran en comparar el efecto de diferentes sistemas de labranza sobre la fauna de los suelos agrícolas. En la mayoría de estos estudios, en suelos con labranza convencional se registra la menor abundancia y biomasa de la macro- y mesofauna en comparación con sistemas agrícolas con siembra directa (Manetti et. al, 2013 y Pelosi et. al, 2014), o con suelos bajo labranza reducida (Kladivko et. al, 2001 y Crittenden et.al, 2015) o en sistemas con agricultura orgánica (Domínguez et. al, 2014). Estudios sobre carábidos (Marasas et.al, 1997 y Lietti et.al, 2008), arañas (Lietti et.al, 2008) y lombrices (Masín et.al, 2011) aportan evidencias en el mismo sentido. En relación a la mesofauna, la bibliografía indica que la intensidad de manejo del suelo reduce su abundancia (Pilatti et.al, 1988 y Piffner y Luka, 2000) y su biomasa (Ponge et. al, 2013).

Además de evaluar el impacto del uso del suelo sobre la abundancia de individuos, se considera el efecto sobre sus procesos fisiológicos, a través de la medición de la actividad enzimática y la respiración microbiana. Entre los trabajos en los que se analiza la actividad enzimática en suelos agrícola, encontramos en general una menor actividad de enzimas como la nitrogenasa (Di Ciocco, 2014) o la amidasa, la arilsulfatasa, la deaminasa, la invertasa, la celulasa y la ureasa (Bandick y Dick, 1999) en suelos agrícolas en comparación con pastizales. Algunos estudios no registran diferencia en la actividad enzimática en suelos agrícolas y en suelos no cultivados (Gianfreda et.al, 2005). Trabajo más recientes revelan una mayor velocidad en enzimas como la β -glucosidasa (Moscatelli et. al, 2012) o la deshidrogenasa, la arilsulfatasa y las fosfatasas ácida y alcalina (García Ruiz et.al, 2008) en sistemas con agricultura orgánica en comparación con la registrada en suelos con agricultura convencional. La medición de la tasa respiratoria registra valores superiores en pastizales naturalizados que en suelos agrícolas; y dentro de éstos se distinguen por su historia y uso previo (Di Ciocco et. al, 2014). Sin embargo los resultados relativos al tipo de labranza son diversos. Algunos autores (Ferrara et.al, 2017) proponen que luego de 4 años de cambiar de un sistema de labranza convencional a uno de siembra directa no se registran diferencias en el flujo de CO₂, mientras que otros (Mangalassery et.al, 2015) registran mayor biomasa microbiana y menor tasa respiratoria y mayor actividad enzimática en suelos con siembra directa.

De todas las variables que se ven afectadas por el uso del suelo nos interesan aquellas que detectan perturbaciones tempranamente, a los efectos de registrar incipientes cambios ecosistémicos que sirvan de alerta y nos guíen en el manejo del recurso.

A la hora de estudiar los procesos que ocurren en el suelo y el efecto que ciertos usos causan sobre estos procesos, es de gran importancia la elección de variables que se medirán. Algunas variables están fuertemente asociadas al tipo de suelo y al origen del mismo, y probablemente mostrarán pocos cambios en suelos con

diferentes usos. Otras variables cambiarán notablemente y entre ellas buscaremos aquellas que registren el efecto de los diferentes usos del suelo. Tanto unas como otras son importantes al momento de realizar una interpretación integral de procesos que ocurren en distintas escalas temporales. La interpretación integral de todas las variables que intervienen en la caracterización del ecosistema suelo nos permitirá comprender su funcionamiento y predecir su respuesta frente a las modificaciones impuestas.

Hace pocos años se comenzó a considerar el impacto del uso del suelo sobre la componente genética de los organismos que lo habitan. En ensayos de laboratorio se registraron daños significativos en el ADN de lombrices de la especie *Eisenia fetida* expuestas a dosis elevadas de diferentes herbicidas como el acetoclor (80 mg/kg) en trabajo de Xiao, et. al (2006), o la atrazina (2.5 – 10 mg/kg) publicado por Song et.al (2009).

Diversos estudios analizan el impacto del uso del suelo sobre la diversidad genética. Se registra por ejemplo una reducción significativa en la diversidad de secuencias en poblaciones de hongos y bacterias de suelos contaminados con efluentes industriales (Hafez y Elbestawy, 2009), menor heterocigosis en poblaciones de lombrices de la especie *Aporrectodea ictérica* que viven en pasturas ganaderas con elevada fragmentación de hábitats (Torres-Leguizamón et al., 2014) y menor diversidad genética en poblaciones de *Armadillidium vulgare* de suelos frente a los que habitan sitios agrícolas (Díaz Porres et.al, 2018).

Si consideramos el efecto sobre otra componente de la diversidad genética como es la estructuración poblacional, observamos que en varios trabajos se detecta un aumento de la estructuración genética en poblaciones de carábidos, asociado a la deforestación (Desenden et al., 1999) o al uso ganadero o agrícola del suelo en poblaciones de lombriz *Allolobophora chlorotica* (Dupont et al., 2015 y 2017). Otra componente de la diversidad genética analizada en varios trabajos fue la similitud genética y resultó mayor en poblaciones de lombriz *Lumbricus terrestris* y de molusco

(*Arion lusitanicus*) que habitan suelos con sistemas de labranza similares (Kautenburguer, 2006 b).

El análisis del polimorfismo generado por la amplificación aleatoria de regiones del ADN (RAPDs) o de secuencias comprendidas entre regiones repetidas del ADN (ISSR) permite cuantificar la variabilidad genética. Numerosos trabajos destacan la utilidad de este tipo de marcadores dominantes que no requieren información previa sobre la secuencia genómica a analizar, a diferencia de los marcadores co-dominantes (ej. microsatélites). Por citar algunos ejemplos mencionamos el trabajo de Dyer (1998) que utiliza este tipo de marcador para comparar la semejanza entre poblaciones de lombrices de cuatro especies diferentes en suelos australianos, o el de Kautenburguer (2006 a) que aplica marcadores RAPDs para comparar la estructura genética de poblaciones de *Lumbricus terrestris* en cinco sitios diferentes de Alemania. También Lentzsch y Gollmack (2006) utiliza un marcador dominante para estudiar la diversidad genética en poblaciones de *Aporrectodea caliginosa* de suelos agrícolas de Alemania. Si bien se ha extendido el uso del marcador ISSR en estudios de variabilidad genética, no se encuentran publicaciones en poblaciones de lombrices con este marcador. Los estudios de Roux (2007) utilizan la técnica de ISSR para analizar la estructura genética en 16 países del insecto *Plutella xylostella*, de Aranzamendi (2008 y 2014) lo aplica en el estudio de la diferenciación genética de poblaciones de mejillón *Nacella concinna* y *N. magellanica* en la Antártida Argentina y la costa Atlántica argentina respectivamente. El estudio de Machkour-M'Rabet (2009) analiza la diversidad genética en tarántulas de Méjico, mientras que Gasmi (2014) lo aplica al estudio de la diversidad genética del zooplancton fluvial en Francia y Díaz Porres et.al (2018) analizó con ISSR poblaciones del crustáceo *Armadillidium vulgare* y detectó mayor variabilidad genética en pastizales que en suelos agrícolas y ganaderos.

Resulta importante cuantificar la variabilidad genética en poblaciones de ambientes perturbados, dado que una drástica reducción de la variabilidad genética

afecta la capacidad de las poblaciones para desarrollar respuestas a los cambios ambientales (Amos y Harwood, 1998; Frankham et al., 2002) y este impacto se registra en el ecosistema al medir los procesos en los que la fauna interviene.

Las poblaciones de la fauna edáfica participan en procesos fundamentales para el sostenimiento del sistema suelo como son, el desarrollo de la estructura del suelo, la descomposición y transformación de la materia orgánica y la liberación y reciclado de nutrientes (Jenny, 1980; Coleman y Whitman, 2005). En todos estos procesos las lombrices juegan un rol importante (Lavelle, 1998; Edwards, 2004; Postma-Blaauw et al, 2006), además de representar la mayor biomasa viva en ecosistemas terrestres (Lavelle y Spain 2001). La especie de lombriz analizada, *Aporrectodea caliginosa* (Savigny, 1826), pertenece a la familia Lumbricidae, es de origen europeo y su distribución en la República Argentina es bastante amplia (de Mischis y Herrera, 2006). Se encuentra dentro del grupo de especies llamadas *peregrinas* al presentar una distribución mucho más amplia aquí que en su región de origen (Michaelsen, 1903). Esta distribución está asociada a su elevada tolerancia a las variaciones ambientales (Bouché, 1972; Sims y Gerard, 1999; Momo y Falco, 2009; Crittenden et al., 2014), lo cual le permite habitar tanto en agroecosistemas como en pastizales poco perturbados. Según la clasificación de Bouché (1972) y Lavelle (1983 y 1988), la especie analizada es endógea polihúmica dado que vive de manera permanente en el sustrato mineral orgánico del suelo, se alimenta de raíces muertas y de materia orgánica integrada al sustrato, construye galerías horizontales y es la principal especie homogeneizadora de minerales y materia orgánica de suelos agrícolas (Ferriere y Bouché, 1985). La elección de esta especie responde por un lado a su capacidad de tolerancia a cambios ambientales, lo que permite encontrarla tanto en ambientes poco perturbados como en suelos con alto grado de explotación agrícola o ganadero y ser utilizada como indicador de actividad biológica en el suelo (Paoletti et al, 1999). Por otro lado, los ensayos genético-poblacionales requieren de un número elevado de individuos en cada tratamiento (uso del suelo) y en los primeros muestreos se relevó

una mayor abundancia de esta especie en los diferentes usos analizados. Se suma también la capacidad de *Aporrectodea caliginosa* como organismo modelo en bioensayos ecotoxicológicos del suelo (Spurgeon et al., 2003 y Pelosi et al., 2013). De acuerdo a su dotación genética *A. caliginosa* es un organismo diploide ($2n=36$) (Kashmenskaya y Polyakov, 2008), con reproducción biparental obligada. Los rasgos morfológicos externos de esta especie permiten un fácil reconocimiento bajo lupa de los individuos maduros. Las lombrices se pueden considerar como un detector temprano de cualquier variación en las propiedades biológicas, químicas y físicas de los suelos, y, por ende, pueden ser un indicador de la calidad de este recurso (Paoletti, 1999; Nunes et al., 2007).

En ocasiones, la pérdida de variabilidad genética acompaña la reducción de la abundancia poblacional, sobretodo en especies con baja tasa migratoria (4-14 m/año) como las lombrices (Mather y Christensen, 1998; Mathieu et al., 2010; Eijsackers, 2011; Caro et al., 2013). Resulta importante entonces analizar, además del cambio en la abundancia de una especie, el cambio en su acervo genético dado que una población puede recuperar su abundancia en pocas generaciones pero **esto no implica recuperar su variabilidad genética**, sobre todo si esa recuperación en número se realiza a partir de una población pequeña con baja variabilidad genética (efecto cuello de botella). Una población con menor variabilidad genética es más vulnerable a cambios ambientales debido a que se reduce su capacidad de desarrollar respuestas a dicho cambio (Frankham et al., 2002).

Comprender el modo en que la variabilidad genética es afectada por la historia de uso del suelo, nos permite determinar si resulta útil incorporar esta medida al grupo de variables que habitualmente se consideran, al evaluar el estado funcional de un sistema.

Esta tesis tiene por **objetivo general** estudiar el impacto que diversos usos del suelo tienen sobre las características físicas, químicas y biológicas, con la intención de

aportar al desarrollo de indicadores biológicos de perturbación de suelos. Para ello se proponen como **objetivos particulares** de este trabajo:

- Cuantificar y comparar en lotes con diferentes usos la variabilidad genética de poblaciones de la especie *Aporrectodea caliginosa*, como organismo modelo,
- Cuantificar y comparar en lotes con diferentes usos la diversidad y la abundancia de la mesofauna y de las lombrices del suelo,
- Cuantificar y comparar en lotes con diferentes usos las características químicas y físicas del suelo,
- Evaluar la capacidad de diferenciación de cada variable sobre los distintos usos del suelo analizados.

Las hipótesis que ponemos a prueba son:

- 1) La variabilidad genética de poblaciones de la especie *Aporrectodea caliginosa* es menor en suelos con algún grado de explotación agrícola-ganadera en comparación con la registrada en poblaciones del pastizal.
- 2) La abundancia y diversidad de la mesofauna y de las lombrices es menor en suelos con uso agrícola y/o ganadero que en suelos del pastizal.
- 3) Las características químicas y físicas del suelo difieren en sistemas con distinto uso.
- 4) Las variables biológicas, en particular las genéticas, diferencian suelos perturbados mas tempranamente.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1 ÁREA DE ESTUDIO Y MUESTREO

Los muestreos se realizaron en el noroeste de la provincia de Buenos Aires: en lotes experimentales de la Universidad Nacional de Luján (UNLu) sobre la Ruta Nacional nº 5 km 65 ($34^{\circ} 35' 50''$ S; $59^{\circ} 04' 00''$ O) y en lotes rurales de Etchegoyen a 2 km de la Ruta Nacional nº 6 km 169, en la localidad de Open Door, Luján ($34^{\circ} 26' S$; $59^{\circ} 04' O$), distantes entre sí por 17 km. La figura 2.1 muestra la ubicación de ambos sitios. La vegetación dominante es la pseudo-estepa de gramíneas (Orgeira et al, 2009), dentro de la provincia biogeográfica Pampeana de la Subregión Chaqueña en la Región Neotropical (Morrone, 2002). Los suelos bajo estudio pertenecen al grupo taxonómico Argiudol con un horizonte de arcillas relativamente delgado que migró de horizontes superiores. Dentro de este grupo, los suelos estudiados en la UNLu pertenecen a la serie Mercedes, de color pardos, moderadamente bien drenados con pendiente entre 0.5 y 1%, de textura franco limosa y con 24% de arcilla, 60% de limo y 16% de arena en el horizonte A. Por otro lado, los suelos estudiados en Etchegoyen pertenecen a la Serie Portela, son oscuros, bien drenados, con pendientes menores al 0.5% aunque susceptibles de sufrir erosión hídrica. Presentan una textura franco arcillo limosa y su horizonte A presenta 27% de arcilla, 58% de limo y 9% de arena (Panigatti, 2010). La precipitación media anual es de 1000 a 1100 mm y la temperatura media del aire en verano es de $22^{\circ} C$ y en invierno de $9^{\circ} C$ (SMN-San Miguel, período 1981-2010). La figura 2.2 detalla el promedio mensual de precipitaciones y temperatura de los meses de muestreo registrada en la Estación agrometeorológica CIDEPA-UNLu ($34^{\circ} 36' S$, $59^{\circ} 04' O$) de la ciudad de Luján. En cada uno de los sitios de muestreo mencionados se incluyeron usos de suelo diferentes: lote bajo explotación agrícola exclusivamente, lotes bajo explotación agrícola con rotación a uso ganadero cada dos o cuatro años,

lote bajo explotación ganadera y lotes de pastizal natural sin intervención antrópica tomados como sistema de referencia. Las tablas 2.1 y 2.2 de los apartados subsiguientes detallan las características en cada sitio.

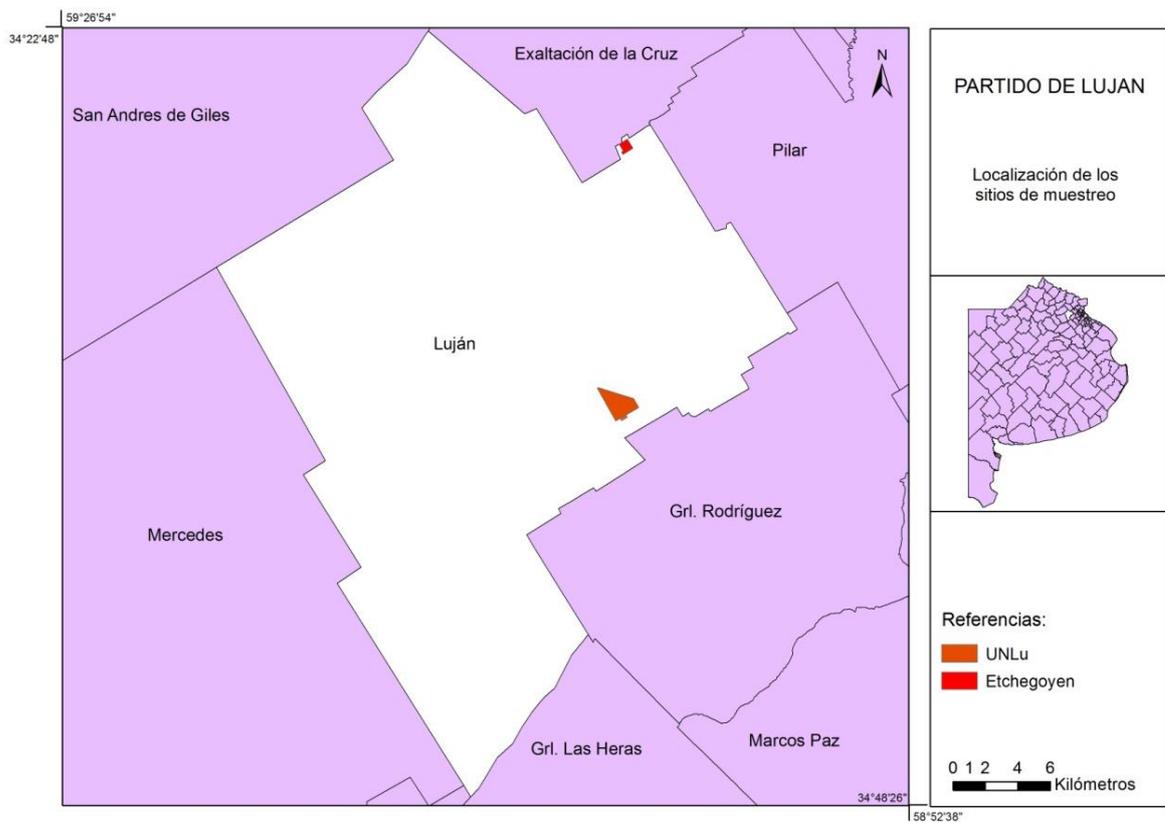


Figura 2.1. Mapa de ubicación de los sitios de muestreo UNLu y Etchegoyen en el partido de Luján. UNLu: Universidad Nacional de Luján. Mapa gentileza Pamela Flores y Mónica Díaz Porres.

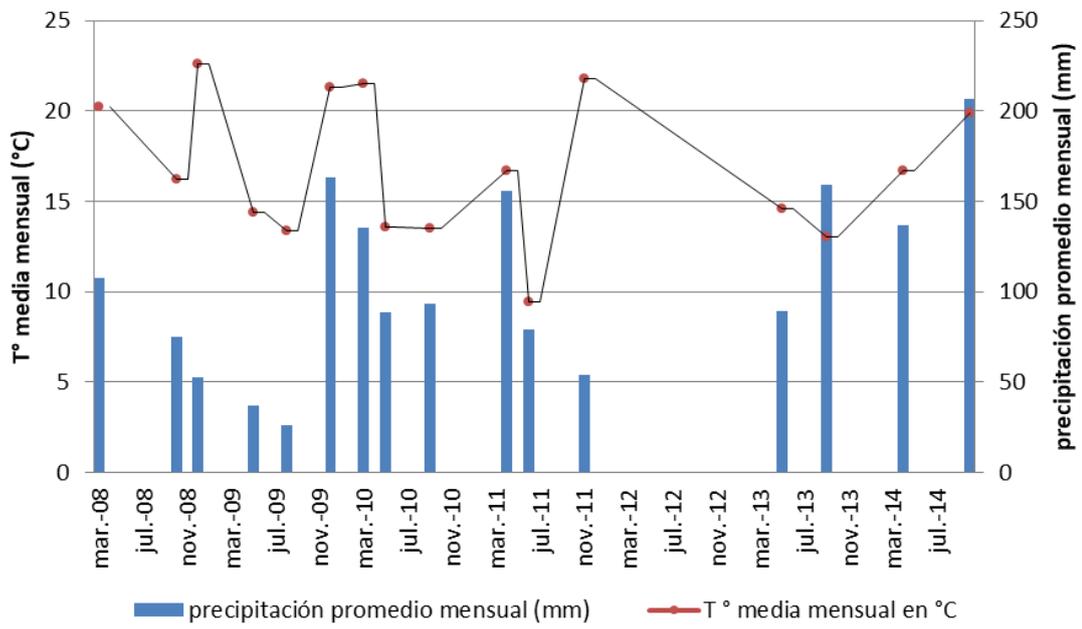


Figura 2.2 Precipitación promedio mensual (mm) y temperatura media (°C) mensual (mínima y máxima) en los meses de muestreos. Fuente: Estación agrometeorológica CIDEPA-UNLu (34 °36' S, 59 °04' O, 28 msnm).

II.1.1 UNLU

El predio experimental de la Universidad Nacional de Luján comprende aproximadamente 165 ha distribuidas en 30 lotes con diversos usos y manejos (cría de ganado para producción lechera, producción agrícola, apicultura, experimentación, reserva arbórea, entre otras). La figura 2.3 ubica los tres lotes estudiados dentro de este sitio y la tabla 2.1 resume la historia de cobertura y el tipo de labranza de cada lote estudiado en los últimos 25 años (detalles en el anexo 1).



Figura 2.3 Mapa de ubicación de los lotes muestreados en UNLU. Referencias: AG1: agrícola mixto 1, AG2: agrícola mixto 2 y PU: pastizal. (Gentileza Pamela Flores y Mónica Díaz Porres).

Tabla 2.1 Resumen comparativo de las características de los lotes estudiados en Etchegoyen (PE, GE y AE) y en UNLu (PU, AG1 y AG2); Período 1999-2014. ¹ Se considera la antigüedad bajo explotación agrícola para definir el nivel de aplicación de agrotóxicos. ² Se definió el tipo de labranza de acuerdo al Manual de prácticas integradas de manejo y conservación de suelos de la FAO (Benítez y Friedrich, 2009).

	<i>Pastizal (PE)</i>	<i>Pastizal (PU)</i>	<i>Ganadero (GE)</i>	<i>Agrícola (AE)</i>	<i>Agrícola- ganadero 1 (AG1)</i>	<i>Agrícola- ganadero2 (AG2)</i>
Superficie (ha)	1	7	0.51	4	8.5	9
Antigüedad de explotación	--	--	7 años	>17 años	31 años	30 años
Aplicación agrotóxicos ¹	NO	NO	+	++	++	++
Aplicación fertilizantes						
Años de labranza convencional ²	--	--	--	2	12	14
Años de labranza reducida ²	--	--	--	14	2	2
Años de labranza cero (Siembra directa) ²	--	--	--	--	13	13
Años de pisoteo de ganado	--	--	6	--	13	18
Tipo de ganado	--	--	Ovino		Vacuno	Vacuno

El lote Agrícola-ganadero 1 (AG1) mide aproximadamente 8.5 ha, tiene una historia de uso de más de 31 años, de los cuales 14 estuvieron dedicados a la rotación anual de maíz (*Zea maíz L.*) y avena (*Avena sativa L.*), y el resto de los años se sembró pastura permanente (Alfalfa monarca: *Medicago sativa*, trébol rojo: *Trifolium pratense L.*, Pasto Ovillo: *Dactylis glomerata L.*, Porto, cebadilla Ferro Olus: *Bromus unioloides* y Festuca Palenque: *Festuca pallescens*) y se incorporó a los lotes de pastoreo con ganado vacuno. De acuerdo a la caracterización del Manual de prácticas integradas de manejo y conservación de suelos de la FAO (Benítez y Friedrich, 2009), la labranza fue convencional (con uso de arado, dico o cincel y rastra) durante 9 años, luego se realizó labranza reducida por dos años y en los últimos 15 años, labranza cero (sin uso de arado no cincel).

El lote Agrícola Mixto 2 (AG2) mide aproximadamente 9 ha, linda con el lote AG1. Las transectas de muestreo de ambos lotes distaron 200 metros (figura 2.3) y tiene una historia de uso de 32 años, con siembra de pastura y pastoreo vacuno la mayor parte del tiempo (21 años), interrumpida con siembra de maíz (1996 con labranza convencional y 2000 con labranza reducida) y de Maíz-avena-sorgo (2007-2008 y 2012) con labranza cero. La explotación mixta (agrícola y ganadera) observada en los lotes AG1 y AG2 resulta una práctica frecuente. Se analiza el efecto sobre la fauna del suelo que pudiera mostrar esta práctica habitual en la Región Pampeana. Consideraremos que tanto AG1 como AG2 presentan el mayor grado de perturbación de los suelos analizados, debido principalmente a la antigüedad de uso (mas de 30 años). Entre estos dos suelos una pequeña diferencia se registra en la historia de pastoreo, siendo mayor en AG2 que en AG1.

Pastizal de la UNLu (PU) tiene aproximadamente 7 ha, dista 581 m del lote AG2 y 488 m del lote AG1 (figura 2.3), no registra uso agrícola ni ganadero en los últimos 32 años y es una pseudo-estepa de gramíneas combinada con cardo (*Dipsacus fullonum*), sorgo (*Sorghum halepense*), paja colorada (*Paspalum quadrifarium*), ligustro

(*Ligustrum sinense*), jara (*Bacharis sp.*), acacio negro (*Gleditsia triacanthos*) y eucalipto rojo (*Eucalyptus camaldulensis*) según describe Duhour (2011).

II.1.2 ETCHEGOYEN

Los lotes muestreados en Etchegoyen están comprendidos dentro de un campo de aproximadamente 50 ha, la mayoría bajo explotación agrícola y el resto destinada a vivienda y granja. La figura 2.4 ubica los tres lotes dentro de este sitio en los que se tomaron muestras. La tabla 2.1 (pág. 27) resume la historia de cobertura y el tipo de labranza de cada lote estudiado en Etchegoyen-Open Door de los últimos 16 años (Detalles en el anexo 1).



Figura 2.4. Mapa de ubicación de los lotes muestreados en Etchegoyen. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen) y NE: pastizal de Etchegoyen (Gentileza Vanesa Salinas y Mónica Díaz Porres).

El lote Agrícola de Etchegoyen (AE) mide aproximadamente 4 ha, una historia de uso de más de 17 años, la mayoría de los cuales estuvo dedicado exclusivamente a la agricultura con cultivo anual de soja (*Glicine max*), maíz (*Zea maíz L.*) y trigo (*Triticum sp.*) con labranza convencional los primeros dos años y labranza reducida los últimos 15 años. Este suelo será considerado intermedio en grado de perturbación, por presentar menor antigüedad de explotación que los suelos agrícola-ganaderos de UNLu, pero mayor que el lote ganadero de Etchegoyen.

El lote llamado Ganadero de Etchegoyen (GE) mide alrededor de media hectárea, dista aproximadamente 300 m del lote AE (figura 2.4) y tiene una historia de uso de 15 años como corral de ganado ovino (entre 20 y 40 cabezas por lote) desde 1987 pastoreando en cobertura natural (cardo: *Dipsacus fullonum*, sorgo: *Sorghum halepense*, paja colorada: *Paspalum quadrifarium*, trébol rojo: *Trifolium pratense L.* y Festuca Palenque: *Festuca pallescens*) en este lote y adyacentes (excepto en el lote AE y en el pastizal). Un solo año (2001) tuvo uso agrícola (maíz con labranza convencional). Este lote será considerado el menos perturbado de los lotes bajo explotación productiva en función de su escasa antigüedad y labranza en comparación con los lotes agrícolas analizados.

El Pastizal de Etchegoyen (PE) tiene aproximadamente una hectárea, dista 381 m del lote AE y 534 m del lote GE. No registra uso agrícola ni ganadero en los últimos 40 años y se encuentra cubierto por gramíneas y algunos cítricos (*Citrus x sinensis*, *Citrus x limón*), ligustro (*Ligustrum sinense*), jara (*Bacharis sp.*), acacio negro (*Gleditsia triacanthos*), eucalipto rojo (*Eucaliptus camaldulensis*), paraíso (*Elaeagnus sp.*) y magnolia (*Magnolia sp.*).

II.2.1. EN EL CAMPO

En cada uno de los seis lotes se efectuaron tres muestreos anuales, uno en otoño, otro en primavera (épocas de mayor abundancia de lombrices) y otro en invierno durante 7 años consecutivos (2008-2014). Durante el verano no se tomaron muestras debido a que en esta región, la mayoría de las lombrices se encuentran quiescentes en esa época como respuesta a las elevadas temperaturas y la menor humedad del suelo. Se trazó una transecta de 40 metros por lote en dirección SE-NO en los lotes de la UNLu y en dirección SO-NE en los de Etchegoyen. A los 20, 30 y 40 metros del inicio de cada transecta se colectaron vivos durante dos años (2009-2010) a mano todos los ejemplares de lombrices adultas y juveniles encontrados en un bloque de suelo de 25x25x20cm de profundidad. En los años subsiguientes (2012-2014) se colectaron solo ejemplares adultos (clitelados) de la especie *Aporrectodea caliginosa*. En los mismos puntos de la transecta se tomaron dos muestras de suelo: una con cilindro de PVC de 0.06 m de diámetro y 0.10 m de profundidad, que se llevó al laboratorio a los efectos de registrar las variables faunísticas (abundancia, riqueza y diversidad de grupos taxonómicos) durante 2011-2014 y las variables químicas (nitrógeno total, materia orgánica total y pH) correspondientes a los años 2008-2014. La otra muestra de suelo se tomó con un cilindro rígido metálico de 0.0725 m de diámetro y 0.058 m de profundidad desde 2008-2014 y se llevó al laboratorio para registrar las variables físicas (densidad aparente, porosidad total, macroporosidad y porcentaje de humedad). La elección de las variables se realizó considerando la importancia de las mismas en la distribución de la fauna del suelo (Momo et al., 1993; Guillen et al., 2006) y la factibilidad de medición en los suelos analizados.

II.2.2.1 OBTENCIÓN Y AMPLIFICACIÓN DE ADN

Se purgaron en papel tissue húmedo durante 36 horas las 197 lombrices adultas (cliteladas) de la especie *Aporrectodea caliginosa* obtenidas en cada punto (ver determinación de lombrices en apartado III.2.2.2.2) y se conservaron en etanol 96% a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Velavan et al. 2007) en la colección del laboratorio hasta el momento de extracción del ADN.

De cada individuo de *Aporrectodea caliginosa* se hidrataron 20 miligramos de tejido de los últimos segmentos corporales en etanol 30% durante 2 horas primero y luego por 10 horas en agua destilada. A continuación se extrajo con kit comercial el ADN de cada individuo y se sometió al tejido a una lisis con buffer y proteinasa K durante 2 horas en baño térmico a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, luego de lo cual se puso en contacto el homogenato con la sílica de las microcolumnas, se lavó y eluyó el ADN en buffer TE. Se cuantificó el ADN obtenido en gel de agarosa 1% teñido con Sybr Safe® y se usó como patrón de concentración ADN de fago lambda fragmentado con la enzima de restricción HindIII en tres concentraciones diferentes (5, 10 y $50\text{ ng}/\mu\text{l}$). Luego de 45 minutos de corrida electroforética a 100 V, se fotografió el gel sobre transiluminador uv con el sistema de documentación de imágenes Slider®. Se estimó la concentración de cada extracto con el programa Image J que permitió optimizar el volumen necesario para las amplificaciones subsiguientes. Se seleccionaron las muestras con concentraciones superiores a los $5\text{ ng}/\mu\text{l}$.

Para el estudio de la variabilidad genética se analizaron los patrones de bandas generados por la amplificación de regiones del genoma mediante la técnica de ISSR-PCR (Zietkiewicz et al., 1994). La técnica consiste en la amplificación de regiones del genoma mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y utiliza como iniciadores (sin. “primers”) de la reacción, oligonucleótidos de 9-16 bases cuyas

secuencias coinciden con secuencias microsatélites (repeticiones variables de dos o tres bases) más el agregado de una o dos bases (“anclaje”) que aumenta la especificidad de hibridación al acotar el universo de fragmentos amplificados. Preliminarmente se probaron en individuos de los diferentes lotes 15 iniciadores por separado (algunos basados en recursos publicados por Wolf, 2000). Las condiciones de reacción fueron las siguientes: 0.2 mM de cada dNTP, 1 X de buffer de PCR, 0.7 µM de iniciador, 0.5 U de Taq ADN Polimerasa HighWay de INBIO, 1.5 mM de Mg⁺⁺, 0.4 µg/µl de BSA y 25 ng de ADN (5 µl) y agua destilada estéril hasta completar 20 µl de volumen final de reacción.

Tabla 2.3. Lista de iniciadores testeados en 6-16 individuos con la T° de hibridación y las características consideradas para la selección.

<i>Iniciadores</i>		<i>T° hibridación (°C)</i>	<i>% individuos que amplificaron</i>	<i>Tamaños de los fragmentos amplificados (pb)</i>	<i>Nº loci</i>	<i>% loci polimórficos</i>
ISSR-1	(CA) ₆ AG	43	50,00	300-1000	9	44,44
ISSR-2	(CA) ₆ GT	46	83,33	300-1000	10	70,00
ISSR-3	(CA)₆AG	44	80,00	400-1400	9	77,78
ISSR-4	(CA) ₇ GC*	47	60,00	250-700	8	75,00
ISSR-5	(GTG)₅GC*	56	54,55	200-650	8	87,50
ISSR-6	(CT)₈TG	43	70,00	400-1500	15	86,67
ISSR-7	(AC) ₈ G	54	83,33	200-500	9	55,56
ISSR-8	(AG) ₈ T	52	100,00	400-2000	7	57,14
ISSR-9	(GA) ₈ C	54	66,67	300-1000	5	60,00
ISSR-10	(GT) ₇ (AoG)T	50	8,33	900-1500	3	0,00
ISSR-11	(GT) ₈ CC*	50	91,67	200-1200	9	77,78
ISSR-12	(CAC) ₃ GC*	47	100,00	200-1200	6	66,67
ISSR-13	(CTC)₃GC*	47	100,00	400-2000	7	85,71
ISSR-14	(CT) ₈ AC	54	83,33	300-900	6	66,67
ISSR-16	(GAG) ₃ GC	47	50,00	250-500	3	66,67

En negrita: los iniciadores seleccionados. *Secuencia propuesta por WolfLab Resource (www.biosci.ohio-state.edu).

La Tabla 2.3 resume las condiciones de amplificación ensayadas para cada iniciador y su comportamiento. Consideramos loci a cada banda de tamaño distinguible en el gel con 1,5% de agarosa.

Se diseñó un programa de PCR que consistió en una primera etapa de desnaturalización (2 minutos a 94 °C), seguida de 35 ciclos con una etapa breve de desnaturalización (30 seg a 94 °C), luego una etapa de hibridación de los iniciadores a una de las hebras de ADN (45 seg a la temperatura de hibridación indicada en la tabla 2.3 para cada iniciador) y una última etapa de copiado de la secuencia de ADN comprendida entre los iniciadores que hibridaron (2 minutos a 72 °C). Luego de los 35 ciclos agregamos un tiempo (10 minutos) de extensión final de fragmentos a 72 °C.

Se separaron mediante electroforesis (1 hora a 80 V) los fragmentos amplificados con cada iniciador junto al marcador de peso molecular (100-3000 pb) en gel de agarosa (1,5%) teñidos con Sybr Safe® y fotografiaron sobre transiluminador uv Slider®. Se incluyeron en el análisis las bandas claramente resueltas a partir de las cuales se elaboró la matriz de presencia /ausencia para cada individuo y cada iniciador. Se consideró que cada tamaño de banda (en pares de bases) representa un loci con dos alelos posibles: 1 (presente) y 0 (ausente).

Se comparó el comportamiento de los iniciadores mediante el tamaño de los fragmentos, el número de loci en la población, el número de loci por individuo y el porcentaje de loci polimórficos (%P_{0,95}) calculado como el nº de loci polimórficos/nº loci totales. Se consideró que un loci es polimórfico (%P₉₅) si está presente ("1" en la matriz) en más del 5% y en menos del 95% de los individuos totales.

De los 15 iniciadores ensayados se seleccionaron cuatro (I-3, I-5, I-6 e I-13) de acuerdo a su elevado polimorfismo y porcentaje de amplificaciones, y se tuvo en cuenta también el número de loci y el tamaños de fragmentos amplificados (tabla 2.3). Con los iniciadores seleccionados se realizó la amplificación en las mismas condiciones con todos los individuos de cada lote. Se separaron mediante electroforesis (1 hora a 100 V) en gel de agarosa (1,5%) teñido con Sybr Safe® los fragmentos amplificados de cada individuo junto al marcador de peso molecular. Se visualizaron con luz ultravioleta y fotografiaron para su posterior análisis. Se elaboró la matriz de presencia /ausencia de 95 loci (columnas) y 177 individuos (filas) considerando solo las bandas claramente resueltas.

III.2.2.2 MEDICIÓN DE BIODIVERSIDAD EDÁFICA

III.2.2.2.1 MESOFAUNA

Se colocó cada una de las muestras de suelo de los cilindros de PVC en el dispositivo de embudos Berlese (a temperatura ambiente y luz natural) durante 7 a 10 días. Se incluyeron en esta etapa 108 muestras, 18 de cada uno de los 6 lotes que corresponden a 3 puntos de la transecta en cada lote bajo diferente uso del suelo, en dos estaciones del año (otoño y primavera), durante los años 2011, 2013 y 2014. Se determinó bajo lupa la meso y macrofauna colectada en etanol 70% a nivel taxonómico de Orden (en los casos en que fue posible la determinación se realizó hasta los niveles de Familia y Subfamilia) mediante el uso de claves taxonómicas de Dindal (1990), Momo y Falco (2009), Palacios-Vargas (2014), Palacios-Vargas y Figueroa (2014) y Palacios-Vargas y García-Gómez (2014). A pesar de que la técnica de embudos Berlese es específica para la colecta de mesofauna del suelo, consideramos importante incluir el dato de presencia de grupos de la macrofauna (Ordenes de Chilopoda, Araneae y Symphyla), sin perder de vista la subestimación de abundancias de estos grupos debido al sesgo metodológico que esta técnica presenta para la fauna con este rango de tamaños corporales.

III.2.2.2.2 MACROFAUNA: LOMBRICES.

Se efectuó la identificación de las lombrices adultas de acuerdo a sus características morfológicas externas e internas mediante el uso de claves dicotómicas (Righi y Lobo, 1979; Reynolds y Clapperton, 1996; de Mischis y Moreno 1999). Se registró la abundancia de especies de lombrices adultas colectadas en cada monolito.

Los ejemplares de *Aporrectodea caliginosa* fueron utilizados para la extracción de ADN.

Tanto para las muestras de mesofauna como para las muestras de lombrices se registró la abundancia de cada grupo y se calculó para cada lote: la densidad (número de individuos por m²) y la riqueza absoluta de órdenes. En particular para la mesofauna se consideró relevante estudiar la presencia de órdenes “raros”, es decir, aquellos que aparecían en uno solo de los muestreos. Por esta razón se decidió calcular la riqueza de órdenes con un estimador basado en la incidencia como es el índice de Chao 2 (Chao, 1984) que utiliza la fórmula:

$$S_{\text{chao}} = S_{\text{obs}} + (Q_1^2 / (2Q_2 + 1)) - [Q_1 \cdot Q_2 / 2(Q_2 + 1)^2]$$

Donde S_{obs} es la riqueza de órdenes, Q_1 es el número de taxones que aparecen en uno solo de los muestreos de cada lote y Q_2 es el número de taxones que aparecen exactamente en dos muestreos de cada lote.

También se calculó la diversidad para mesofauna y lombrices mediante el índice de Shannon-Wiener (Southwood y Henderson, 2000) que permite tener una idea acerca de la complejidad de la comunidad al combinar los datos de riqueza con los de abundancia relativa de taxones. Para ello se utilizó la fórmula:

$$H' = -1 \cdot \sum \left(\frac{n_i}{N} \right) \cdot \log_2 \left(\left(\frac{n_i}{N} \right) \right)$$

donde n_i es el n° de individuos del orden i y N es el total de individuos en ese punto de muestreo. También se calculó el índice de Equitatividad de Pielow que estandariza cada valor de diversidad calculado con la máxima diversidad de Shannon del lote (H'_{max}).

$$E = \frac{H'}{H'_{\text{max}}}$$

Se estimó la similitud faunística entre lotes para los datos de mesofauna con el índice de Dice (1945) y Sørensen (1948).

$$SD = \frac{2a}{2a+b+c}$$

donde **a** representa el número de órdenes presentes en ambos lotes comparados y el denominador expresa el número total de órdenes registrados para los dos lotes comparados, donde **b** y **c** represen el número total de órdenes presentes en uno u otro lote exclusivamente.

III.2.2.3 MEDICIÓN DE VARIABLES QUÍMICAS DEL SUELO

Se utilizaron las muestras de suelo empleadas previamente en los embudos Berlese para medir las variables químicas del suelo. La cuantificación de **carbono orgánico total del suelo (CO_t)** se realizó mediante el método LOI (Loss on ignition según Shulte, 1995) que nos permitió, en pocas horas y sin generar residuos de cromo, registrar la pérdida de peso de carbono orgánico total. Esta fracción incluye formas condensadas de carbono (cercanas al carbono elemental, ej. grafito, carbón vegetal), residuos de plantas, animales y microorganismos resistentes junto con residuos orgánicos de rápida descomposición en suelos. Brevemente el método propone calcinar a 360 °C durante 2 horas, 8-10 gramos de suelo seco (24 horas a 105 °C) y tamizado (<2000 micrones) que luego se pesa para calcular el CO_t con la siguiente ecuación:

$$CO_t = \left(\frac{(a - b)}{a} \right) \cdot 100$$

Donde **a** es el peso exacto inicial (de suelo seco y tamizado) y **b** es el peso de la muestra a temperatura ambiente luego de la ignición. Se multiplicaron los valores de CO_t por el factor de Van Bemmelen (1.724), que supone que la materia orgánica del suelo tiene un 58% de carbono, se calculó el porcentaje de materia orgánica total (MO).

Para calcular el porcentaje de **Nitrógeno total (%N)** del suelo se utilizó el método semi micro Kjeldahl (Bremner y Mulvaney, 1982) con muestras de 250 mg de suelo seco y tamizado (200 micrones) donde se cuantifica el nitrógeno que se oxida a amonio luego de la digestión húmeda con ácido sulfúrico concentrado.

Se determinó el **pH** del suelo por vía potenciométrica con pH metro Hach HQd® en el sobrenadante de una solución 1:2.5 de suelo (seco y tamizado a 200 micrones) en agua destilada. Para la calibración previa del pH metro se utilizaron soluciones patrón comerciales de pH 4 (solución de biftalato de potasio), pH 7 (solución fosfato dibásico de sodio dihidratado y fosfato monobásico de potasio) y pH 10 (solución de ácido bórico, cloruro de potasio e hidróxido de sodio).

III.2.2.4 MEDICIÓN DE VARIABLES FÍSICAS DEL SUELO

A partir de cada muestra de suelo tomada con el cilindro rígido metálico se analizaron las variables físicas. Se obtuvo la **densidad aparente del suelo (DAP)** con el método del cilindro (Blake y Hartge, 1986) que consiste en calcular el cociente entre el peso seco de suelo colectado y el volumen fijo del cilindro. Con este dato se calculó la **porosidad total del suelo (P_{or})** como

$$P_{or} = \frac{(1 - DAP)}{DR}$$

donde DR es el valor medio de densidad real del suelo, que para este tipo de suelos es de 2.65 gr/cm³. También se consideró valioso calcular el porcentaje de macroporos o porosidad estructural (MP), ya que nos indica el volumen de poros grandes, mayormente ubicados entre los agregados del suelo. Estos poros grandes son los responsables de la circulación del agua y del aire en el suelo (Jaramillo Jaramillo, 2002). Para calcularlo se utilizó la fórmula:

$$MP = P_{or} - \left[\frac{(DAP.Hg)}{100} \right]$$

Donde P_{or} es la porosidad total del suelo y H_g es la humedad gravimétrica calculada como la diferencia entre el peso húmedo y seco (en estufa a 105 °C por 24 horas) de cada muestra de suelo colectada con el cilindro mencionado.

II.3.1 DATOS GENÉTICOS

A partir de la matriz de presencia/ausencia elaborada se comparó el comportamiento de los cuatro iniciadores en la población total considerando el tamaño de los fragmentos amplificados, el porcentaje de loci o bandas polimórficas (%P), el número de loci o bandas de cada iniciador (A), el promedio de loci o bandas por individuos (BP), el Contenido de información polimórfica (PIC) y la capacidad de distinción de los iniciadores entre individuos diferentes (PDICMA). El porcentaje de loci polimórficos (%P_{0.95}) se calculó como el nº de loci polimórficos (es decir, presentes en menos del 95% y en más del 5% de los individuos)/nº loci totales. Los restantes parámetros se obtuvieron con el paquete estadístico INFOGEN (Balzarini y Di Rienzo, 2014). Para el cálculo de PIC el paquete utiliza la siguiente fórmula propuesta por Roldán-Ruiz et al. (2000)

$$PIC_i = 2 \cdot f_i(1 - f_i)$$

donde f_i es la frecuencia del alelo i amplificado (alelo "1" de la matriz) y $1 - f_i$ es la frecuencia de bandas ausentes (alelo "0" en la matriz) para ese locus. La frecuencia se calcula como el cociente entre la proporción de alelos en cada locus y el total de individuos. El PIC de cada iniciador se obtiene como promedio de los PIC de los loci de ese iniciador. Cuando el número de loci es grande, el PIC se aproxima a la heterocigosis de una población en equilibrio de Hardy Weinberg (Liu, 1998). Para el cálculo de PDICMA, el paquete estadístico utiliza la fórmula: $(SD)^n$ (Wetton, 1987), donde n representa el número promedio de productos de amplificación (bandas) por iniciador y SD representa el índice de similitud promedio entre individuos propuesto por Dice (1945) y Sørensen (1948).

$$SD = \frac{2a}{2a+b+c}$$

donde **a** representa el número de bandas presentes en ambos individuos y el denominador expresa el número total de bandas registradas para los dos individuos comparados, con **b** y **c** como el número total de bandas presentes en uno u otro individuo exclusivamente.

Luego de corroborar el comportamiento de los iniciadores seleccionados, se analizó la variabilidad genética en cada población y para ello se consideran tres componentes: la cantidad de variación o **diversidad genética**, la distribución de esa variación o **diferenciación genética** entre las poblaciones y la **distancia genética** entre pares de poblaciones.

Para cuantificar la diversidad genética se calculó con el número total (A) y el número efectivo (Ne) de alelos en cada lote el paquete InfoGen, que utiliza la fórmula:

$$Ne = \frac{1}{\sum_{i=1}^l p_i^2}$$

donde p_i es la frecuencia alélica para cada locus *l*.

Se usó el paquete de análisis GenALEX (Peakall y Smouse, 2012) para el cálculo de Diversidad Genética de Nei ($h = 1 - (p^2 + q^2)$) y para el Índice de Información de Shannon¹ ($I = -1[(p \cdot \ln(p)) + q \cdot \ln(q)]$), donde *p* y *q* son las frecuencias de los alelos (1 y 0 en la matriz) en la población, calculadas como $\sqrt{p^2}$ (suponiendo que la población se encuentra en equilibrio de Hardy Weinberg). También se calculó el

¹ Nótese que se trata de una fórmula modificada con respecto al Índice de Shannon que se usa para calcular la diversidad específica ya que aquí la ausencia de la banda se considera también información relevante.

porcentaje de loci polimórficos (%P= nº loci polimórficos/total loci) y la diversidad fenotípica por lote: $H_p = 1 - \sum P_i^2 - \sum Q_i^2$ (Marette et al, 2002), donde P_i es la frecuencia de 1 en la matriz para el locus i , y Q_i es la frecuencia de 0 en la matriz para el locus i . La diversidad fenotípica no requiere suponer equilibrio de Hardy Weinberg y Marette la considera válida para marcadores dominantes, como el ISSR, sobretodo en poblaciones donde la tasa de migración es baja y el número de loci, elevado.

Con el paquete estadístico InfoGen se calculó la similitud genética entre pares de individuos del mismo lote y de diferentes lotes utilizando el Índice de Similitud de Nei y Li (1979) o Sørensen-Dice (1945) explicado previamente. La elección de este índice se basa en recomendaciones de Duarte et al. (1999) para marcadores dominantes, ya que descarta de su fórmula la doble ausencia de banda entre individuos (d) al entender que compartir la ausencia de banda no aporta a la similitud entre individuos. Se calcularon las distancias genéticas como $(1 - S)$ y se compararon entre lotes en una matriz de distancia. Por último se exploró con el mismo paquete las relaciones entre las poblaciones de cada lote a partir de los datos de distancias genéticas en un Análisis de Coordenadas principales por sitio que resumió en un plano la información de múltiples loci.

El paquete GenALEx permitió analizar la correlación lineal entre la distancia geográfica y la distancia genética entre todos los pares de individuos muestreados.

A partir de la matriz de distancias genéticas de cada sitio por separado se utilizaron los paquetes Phylip (Felsenstein, 1989) y MEGA 5.2 (Tamura et al, 2011) para construir un árbol sin raíz de relación entre individuos. Se utilizó el algoritmo de vecino más cercano o “Neighbor Joining” (Saitou y Nei, 1987) que elabora el árbol de relaciones al buscar el par de “vecinos” que minimicen el largo total de la rama en cada estadio de agrupamiento.

Para medir la diferenciación genética entre poblaciones se evaluó mediante el test de χ^2 el ajuste a una distribución aleatoria de las frecuencias alélicas. Con el paquete estadístico InfoStat se probó el ajuste a una distribución normal de todas las

variables genéticas y el análisis de varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis) entre sitios y entre lotes.

Para analizar el nivel de estructuración poblacional se estudió la diferenciación genética entre los individuos y se calcularon dos estimadores: el F_{ST} de Wright (1949) y el ϕ_{PT} de Weir y Cockerham (1984), que permite comparar la estructuración poblacional estimada con otro tipo de marcadores. Para calcular el primero se utilizó el paquete AFLPsurv (Vekemans, 2002) que estima las frecuencias alélicas aplicando un método Bayesiano con un prior de distribución no uniforme, un valor de $F_{IS}=0$ predefinido (se asume ausencia de endogamia) y con 1000 permutaciones por test de F_{IS} . El paquete calcula el F_{ST} según el método de Lynch y Milligan para cada sitio y entre pares de poblaciones. Se estimó la significación de los valores de F_{ST} de acuerdo a lo propuesto por Workman y Niswander (1970). El segundo estimador, ϕ_{PT} , indica la proporción del total de la variación genética que se debe a variaciones entre las poblaciones y se calculó con el paquete GenAlEx a partir de la matriz binaria de distancias genéticas de cada sitio y luego de 999 permutaciones entre 99 poblaciones.

También se abordó el estudio de la diferenciación genética entre poblaciones de cada sitio y entre pares de poblaciones ensayando el ajuste de los datos (matriz de presencia/ausencia) a cuatro modelos poblacionales diferentes propuestos en el paquete HICKORY (Holsinger et al., 2002): 1) **Modelo completo (full)**: que asume estructuración poblacional ($\theta_{II} \neq 0$) y cierto grado de endogamia ($f \neq 0$); 2) **Modelo $f=0$** : que asume que no hay un elevado nivel de endogamia por lo que las frecuencias genotípicas dentro de las poblaciones no se alejan de las esperadas por Hardy-Weinberg ($f=0$) y estima el nivel de estructuración ($\theta_{II} \neq 0$); 3) **Modelo $\theta_{II}=0$** : que asume que la población no está estructurada en demos ($\theta_{II}=0$) y estima el grado de endogamia ($f \neq 0$) y 4) **Modelo f-libre (f-free)**: que no estima f sino que usa valores de endogamia aleatorios en la cadena de Markov- Monte Carlo para estimar el grado de estructuración poblacional ($\theta_{II} \neq 0$). Se corrió con un Thinning de 50, un burn-in de 100.000 y considerando 1.000.000 de muestras. Se usó el criterio de devianza (DIC, Spiegelhalter et al., 2002) para determinar el modelo que mejor ajusta a los datos. Este

criterio, análogo al criterio de Akaike, considera el grado de ajuste del modelo a los datos (\bar{D}) y la complejidad del modelo asociada al número de parámetros que se requiere estimar (pD).

Por último se calculó en cada sitio, el número de poblaciones ancestrales hipotéticas que mejor se ajusta a la distribución de frecuencias alélicas hallada con el método de Evanno et al. (2005). Este método utiliza las probabilidades de ajuste de las frecuencias alélicas observadas a k poblaciones ($L(k)$), que proporcionó el paquete de análisis STRUCTURE (Pritchard et al., 2000). Se eligió un modelo de ancestría de mezcla (donde cada individuo tiene una proporción de su genoma de una población) con priors informativos (que permite utilizar la información geográfica cuando la señal del programa es débil), con un burn-in inicial de 10.000 generaciones, una corrida de 100.000 generaciones en las que se testearon 1 a 10 poblaciones hipotéticas en 3 repeticiones independientes.

II.3.2 DATOS FAUNÍSTICOS, QUÍMICOS Y FÍSICOS DEL SUELO

Para cada una de las variables analizadas se probó el ajuste a la distribución Normal de las frecuencias de datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov con el paquete estadístico Infostat (Di Rienzo et al, 2013). Teniendo en cuenta que ninguna de las variables analizadas se ajustan a una distribución de frecuencias Normal, se informa la mediana en lugar de la media ya que describe mejor la distribución de los datos (Gotelli y Ellison, 2004). Se incluyeron en el análisis 108 muestras de fauna (18 por lote), 153 muestras de variables químicas (entre 21 y 31 por lote) y 344 muestras de variables físicas (entre 52 y 62 por lote). Dado que la distancia geográfica entre las muestras excede la distancia de autocorrelación en estos suelos (Conti et al, 1980; Giuffre et al, 1998 y Massobrio, comunicación personal), las tres muestras tomadas sobre la transecta pueden considerarse estadísticamente como muestras independientes. Con el objeto de detectar cambios en las variables asociados a factores

temporales de muestreo (estacional e interanual) o a factores espaciales (sitios diferentes), analizamos la varianza de la muestra para cada variable entre años y estaciones de muestreo con el Test de Kruskal Wallis (ANOVA no paramétrico). En los casos en que la diferencia entre las medianas para cada estación de muestreo, resultó significativa, se realizó la comparación múltiple entre medianas con el test de Nemenyi y se realizaron test post hoc no paramétricos para cada estación de muestreo donde se analizaron las diferencias entre sitios de muestreo (UNLu y Etchegoyen) y entre usos del suelo (agrícola, ganadero y pastizal). En los casos en que la diferenciación temporal no resultó significativa, se realizaron test post hoc para el conjunto de datos, se analizaron en primer lugar diferencias entre sitios de muestreo (UNLu y Etchegoyen) y luego entre usos del suelo (agrícola, ganadero y pastizal). Para todos los casos significativos se analizó la interacción entre factores mediante ANOVA paramétrico. En todos los casos se usó un nivel de significación de 0.10. También con el paquete Infostat se efectuó el análisis de componentes principales para cada grupo de variables con el objeto de combinarlas en una variable artificial que explique los cambios registrados.



III. RESULTADOS

III.1 VARIABLES BIOLÓGICAS DEL SUELO

III.1.1 VARIABILIDAD GENÉTICA EN POBLACIONES DE LOMBRICES (APORRECTODEA CALIGINOSA)

III.1.1.1 DESCRIPTIVA DE LOS MARCADORES

Los resultados provistos por los cuatro iniciadores seleccionados en los sitios muestreados para la especie de lombriz *Aporrectodea caliginosa* se resumen en la tabla 3.1. Los mismos corresponden a un total de 177 individuos distribuidos equitativamente ($N_{AE}=26$, $N_{GE}=30$, $N_{PE}=38$, $N_{AG1}=25$, $N_{AG2}=31$ y $N_{PU}=27$) en los seis lotes analizados. Estos iniciadores generaron 95 fragmentos en total con longitudes que varían entre 150 y 3000 pares de bases, mayores que los registrados por Aranzamendi (2014) en su estudio de lapas en la Costa Atlántica Argentina e iguales que los detectados por Díaz Porres (2016) en *Armadillidium vulgare* para los mismos sitios de muestreo. Cada iniciador amplificó entre 3.28 y 4.20 bandas por individuo en promedio. El iniciador que más bandas amplificó por individuo fue el I-13 (4.20 ± 1.73 bandas/individuo). Al analizar el polimorfismo de bandas vemos que más del 71% de los fragmentos amplificados resultaron polimórficos y son los iniciadores I-3 e I-13 los más polimórficos. De ellos, I-13 es el que cuenta con la mayor capacidad discriminatoria entre loci al registrar el valor más alto del Contenido de Información Polimórfica ($PIC=0.22 \pm 0.02$) que considera tanto la cantidad de bandas generadas como su frecuencia.

Los valores de PDICMA son bajos para los cuatro iniciadores elegidos, lo cual indica que todos tienen una elevada capacidad para distinguir individuos entre sí.

Tabla 3.1. Resumen descriptivo de los iniciadores seleccionados.

Iniciadores		Tamaños (pb) de los fragmentos amplificados	Nº de alelos o bandas totales	Promedio y desvío de bandas por individuo	Porcentaje de loci polimórficos	Contenido de información polimórfica:PIC (EE)	PDICMA ¹
I-3	(CA)₇AG	350-2000	23	3.45 ± 2.01	78.26 ± 8.79	0.19 (0.02)	6.0x10 ⁻¹⁰
I-5	(GTG)₅GC	300-1900	21	3.28 ± 1.48	71.43 ± 10.10	0.19 (0.02)	2.4x10 ⁻¹⁰
I-6	(CT)₈TG	300-3000	30	3.68 ± 1.73	73.33 ± 8.21	0.18 (0.02)	1.6x10 ⁻¹⁰
I-13	(CTC)₃GC	150-3000	21	4.20 ± 1.73	80.95 ± 8.78	0.22 (0.02)	2.8x10 ⁻¹²

¹ Probabilidad de que dos individuos compartan el mismo alelo por azar. EE: error estándar.

III.1.1.2 MEDIDAS DE VARIABILIDAD GENÉTICA EN CADA POBLACIÓN

La variación genética dentro de una especie tiene tres componentes: la diversidad genética, que comprende la cantidad de variación genética entre individuos; la diferenciación genética, que analiza la distribución de la variación genética entre las poblaciones estudiadas; y la distancia genética, que mide la cantidad de variación genética entre pares de poblaciones. Analizamos a continuación cada uno de estos componentes.

III.1.1.2.1 LA DIVERSIDAD GENÉTICA

En la tabla 3.2 se resumen diferentes medidas de diversidad genética en cada lote con diferente uso para ambos sitios analizados, con el objeto de estudiar el grado de impacto del uso del suelo sobre las poblaciones de lombriz. Si bien no se encontraron diferencias significativas entre sitios se presentan los resultados desglosados a fin de mostrar la diversidad dentro de cada sitio estudiado. Cada una de ellas se analiza en los apartados subsiguientes.

Tabla 3.2. Variables genéticas promedio medidas en los diferentes lotes (desvío, entre paréntesis).

<i>Sitio</i>	<i>Lote</i>	<i>Nº alelos (Na)</i>	<i>Nº efectivos de alelos (Ne)</i>	<i>%loci polimórficos (%P)</i>	<i>Diversidad genética (h)</i>	<i>Diversidad fenotípica (Hp)</i>	<i>Información genética Shannon (I)</i>
Etchegoyen	AE (N=90)	1.67 (0.75) ab	1.23 (0.23)	0.70 (0.05)	0.16 (0.13)	0.24 (0.17)	0.27 (0.20)
	GE (N=90)	1.80 (0.60) ab	1.22 (0.18)	0.70 (0.05)	0.16 (0.12)	0.25 (0.16)	0.28 (0.17)
	PE (N=90)	1.64 (0.77) ab	1.16 (0.16)	0.67 (0.05)	0.12 (0.11)	0.20 (0.15)	0.22 (0.16)
UNLu	AG1 (N=84)	1.52 (0.86)a	1.21 (0.26)	0.57 (0.05)	0.14 (0.15)	0.20 (0.17)	0.24 (0.21)
	AG2 (N=84)	1.93 (0.37) b	1.22 (0.19)	0.71 (0.05)	0.16 (0.11)	0.25 (0.14)	0.28 (0.16)
	PU (N=84)	1.64 (0.77)ab	1.23 (0.22)	0.76 (0.05)	0.17 (0.13)	0.25 (0.16)	0.28 (0.19)
		H = 6.40 p = 0.0049	H = 8.29 p = 0.1377	$\chi^2 = 7.88$ p < 0.10	H = 8.29 p = 0.1397	H = 9.21 p = 0.997	H = 8.29 p = 0.1397

Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2(UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Letras diferentes representan diferencias significativas. H es el valor calculado para el análisis de varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis) y p el nivel de significación.

III.1.1.2.1.1 NÚMERO DE ALELOS

Se registran diferencias significativas entre los usos en el número de alelos. Los lotes con mayor uso ganadero de ambos sitios presentan el mayor número de alelos promedio ($Na_{AG2} = 1.93 \pm 0.37$; $Na_{GE} = 1.80 \pm 0.60$) y el lote agrícola-ganadero 1 de UNLu registra el menor número de alelos de todos los lotes analizados ($Na_{AG1} = 1.52 \pm 0.86$) ($p = 0.0044$, Figura 3.1). El bajo número de alelos en el lote AG1 responde al bajo número de individuos en las poblaciones de ese suelo (en coincidencia con lo observado en los diferentes muestreos), ya sea por una reducción de la población original y/o por una baja tasa inmigratoria en este lote. De esos alelos solo una fracción pasarán a la generación siguiente y esto nos lo indica el número efectivo de alelos. En las distintas poblaciones comparadas el uso del suelo no tiene gran impacto en el N_e (figura 3.2).

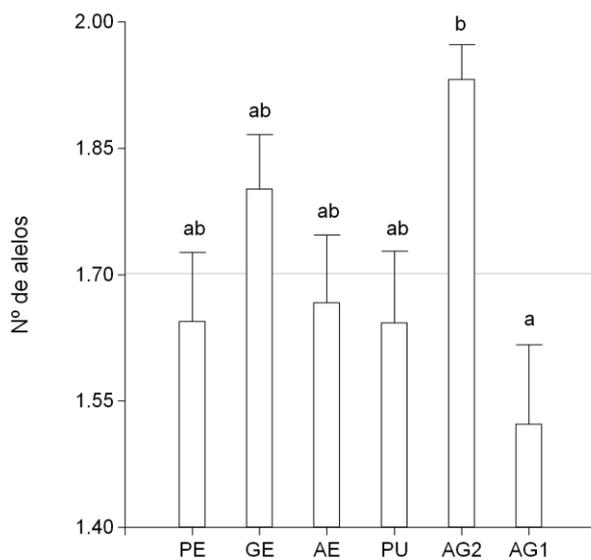


Figura 3.1. Número de alelos en lotes de Etchegoyen y UNLu. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Letras diferentes indican diferencias significativa ($p_{KW} = 0.0044$). Bigote: desvío estándar

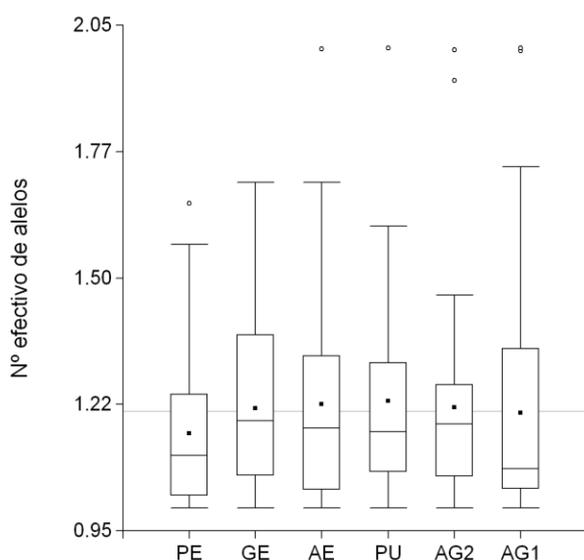


Figura 3.2. Número efectivo de alelos (N_e) en lotes de Etchegoyen y UNLu. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. No difieren significativamente entre usos ($p_{KW}=0.7085$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

III.1.1.2.1.2 PORCENTAJE DE LOCI POLIMÓRFICOS

La figura 3.3 muestra que el porcentaje de polimorfismo (%P) en las poblaciones de ambos lotes con uso agrícola de la UNLu ($\%P_{AG1} = 57 \pm 5$, $\%P_{AG2} = 71 \pm 5$) es menor al registrado en el pastizal ($\%P_{PU} = 76 \pm 5$) aunque la diferencia no es significativa ($p > 0.10$). Por otro lado el %P es similar en los tres lotes de Etchegoyen ($67\% \pm 5$ en el pastizal y $70\% \pm 5$, en los demás lotes). Un uso de suelo intensivo y prolongado en el tiempo, como el observado en los lotes agrícolas de UNLu, impacta sobre el tamaño poblacional de lombrices, lo cual, junto con un bajo polimorfismo de origen podría explicar los bajos valores de polimorfismo alélico registrados en este suelo agrícola.

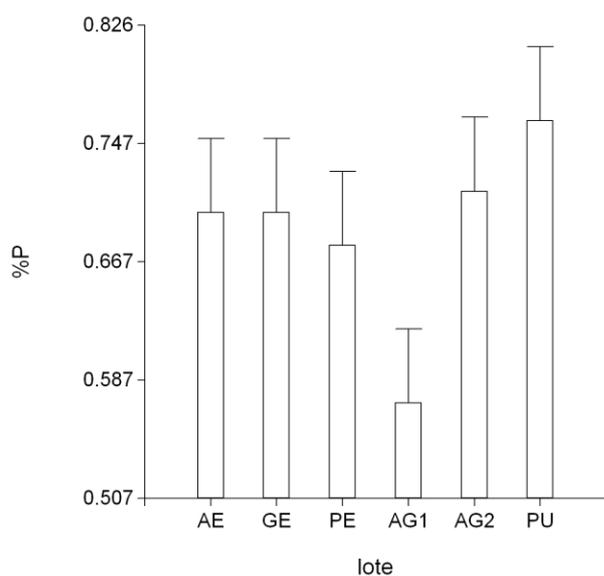


Figura 3.3. Porcentaje de loci polimórficos en lotes de la UNLu y Etchegoyen. Bigote: desvío estándar.

III.1.1.2.1.3 DIVERSIDAD GENÉTICA Y FENOTÍPICA

Los índices de diversidad genética (h) y de diversidad fenotípica (H_p) son similares en ambos sitios ($p_h=0.6586$, $p_{H_p}=0.8640$ - figura 3.4 y 3.5). Se observa menor diversidad en uno de los suelos agrícola-ganaderos de UNLu ($h_{AG1} = 0.08 \pm 0.22$ y $H_{p_{AG1}} = 0.15 \pm 0.28$). en comparación con la diversidad medida en los otros suelos, esta diferencia en la diversidad fenotípica resulta marginalmente significativa ($p=0.0997$). Nos sorprende la baja diversidad registrada en suelos de pastizal de Etchegoyen, por debajo del promedio global de ambas variables. Se espera que en usos del suelo intensivos y con mayor antigüedad de explotación, la reducción del tamaño poblacional y del flujo génico por fragmentación de hábitat impacten en los valores de diversidad genética y fenotípica, sin embargo este impacto solo se registra en el número de alelos, pero no en las demás medidas de diversidad.

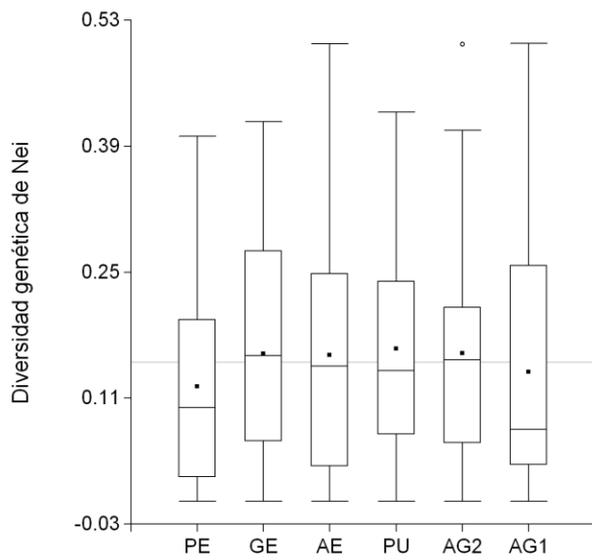


Figura 3.4. Índice de diversidad genética (h) en lotes de Etchegoyen y UNLu. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

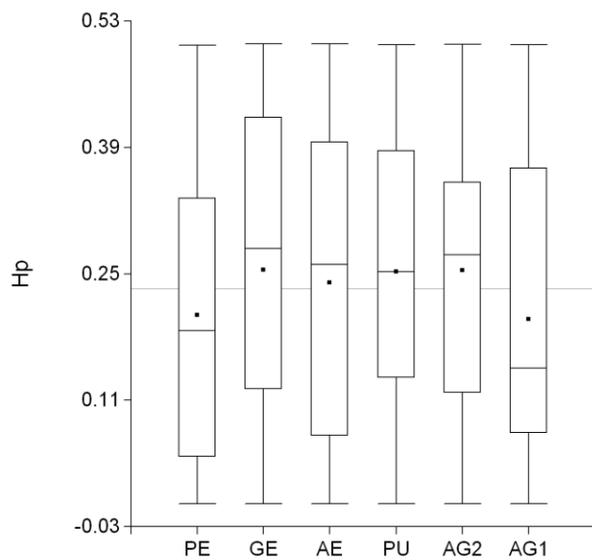


Figura 3.5. Diversidad fenotípica (Hp) en lotes de Etchegoyen y UNLu. Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

III.1.1.2.1.4 INDICE DE INFORMACION GENÉTICA DE SHANNON

El índice de información de Shannon (I) no difiere significativamente entre sitios UNLu y Etchegoyen ($p= 0.6586$), ni entre usos, ($p= 0.1397$). En correspondencia con los resultados de diversidad y polimorfismo, la figura 3.6 muestra menor variabilidad genética en el lote agrícola de la UNLu ($I_{AG1}= 0.17 \pm 0.33$) y en el pastizal de Etchegoyen ($I_{PE}= 0.21 \pm 0.28$).

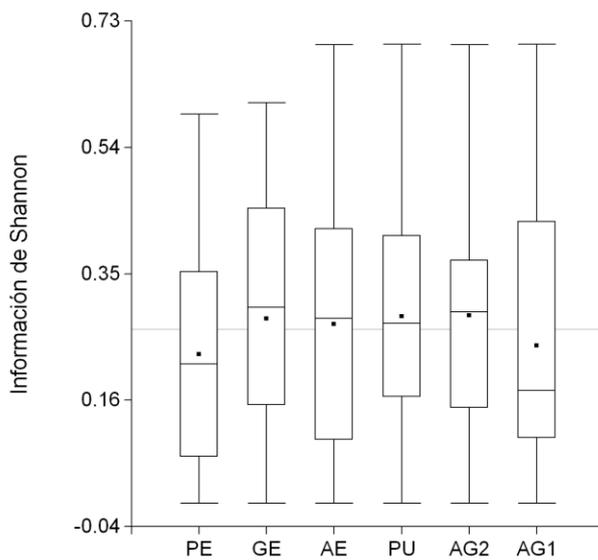


Figura 3.6. Índice de Información genética de Shannon (I) en lotes de Etchegoyen y UNLu. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Bigote: desvío estándar.

De los descriptores de variabilidad genética analizados, solo el número de alelos y la diversidad fenotípica difieren significativamente entre usos. Consideramos necesario incorporar a estas medidas de variabilidad la información que brinda el cálculo de la distancia genética entre pares de individuos con el objeto de analizar esta componente de la diversidad genética.

Las distancias genéticas de Nei y Li (1979) son significativamente mayores ($H=408.01$, $p < 0.0001$) entre individuos de Etchegoyen que entre individuos de UNLu (figura 3.7). Estas diferencias entre sitios denota una mayor cantidad de bandas exclusivas (b y c en la ecuación) que compartidas (a) entre los individuos de Etchegoyen, diferencia que no es detectada al medir la diversidad genética.

Si analizamos con más detalle dentro de cada sitio, vemos que estas diferencias se explican principalmente en Etchegoyen, por mayores distancias genéticas dentro del pastizal ($D_{PE}= 0.79 \pm 0.12$) y también entre los individuos del pastizal frente a los otros lotes (tres últimas cajas en el figura 3.8; $D_{GE}= 0.81 \pm 0.10$ y $D_{AE}= 0.79 \pm 0.11$). Durante los muestreos se registró mayor cantidad de lombrices en el pastizal que en los demás lotes, lo que podría indicar que en este ambiente encontramos poblaciones más grandes, con individuos más diversos genéticamente, lo que arroja mayor cantidad de bandas exclusivas que compartidas y redunda en una mayor distancia genética.

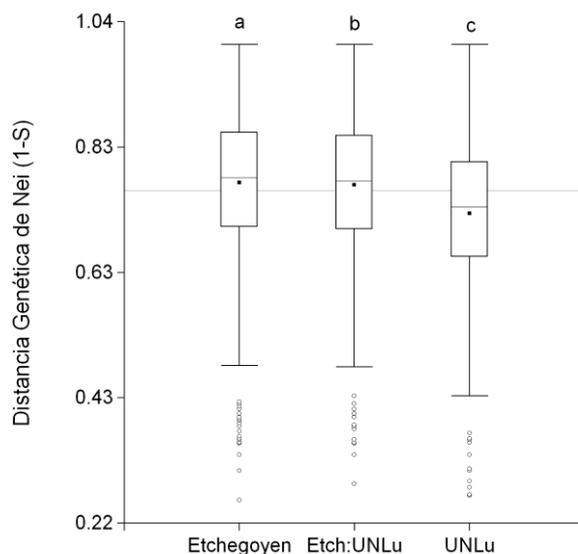


Figura 3.7. Distancias genéticas entre individuos de cada lote en UNLu y en Etchegoyen. Letras diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.0001$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

Mientras en Etchegoyen las menores distancias genéticas se registran entre los individuos del suelo agrícola ($D_{AE_AE} = 0.70 \pm 0.14$), en UNLu se registran bajas distancias genéticas entre los individuos del lote AG1 ($D_{AG1_AG1} = 0.63 \pm 0.13$)(figuras 3.8), y esto coincide en UNLu, con una menor diversidad genética, confirmada significativamente en el menor número de alelos.

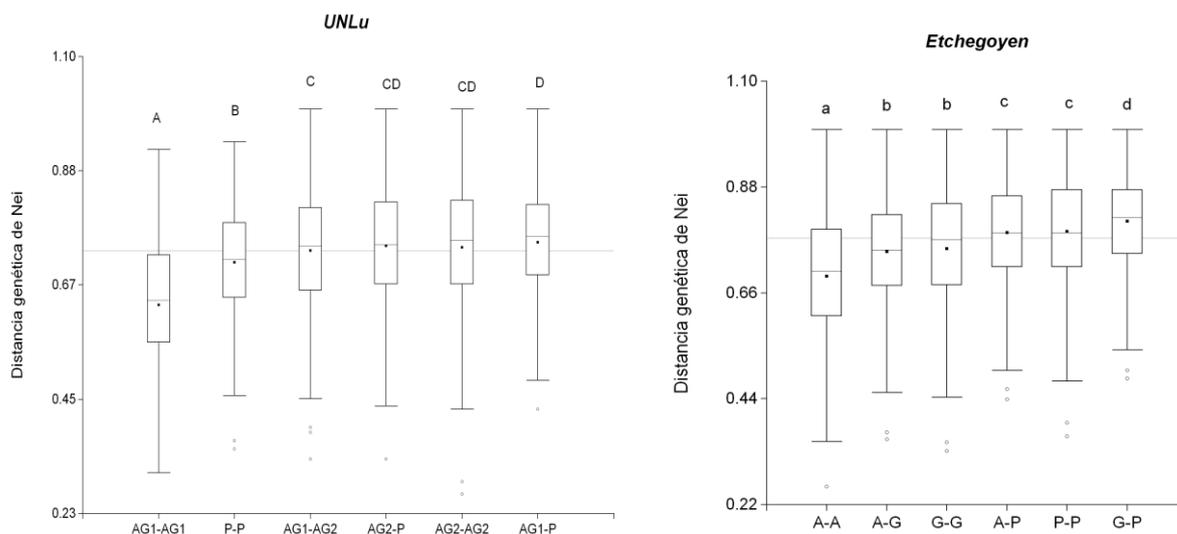


Figura 3.8. Distancias genéticas entre individuos dentro de cada lote y entre suelos de UNLu y Etchegoyen. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Las letras diferentes indican diferencias significativas dentro de cada sitio ($p < 0.0001$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

Si consideramos la distribución espacial de los individuos observamos que existe una correlación baja pero significativa entre las distancias genéticas y las geográficas en UNLu ($r = 0.289$, $p = 0.001$) y en Etchegoyen ($r = 0.289$, $p = 0.001$). El modelo de regresión lineal explico el 8% de la varianza en UNLu y Etchegoyen (figura 3.9).

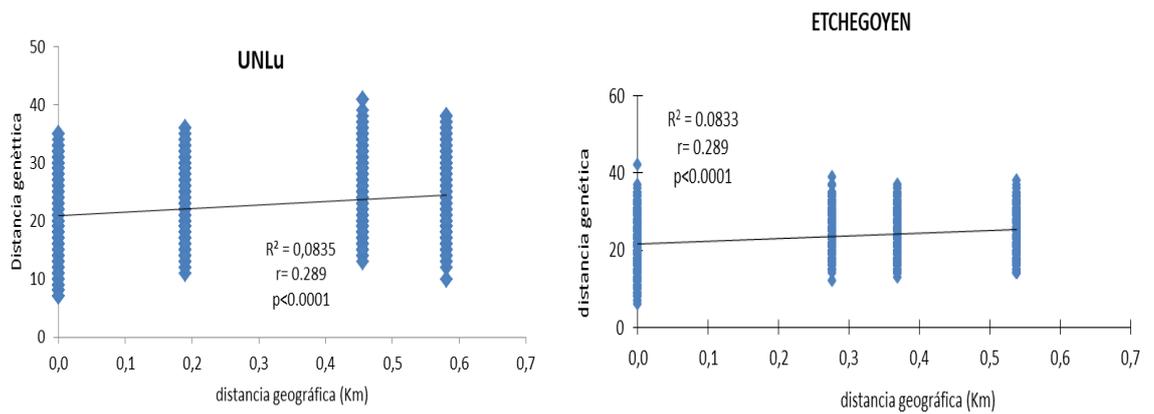


Figura 3.9. Correlación lineal entre las distancias genéticas y geográficas en UNLu y Etchegoyen.

Para explorar la tendencia de las distancias genéticas anteriormente calculadas y estudiar las relaciones entre las poblaciones de cada lote, realizamos el análisis de coordenadas principales (figura 3.10) que nos muestra en un plano la información de múltiples loci, resumiéndolas en variables sintéticas (las coordenadas principales).

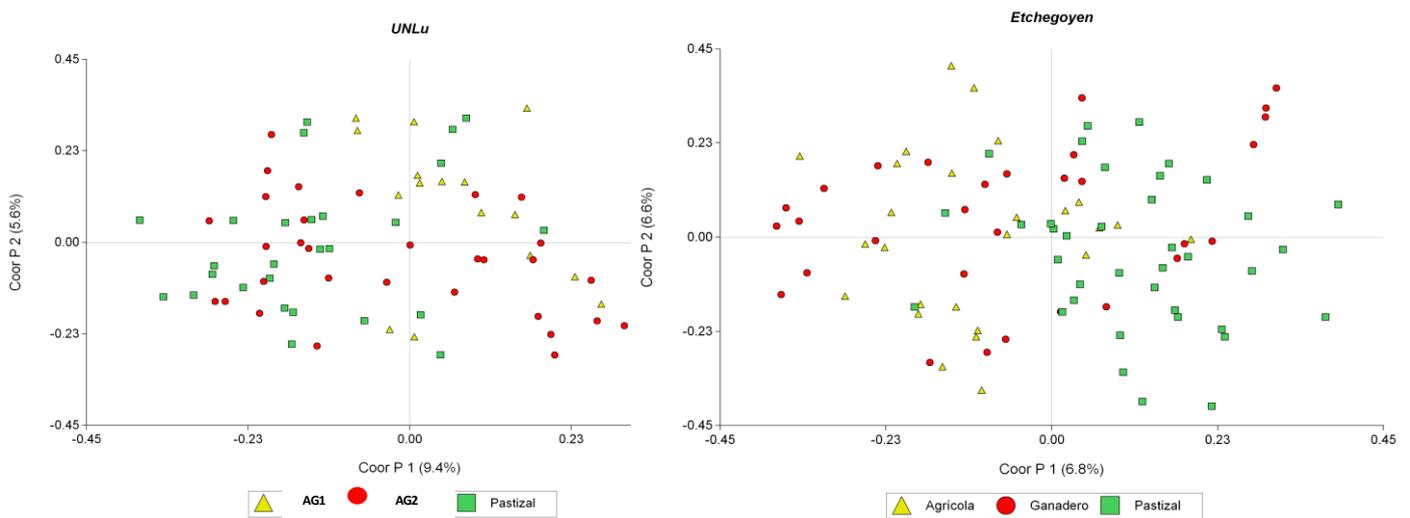


Figura 3.10. Análisis de coordenadas principales para las distancias genéticas entre individuos de Etchegoyen y de UNLu.

En UNLu más del 14 % de la variabilidad genética entre individuos es explicada por las dos primeras Coordenadas Principales (figura 3.10). La primera coordenada principal (CoorP1) separa al lote agrícola AG1 de los otros dos usos. El análisis de coordenadas principales para Etchegoyen (figura 3.10) muestra que más del 13 % de la variabilidad total registrada es explicada por las dos primeras coordenadas principales. La coordenada principal (CoorP1) separa al pastizal de los otros lotes.

Las distancias genéticas calculadas también nos permiten proponer un árbol de relación entre individuos de cada lote mediante el algoritmo de vecino más cercano (Neighbor-joining). La figura 3.11 muestra los árboles construidos. En Etchegoyen el árbol construido presenta 7 ramificaciones principales: tres ramas cercanas que agrupan individuos: una de ellas exclusivamente del pastizal mientras que las otras dos agrupan individuos del pastizal y del lote ganadero principalmente. Dos ramas cercanas que agrupan mayoritariamente individuos del lote ganadero. Otras dos ramas que agrupan mayormente individuos del lote agrícola. Al igual que lo observado en el análisis de coordenadas principales y lo que nos mostrará el AMOVA, los individuos del pastizal se separan más claramente de los individuos de los otros usos. Por otro lado, en UNLu (figura 3.11), se observan seis ramificaciones principales: una de ellas compuesta exclusivamente por individuos del pastizal y una segunda donde mayoritariamente se agrupan individuos de este lote. Otra rama agrupa individuos del pastizal y del lote AG2, otra ramificación compuesta casi en su totalidad por individuos del lote AG2 (a excepción de un individuo del lote AG1), otra rama agrupa mayoritariamente a individuos del lote AG1 (junto con individuos del pastizal y del lote AG2 en igual proporción) y una última rama con composición heterogénea de individuos de los tres usos. Esta representación concuerda con los resultados arrojados por el análisis de coordenadas principales y el análisis de varianza molecular que ubican a las poblaciones del lote AG2 y del pastizal más cercanas entre sí genéticamente que con el lote AG1.

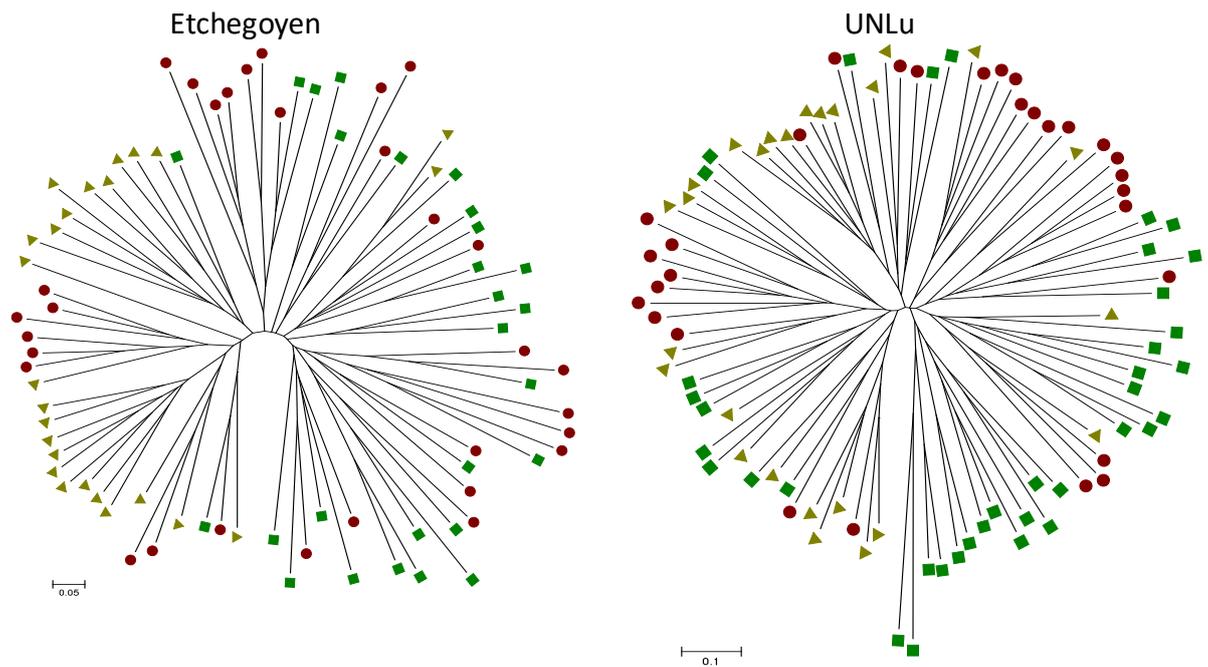


Figura 3.11. Árboles de distancias genéticas entre individuos (puntos) de diferentes lotes de Etchegoyen (izquierda) y de la UNLu (derecha). **Referencias:** triángulo amarillo: individuos del lote Agrícola intensivo (AE y AG1); círculo rojo: individuos del lote Ganadero (GE) y agrícola ganadero (AG2); cuadrado verde: individuos del pastizal (PE y PU).

III.1.1.2.3 LA DIFERENCIACIÓN GENÉTICA

Las frecuencias alélicas no se ajustan a una distribución aleatoria ($\chi^2_{GL=470}=1040.24, p<0.05$). Ninguna de las variables medidas se ajusta a una distribución Normal. El Análisis de varianza Molecular (AMOVA) nos muestra que la variabilidad genética entre sitios es baja (2.31%, $p=0.1524$). Al analizar los componentes de la variación entre usos del suelo en Etchegoyen vemos que la variabilidad genética total entre usos explica solo el 14% de la variabilidad genética total, en concordancia con los resultados del análisis de coordenadas principales (figura 3.10), mientras que el 86% restante se explica por variabilidad dentro de los lotes (tabla 3.3). Podemos relacionar la baja variabilidad entre lotes con la baja significación de las diferencias entre los valores de polimorfismo, de diversidad genética de Nei (h), de diversidad fenotípica (H_p) y del índice de información de Shannon (I) calculados previamente. Si relacionamos estos resultados con las distancias genéticas dentro de cada uso, podemos afirmar que el pastizal de Etchegoyen es el uso con mayores distancias genéticas entre sus individuos, que suma a la diferenciación con los otros suelos de Etchegoyen, en concordancia con los resultados del análisis de coordenadas principales.

Tabla 3.3. Resultados del análisis de varianza molecular para las distancias genética de Dice-Sorensen entre lombrices de la especie *A. caliginosa* de distintos suelos de Etchegoyen.

Fuentes de variación	GL	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	% de variación
Entre AE-GE	1	20.57	0.32	3
Entre AE-PE	1	32.16	0.71	6
Entre GE-PE	1	30.51	0.60	5
Dentro de cada uso	80	827,20	10.34	86
Total Etchegoyen	82	910.43	11.97	100

Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen) y PE: pastizal de Etchegoyen. GL: grados de libertad.

En UNLu observamos que se registran las menores distancias genéticas dentro del lote AG1 y dentro del pastizal de UNLu. El análisis de varianza molecular (AMOVA) indica que la variabilidad genética entre lotes de UNLu explica solo el 16.5% de la variabilidad genética total, mientras que el 83.5% restante se explica por la variabilidad dentro de los usos analizados (tabla 3.4), lo que nos permite afirmar que es el lote agrícola ganadero 2 el que mayor variabilidad entre individuos (más alelos y mayor diversidad genética de Nei) aporta a es 83.5% medido. Por otro lado vemos que el lote AG1, comparado con los demás, es el que mayor variación aporta, en coincidencia con los resultados del análisis de coordenadas principales.

Tabla 3.4. Resultados del análisis de varianza molecular para las distancias genética de Dice-Sorensen entre lombrices de la especie *A. caliginosa* de distintos suelos de UNLu.

Fuentes de variación	GL	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	% de variación
Entre AG1-AG2	1	28.98	0.69	5.5
Entre AG1-PU	1	39.16	1.13	9
Entre AG2-PU	1	17.90	0.24	2
Dentro de cada uso	80	827,20	10.34	83.5
Total UNLu	82	913.24	12.40	100

Referencias: AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2(UNLu), PU: pastizal de UNLu. GL: grados de libertad.

Para estudiar el grado de estructuración poblacional entre los individuos calculamos el F_{ST} y el Φ_{PT} (tabla 3.5) para cada sitio y entre pares de poblaciones del mismo sitio.

Todos los valores de F_{ST} significativos indican una diferenciación baja entre poblaciones según el criterio de Wright (1978), ya que son todos menores a 0.05. Tanto el F_{ST} como el Φ_{PT} registran valores menores en Etchegoyen que en UNLu. Dentro de cada sitio se registran valores de la estructuración significativos entre el lote agrícola (AE y AG1) y el pastizal, mientras que no se observa una estructuración poblacional significativa entre los lotes agrícola y ganadero de Etchegoyen y entre el lote AG2 y el pastizal de UNLu. Si se relaciona con la distancia geográfica entre lotes, se pueden explicar estos resultados en el sitio Etchegoyen, donde el lote ganadero está más cerca del lote agrícola que del pastizal. Sin embargo, el aislamiento por distancia no explica lo observado en UNLu, donde el lote AG2 y el pastizal presentan la mayor distancia geográfica entre lotes del sitio y pese a eso no se observa un grado de estructuración significativa.

Tabla 3.5. Estimadores de estructuración poblacional (F_{ST} y Φ_{PT}) en cada sitio.

	F_{ST}	p	Φ_{PT}	P
Etchegoyen	0.0172	<0.001	0.050	0.0001
AE-GE	0.0105	>0.25	0.027	0.006
AE-PE	0.0251	<0.001	0.065	0.001
GE-PE	0.0177	<0.001	0.054	0.001
UNLu	0.0284	<0.001	0.059	<0.0001
AG1-AG2	0.0306	<0.001	0.064	0.001
AG1-PU	0.0477	<0.001	0.102	0.001
AG2-PU	0.0078	>0.50	0.021	0.005

Estimado con GenALEX® con 999 permutaciones entre 99 poblaciones. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente.

Para profundizar el análisis de la estructura poblacional estimamos, con el programa HICKORY (Holsinger et al., 2002), la probabilidad de ajuste de las frecuencias alélicas encontradas con aquellas frecuencias propuestas por cuatro modelos poblacionales diferentes (modelo completo: población con estructuración y endogámica, modelo $f=0$: población panmíctica, modelo $\theta_{II}=0$: las poblaciones no divergen genéticamente, no están estructuradas y modelo f free: estima estructuración con coeficientes de endogamia aleatorios). Los resultados se resumen en la tabla 3.6 y 3.7.

Según el criterio de información de Devianza (DIC) observamos en Etchegoyen un buen ajuste (menor DIC) a los modelos completo ($DIC_{full}=457.34$) y de $f=0$, ($DIC_{f=0}=458.70$), que difieren en menos de 5-6 unidades de DIC, lo que para Holsinger

es razón suficiente para considerar el ajuste a ambos modelos. Esto nos indica que las poblaciones de Etchegoyen están estructuradas y que no hay evidencias de endogamia dentro de este sitio. El valor de θ_{II} estimado bajo cada modelo (0.0005 ó 0.0003) es menor que el F_{ST} de Wright calculado en la tabla 3.4 y esto puede explicarse si entendemos que el θ_{II} mide diferencias contemporáneas y el F_{ST} considera las divergencias históricas (Holsinger y Lewis , 2003).

Dentro de Etchegoyen comparamos los lotes de a pares y obtuvimos resultados similares a los de la población total de Etchegoyen: ajustan a un modelo de poblaciones estructuradas (buen ajuste al modelo completo) y sin evidencias de endogamia (buen ajuste a $f=0$). Respecto de la estructura se observan valores de divergencia muy bajos entre el lote agrícola y el ganadero ($\theta_{II}=0.001$) y de divergencia baja a moderada entre el pastizal y el lote agrícola ($\theta_{II}=0.063$ ó 0.043 , según el modelo) o entre el pastizal y el lote ganadero ($\theta_{II} =0.052$ ó 0.035 según el modelo) y puede nuevamente considerarse un modelo de aislamiento por distancia.

Tabla 3.6. Resultados del análisis Bayesiano de estructuración poblacional de lombrices de Etchegoyen (Holsinger, 2002).

<i>Poblaciones</i>	<i>Modelo</i>	<i>DIC</i>	<i>pD</i>	<i>Dbar</i>	$\theta //$	<i>IC</i>	<i>F</i>	<i>IC</i>
Etchegoyen	Full	457.34	8.59	448.75	0.0005	0.00001-0.0002	0.67	0.070-0.991
	f=0	458.70	9.98	448.72	0.0003	0.0003-0.0002	--	--
	$\theta =0$	567.95	85.60	482.35	--	--	0.98	0.940-0.100
	f libre	553.66	71.34	482.32	0.006	0.001-0.016	0.50	0.025- 0.974
AE-GE	Full	713.80	9.92	703.87	0.001	0.00003- 0.003	0.64	0.062- 0.993
	f=0	714.90	11.20	703.70	0.001	0.00003- 0.002	--	--
	$\theta =0$	821.44	83.52	737.92	--	--	0.98	0.935-0.100
	f libre	780.88	51.59	729.30	0.003	0.0001-0.008	0.50	0.026-0.977
AE-PE	Full	763.734	112.07	651.67	0.063	0.034-0.102	0.64	0.061-0.988
	f=0	766.246	114.40	651.84	0.043	0.026-0.066	--	--
	$\theta =0$	916.675	75.736	840.94	--	--	0.98	0.934-0.100
	f libre	800.592	135.25	665.34	0.074	0.045-0.111	0.50	0.025- 0.976
GE-PE	Full	795.666	113.21	682.46	0.052	0.028-0.083	0.63	0.061-0.987
	f=0	797.952	115.334	682.62	0.035	0.022-0.054	--	--
	$\theta =0$	933.628	77.3766	856.25	--	--	0.98	0.937- 0.100
	f libre	835.668	138.418	697.25	0.062	0.038-0.094	0.50	0.025-0.974

Referencias: **AE:** agrícola de Echegoyen **GE:** ganadero de Echegoyen, **PE:** pastizal de Echegoyen, **DIC:** Contenido de Información de la Devianza (Criterio de elección de modelos), **pD:** cantidad de parámetros que se deben estimar para obtener las frecuencias

observadas, \overline{DBar} : grado de ajuste del modelo a los datos (más bajo significa mejor ajuste), θ_{II} : estima la proporción de diversidad genética entre poblaciones contemporáneas (G_{st} de Nei), f : estima el coeficiente de endogamia poblacional (F_{IS} de Wright), IC: intervalos de confianza.

Las frecuencias alélicas en UNLu también muestran un buen ajuste a los modelos completo y de $f=0$ ($DIC_{f=1}=666.865$, $DIC_{f=0}=670.103$), lo cual indica que las poblaciones están estructuradas, sin evidencias de endogamia dentro de UNLu y con una proporción de diferenciación genética varios órdenes de magnitud mayor ($\theta_{II}=0.092$ y 0.063 según el modelo) que la estimada en Etchegoyen.

Dentro de UNLu comparamos los lotes de a pares y obtuvimos resultados similares a los de la población total de UNLu: ajustan a un modelo de poblaciones estructuradas (buen ajuste a modelo completo) y sin evidencias de endogamia (buen ajuste a $f=0$). En la comparación entre el lote AG1 y el pastizal se registran valores moderados de divergencia ($\theta_{II}=0.092$ ó 0.063 según el modelo, tabla 3.7). Entre los lotes bajo explotación se registra una divergencia baja a moderada ($\theta_{II(AG1-AG2)}=0.055$ ó 0.036) y entre el lote AG2 y el pastizal de UNLu se estima una divergencia baja ($\theta_{II(AG2-PU)}=0.015$ ó 0.010), y esto muestra correspondencia con los valores de F_{ST} y Φ_{PT} de estructuración.

Tabla 3.7. Resultados del análisis Bayesiano de estructuración poblacional en lombrices de UNLu (Holsinger,2002).

<i>Poblaciones</i>	<i>Modelo</i>	<i>DIC</i>	<i>pD</i>	<i>Dbar</i>	θ_{ii}	<i>IC</i>	<i>f</i>	<i>IC</i>
UNLu	Full	666.87	101.33	565.53	0.09	0.050- 0.146	0.66	0.05-0.99
	f=0	670.10	104.64	565.46	0.06	0.038- 0.097	--	--
	$\theta=0$	828.66	67.42	761.24	--	--	0.98	0.92- 0.10
	f libre	700.9	121.65	579.25	0.10	0.064-0.151	0.50	0.02-0.98
AG1-AG2	Full	718.68	103.52	615.17	0.06	0.027-0.094	0.68	0.05 - 0.99
	f=0	722.63	107.23	615.40	0.04	0.020-0.060	--	--
	$\theta=0$	824.97	72.50	752.47	--	--	0.98	0.93-0.10
	f libre	751.25	126.60	624.66	0.07	0.041-0.114	0.50	0.02-0.97
AG1-PU	Full	666.87	101.33	565.53	0.09	0.050-0.146	0.66	0.05-0.99
	f=0	670.10	104.64	565.46	0.06	0.038-0.097	--	--
	$\theta=0$	828.66	67.42	761.24	--	--	0.98	0.92-0.10
	f libre	700.90	121.65	579.25	0.10	0.064-0.151	0.50	0.02-0.98
AG2-PU	Full	737.97	87.07	650.90	0.02	0.003-0.033	0.66	0.06-0.99
	f=0	740.27	89.52	650.75	0.01	0.002-0.021	--	--
	$\theta=0$	762.35	72.55	689.794	--	--	0.98	0.93-0.10
	f libre	774.93	121.74	653.194	0.04	0.016-0.066	0.50	0.03-0.98

Referencias: **AG1:** agrícola ganadero 1 (UNLu), **AG2:** agrícola ganadero 2(UNLu) y **PU:** pastizal de UNLu. **DIC:** Contenido de Información de la Devianza (Criterio de elección de modelos), **pD:** cantidad de parámetros que se deben estimar para obtener las frecuencias observadas. **DBar:** grado de ajuste del modelo a los datos (más bajo significa mejor ajuste). θ_{ii} : estima la proporción de

diversidad genética entre poblaciones contemporáneas (G_{st} de Nei), f : estima el coeficiente de endogamia poblacional (F_{IS} de Wright), **IC**: intervalos de confianza.

Para estimar la cantidad de poblaciones de origen que explican las frecuencias alélicas observadas, utilizamos el programa STRUCTURE que calcula la probabilidad posterior de los datos (frecuencias alélicas: x) mediante el algoritmo de Montecarlo basado en Cadenas de Markov (MCMC) para distintos valores de k (poblaciones).

El programa arroja como resultado el logaritmo de esas probabilidades de ajuste de las frecuencias alélicas al modelo con k poblaciones en cada paso de la cadena de Markov ($\ln P(D)$). Estos valores pueden transformarse según propone Evanno et al. (2005) a los efectos de poder visualizar el número de poblaciones (k) que mejor representa las frecuencias alélicas observadas. La figura 3.12 muestra que para Etchegoyen el máximo de la función corresponde a $k=2$, lo que indica que los individuos de este sitio están estructurados en 2 subpoblaciones (o que sus alelos provienen de 2 poblaciones).

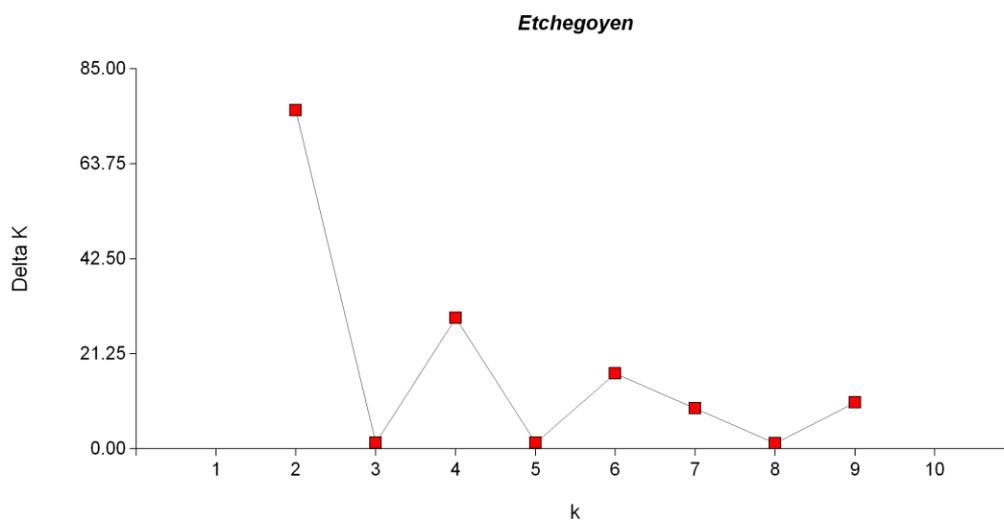


Figura 3.12. Delta k en función de k según Evanno et al (2005). La función Delta K es máxima cuando k se acerca al nº real de poblaciones que explican las frecuencias alélicas muestreadas en Etchegoyen.

La figura 3.13 representa cada individuo como una barra vertical particionada en k colores de acuerdo a la componente genética de origen, en este caso, 2 grupos. Uno de los grupos (verde) se observa mayoritariamente en el pastizal (3), mientras que otro grupo (rojo) se encuentra presente tanto en el lote agrícola (1) como en el ganadero (2) de Etchegoyen.

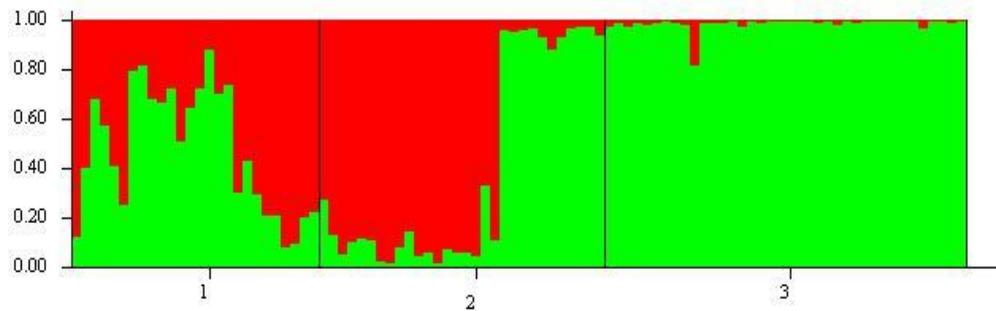


Figura 3.13. Barplot correspondiente a individuos de Etchegoyen. Cada color representa una componente genética de origen.
Referencias: 1:Agrícola; 2: Ganadero; 3:Pastizal.

La figura 3.14 muestra que para UNLu el máximo de la función corresponde a $k=2$, lo que indica que los individuos de este sitio están genéticamente estructurados en 2 subpoblaciones (o que sus alelos provienen de 2 poblaciones diferentes).

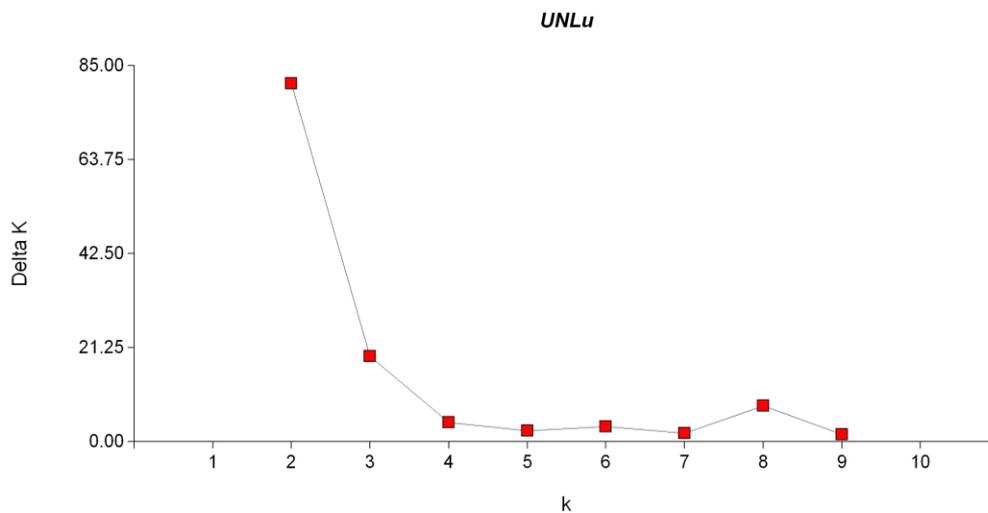


Figura 3.14. Delta k en función de k según Evanno et al (2005). La función es máxima cuando k se acerca al n° real de poblaciones que explican las frecuencias alélicas muestreadas en UNLu.

El gráfico de barras de la figura 3.15 representa cada individuo como una línea vertical particionado con k colores de acuerdo a la componente genética de origen, en este caso, 2 grupos. Uno de los grupos (verde) se observa mayoritariamente en el lote AG2 (5) y en el pastizal (6), mientras que otro grupo (rojo) es mayoritario en el lote AG1 (4). Este resultado es congruente con los valores de θ_{II} estimados más arriba con el programa HICKORY (Tabla 3.7). Se ve claramente una mayor homogeneidad en la componente genética de los individuos del pastizal y del lote AG2 y una mayor divergencia de éstos con los individuos del lote AG1.

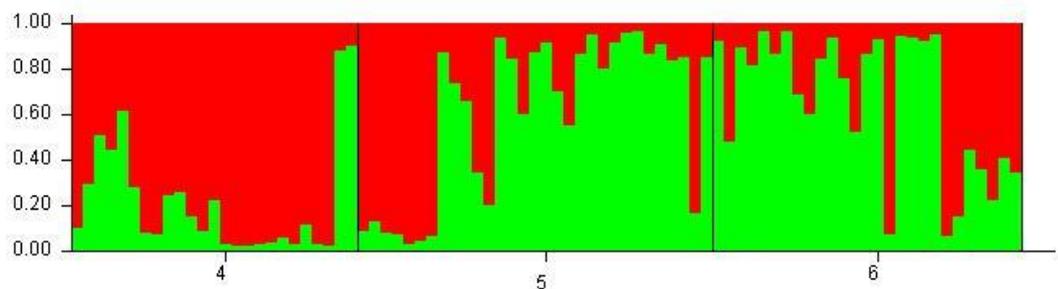


Figura 3.15. Barplot correspondiente a individuos de UNLu. Referencias: 4: agrícola ganadero 1 (AG1), 5: agrícola ganadero 2 (AG2) y 6: pastizal de UNLu (PU).

III. 1.2.1 MEDIDAS DE VARIABILIDAD DE LA MESOFAUNA DEL SUELO.

Ninguna de las variables medidas se ajusta a una distribución de frecuencias normal ($p < 0.0001$), por lo que se utilizan los valores de las medianas y rangos intercuartílicos que describen mejor este tipo de variables de la mesofauna.

La densidad de mesofauna, la riqueza de órdenes y el índice de Chao no muestran diferencias significativas entre años ni entre estaciones de muestreo como se observa en la figura 3.16. Por el contrario, el índice de diversidad de Shannon y la equitatividad de Pielow caen significativamente luego del muestreo de otoño de 2013 (Figura 3.17, $p > 0.003$).

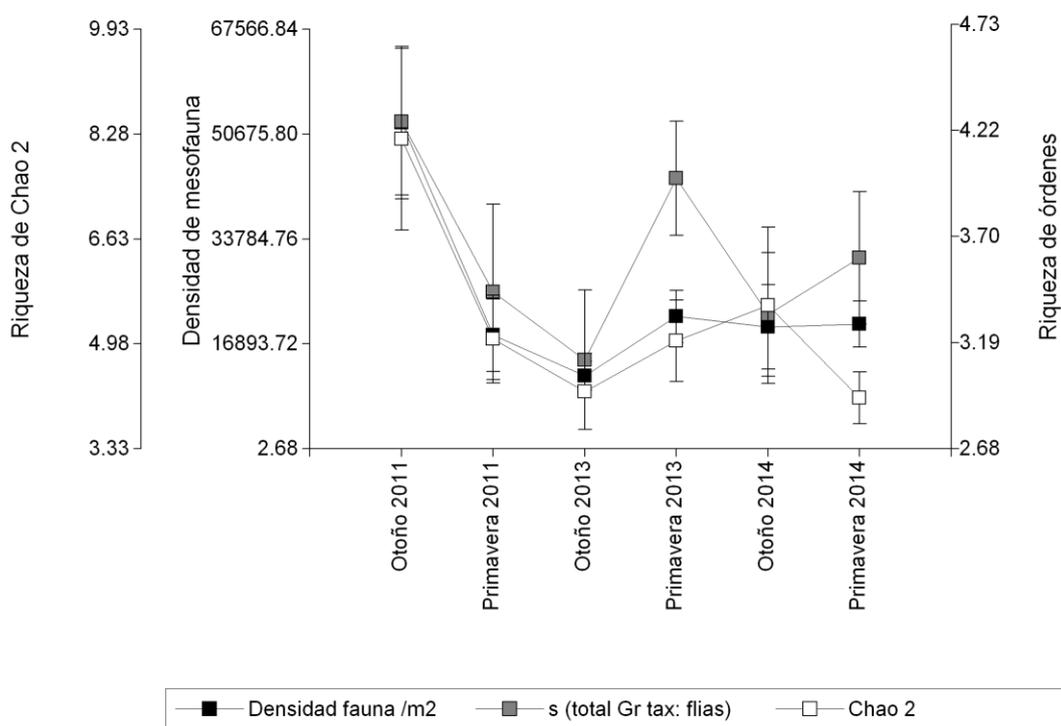


Figura 3.16. Densidad y riqueza de la mesofauna para los diferentes años de muestreos ($p > 0.05$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

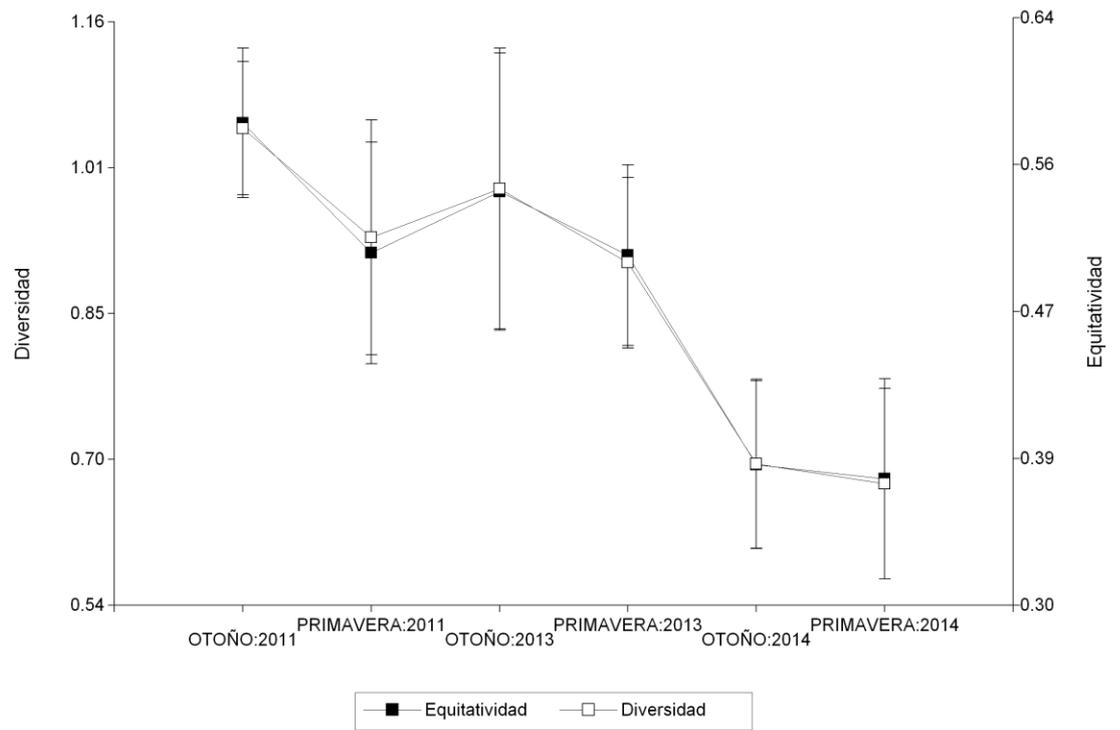


Figura 3.17. Variación temporal del Índice de diversidad de Shannon y del índice de Equitatividad de Pielow para órdenes de la mesofauna ($p > 0.003$).

En los siguientes apartados se detalla el análisis particular de cada variable.

Los valores de densidad de la mesofauna varían entre 0 – 192 400.19 individuos /m² de suelo. La densidad registrada en UNLu ($D_U = 16\ 092.30$) es similar ($p = 0.2405$) a la de Etchegoyen ($D_E = 12\ 201.85$).

Al analizar las diferencias en la densidad de individuos en cada uno de los usos del suelo, se observa en la figura 3.18 que es siempre significativamente mayor en el pastizal de Etchegoyen que en los demás lotes ($p = 0.0002$). Las distintas prácticas agrícolas y ganaderas generan perturbaciones en el ambiente de la mesofauna, alteran la estructura y la matriz química del suelo, fragmentan el hábitat de las comunidades e impactan directamente sobre la densidad de individuos que habitan el suelo. La agricultura continúa (AE) imprime a la mesofauna un filtro ambiental más estricto y reduce notablemente su densidad, en comparación con otros usos agrícolas con rotación (AG1 o AG2).

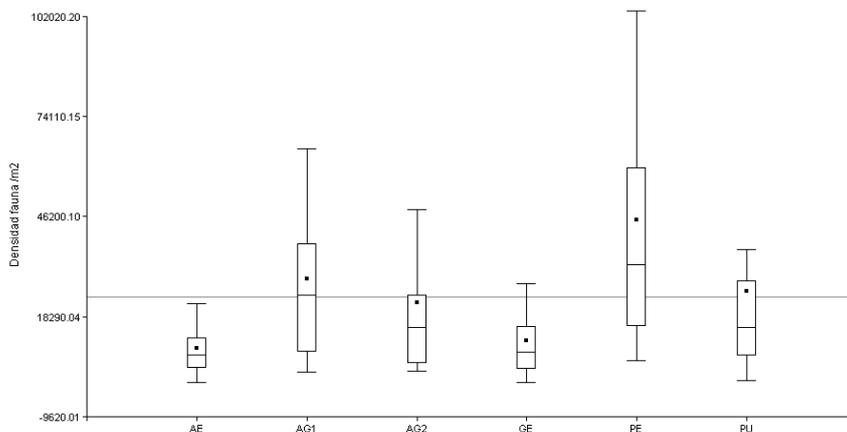


Figura 3.18. Variación de la densidad de mesofauna colectada con Berlese en lotes con diferentes usos ($p=0.0152$). Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

Alrededor del 41% de los individuos pertenecen al orden de colémbolos Arthropleona, mientras que cerca de un tercio de los individuos hallados corresponden

al orden Acari (figura 3.19). Se contabiliza casi un 10% de himenópteros (en su mayoría de la familia Formicidae) en todos los usos, aunque su densidad fue menor en lotes agrícolas (Figura 3.20). Los restantes órdenes hallados presentan una densidad muy baja, entre ellos mencionaremos los órdenes Hemíptera (3.7%), Protura (3.5%), Symphyleona (2.6%), Symphyla (2.4%), Coleóptera (2.2%) y Díptera (1.9%). De los órdenes minoritarios, los órdenes Diplura y Scolopendromorpha fueron colectados exclusivamente en el pastizal de UNLu y el orden Psocoptera solo en el agrícola de Etchegoyen. En este punto es preciso recordar que la metodología de muestreo de fauna fue desarrollada para colectar mesofauna principalmente, y observaciones relacionadas con la abundancia de grupos de mayor tamaño (macrofauna) deben considerar esta limitación de la metodología de muestreo elegida (Sandler et.al, 2010), por lo que los resultados relativos a la macrofauna deben validarse con un muestreo apropiado para este grupo (ej. Trampas pitfall, monolito).

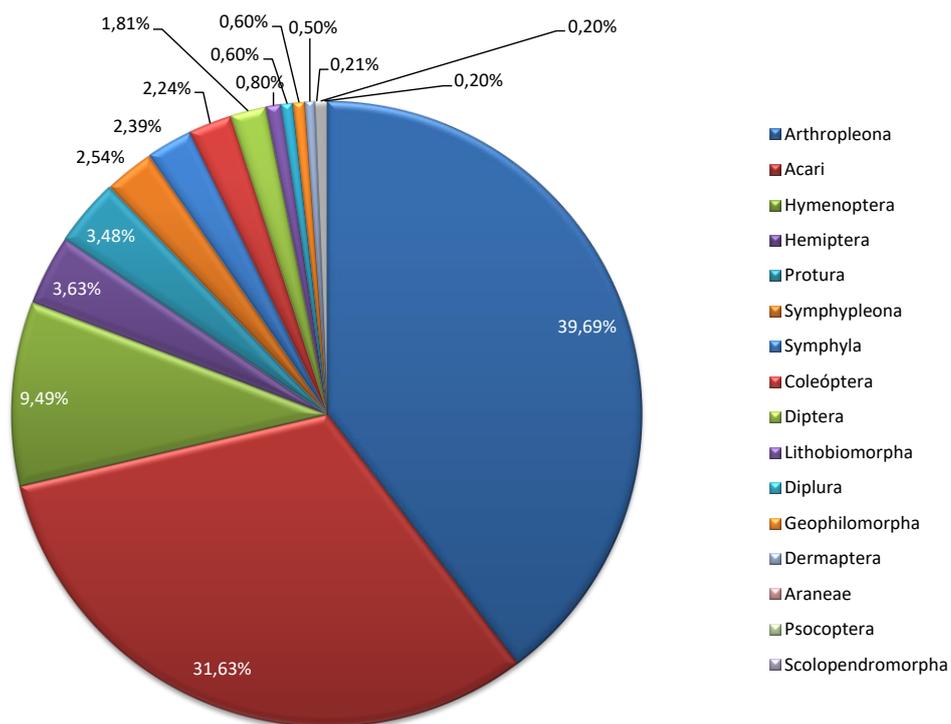


Figura 3.19. Abundancia proporcional de individuos de la mesofauna en el total de las muestras según el orden al que pertenecen.

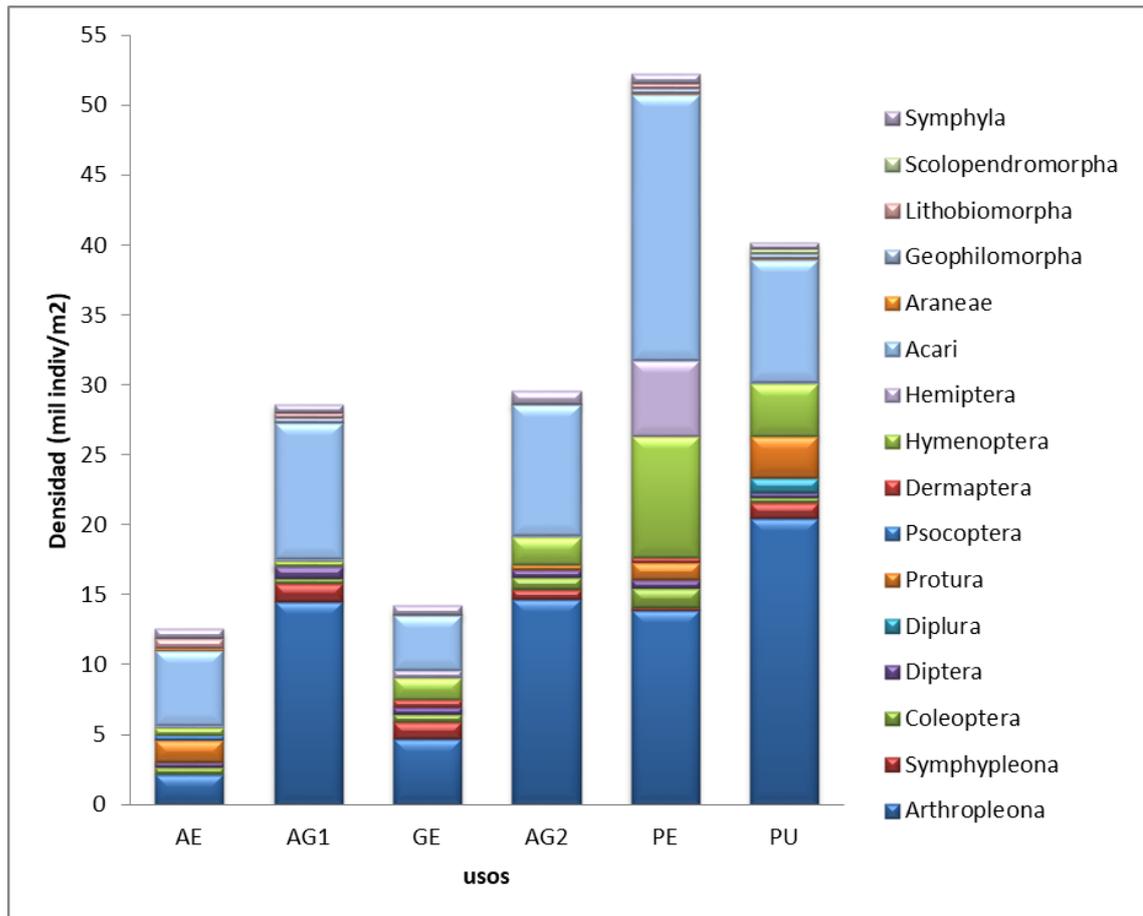


Figura 3.20. Densidad de individuos dentro de cada orden de la mesofauna para cada lote estudiado. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente.

Si bien la densidad total de individuos no se asocia a un uso particular del suelo, se encuentran diferencias en la composición de taxones de la mesofauna. La figura 3.21 muestra el biplot del análisis de componentes principales basado en las abundancias de cada orden en cada lote analizado. Se observa que las dos primeras componentes explican el 98% de la variación de abundancias entre órdenes. La primera componente, que explica el 78% de la variación registrada, separa los lotes perturbados de los demás lotes estudiados y se asocia a los órdenes más abundantes (Acari, Hymenóptera y Coleóptera). La segunda componentes separa los lotes por sitio y se asocia principalmente a órdenes de Arthropleona, Diplura y Scolopendromorpha. El ensamble de órdenes resulta un buen indicador del nivel de disturbio recibido aunque contiene una fuerte componente relacionada con el sitio geográfico que debe tenerse en cuenta.

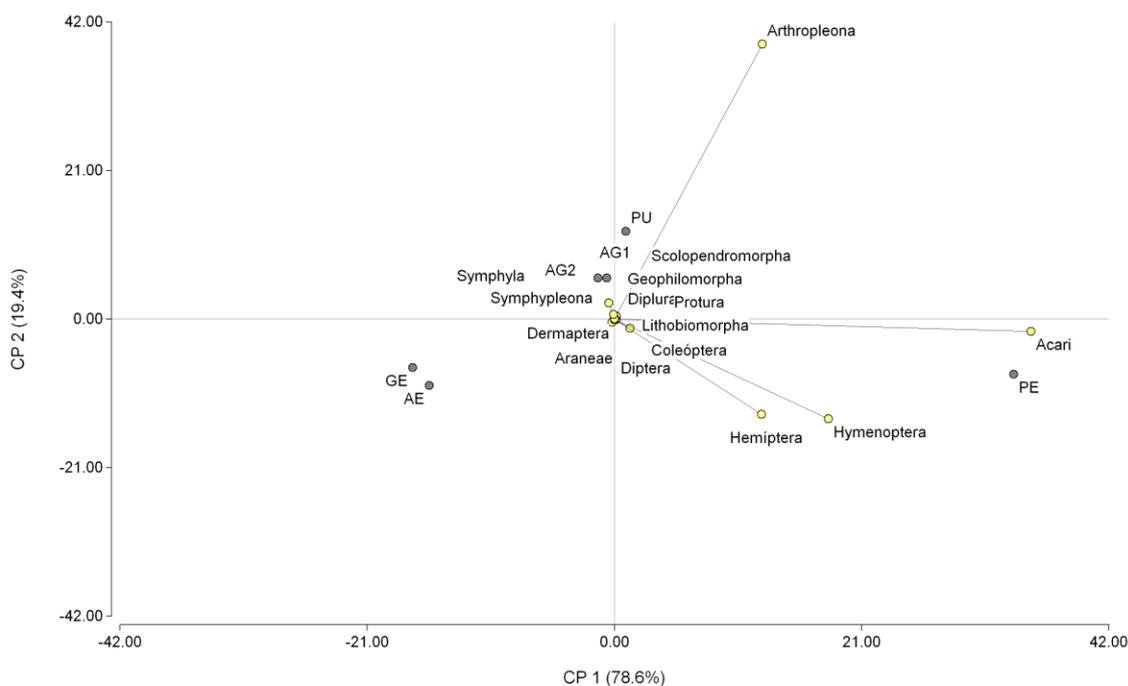


Figura 3.21. Proyección de las abundancias de órdenes de la mesofauna en las dos componentes principales para los diferentes usos del suelo. **Referencias:** AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente.

Los órdenes que explican la elevada densidad de fauna en los pastizales son principalmente los ácaros, los colémbolos del orden Arthropleona y los himenópteros (Figura 3.21). Tanto Acari como Arthropleona alcanzan la misma densidad en los pastizales que en los suelos agrícolas de UNLu, por lo que las diferencias mesofaunísticas residen en otros grupos como protura e himenóptera: dos grupos fungívoros, lo que denota la restricción que impone el suelo bajo explotación para estos órdenes. La variación en la abundancia de estos grupos tiene efectos en la descomposición y el ciclado de nutrientes.

No se registran diferencias significativas en la riqueza de órdenes de cada sitio muestreado (Figura 3.22, $p = 0.6594$), aunque la cantidad de órdenes es levemente menor en Etchegoyen que en UNLu y menor en 2013 que en 2011.

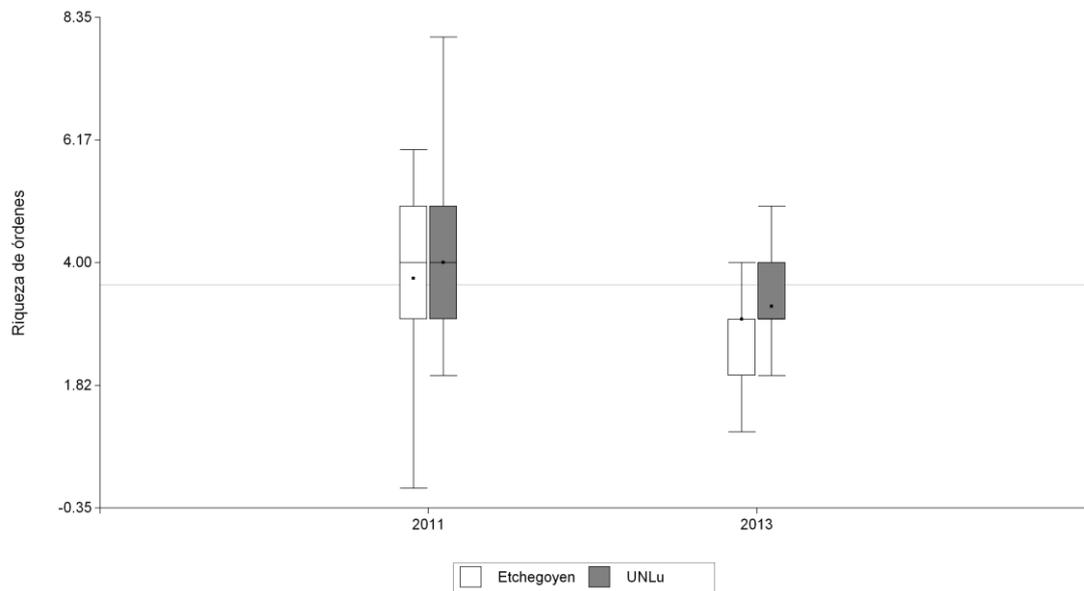


Figura 3.22. Riqueza de órdenes de la mesofauna en los sitios estudiados en cada año de muestreo ($p > 0.05$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

Si consideramos el efecto del uso del suelo observamos que la riqueza de órdenes es mayor en los pastizales (significativamente en PE, $p = 0.0258$) que en los demás lotes (figura 3.23). Las interacciones no resultaron significativas ($p > 0.051$).

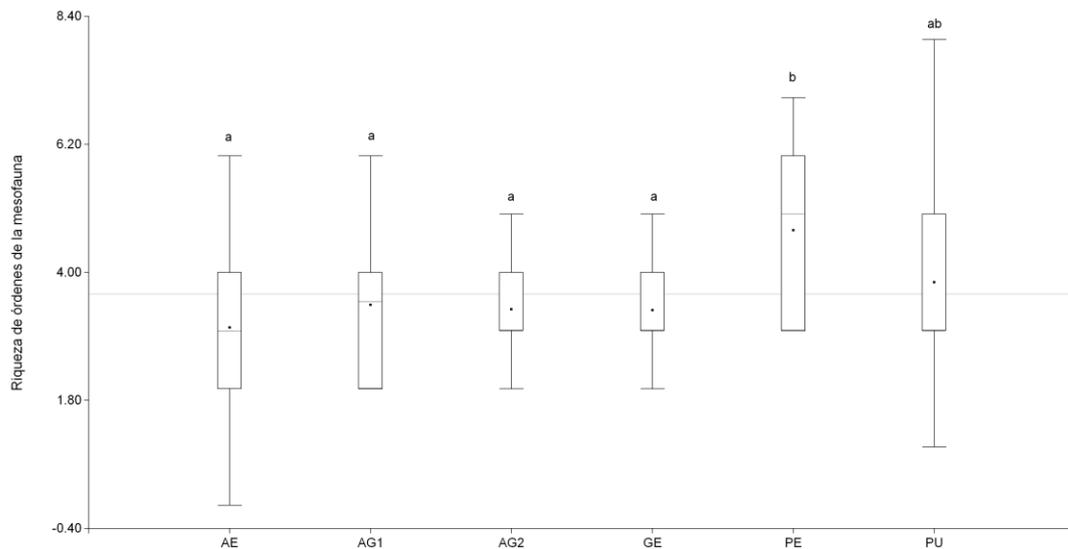


Figura 3.23. Riqueza de órdenes de mesofauna en los diferentes usos del suelo. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2(UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Letras distintas representan diferencias significativas ($p=0.0445$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

Se puede pensar del mismo modo que al analizar la densidad y entender que el número de órdenes está sujeto a fluctuaciones y muestra ser mayor en sitios no perturbados. Una mayor riqueza le brinda al sistema mayor estabilidad y resitencia a perturbaciones (Yang et al. 2018; Macarthur, 1995; Elton, 1958).

Se utilizó también un método no paramétrico (Chao 2) para estimar la riqueza basada en la incidencia de taxones cuyo estimador considera el número de órdenes con presencia única entre las muestras y el número de órdenes que está presente solo en dos muestras. Este índice no presenta diferencias significativas para ninguno de los usos del suelo analizados ($p=0.2848$) y por esta razón le asignamos escaso valor como indicador de perturbaciones del suelo (figura 3.24).

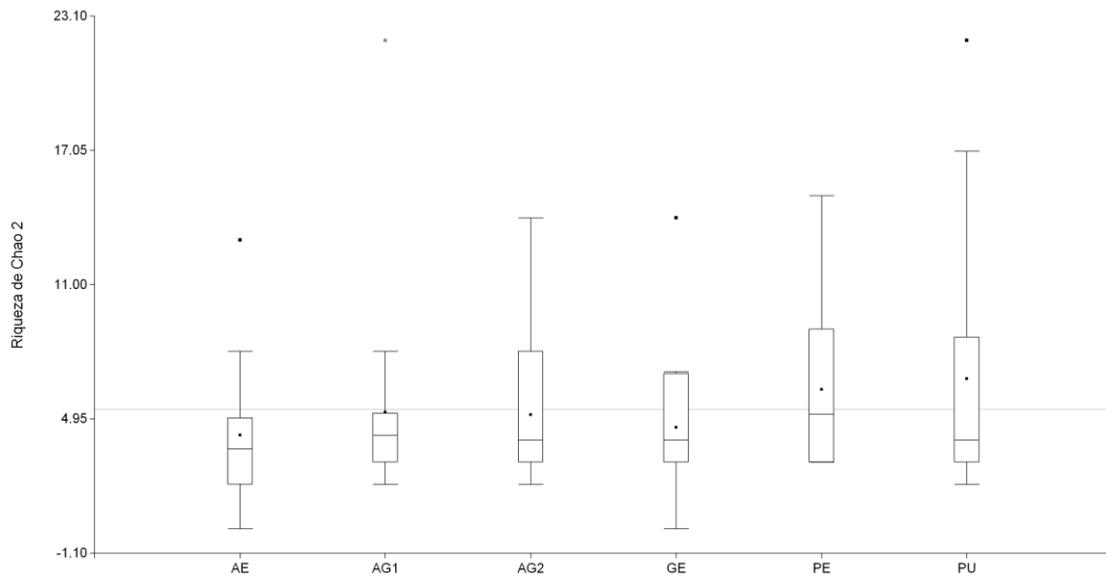


Figura 3.24. Riqueza de Chao para órdenes de la mesofauna en los diferentes usos analizados ($p > 0.05$). Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

III.1.2.1.3 DIVERSIDAD Y EQUITATIVIDAD TAXONÓMICA

Este índice registra valores que varían entre 0 y 2.06 bits/individuo y coincide el máximo, con el valor máximo de UNLu, aunque la diferencia entre sitios no es significativa para ningún año de muestreo ($p > 0.1370$) y los valores reflejan una baja diversidad ($H' < 1.35$) en ambos sitios según Aguirre-Mendoza (2013).

Si analizamos los valores registrados en los diferentes usos del suelo (figura 3.25), se observan los menores valores de diversidad en lotes agrícolas ($H'_{AG1} = 0.66$; $H'_{AG2} = 0.74$; $H'_{AE} = 0.69$) y los mayores en los pastizales ($H'_{PE} = 1.19$ y $H'_{PU} = 0.91$) aunque estas diferencias no son significativas ($p > 0.1652$). Los valores de equitatividad (Figura 3.26) presentan el mismo comportamiento que la Diversidad de Shannon y reflejan una moderada heterogeneidad de abundancias de taxones entre usos debido a que sus valores se ubican en el rango 0.34 - 0.66 que Aguirre-Mendoza (2013) categoriza de este modo.

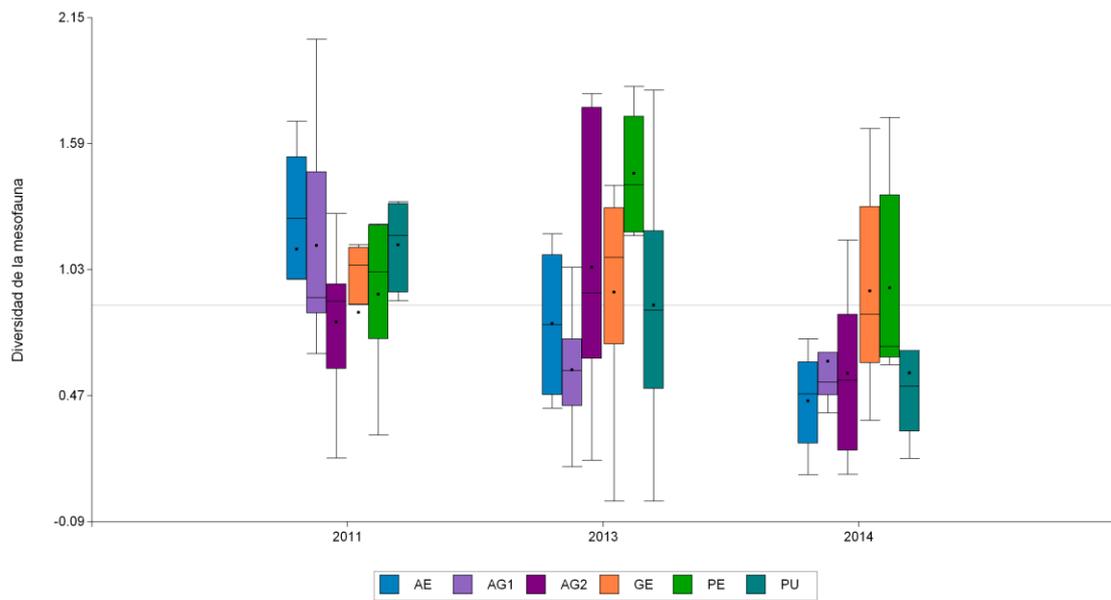


Figura 3.25. Diversidad de Shannon para órdenes de la mesofauna de acuerdo a los usos del suelo para cada año de muestreo ($p > 0.1652$). Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

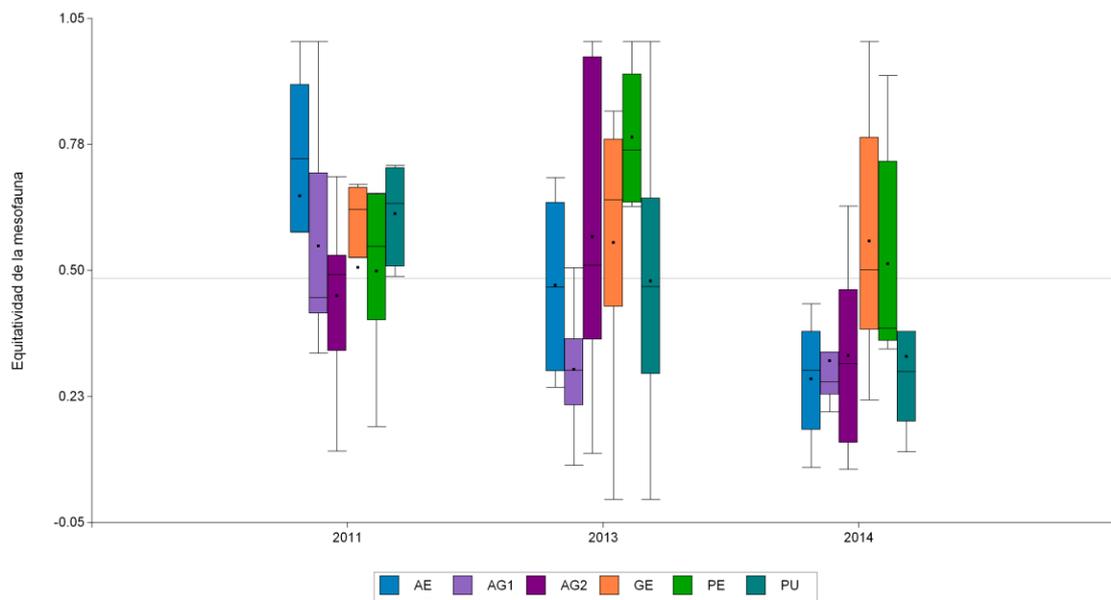


Figura 3.26. Equitatividad de Pielow para órdenes de la mesofauna en cada uso del suelo muestreado. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

Al considerar el grado de semejanza en la composición faunística en estos ecosistemas (triangular superior de la matriz de la tabla 3.8) encontramos que todos los pares de lotes son moderadamente similares en el ensamble mesofaunístico, ya que presentan valores de Similitud de Jaccard mayores a 0.33 y menores que 0.67 (Aguirre-Mendoza, 2013). Dentro de la semejanza mesofaunística entre todos los lotes, se destaca el valor más alto entre las comunidades del suelo de los pastizales que comparten 12 de los 14 órdenes registrados en estos suelos. También registran similitudes altas las comunidades del suelo del pastizal de Etchegoyen con la del suelo agrícola mixto 1 de UNLu y con la mesofauna del suelo ganadero de Etchegoyen. En Etchegoyen, la comunidad de la mesofauna del suelo ganadero se asemeja más a la del pastizal (y comparte 11 órdenes) que a la del suelo agrícola y en UNLu se observa el mismo patrón, al comparar la mesofauna del suelo con mayor antigüedad de forrajeo bovino, el agrícola mixto2 (AG2), con la del pastizal (comparten 11 órdenes) y se distancia de la comunidad del suelo con más años de agricultura (AG1).

Tabla 3.8. Matriz de similitud mesofaunística entre usos del suelo.

	<i>AE</i>	<i>AG1</i>	<i>AG2</i>	<i>GE</i>	<i>PE</i>	<i>PU</i>
<i>AE</i>	-	0.14	0.31	0.08	0.37	0.34
<i>AG1</i>	9	-	0.25	0.09	0.42	0.29
<i>AG2</i>	10	9	-	0.11	0.15	0.39
<i>GE</i>	9	9	10	-	0.42	0.29
<i>PE</i>	11	11	11	11	-	0.44
<i>PU</i>	10	10	11	10	12	-

Triangular superior: similitud de Jaccard, triangular inferior: número de órdenes compartidos. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente.

Se combinan las variables medidas y el análisis de componentes principales las resume en dos componentes artificiales que explican el 94.7% de las variaciones registradas entre los lotes (figura 3.27). La primera componente explica el 73,7% de las variaciones y sintetiza la información de más de tres variables originales, (autovalor=3.69) con una correlación positiva con el número de ordenes (R=0.99), con

la densidad de individuos ($R=0.87$) y con el índice de diversidad de Shannon ($R=0.93$). Esta componente separa a los pastizales de los demás lotes y muestra al pastizal de UNLu con una fuerte asociación con la densidad de individuos y la riqueza de Chao. La componente principal 2 explica el 21% de las variaciones registradas y resume la información de más de una variable (autovalor=1.05).

Las variables registradas en la fauna del suelo son afectadas de manera diferente por distintos usos del suelo.

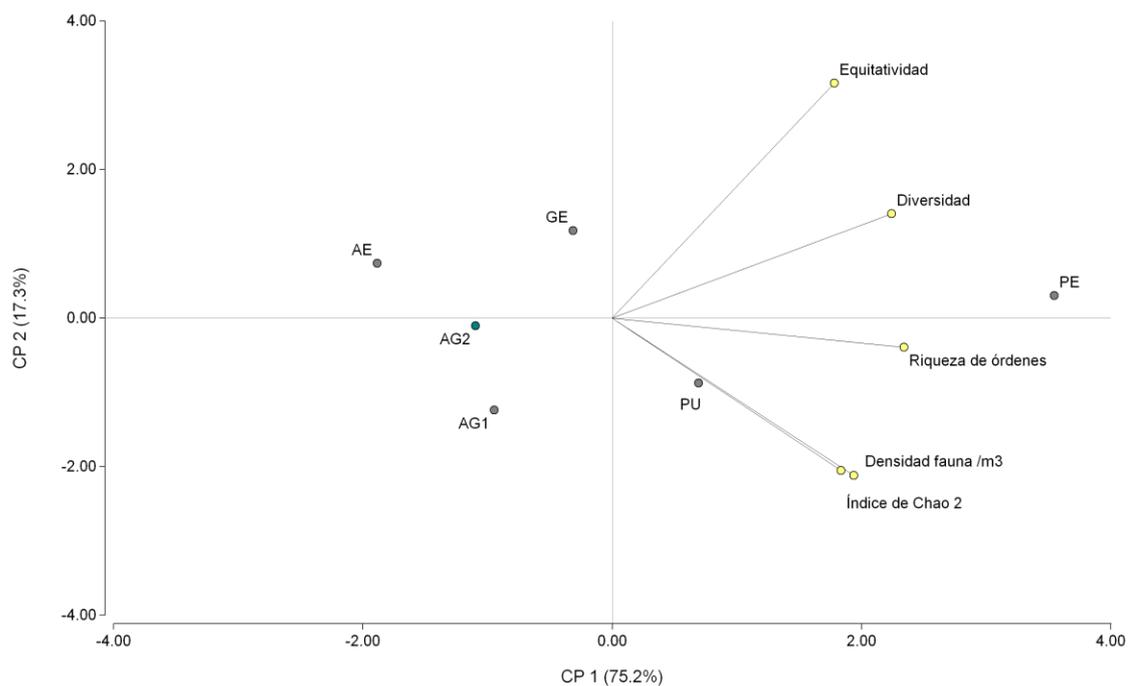


Figura 3.27. Proyección en el plano de las dos primeras componentes principales de la variabilidad mesofaunística asociada a cada lote analizado: AE= Agrícola de Etchegoyen; GE= Ganadero de Etchegoyen; PE= Pastizal de Etchegoyen; AG1= Agrícola de UNLu; AG2= Ganadero de UNLu; PU= Pastizal de UNLu.

III.1.2.2 MEDIDAS DE VARIABILIDAD DE LA COMUNIDAD DE LOMBRICES DE TIERRA

Ninguna de las variables medidas se ajusta a una distribución de frecuencias normal ($p<0.0001$). La distribución de frecuencias de esta variable es asimétrica hacia la izquierda, registrándose muchos valores nulos en los 18 puntos muestreados en cada lote, razón por la cual se consideran los valores promedios a pesar de que la variable no sea normal. Ninguna de las variables calculadas para la comunidad de lombrices presentan diferencias significativas entre años ni estaciones de muestreo así

como tampoco difieren entre sitios de muestreo ($p > 0.05$). En los siguientes apartados se detalla el análisis particular de cada variable.

III.1.2.2.1 DENSIDAD DE LOMBRICES

Se encuentran diferencias significativas en la densidad de lombrices medida en cada uso del suelo. La figura 3.28 nos muestra una densidad promedio de lombrices significativamente mayor ($p = 0,0304$) en el pastizal de UNLu (31.11 ± 42.32 lombrices por m^2) que en los tres lotes agrícolas con distintos manejos (AE = 4.44 ± 10.71 ; AG2 = 8 ± 20.72 ; AG1 = 8.89 ± 21.41 lombrices por m^2). En el lote ganadero (GE) se registran valores de densidad intermedios (18.67 ± 41.16). La intensidad y el uso del suelo influye en la densidad y en la composición de especies de lombrices (Coleman y Whitman, 2005; Geissen et.al, 2009; Falco et.al, 2015; Frazão et.al, 2017).

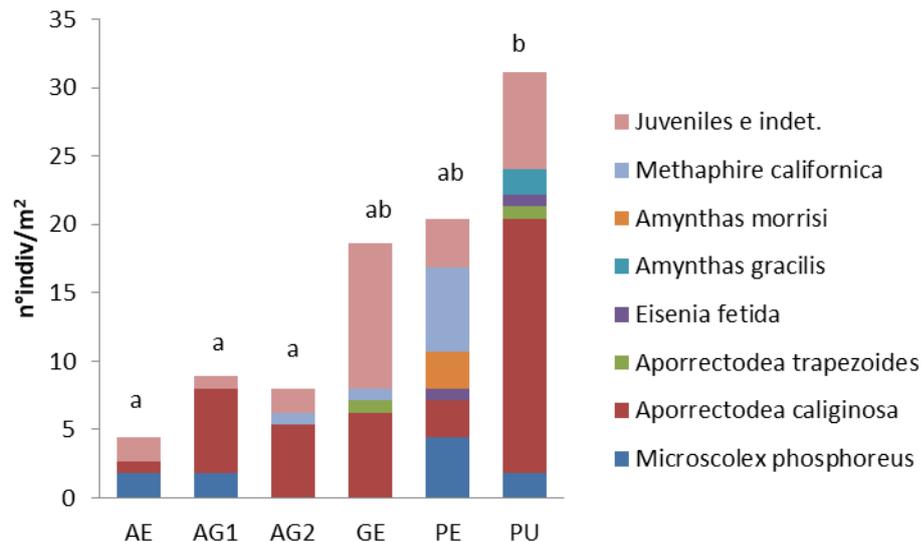


Figura 3.28. Densidad de lombrices (individuos/ m^2) en los diferentes usos estudiados. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2(UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Letras distintas indican diferencias significativas ($p = 0.0304$).

Cerca de la mitad de los individuos hallados en cada uso corresponde a la especie *Aporrectodea caliginosa* (figura 3.29) y esta misma especie es la que explica la elevada densidad de lombrices en el pastizal (figura 3.28). El efecto de esta especie

oligohúmica, según Bouché (1977) y Lavelle (1983), o mesohúmica según Falco et.al (2010), en el ecosistema está asociado a la descomposición y el ciclado de nutrientes en estos suelos. Se requieren un mayor esfuerzo de muestreo para detectar asociaciones entre especies de lombrices y usos del suelo particulares.

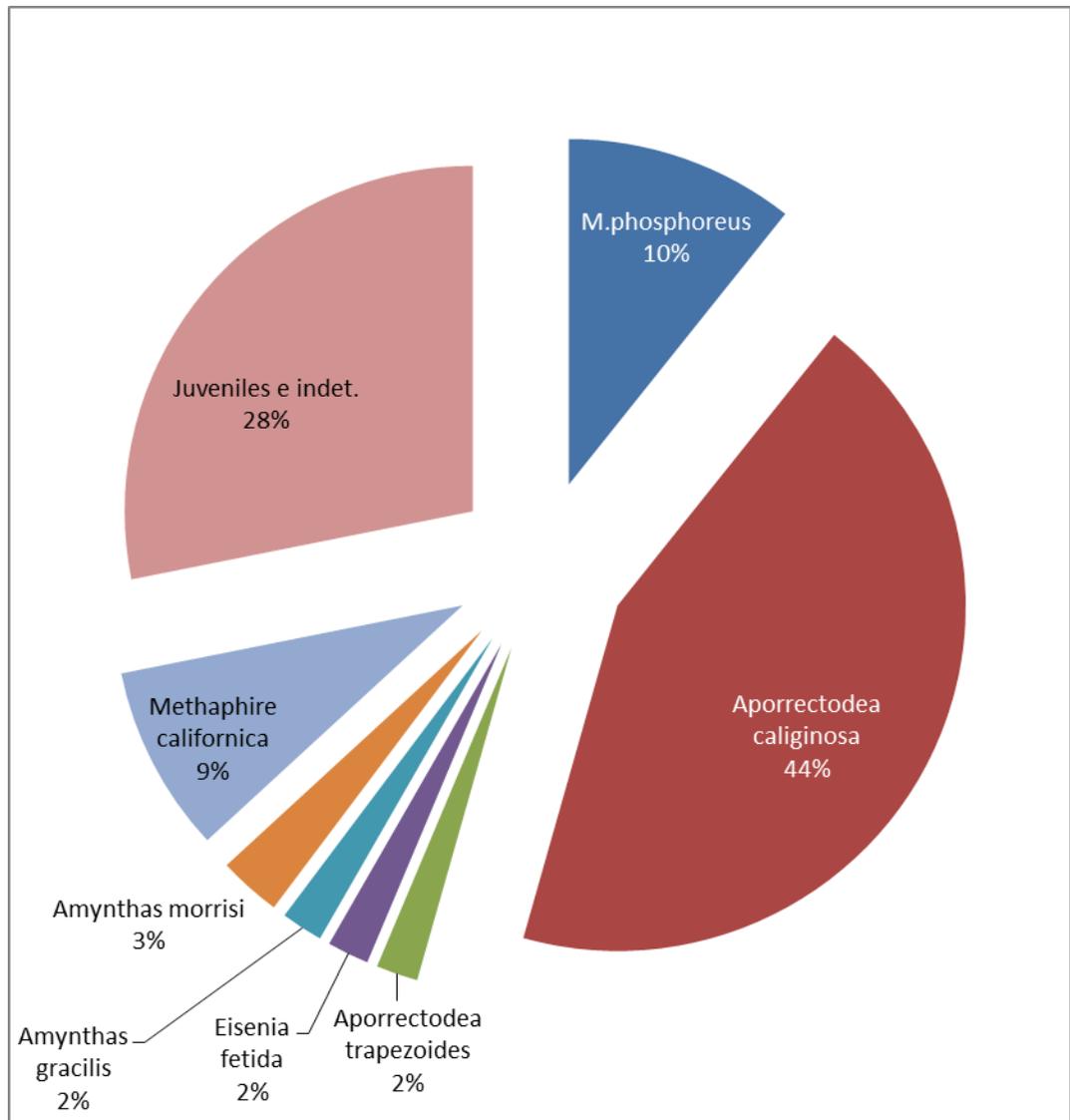


Figura 3.29. Abundancia proporcional de especies de lombriz de tierra muestreadas (100%= 103 individuos).

Se calculó la riqueza de especies de lombrices halladas y de especies raras mediante el índice de Chao 2. Se encuentran diferencias marginalmente significativas en ambas variables en los diferentes usos del suelo. La figura 3.30 muestra que la cantidad de especies promedio es significativamente mayor en los pastizales ($S_{PU} = 0.61$; $S_{PE} = 0.56$), donde se registran cinco especies diferentes, que en los lotes agrícolas ($S_{AE} = 0.11$; S_{AG1} y $S_{AG2} = 0.22$) y el ganadero ($S_{GE} = 0.28$), donde se encuentran 2 y 3 especies respectivamente ($p = 0.0914$). En todos los usos se encontraron ejemplares de *Aporrectodea caliginosa*.

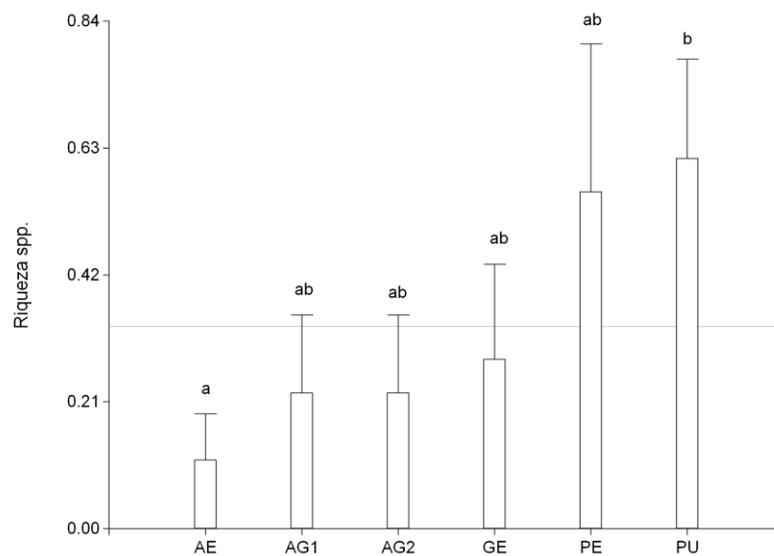


Figura 3.30. Riqueza de especies de lombrices en cada uso del suelo. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Letras distintas expresan diferencias significativas ($p = 0.0220$).

La cantidad de especies raras presenta el mismo comportamiento que la riqueza de especies (figura 3.31).

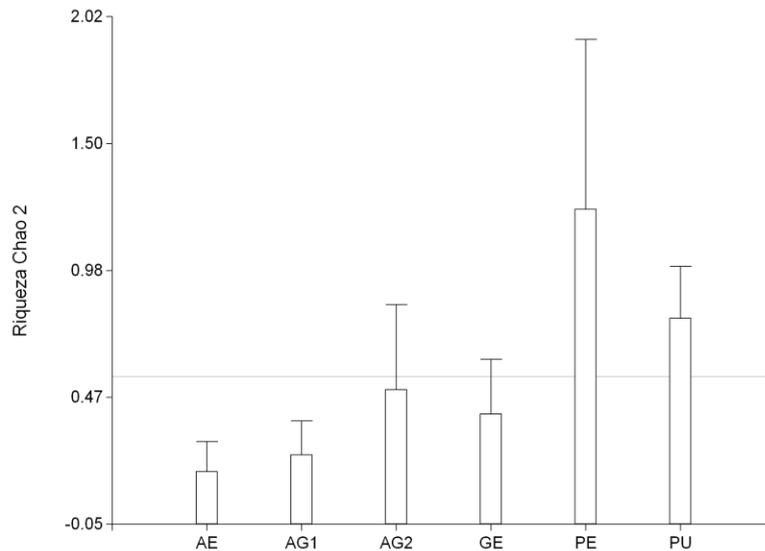


Figura 3.31. Riqueza de especies raras de lombrices en cada uso del suelo. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente ($p=0.1076$).

De las especies minoritarias, *Eisenia fetida*, *Amyntas gracilis* y *Amyntas morrissi* fueron colectadas exclusivamente en los pastizales. *Eisenia fetida* es una especie epígea, que habita la superficie del suelo, alimentándose de la hojarasca, mientras que las especies de *Amyntas sp.* pertenecen a la categoría ecológica de lombrices epi-endógeas por habitar los primeros centímetros del horizonte edáfico y alimentarse tanto de la hojarasca como de materiales en descomposición y participar en la ruptura y mineralización de materia orgánica. Todas las especies halladas en suelos con uso ganadero y agrícola también se encontraron en los pastizales. Las especies que aportaron al elevado valor de Chao en los pastizales fueron *Aporrectodea caliginosa*, *Amyntas morrissi* y *Metaphire californica*.

Se evidencia aquí lo propuesto por la hipótesis clásica de diversidad y estabilidad (Macarthur, 1995; Elton, 1958 y Yang et.al, 2018) en relación a que en un sistema más perturbado el número de especies es menor, lo cual reduce la diversidad biológica del sistema y se asocia a una menor resistencia a las perturbaciones.

El índice de diversidad de Shannon registra valores que varían entre 0 y 1.50 bits/individuo y coincide con el rango de valores medidos en Etchegoyen y es ligeramente más amplio que el rango de UNLu (0-1.00). En Etchegoyen se registró una mayor diversidad promedio (0.10 bits/individuo) comparativamente con UNLu (0.08 bits/individuo), aunque la diferencia no es significativa ($p = 0.9561$) y los valores reflejan una baja diversidad en ambos sitios según la categorización propuesta por Aguirre-Mendoza (2013). Si analizamos los valores registrados en los diferentes usos del suelo (figura 3.32), se observan los menores valores de diversidad en lotes agrícolas ($H'_{AE} = 0$; $H'_{AG1} = 0.06$; $H'_{AG2} = 0.06$) y los mayores en los pastizales ($H'_{PU} = 0.13$ y $H'_{PE} = 0.21$) aunque las diferencias entre usos no son significativas ($p = 0.4401$).

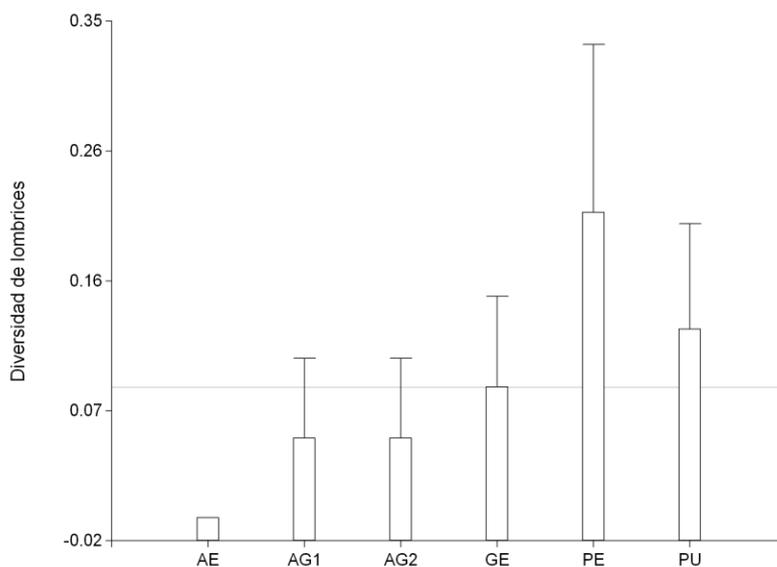


Figura 3.32. Diversidad de Shannon promedio para especies de lombrices en cada uso del suelo. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Se indica sobre cada barra el desvío estándar de las mediciones. Línea gris: Promedio global.

Al considerar el grado de semejanza en la comunidad de lombrices en estos ecosistemas (triangular superior de la matriz de la tabla 3.9) encontramos que la mayoría de los pares de usos son diferentes faunísticamente, ya que presentan valores de Similitud de Jaccard menores a 0.33 (Aguirre-Mendoza, 2013). Se registra una

elevada similitud en la comunidad de lombrices de suelos asociados al pastoreo de ganado (GE y AG2), en ambos lotes encontramos las especies *Aporrectodea caliginosa* y *Metaphire californica*. Son más disimiles las comunidades de lombrices del suelo agrícola y ganadero de Etchegoyen que no comparten ninguna especie. Las comunidades de lombrices de suelos con forrajeo de ganado difieren con las comunidades registradas en los pastizales del sitio correspondiente (ver AG2-PU y GE-PE, que si bien comparten dos especies, se encontraron tres especies exclusivas del suelo pastizal: *Eisenia fétida*, *Amyntas morrisi* y la nativa *Microscolex phosphoreus*). Estos resultados muestran que el ensamble de especies en la comunidad de lombrices responde a características físicas, química y de manejo del suelo.

Tabla 3.9. **Matriz de similitud de especies de lombrices entre usos del suelo.**

	AE	AG1	AG2	GE	PE	PU
AE	0	0.29	0.30	0.0	0.21	0.27
AG1	2	0	0.30	0.25	0.20	0.40
AG2	1	1	0	0.67	0.24	0.17
GE	1	1	2	0	0.17	0.33
PE	2	2	2	2	0	0.29
PU	2	2	1	2	3	0

Triangular superior: similitud de Jaccard (1-d), triangular inferior: número de órdenes compartidos. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2(UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente.

Al combinar las variables medidas en la comunidad de lombrices, el análisis de componentes principales las resume en dos componentes artificiales que explican el 98.3% de las variaciones registradas entre los lotes (figura 3.33). La primera componente explica el 88% de las variaciones y sintetiza la información de más de tres variables originales, (autovalor = 3.53) con una correlación positiva con el índice de Diversidad de Shannon (R = 0.96), con la riqueza de especies (R = 0.98), con el índice de Chao (R = 0.93) y con la densidad de lombrices (R = 0.88). Esta componente separa a los pastizales de los demás lotes y muestra el pastizal de UNLu una fuerte asociación

con la riqueza de especies de lombriz. La componente principal 2 explica el 10.0% de las variaciones registradas y resume la información de menos de una variable (autovalor = 0.40).

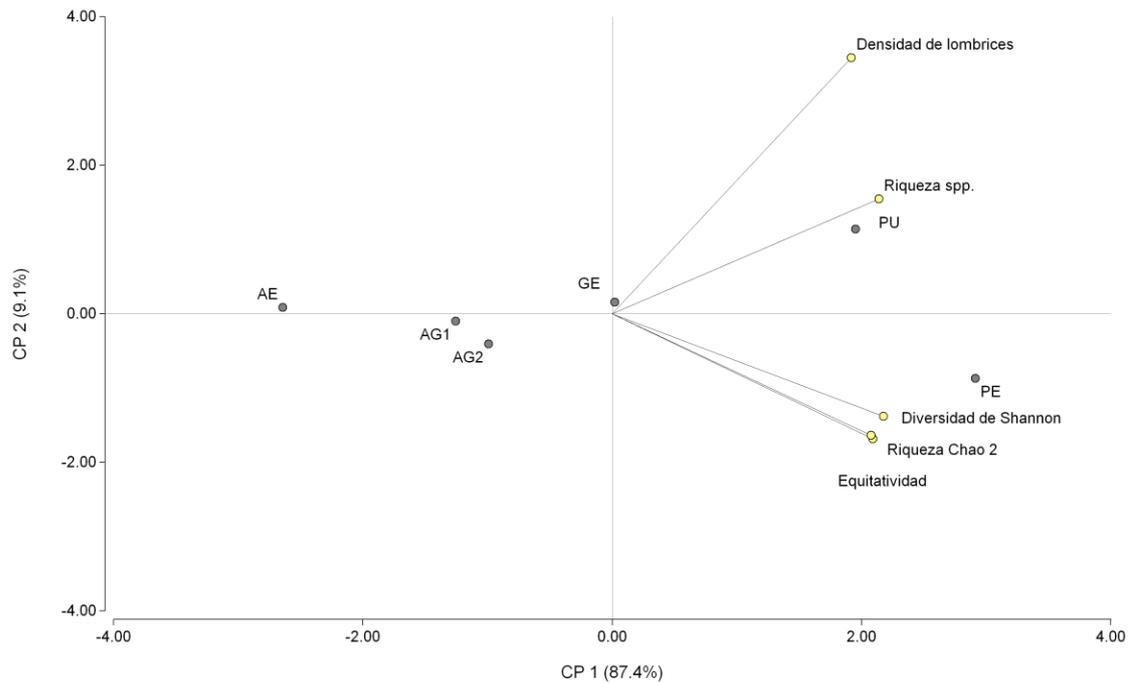


Figura 3.33. Proyección en el plano de las componentes principales que explican la variabilidad de la fauna de lombrices en cada lote estudiado. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente.

Al igual que las variables registradas en la mesofauna del suelo, las asociadas a la comunidad de lombrices, permiten distinguir suelos con algún grado de explotación productiva, de suelos sin uso, como el pastizal.

III.2 VARIABLES QUÍMICAS DEL SUELO

Dado que las frecuencias de las tres variables no se ajustan a una distribución normal comparamos los lotes a través de sus medianas. La figura 3.34 muestra las variaciones interanuales del porcentaje de nitrógeno del suelo, que se incrementa significativamente entre 2008 y 2011 ($p = 0.0104$). No se registran variaciones estacionales significativas del porcentaje de nitrógeno del suelo ($p = 0.3532$).

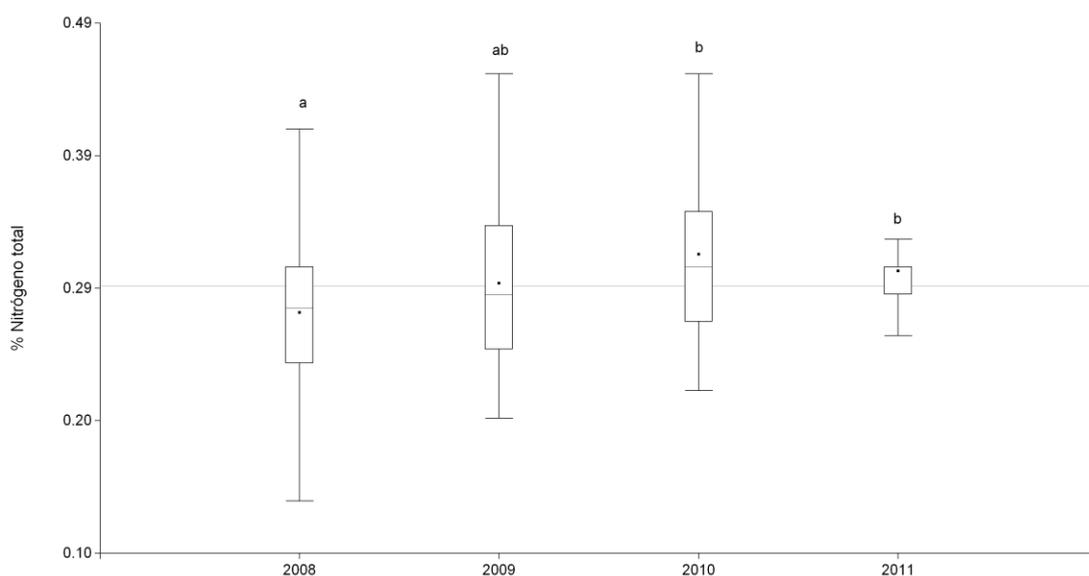


Figura 3.34. Porcentaje de nitrógeno total del suelo en cada año de muestreo. Letras distintas representan diferencias significativas ($p=0.0104$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

La tabla 3.10 muestra los valores de pH y el porcentaje de materia orgánica del suelo de las distintas estaciones de muestreo. Se observan mayores valores de pH para 2009-2010 que para los años 2011 y 2013 ($p < 0.0001$) mientras que el %MO no varía significativamente entre años de muestreo. En otro nivel de análisis, el pH y el %MO muestran variaciones estacionales significativas ($p < 0.033$), en primavera (2011-2013) se registran los menores valores de pH y en otoño el menor %MO.

Tabla 3.10: Variables químicas medidas en cada estación de muestreo.

<i>Variable</i>	<i>Otoño</i>	<i>Invierno</i>	<i>Primavera</i>	<i>Verano</i>	<i>p</i>
pH (2009-2010)	6.52	6.47	7.03	6.45	0.5111
pH (2011-2013)	5.75 b	5.91 b	5.58 a	Sin dato	0.0072
%MO	4.55 a	4.68 ab	5.77 b	4.60 ab	0.0338

Medianas de pH y del porcentaje de materia orgánica (%MO) del suelo. p: nivel de significación de la prueba de Kruskal-Wallis para las diferencias entre estaciones. Letras distintas representan diferencias significativas entre estaciones.

Se testearon a posteriori las diferencias entre sitios de muestreo y usos del suelo, así como también las interacciones entre los factores (tiempo, sitio y uso del suelo). Se analiza en cada apartado subsiguiente el comportamiento de estas variables.

III.2.1 NITRÓGENO TOTAL DEL SUELO

Los valores de porcentaje de Nitrógeno del suelo varían entre 12 y 47% y coincide con el rango de valores medidos en Etchegoyen, que muestra una mediana similar a la registrada en suelos de UNLu (%N_E = 30%; %N_U = 28%, p = 0.1083). No se observó interacción significativa entre los factores tiempo y sitio de muestreo (p > 0.285). La figura 3.35 muestra para cada año las diferencias en el porcentaje de nitrógeno en los distintos usos del suelo. En el primer año de muestreo no se registran diferencias en el porcentaje de nitrógeno entre usos. En 2009 se observan valores significativamente menores en dos de los tres suelos agrícolas analizados (N_{AE-2009} =

26%; $N_{AG1-2009} = 26\%$; $\%N_{AG2-2009} = 34\%$). Ese año se registra una rotación en el lote AG1 de cultivo de avena/soja a pastoreo de ganado bovino sobre pastura permanente y en AG2 se rota de pastura a siembra directa de Sorgo /maíz/avena. En el año 2010 se registran los mayores valores de nitrógeno en el suelo agrícola de Etchegoyen ($\%N_{AE-2010} = 40\%$) y en 2011 el suelo de ambos pastizales presenta los mayores valores de nitrógeno (mas marcado en PE: $N_{PE-2011} = 33\%$; $\%N_{PU-2011} = 31\%$) en comparación con los lotes perturbados.

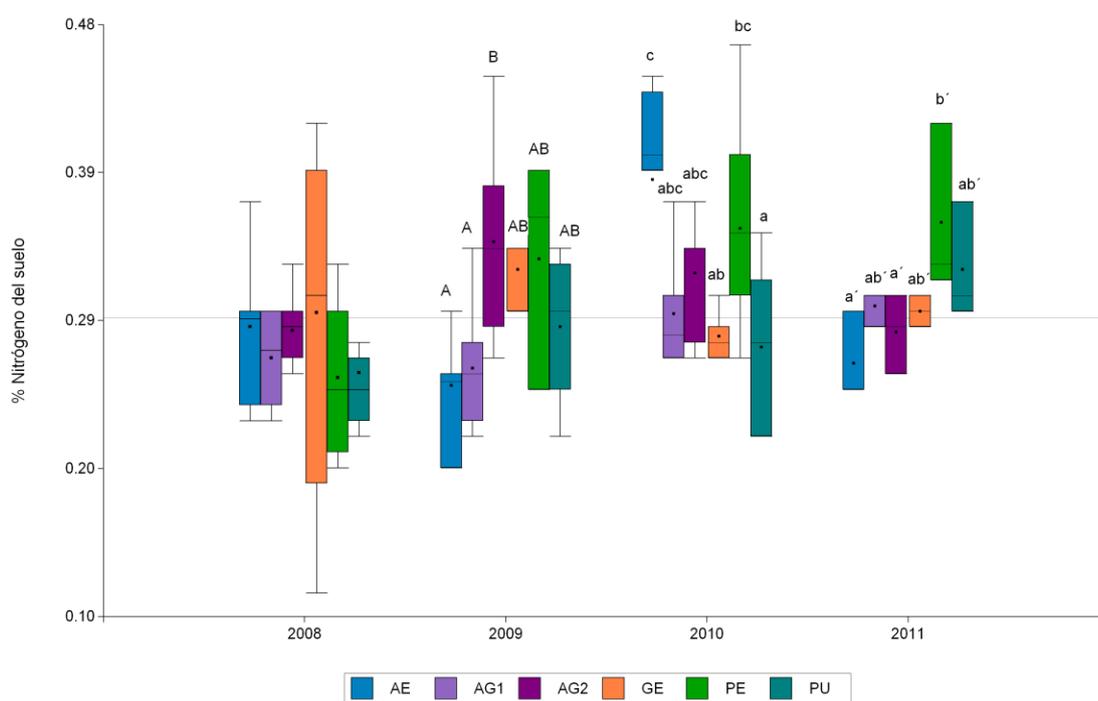


Figura 3.35 Porcentaje de nitrógeno total del suelo en Lotes con diferentes uso del suelo para los diferentes años de muestre o. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2(UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Letras distintas representan diferencias significativas entre usos dentro del mismo año ($p_{2008} = 0.2383$, $p_{2009} = 0.0164$, $p_{2010} = 0.0538$, $p_{2011} = 0.0683$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global. ($p_{año \times uso} < 0.0018$).

La incorporación de materia orgánica (hojarasca y heces de ganado) y la aplicación de fertilizantes nitrogenados explican el aumento del %N en el suelo, mientras que el consumo de nitrógeno tanto por parte de los organismos del suelo como por los cultivos participa del balance de esta variable en el suelo. Debemos

considerar en el análisis por un lado la rotación ganadera- agrícola en lotes de UNLu, que produce un ciclo de incorporación-consumo de nitrógeno que permite explicar la reducción de esta variable en el lote AG2 a partir del año 2009, a la vez que en el lote AG1 se registra un incremento (explicado por bosteo y fertilización con fosfato diamónico y urea, un año después de la rotación (2010). La historia de uso ganadero del lote de Etchegoyen es mas reciente que en UNLu y no registra agregado de fertilizantes. Esto explica que este lote registre poca variación en el %N medido. Existe una interacción significativa entre las estaciones o años de muestreo y el uso del suelo ($p < 0.0018$) que agregan varianza no aditiva a los resultados analizado.

El porcentaje de nitrógeno junto a otras variables, impacta en la abundancia y actividad de la fauna del suelo, principalmente en bacteriófagos y saprobios (algunos ácaros y symphyla) que regulan los procesos de descomposición y ciclado de nutrientes asociados a la productividad primaria del ecosistema. Para el año 2011 contamos con mediciones de mesofauna que muestran que el mayor %N en el pastizal coincide con una mayor densidad, y riqueza de órdenes de la mesofauna en estos mismos lotes.

III.2.2 PH DEL SUELO

Los valores de pH del suelo varían entre 5.14 y 7.61. En los primeros años de muestreo (2009-2010) los suelos de Etchegoyen son levemente más ácidos que los de UNLu (Figura 3.36, $p = 0.0126$), aunque registran variaciones estacionales. Se observa lo contrario durante 2011-2013 con suelos más ácidos en UNLu que en Etchegoyen y esta diferencia es significativa en primavera ($p = 0.004$). Las variaciones del pH entre años y entre estaciones del año se suman a las diferencias entre sitios de muestreo. Notamos que los menores valores de pH registrados en primavera de 2013 coinciden con uno de los máximos de precipitaciones registradas para primavera (septiembre

2013 en figura 2.2: datos meteorológicos sección II.1) y podemos asociarlo con la erosión hídrica que lava componentes básicos del suelo y los acidifica.

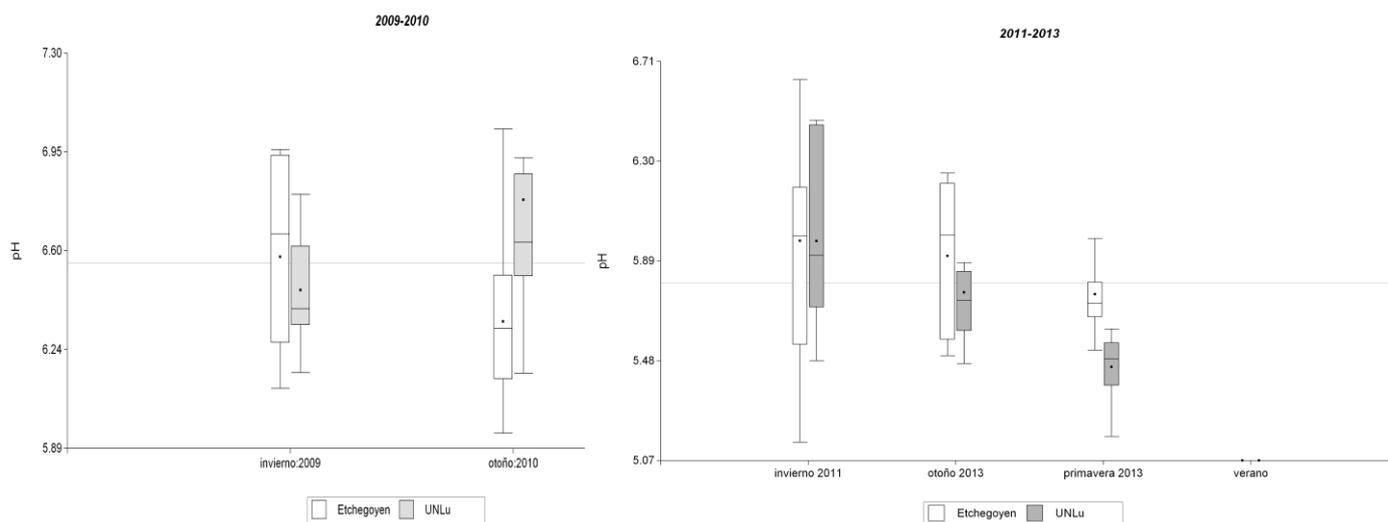


Figura 3.36. Variaciones estacionales del pH en los períodos 2009-2010 (izquierda) y 2011-2013 (derecha). Letras distintas refejan diferencias significativas ($p < 0.05$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global. Interacciones significativas entre uso y año ($p = 0.0001$).

Si observamos los valores de pH en los diferentes usos del suelo, no se observan diferencias significativas, salvo para los muestreos de 2011-2013, donde los suelos con mayor uso agrícola (AG1 y AE) son significativamente ($p < 0.0964$) más ácidos ($pH_A < 5.72$) que los suelos con ganado, GE y AG2 ($pH_G < 6.03$) y éstos más ácidos que los pastizales ($pH_P < 6.25$). Ciertas prácticas asociadas al uso del suelo, como el uso de fertilizantes ácidos, la incorporación de rastrojo al suelo y la acidificación superficial debido a la labranza reducida (Gelati y Velázquez, 2008), influyen en la acidez de los suelos. Debemos considerar también el efecto espacial (sitio) junto al efecto del uso del suelo en estos registros de pH edáfico ($p_{\text{año} \times \text{uso}} = 0.0003$).

Las variaciones en pH del suelo provocan cambios en la microfauna descomponedora que lo habita y afectan la biodisponibilidad de compuestos que

impacta directamente en el ciclado de nutrientes y la productividad primaria del sistema.

III.2.3 MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO

Los valores de materia orgánica del suelo (MO) varían entre 2.21% y 8.35% y coincide con el rango de valores medidos en Etchegoyen, donde la mediana (5.03%) es ligeramente mayor que en UNLu (4.56%).

Si comparamos los distintos suelos, se observan valores de %MO significativamente menores en los lotes agrícola-ganaderos y agrícolas durante los muestreos de invierno y de primavera en comparación con los otros suelos analizados (figura 3.37).

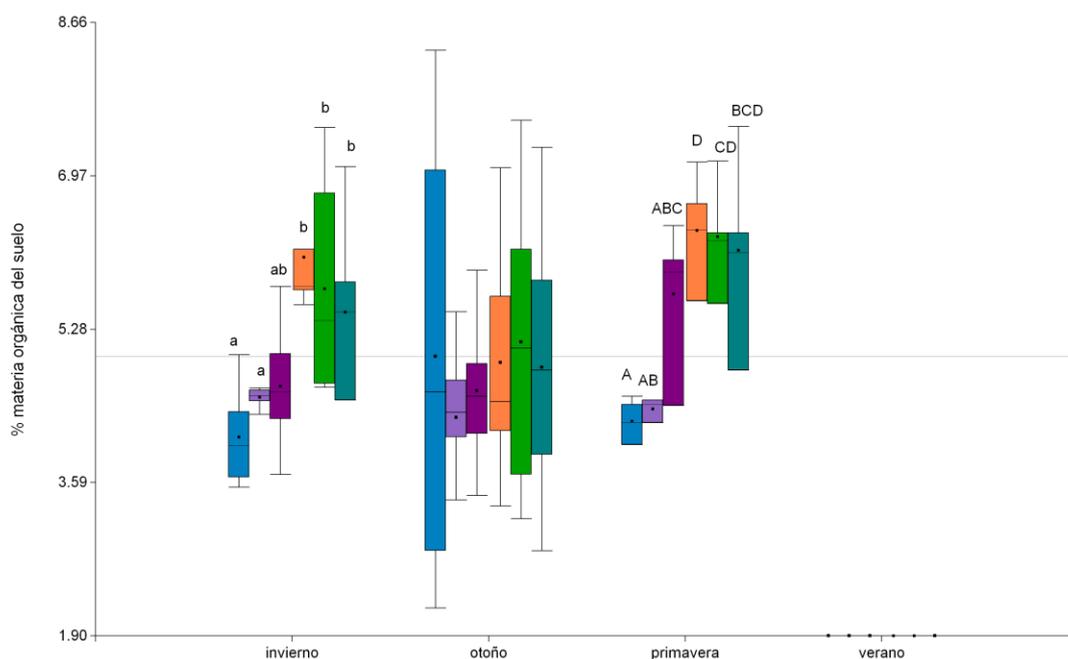


Figura 3.37. Porcentaje de materia orgánica del suelo en los diferentes usos del suelo analizados. Letras distintas representan diferencias significativas entre usos dentro de la misma estación ($p_{inv} = 0.0019$, $p_{prim} = 0.0214$). Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

Se observa que los valores de materia orgánica en otoño son menores que en invierno y primavera en todos los suelos analizados, excepto en los suelos agrícolas AE y AG1. La materia orgánica se incorpora al suelo a partir de la descomposición de hojarasca, heces y restos vegetales. Los resultados observados pueden deberse a una baja disponibilidad de materiales para descomponer en lotes exclusivamente agrícolas (AE) o mayormente agrícolas (AG1), en épocas del año donde el suelo está con cultivo en pie y poca cubierta vegetal por aplicación de herbicidas. Otro factor a considerar es la reducida tasa de descomposición y ciclado de nutrientes como consecuencia de una reducción en la abundancia de fauna asociada a estos procesos. Si bien esto último no se evidencia en los grupos de mesofauna y lombrices estudiados, se requieren estudios sobre la microfauna del suelo, un componente fundamental en la incorporación de carbono al sistema edáfico.

Una reducción del porcentaje de materia orgánica impacta en la abundancia y en la actividad de la fauna del suelo, principalmente descomponedores y comedores de hojarasca, esto afecta los procesos de descomposición y ciclado de nutrientes que están asociados al nivel de productividad primaria del ecosistema.

Al combinar las variables químicas medidas en variables artificiales, el análisis de componentes principales nos permite explicar las variaciones registradas en los diferentes lotes. De este modo el análisis nos muestra que las primeras dos componentes explican el 81% de las variaciones en las variables químicas del suelo (figura 3.38). La componente principal 1 explica el 51% de las variaciones, sintetiza la información de más de una variable (autovalor 1.53) y presenta una elevada correlación con el %MO ($R = 0.83$) y con el pH ($R = 0.75$). Esta componente separa los lotes AE y AG1 de los demás lotes. La componente principal 2 explica el 30.3% de las variaciones registradas, no puede asociarse a más de una variable (autovalor 0.91)

aunque correlaciona con el %N ($R = 0.83$). Es habitual que en algunos establecimientos productivos se descarten para la explotación ciertos lotes en función de sus características químicas o físicas de origen (DiCiocco, comunicación personal). De acuerdo a las características química registradas parece ser ese el punto de partida del pastizal de UNLu, que muestra en este estudio características químicas intermedias entre el PE y los suelos mas perturbados.

Las variables químicas permiten distinguir suelos con alta intensidad de explotación agrícola y bajo pisoteo de los otros suelos analizados.

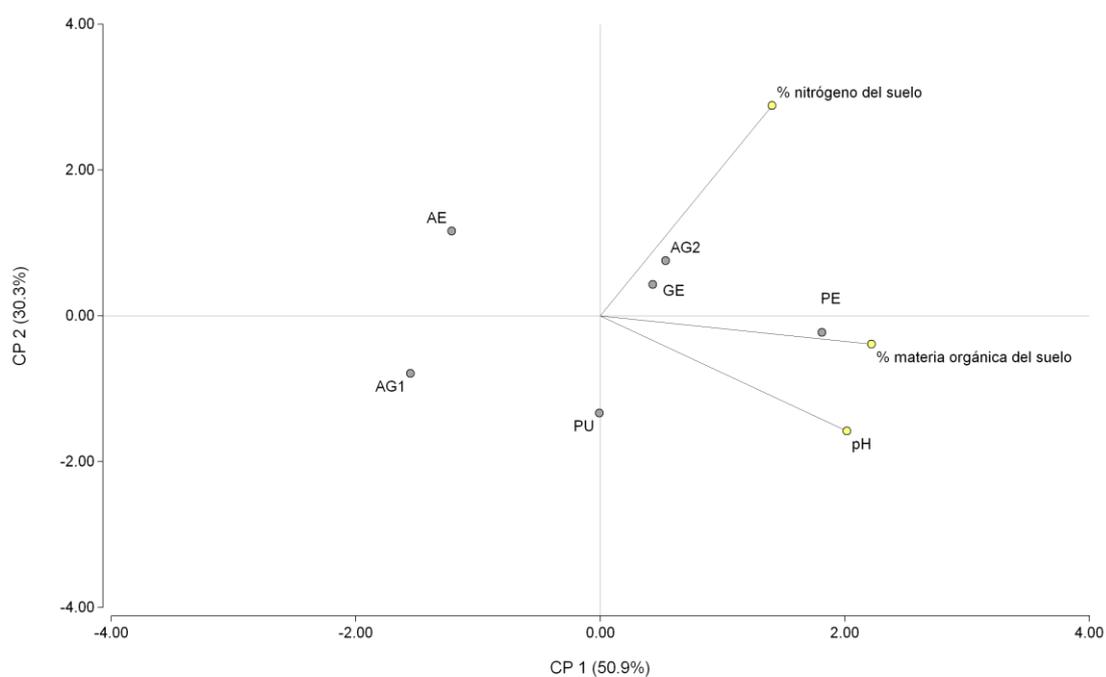


Figura 3.38. Análisis de componentes principales para las variables químicas. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. %MO: porcentaje de materia orgánica, %N : porcentaje de Nitrógeno del suelo.

La figura 3.39 muestra las variaciones estacionales de las variables físicas del suelo. La humedad del suelo y la porosidad de aireación muestran variaciones significativas entre años y estaciones de muestreo ($p < 0.0001$) y justifica un análisis por estaciones como primer factor del ANOVA. Los valores de Densidad aparente del suelo (DAP) se muestran casi invariables para los muestreos posteriores al 2009 y comparativamente son menores que los medidos durante los muestreos del año 2008 ($p < 0.0001$). La porosidad del suelo se calcula como complemento de la DAP y esto explica que presente el mismo patrón estacional. Este pico de DAP del suelo en octubre de 2008 se explica mayormente por un incremento en el lote agrícola de UNLu y en los pastizales de ambos sitios. El suelo de los lotes agrícolas de UNLu (AG1 y AG2) registran labranza cero (siembra directa) desde 2000-2008 y en 2009 se siembra en AG1 pastura y se rota a pastoreo vacuno. En los pastizales no se registraron modificaciones temporales. Esta historia no permite explicar el salto de DAP observado en octubre de 2008. No debe descartarse un error metodológico que pudiera haber afectado las mediciones en ese muestreo particular.

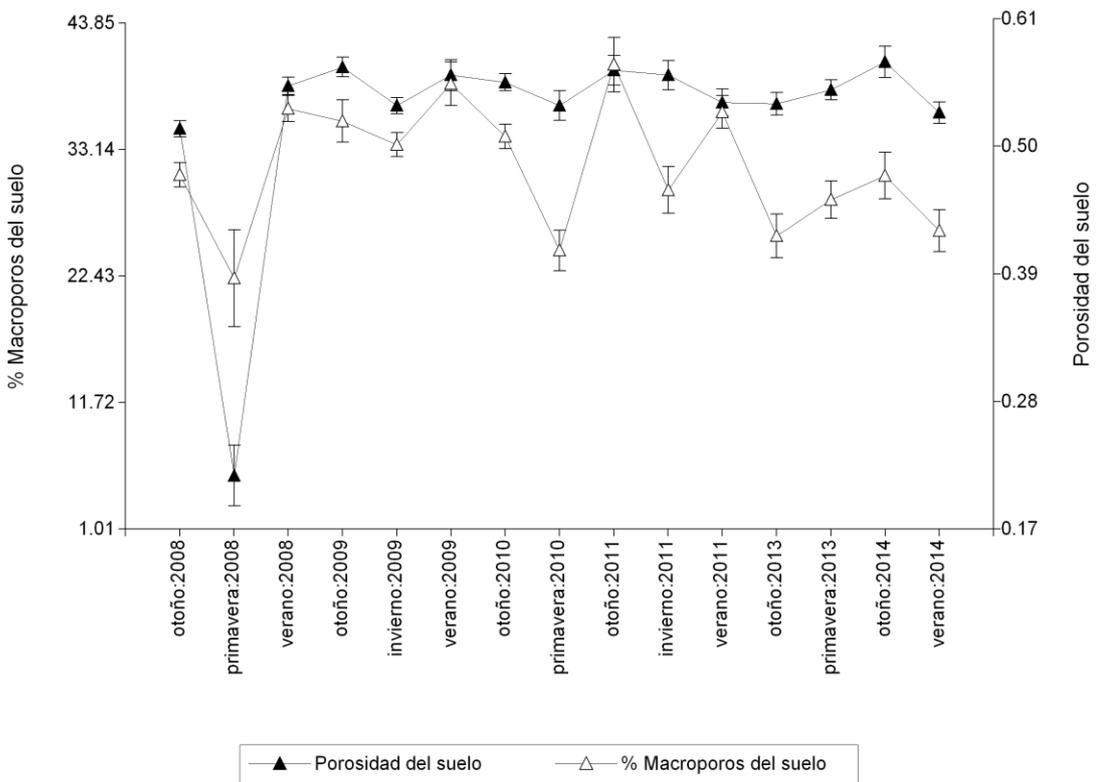
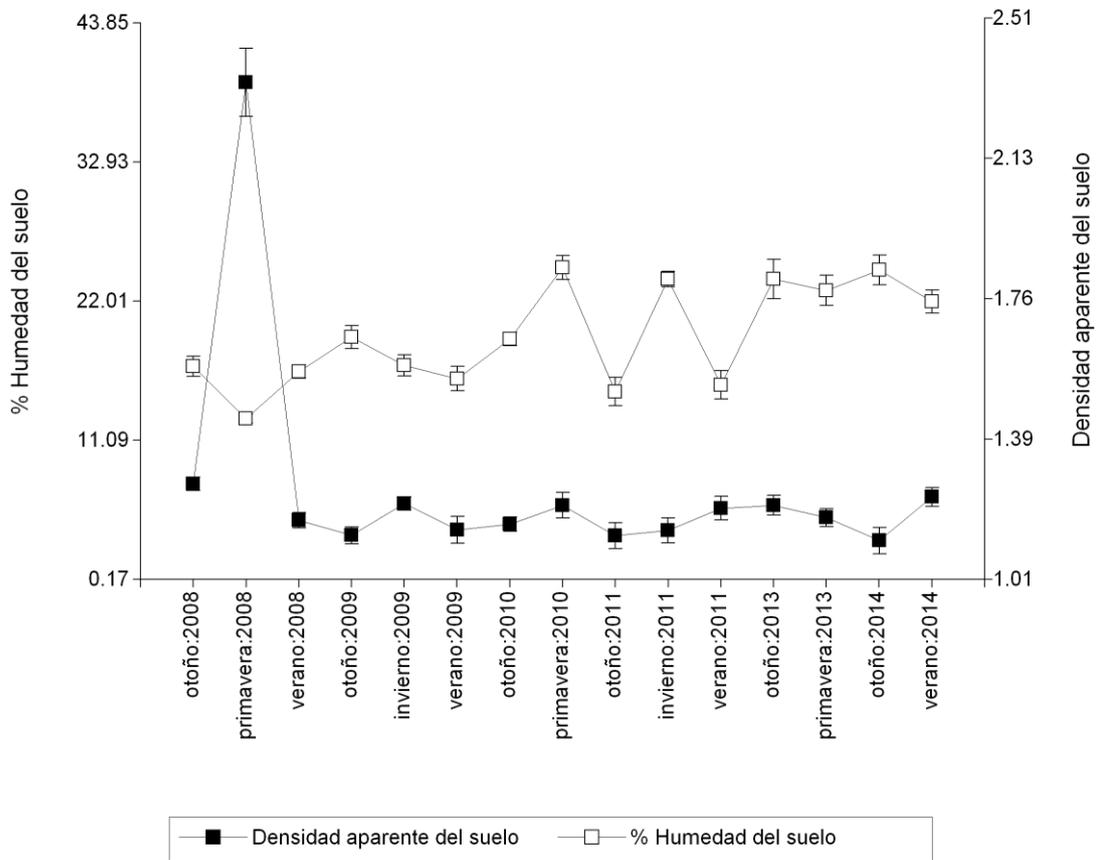


Figura 3.39. Variación temporal de las variables físicas del suelo.

Dado que las frecuencias de las cuatro variables no se ajustan a una distribución normal comparamos los lotes a través de sus medianas. Se analizó el comportamiento estacional de cada variable y se hallaron valores de DAP significativamente mayores en primavera que en otoño y verano del primer año de muestreo (Figura 3.40, $p < 0.0001$). La porosidad muestra el comportamiento inverso para el mismo periodo. Los cambios estacionales de las variables asociadas a la estructura del suelo (DAP, porosidad y macroporosidad) podrían explicarse por el efecto de compactación del suelo por el paso de maquinaria y el pisoteo del ganado en determinadas épocas del año (lo cual reduce la porosidad y aumenta la DAP) en el suelo. Mayores precisiones en la información estacional del laboreo nos permitirán corroborar esta explicación.

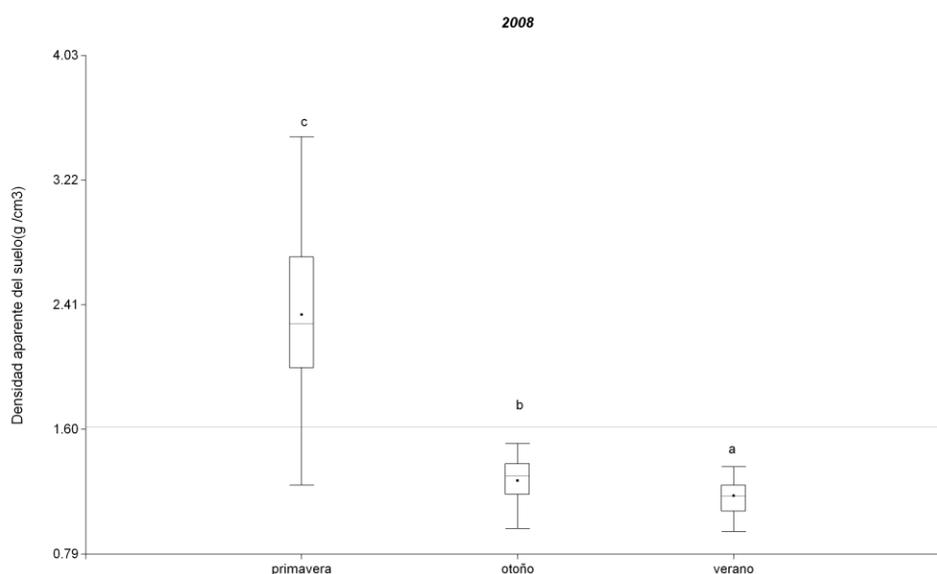


Figura 3.40. Variación estacional de la Densidad aparente del suelo para el año 2008. Letras distintas refejan diferencias significativas ($p < 0.0001$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

La macroporosidad medida entre 2008 y 2011 muestra valores mayores en verano y menores en primavera (Figura 3.41) y excepto para el año 2009 ($p = 0.056$), estas diferencias resultan significativas ($p < 0.005$). En los últimos dos años de

muestreo la macroporosidad no varía significativamente entre estaciones (Figura 3.39, $p > 0.10$).

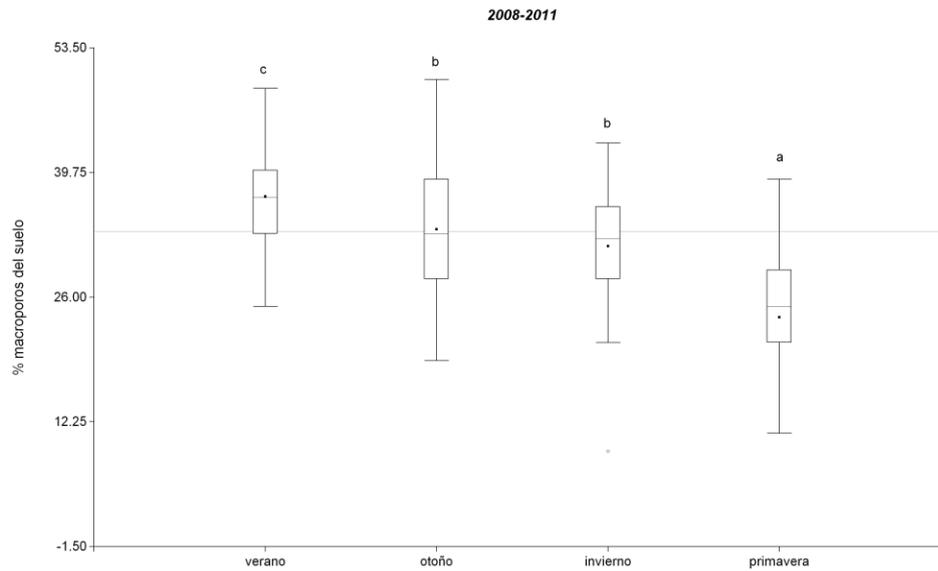


Figura 3.41. Porcentaje de macroporosidad del suelo en las diferentes estaciones de 2008-2011. Letras distintas reflejan diferencias significativas ($p < 0.005$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

Asimismo, el porcentaje de humedad del suelo (figura 3.42) además de incrementarse significativamente cada año, muestra variaciones significativas entre las estaciones de muestreo para los primeros cuatro años y coinciden con los picos de precipitaciones informados para cada año en la sección III.1 figura DATOS METEOROLOGICOS.

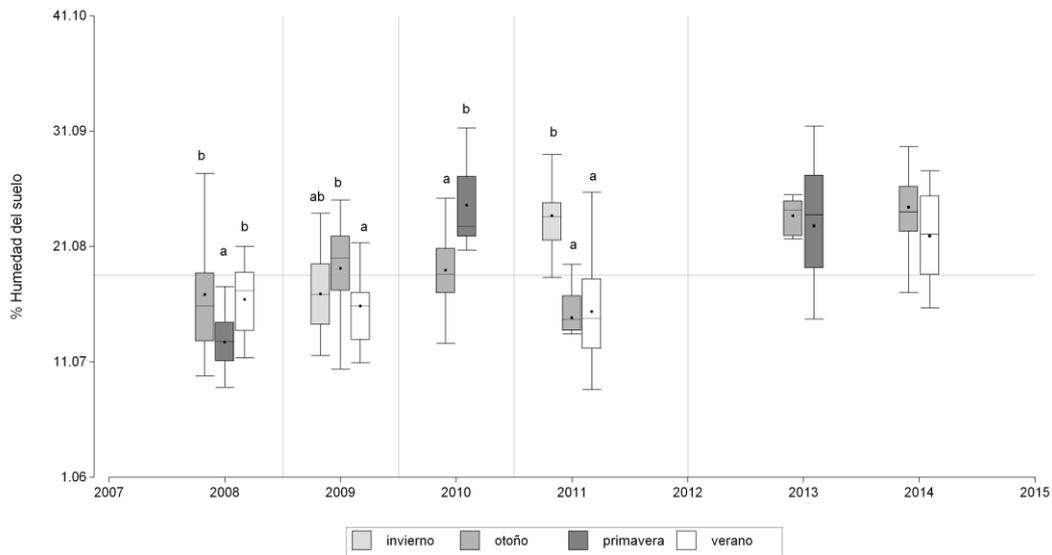


Figura 3.42. Variaciones estacionales del porcentaje de humedad del suelo para cada año de muestreo. Letras distintas reflejan diferencias significativas ($p < 0.0001$) dentro de cada año de muestreo. Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

Se testearon a posteriori las diferencias entre sitios de muestreo y usos del suelo. Solo las mediciones de DAP no registran interacciones significativas entre el uso y el sitio ($p > 0.40$). Para el resto de las variables físicas se considera este efecto. Se analiza en los apartados subsiguientes el comportamiento de cada variable.

III.3.1 DENSIDAD APARENTE

Los valores de densidad aparente del suelo (DAP) registrados varían entre 0.75 y 3.88 g/cm³. En UNLu el rango de DAP (0.90 - 3.88 g/cm³) es mayor y más amplio que en Etchegoyen (0.75 - 2.71 g/cm³), donde se registra una mediana menor (1.21 g/cm³) que en UNLu (1.24 g/cm³). Sin embargo, como la interacción entre el efecto del sitio y del momento de muestreo es significativa ($p > 0.0057$), no debemos analizarlos como factores que actúan independientemente sobre la DAP del suelo.

Durante los tres muestreos de verano y primavera del año 2008 se registran valores promedio de DAP marginalmente superiores en uno de los suelos agrícolas de UNLu (AG1) en comparación con los otros lotes analizados (figura 3.43, $p < 0.08$), sin embargo la mediana de DAP de AG1 se asemeja a la medida en otros suelos. Para los años posteriores se muestran por separado en cada sitio los valores de DAP (figura 3.44) y se registran mayores valores en el lote agrícola de Etchegoyen (1.25 g/cm^3) que en los demás lotes del mismo sitio (1.13 y 1.15 g/cm^3 , $p < 0.0001$) y mayor DAP en los lotes agrícolas de UNLu ($\text{DAP}_{\text{AG1}} = 1.23 \text{ g/cm}^3$; $\text{DAP}_{\text{AG2}} = 1.27 \text{ g/cm}^3$) que en el pastizal (1.14 g/cm^3 , $p < 0.0001$), lo que refleja el efecto del tipo de labranza combinado con el pisoteo de ganado.

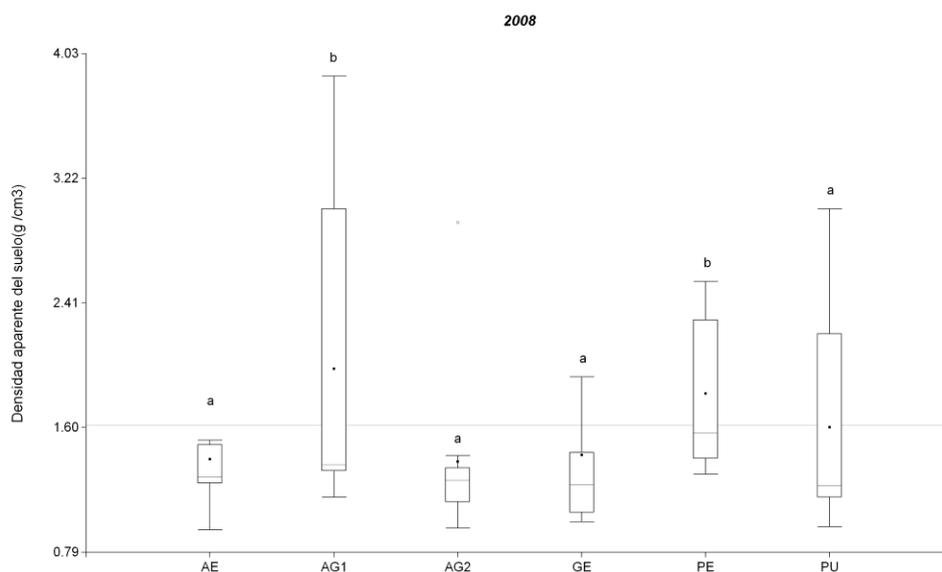


Figura 3.43. Densidad aparente del suelo en cada uso muestreado durante el año 2008. Letras distintas reflejan diferencias significativas dentro de cada sitio de muestreo ($p=0.0005$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

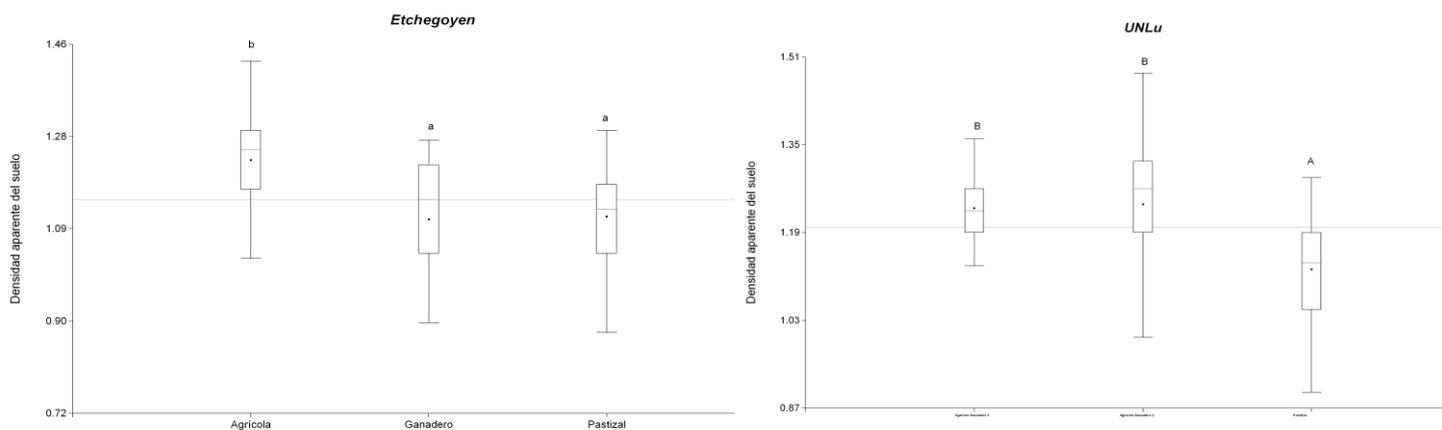


Figura 3.44. Densidad aparente en cada uso del suelo de Etchegoyen (izquierda) y UNLu (derecha) para los muestreos de los años 2009-2014. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Letras distintas refejan diferencias significativas dentro de cada sitio de muestreo ($p < 0.0001$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

III.3.2 POROSIDAD DEL SUELO

Los valores de porosidad total del suelo (P_{or}) registrados varían entre 0.04 y 0.72. En UNLu el rango de P_{or} (0.04 - 0.66) es ligeramente menor que en Etchegoyen (0.04 - 0.72) y se registran medias significativamente menores en UNLu que en Etchegoyen para los muestreos comprendidos entre 2009 y 2014. No se registran diferencias entre sitios en los muestreos del año 2008 (figura 3.45). La interacción entre año y sitio de muestreo no es significativa ($p = 0.2701$).

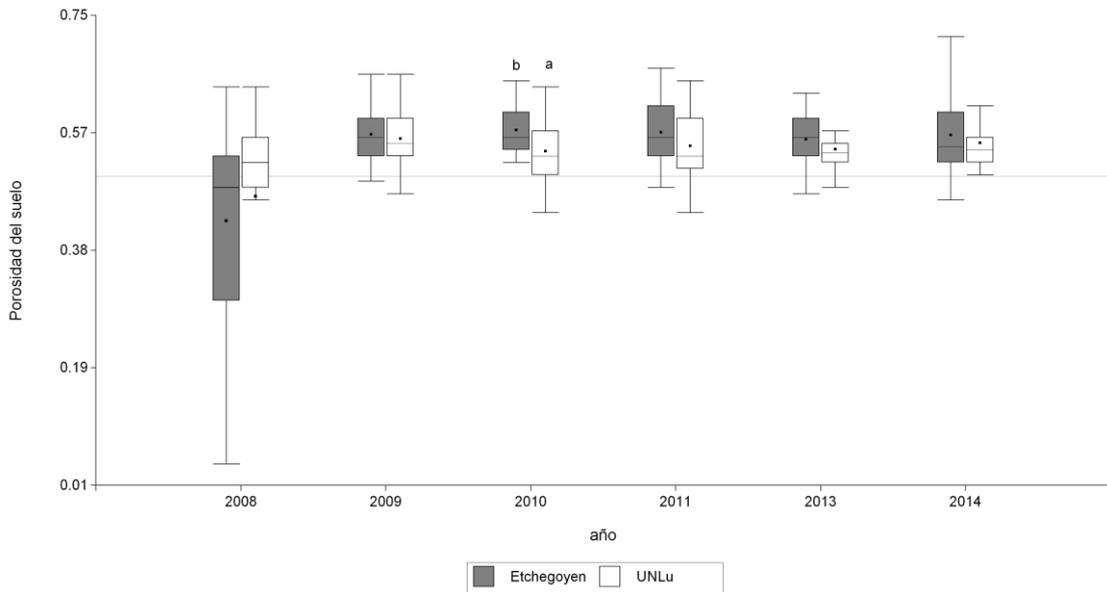


Figura 3.45. Variaciones anuales de la porosidad del suelo para cada sitio analizado. Letras distintas refejan diferencias significativas ($p < 0.0001$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

Durante los muestreos estacionales de 2008 se registran en todos los suelos mayores valores de porosidad en primavera que en otoño y verano (figura 3.46, $p < 0.035$). Mientras en primavera la menor porosidad del suelo se registra en los pastizales ($Por_{PE}=0.13$ y $Por_{PU}=0.11$), en otoño también se miden bajos valores en los suelos agrícolas de UNLu ($Por_{AG1}=0.49$ y $Por_{AG2}=0.50$) y en verano el suelo de AG1 registra la menor porosidad ($Por_{AG1}=0.51$). La interacción significativa entre estos factores ($p < 0.0001$) nos impide analizarlos como efectos independientes.

Para los muestreos posteriores se analiza por separado la porosidad registrada en cada sitio de muestreo (figura 3.47) y se detectan valores de porosidad significativamente mayores ($p < 0.0001$) en el lote ganadero y pastizal de Etchegoyen (0.57) que en el lote agrícola (0.53). Mientras que en UNLu se registra en el pastizal una mediana de porosidad (0.57) significativamente mayor ($p = 0.0041$) que en los lotes agrícola-ganaderos (0.53).

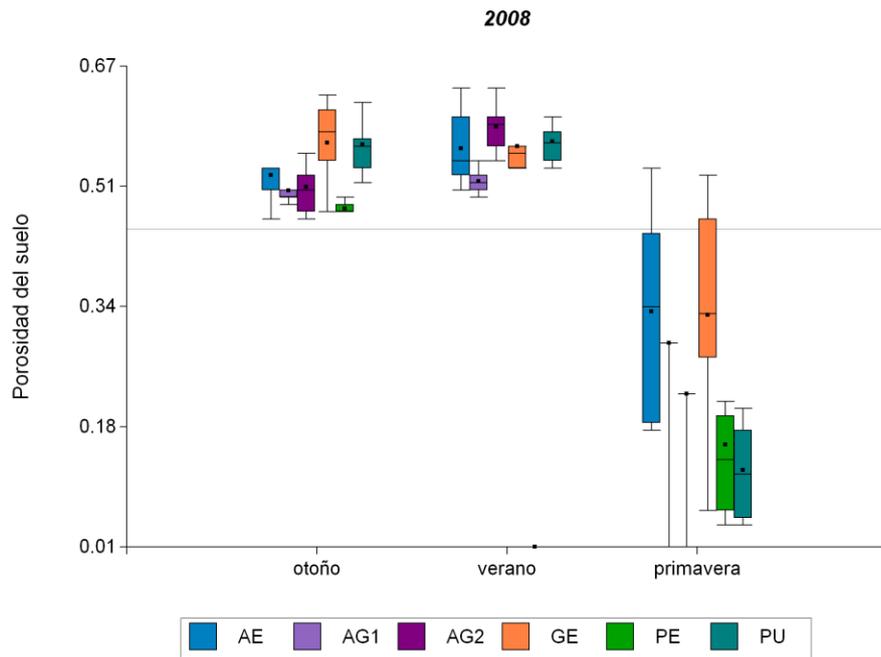


Figura 3.46. Porosidad del suelo en cada uso analizado para las diferentes estaciones de muestreo del año 2008. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Letras distintas reflejan diferencias significativas dentro de cada estación de muestreo ($p < 0.05$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

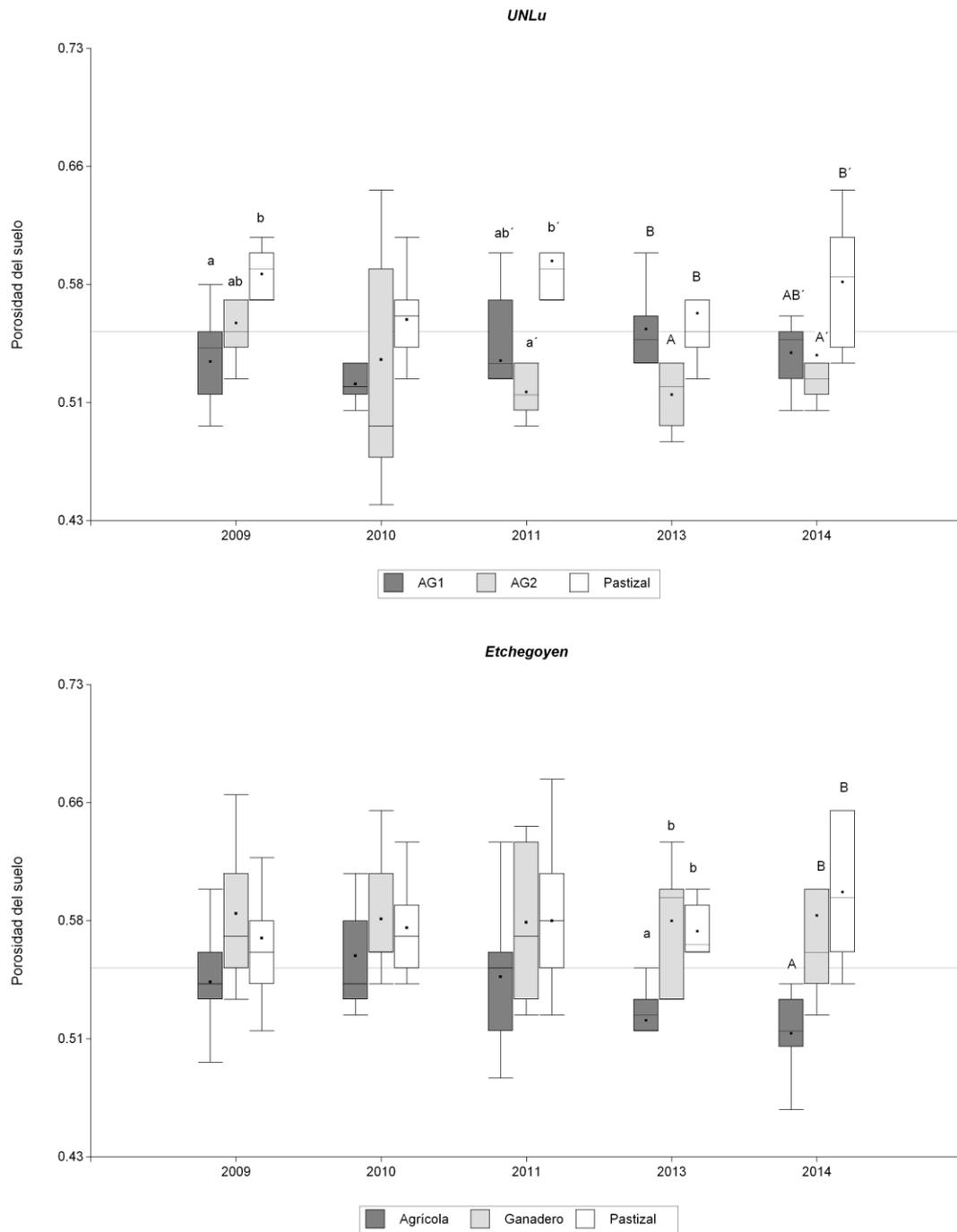


Figura 3.47. Porosidad del suelo de cada lote analizado en UNLu (arriba) y Etchegoyen (abajo) muestreado en los años 2009-2014. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2 (UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente. Letras distintas reflejan diferencias significativas entre usos dentro de cada sitio ($p < 0.10$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

El porcentaje de macroporos (MP) nos permiten analizar el drenaje y la aireación de los suelos. Varían entre 0.1 y 51% del total de poros. En UNLu el rango de MP (1 -50%) es ligeramente menor que en Etchegoyen (0.1 – 51%).

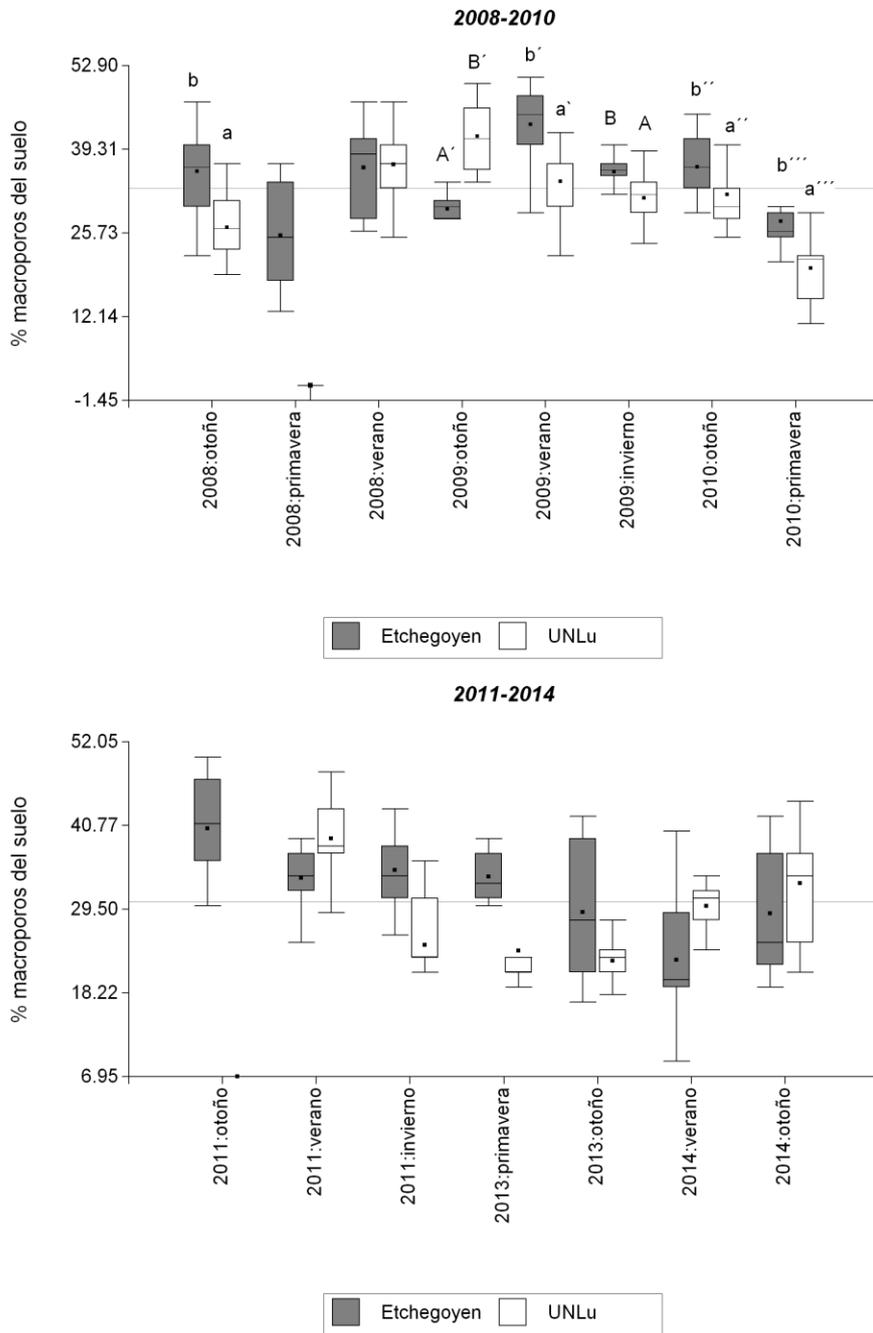


Figura 3.48. Porcentaje de macroporos medidos en cada muestreo (arriba: 2008-2010 y abajo: 2011-2014) para cada sitio. Letras distintas reflejan diferencias significativas ($p < 0.023$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

Durante los primeros dos años de muestreo no se registran diferencias significativas entre sitios ($p > 0.25$). En los siguientes muestreos la cantidad de macroporos es mayor en Etchegoyen que en UNLu ($p < 0.023$) y estas diferencias son significativas para los muestreos de los años 2010 y 2013. Esta observación se revierte para el muestreo del verano de 2011 y para los tres muestreos de 2014. Sin embargo al comparar con la densidad y riqueza de mesofauna y lombrices implicadas en la construcción de estos macroporos, no se detectan diferencias significativas para esta época del año en particular. Al interpretarse estos resultados debe prestarse atención a la interacción ($p = 0.0009$) registrada entre los factores año y sitio.

El porcentaje de MP registrado en cada sitio (Figuras 3.49 y 3.50) es significativamente menor ($p < 0.0204$) en lotes agrícolas de mayor intensidad durante el muestreo de verano de 2008 ($MP_{AE} = 30$ y $MP_{AG1} = 31\%$) y de 2011 (en UNLu: 33.5%, FIGURA 3.50) y durante 2014 (en Etchegoyen: 19%, figura 3.49). En el muestreo de otoño 2008 se registra menor %MP en los pastizales de Etchegoyen (30%, $p = 0.0092$, figura 3.49) mientras que en el muestreo de 2013 el menor %MP en el suelo agrícola ganadero 2 de UNLu (20%, $p = 0.0395$, figura 3.50).

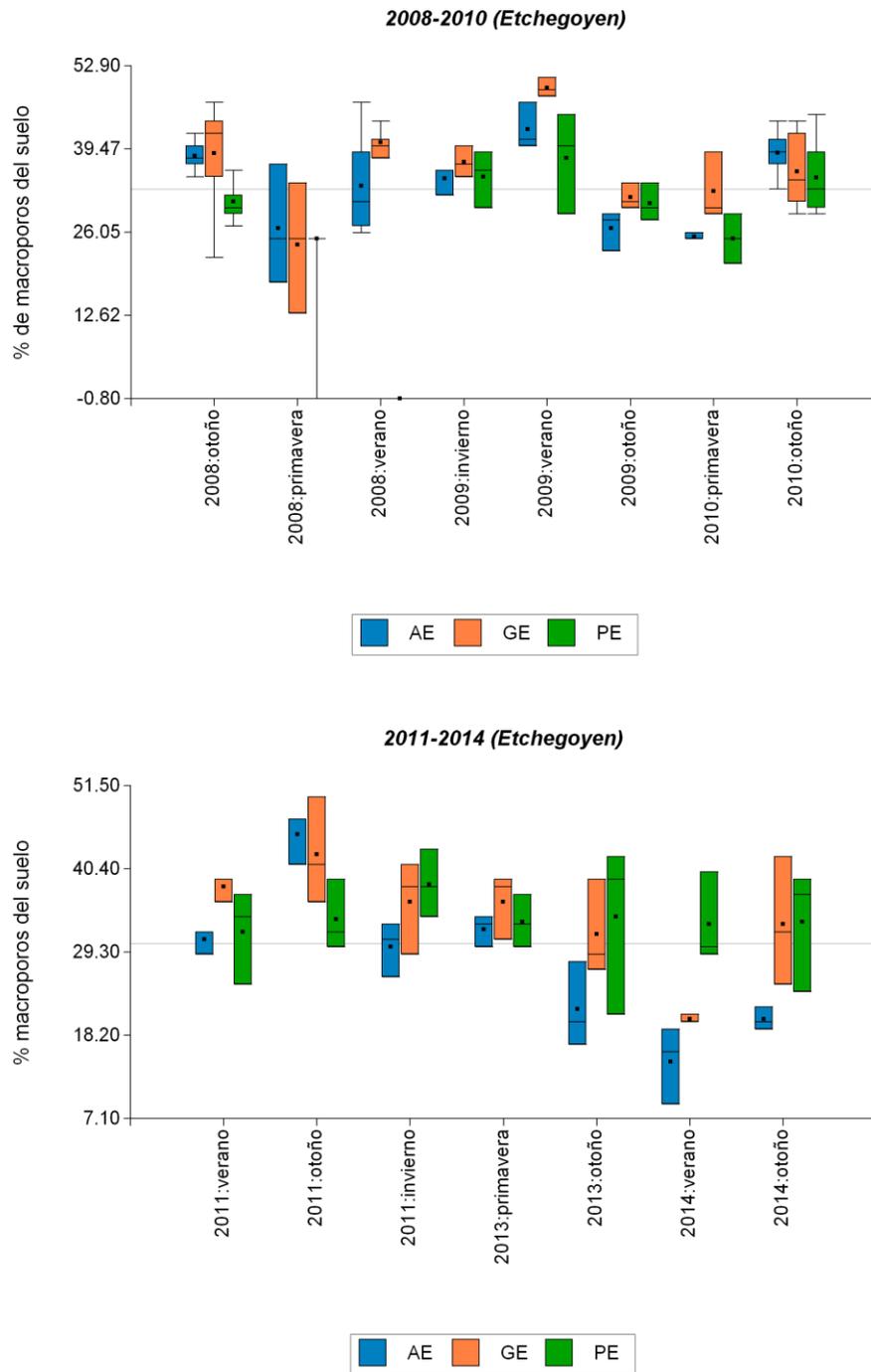


Figura 3.49. Porcentaje de macroporosidad del suelo en cada suelo analizado de Etchegoyen (arriba: 2008-2010; abajo:2011-2014). Letras distintas refejan diferencias significativas entre usos dentro de cada sitio ($p < 0.05$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

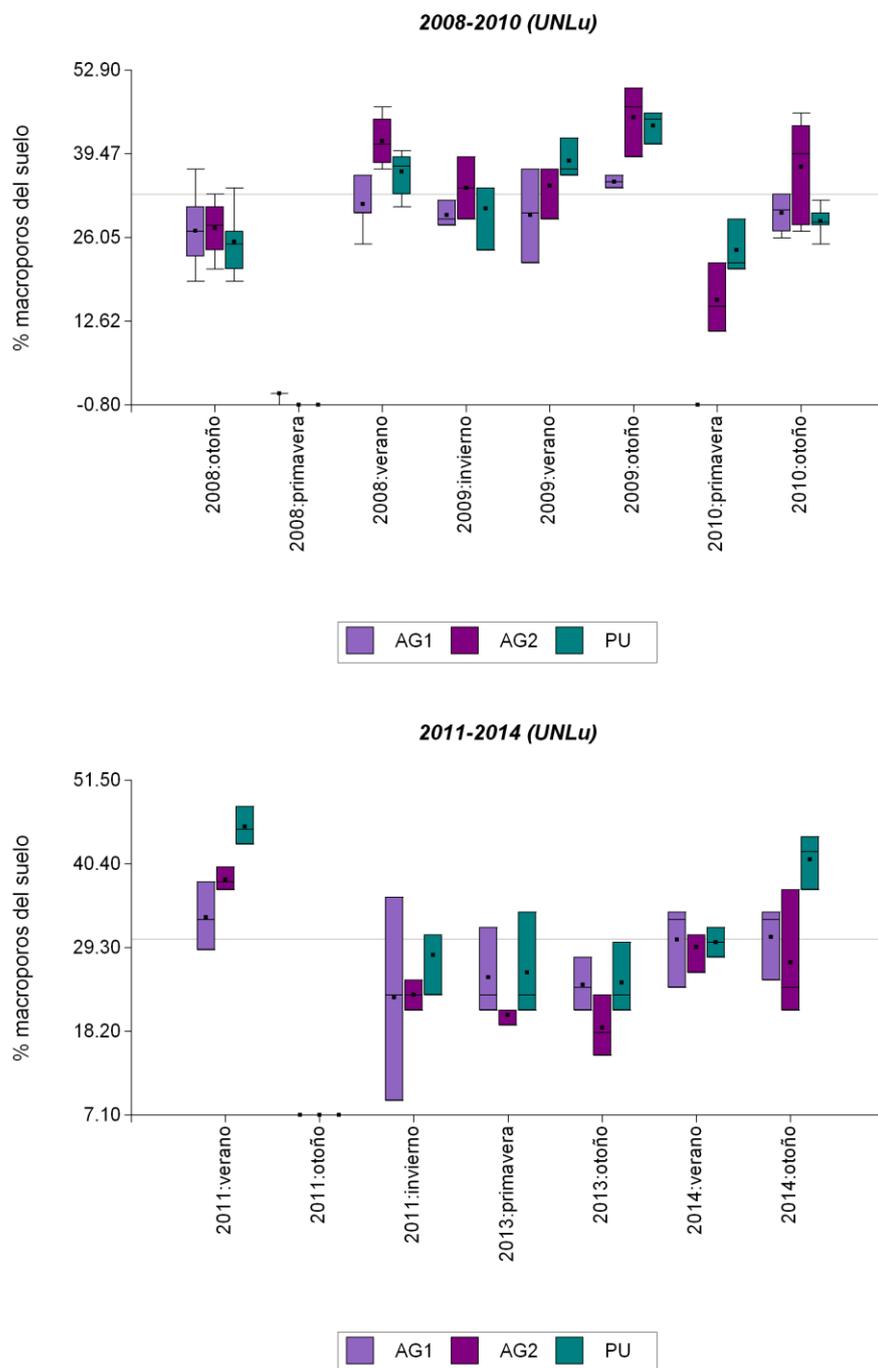


Figura 3.50. Porcentaje de macroporosidad del suelo en cada suelo analizado de UNLu (arriba: 2008-2010; abajo:2011-2014). Letras distintas refejan diferencias significativas entre usos dentro de cada sitio ($p < 0.05$). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global.

El incremento en la DAP se registra en suelos con mayor intensidad de uso (AE, AG1 y AG2) y podemos asociarlo a una compactación producto del paso de la maquinaria y el pisoteo del ganado. Esta compactación altera la estructura del suelo, reduce los macroporos e impacta en la infiltración, íntimamente asociada a la productividad primaria y al funcionamiento del sistema suelo.

III.3.3 HUMEDAD DEL SUELO

El porcentaje de Humedad registrado varía entre 2.88% y 91.84% y es mayor la mediana en UNLu (18.60%) que en Etchegoyen (17.22%), aunque estos resultados solo son significativos en otoño de 2008, invierno de 2009 y en 2013 (Figura 3.51, $p < 0.0056$) y muestra la interacción significativa entre los momentos y sitios de muestreo ($p < 0.0001$).

Dentro de cada sitio (figura 3.52) los mayores porcentajes de humedad del suelo se registran en los pastizales en otoño de 2008 ($H_{PU} = 26.37\%$), en verano ($H_P = 17.37\%$) e invierno de 2009 ($H_{PE} = 18.53\%$), en otoño (21.17%) y primavera (28.42%) de 2010 y en invierno de 2011 (26.39%). Se observa también aquí el efecto de la interacción entre los usos y los momentos de muestreo ($p < 0.013$).

Sabemos que en suelos con mayor cobertura se reduce la pérdida de agua por evaporación (Dorenbost y Pruitt, 1977; Quichimbo et al., 2015), lo que podría explicar los valores de humedad en los pastizales, con cobertura permanente todo el año. Mayores valores de humedad en el suelo se asocian a mayor actividad y abundancia de la fauna del suelo en los procesos de descomposición y ciclado de nutrientes que favorecen la estabilidad del sistema.

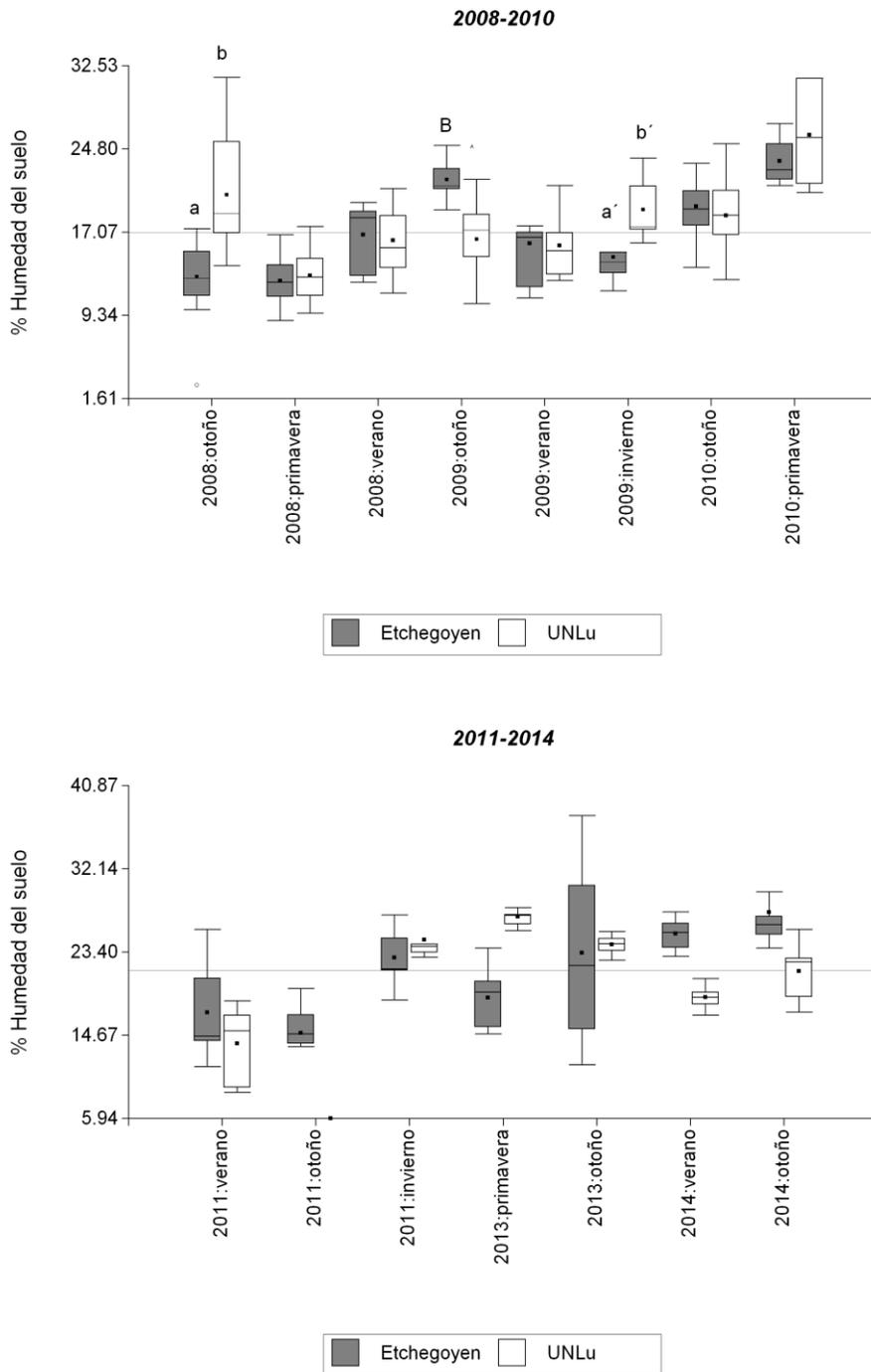


Figura 3.51: Porcentaje de Humedad del suelo en diferentes sitios de muestreo para cada estación del 2008-2010 (arriba) y para cada muestreo del 2011 - 2014 (abajo). Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global. Letras distintas refejan diferencias significativas entre sitios dentro de cada muestreo ($p < 0.05$).

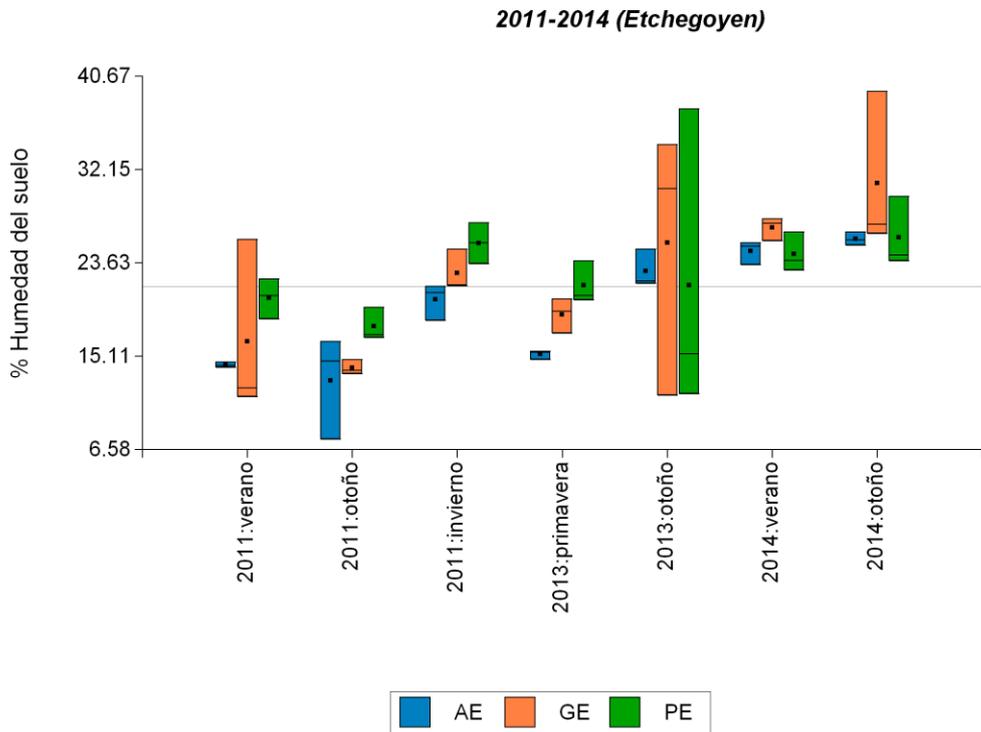
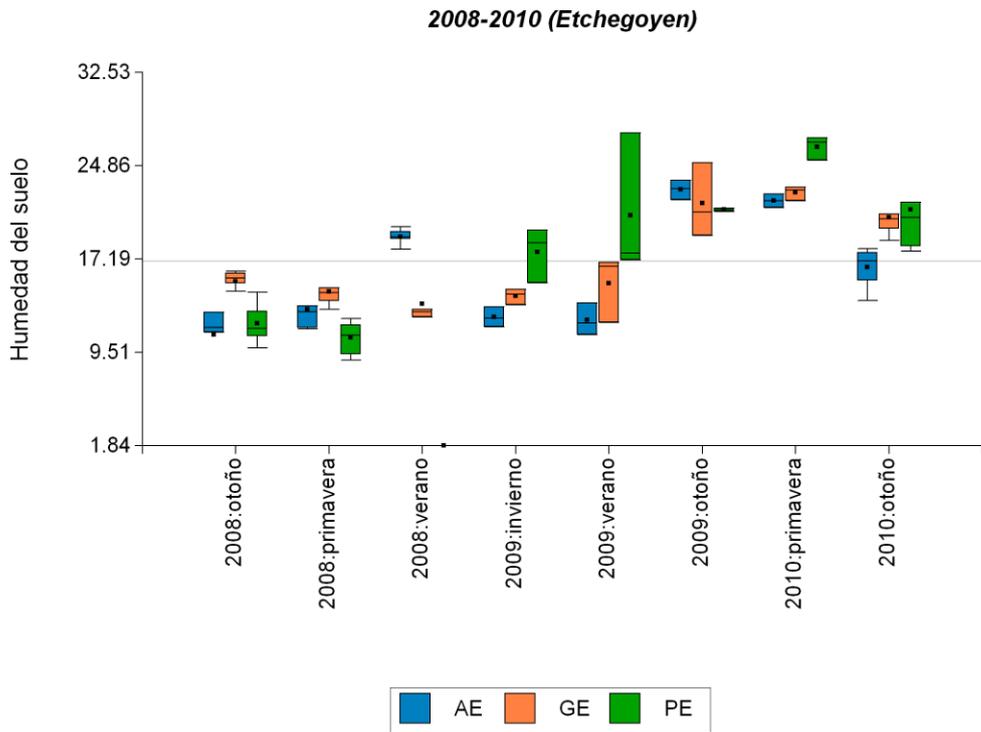


Figura 3.52: Porcentaje de Humedad para los diferentes usos del suelo de Etchegoyen en cada estación de los años 2008-2010 (arriba) y 2011-2014 (abajo). Referencias: AE: agrícola exclusivo, GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen) y PE: pastizal de Etchegoyen. Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global. Letras distintas refejan diferencias significativas ($p < 0.05$).

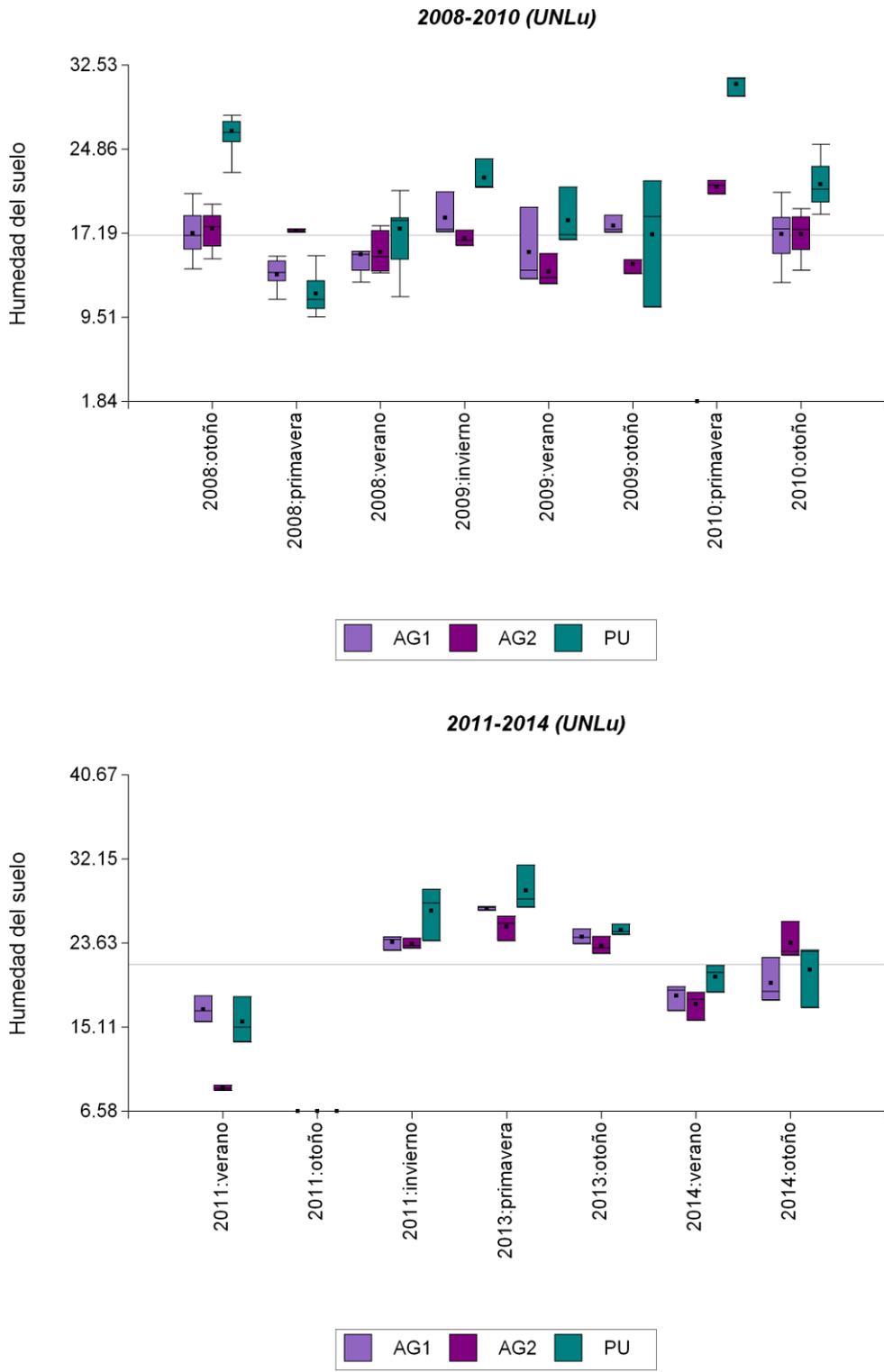


Figura 3.53: Porcentaje de Humedad para los diferentes usos del suelo de UNLu en cada estación de los años 2008-2010 (arriba) y 2011-2014 (abajo). Referencias: AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2(UNLu) y PU: pastizal de UNLu. Bigote: desvío estándar. Línea punteada: promedio global. Letras distintas refejan diferencias significativas($p < 0.05$).

El análisis de componentes principales permite combinar las mediciones en una variable artificial que explica las diferencias registradas. Un análisis preliminar nos muestra que la variable %MP correlaciona con DAP ($R = -0.84$), como es de esperar dado que su cálculo se considera la DAP y la humedad gravimétrica (figura 3.54). Sin embargo se decide no excluirla y analizar su asociación con los distintos usos.

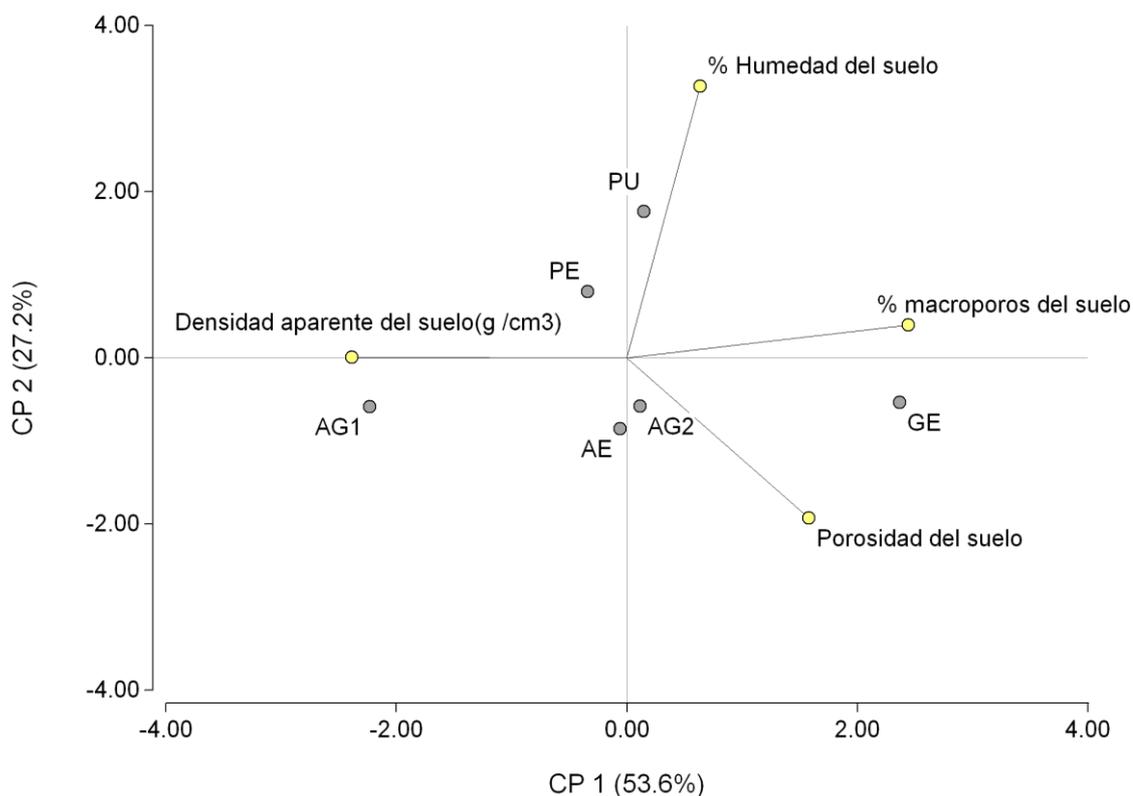


Figura 3.54: Análisis de componentes principales para las variables físicas en cada lote. Referencias: AE: agrícola exclusivo (de Etchegoyen), AG1: agrícola ganadero 1 (UNLu), AG2: agrícola ganadero 2(UNLu), GE: ganadero exclusivo (Etchegoyen), PE y PU: pastizales de Etchegoyen y UNLu respectivamente.

Al combinar los valores de las variables medidas, el análisis de componentes principales nos muestra que las componentes 1 y 2 explican el 81% de las variaciones en las variables físicas del suelo. La componente principal 1 explica el 54% de las variaciones y sintetiza la información de más de dos variables (autovalor = 2.15) y

presenta una elevada correlación positiva ($R = 0.94$) con el porcentaje de macroporos del suelo y negativa con la Densidad Aparente ($R = - 0.92$). Esta componente separa el lote AG1 de UNLu, con mayor DAP, de los demás lotes. La componente principal 2 explica el 27% de las variaciones registradas y sintetiza la información de más de una variable (autovalor = 1.09). Esta componente separa a los suelos de los pastizales, de los demás suelos analizados y muestra una correlación positiva con el porcentaje de humedad del suelo ($R = 0.89$) y con la porosidad ($R = 0.53$).

IV. DISCUSIÓN

Los diferentes usos del suelo analizados inciden de manera significativa en muchas de las variables genéticas analizadas (N_a , H_p , Dist Nei y F_{ST} , Φ_{PT}), así como en casi todas las variables ecológicas del suelo (densidad, riqueza y similitud de taxones de la mesofauna y de lombrices) y también en todas las variables químicas y físicas medidas (%N, pH, %MO, DAP, Porosidad, %MP y %H).

De todas las variables afectadas diferencialmente por el uso del suelo, el número de alelos, la diversidad fenotípica, la distancia genética de Nei, los estimadores de estructuración F_{ST} y Φ_{PT} , el porcentaje de Nitrógeno, la densidad aparente, la porosidad y el porcentaje de macroporos del suelo muestran una fuerte influencia espacial (asociada al sitio de muestreo) en la variación registrada, que se vincula con particularidades de cada sitio en relación con el tipo de suelo (recordemos que las Series son diferentes en UNLu y Etchegoyen) y al modo y duración del manejo realizado en cada uno (labranza, rotación, aplicación de agrotóxicos, tipo de cultivo, etc.). De todas estas variables, solo la variable química (%N) y las variables físicas (DAP, %Por, %MP) presentan fluctuaciones temporales (entre años y entre estaciones del año), además de responder diferencialmente en suelos de UNLu y en suelos de Etchegoyen.

Si a pesar de la influencia espacial (geográfica) y estacional, el uso del suelo incide diferencialmente, las catalogo como variables útiles para reconocer diferencias entre grados de perturbación en sistemas similares. Dentro de este grupo de variables distingo dos niveles.

- 1) Por un lado, aquellas variables en las que suelos con un alto grado de perturbación les imprimen diferencias significativas frente a las mediciones en suelos menos perturbados. En nuestro estudio, estas variables son

afectadas de manera diferente por suelos con mayor o menor antigüedad de explotación agrícola e incluso con suelos sin uso agrícola, como los pastizales. Son variables que tienen un elevado umbral de detección de la perturbación, es decir que hasta que no se alcanza ese nivel de perturbación, la variable no muestra diferencias en los distintos sistemas. Entre las variables medidas solo se ha registrado este comportamiento (con independencia del sitio de muestreo) para la **similitud de especies de lombriz** y para la variable que describe la **diferenciación genética (F_{ST} y Φ_{PT})** entre poblaciones de lombrices que habitan suelos con diferentes usos. Para ambas variables se observa que las poblaciones de lombrices de suelos con predominio agrícola difieren de aquellas que habitan otros usos del suelo. La composición de especies de lombriz muestra el impacto del uso agrícola, al igual que en el trabajo de Frazão et.al (2017) donde el manejo del suelo agrícola explica el 26% de la varianza registrada en la comunidad de lombrices. El trabajo de Geissen et. al (2009) también detecta una variación en la composición de especies de lombriz en suelos de plantación de banana, registrándose 5 especies exclusivas de estos suelos (una de ellas, nativa) y 4 especies exclusivas de suelos forestales en sucesión (tres de estas especies son nativas).

Si analizamos los valores de F_{ST} y Φ_{PT} reconocemos una estructuración genética en las poblaciones de cada sitio. A pesar de ser estimadores de uso frecuente en genética poblacional, se hallaron pocos registros para estos estimadores en poblaciones de lombrices. Los valores de estructuración hallados resultan similares a los publicados por Dupont et.al (2017) para la especie endógena *Allobophora chlorotica* y resultan bajos en comparación con los valores publicados por Díaz Porres et al. (2014) para poblaciones de bicho bolita (*Armadillidium vulgare*) en UNLu, para poblaciones de lapas de la costa atlántica argentina (de Aranzamendi et al., 2014) o para copépodos estuarinos (Gasmi et al., 2014). Nuevamente algunas características

de la biología reproductiva de la especie estudiada (cantidad de crías, nivel de endogamia, tiempo generacional, tasa de supervivencia, etc.) signan los valores de estructuración poblacional. Dicha estructuración no se ajusta a un patrón de aislamiento por distancia como el que propone Dupont et. al (2017) para poblaciones de lombrices de suelos agrícolas. Vemos que las lombrices que habitan suelos con mayor historia de uso ganadero, funcionan como un demo poblacional junto con otro lote, que es diferente en cada sitio de muestreo. Mientras en UNLu el lote AG2 no se diferencia genéticamente del pastizal, en Etchegoyen se asocia genéticamente al lote agrícola. Esto podemos relacionarlo con el bajo nivel de diversidad (menor número de alelos, menor diversidad genética y menor porcentaje de loci polimórficos) hallado en los lotes que se aíslan de los demás. Esta baja diversidad genética podría explicarse por una baja diversidad de origen o por la pérdida de la diversidad genética en el tiempo. En el primer caso, una expansión poblacional a partir de un número reducido de individuos, conlleva una diversidad genética empobrecida desde el origen de esa población. En cambio, una población con elevada diversidad genética puede sufrir un efecto “cuello de botella” debido a una reducción drástica del tamaño poblacional como consecuencia de una perturbación ambiental. También podríamos pensar en las poblaciones que se agrupan genéticamente, como demos con una capacidad de dispersión elevada que homogeniza la variabilidad genética entre estos lotes (que no son geográficamente los más cercanos de cada sitio). Dadas las distancias entre los lotes asociados es escasa la posibilidad de que el flujo génico sostenido por dispersión activa de esta especie pueda explicar la conexión genética entre estos lotes. Podríamos pensar en un tipo de dispersión “saltatoria” como la que propone Cameron et al. (2008) para la especie de lombriz invasora *Dendrobaena octaedra* y que se basa en el transporte antropogénico o animal que explica los patrones de distribución genética que no se ajustan al modelo de aislamiento por distancia geográfica.

Los resultados del análisis bayesiano coinciden con los arrojados por el análisis clásico en cuanto a la incipiente estructuración en cada sitio, sin embargo los valores

de θ_{ii} de los modelos que mejor ajustan son menores en Etchegoyen que en UNLu, y esto puede deberse a la capacidad de los algoritmos utilizados para detectar diferencias genéticas tan bajas.

La cantidad de poblaciones (k) a las que se ajustan las frecuencias alélicas analizadas también coincide con la estructuración propuesta de dos agrupamientos en cada sitio que distancia lotes con pequeñas diferencias en el grado de perturbación. De este modo en ambos sitios se observa el mismo patrón: dos componentes genéticas, una de ellas predominante en uno de los lotes (pastizal de Etchegoyen o el agrícola de UNLu) mientras que en los dos lotes restantes de cada sitio predomina la otra componente.

Otra variable que describe la diversidad genética, como es el **número de alelos (Na)**, revela valores significativamente altos para las poblaciones de suelos predominantemente ganaderos. El trabajo de Torres-Leguizamón et al. (2014) también detecta diferencias en el número de alelos entre poblaciones pero no se asocian al uso del suelo, cabe señalar que reporta valores superiores para poblaciones de una especie de lombriz endógena diploide (*Aporrectodea icterica*). Estas diferencias pueden residir principalmente en el tipo de marcador genético utilizado en ese trabajo (microsatélites), ya que en otros estudios con ISSR el número de alelos es similar a los hallados en este trabajo. El mismo comportamiento que Na se observa al analizar la **similitud mesofaunística** (Jaccard), que muestra ensamblajes diferentes de la mesofauna en suelos con uso agrícola exclusivo (AE) o predominante (AG1) en comparación con la mesofauna de los suelos de pastizales. Estos resultados coinciden con los publicados por Pfiffner y Luka (2000), ya que en ese estudio los sitios agrícolas se distancian en su mesofauna de los dos hábitats naturales analizados (bordes de lote y prado natural).

En el mismo sentido se registra un comportamiento similar para algunas variables químicas aunque éstas presentan una fuerte componente temporal en su

variación. Vemos entonces que el **pH** del suelo distingue al pastizal de los demás por presentar valores bajos en los años 2011 y 2013. Mientras que el **%MO** es menor en suelos agrícola con mas de 5 años que en los demás, solo en los muestreos de invierno y primavera. Se requiere para estas variables un análisis más exhaustivo de su dinámica temporal. El **pH** registrado en el suelo coincide en tendencia con las mediciones de Duhour (2011) aunque encontramos mayor acidez que en ese estudio. Se observa también que en la mayoría de los suelos pampeanos bajo explotación agrícola (Gelati y Vázquez, 2008; Andreau et al., 2012) y hortícola (Osterrieth et al., 2009) se produce la acidificación del suelo, ya sea por la aplicación de fertilizantes con alto índice de acidez y la implementación de sistemas de labranza que acumulan materia orgánica en superficie (Tang et al.,1998; Burle et al., 1997), como también por eventos naturales que involucran la dinámica del agua (erosión hídrica y lavado de bases, por ejemplo). El porcentaje de **materia orgánica** medido coincide en tendencia con las mediciones de carbono orgánico total de Álvarez et al. (2012) en suelos con distinto uso, mientras que los resultados de Faita et al. (2015) muestran la misma tendencia y valores de MO mucho menores en suelos con los mismos años de uso que los muestreados en esta tesis. Esta diferencia puede adjudicarse al método utilizado por Faita et al. (2015) (Walkley y Blake) ya que solo cuantifica la MO oxidable (una fracción de la MO total que excluye formas condensadas del carbono).

2) Por otro lado, un conjunto de variables registra un impacto diferencial en suelos con moderada a alta perturbación. En nuestro estudio este conjunto de variables muestran valores diferentes en suelos con algún grado de explotación agrícola y/o ganadera que en los pastizales. Diremos que tiene un bajo umbral de detección de perturbaciones, ya que pequeñas variaciones en el uso afectan a este grupo de variables. Estas variables resultan de gran importancia a la hora de detectar niveles de deterioro incipientemente bajos, lo cual sirve como alerta temprana de perturbaciones. Hemos encontrado variables con estas características y la mayoría son variables que describen características biológicas de la fauna del suelo. La **densidad de**

la mesofauna presenta valores significativamente mayores en el pastizal que en los lotes con algún grado de explotación agrícola y/o ganadera. Resulta interesante mencionar que esta densidad se explica principalmente por una mayor cantidad en pastizales de individuos de los órdenes Acari, Arthropleona e Hymenoptera. Se observa la misma tendencia que en la mayoría de los trabajos sobre abundancia de ácaros como el de Arolfo et. al (2010) que publica una menor abundancia de ácaros en suelos agrícolas con siembra directa que en pastizales, o el de Bedano et.al (2006) donde el porcentaje de colémbolos en suelos agrícolas(14%) es menor que la registrada en el pastizal (56%) y coincide con la informada en esta tesis en suelos agrícolas Etchegoyen (3%) frente a la abundancia en suelos del pastizal (19%), no se registran diferencias en suelos de UNLu (21%-29% en agrícola y pastizal respectivamente). También se registran semejanzas en los resultados presentados por Menta et. al (2011) en relación a las menores abundancias de la mesofauna colectada en suelos agrícolas que la colectada en pasturas permanentes. Este estudio registra fluctuaciones estacionales en la abundancia y aunque los valores de abundancia (obtenidos con la misma metodología) sean del mismo orden de magnitud que los presentados en esta tesis, llama la atención que la abundancia en la pastura permanente del trabajo de Menta, supera en 20 o 70 veces a la medida en el suelo agrícola, mientras que en esta tesis la abundancia del pastizal no llega a cuadruplicar la registrada en los suelos agrícolas. Probablemente el rango de antigüedad incluido en este estudio (entre 5 y 150 años con el mismo manejo) y características propias de los suelos del norte de Italia expliquen estas diferencias. También coincide con el de Bedano et. al (2016) que registra una menor abundancia de grupos de ácaros y de colémbolos en sistemas con siembra directa sin buenas practicas agrícola (rotación reducción de agroquímicos, fertilización, cultivos de cobertura, comparable a los sitios agrícola de esta tesis) en comparación con pastizales. En nuestro trabajo esta diferencia en la abundancia de ácaros solo se registra en el sitio Etchegoyen y no en UNLu. Si bien los resultados relativos a órdenes de colémbolos se contraponen a los presentados por Sandler et.al

(2018), que publica una mayor abundancia y diversidad de colémbolos en suelos agrícolas, hago notar que la abundancia de uno de los dos órdenes hallados en este trabajo (*Symphyleona*) no muestra diferencias significativas en suelos de UNLu, mientras en Etchegoyen no se colectaron individuos de este orden en el lote agrícola. Seguramente una profundización en el nivel de determinación nos ayudará a entender esta respuesta diferencial de ciertos grupos a los filtros ambientales que el uso del suelo les impone. La mayor abundancia de himenópteros en suelos menos perturbados es un dato que también publicó Domínguez et.al (2016) al comparar esta variable en suelos agrícolas con labranza reducida o sin labranza (siembra directa).

Los valores de densidad medidos en suelos comparables para la mesofauna y macrofauna son mayores a los que publica Díaz Porres et al. (2014), mayores a los informados para ácaros en pastizales vecinos a sistemas agrícolas de Córdoba por Bedano et.al (2005) y también superan a los presentados por Sandler et.al (2018) para colémbolos. Por otro lado, son ligeramente menores a los publicados para colémbolos por Bedano et.al (2006) e inferiores a los presentados por Menta et.al (2011) para el total de mesofauna en sistemas comparables y con la misma metodología de muestreo. Esto nos permite proponer que los efectos registrados sobre la abundancia de organismos (común a todos los estudios comparados) no dependiente de la abundancia absoluta sino de la proporción de cada grupo taxonómico en la comunidad del suelo. Es interesante pensar también si este comportamiento de la comunidad se mantiene para cualquier rango de tamaño poblacional.

También presenta este mismo comportamiento la **riqueza de especies y de especies raras (Chao) de lombrices** que contabiliza 7 especies diferentes en el pastizal frente a dos o tres especies en los suelos con otros usos. Esto coincide en tendencia con los resultados que publica Roarty y Schmidt (2013) para la riqueza de lombrices del pastizal o de Crittenden et. al (2015) para la riqueza de lombrices del borde de sitios agrícolas. Y difiere de los resultados presentados por Falco et.al (2015) para ambas variables, que en su trabajo no presenta diferencias entre suelos con distinto uso. Los

valores de riqueza medidos en esta tesis son comparativamente bajos a los de otros trabajos y resulta importante notar la reducida cantidad y diversidad de lombrices por monolito durante los muestreos de 2009-2011.

La **riqueza de órdenes de la mesofauna** también muestra esta tendencia aunque no llega a diferenciar significativamente usos del suelo con distinto grado de explotación (agrícola de ganadero). Esta misma tendencia se observa en trabajos de Menta et al. (2011) para los sistemas presentados en el párrafo anterior aunque los valores de riqueza de órdenes de microartrópodos (colectados con Berlese) reportados por Menta et al. (2011) en suelos agrícolas del norte de Italia, duplican a los informados en esta tesis para el mismo uso. La mayor antigüedad de los suelos agrícolas estudiados por Menta podrían explicar en parte estas diferencias. Díaz Porres et al. (2014) también registra mayor riqueza en suelos de pastizal que en suelos agrícolas pero para la macrofauna de los mismos sitios analizados en esta tesis. Probablemente un mayor nivel de resolución taxonómica, es decir, analizar la riqueza de familias o de especies de la mesofauna, permita incorporarla significativamente a este grupo de variables. En el mismo sentido la **densidad de lombrices** es afectada diferencialmente por el uso del suelo ganadero y agrícola, aunque esta reducción resulta significativa solo en suelos agrícolas, donde la densidad de lombrices de los pastizales duplica o triplica en algunos casos la de los suelos agrícolas. Estos resultados coinciden en tendencia con los publicados por Crittenden et. al (2015), por Roarty y Schmidt (2013) aunque los valores son muy superiores a los de esta tesis. Diferencias en las características del suelo y de la comunidad de lombrices de los suelos de Alemania e Irlanda, junto con el método de extracción de lombrices (colecta manual junto con extracción química con formaldehído) utilizado en el trabajo de Roarty y Schmidt explican en parte estas diferencias. Los valores de densidad de lombrices para suelos semejantes y obtenidos por métodos similares que presenta Falco et.al (2015) se asemejan en orden de magnitud, aunque no informa diferencias significativas en la

densidad de lombrices de suelos agrícolas con más de 15 años de explotación que en pastizales.

Algunas variables, como la **distancia genética** entre lombrices, muestran un comportamiento dual: en ocasiones actúan como una variable con bajo umbral de detección en un sitio y con alto umbral de detección en el otro. Esta variable revela una fuerte componente espacial y mientras en Etchegoyen se registran mayores distancias genéticas entre individuos del pastizal e individuos de suelos con otros usos (bajo umbral de detección), en UNLu distingue individuos del lote agrícola del resto de las lombrices que habitan los demás suelos analizados (alto umbral de detección).

Vemos que las prácticas de manejo y la historia de uso del suelo le imprimen al hábitat de la edafofauna un patrón de fragmentación que afecta su supervivencia, reduce su tamaño poblacional e incide en sus patrones de dispersión, reflejándose en la estructura genética de las poblaciones de invertebrados. Kautenburguer (2006b) lo señala para poblaciones de lombrices en función del tipo de práctica agrícola o del cambio en el uso de la tierra. Las menores distancias genéticas registradas entre individuos de suelos perturbados (como se observa en Etchegoyen), junto con las menores medidas de diversidad medidas remarcan el efecto del uso del suelo sobre la variabilidad genética de las lombrices estudiadas e indican además que el efecto geográfico, histórico se refleja en este tipo de variables.

Los porcentajes de variación genética explicados en el AMOVA coinciden con los presentados por Kautenburguer (2006a), que registra menor variación genética entre puntos de muestreo (equivalente a nuestros lotes) que dentro de estos puntos. El porcentaje de variación genética hallado en esta tesis para cada población de lombrices asociada a un uso del suelo particular (dentro), es mayor que el presentado por Kautenburguer (57.57%) y similar al reportado entre usos (17.96%) a pesar de que las distancias geográficas de sus puntos de muestreos son mucho mayores (5-330km) a las analizadas en esta tesis. Los hábitos ecológicos y reproductivos de la especie

anécica de lombriz estudiada (*Lumbricus terrestris*) y las diferencias en el marcador genético utilizado (RAPDs) explican en parte estas diferencias.

También la **DAP** y la **Porosidad del suelo** (en muestreos posteriores a 2009) muestran un comportamiento dual en cada uno de los sitios de estudio. Mientras que en UNLu se registran menor grado de compactación (DAP) y mayor porosidad en suelos del pastizal que en otros suelos (actúa como una variable con bajo umbral de detección), en Etchegoyen se distingue los suelos agrícolas del resto por su elevada DAP (muestra un comportamiento de variable con alto umbral de detección). La **densidad aparente** del suelo es mayor en lotes con larga historia de uso, como los lotes agrícola-ganaderos de UNLu, con más de 25 años de uso. Estos resultados coinciden con los hallados por Faita et al. (2015) para suelos Argiudoles de la cuenca media del Río Luján con 2, 7 y 10 años de explotación agrícola. También es mayor en lotes agrícolas que en pastizales al igual que los resultados mostrados por Duhour (2011), Álvarez et al. (2012) y Díaz Porres (2016). Asimismo los valores de DAP hallados son similares a los registrados en estudios previos en los mismos lotes y en períodos de tiempo menores (Duhour, 2011 y Díaz Porres et.al, 2014) y en lotes similares de la misma región (Faita et al., 2015 y Álvarez et al., 2012), lo que revela el cambio lento de esta variable en el tiempo. La **porosidad**, como variable asociada a la DAP, muestra el mismo patrón, con menores valores en lotes muy perturbados. Los valores de porosidad para suelos agrícolas del presente trabajo son similares a los informados por Chagas et al. (1994) de lotes con 15 años de agricultura de Marcos Juárez (Córdoba).

Otra variable química muestra esta misma tendencia dual pero asociada al año de muestreo: el **%N** es menor en suelos con algún grado de uso ganadero (AG1 y AG2) en 2010 (alto umbral de detección), mientras que en el año 2011 es menor el %N en los suelos con agricultura y/o ganadería (bajo umbral). El **%MP** también muestra un comportamiento dual para algunos sitios y épocas de muestreo, separa el suelo agrícola de los demás suelos de Etchegoyen en los muestreos del año 2014 o el pastizal de los demás usos de Etchegoyen en otoño de 2008. El **%H** del suelo también revela

una variación asociada al sitio y a la época de muestreo que impide reconocer un efecto claro que el uso del suelo tiene sobre esta variable. Muestra, por ejemplo, mayores valores de humedad en suelos del pastizal que en los demás suelos analizados en UNLu, solo en otoño de 2008 e invierno de 2009 y en ambos sitios en verano de 2009 y primavera del 2010. Esta tendencia de mayores %H del suelo en pastizales coincide con los resultados reportados por Díaz Porres et al. (2014) aunque en esta tesis informo mayores valores. Probablemente estas diferencias se expliquen por el periodo de tiempo acotado que consideró Díaz Porres (mayo 2009).

Algunas de las variables medidas, como el **número efectivo de alelos**, el **porcentaje de polimorfismo**, la **diversidad genética de Nei**, el **índice de información genética de Shannon**, la **diversidad y equitatividad de lombrices y de la mesofauna** no fueron afectadas diferencialmente por distintos usos del suelo.

El **porcentaje de loci polimórficos** muestra valores ligeramente mayores en el pastizal que en lotes agrícolas de UNLu. Con respecto al porcentaje de polimorfismo, Roux et al. (2007), Machkour et.al (2009), Gasmi et al. (2014), de Aranzamendi et al. (2014) y Díaz Porres et. al (2018), informan valores mayores a los hallados en esta tesis, lo cual puede explicarse en algunos casos por la mayor distancia geográfica de las poblaciones analizadas (más de 10 km para Machkour et.al, 2009; Gasmi et al., 2014; de Aranzamendi et al., 2014), el nivel de endogamia dentro de las poblaciones, ligado a la tasa de migración entre poblaciones que incrementa esta componente de la diversidad. Mediciones de la caída de diversidad genética en el ARNr de microorganismos que crecen en suelos agrícolas contaminados (Hafez y Elbestawy, 2009) y en el ADN de isópodos en suelos agrícolas (Díaz Porres et.al, 2014), muestran resultados similares. En el mismo sentido, los valores de **diversidad genética** estimados en esta tesis son ligeramente menores a los publicados en estudios donde utilizan ISSR para analizar la estructura poblacional de tarántulas (Machkour-M'Rabet et al., 2009) o de copépodos marinos (Gasmi et al., 2014). Los bajos valores de diversidad genética en lotes perturbados junto con la dificultad para colectar durante

los muestreos suficiente número de individuos en los tres lotes, especialmente en los lotes agrícolas evidencia una reducción en el tamaño poblacional sostenida en el tiempo y/o a una restricción en el flujo génico entre poblaciones. Con respecto al **índice de información genética de Shannon**, los valores obtenidos también son menores que los reportados por Roux et al. (2007); Machkour-M'Rabet et al. (2009), Gasmi et al. (2014), de Aranzamendi et al. (2014) para poblaciones naturales. Si limitamos nuestra comparación a los pastizales de UNLU y Etchegoyen, los valores de diversidad información genética se acercan más.

Los valores de **diversidad mesofaunística** calculados para el período 2011-2013 para los suelos agrícola y pastizal son similares a los reportados por Menta et al. (2011) en suelos semejantes. Los valores medidos en el pastizal de UNLU y Etchegoyen son inferiores a los medidos en el bosque del estudio de Menta et al. (2011). Esto es razonable en un ecosistema mucho más complejo como es, comparativamente, el bosque, donde la equitatividad también es ligeramente mayor a la registrada en los pastizales estudiados en esta tesis. La mayor diversidad de Shannon para la mesofauna de suelos del pastizal responde a elevados valores de riqueza de órdenes pero también a una distribución moderadamente heterogénea de taxones en estos suelos. Resulta interesante también remarcar la caída interanual de la diversidad y la equitatividad en los tres usos del suelo como un factor a considerar.

Los valores de **diversidad y equitatividad de la comunidad de lombrices** medidos en esta tesis son inferiores a los registrados por Falco et al. (2015) en suelos comparables y presentan valores similares en suelos agrícolas y de pastizal.

Dado que se observa una menor abundancia de lombrices en suelos agrícolas, y esto impacta directamente en la variabilidad genética de las poblaciones, postulo que se requiere una mayor ventana temporal que permite una acumulación de diferencias detectable mediante las variables genéticas medidas en esta tesis, algunas de las cuales mostraron tendencias no significativas.

Con respecto al marcador elegido podemos concluir que ha servido para poner a prueba las hipótesis de esta tesis, en la que se hallan valores de porcentaje de polimorfismo de cada marcador, altos y similares a los valores reportados por de Aranzamendi et al. (2014) para lapas con el mismo marcador o el que informa Kautenburguer (2006a) para otros marcadores dominantes como son los RAPDs (66.7-85%) en un estudio de estructura poblacional de *Lumbricus terrestris* en diferentes poblaciones de Alemania.

Si buscamos detectar grandes perturbaciones en los sistemas que estudiamos, podemos elegir variables del primer grupo, es decir, aquellas con umbral alto de detección, que responderán de modo diferente en sistemas muy perturbados que en aquellos poco perturbados. Si en cambio nos interesa encontrar pequeñas variaciones debemos utilizar variables que reflejen tempranamente cambios en las funciones del ecosistema. De las variables biológicas, la densidad de individuos de la mesofauna y de lombrices y la riqueza de especies de lombrices o de órdenes de la mesofauna, responden diferencialmente en distintos usos del suelo. De acuerdo a la frecuencia temporal con que se midan estas variables podremos detectar variaciones antes de que se recuperen sus valores iniciales. El tiempo requerido para esta recuperación es mucho mayor para las variables genéticas que para las faunísticas, ya que una población diezmada puede en varias generaciones recuperar su tamaño poblacional, pero raramente recupere en ese mismo tiempo la variabilidad genética original debido al efecto de la deriva genética (cuello de botella). Esto destaca otra característica valiosa en las variables genéticas que, además de detectar pequeños cambios en algunos sistemas (Etchegoyen), tienen un efecto perdurable en el tiempo, lo que les permite registrar cambios poblacionales acumulados a lo largo de varias generaciones y las convierte en variables imprescindibles a la hora de evaluar el estado de un ecosistema como el estudiado.

- 1) El marcador molecular ISSR permite cuantificar y comparar la diversidad genética de poblaciones de la fauna del suelo y aporta al análisis del impacto que el uso del suelo produce en la estructura genética poblacional de las especies que lo habitan.
- 2) Existen variables con umbral de detección alto, son variables en las que suelos muy perturbados les imprimen diferencias significativas frente a las mediciones en suelos menos perturbados. En este trabajo se postula a la similitud de especies de lombrices y de órdenes de la mesofauna, al número de alelos en cada población y a la diferenciación genética entre poblaciones de *Aporrectodea caliginosa* como variables de este tipo. Se corrobora la primer hipótesis propuesta en este trabajo: *La variabilidad genética de poblaciones de la especie Aporrectodea caliginosa es menor en suelos con algún grado de explotación en comparación con la registrada en poblaciones del pastizal.* También respondieron como variables con alto umbral de detección el pH y el % de materia orgánica del suelo, aunque con una fuerte influencia temporal y espacial. Se corrobora parcialmente la tercera hipótesis de trabajo: *Las características químicas y físicas del suelo difieren en sistemas con diferente uso.*
- 3) Se reconocen otro tipo de variables con un umbral de detección más bajo y sirven como alerta temprana de pequeños cambios. La densidad de la mesofauna y de lombrices pertenecen a este grupo, junto con la riqueza de órdenes de la mesofauna y la riqueza de especies de lombrices, lo cual corrobora la segunda hipótesis propuesta en este trabajo: *La abundancia y diversidad de la mesofauna y de las lombrices es menor en suelos con uso agrícola y/o ganadero que en suelos del pastizal.*

- 4) En función de la magnitud de los cambios que se quieran investigar, se debe analizar uno u otro grupo de variables.
- 5) Excepto la distancia genética entre poblaciones, todas las variables biológicas medidas pertenecen al grupo de las variables de umbral bajo o alto. En particular, las variables genéticas guardan un registro acumulado de las expansiones y reducciones en el número de individuos de la población, lo que las hace sumamente valiosas.
- 6) Resulta imprescindible incorporar variables de diferentes niveles en la construcción de indicadores biológicos de perturbación ambiental y en particular, las variables genéticas, demuestran ser muy útiles.

ANEXOS

Anexo 1. Historia de cobertura y tipo de labranza (Período 1990-2001) en los lotes estudiados en la UNLu. Labranzas definidas de acuerdo a la caracterización del Manual de prácticas integradas de manejo y conservación de suelos de la FAO (Benítez y Friedrich, 2009). FDA: Fosfato Diamónico (N= 11, P= 46, K= 0); SPT: Superfosfato triple (N=0;P=46;K=0). (Modificado de Duhour A., 2011 y Díaz Porres, 2016).

Anexo 2. Historia de cobertura y tipo de labranza (Período 2002-2014) en los lotes estudiados en la UNLu. Labranzas definidas de acuerdo a la caracterización del Manual de prácticas integradas de manejo y conservación de suelos de la FAO (Benítez y Friedrich, 2009). SPT: Superfosfato triple (N=0;P=46;K=0). (Modificado de Duhour A., 2011 y Díaz Porres, 2016).

Anexo 3. Historia de cobertura y tipo de labranza en los lotes estudiados en Etchegoyen (Período 1999-2014). Se realizó la caracterización con el Manual de prácticas integradas de manejo y conservación de suelos de la FAO (Benítez y Friedrich, 2009). SSP: superfosfato simple (N=0, P=20, K=0, S=12); Mezcla sojera: N=66 P=39,6, K=0, S=4,8, MAP: Fosfato monoamónico (N= 80, P=50, K=0, S=0).

<u>Anexo 1</u>	Año	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	
Agrícola-ganadero 1 (AG1) 8.5ha	Cobertura	Maíz	Raigrass	Avena	Maíz	Avena	Pastura permanente (<i>Trifolium pretense</i> , <i>T. repens</i> , <i>Dactylis glomerata</i> y <i>Lolium sp.</i>)		Moha/Maíz	Avena/maíz		Pastura permanente (<i>Medicago sativa</i> , <i>Hordeum vulgare</i> , <i>Dactylis glomerata</i> , <i>Trifolium repens</i>)		
	Labranza	Labranza convencional							Labranza reducida			Labranza cero		
	Agrotóxico	2,4D Dimetilamina (0.6 l/ha), Butilato Sutan (5.2 l/ha)			B. Sutan (6.5 l/ha), Atrazina (3.5 l/ha)	Glifosato (4 l/ha)					Glifosato (4 l/ha)	Glifosato (6 l/ha), 2,4D Dimetilamina (0.4 l/ha)	Flumetsulam (0.5 l/ha), 2,4 D (1.2 l/ha)	
	Fertilizante	--					FDA (50 kg/ha)	SPT (100 kg/ha)			FDA (40 kg/ha), Urea 150 kg/ha	FDA (130 kg/ha), Urea 100 kg/ha	SPT (100 kg/ha)	SPT (100 kg/ha)
Agrícola-ganadero 2 (AG2) 9 ha	Cobertura	Pastura permanente (cedrus)+ Ganado bovino	Pastura permanente (<i>Medicago sativa</i> , <i>Trifolium pratense</i> , <i>T. repens</i> , <i>Festuca sp.</i> , <i>Hordeum vulgare</i> , <i>Phalaris canariensis</i> , <i>Dactylis glomerata</i>) + Ganado bovino (<i>Bos Taurus</i> raza Holando Argentino)				Maíz	Pastura permanente (<i>M. sativa</i> , <i>Trifolium pratense</i> , <i>T. repens</i> , <i>D. glomerata</i> , <i>B. catharticus</i> y <i>Lolium perenne</i> , <i>Raigrass</i>)+ Ganado bovino (<i>Bos Taurus</i> raza Holando Argentino)			Maíz	Pastura permanente (<i>M. sativa</i> , <i>Trifolium pratense</i> , <i>T. repens</i> , <i>Hordeum vulgare</i> y <i>Dactylis glomerata</i>) + Ganado bovino		
	Labranza	Labranza convencional							Labranza reducida			Labranza convencional		
	Agrotóxico								Glifosato /6 l/ha), Banvel (0,55 l/ha), 2.4D (0.55 l/ha)			B. Sutan (8 l/ha), Atrazina (4 l/ha)	Flumetsulam (0,7 L/ha), 2,4D (1,2 l/ha) Glifosato (4 l/ha)	
	Fertilizante							FDA (140 kg/ha), Urea 150 kg/ha			FDA (50 kg/ha)	FDA (100 kg/ha), SPT (100 kg/ha)		SPT (80 kg/ha)
Pastizal (PU) 7 ha	Cobertura	Pseudoestepa de gramíneas combinada con cardo (<i>Dipsacus fullonum</i>), sorgo (<i>Sorghum halepense</i>), paja colorada (<i>Paspalum quadrifarium</i>), ligustro (<i>Ligustrum sinense</i>), jara (<i>Bacharis sp.</i>), acacio negro (<i>Gleditsia triacanthos</i>) y eucalipto rojo (<i>Eucalyptus camaldulensis</i>).												

<u>Anexo 2</u>	Año	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	
Agrícola-ganadero 1 (AG1) 8.5ha	Cobertura	Pastura permanente	Maíz	Avena/Maíz		Raigrass	Avena	Pastura permanente /Raigrass + ganado bovino (Bos Taurus raza Holando Argentino)						Maíz	
	Agrotóxico								Glifosato (5l/ha)		Glifosato (4 l/ha), Atrazina (4 l/ha)	Flumetsulam (0,5 l/ha), 2,4DB (0,4 l/ha)			
	Fertilizante								Urea (200kg/ha)	Urea (100kg/ha)	SPT (100kg/ha)	Urea (100kg/ha) SPT (120kg/ha)			
	Labranza	Labranza cero													
Agrícola-ganadero 2 (AG2) 9 ha	Cobertura	Pastura permanente (M. sativa, T. pratense, Trifolium repens, D. glomerata, B. catharticus y Lolium perenne) + Ganado bovino (Bos Taurus raza Holando Argentino)					Avena/Maíz	Raigrass/soja	Raigrass/soja	Sorgo/pastura	Maíz/Avena	Pasture permanente (Medicago sativa, Trifolium pratense, Dactylis glomerata, Hordeum vulgare y Festuca sp.)			
	Agrotóxico	Sin dato											2,4DB (0,4 l/ha) Flumetsulam (0,5 l/ha)		
	Fertilizante												SPT (120 kg/ha)		
	Labranza	Labranza cero													
Pastizal (PU) 7 ha	Cobertura	Pseudoestepa de gramíneas combinada con cardo (Dipsacus fullonum), sorgo (Sorghum halepense), paja colorada (Paspalum quadrifarium), Ligustro (Ligustrum sinense), jara (Bacharis sp), acacio negro (Gleditsia triacanthos) y eucalipto rojo (Eucalyptus camaldulensis).													

<u>Anexo 3</u>	Año	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Agrícola (AE) 4ha	Cobertura	Maíz Soja	Trigo Soja	Maíz Soja	Soja Trigo	Soja Maíz	Maíz Soja	Soja Trigo	Soja Maíz	Maíz Soja	Soja Trigo	Soja Maíz	Maíz Soja	Soja Trigo	Soja Maíz	Maíz Soja	Soja Trigo
	Agrotóxico											Glifosato (1,5 l/ha) 2,4 D (0,5 l/ha)	Glifosato (3 l/ha) 2,4 D (0,6l/ha)		Glifosato (3 l/ha)		
	Fertilizante											DAP (50kg/ha) Urea (100 Kg/ha)	SPT (40 Kg/ha) SSP (40 kg/ha)	MAP/Urea (80 kg/ha)	Mezcla sojera		
	Labranza	Labranza Convencional	Labranza reducida														
Ganadero (GE) 0.51ha		Sin Ganado										20-40 cabezas (ovino)					
	Cobertura Labranza	Maíz Labranza convencional	Pastura natural: cardo (<i>Dipsacus fullonum</i>), sorgo (<i>Sorghum halepense</i>), paja colorada (<i>Paspalum quadrifarium</i>), trébol rojo (<i>Trifolium pratense L.</i>), Festuca Palenque (<i>Festuca pallenscens</i>).														
Pastizal (PE) 1ha	Cobertura	Pseudoestepa de gramíneas con cítricos (<i>Citrus x sinensis</i> , <i>Citrus x limón</i>), ligustro (<i>Ligustrum sinense</i>), jara (<i>Bacharis sp</i>), acacio negro (<i>Gleditsia triacanthos</i>), eucalipto rojo (<i>Eucaliptus camaldulensis</i>), paraíso (<i>Elaeagnus sp.</i>) y magnolia (<i>Magnolia sp.</i>)															

- Aguirre-Mendoza, Z. 2013. Guía de métodos para medir la biodiversidad. Universidad Nacional de Loja. Ecuador.
- Álvarez, C.R., Taboada, M.A., Bustingorri, C., Gutiérrez, B. y Hern, F. 2006. Descompactación de suelos en siembra directa: efectos sobre las propiedades físicas y el cultivo de maíz. *Revista Argentina Ciencia del Suelo*, 24 (1):1-10.
- Álvarez, C. R., Fernández, P. L., y Taboada, M. A. 2012. Relación de la inestabilidad estructural con el manejo y propiedades de los suelos de la región pampeana. *Ciencia del suelo*. 30(2): 173-178.
- Alzugaray, C., Vilche, M.S. y Petenello, C. 2008. Labor profunda en siembra directa: Efecto sobre la condición biológica del suelo. *Ciencia e investigación agraria*, 35(3):265-276.
- Amos, W., Harwood, J.1998. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society*. London. B, 353: 177-186.
- Andreau, R., Gelati, P., Provaza, M., Bennardi, D., Fernández, D. y Vázquez, M. 2012. Degradación física y química de dos suelos del cordón hortícola platense. Alternativas de tratamiento. *Revista Argentina Ciencia del Suelo*, 30(2): 107-117.
- de Aranzamendi, M. C., Sahade, R., Tatián, M., y Chiappero, M. B. 2008. Genetic differentiation between morphotypes in the Antarctic limpet *Nacella concinna* as revealed by inter-simple sequence repeat markers. *Marine Biology*. 154(5): 875.
- de Aranzamendi, M. C., Bastida, R., y Gardenal, C. N. 2014. Genetic population structure in *Nacella magellanica*: Evidence of rapid range expansion throughout the entire species distribution on the Atlantic coast. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 460: 53-61.
- Arolfo, R.V.; Bedano, J.C.; Becker, A.R. 2010. Efectos del cultivo de soja transgénica en siembra directa sobre la taxocenosis de ácaros edáficos en haplustoles del centro de Córdoba. *Ciencia del Suelo*. 28: 191–200.

- Bandick, A. K. y Dick, R. P. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(11): 1471-1479.
- Balzarini, M.G., Di Rienzo, J.A. InfoGen versión 2014. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.info-gen.com.ar>
- Bedano, J.C.; Cantu, M.P.; Doucet, M.E. 2006 a. Influence of three different land management practices on soil mite (Arachnida: Acari) densities in relation to a natural soil. *Applied Soil Ecology*. 32: 293–304.
- Bedano, J. C., Cantú, M. P. y Doucet, M. E. 2006b. Soil springtails (Hexapoda: Collembola), symphylans and pauropods (Arthropoda: Myriapoda) under different management systems in agroecosystems of the subhumid Pampa (Argentina). *European Journal of Soil Biology*. 42(2): 107-119.
- Bedano, J.C.; Ruf, A. 2007. Soil predatory mite communities (Acari: Gamasina) in agroecosystems of Central Argentina. *Applied Soil Ecology*. 36: 22–31.
- Bedano, J.C., Domínguez, A. y Arolfo, R. 2011. Assessment of soil biological degradation using mesofauna. *Soil and Tillage Research*. 117:55-60.
- Bedano, J. C., Domínguez, A., Arolfo, R. y Wall, L.G. 2016. Effect of Good Agricultural Practices under no-till on litter and soil invertebrates in areas with different soil types. *Soil and Tillage Research*. 158:100-109.
- Benítez, J. y Friedrich, T. 2009. Manual de prácticas integradas de manejo y conservación de suelos. Boletín de Tierras y Aguas de la FAO. Consultado en http://www.fao.org/ag/ags/AGSE/agse_s/7mo/iita C, 1.
- Blake, G. y Hartge, K., 1986. Bulk density. En Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods*. 2nd Edition. Agronomy Monograph. WI: SSSA, Madison, págs. 363–375)
- Bouché, M.B. 1972. Lombriciens de France. *Écologie et Systématique*. I.N.R.A. Publ. Ann. Zool.Ecol. Anim. 72(2): 671pp.
- Bremner, J.M. y Mulvaney, C.S. 1982. Nitrogen total en *Methods of soil analysis*. 2ª edición. *Agronomy* 9: 595-624. Am. Soc of Agron. Inc., Madison.

- Burle, M. L., Mielniczuk, J. y Focchi, S. 1997. Effect of cropping systems on soil chemical characteristics, with emphasis on soil acidification. *Plant and Soil*. 190(2): 309-316.
- Cabrera, G., 2012. La macrofauna edáfica como indicador biológico del estado de conservación/perturbación del suelo. Resultados obtenidos en Cuba. *Pastos y Forrajes*, 35 (4): 349-364.
- Cameron, E. K., Bayne, E. M. y Coltman, D.W. 2008. Genetic structure of invasive earthworms *Dendrobaena octaedra* in the boreal forest of Alberta: insights into introduction mechanisms. *Molecular Ecology* 17: 1189-1197.
- Caro, G., Decaëns, T., Lecarpentier, C., y Mathieu, J. 2013. Are dispersal behaviours of earthworms related to their functional group?. *Soil Biology and Biochemistry*. 58: 181-187.
- Chagas, C. I., Marelli, H. J., y Santanatoglia, O. J. 1994. Propiedades físicas y contenido hídrico de un Argiudol típico bajo tres sistemas de labranza. *Ciencia del Suelo*, 12(1):11-16.
- Chao, A. 1984. Non-parametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of Statistics*. 11: 265-270.
- Coleman, D. C., y Whitman, W. B. 2005. Linking species richness, biodiversity and ecosystem function in soil systems. *Pedobiologia*. 49(6):479-497.
- Conti ME, Arrigo N & Palma M. (1980). Variabilidad espacial en determinaciones de carbono, nitrógeno, fósforo y pH de un muestreo sistemático de suelo. *Revista Facultad de Agronomía* 1: 43–48.
- Creamer, R.E., Hannula S.E., Van Leeuwen J.P., Stone D., Rutgers M., Schmelz R.M., de Ruyter P.C., Bohse Hendriksen N., Bolger T., Bouffaud M.L., Buee M., Carvalho F., Costa D., Dirilgen T., Frencisco R., Griffiths B.S., Griffiths R., Martin F., Martins da Silva P., Mendes S., Morais P.V., Pereira C., Phippot L., Plassart P., Redecker D., Römbke J., Sousa J.P., Wouterse M., Lemanceau P. 2016. Ecological network analysis reveals the inter-connection between soil biodiversity and ecosystem function as affected by land use across Europe. *Applied Soil Ecology*. 97: 112-124.

- Crittenden, S. J., Eswaramurthy, T., De Goede, R. G. M., Brussaard, L., y Pulleman, M. M. 2014. Effect of tillage on earthworms over short-and medium-term in conventional and organic farming. *Applied soil ecology*, 83: 140-148.
- Desenden K., Eryvynck A. y Tack G.1999. Beetle diversity and historical ecology of woodlands in flanders. *Belgic Journal of Zoology*. 129, 1: 139-156.
- Dexter, A. R. 1991. Amelioration of soil by natural processes. *Soil and Tillage Research*. 20(1): 87-100.
- Díaz Porres, M., Rionda, M. H., Duhour, A. E., y Momo, F. R. 2014. Artrópodos del suelo: Relaciones entre la composición faunística y la intensificación agropecuaria. *Ecología Austral*. 24(3): 327-334.
- Díaz Porres, M. 2016. Impacto de los usos del suelo sobre la variabilidad genética de la fauna edáfica. (Tesis de doctorado). Universidad Nacional de Rio Cuarto.
- Díaz Porres, M. D., Rionda, M., Madrid, E., Bedano, J. C., Momo, F. e Iriarte, P. F. 2018. Genetic variability in populations of the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* living in soils with different land uses. *Pedobiologia*, 71: 1-7.
- Dice, L. R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*. 26(3): 297-302.
- Di Ciocco C.A., Sandler R.V., Falco L.B. y Coviella C. E.2014. Actividad microbiológica de un suelo sometido a distintos usos y su relación con variables físico-químicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Cuyo*. 46, 1: 73-85.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Dindal, D. L. 1990. Soil biology guide. New York.Wiley. Intterscience Publication. John Willey & sons.
- Domínguez, A., Bedano, J.C. y Becker, J.R. 2010. Negative effects of no-till on soil macrofauna and litter decomposition in Argentina as compared with natural grasslands. *Soil and Tillage Research*. 110 (1): 51-59

- Domínguez, A.; Bedano, J.C.; Becker, A.; Arolfo, R. 2014. Organic farming fosters agroecosystem functioning in Argentinian temperate soils: Evidence from litter decomposition and soil fauna. *Applied Soil Ecology*.83: 170–176.
- Domínguez, A.; Bedano, J.C. 2016. Earthworm and enchytraeid co-occurrence pattern in organic and conventional farming: consequences for ecosystem engineering. *Soil Science*. 181: 148–156.
- Domínguez, A. y Bedano, J.C. 2016. The adoption of no-till instead of reduced tillage does not improve some soil quality parameters in Argentinean Pampas. *Applied Soil Ecology*. 98:166-176.
- Dorenbost, J. y Pruitt, W.O. 1977. Guidelines for predicting crop water requirements. *FAO Irrigation and Drainage Paper 24*. FAO, Rome.
- Duarte, J. M., Santos, J. B. D., y Melo, L. C. 1999. Comparison of similarity coefficients based on RAPD markers in the common bean. *Genetics and Molecular Biology*. 22(3): 427-432.
- Duhour, A.; Costa, C.; Momo, F.; Falco, L.; Malacalza, L. 2009. Response of earthworm communities to soil disturbance: Fractal dimension of soil and species' rank-abundance curves. *Applied Soil Ecology*. 43: 83–88.
- Duhour A., 2011. Interrelaciones entre la comunidad de lombrices de tierra y la estructura y uso del suelo que habitan: dominios funcionales y cambios estructurales. (Tesis de doctorado). Universidad Nacional de General Sarmiento. Buenos Aires. Argentina.
- Dumanski, J., Pettapiece, W. W., Acton, D. F. y Claude, P. P. 1993. Application of agro-ecological concepts and hierarchy theory in the design of databases for spatial and temporal characterisation of land and soil. *Geoderma*. 60(1-4): 343-358.
- Dupont, L., Grésille, Y., Richard, B., Decaëns, T. y Mathieu, J. 2015. Dispersal constraints and fine-scale spatial genetic structure in two earthworm species. *Biological Journal of the Linnean Society*. 114: 335-347
- Dupont, L., Torres-Leguizamon, M., René-Corail, P. y Mathieu, J. 2017. Landscape features impact connectivity between soil populations: a comparative study of gene flow in earthworms. *Molecular Ecology*. 26(12): 3128-3140.

- Dyer, A. R., Fowler J. C. S. y Baker, G.H. 1998. Detecting genetic variability in exotic earthworms, *Aporrectodea spp.* (Lumbricidae) in Australian soil using RAPD markers. *Soil Biology and Biochemistry*. 30: 159-165.
- Edwards, C. A. (Ed.). 2004. Earthworm ecology. CRC press.
- Eijsackers, H. 2011. Earthworms as colonizers of natural and cultivated soil environments. *Applied Soil Ecology*. 50: 1-13.
- Elton, C.S. 1958. The ecology of invasions by animals and plants. Chapman & Hall. Londres.
- Evanno, G., Regnaut, S. y Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*. 14(8): 2611-2620.
- Faita, E. C., Ros M. Á., Buiani, G., & Rosario, A. 2015. Formulación de un índice de calidad edáfica para argiudoles de la cuenca media del río Luján. *Ciencia del suelo*, 33(1).
- Falco, L. B. y Momo, F. 2010. Selección de hábitat: efecto de la cobertura y tipo de suelo en lombrices de tierra. *Acta zoológica mexicana*, 26(SPE2): 179-187.
- Falco, L.B.; Sandler, R.; Momo, F.; Di Ciocco, C.; Saravia, L.; Coviella, C. 2015. Earthworm assemblages in different intensity of agricultural uses and their relation to edaphic variables. *PeerJ*.(3): 979.
- FAO Base de datos en FAOSTAT 2014 <http://www.fao.org/faostat/es/#country/9>
- Felsenstein, J. 1989. PHYLIP 3.2 Manual. *University of California Herbarium, Berkeley*.
- Ferrara, R. M., Mazza, G., Muschitiello, C., Castellini, M., Stellacci, A. M., Navarro, A., Lagomarsino, A., Vittia, C., Rossid, R. y Rana, G. 2017. Short-term effects of conversion to no-tillage on respiration and chemical-physical properties of the soil: a case study in a wheat cropping system in semi-dry environment. *Italian Journal of agrometeorology Rivista Italiana di Agrometeorologia*. 22(1): 47-58.
- Ferrière, G., y Bouché, M. B. 1985. Première mesure écophysiological d'un débit d'élément dans un animal endogé: le débit d'azote de *Nicodrilus longus* (Ude)(Lumbricidae, Oligochaeta). *Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série 3, Sciences de la vie*, 301(17), 789-794.

- FRA (Informe de): Evaluación de los recursos forestales mundiales. 2010. Informe principal de la Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 381 pp. <http://www.fao.org/3/a-i1757s.pdf>
- Frankham, R., Ballou, J.D. y Briscoe, D.A. 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press. UK, 640pp.
- Frazão, J., de Goede, R.G.M, Brussaard, L., Faber, J.H., Groot, J.C.J y Pulleman, M.M 2017. Earthworm communities in arable fields and restored field margins, as related to management practices and surrounding landscape diversity. *Agriculture, Ecosystem and environment*.(248): 1-8.
- García-Ruiz, R., Ochoa, V., Hinojosa, M.B., Carreira, J.A. 2008. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement In organic agricultural systems. *Soil Biology & Biochemistry*. 40: 2137–2145
- García, Y., Ramírez, W. y Sánchez, S. 2014. Efecto de diferentes usos de la tierra en la composición y la abundancia de la macrofauna edáfica, en la provincia de Matanzas. *Pastos y Forrajes*. 37(3): 313-321.
- Gasmi, S., Ferval, M., Pelissier, C., D'Amico, F., Maris, T., Tackx, M. y Legal, L. 2014. Genetic diversity among the *Eurytemora affinis* species complex in the Scheldt estuary and its tributaries using ISSR-PCR marker assay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.145: 22-30.
- Geissen, V., Peña-Peña, K., Huerta, E. 2009. Effects of different land use on soil chemical properties, decomposition rate and earthworm communities in tropical Mexico. *Pedobiologia* 53:75–86
- Gelati, P. R. y Vázquez, M. E. 2008. Extracción agrícola de bases en el norte de la provincia de Buenos Aires, Argentina: costo de su remediación e implicancias económicas. *Revista Iberoamericana de Economía Ecológica*. 7: 117-129.
- Gianfreda, L., Rao, M. A., Piotrowska, A., Palumbo, G., y Colombo, C. 2005. Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations: intensive agricultural practices and organic pollution. *Science of the Total Environment*. 341(1-3): 265-279.
- Giuffré L, Pascale C, Conti M, Ratto S & Heredia O. (1998). Variabilidad espacial del fósforo extractable a nivel de microescala durante el ciclo de un cultivo de trigo bajo dos sistemas de labranzas. *Agricultura Técnica* 58: 276–284.

- Guillen, C., Soto-Adames, F., & Springer, M. 2006. Variables físicas, químicas y biológicas del suelo sobre las poblaciones de colémbolos en Costa Rica. *Agronomía costarricense*. 30 (2).
- Gotelli, N. J., & Ellison, A. M. (2004). A primer of ecological statistics. Sinauer Associates Inc.
- Hafez, E. E. y Elbestawy, E. 2009. Molecular characterization of soil microorganisms: effect of industrial pollution on distribution and biodiversity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25(2): 215-224.
- Holsinger, K.E., Lewis, P.O. y Dey, D. 2002 A Bayesian approach to inferring population structure from dominant markers. *Ecology and Evolutionary Biology Articles*. 1-15.
- Hosinger, K.E. y Lewis, P.O. 2003. Hickory: a package for analysis of population genetic data. V1.1. university of Connecticut.
- Ibáñez, J. J. y García Álvarez, A. 1991. La edafosfera y el cambio global. Un enfoque histórico-termodinámico. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol*. 28 : 349-375.
- Ibáñez, J. 2017. Un Universo invisible bajo nuestros pies. Recuperado de <http://www.madrimasd.org/blogs/universo>.
- Jaramillo Jaramillo D.F., 2002. Introducción a la ciencia del suelo. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. 619 pp.
- Jenny, H. 1980. The soil resource: Origen and behavior. Nº 631.46 J4.
- Kashmenskaya, M. N. y Polyakov, A. V. 2008. Karyotype analysis of five species of earthworms (Oligochaeta: Lumbricidae). *Comparative Cytogenetics*. 2 (2): 121-125.
- Kautenburger, R. 2006a. Genetic structure among earthworms (*Lumbricus terrestris* L.) from different sampling sites in western Germany based on random amplified polymorphic DNA. *Pedobiologia*. 50(3): 257-266.
- Kautenburger, R. 2006b. Impact of different agricultural practices on the genetic structure of *Lumbricus terrestris*, *Arion lusitanicus* and *Microtus arvalis*. *Animal Biodiversity and Conservation*. 29(1): 19-32.

- Kladivko, E. J. 2001. Tillage systems and soil ecology. *Soil and Tillage Research*. 61(1-2): 61-76.
- Lavelle, P. 1983. The structure of earthworm communities. In *Earthworm ecology* (pp. 449-466). Springer, Dordrecht.
- Lavelle, P. 1988. Earthworm activities and the soil system. *Biology and fertility of soils*. 6(3): 237-251.
- Lavelle, P. 2002. Functional domains in soil. *Ecological Research*, 17: 441-450.
- Lavelle, P. y Spain, A.V., 2001. Soil Ecology. Kluwer Academic Publishers.
- Lentzsch, P. y J. Gollack. 2006. Genetic diversity of Aporrectodea caliginosa from agricultural sites in Northeast Brandenburg, Germany. *Pedobiología*. 50: 369-376.
- Lietti, M.; Gamundi, J.C.; Montero, G.; Molinari, A.; Bulacio, V. Efecto de dos sistemas de labranza sobre la abundancia de artrópodos que habitan en el suelo. *Ecol. Austral* 2008, 18, 71–78.
- Liu, B.H. 1998. Statistical Genomics: Linkage Mapping and QTL Analysis CRC Press, Boca Ranton, FL, 611 pp.
- MacArthur, R. 1955. Fluctuations of animal populations and a measure of community stability. *Ecology*. 36: 533-536.
- Machkour-M'Rabet, S., Hénaut, Y., Dor, A., Pérez-Lachaud, G., Pélissier, C., Gers, C. y Legal, L. 2009. ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) as molecular markers to study genetic diversity in tarantulas (Araneae, Mygalomorphae). *The Journal of Arachnology* 37:10–14.
- Manetti, P.L.; Faberi, A.J.; Clemente, N.L.; López, A.N. 2013. Macrofauna activity density in contrasting tillage systems in Buenos Aires Province, Argentina. *Agronomy Journal*, 105: 1780–1786.
- Mangalassery, S., Mooney, S.J., Sparkes, D.L., Fraser, W.T., Sjögersten. 2015. Impact of zero tillage on soil enzyme activities, microbial characteristics and organic matter functional chemistry in temperate soils. *European Journal of Soil Biology*. 68:9-17.

- Marasas, M. E., Sarandón, S. J. y Cicchino, A. C. 1997. Efecto de la labranza sobre la coleopterofauna edáfica en un cultivo de trigo en la provincia de Buenos Aires (Argentina). *Ciencia del Suelo*. 15: 59-63.
- Mariette, S., Le Corre, V., Austerlitz, F. y Kremer, A. 2002. Sampling within the genome for measuring within-population diversity: trade-offs between markers. *Molecular Ecology*. 11(7): 1145-1156.
- Masín, C.E.; Rodríguez, A.R.; Maitre, M.I. Evaluación de la abundancia y diversidad de lombrices de tierra en relación con el uso del suelo en el cinturón hortícola de Santa Fe (Argentina). *Ciencia del Suelo* 2011, 29, 21–28.
- Mather, J. G. y Christensen, O. 1998. Surface movements of earthworms in agricultural land. *Pedobiologia*. 32 (5/6):399-405.
- Mathieu, J., Barot, S., Blouin, M., Caro, G., Decaëns, T., Dubs, F., Lise Dupont, Pascal Jouquet y Nai, P. 2010. Habitat quality, conspecific density, and habitat pre-use affect the dispersal behaviour of two earthworm species, *Aporrectodea icterica* and *Dendrobaena veneta*, in a mesocosm experiment. *Soil Biology and Biochemistry*. 42(2): 203-209.
- Menta C., Leoni A., Gardi C. y Conti F.D. 2011. Are grasslands important habitats for soil microarthropod conservation? *Biodiversity Conservation*. 20:1073–1087
- Michaelsen, W. 1903. Die geographische Verbreitung der Oligochaeten. Friedlander & Sohn, Berlin. 186 pp.
- de Mischis, C. C. y Moreno, A. G. 1999. Taxonomía de Oligoquetos: Criterios y metodologías. Córdoba - Argentina, Universidad Nacional de Córdoba - Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- de Mischis, C. y Herrera, J. 2006. Review of the distribution of exotic earthworms (*Annelida, Oligochaeta*) in Argentina and confirmed examples of their introduction. *Journal of Science*. 42 (3): 285-293.
- Momo, F. R., C. M. Giovanetti y Malacalza L. 1993. Relación entre la abundancia de distintas especies de lombrices de tierra (*Annelida, Oligochaeta*) y algunos parámetros fisicoquímicos del suelo típico de la estepa pampeana. *Ecología Austral*. 3: 7-14.
- Momo, F. R., y Falco, L. B. 2009. Biología y ecología de la fauna del suelo. 1º Ed. Buenos Aires: Imago Mundi.

- Morrone, J. J. 2002. Presentación sintética de un nuevo esquema biogeográfico de América Latina y el Caribe. *Proyecto de Red Iberoamérica de Biogeografía y Entomología Sistemática PRIBES*, 267-275.
- Moscatelli, M. C., Lagomarsino, A., Garzillo, A. M. V., Pignataro, A., & Grego, S. (2012). β -Glucosidase kinetic parameters as indicators of soil quality under conventional and organic cropping systems applying two analytical approaches. *Ecological Indicators*, 13(1), 322-327.
- Nei, M. y Li, W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 76: 5269-5273.
- Nunes, D. H., A. Pasini, N. P. Benito & G. G. Brown. 2007. Minhocas como indicadores da qualidade ambiental. Um estudo de caso na região de Jaguapitã, PR, Brasil. Pp. 467-480. In: G. G. Brown and C. Fragoso (Eds). *Minhocas na América Latina: biodiversidade e ecologia*. Embrapa Soja. Londrina.
- Orgeira, M. J., Vásquez, C. A., Compagnucci, R. H., Raposo, I. y Pereyra, F. X. 2009. Magnetismo de rocas en suelos actuales de la Pampa Ondulada, provincia de Buenos Aires, Argentina: Vinculación del clima con el comportamiento magnético. *Revista mexicana de ciencias geológicas*. 26(1): 65-78.
- Osterrieth, M., Martinez, P., Martinez, G., Fernandez, C., Trassens, M., Bilat, Y. y Bernava, L. 2009. Geoecología de argiudoles afectados por practicas hortícolas, en la llanura pampeana, Buenos Aires, Argentina. En <http://natres.psu.ac.th/Link/SoilCongress/bdd/symp32/1153-t.pdf>
- Palacios-Vargas, J. G. 2014. Biodiversidad de Collembola (Hexapoda: Entognatha) en México. *Revista mexicana de biodiversidad*. 85: 220-231.
- Palacios-Vargas, J. G., y Figueroa, D. 2014. Biodiversidad de Protura (Hexapoda: Entognatha) en México. *Revista mexicana de biodiversidad*. 85: S232-S235.
- Palacios-Vargas, J. G., y García-Gómez, A. 2014. Biodiversidad de Diplura (Hexapoda: Entognatha) en México. *Revista mexicana de biodiversidad*. 85: 236-242.
- Panigatti, JL. 2010. Argentina 200 años, 200 suelos. (No. P32 INTA 18474 y CD 67). Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, Buenos Aires (Argentina). 345 pp.

- Paoletti, M. G. 1999. The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 74(1-3): 137-155.
- Peakall, R. y Smouse, P.E. 2012. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* 28:2537-2539. Disponible en <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/28/19/2537>
- Pelosi, C., Toutous, L., Chiron, F., Dubs, F., Hedde, M., Muratet, A., Ponge, J.F., Salmon, S. y Makowski, D. 2013. Reduction of pesticide use can increase earthworm populations in wheat crops in a European temperate region. *Agriculture, ecosystems & environment*. 181: 223-230.
- Pfiffner, L. y Luka, H. 2000. Overwintering of arthropods in soils of arable fields and adjacent semi-natural habitats. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 78: 215–222.
- Pilatti, M.A.; de Orellana, J.A.; Priano, L.J.; Felli, O.M.; Grenon, D.A.1988. Incidencia de manejos tradicionales y conservacionistas sobre propiedades físicas, químicas y biológicas de un Argiudol en el sur de Santa Fé. *Ci Suelo*. 6, 19–29.
- Pizarro J.B. 2003. La evolución de la producción agropecuaria pampeana. *Revista Interdisciplinaria de estudios agrarios*. 18. INTA, FCEc UBA.
- Poeplau, C., Don, A., Vesterdal, L., Leifeld, J., Van Wesemael, B. A. S., Schumacher, J. y Gensior, A. 2011. Temporal dynamics of soil organic carbon after land-use change in the temperate zone—carbon response functions as a model approach. *Global Change Biology*. 17(7): 2415-2427.
- Ponge, J. F., Pérès, G., Guernion, M., Ruiz-Camacho, N., Cortet, J., Pernin, C., Villenave, C., Chaussod, R., Martin-Laurent, F., Bispo, A. y Cluzeau D. 2013. The impact of agricultural practices on soil biota: a regional study. *Soil Biology and Biochemistry*. 67: 271-284.
- Postma-Blaauw, M. B., Bloem, J., Faber, J. H., Van Groenigen, J. W., De Goede, R. G. y Brussaard, L. 2006. Earthworm species composition affects the soil bacterial community and net nitrogen mineralization. *Pedobiología*. 50(3): 243-256.
- Pritchard, J. K., Stephens, M. y Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 155(2): 945-959.

- Quichimbo, P., Tenorio, G., Borja, P., Cárdenas, I., Crespo, P. and Célleri, R. 2012. Efectos sobre las propiedades físicas y químicas de los suelos por el cambio de la cobertura vegetal y uso del suelo: páramo de Quimsacocha al sur del Ecuador. *Suelos Ecuatoriales*. 42(2): 138 –153.
- Righi, G. y Lobo, D. A. 1979. Nova contribuição ao gênero *Glossoscolex* com sinopse do grupogiganteus (Oligochaeta, Glossoscolecidae). *Revista Brasileira de Zoologia*. 39: 947–959.
- Reynolds, J. W. y Clapperton, M. J. 1996. New earthworm records for Alberta (Oligochaeta: Lumbricidae) including the description of a new Canadian species. *Megadrilologica*. 6(8): 73-82.
- Roarty S. y Schmidt O., 2013. Permanent and new arable field margins support large earthworm communities but do not increase in field populations. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 170, 45-55.
- Roldán-Ruiz, I., Calsyn, E., Gilliland, T. J., Coll, R., Van Eijk, M. J. T. y De Loose, M. 2000. Estimating genetic conformity between related ryegrass (*Lolium*) varieties. 2. AFLP characterization. *Molecular Breeding*. 6(6): 593-602.
- Roux, O., Gevrey, M., Arvanitakis, L., Gers, C., Bordat, D. y Legal, L. 2007. ISSR-PCR: Tool for discrimination and genetic structure analysis of *Plutella xylostella* populations native to different geographical areas. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 43(1): 240-250.
- Saitou, N. y Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 4(4): 406-425.
- Sandler, R. V., Falco, L. B., Di Ciocco, C., De Luca, R. y Coviella, C. E. 2010. Eficiencia del embudo Berlese-Tullgren para extracción de artrópodos edáficos en suelos argiúdoles típicos de la provincia de Buenos Aires. *Ciencia del suelo*. 28(1): 1-7.
- Sandler 2016 The Degree of Change of Collembolan Community Structure Related to Anthropic Soil Disturbance. Available online: <https://peerj.com/preprints/721/> (accessed on 10 March 2016).
- Sandler, R.V., Falco, L., Di Ciocco C., Cartro Huerta, R. y Coviella, C.E. 2018. Change of collembolan (Hexapoda: Collembola) community structure related to anthropic soil disturbance. *Revista FCA UNCUYO*. 50 (1), 217-231.

- Sanzano, G. A., Hernández, C., Morandini, M., Sosa, F., Rojas Quinteros, H., Sotomayor, C. y Romero, J. 2012. Evaluación de la compactación de suelos en siembra directa en la Llanura Chacopampeana de la provincia de Tucumán, R. Argentina. *Revista industrial y agrícola de Tucumán.*, 89(1): 31-38.
- Schulte, E. E. 1995. Recommended soil organic matter tests. *Recommended Soil Testing Procedures for the North Eastern USA. Northeastern Regional Publication*, (493), 52-60.
- Sims, R. W., y Gerard, B. M. 1999. *Earthworms: Notes for the identification of British species*. Linnean Society of London and the Estuarine and Coastal Sciences Association.
- Simonson, 1984 Soil classification in the past: roots and philosophies. *ISRIC Annual Report*. 6-18.
- SMN: datos climáticos del Servicio Meteorológico Nacional- Estación meteorológica San Miguel. Ingreso el 26/2/2018 en <https://ssl.smn.gob.ar/serviciosclimaticos/?mod=agro&id=6>).
- Song Y, Zhu LS, Wang J, Wang JH, Liu W, Xie H (2009) DNA damage and effects on antioxidative enzymes in earthworm (*Eisenia fetida*) induced by atrazine. *Soil Biol Biochem* 41(5):905–909
- Sørensen, T. 1948. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species and its application to analyses of the vegetation on Danish commons. *Biological South Korea (Skr)*. 5: 1-34.
- Southwood, T. R. E., y Henderson, P. A. 2000. *Ecological Methods* – Blackwell Science.
- Spiegelhalter, D. J., Best, N. G., Carlin, B. P. y Van Der Linde, A. 2002. Bayesian measures of model complexity and fit. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)*. 64(4): 583-639.
- Spurgeon, D. J., Weeks, J. M., y Van Gestel, C. A. 2003. A summary of eleven years progress in earthworm ecotoxicology: The 7th international symposium on earthworm ecology· Cardiff· Wales· 2002. *Pedobiologia*, 47(5-6), 588-606.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. y Kumar S. 2011. *MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Likelihood, Distance, and Parsimony methods. Molecular Biology and Evolution*. 28: 2731-2739.

- Tang C. 1998 . Factors affecting soil acidification under legumes I. Effect of potassium supply. *Plant and Soil* 199: 275-282.
- Torres-Leguizamon, M., Mathieu, J., Decaëns, T. y Dupont, L. 2014. Genetic Structure of Earthworm Populations at a Regional Scale: Inferences from Mitochondrial and Microsatellite Molecular Markers in *Aporrectodea icterica* (Savigny 1826). *PLoS ONE* 9(7): e101597. doi:10.1371/journal.pone.0101597.
- van Straalen, N. M. 1998. Evaluation of bioindicator systems derived from soil arthropod communities. *Applied Soil Ecology*, 9(1-3): 429-437.
- Vazquez M. y Rotondaro R., 2005. Acidificación de suelos en el sur de Santa Fe y el norte bonaerense. *Revista de la Asociación de Cooperativas Argentinas Acaecer*. 350:26-32.
- Velavan, T. P., Schulenburg, H. y Michiels, N.K. 2007. Development and characterization of novel microsatellite markers for the common earthworm (*Lumbricus terrestris* L.). *Molecular Ecology Notes*. 7: 1060-1062.
- Vekemans, X. 2002. AFLP-surv version 1.0. Distributed by the author. Laboratoire de Génétique et Ecologie Végétale, *Université Libre de Bruxelles*, Belgium, 16.
- Weir, B.S. y Cockerham, C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38, 1358-1370.
- Wetton, J.H., Carter, R.E., Parkin, D.T., Walters D. 1987. Demographic study of a wild House Sparrow population by DNA fingerprinting. *Nature*. 327: 147-149.
- Wolf, A.D. 2000. WolfeLab Resource en <http://www.biosci.ohio-state.edu/~awolfe/ISSR/ISSR.html>
- Workman, P. L. y Niswander, J. D. 1970. Population studies on southwestern Indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. *American Journal of Human Genetics*. 22(1), 24.
- Wright, S. 1949. The genetical structure of populations. *Annals of Human Genetics*. 15(1): 323-354.
- Wright, S. 1978. The Relation of Livestock Breeding to Theories of Evolution 1. *Journal of Animal Science*. 46(5): 1192-1200.

- Xiao, N.W., Song, Y., Ge, F., Liu, X. H. y Ou-Yang, Z. Y. 2006. Biomarkers responses of the earthworm *Eisenia fetida* to acetochlor exposure in OECD soil. *Chemosphere*. 65(6): 907-912.
- Yang, G., Wagg, C., Veresoglou, S.D., Hempel, S. y Rillig, M.C. 2018. How Soil Biota drive Ecosystem Stability. *Trend in Plant Science*. (in press). 1-11.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A. y Labuda, D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2): 176-183.