



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

# **Efecto de secuencias pastura-cultivo y del pastoreo rotativo en la diversidad, biomasa, densidad y peso corporal de las lombrices de tierra**

Máximo Alvarez

Magíster en Ciencias Agrarias  
Opción Ciencias del Suelo

Diciembre 2023

**Efecto de secuencias pastura-cultivo  
y del pastoreo rotativo en la diversidad,  
biomasa, densidad y peso corporal de  
las lombrices de tierra**

Máximo Alvarez

Magíster en Ciencias Agrarias  
Opción Ciencias del Suelo

Diciembre 2023

## PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis aprobada por el tribunal integrado por la Dra. Carolina Leoni, el Dr. Carlos Fragoso, el Dr. Patrick Lavelle, la Dra. (Lic. Biol.) Gabriella Jorge-Escudero y el Dr. (Ing. Agr.) Gervasio Piñeiro el 8 de diciembre de 2023. Autor: Ing. Agr. Máximo Alvarez. Directora: Dra. (Lic. Biol.) Gabriella Jorge-Escudero. Codirector: Dr. (Ing. Agr.) Gervasio Piñeiro.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII)-Fondo Sectorial Innovagro, Montevideo, Uruguay, Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA). Quiero agradecer a la Comisión Académica de Estudios de Posgrado por la beca otorgada. También dedico un agradecimiento especial a los productores y administradores de los sitios donde se llevaron a cabo las colectas, y a los voluntarios que participaron en estas: Sabina Wlodek-Gravias, Valentina Calixto, Pablo Fernández-Busquets, Valentina Amespil-Sainz, Federico Alfaro y Mariana Pérez-Polanco. Agradezco a toda la comunidad de la Facultad de Agronomía por todo el apoyo brindado en todo momento.

## TABLA DE CONTENIDOS

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN .....	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
RESUMEN .....	VI
SUMMARY .....	VII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	1
2. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....	7
2.1. SITIOS Y DISEÑO DE MUESTREO .....	7
2.2. TÉCNICA DE MUESTREO.....	10
2.3. ANÁLISIS DE SUELO.....	11
2.4. BALANCE HÍDRICO Y VARIABLES CLIMÁTICAS .....	12
2.5. PROCESAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LOMBRICES .....	13
2.6. ANÁLISIS DE LOS DATOS .....	13
3. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u> .....	15
3.1. COMPOSICIÓN DE LA COMUNIDAD DE LOMBRICES .....	15
3.2. BIOMASA, DENSIDAD Y PESO CORPORAL DE LAS LOMBRICES .....	20
3.3. VARIABLES DE SUELO.....	29
3.4. BALANCE HÍDRICO Y VARIABLES CLIMÁTICAS .....	36
4. <u>CONCLUSIONES</u> .....	38
5. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	40
6. <u>ANEXOS</u> .....	50
6.1 EFFECTS OF CROPPING SEQUENCES AND ROTATIONAL GRAZING ON DIVERSITY, BIOMASS, DENSITY AND BODY WEIGHT OF EARTHWORMS.....	50

## RESUMEN

Las lombrices de tierra son catalogadas como ingenieros ecosistémicos, ya que modifican los recursos y medios de vida para otros organismos, estudios internacionales muestran que las lombrices son afectadas por el uso del suelo, pero existe poca evidencia sobre el tema en Uruguay. Se evaluaron de forma pareada cuatro usos del suelo: pastoreo rotativo versus pastoreo continuo y agricultura en fase pastura versus agricultura en fase cultivo. Se identificaron un total de 9 especies distintas de lombrices. Los resultados revelaron una baja diversidad de lombrices en los diversos usos del suelo, evidenciando valores de riqueza que oscilan entre 2 y 3 especies en sitios de pastoreo rotativo y continuo, respectivamente, entre 4 y 8 especies en fase de cultivo y entre 2 y 5 especies en fase de pastura. El índice de Shannon-Wiener varió entre 0,45 y 0,89 y entre 0,35 y 1,32 para la primera y segunda comparación de los usos del suelo, respectivamente. La biomasa de lombrices no varió entre pastoreo rotativo y continuo, pero fue significativamente mayor ( $p$ -valor  $< 0,01$ ) en fase cultivo ( $30,40 \pm 6,66 \text{ g. m}^{-2}$ ) respecto a fase pastura ( $15,60 \pm 3,34 \text{ g. m}^{-2}$ ). La densidad de lombrices fue significativamente mayor ( $p$ -valor  $< 0,0001$ ) en pastoreo rotativo ( $128,00 \pm 11,26 \text{ individuos. m}^{-2}$ ) respecto a continuo ( $65,20 \pm 6,59 \text{ individuos. m}^{-2}$ ) y en fase cultivo ( $499,00 \pm 58,70 \text{ individuos. m}^{-2}$ ) respecto a fase pastura ( $113,00 \pm 14,30 \text{ individuos. m}^{-2}$ ). El peso corporal de las lombrices fue significativamente mayor ( $p$ -valor:  $0,04$ ) en pastoreo continuo ( $0,19 \pm 0,03 \text{ g. individuo}^{-1}$ ) respecto a rotativo ( $0,12 \pm 0,02 \text{ g. individuo}^{-1}$ ) y en fase pastura ( $0,14 \pm 0,03 \text{ g. individuo}^{-1}$ ) respecto a fase cultivo ( $0,07 \pm 0,02 \text{ g. individuo}^{-1}$ ). La densidad aparente, la humedad del suelo, la relación carbono:nitrógeno, la arcilla y la capacidad de intercambio catiónico estuvieron relacionadas significativamente con la biomasa y la densidad de las lombrices de tierra.

Palabras clave: ecología, pastoreo, cultivo, agricultura, sostenibilidad

# EFFECT OF PASTURE-CROP SEQUENCES AND ROTATIONAL GRAZING ON THE DIVERSITY, BIOMASS, DENSITY, AND BODY WEIGHT OF EARTHWORMS

## SUMMARY

Earthworms are classified as ecosystem engineers, as they modify resources and livelihoods for other organisms. International studies indicate that earthworms are affected by soil use, but there is little evidence on the subject in Uruguay. Four land uses were paired for evaluation: rotational grazing vs. continuous grazing and pasture phase vs. crop phase agriculture. In total, 9 different earthworm species were found. The results revealed low earthworm diversity in various land uses, with richness values ranging between 2 and 3 species in sites of both rotational and continuous grazing, respectively. In cultivation phases, there were between 4 and 8 species, and in pasture phases, there were between 2 and 5 species. The Shannon-Wiener index varied between 0.45 and 0.89 and between 0.35 and 1.32 for the first and second land use comparisons, respectively. Earthworm biomass did not vary between rotational and continuous grazing, but was significantly higher ( $p$ -value  $< 0.01$ ) in the crop phase ( $30.40 \pm 6.66 \text{ g. m}^{-2}$ ) compared to the pasture phase ( $15.60 \pm 3.34 \text{ g. m}^{-2}$ ). Earthworm density was significantly higher ( $p$ -value  $< 0.0001$ ) in rotational ( $128.00 \pm 11.26 \text{ individuals. m}^{-2}$ ) compared to continuous grazing ( $65.20 \pm 6.59 \text{ individuals. m}^{-2}$ ) and in the crop phase ( $499.00 \pm 58.70 \text{ individuals. m}^{-2}$ ) than pasture phase ( $113.00 \pm 14.30 \text{ individuals. m}^{-2}$ ). The body weight of the earthworms was significantly higher ( $p$ -value: 0.04) in continuous ( $0.19 \pm 0.03 \text{ g. individual}^{-1}$ ) compared to rotational grazing ( $0.12 \pm 0.02 \text{ g. individual}^{-1}$ ) and in the pasture phase ( $0.14 \pm 0.03 \text{ g. individual}^{-1}$ ) compared to the crop phase ( $0.07 \pm 0.02 \text{ g. individual}^{-1}$ ). Bulk density, soil moisture, carbon:nitrogen ratio, clay content and cation exchange capacity were significantly related to earthworm biomass and density.

Keywords: ecology, grazing, cropping, agriculture, sustainability

## 1. INTRODUCCIÓN

Los ingenieros ecosistémicos son organismos que modifican directa o indirectamente los recursos para otros seres vivos del suelo (Jones et al., 1994) y tienen efectos en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Edwards, 2004). Entre estos organismos, las lombrices de tierra son de gran importancia, ya que son uno de los invertebrados del suelo con mayor biomasa en las regiones templadas (Heděnc et al., 2022). Su influencia en la mineralización de la materia orgánica, la agregación del suelo, la aireación, el drenaje y la bioturbación (Reynolds, 1994) tiene implicaciones para el crecimiento de las plantas (Edwards, 2004) y la salud del suelo (FAO et al., 2020).

Se ha observado que las lombrices promueven el crecimiento de las plantas y aumentan los rendimientos de los cultivos. Un metaanálisis reportó que las lombrices aumentaron el rendimiento de los cultivos en un 25 % y la producción de biomasa aérea en un 23 %, teniendo no solo efectos en la economía de las empresas por obtener mayores rendimientos, sino también fomentando una mayor captura de carbono al aumentar la biomasa aérea (van Groenigen et al., 2014). Por otro lado, Bedano et al. (2019) reportaron que las lombrices de tierra promueven la formación de agregados ricos en materia orgánica teniendo efectos sobre los rendimientos de cultivos, aumentando en un 57 % el rendimiento de maíz y en un 18 % el rendimiento de soja en la región pampeana de Argentina. También se ha reportado que los agregados derivados de las heces de las lombrices tienen valores significativamente más altos en carbono orgánico, nitrógeno, fósforo y capacidad de intercambio catiónico que los agregados del suelo que no han sido procesados por las lombrices (Van Groenigen et al., 2019).

Por otro lado, el uso del suelo afecta la composición y características de las comunidades de lombrices (Escudero et al., 2023, Emmerling et al., 2021, Rüdissler et al., 2020, Zerbino, 2012). El efecto del pastoreo en las lombrices depende, por ejemplo, de la presencia de leguminosas en los pastizales. Milcu



et al. (2008) reportó que en suelos con presencia de leguminosas la biomasa de lombrices era significativamente mayor en suelos sin presencia de leguminosas, probablemente asociado a residuos de buena calidad (baja relación C/N), lo que promueve la presencia de lombrices y, por lo tanto, una rápida descomposición de los restos vegetales. Schmidt et al. (2003) también reportaron que, sembrando trigo con trébol blanco, la biomasa y densidad de lombrices aumentan significativamente respecto a la misma siembra sin trébol blanco. El incorporar este tipo de leguminosas a los cultivos no solo está afectando la calidad de los recursos para las lombrices, sino que también se incrementa la cantidad de alimento para las lombrices a lo largo de las estaciones del año.

Dentro de la diversidad de especies de lombrices, también se encuentran diferencias en los nichos ecológicos que ocupan y en las funciones que cumplen (Figura 1). Bouché (1977) clasifica las lombrices en tres grupos ecológicos: las epigeas, endogeas y anécicas. Las lombrices epigeas se distinguen por su tamaño no tan grande, generalmente de 10 a 30 mm, y por su coloración, que varía de marrón rojizo en entornos de hojas caducas a tonos verdosos en ambientes herbáceos. Estas lombrices viven en la superficie del suelo, particularmente en áreas donde se acumula materia orgánica, y suelen mostrar una cierta aversión a la luz. Además, se caracterizan por su rápida maduración, alta capacidad reproductiva y tasa elevada de respiración. También tienen una respuesta rápida ante estímulos y una movilidad rápida, ya que son presa de numerosos depredadores.

Las lombrices anécicas son lombrices de tierra que viven en galerías verticales y se alimentan de hojas caídas y materia orgánica en la superficie del suelo. Tienen un tamaño considerable, que varía de 200 a 1100 mm, y, debido a su hábito de vivir en galerías subterráneas, tienen una musculatura de excavación muy desarrollada. Estas lombrices consumen materia orgánica en la superficie y la llevan a profundidades mientras extraen suelo de las profundidades y lo depositan en la superficie en forma de excrementos. Presentan una coloración oscura en la parte anterior de su cuerpo. Cuando

se alimentan en la superficie, no exponen todo su cuerpo, sino solo la parte delantera, lo que les asegura una retirada rápida en caso de peligro de depredación.

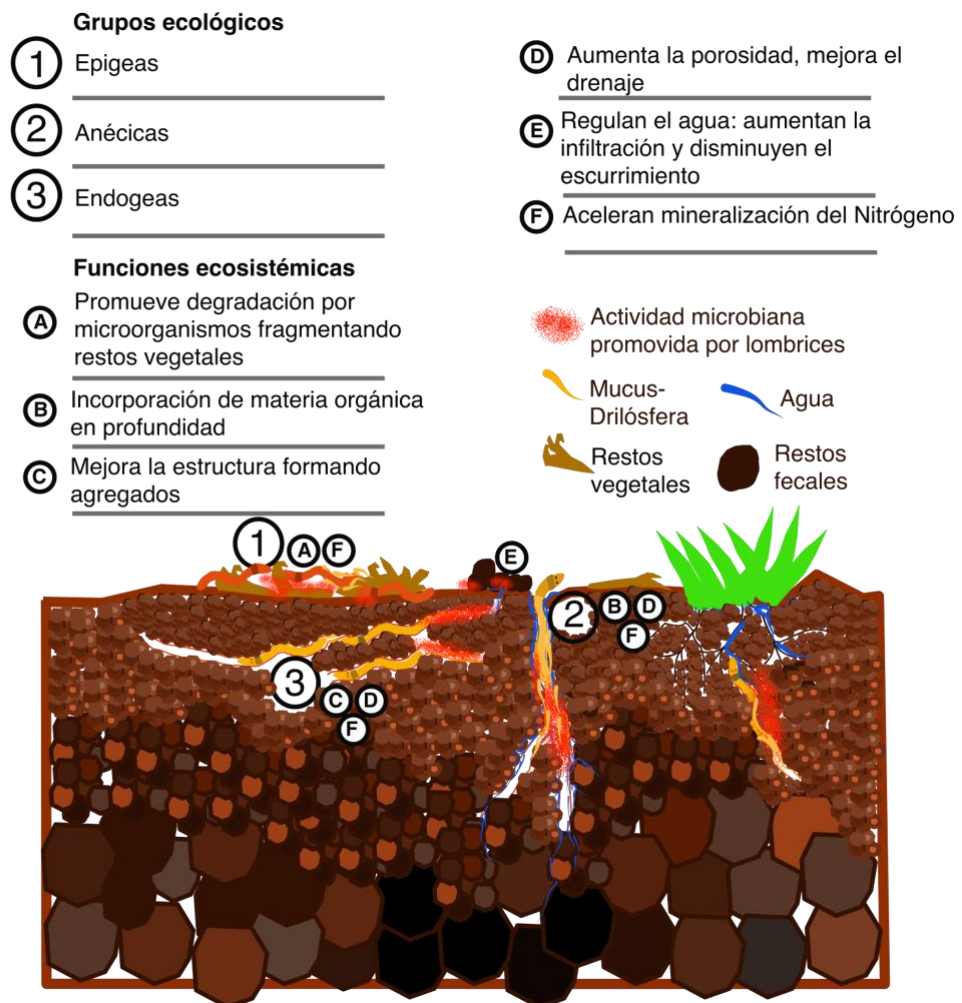


Figura 1. Grupos ecológicos de las lombrices de tierra y las principales funciones que cumplen. Fuente: Máximo Alvarez.

Las lombrices endogeas viven en galerías subterráneas y se alimentan de suelos minerales. Al tener este hábito poseen una musculatura de excavación desarrollada; no presentan pigmentación. Tienen una tasa de reproducción limitada, maduración moderada, respuesta a la irritación y baja movilidad, y son sensibles a la luz. Por su nicho ecológico tienen bajo riesgo

de depredación y de sufrir inclemencias del clima extremas. Dentro de este grupo se distinguen las especies polihúmicas, que viven en suelos con alto contenido de carbono orgánico; las mesohúmicas, que viven en suelos con contenido de carbono medio, y oligohúmicas, que viven en suelos pobres en carbono orgánico (Fragoso et al., 1999). También podemos diferenciar las endoanécicas, que se alimentan en horizontes superiores del suelo, pero sus galerías son en profundidad.

El pastoreo puede afectar el ciclo del carbono y del nitrógeno (Piñeiro et al., 2009), y estos elementos químicos están relacionados con la actividad de las lombrices. Singh et al. (2022) reportó una relación significativa entre la densidad de las lombrices y el carbono orgánico del suelo, mientras que Singh et al. (2020a) aseveran que el N es un factor edáfico que afecta la abundancia de las lombrices. Otro factor edáfico es el calcio, teniendo un papel importante en la formación de los capullos (Singh et al., 2016). Dentro de las propiedades físicas, la densidad aparente es afectada también por el pisoteo del ganado, incrementándose su efecto cuando el suelo se encuentra con contenidos de agua elevados (Cabrera et al., 2011). Todos estos factores son influenciados por el manejo que se le da a los suelos (como, por ejemplo, la fertilización), los cuales afectan a las comunidades de lombrices de tierra.

Los sistemas tecnificados de labranza reducida o nula, en comparación con la labranza, contribuyen a la mejora de la estructura del suelo, reducen las fluctuaciones en la temperatura y la humedad (Griffith et al., 1986), y aumentan la densidad de lombrices (Brown et al., 2003, Chan, 2001) al proporcionar un entorno estable para los invertebrados (Hobbs et al., 2008, Stinner y House, 1990). La humedad del suelo es la variable que más importancia cobra por el tipo de respiración que tienen las lombrices, ya que estas necesitan un entorno húmedo para poder intercambiar el oxígeno y el dióxido de carbono con el medio a través de la piel (Lee, 1985). Esto se ve reflejado en la relación entre la biomasa y la densidad de lombrices con esta variable (Singh et al., 2022).

La diversidad de cultivos tiene un impacto significativo en las variables de suelo mencionadas en el párrafo anterior (Rodríguez et al., 2020, Bartz et al., 2014, Milcu et al., 2008, Schmidt et al., 2003) porque influye en las propiedades físicas y químicas del suelo, y genera, así, un impacto sobre las lombrices (Singh et al., 2022, 2020a, 2020b, 2016, Chan y Barchia, 2007, Bisht et al., 2003). Por ejemplo, el aluminio en el suelo y los bajos contenidos de materia orgánica tienen efectos negativos en la densidad de *A. caliginosa* (Ma et al., 1990, El-Duweini y Ghabbour, 1965), y los suelos con alto contenido de materia orgánica favorecen el desarrollo de lombrices endogeicas polihúmicas (Fragoso et al., 1999). La fertilización también estimula la producción de capullos e incrementa la densidad de lombrices (Boström y Lofs-Holmin, 1986).

El pastoreo en pastizales naturales es la práctica ganadera más predominante en Uruguay, cubriendo más de 8 millones de las 16 millones de hectáreas productivas en el país. Se estima que hay casi medio millón de hectáreas de pastizales permanentes (MGAP, 2021). Desde principios de este siglo en Uruguay, la agricultura se ha expandido notablemente sobre los pastizales, donde el área agrícola pasó de tener 673.000 hectáreas a más de 1,5 millones de hectáreas (MGAP, 2015). Durante el año agrícola 2018-2019, la agricultura de siembra directa alcanzó más de 900.000 hectáreas para cultivos de soja y más de 100.000 hectáreas para el cultivo de maíz (MGAP, 2019). Para el mismo período, los principales cultivos de invierno fueron trigo (casi 200.000 hectáreas), cebada (167.000 hectáreas) y avena (25.000 hectáreas). Aunque existe vasta literatura internacional sobre los efectos del uso del suelo en las propiedades del suelo y las comunidades de lombrices, en Uruguay se han realizado pocos estudios sobre el impacto de la ganadería y la agricultura, dejando en gran medida desconocida la intensidad y dirección de sus efectos en este grupo de macrofauna del suelo.

Este estudio se llevó a cabo para entender la composición y características de las comunidades de lombrices encontradas bajo diferentes condiciones de uso del suelo en distintas localidades de Uruguay. Se

consideraron cuatro usos de la tierra de manera pareada: pastoreo rotativo pareado con pastoreo continuo, y rotaciones agrícolas donde la fase de pastura estuvo pareada con la fase de cultivo. Se estimaron la biomasa, la densidad, el peso corporal promedio y la diversidad de las comunidades de lombrices para cada uso del suelo. Además, se analizaron las relaciones entre estas variables y las propiedades físicas y químicas del suelo, con la hipótesis de que las variables descriptivas de las comunidades de lombrices serían impactadas por el uso del suelo al cual estaban sometidas. Al estimar estas variables, el objetivo de este estudio fue responder las siguientes preguntas: ¿influye el uso de la tierra en las comunidades de lombrices? Si es así, ¿afecta a la biomasa, a la densidad o a ambas? ¿Existen especies particulares de lombrices o grupos ecológicos que se afectan de modo diferencial debido al uso del suelo?

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. SITIOS Y DISEÑO DE MUESTREO

Evaluamos el impacto de diferentes usos del suelo en las comunidades de lombrices en los departamentos de Colonia, Durazno, Flores y Soriano en Uruguay (Figura 2) durante el otoño de 2021. El trabajo consistió en el análisis de sitios pareados (figura 3) los cuales tenían el mismo tipo de suelo y topografía pero diferían en el uso del suelo, estos usos estaban separados por un alambrado. Las comparaciones de los pares fueron las siguientes: 1) pastoreo rotativo versus pastoreo continuo, 2) rotación agrícola en la fase pastura versus rotación agrícola en la fase cultivo; el primero de cada par fue considerado como el uso del suelo menos intenso. La rotación agrícola son secuencias de pasturas con cultivos programadas por los productores, la fase de pastura tenía al menos 2 años de establecimiento y la fase de cultivo tenía al menos 2 años con 2 cultivos por año antes del muestreo (tabla 1). Cada par tenía 3 repeticiones (sitios). Dentro de cada sitio, en cada uso del suelo se extrajeron 6 monolitos de 25 cm de lado por 20 cm de profundidad (figura 3), cada uno representando una réplica. Los monolitos se ubicaron a 20 m de distancia entre sí, siguiendo las recomendaciones de *Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Methods* (Anderson y Ingram, 1993).

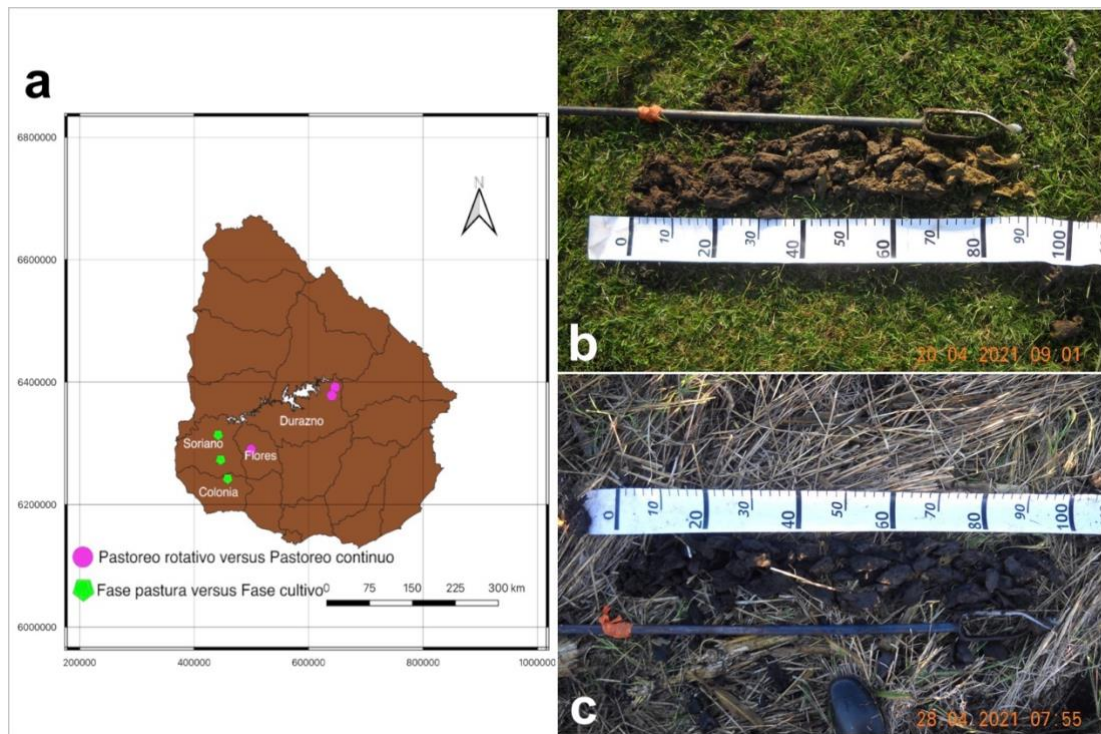


Figura 2. **A)** Ubicación geográfica del muestreo en parcelas pareadas. **B)** Perfil modal de los suelos bajos pastoreo rotativo y continuo. **C)** Perfil modal de los suelos bajo agricultura en fase pastura y en fase cultivo. Fotos: Máximo Alvarez.

Los tipos de suelos según la clasificación del Soil Taxonomy se presentan en la Tabla 1. Los sitios 1 y 2 están sobre la formación geológica Cerrezuelo, los sitios 3 y 4 sobre la formación Fray Bentos y los sitios 5 y 6 sobre Basamento Cristalino.

Tabla 1. Historia de los sitios de colecta y características de los suelos. La textura corresponde a los primeros 20 cm de suelo.

Sitio	Manejo	Historia	Ubicación	Superficie (ha)	Tipo de suelo	Unidad Carta 1:1.000.000	Textura
Sitio 1	Pastoreo rotativo	Campo natural	La Paloma (Durazno)	0,85	Rhodudults	Aparicio Saravia	Franco arcillo arenoso
	Pastoreo continuo	Campo natural		34	Rhodudults	Aparicio Saravia	Franco arcillo arenoso
Sitio 2	Pastoreo rotativo	Campo natural	La Paloma (Durazno)	2,7	Rhodudults	Aparicio Saravia	Franco arcillo arenoso
	Pastoreo continuo	Campo natural		10,4	Rhodudults	Aparicio Saravia	Franco arcillo arenoso
Sitio 3	Pastoreo rotativo	Campo natural	Trinidad (Flores)	4,14	Argiudolls	Young-Fray Bentos	Franco arcillo arenoso
	Pastoreo continuo	Campo natural		35,5	Argiudolls	Young-Fray Bentos	Franco arcillo arenoso
Sitio 4	Fase pastura	Pradera 2 años: Festuca	Cololó (Soriano)	63	Argiudolls	Bequeló	Franco arcilloso
	Fase cultivo	Soja - Cebada - Soja - Cobertura - Soja - Cebada		46	Argiudolls	Bequeló	Franco arcilloso
Sitio 5	Fase pastura	Pradera 6 años: Festuca	José Enrique Rodó (Soriano)	12,2	Argiudolls	La Carolina	Franco arcilloso
	Fase cultivo	Maíz - Trébol persa Semillero - Soja - Cobertura - Soja - Trigo - Soja - Avena		15	Argiudolls	La Carolina	Franco arcilloso
Sitio 6	Fase pastura	Pradera 3 años: Trébol blanco Zapicán - Trébol rojo 216 - Festuca Taita - Lotus San Gabriel	Cardona (Colonia)	57	Argiudolls	La Carolina-Isla Mala	Franco arcillo limoso
	Fase cultivo	Maíz - Trigo - Soja - Colza - Soja		50	Argiudolls	La Carolina-Isla Mala	Franco arcillo limoso



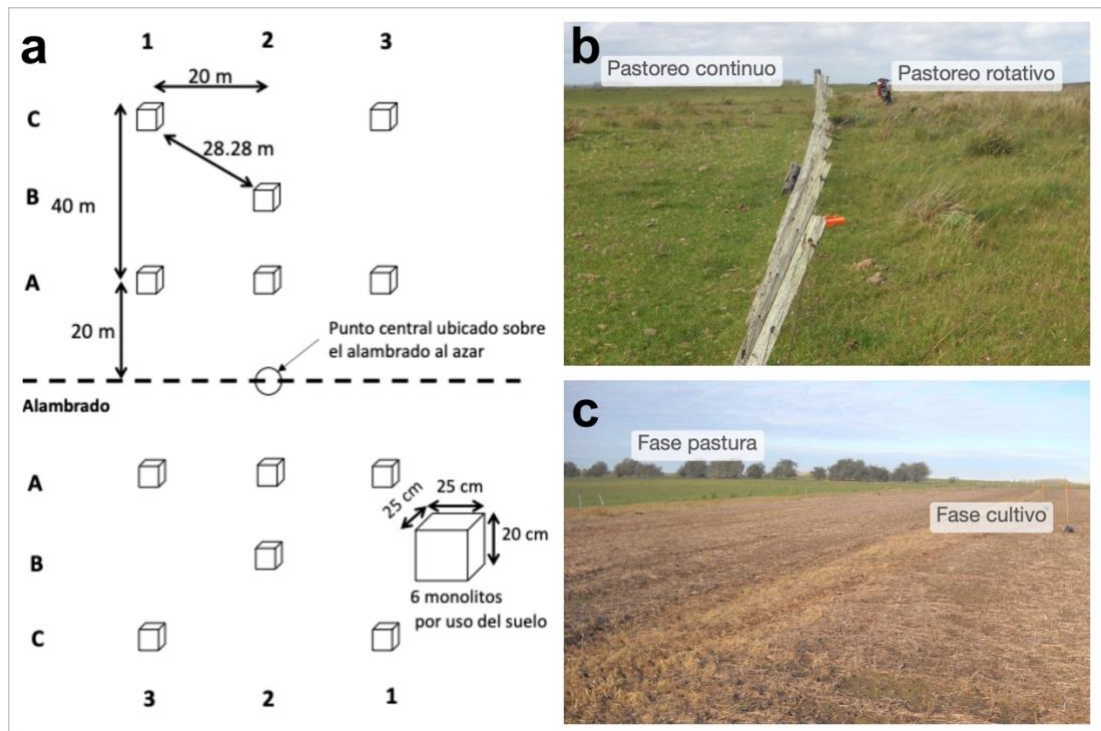


Figura 3. **A)** Diagrama de parcelas pareadas indicando la ubicación y tamaño de los monolitos. **B)** Foto de un sitio donde se comparó pastoreo rotativo versus pastoreo continuo. **C)** Foto de un sitio donde se comparó agricultura en fase pastura versus en fase cultivo. Fotos: Máximo Alvarez.

## 2.2. TÉCNICA DE MUESTREO

Antes del muestreo, el suelo se verificó con un taladro holandés en ambas parcelas para confirmar que los suelos tuvieran propiedades similares. Se evitaron perturbaciones observables y caminos de ganado. Se determinaron al azar la parcela a muestrear primero, el punto central de las parcelas y el orden de extracción de los monolitos en cada una de las parcelas. Los monolitos fueron extraídos y colocados en bolsas etiquetadas para la posterior clasificación manual de las lombrices (ISO, 2018). Las lombrices clasificadas se colocaron en frascos con agua y se anestesiaron gradualmente añadiendo alcohol al 95 % hasta alcanzar el 10 % en volumen

(Righi, 1990), después de lo cual se conservaron en alcohol al 95 % (figura 4).



Figura 4. Secuencia del procesamiento de las lombrices, desde la extracción del monolito hasta la fijación de las lombrices en alcohol. **A)** Marco y ubicación del monolito en el terreno. **B)** Extracción del monolito. **C)** y **D)** Procesamiento del monolito y extracción de las lombrices. **E)** Fijación de las lombrices. **F)** Almacenamiento de los frascos con las lombrices fijadas. Fotos **B, C, D, E:** Valentina Calixto; **A, F:** Máximo Alvarez.

### 2.3. ANÁLISIS DE SUELO

Una vez extraído el monolito, se tomó una muestra de suelo de una cara del pozo resultante para su procesamiento en laboratorio. Para los análisis químicos, las muestras se secaron a 40 °C durante 48 horas, se molieron y se generó una muestra compuesta de los 6 monolitos por parcela. La densidad aparente se midió a 1 metro de cada monolito, a fin de evitar la zona pisoteada por el muestreo. Las variables físicas y químicas medidas fueron: densidad aparente según la metodología de Dane y Topp (2002) y saturada en agua

siguiendo a García y Kaplan (1974); contenido de humedad en base húmeda: obtenido por pesaje y secado del suelo a 105 °C durante 48 horas y vueltas a pesar para obtener el valor de la masa de suelo seco, para luego calcular la relación entre la masa de agua y la masa de suelo húmedo; pH en agua (Thomas, 1996, Van Lierop, 1990); acidez intercambiable (extracción con 1 M KCl y determinación por titulación con 0,05 M NaOH); fósforo asimilable (Bray y Kurtz, 1945); Ca, Mg, K y Na, que se extrajeron con acetato de amonio 1 M tamponado a pH 7 y se determinaron por absorción atómica (Ca y Mg) y emisión (K y Na) (Isaac y Kerber, 1971) y capacidad de intercambio catiónico (CIC) resultada de la suma de las bases totales. A su vez se calculó la CIC aportada por la materia orgánica y por la arcilla, asumiendo que la materia orgánica en suelos del Uruguay aporta 200 cmol<sub>c</sub> kg<sup>-1</sup> de suelo, se calculó cuántos cmol<sub>c</sub> aporta cada suelo según su contenido de materia orgánica y luego a la CIC total (suma de bases) se le restó la CIC aportada por la materia orgánica para obtener la CIC aportada por la arcilla. En granulometría, el contenido de arcilla se calculó por el método del hidrómetro (Forsythe, 1975) después de eliminar el carbono orgánico con perhidrol, y se clasificó según la categorización del USDA (USDA, 2017). El contenido de arena se determinó mediante tamizado y pesaje, y el contenido de limo por diferencia entre arcilla y arena. El carbono orgánico se midió por el método Walkley-Black descrito por Nelson y Sommers (Nelson y Sommers, 1996) y el nitrógeno total por el método Kjeldahl, mediante digestión húmeda con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, destilación y titulación posterior (Bremner y Mulvaney, 1983), y se calculó la relación carbono:nitrógeno. Los análisis se realizaron en el laboratorio del Departamento de Suelos y Aguas de la Facultad de Agronomía (Udelar).

#### 2.4. BALANCE HÍDRICO Y VARIABLES CLIMÁTICAS

Se realizó un balance hídrico para comprender el comportamiento de las variables climáticas en la zona de muestreo. Las variables tenidas en cuenta fueron: precipitación acumulada mensual (mm), evapotranspiración acumulada mensual (mm) y el balance hídrico (mm), para el año agrícola

2020-2021. Adicionalmente al gráfico del balance hídrico se graficaron la temperatura promedio mensual (°C) a los 10 cm de profundidad, en dos situaciones: una en suelo cubierto y en otra en suelo desnudo.

La base de datos que se utilizó para realizar el balance hídrico fue la disponible en el portal de INIA GRAS correspondiente a la estación La Estanzuela, ubicada en el departamento de Colonia.

## 2.5. PROCESAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LOMBRICES

La biomasa de lombrices por monolito se midió después de ser fijada en alcohol al 95 %, registrándose al mismo tiempo la densidad de lombrices con la identificación taxonómica. Los especímenes fueron reconocidos como juveniles, subadultos y adultos. Las lombrices clasificadas como subadultos eran aquellas con presencia de poros masculinos, pero sin clitelo o con un clitelo parcialmente desarrollado. Se categorizaron por familia en función de la posición de estos poros. Los subadultos y adultos fueron identificados taxonómicamente hasta el nivel de género y especie, respectivamente, utilizando claves (Sherlock, 2018, Reynolds, 1996, Righi, 1979) y la lista compilada por Grosso y Brown (2007). Además, las especies se clasificaron en los grupos ecológicos propuestos por Capowiez et al. (2024) y por Bouché (1977) en función de bibliografía disponible (Rüdisser et al., 2020, van Capelle et al., 2016, Herrera y Mischis, 2007, Rätty, 2004, Lavelle et al., 1999). A su vez, a las especies se las clasificaron en nativas y exóticas.

## 2.6. ANÁLISIS DE LOS DATOS

La biomasa ( $\text{g. m}^{-2}$ ), densidad ( $\text{individuos. m}^{-2}$ ) y peso corporal ( $\text{g. individuo}^{-1}$ ) de las lombrices se modelaron linealmente en relación con el uso del suelo, así como también la riqueza, el índice de Shannon-Wiener (Shannon y Wiener, 1949), el índice de Simpson (Simpson, 1949) y la equitatividad (Zar, 2010). Las variables del suelo también se modelaron linealmente y se correlacionaron con la biomasa, la densidad y el peso corporal de las lombrices utilizando la correlación de Pearson para los cuatro






















usos combinados de la tierra. Se relacionaron las matrices de biomasa, densidad y peso corporal de las lombrices con la matriz de las variables edáficas utilizando un análisis de coinerencia. Se calculó la capacidad de intercambio catiónico aportada por la materia orgánica y por la arcilla de forma separada. Para relacionar las variables edáficas con las formaciones geológicas, se realizó un análisis de clusters para explorar diferencias entre las formaciones. El software utilizado fue R Studio (R. R Core Team, 2023), versión 2023.03.0+386, y las bibliotecas empleadas fueron: la biblioteca lme4 para la modelación de las variables, «ggplot2» para la creación de gráficos, «BiodiversityR» para el cálculo de índices de diversidad, «PerformanceAnalytics» para realizar correlaciones, «factoextra» para llevar a cabo el análisis de componentes principales (PCA) y el análisis de cluster, y la librería «ade4» para realizar el análisis de Co-inerencia.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN





#### 3.1. COMPOSICIÓN DE LA COMUNIDAD DE LOMBRICES

En los muestreos realizados en los usos del suelo pastoreo rotativo y continuo y agricultura en fase pastura y cultivo, ubicados en los departamentos de Colonia, Durazno, Flores y Soriano, se colectaron un total de nueve especies diferentes: *Aporrectodea caliginosa* (Savigny, 1826), *A. trapezoides* (Dugès, 1828), *A. rosea* (Savigny, 1826), *Eukerria saltensis* (Beddard, 1895), *Glossoscolex bonariensis* (Cordero, 1942), *Microscolex dubius* (Fletcher, 1887), *Mi. phosphoreus* (Dugès, 1837), *Murchieona minuscula* (Rosa, 1905) y *Octolasion cyaneum* (Savigny, 1826). Las lombrices subadultas recolectadas pertenecían a las familias Glossoscolecidae, Lumbricidae y Ocnerodrilidae, y a los géneros *Eukerria* sp., *Octolasion* sp y *Kerriona* sp., esta última con especímenes adultos clasificados como una especie nativa potencial (Tabla 2). Cabe mencionar que la identificación de las lombrices juveniles y subadultas fueron hechas con claves en función de caracteres taxonómicos, sería recomendable realizar un análisis de ADN y poder identificarlas y así poder realizar un análisis más robusto, podría suceder que lombrices subadultas catalogadas por ejemplo, como *Glossoscolex* sp. pertenezcan a otras especies de *Glossoscolex* (diferentes a *G. bonariensis*) y los resultados cambiarían sustancialmente.

Tabla 2. Especies de lombrices colectadas en función del uso del suelo, origen y grupo ecológico.

Uso del suelo	Especie	Uso del suelo	Grupo ecológico
	<i>Aporrectodea caliginosa</i> E		Endogea mesohúmica/escavadora
	<i>A. trapezoides</i> E		Endogea mesohúmica
	<i>A. rosea</i> E		Endogea mesohúmica/intermedia
	<i>Eukerria saltensis</i> N		Endogea polihúmica
	<i>Glossoscolex bonariensis</i> N		Endoanécica
	<i>Microscolex dubius</i> N		Epiendogea/ intermedia
	<i>Mi. phosphoreus</i> N		Endogea polihúmica/ bioturbador superficial
	<i>Murchieona minuscula</i> E		Endogea
	<i>Octolasion cyaneum</i> E		Endogea mesohúmica/ bioturbador profundo
	<i>Eukerria</i> sp.		
	<i>Kerriona</i> sp.		
	<i>Glossoscolex</i> sp.		
	Lumbricidae sp.		
	Ocnerodrilidae sp.		
	<i>Octolasion</i> sp.		

Significado de usos del suelo	
	Pastoreo rotativo
	Pastoreo continuo
	Agricultura en fase de pastura
	Agricultura en fase de cultivo

Se encontró una tendencia a un mayor número de especies en la fase de cultivo respecto a fase pastura (aunque no significativo,  $p$ -valor  $< 0,20$ ), a pesar de que la fase de cultivo implica un uso del suelo más intenso (Tabla 3). En un estudio realizado en el sur y litoral oeste de Uruguay (Ligrone et al., 2024), tampoco se encontraron diferencias significativas entre usos del suelo, aunque la dirección de la tendencia fue la opuesta a la que encontramos, ya que el uso menos intenso fue campo natural (con una tendencia a mayor riqueza de especies) y la comparación fue con rotaciones agrícolas de uso más intenso. En las pampas argentinas, por su parte, se reportaron resultados en los que suelos con usos menos intensos presentaban significativamente mayor número de especies que los suelos agrícolas (Escudero et al., 2023).

Los usos del suelo en este estudio presentaron valores de índices de diversidad dentro de los rangos reportados en otros sitios del Uruguay (Ligrone et al. 2024, Jorge-Escudero, 2018) y para otras regiones del mundo (Rüdissler et al., 2020, Mcinga et al., 2020, Bartz et al., 2014, Crittenden et al., 2014), sin diferencias significativas entre usos del suelo. Valores de uniformidad cercanos a cero indican la dominancia de una o muy pocas especies (Momo et al., 2023); en este estudio se reportan valores intermedios (Tabla 3), indicando que hay cierta dominancia de algunas especies, pero no de una en particular.

Tabla 3. Promedio y error estándar estimados con los modelos lineales generalizados mixtos para la riqueza, índice de Shannon- Wiener, índice de Simpson e índice de equidad, biomasa (g. m<sup>-2</sup>) (biomasa de lombrices fijadas en alcohol 95 %), densidad (individuos. m<sup>-2</sup>) y peso corporal (g. individuo<sup>-1</sup>) de lombrices en pastoreo rotativo, pastoreo continuo, fase de pasto y fase de cultivo.

Variable	Pastoreo rotativo	Pastoreo continuo	p-valor	Fase pastura	Fase cultivo	p-valor
Riqueza	2,67 ± 0,94	2,33 ± 0,88	0,80	3,67 ± 1,11	6,00 ± 1,41	0,20
Índice de Shannon-Wiener	0,72 ± 0,15	0,60 ± 0,12	0,28	0,99 ± 0,26	0,99 ± 2,26	0,98
Índice de Simpson	0,43 ± 0,08	0,38 ± 0,07	0,47	0,53 ± 0,14	0,48 ± 0,13	0,79
Índice de Equitatividad	0,26 ± 0,05	0,22 ± 0,04	0,29	0,37 ± 0,09	0,37 ± 0,09	0,98
Biomasa (g. m <sup>-2</sup> )	15,00 ± 2,41	11,20 ± 1,78	0,13	15,60 ± 3,34	30,40 ± 6,66	<b>0,01</b>
Densidad (individuos. m <sup>-2</sup> )	128,00 ± 11,26	65,20 ± 6,59	<b>0,000</b>	113,00 ± 14,30	499 ± 58,70	<b>0,000</b>
Peso corporal (g. individuo <sup>-1</sup> )	0,12 ± 0,02	0,19 ± 0,03	<b>0,04</b>	0,14 ± 0,03	0,07 ± 0,02	<b>0,04</b>

Diferencias significativas se muestran en **negrita** (p < 0,05).

Las especies colectadas fueron clasificadas en 5 grupos ecológicos según Bouché (1977): endoanécica (*G. bonariensis*), endogea (*Mu. minuscula*), endogea polihúmica (*E. saltensis*, *Mi. phosphoreus*), endogea mesohúmico (*A. caliginosa*, *A. rosea*, *A. trapezoides*, *O. cyaneum*) y epiendogea (*Mi. dubius*) (Rüdissler et al., 2020, van Capelle et al., 2016,



Herrera y Mischis, 2007, Rätty, 2004, Lavelle et al., 1999). La especie endoanécica (*G. bonariensis*) se alimenta de residuos vegetales y del suelo. La presencia de lombrices endogeas polihúmicas indica suelos ricos en carbono, mientras que las endogea mesohúmicas indican suelos con contenido de carbono moderado (Lavelle et al., 1999). En este estudio, se encontraron juntas las lombrices endogeas polihúmicas y mesohúmicas, pero en los sitios con mayor contenido de carbono orgánico. Las lombrices mesohúmicas se recolectaron principalmente en la fase de cultivo, junto con la especie polihúmica *E. saltensis* y *Mi. phosphoreus*, con rangos de contenido de carbono para la fase de cultivo de 2,74 % y 2,87 %. La ausencia de lombrices epigeas y anécicas podría sugerir que no hay acumulación de residuos vegetales en la superficie del suelo, probablemente porque no son sistemas forestales donde se genera un horizonte O. Sin embargo, durante la fase de cultivo, generalmente hay una acumulación de residuos en la superficie del suelo y podría ser una oportunidad de estimular la presencia de lombrices anécicas en el suelo. A pesar de esto, parece que no hay especies de lombrices epigeas y anécicas especializadas en alimentarse de estos residuos y en nuestros ecosistemas dominarían las especies endogeas (Fragoso y Lavelle, 1995).

Los resultados del PCA realizado con las densidades de lombrices y utilizando el uso del suelo como índice de asociación revelaron una superposición entre los dos sistemas de pastoreo, rotativo y continuo, lo que sugiere similitudes en la composición de especies de lombrices en estos sistemas (figura 5A-B). Por otro lado, la fase pastura mostró una superposición parcial con los sistemas de pastoreo, y la elipse de la fase de cultivo mostró una separación ( $p$ -valor < 0,05) de los otros usos (figura 5A-C). La elipse correspondiente a la fase de pastura (figura 5A) es más grande que las elipses para el pastoreo rotativo y continuo, lo que sugiere una mayor variabilidad en la composición de las especies de lombrices en este sistema. Con respecto a la fase cultivo, la clara separación de los otros sistemas de uso del suelo y su ubicación indican una composición de especies de

lombrices diferente a la de los sistemas de pastoreo (figura 5A-C). En la fase de cultivo, se observa la presencia de varias especies, incluidas las especies exóticas *A. caliginosa*, *A. trapezoides*, *O. cyaneum* y las especies nativas *Mi. phosphoreus*, *E. saltensis*, y *Ocnerodrilidae sp.*, estas últimas de pequeño tamaño corporal.

En los sitios 1 y 2 de pastoreo rotativo y continuo, las especies colectadas fueron *G. bonariensis*, *Glossoscolex sp.*, *Eukerria sp.* y *Octolasion sp.* (figura 5B). En estos sitios, los más alejados de centros poblados, donde el tráfico de maquinaria es mínimo, lo que potencialmente evita la invasión de especies exóticas (Cameron et al., 2007). el género nativo *Glossoscolex sp.* prevaleció. Solo se colectó un solo individuo exótico del género *Octolasion sp.* en uno de estos sitios.

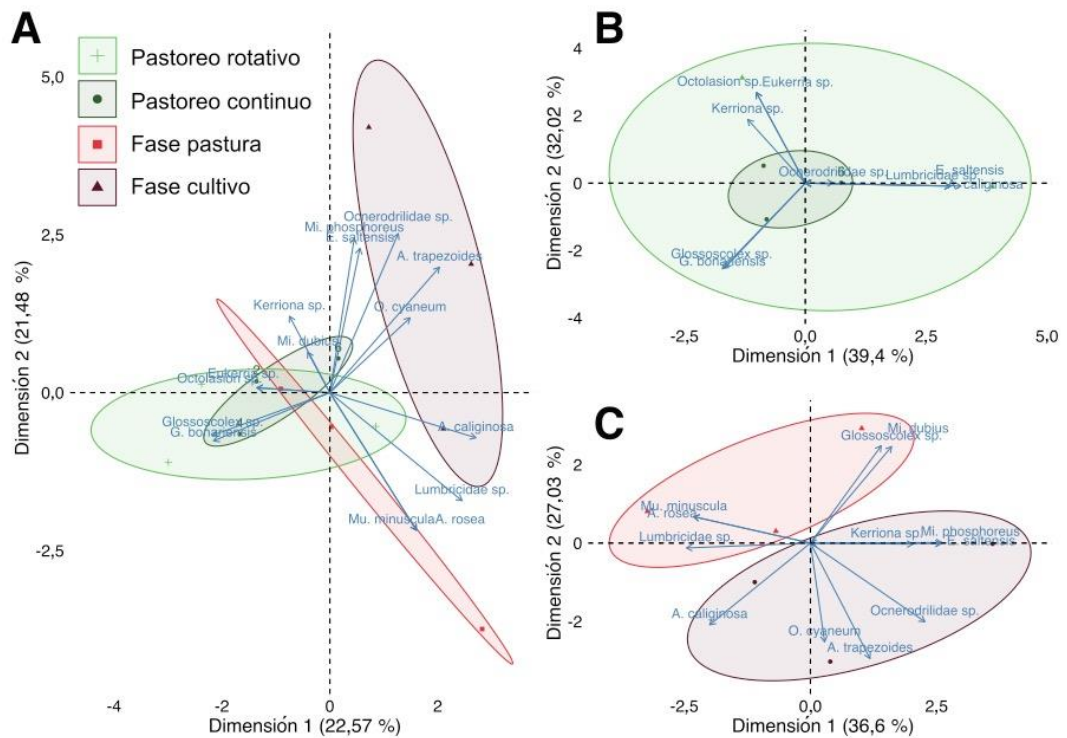


Figura 5. Análisis de componentes principales (PCA) para especies de lombrices basado en el uso del suelo. **A:** PCA para pastoreo rotativo, pastoreo continuo, fase de pastura y fase de cultivo. **B:** PCA para pastoreo rotativo y pastoreo continuo. **C:** PCA para fase de pastura y fase cultivo. Elipses separadas con  $p$ -valor  $< 0,05$ .

### 3.2. BIOMASA, DENSIDAD Y PESO CORPORAL DE LAS LOMBRICES

Nuestros resultados muestran que la biomasa, la densidad y el peso corporal variaron según el uso del suelo, pero no se observó un patrón claro de disminución según la intensidad del uso del suelo. En la comparación fase pastura y fase cultivo, se observó una menor biomasa (de aquí en adelante, biomasa fijada en alcohol 95 %) en la fase pastura en comparación con la de cultivos ( $p$ -valor  $< 0,01$ , Tabla 3). En particular, se observó que la biomasa de las lombrices juveniles en la fase de cultivo era, en promedio, el doble que en la fase de pastura (figura 6A). Además, la biomasa promedio de las lombrices adultas en la fase de cultivo también fue mayor que en la fase pastura, aunque

esta diferencia no resultó ser estadísticamente significativa (figura 6A). En la comparación pastoreo rotativo y pastoreo continuo, la biomasa total de lombrices tendió a ser mayor en el pastoreo rotativo (aunque marginalmente significativa p-valor < 0,13), pero varió según las tres etapas de desarrollo de las lombrices. Se observó una clara tendencia a un mayor valor promedio de biomasa en las lombrices juveniles y subadultas en el pastoreo rotativo (figura 6A).

Si analizamos la biomasa por especies colectadas en pastoreo rotativo y continuo, que incluyen: *G. bonariensis*, *Glossoscolex sp.*, *Kerriona sp.* y *A. caliginosa*, solo *Glossoscolex sp.* mostró diferencias significativas en esta variable, siendo mayor en pastoreo rotativo (A). En cuanto a la fase pastura y la fase cultivo, las especies presentes en ambos usos del suelo fueron: *Glossoscolex sp.*, *Kerriona sp.*, *A. caliginosa*, *Lumbricidae sp.*, *Mi. dubius* y *Mi. phosphoreus*. La biomasa de *Mi. phosphoreus* fue significativamente mayor en la fase cultivo, y la biomasa de *Mi. dubius* fue significativamente mayor en fase pastura, mientras que no se detectaron diferencias significativas para las demás especies (A).

Se observó una densidad y biomasa de lombrices significativamente mayor (p-valor < 0,0001; 0,01 respectivamente) en la fase cultivo en comparación con la fase pastura. Esto se puede atribuir a las diferencias en la composición florística de las pasturas en los tres sitios. Se observó que solo una de las pasturas estaba compuesta por leguminosas además de gramíneas, y precisamente esta pastura presentó el valor de biomasa de lombrices más alto en comparación con las otras dos pasturas evaluadas. Se espera que en los sistemas que incluyan leguminosas los valores de biomasa de lombrices sean más altos que en los sistemas que no la incluyen, ya que se ha demostrado que las leguminosas promueven el crecimiento y la biomasa de las lombrices de tierra (Milcu et al., 2008, Schmidt et al., 2003). Un estudio realizado en el este de Uruguay reportó que las pasturas permanentes compuestas por *T. repens* (leguminosa), *L. corniculatus* (leguminosa) y *L. multiflorum* (gramínea) presentaron valores de biomasa de

lombrices más altos que los sistemas de cultivo, similares a los analizados en el presente estudio, donde se sembraron dos cultivos por año (Zerbino, 2007). Otro estudio en la pampa argentina también reportó que el uso de la tierra con la mayor biomasa de lombrices era la pastura compuesta por leguminosas y gramíneas (Rodríguez et al., 2020).

La densidad de lombrices fue mayor en fase cultivo respecto a fase pastura; este patrón también fue observado en la región litoral oeste y norte del país (Jorge-Escudero, 2018, Zerbino, 2012, Zerbino et al., 2006), así como en países vecinos: en las pampas (Falco et al., 2015) y en la región de Paraná (Brown et al., 2003). Una explicación para encontrar densidades más altas en un uso del suelo más intenso es que la fase de cultivo utiliza fertilizantes, y la fertilización estimula la producción de capullos y aumenta la densidad de lombrices (Boström y Lofs-Holmin, 1986).

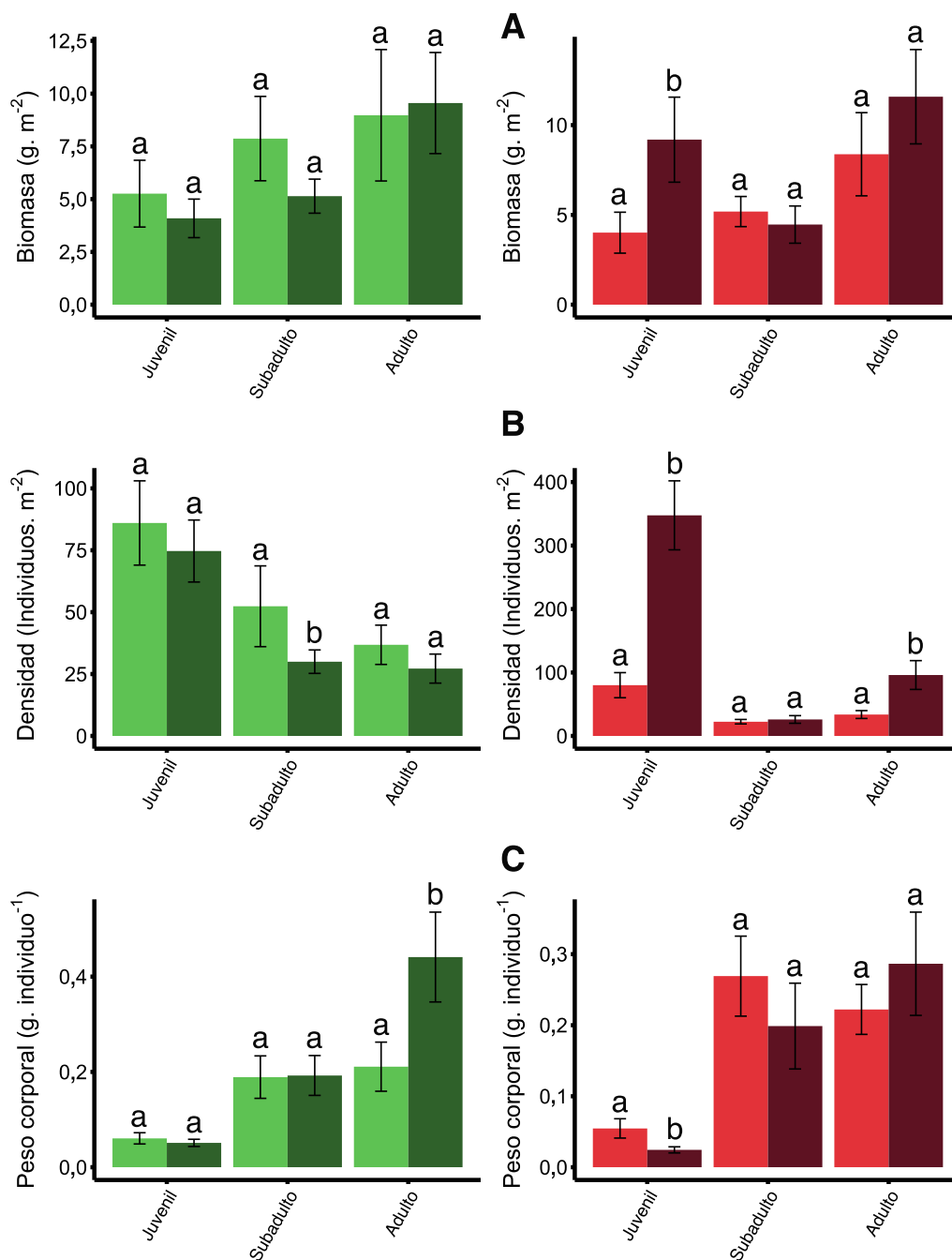


Figura 6. **A)** Media y error estándar para la biomasa de lombrices fijadas en alcohol 95 % (g. m<sup>-2</sup>), **B)** densidad (individuos. m<sup>-2</sup>) y **C)** peso corporal (g. individuo<sup>-1</sup>) de las lombrices según las etapas de desarrollo en relación con el pastoreo rotativo, el pastoreo continuo, la fase de pastura y la fase de cultivo.

Otra posible explicación para la mayor densidad y biomasa en la fase cultivo en comparación con la fase de pastura puede ser la cantidad de residuos de cultivo que queda después de una cosecha. Los residuos de cultivo son una fuente significativa de materia orgánica para este sistema, lo que resulta en una mayor abundancia en los sistemas agrícolas que en los sistemas de pastoreo. Las lombrices de tierra se benefician de la presencia de este recurso, ya que el residuo mejora su actividad, mientras que, en las pasturas, la vegetación es cosechada por el ganado, lo que disminuye los recursos disponibles para su reproducción (Zerbino, 2012, Pelosi et al., 2009, Emmerling, 2001). Además, en los sistemas de rotación agrícola en sistemas de cero laboreo, los residuos de cultivo evitan la evaporación del agua, conservando la humedad del suelo, que es un factor clave para el desarrollo de las lombrices de tierra (Singh et al., 2016, Bisht et al., 2003, Griffith et al., 1986); de hecho, la humedad en este estudio fue significativamente mayor ( $p$ -valor  $< 0,01$ ) en fase cultivo respecto a fase pastura (tabla 4).

Aunque la densidad de lombrices en el pastoreo rotativo fue significativamente mayor ( $p$ -valor  $< 0,0001$ ) a la del pastoreo continuo en campo natural, ambas fueron inferiores a la densidad reportada para campo natural de la región sur de Uruguay (Grosso et al., 2006), pero similares a los reportados para campo natural de la región este (Zerbino et al., 2006). Una posible explicación para estos bajos valores de densidad podría estar relacionada con el alto porcentaje de arena, con texturas franco arenosas y franco arcillo arenosas, valores de pH ácidos, presencia de acidez intercambiable y bajos valores de carbono orgánico (Tabla 4), ya que el bajo contenido de carbono orgánico y el pH bajo pueden afectar el desarrollo de las lombrices de tierra (Cesarz et al., 2016, Curry y Schmidt, 2007, Ma et al., 1990). En particular, para *A. caliginosa* se ha reportado que estas variables afectan negativamente su densidad (El-Duweini y Ghabbour, 1965), y justamente esta especie no se colectó en los sitios 1 y 2, donde el carbono orgánico estuvo entre 1,41 % y 1,6 % y el pH estuvo entre 4,95 y 5,50. La figura 8 muestra que solo las lombrices nativas del género *Glossoscolex* sp.

son las que se desarrollan en este tipo de condiciones. Los suelos de pastizales naturales muestreados en el presente estudio se caracterizaron por tener propiedades físico-químicas similares a las descritas, mientras que un muestreo en las regiones sur y litoral oeste del país, donde los suelos se caracterizan por mayores contenidos de arcilla (promedios de 30 % y 34 %), ausencia de acidez intercambiable (pH promedios 5,67 y 5,95) y valores más altos de carbono orgánico (promedios de 2,20 y 3,27), reportaron densidades de 170 individuos.  $m^{-2}$  (Ligrone et al. 2024). En Costa Rica, en suelos ácidos (pH 5,9), un estudio reportó un promedio de 170 individuos.  $m^{-2}$  en potreros con pastoreo rotativo y un peso promedio de 0,34 g.  $m^{-2}$  por individuo (Boschini-Figueroa et al., 2009); en el presente trabajo, la densidad promedio en los potreros de pastoreo rotativo fue de 210 individuos.  $m^{-2}$  y el peso promedio fue de 0,17 g  $m^{-2}$ .

La densidad de juveniles y adultos fue significativamente mayor en fase cultivo respecto a fase pastura (figura 6B); en pastoreo rotativo y continuo no se observaron diferencias para los tres estados de desarrollo. Si analizamos las especies colectadas, vemos que solo la densidad de *Glossoscolex* sp. fue significativamente mayor en pastoreo rotativo y hay una clara tendencia a que la densidad de *Kerriona* sp. sea mayor en pastoreo continuo respecto a rotativo. En fase pastura y cultivo se observaron diferencias significativas en la especie *Mi. phosphoreus*, siendo 16 veces mayor en fase cultivo respecto a fase pastura (B), esta especie tuvo una densidad promedio en el sitio 4 de 290 individuos  $m^{-2}$ , con un desvío estandar de 124 individuos, no se observó en el área muestreada un patrón de agregación en la densidad de esta especie, tampoco se encontró una relación entre la densidad de individuos y variables edáficas, sería recomendable realizar otros tipos de análisis de suelo, analizando micronutrientes, agroquímicos y temperatura para poder encontrar una explicación a la alta densidad en el sitio 4 de esta especie.

Si analizamos las especies colectadas, *G. bonariensis*, *Glossoscolex* sp., y *A. caliginosa* tuvieron un peso corporal mayor en pastoreo continuo respecto a rotativo y *Kerriona* sp. tuvo un peso corporal mayor en pastoreo



rotativo respecto a continuo, mientras que en fase pastura y cultivo *Glossoscolex* sp. y *Mi. dubius* tuvieron un peso corporal mayor en fase pastura respecto a fase cultivo, todas estas diferencias fueron estadísticamente significativas. *A. caliginosa*, Lumbricidae sp. y *Mi. phosphoreus* no presentaron diferencias significativas entre ambos usos del suelo, (C).

Los estudios anteriores demuestran que los pastizales generalmente tienen valores más altos de biomasa y densidad de lombrices en comparación con los sistemas agrícolas que incluyen sistemas de labranza. La labranza convencional (roturación del suelo) tiene un efecto negativo en la biodiversidad de las lombrices de tierra, al causarles daño y exponerlas a la depredación (Giller et al., 1997), y al reducir la humedad y el contenido de nutrientes del suelo (Ashworth et al., 2017, Johnston et al., 2015).

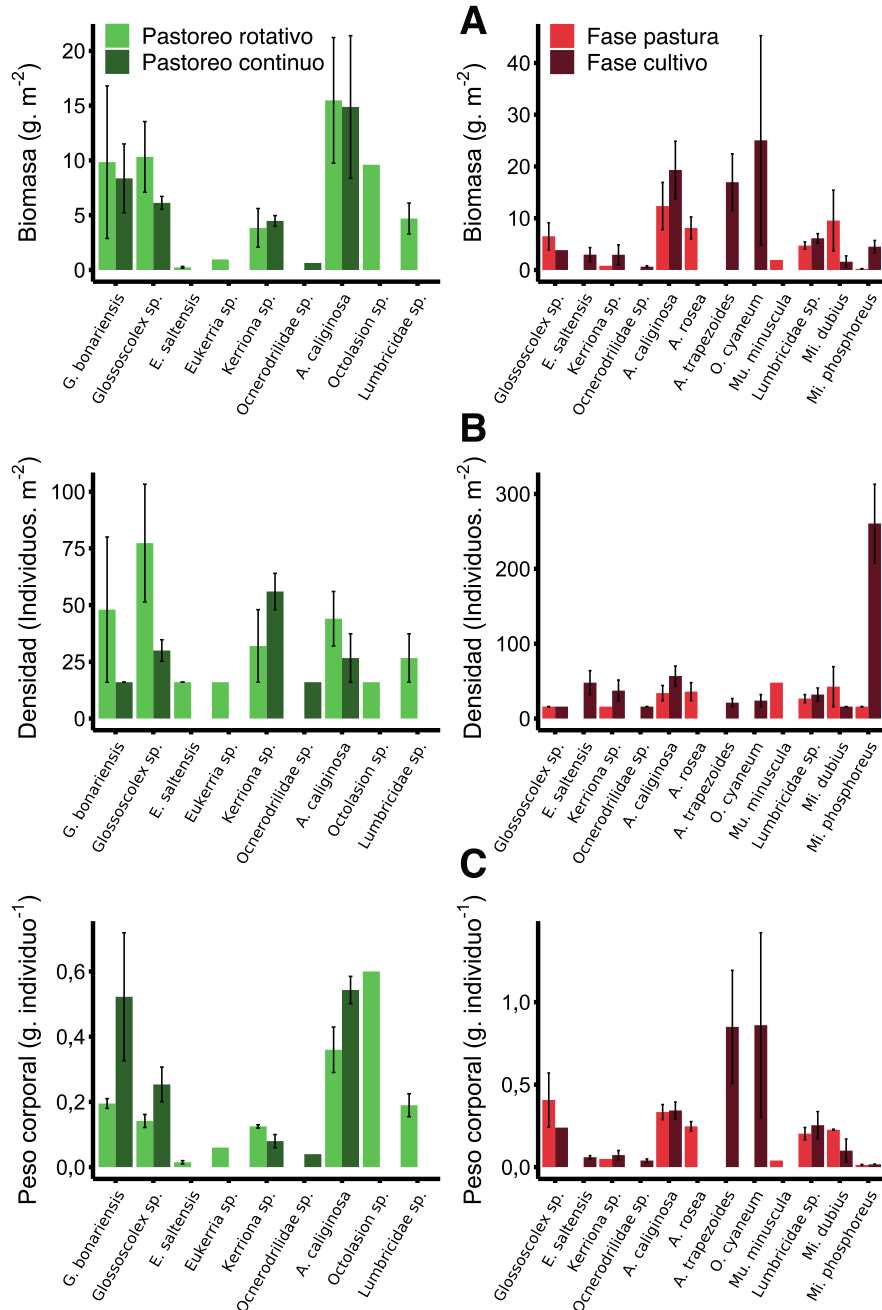


Figura 7. Media y error estándar para **(A)** biomasa de lombrices fijadas en alcohol 95 %, **(B)** densidad (individuos. m<sup>-2</sup>) y **(C)** peso corporal (g. individuo<sup>-1</sup>) de las lombrices según la especie en relación con el pastoreo rotativo, el pastoreo continuo, la fase pastura y la fase cultivo. Barras sin error estándar representan especies que fueron recolectadas solo una vez en ese uso del suelo.

Tabla 4. Media y error estándar estimados con los modelos lineales generalizados mixtos para las variables del suelo en pastoreo rotativo, pastoreo continuo, fase pastura y fase cultivo. Carbono orgánico del suelo (COS), nitrógeno total (NT), relación carbono/nitrógeno (C:N), fósforo Bray 1 (P Bray 1), calcio (Ca), magnesio (Mg), potasio (K), sodio (Na), aluminio intercambiable (Al), capacidad de intercambio catiónico (CIC), pH (pH H<sub>2</sub>O), arena, limo, arcilla, contenido de humedad-peso húmedo (HV), densidad aparente (DA).

Variable	Pastoreo rotativo	Pastoreo continuo	p-valor	Fase pastura	Fase cultivo	p-valor
COS (%)	1,76 ± 0,28	1,87 ± 0,30	0,09	3,20 ± 0,07	2,8 ± 0,06	<b>0,000</b>
NT (%)	0,14 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,78	0,24 ± 0,01	0,23 ± 0,01	<b>0,002</b>
C:N (%)	12,80 ± 0,53	13,7 ± 0,57	<b>0,01</b>	13,20 ± 0,82	11,80 ± 0,74	<b>0,000</b>
P Bray 1 (ppm)	2,98 ± 1,02	1,92 ± 0,65	0,06	13,30 ± 1,89	12,00 ± 1,68	0,55
Ca (cmol <sub>c</sub> . kg)	3,05 ± 2,21	2,67 ± 1,94	0,19	13,50 ± 2,01	15,8 ± 2,35	<b>0,03</b>
Mg (cmol <sub>c</sub> kg)	1,39 ± 0,71	1,21 ± 0,62	<b>0,003</b>	3,12 ± 0,60	3,44 ± 0,66	<b>0,000</b>
K (cmol <sub>c</sub> . kg)	0,31 ± 0,05	0,26 ± 0,04	<b>0,000</b>	0,42 ± 0,04	0,52 ± 0,05	<b>0,000</b>
Na (cmol <sub>c</sub> .kg)	0,27 ± 0,11	0,25 ± 0,10	0,44	0,44 ± 0,06	0,38 ± 0,06	0,06
Al (cmol <sub>c</sub> .kg)	0,21 ± 0,28	0,27 ± 0,32	0,87	0	0	
CIC (cmol <sub>c</sub> .kg)	5,80 ± 0,16	5,51 ± 0,11	<b>0,004</b>	17,60 ± 2,52	20,30 ± 2,91	<b>0,02</b>
pH	5,40 ± 0,21 ±	5,32 ± 0,21	<b>0,007</b>	5,53 ± 0,13	5,46 ± 0,13	0,69
Arena (%)	59,30 ± 5,34	58,90 ± 5,30	0,68	23,00 ± 3,93	24,20 ± 4,13	0,61
Limo (%)	10,17 ± 5,27	8,53 ± 4,43	0,47	43,80 ± 3,81	40,00 ± 3,48	<b>0,002</b>
Arcilla (%)	28,40 ± 0,73	28,80 ± 0,74	0,10	32,00 ± 1,60	35,00 ± 1,74	0,07
HV (%)	17,7 ± 2,01	17,4 ± 1,98	<b>0,03</b>	20,70 ± 0,46	22,40 ± 0,50	<b>0,01</b>
DA (g. cm <sup>-3</sup> )	1,28 ± 0,04	1,31 ± 0,04	0,25	1,21 ± 0,04	1,13 ± 0,03	<b>0,03</b>

Diferencias significativas se muestran en **negrita** (p < 0,05).

### 3.3. VARIABLES DE SUELO

Cuando las variables edáficas fueron modeladas linealmente, se observaron diferencias significativas entre los pares de usos del suelo en diversas variables (Tabla 4). Se observó que la densidad aparente del suelo fue mayor ( $p$ -valor  $< 0,03$ ) y la humedad del suelo menor ( $p$ -valor  $< 0,01$ ) en la fase pastura en comparación con la fase cultivo (Tabla 4), siendo el pastoreo un factor que esté afectando el patrón demográfico de las lombrices. Mientras que, en la comparación pastoreo rotativo y continuo, la humedad fue mayor ( $p$ -valor  $< 0,03$ ) en pastoreo rotativo. Los suelos con alta densidad aparente y baja humedad, como los encontrados en la fase pastura, mostraron una menor densidad y biomasa de lombrices en comparación con los suelos con baja densidad aparente y alta humedad, como se observó en la fase cultivo. Estos hallazgos concuerdan con los informes anteriores sobre la densidad aparente (Chan y Barchia, 2007) y sobre la humedad (Mcinga et al., 2020, Singh et al., 2020a, 2020b, Chan y Barchia, 2007, Bisht et al., 2003).

Si bien varios estudios informan que el carbono orgánico influye positivamente en la densidad y la biomasa de las lombrices de tierra (Singh et al., 2022, 2020a, Mcinga et al., 2020, Singh et al., 2016, Bisht et al., 2003), en el presente trabajo estas variables mostraron un comportamiento independiente del contenido de carbono orgánico del suelo (tabla 5). Un estudio realizado en pastizales permanentes y suelos cultivables reportó también este comportamiento entre la biomasa y la densidad de lombrices con el carbono orgánico (Kanianska et al., 2016). Se obtuvieron resultados similares por parte de Chan y Barcia (2007). El COS no tuvo relación con la biomasa y densidad de lombrices, pero sería recomendable realizar un análisis de fraccionamiento del carbono y estudiar las relaciones de la materia orgánica particulada y la materia orgánica asociada a la fracción mineral por separado y así poder encontrar y entender los efectos de cada fracción sobre las variables descriptivas de la comunidad de lombrices.

En cuanto a la variable relación carbono:nitrógeno, se encontró una correlación negativa ( $p < 0,05$ ) con la densidad de lombrices de tierra, siendo

los valores de esta variable mayores en pastoreo continuo y fase pastura respecto a pastoreo rotativo y fase cultivo (p-valor < 0,01; 0,0001, respectivamente). Esto se explica por el hecho de que la agricultura en la fase pastura mostró valores más altos de carbono orgánico (p-valor < 0,0001) y valores más bajos de densidad de lombrices de tierra (p-valor < 0,0001), mientras que el contenido de nitrógeno fue superior en la fase pastura (p-valor < 0,002). Sin embargo, no se observó ninguna correlación entre la biomasa y la relación carbono:nitrógeno. Esto podría atribuirse al hecho de que las especies presentes en las pasturas son más grandes y las diferencias entre los pares de usos de la tierra para esta variable no son tan grandes como en el caso de la densidad de lombrices. Una revisión de 70 artículos también reportó una correlación no significativa y negativa entre la relación C:N y biomasa de lombrices (Heděnc et al., 2022).

La arcilla estuvo fuertemente relacionada con la biomasa y densidad de lombrices (tabla 5). La correlación entre el contenido de humedad del suelo y el porcentaje de arcilla y arena fue de 0,64 (p-valor < 0,05) para la arcilla y -0,80 (p-valor < 0,01) para la arena; esta relación también se observa en la figura 8. Los suelos arcillosos tienden a retener la humedad durante un período más prolongado, y la humedad es un factor clave para el desarrollo de las poblaciones de lombrices (Singh et al., 2020a, 2016, Bisht et al., 2003), ya que tienen respiración cutánea y requieren humedad para intercambiar oxígeno y dióxido de carbono en el suelo (Lee, 1985). Un estudio llevado a cabo en humedales de la India también reportó correlaciones positivas entre la arcilla y negativas con la arena con la densidad de lombrices (Singh et al., 2022).

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) fue significativamente mayor en el pastoreo rotativo respecto al continuo (p-valor < 0,004), y en la fase cultivo respecto a la fase pastura (p-valor < 0,02), mientras que las correlaciones entre la CIC y la biomasa y densidad fueron de 0,74 (p-valor < 0,01) y 0,58 (p-valor < 0,05), respectivamente. Esto indica que suelos más

fértiles tienen una comunidad de lombrices con mayor biomasa y densidad respecto a los suelos menos fértiles. Al calcular la CIC aportada por la materia orgánica y la aportada por la arcilla, se observó que en los suelos bajo pastoreo rotativo y continuo la CIC era mayormente aportada por la materia orgánica, ya que estos suelos de texturas arenosas no tienen porcentajes importantes de arcilla, y la arena no tiene posiciones de intercambio catiónico. En cambio, en los suelos bajo agricultura en fase pastura y cultivo la CIC aportada por la arcilla fue de entre 1,20 y 4,20 veces más que la CIC aportada por la materia orgánica. La correlación entre arcilla y CIC fue 0,89 (p-valor < 0,0001). En este estudio suelos más fértiles, con texturas más arcillosas, pueden tener comunidades de lombrices más ricas en biomasa y densidad.

La siembra directa es una tecnología altamente dependiente de agroquímicos, y una variable no medida en este estudio fue la concentración de estos en el suelo, en especial el glifosato. Si bien el glifosato tiene un efecto negativo en las lombrices de tierra (Giunta y Jáuregui, 2013), las concentraciones utilizadas en los sitios muestreados no estarían afectando negativamente las comunidades de lombrices, ya que la biomasa y densidad de lombrices en la fase cultivo fue superior a la fase pastura. En un estudio llevado a cabo en Entre Ríos, Argentina, donde evaluaron diferentes tratamientos con glifosato, no encontraron diferencias significativas antes y después de aplicado los tratamientos (Masin et al., 2015).

El análisis de coinerencia demostró que las variables edáficas están relacionadas significativamente con la biomasa de lombrices (p-valor < 0,03) y el peso corporal (p-valor < 0,01). En el análisis de coinerencia entre biomasa y variables edáficas, el primer eje explica el 98,5 % de la coinerencia y separa los usos pastoreo rotativo y continuo de las fases pastura y cultivo, y el segundo explica el 1,5 %, de la coinerencia y separa la fase pastura de la fase cultivo. Para la variable peso corporal, el primer eje explica el 97 % de la coinerencia y el segundo el 2,5 %; el primer eje separa los usos pastoreo rotativo y continuo y el segundo separa la agricultura en fase pastura de la fase cultivo. Las

variables de suelo que afectan negativamente la biomasa y peso corporal de las lombrices son la acidez intercambiable, el contenido de arena, la densidad aparente y la relación C:N, aunque valores altos de estas variables no impiden el desarrollo de determinadas especies como las del género *Glossoscolex* sp.(figura 8). En cambio, el análisis de coinerencia entre la densidad de lombrices y las variables edáficas no fue significativo ( $p$ -valor  $< 0,4$ ).

En general, nuestros resultados y otros trabajos sugieren que diferentes estrategias de manejo, como la siembra de leguminosas o la no labranza, impactan positivamente a las comunidades de lombrices de tierra (Brown et al., 2003, Chan, 2001). Al promover estas mejores prácticas, fomentaremos la actividad de las lombrices de tierra y obtendremos beneficios que no solo se traducirán en rendimientos de cultivos, sino también en beneficios ambientales, como la captura de carbono.

Tabla 5. Correlación de Pearson entre la biomasa de lombrices fijadas en alcohol 95 % (g. m<sup>-2</sup>), la densidad (individuos. m<sup>-2</sup>) y el peso corporal (g. individuo<sup>-1</sup>) con las variables físicas y químicas del suelo.

Variable	Biomasa (g. m <sup>-2</sup> )	Densidad (individuos. m <sup>-2</sup> )	Peso corporal (g. individuo <sup>-1</sup> )
Carbono orgánico del suelo (%)	0,39 NS	0,32 NS	-0,25 NS
Nitrógeno total (%)	0,50 NS	<b>0,50•</b>	-0,39 NS
Relación carbono/nitrógeno (%)	-0,40 NS	<b>-0,61*</b>	0,56•
Calcio (cmolc. kg)	<b>0,75**</b>	<b>0,60*</b>	-0,44 NS
Magnesio (cmolc. kg)	<b>0,61*</b>	0,40 NS	-0,33 NS
Potasio (cmolc. kg)	<b>0,60*</b>	<b>0,74**</b>	-0,62 NS
Capacidad de intercambio catiónico	<b>0,74**</b>	<b>0,58*</b>	-0,43 NS
Arcilla (%)	<b>0,90***</b>	<b>0,64*</b>	-0,37 NS
Densidad aparente (g. cm <sup>-3</sup> )	<b>-0,57•</b>	<b>-0,52•</b>	0,37 NS
Humedad del suelo (%)	<b>0,59*</b>	<b>0,55•</b>	-0,44 NS

Código de significancia para cada correlación: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 • 0.1 'NS' No significativo.



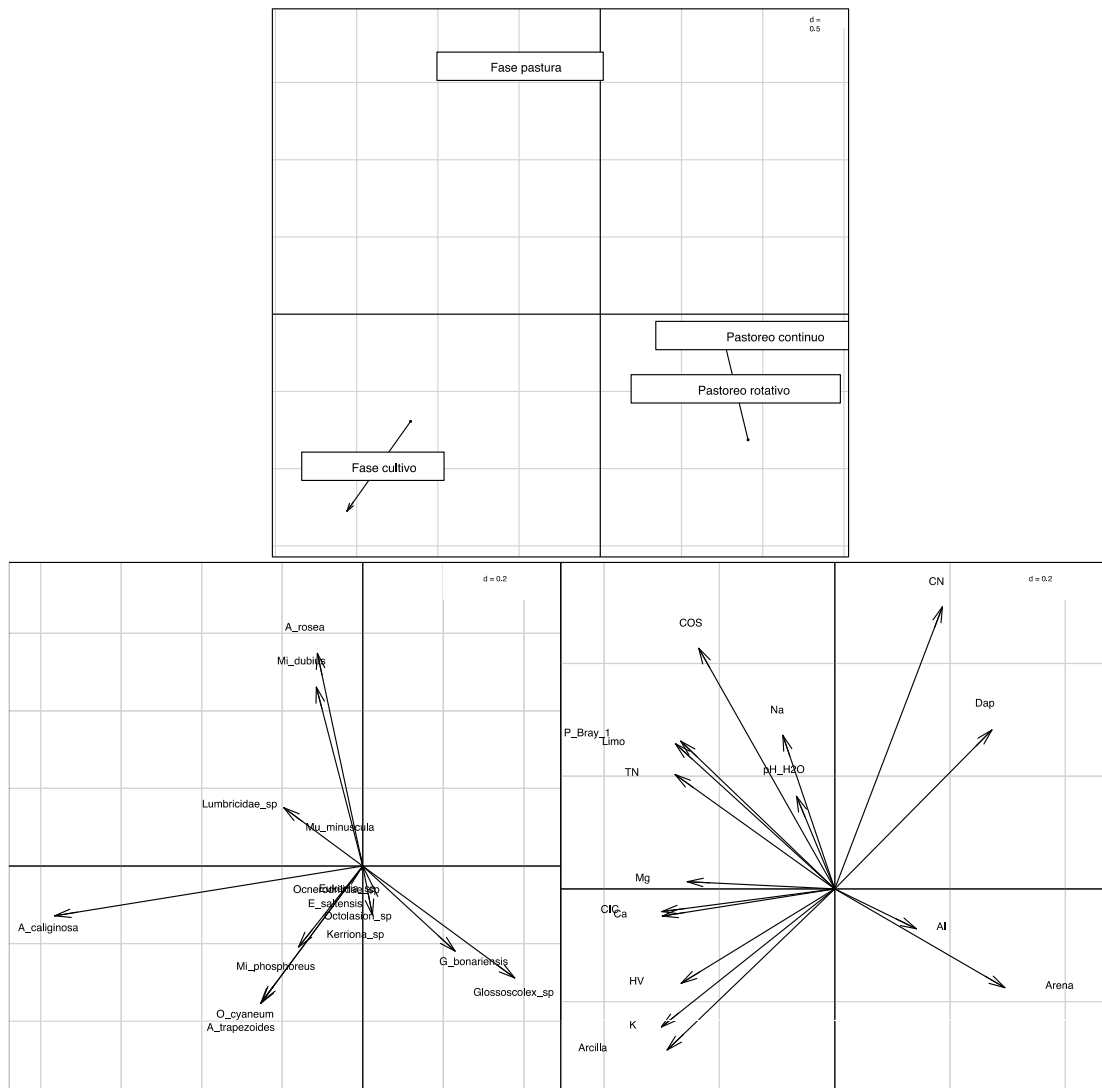


Figura 8. Análisis de coinerencia entre la biomasa de lombrices y variables edáficas.

En el análisis de cluster, analizando las diferentes formaciones geológicas donde se ubican los sitios muestreados, y las características físicas y químicas de cada sitio, vemos que los 6 sitios y sus respectivos usos del suelo se dividen en 3 clusters (Observamos que las formaciones no tienen un efecto marcado sobre las variables edáficas analizadas, ya que los diferentes clusters están compuestos por más de una formación geológica y éstas no se diferencian entre ellas en clusters separados, figura 9). Por un lado dos clusters agruparon a los pastoreos rotativos y continuos, y uno de ellos está compuesto por dos formaciones geológicas, indicando que los

suelos formados sobre esas formaciones presentan características similares. Por otro lado el sitio dos aparece como un cluster separado del resto, esto se debe a que el suelo de este sitio presenta características diferentes respecto al resto, como lo es el contenido de aluminio intercambiable y porcentajes mayores de arena. Los suelos presentes en las rotaciones agrícolas se agrupan en un solo cluster, compuesto por dos formaciones: Basamento Cristalino y Fray Bentos. Observamos que las formaciones no tienen un efecto marcado sobre las variables edáficas analizadas, ya que los diferentes clusters están compuestos por más de una formación geológica y éstas no se diferencian entre ellas en clusters separados.

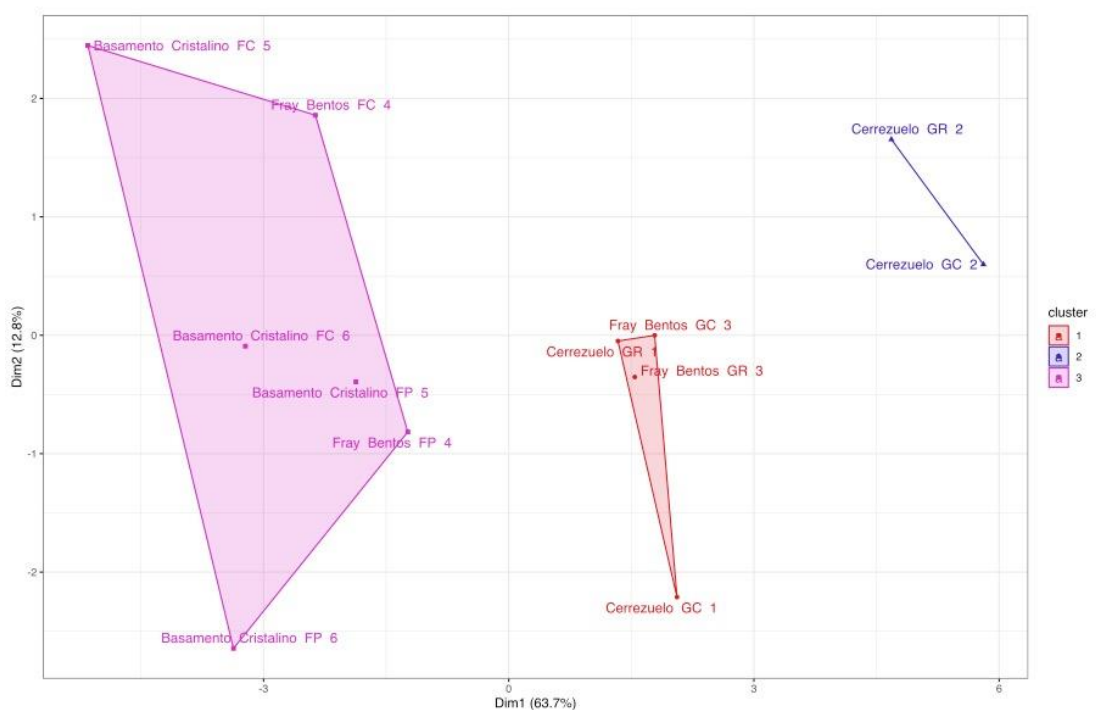


Figura 9. Análisis de cluster para las formaciones geológicas donde se ubican los sitios muestreados. Los cluster se diferencian con un 95% de confianza. GR: pastoreo rotativo, GC: pastoreo continuo, FP: fase pastura, FC: fase cultivo. Los numeros al final de cada unidad representan el número del sitio.

### 3.4. BALANCE HÍDRICO Y VARIABLES CLIMÁTICAS

En la figura 10 se observa un déficit hídrico previo al momento de muestreo. Considerando todo ese año agrícola (2020-2021), hubo un déficit hídrico de 90 mm, lo que resultó en un balance hídrico negativo. Además, Uruguay experimentó déficits hídricos durante los tres años anteriores al muestreo, debido a las escasas precipitaciones. Esto pudo haber afectado la dinámica de las poblaciones de lombrices de varias maneras. Por ejemplo, podría haber estimulado la reproducción como estrategia de supervivencia frente a climas desfavorables, inducido la migración a zonas más profundas del suelo en busca de mayor humedad (aunque este efecto sería menos probable debido al gran desarrollo del horizonte B<sub>t</sub> en los suelos uruguayos, lo que representaría un impedimento físico). Por último, este déficit hídrico pudo haber provocado la muerte de poblaciones de lombrices.

La temperatura es la principal variable que afecta la dinámica de las lombrices, las cuales se desarrollan a temperaturas por encima de los 9°C, por debajo de los 30°C, y su actividad se detiene a temperaturas por debajo de los 4°C (Edwards, 2004). Tomando como referencia la temperatura a 10 cm de profundidad en un suelo totalmente cubierto durante todo el año y otro completamente desnudo durante todo el año, y comparando los sistemas en fase pastura y fase cultivo, se observa que la pastura, al cubrir el suelo durante todo el año, impide que esta variable fluctúe abruptamente (amplitud térmica: 15.12°C, máximo: 25.26°C). Sin embargo, en la fase de cultivo, hay momentos durante el año en los que el suelo está descubierto, lo que podría provocar una mayor amplitud térmica en estos suelos y aumento de la temperatura (amplitud térmica: 18.68, máximo: 29.67) (ver figura 10). Esta variable estaría afectando la dinámica de las poblaciones de estos oligoquetos, y podría explicar por qué se recolectó una mayor biomasa y densidad en la fase de cultivo en comparación con la fase de pastura. Además, los suelos en fase de cultivo presentaron un mayor contenido de humedad en comparación con los de fase de pastura (1.7 % más, p-valor < 0.01), lo que sugiere que la

transmisión de calor por conducción sería mayor en la fase de cultivo en comparación con la fase de pastura.

Por último, se desprende de la figura 10 que en la zona suroeste de nuestro país, la temperatura no resultaría un impedimento para realizar muestreos de lombrices en las cuatro estaciones del año. La temperatura mínima promedio mensual para el suelo cubierto durante el año agrícola 2020-2021 fue de 10.14°C y para el suelo desnudo fue de 10.99°C, lo que sugiere que esta variable permite que el ciclo de vida de las lombrices en la zona de muestreo sea continuo. No obstante, la humedad del suelo ha mostrado regular fuertemente la presencia y densidad de lombrices (Ligrone et al., 2024), por lo que los períodos de sequía podrían considerarse la principal limitante climática para los muestreos en esta zona.

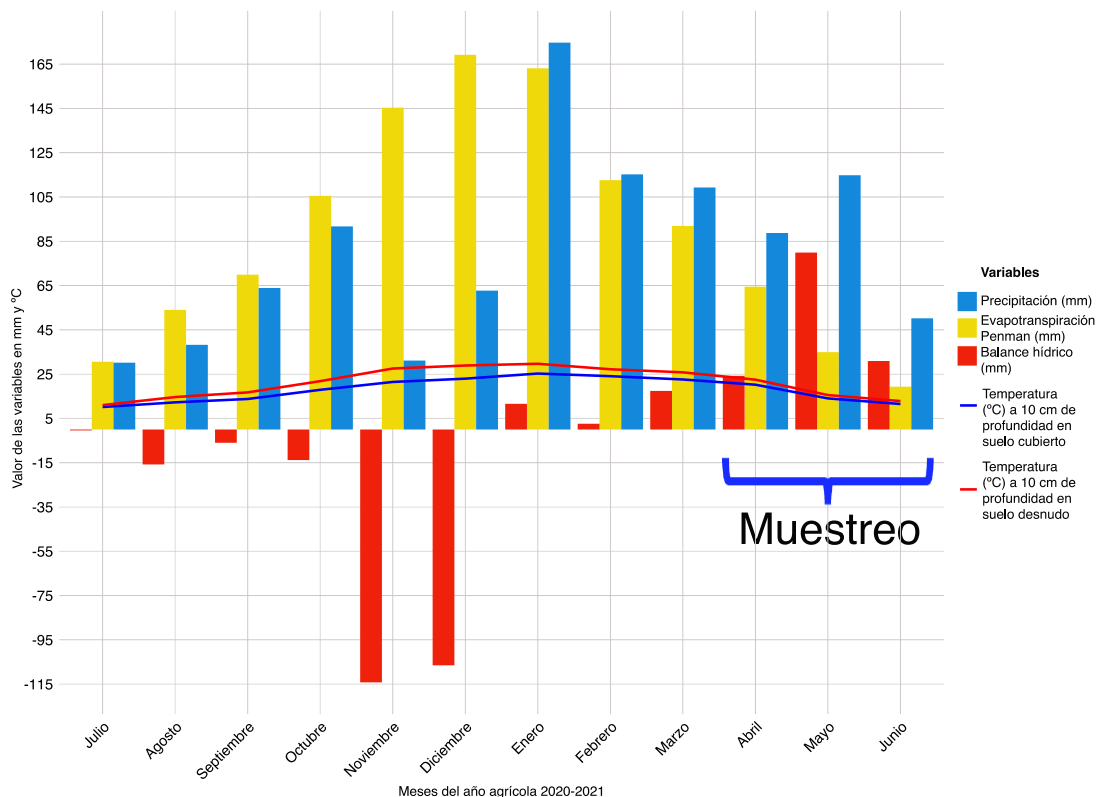


Figura 10. Balance hídrico y temperatura promedio mensual a los 10 cm de profundidad para el año agrícola 2020-2021, correspondiente a la estación La Estanzuela de INIA.

#### 4. CONCLUSIONES

Esta investigación logró identificar nueve especies de lombrices en diferentes usos del suelo agrícola-ganaderos en los departamentos de Colonia, Durazno, Flores y Soriano en Uruguay. Hubo una tendencia hacia un mayor número de especies en la fase cultivo, de la rotación agrícola con pradera. El hecho de que solo una o pocas especies predominaron en cada uso del suelo se constató por los índices de diversidad de lombrices relativamente bajos, aunque dentro del rango reportado para la región, además no presentaron diferencias significativas dentro de cada par de usos del suelo. Las lombrices endogeas se encontraron en sitios con contenido de carbono orgánico del suelo entre 2,30 - 3,04 y entre 2,30 - 3,34, para polihúmicas y mesohúmicas, respectivamente. Se constató la ausencia de lombrices epigeas y anécicas, a pesar de la acumulación potencial de residuos vegetales en la fase de cultivo, lo cual puede vincularse con el ambiente original de pradera, en el cual dominan las endogeas. En el PCA se observó una superposición en la composición de especies entre los sistemas de pastoreo, mientras que la fase de cultivo presentó una diversidad de especies única, con especies exóticas: *A. caliginosa*, *A. trapezoides*, *O. cyaneum* y nativas: *E. saltensis*, *Kerriona sp.*, *Mi. phosphoreus* y *Ocnerodrilidae sp.*, que sugieren adaptaciones específicas al entorno agrícola.

Los resultados indican que la biomasa, la densidad y el peso corporal de las lombrices varían en función del uso del suelo. Aunque no se identificó un patrón uniforme basado en la intensidad del uso del suelo, es claro que hay diferencias entre las fases de pastura y cultivo. La densidad de lombrices en el pastoreo rotativo fue significativamente mayor que en el pastoreo continuo. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la biomasa total entre estos dos usos. Los bajos valores de densidad de lombrices en estos pueden ser atribuidos a características del suelo como la textura franco arcillo

arenosa, pH bajos: (4,95 y 5,60) y contenidos de carbono orgánico bajos (1,41 % y 2,35 %), que pueden afectar negativamente el desarrollo de las lombrices.

La densidad aparente y la humedad del suelo tuvieron un impacto directo en la presencia de lombrices: suelos con alta densidad aparente y baja humedad presentaron menor densidad de lombrices, mientras que aquellos con baja densidad aparente y alta humedad favorecieron la presencia de estos anélidos. A pesar de que algunos estudios sugieren una influencia positiva del carbono orgánico sobre la densidad y biomasa de lombrices, en esta investigación no se encontró una correlación significativa para los valores dentro del rango 1,41% - 2,35%. Por otro lado, la CIC, que es una medida de la fertilidad del suelo, mostró tener una correlación positiva con la biomasa y densidad de lombrices. Esto sugiere que en los suelos muestreados, los más fértiles tienden a tener una comunidad de lombrices más rica en comparación con suelos menos fértiles.

La mayor diversidad, biomasa y densidad de lombrices de tierra observadas en áreas agrícolas pueden tener efectos positivos en las propiedades del suelo, pero también podrían llevar a impactos negativos, como la aceleración de la mineralización de la materia orgánica. Se necesita una investigación más extensa para identificar las variables que más afectan a las comunidades de lombrices de tierra, proporcionando una mejor comprensión de cómo las estamos impactando y evaluando el impacto potencial en el ecosistema. Esta comprensión es crucial para implementar medidas de conservación en las prácticas agrícolas.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- Anderson JM, Ingram JSI. 1993. Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Methods. En *The Journal of Ecology* (2nd ed., número 2). CAB International, Wallingford. <https://doi.org/10.2307/2261129>
- Ashworth AJ, Allen FL, Tyler DD, Pote DH, Shipitalo MJ. 2017. Earthworm populations are affected from long-term crop sequences and bio-covers under no-tillage. *Pedobiologia*, 60, 27-33. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2017.01.001>
- Bartz MLC, Brown GG, da Rosa MG, Filho OK, James SW, Decaëns T, Baretta D. 2014. Earthworm richness in land-use systems in Santa Catarina, Brazil. *Applied Soil Ecology*, 83, 59-70. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.03.003>
- Bedano JC, Vaquero F, Domínguez A, Rodríguez MP, Wall L, Lavelle P. 2019. Earthworms contribute to ecosystem process in no-till systems with high crop rotation intensity in Argentina. *Acta Oecologica*, 98, 14-24. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2019.05.003>
- Bisht R, Pandey H, Bharti D, Kaushal BR. 2003. Population dynamics of earthworms (Oligochaeta) in cultivated soils of central Himalayan tarai region. *Tropical Ecology*, 44(2), 229-234.
- Boschini-Figueroa C, Chacón-Villalobos A, Araya-Rodríguez J. 2009. Población de lombrices (Oligochaeta:Annelida) en una finca con bovinos lecheros, en Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*, 20(1), 91-99.
- Boström U, Lofs-Holmin A. 1986. Growth of earthworms (*Allolobophora caliginosa*) fed shoots and roots of barley, meadow fescue and lucerne studies in relation to particle size, protein, crude fiber content and toxicity. *Pedobiologia (Jena)*, 29(1), 1-12.
- Bouché MB. 1977. Strategies lombriciennes. En *Soil Organisms as Components of Ecosystems* (25) 122-132.

- Bray RH, Kurtz LT. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science*, 59(1), 39-46. <https://doi.org/10.1097/00010694-194501000-00006>
- Bremner JM, Mulvaney CS. 1983. Nitrogen-Total. En AL Page, RH Miller y DR Keeney (eds.), *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties* (pp. 595-624). SSSA. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c31>
- Brown G, Benito N, Pasini A, Sautter K, Guimarães M, Torres E. 2003. No-tillage greatly increases earthworm populations in Paraná state, Brazil. *Pedobiologia*, 47(5-6), 764-771. <https://doi.org/10.1078/0031-4056-00256>
- Cabrera FS, Cholaky C, Becker A. 2011. Propiedades hidrofísicas de un Hapludol Típico de Córdoba en relación al pisoteo animal. *Ciencias del Suelo, Argentina*, 29 (2), 141-150.
- Cameron EK, Bayne EM, Clapperton MJ, Cameron<sup>2</sup> EK, Canada A-F. 2007. Human-facilitated invasion of exotic earthworms into northern boreal forests. *Ecoscience*, 14(4), 482-490.
- Capowiez Y, Marchán D, Decaëns T, Hedde M, Bottinelli N. 2024. Let earthworms be functional - Definition of new functional groups based on their bioturbation behavior. *Soil Biology and Biochemistry*, 188, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2023.109209>
- Cesarz S, Craven D, Dietrich C, Eisenhauer N. 2016. Effects of soil and leaf litter quality on the biomass of two endogeic earthworm species. *European Journal of Soil Biology*, 77, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2016.09.002>
- Chan KY. 2001. An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity - implications for functioning in soils. *Soil & Tillage Research*, 57(4), 179-191. [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(00\)00173-2](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(00)00173-2)
- Chan KY, Barchia I. 2007. Soil compaction controls the abundance, biomass and distribution of earthworms in a single dairy farm in south-eastern



- Australia. *Soil and Tillage Research*, 94(1), 75-82.  
<https://doi.org/10.1016/j.still.2006.07.006>
- Crittenden SJ, Eswaramurthy T, De Goede RGM, Brussaard L, Pulleman MM. 2014. Effect of tillage on earthworms over short- and medium-term in conventional and organic farming. *Applied Soil Ecology*, 83, 140-148.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.03.001>
- Curry JP, Schmidt O. 2007. The feeding ecology of earthworms - A review. *Pedobiologia*, 50(6), 463-477.  
<https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2006.09.001>
- Dane JH, Topp CG. 2002. *Methods of soil analysis, Part 4: Physical methods.* Soil science Society of America, Inc.
- Edwards CA. 2004. *Earthworm ecology* (CA Edwards (ed.; 2nd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420039719>
- El-Duweini A, Ghabbour SI. 1965. Population Density and Biomass of Earthworms in Different Types of Egyptian Soils. *Journal of Applied Ecology*, 2(2), 271-287. <https://doi.org/10.2307/2401479>
- Emmerling C. 2001. Response of earthworm communities to different types of soil tillage. *Applied Soil Ecology*, 17(1), 91-96.  
[https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00132-3](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00132-3)
- Emmerling C, Ruf T, Audu V, Werner W, Udelhoven T. 2021. Earthworm communities are supported by perennial bioenergy cropping systems. *European Journal of Soil Biology*, 105.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2021.103331>
- Escudero HJ, Domínguez A, Bedano JC. 2023. Large-scale ecologically-based farming systems foster earthworm communities and their contribution to ecosystem processes. *Applied Soil Ecology*, 185.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104800>
- Falco LB, 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*, 2015(5), 1-18.  
<https://doi.org/10.7717/peerj.979>

- FAO (Food and Agriculture Organization), ITPS (Intergovernmental Technical Panel on Soils), GSBI (Global Soil Biodiversity Initiative, SCBD (Secretariat of the Convention on Biological Diversity), EC (European Commission). 2020. State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities. En State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities. FAO. <https://doi.org/10.4060/cb1928en>
- Forsythe W. 1975. Física de suelos: manual de laboratorio (IICA, ed.; vol. 25).
- Fragoso C, Lavelle P. 1995. Are Earthworms Important in the Decomposition of Tropical Litter? Soil Organisms and Litter Decomposition in the Tropics. 103-112.
- Fragoso C, Lavelle P, Blanchart E, Senapati B, Jimenez J, Martinez M de los A, Decaëns T, Tondoh J. 1999. Earthworm Communities of Tropical Agroecosystems: Origin, Structure and Influence of Management Practices. En P Lavelle, L Brussaard y P Hendrix (eds.), Earthworm Management in Tropical Agroecosystems.
- García F, Kaplan A. 1974. Evaluación de un método para determinar densidad aparente, macroporosidad y microporosidad en el suelo [trabajo final de grado, Universidad de la República]. Colibri. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/24310>
- Giller KE, Beare MH, Lavelle P, Izac A-MN, Swift MJ. 1997. Applied Soil Ecology Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. Applied Soil Ecology, 6(1), 3-16. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(96\)00149-7](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(96)00149-7)
- Griffith DR, Mannering JV, Box JE. 1986. Soil and moisture, management with reduced tillage. En MA Sprague y GB Triplett (eds.), No-Tillage and Surface-Tillage Agriculture: The Tillage Revolution (1st ed., pp. 19-57). John Wiley & Sons.
- Grosso E, Brown G. 2007. Biodiversidad y ecología de las lombrices de tierra en el Uruguay. En Minhocas na América Latina: Biodiversidade e Ecologia (pp. 287-296).

- Grosso E, Jorge G, Brown GG. 2006. Exotic and Native Earthworms in Various Land Use Systems of Central, Southern and Eastern Uruguay. *Caribbean Journal of Science*, 42(3), 294-300.
- Giunta S, Jáuregui H. 2013. Estimación del efecto del glifosato sobre parámetros vitales de *Eisenia andrei*. Jornada de Ciencia y Tecnología de Facultades de Ingeniería del NOA. Santiago del Estero, Argentina.
- Heděnc P, Jiménez JJ, Moradi J, Domene X, Hackenberger D, Barot S, Frossard A, Oktaba L, Filser J, Kindlmann P, Frouz J. 2022. Global distribution of soil fauna functional groups and their estimated litter consumption across biomes. *Scientific Reports*, 12(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21563-z>
- Herrera D, Mischis C. 2007. Lombrices de tierra de las Yungas: Taxonomía, biogeografía y ecología en áreas de selva subtropical (provincia de Jujuy, Argentina). En G Brown y C Frago (eds.), *Minhocas na América Latina: Biodiversidade e Ecologia*.
- Hobbs PR, Sayre K, Gupta R. 2008. The role of conservation agriculture in sustainable agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1491), 543-555. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2169>
- Isaac RA, Kerber JD. 1971. Atomic Absorption and Flame Photometry: Techniques and Uses in Soil, Plant and Water Analysis. En LM Walsh (ed.), *Instrumental Methods for Analysis of Soil and Plant Tissues* (pp. 17-37). SSSA. <https://doi.org/10.2136/1971.instrumentalmethods.c2>
- ISO (International Organization for Standardization). 2018. Soil quality - Sampling of soil invertebrates - Part 1: Hand-sorting and extraction of earthworms.
- Johnston ASA, Sibly RM, Hodson ME, Alvarez T, Thorbek P. 2015. Effects of agricultural management practices on earthworm populations and crop yield: Validation and application of a mechanistic modelling approach. *Journal of Applied Ecology*, 52(5), 1334-1342. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12501>

- Jones CG, Lawton JH, Shachak M. 1994. Organisms as Ecosystem Engineers. *Oikos*, 69(3), 373-386. <https://doi.org/10.2307/3545850>
- Jorge-Escudero G. 2018. Potencial aporte de las lombrices en el control biológico de *Fusarium graminearum* en agroecosistemas uruguayos [tesis de doctorado, Universidad de la República]. Colibri. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/29437>
- Kanianska R, Jad'ud'ová J, Makovníková J, Kizeková M. 2016. Assessment of relationships between earthworms and soil abiotic and biotic factors as a tool in sustainable agricultural. *Sustainability (Switzerland)*, 8(9), 1-14. <https://doi.org/10.3390/su8090906>
- Lavelle P, Brussaard L, Hendrix P. 1999. Earthworm Management in Tropical Agroecosystems. CABI Publishing. Wallingford, United Kingdom.
- Lee KE. 1985. Earthworms: their ecology and relationships with soils and land use. Academic Press, Inc (London) LTD.
- Ligrone, A., Alvarez, M., Jorge-Escudero, G., & Piñeiro, G. (2024). Seasonal dynamics of agricultural land use impacts on earthworm communities: Insights into diversity, abundance, and functional composition. *European Journal of Soil Biology*, 120, 103588.
- Ma W-C, Brussaard L, De Ridder JA. 1990. Long-term Effects of Nitrogenous Fertilizers on Grassland Earthworms (Oligochaeta: Lumbricidae): Their Relation to Soil Acidification. *Ecosystems and Environment*, 30(1-2), 71-80. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(90\)90184-F](https://doi.org/10.1016/0167-8809(90)90184-F)
- Mcinga S, Muzangwa L, Janhi K, Mnkeni PNS. 2020. Conservation agriculture practices can improve earthworm species richness and abundance in the semi-arid climate of Eastern Cape, South Africa. *Agriculture (Switzerland)*, 10(12), 1-12. <https://doi.org/10.3390/agriculture10120576>
- Masin C, Rodriguez A, Maitre M, Cerana J, Hernandez J, Anglada M, Elizalde J, Lallana M. 2015. Riqueza de Lombrices de Tierra en un Argiudol bajo cultivo de soja (Colonia Ensayo, Entre Ríos). *Revista Científica Agropecuaria*. 19 (1-2)., 39-50.

- MGAP (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca). 2021. Actualización de Cobertura y Uso del Suelo del Uruguay al año 2020/2021. En Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. [En línea] Consultado 10 agosto 2023. Disponible en <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/noticias/actualizacion-cobertura-uso-del-suelo-del-uruguay-ano-20202021>
- MGAP (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca). 2019. Encuesta Agrícola «Primavera 2018». 23 p. [En línea] Consultado 10 agosto 2023. Disponible en <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/estadisticas/encuesta-agricola-primavera-2018>
- MGAP (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca). 2015. Regiones agropecuarias del Uruguay. 38 p. [En línea]. Consultado 10 agosto 2023. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/dieaanterior/regiones/regiones2015.pdf>
- Milcu A, Partsch S, Scherber C, Weisser WW, Scheu S. 2008. Earthworms and Legumes Control Litter Decomposition in a Plant Diversity Gradient. *Ecological Society of America*, 89(7), 1872-1882. <https://doi.org/10.1890/07-1377.1>
- Momo F, Souad A, Campana G, Deregibus D, Doyle S, Dumont D, Feijoo C, Ferreyra G, Hernandez M, Hernando M, Lopez de Casenave J, Marcé R, Marone L, Massobrio M, Quartino M, Saravia L, Schloss I, Ure J. 2023. La ciencia de la ecología: un curso avanzado. Editorial Dunken, Argentina. 237 p.
- Nelson DW, Sommers LE. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. En DL Sparks, AL Page, PA Helmke, RH Loeppert, PN Soltanpour, MA Tabatabai, CT Johnston y ME Sumner (eds.), *Methods of soil analysis: Part 3 Chemical methods* (vol. 5, pp. 961-1010). SSSA Book Series.

- Pelosi C, Bertrand M, Roger-Estrade J. 2009. Earthworm community in conventional, organic and direct seeding with living mulch cropping systems. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(2), 287-295. <https://doi.org/10.1051/agro/2008069>
- Piñeiro G, Paruelo JM, Jobbágy EG, Jackson RB, Oesterheld M. 2009. Grazing effects on belowground C and N stocks along a network of cattle exclosures in temperate and subtropical grasslands of South America. *Global Biogeochemical Cycles*, 23(2). <https://doi.org/10.1029/2007GB003168>
- R. R Core Team. 2023. A Language and Environment for Statistical Computing. (2023.03.0+386). <https://www.r-project.org>
- Räty M. 2004. Growth of *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea caliginosa* in an acid forest soil, and their effects on enchytraeid populations and soil properties. *Pedobiologia*, 48(4), 321-328. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2004.03.006>
- Reynolds JW. 1994. Earthworms of the world. *Global Biodiversity*, 4(1), 11-16.
- Reynolds JW. 1996. *Earthworm Biology and Ecology*. Course manual. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 169 p.
- Righi G. 1979. Introducción al estudio de las lombrices del suelo (oligoquetos megadrilos) de la Provincia de Santa Fe (Argentina). En Asociación de Ciencias Naturales del Litoral.
- Righi G. 1990. Minhocas de Mato Grosso e de Rondônia (número 12). CNPq/AED. Relatório de Pesquisa, 12. Programa Polonoeste. 157 pp.
- Rodríguez MP, Domínguez A, Ferroni MM, Wall LG, Bedano JC. 2020. The Diversification and Intensification of Crop Rotations under No-Till Promote Earthworm Abundance and Biomass. *Agronomy*, 7(10), 919. <https://doi.org/10.3390/agronomy10070919>
- Rüdissler J, Tasser E, Peham T, Meyer E, Tappeiner U. 2020. Hidden engineers and service providers: Earthworms in agricultural land-use types of South Tyrol, Italy. *Sustainability (Switzerland)*, 13(1), 1-15. <https://doi.org/10.3390/su13010312>

- Schmidt O, Clements RO, Donaldson G. 2003. Why do cereal-legume intercrops support large earthworm populations? *Applied Soil Ecology*, 22(2), 181-190. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(02\)00131-2](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(02)00131-2)
- Shannon CE, Wiener W. 1949. *The mathematical theory of communication*. Urbana, Illinois: University of Illinois, 290.
- Sherlock E. 2018. *Key to the earthworms of Britain and Ireland (2nd ed.)*. The Field Studies Council. Devon, United Kingdom.
- Simpson EH. 1949. Measurement of Diversity. *Nature*, 163(4148), 688-688.
- Singh S, Singh J, Vig AP. 2022. Earthworm Community Structures in Three Wetland Ecosystems with Reference to Soil Physicochemical Properties. *Proceedings of the Zoological Society*, 75(2), 231-241. <https://doi.org/10.1007/s12595-022-00436-3>
- Singh S, Singh J, Vig AP. 2020a. Diversity and Abundance of Earthworms in Different Land Use Patterns: Relation with Soil Properties. *Asian Journal of Biological and Life Sciences*, 9(2), 111-118. <https://doi.org/10.5530/ajbls.2020.9.18>
- Singh S, Sharma A, Khajuria K, Singh J, Vig AP. 2020b. Soil properties changes earthworm diversity indices in different agro-ecosystem. *BMC Ecology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12898-020-00296-5>
- Singh S, Singh J, Vig AP. 2016. Effect of abiotic factors on the distribution of earthworms in different land use patterns. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 74, 41-50. <https://doi.org/10.1016/j.jobaz.2016.06.001>
- Stinner BR, House GJ. 1990. Arthropods and other invertebrates in conservation-tillage agriculture. *Annual Review of Entomology*, 35(1), 299-318. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.35.010190.001503>
- Thomas GW. 1996. Soil pH and Soil Acidity. En DL Sparks, AL Page, PA Helmke, RH Loeppert, PN Soltanpour, MA Tabatabai, CT Johnston y ME Sumner (eds.), *Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods (vol. 5, pp. 475-490)*. SSSA Book Series. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c16>

- USDA (United States Department of Agriculture). 2017. Soil Survey Manual. Soil Science Division Staff Agriculture Handbook No. 18 (C Ditzler, K Scheffe y HC Monger, eds.). Government Printing Office.
- Van Capelle C, Schrader S, Arpaia S. 2016. Selection of focal earthworm species as non-target soil organisms for environmental risk assessment of genetically modified plants. *Science of the Total Environment*, 548-549, 360-369. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.165>
- Van Groenigen JW, Lubbers IM, Vos HMJ, Brown GG, De Deyn GB, van Groenigen KJ. 2014. Earthworms increase plant production: a meta-analysis. *Scientific Reports*, 4(1), 1-7. <https://doi.org/10.1038/srep06365>
- Van Groenigen JW, Van Groenigen KJ, Koopmans GF, Stokkermans L, Vos HMJ, Lubbers IM. 2019. How fertile are earthworm casts? A meta-analysis. *Geoderma*, 338, 525-535. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.11.001>
- Van Lierop W. 1990. Soil pH and lime requirement determination. En R. L. Westerman (Ed.), *Soil testing and plant analysis* (3rd ed., vol. 3, pp. 73-126). SSSA Book Series. <https://doi.org/10.2136/sssabookser3.3ed.c5>
- Zar JH. 2010. *Biostatistical Analysis* (5th ed.). Prentice-Hall/Pearson.
- Zerbino MS. 2007. Evaluación de la biomasa de lombrices de tierra en diferentes sistemas de producción del Uruguay. En G Brown y C Fragoso (eds.), *Minhocas na América Latina: biodiversidade e ecologia* (first ed.). Embrapa. <https://www.researchgate.net/publication/262969976>
- Zerbino MS. 2012. Efecto de rotaciones cultivo-pasturas en siembra directa, con pastoreo, sobre comunidades de Oligochaeta Crop-pasture Rotations in Effects No-tillage, with Grazing, on Oligochaeta Communities. *Agrociencia Uruguay*, 16(1), 15-23.
- Zerbino MS, Rodríguez C, Altier NA. 2006. Earthworms in Agro-Ecosystems of Uruguay. *Caribbean Journal of Science*, 42(3), 315-324. <https://www.researchgate.net/publication/255611020>



## 6. ANEXOS

### 6.1 EFFECTS OF CROPPING SEQUENCES AND ROTATIONAL GRAZING ON DIVERSITY, BIOMASS, DENSITY AND BODY WEIGHT OF EARTHWORMS

Alvarez, M<sup>a</sup>. Ligrone, A<sup>b</sup>. Piñeiro, G<sup>c</sup>. Jorge-Escudero, G<sup>b</sup>.

<sup>a</sup>Departamento de Suelos y Aguas, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Garzón 780, 12900, Montevideo, Uruguay.

<sup>b</sup>Departamento de Sistemas Ambientales, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Garzón 780, 12900, Montevideo, Uruguay.

<sup>c</sup>Cátedra de Ecología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Av. San Martín 4453, C1417DSE. Buenos Aires, Argentina.

Under review in *European Journal of Soil Biology*.

#### **Abstract**

Earthworms are ecosystem engineers that significantly impact soil physical, chemical, and biological properties by directly or indirectly affecting resource availability to other organisms. We investigated the influence of land use changes on earthworm communities in Uruguay. During the autumn of 2021, a comparative analysis was carried out, including rotational grazing matched with continuous grazing in rangelands and pasture phase with crop phase in agricultural rotations. We measured biomass, density, body weight, and diversity of earthworm communities under each land use. Additionally, we explored relationships between these variables and soil physical and chemical properties to unravel the impacts of land use on earthworm populations. Our

findings revealed variations in earthworm communities across different land uses. In the agricultural rotation we found greater species richness, biomass and densities in crop phases compared to pasture phase (although richness and biomass was not statistically significant). We also found greater biomass and densities in rotational grazing than in continuous grazing. Increased earthworm density was associated with soils featuring low bulk density and high moisture content, underscoring the importance of these conditions for fostering healthy earthworm populations. The presence of crops and crop residues appears to foster earthworm activity and density, while extensive livestock systems under continuous grazing may have a negative impact on these earthworm attributes. These findings highlight the significance of implementing sustainable agricultural practices that promote earthworm activity and enhance soil health in the region. Leveraging the insights gained from this study, strategies can be devised to maximize the benefits of earthworms in agriculture and livestock systems, contributing to environmental conservation and increased agricultural productivity in Uruguay.

## **1. Introduction**

Ecosystem engineers are organisms that directly or indirectly modify resources for other living beings [1], and they have effects on the soil physical, chemical, and biological properties [2]. Among these organisms, earthworms are of great importance, as they are one of the invertebrates with the greatest biomass in temperate regions [3]. Their influence on organic matter mineralisation, soil aggregation, aeration, drainage, and bioturbation [4], has implications for plant growth [2] and soil health [5]. Besides, earthworms promote plant growth and enhance crop yields [6,7].

On the other hand, land use affects the composition and characteristics of earthworm communities [8–11]. The effect of grazing on earthworms depends, for example, on the presence of legumes in the pastures [12,13]. Grazing can affect the carbon and nitrogen cycle [14], and these are related to the activity of earthworms [15,16]. Low or no- tillage systems compared to

tillage contributes to the improvement of soil structure, reduces fluctuations in temperature and moisture [17], and increases earthworm density [18,19] by providing a stable environment for invertebrates [20,21]. Crop diversity has a significant impact on these variables [12,13,22,23] because it influences soil physical and chemical properties, affecting earthworms [15,16,24–28]. For instance, soil aluminium and low organic matter contents have a negative effects on the density of *A. caliginosa* [29,30], and soils with high organic matter contents favor the development of polyhumic endogeic earthworms [31]. Fertilization also stimulates cocoon production and increases earthworm density [32].

Grazing on natural grassland is the most prevalent livestock farming practice in Uruguay, covering over 8 million out of the 16 million productive hectares in the country. It is estimated that there are almost half a million hectares of permanent pastures [33]. In the past 20 years in Uruguay, agriculture has notably expanded over grassland [34]. During the agricultural year of 2018/2019, no-till farming reached over 900,000 hectares for summer crops [35]. Although there is vast international literature on the effects of soil use on soil properties and earthworm communities, at the national level, few studies have been conducted regarding the impact of livestock farming and agriculture, leaving the intensity and direction of their effects on this group of soil macrofauna largely unknown.

This study was carried out to understand the composition and characteristics of earthworm communities found under varying land use conditions in different locations across Uruguay. Four land uses were considered pairwise: rotational grazing matched with continuous grazing, and agricultural rotations where the pasture phase was compared with the crop phase. Biomass, density, mean body weight, and diversity of the earthworm communities were estimated for each land use. Furthermore, the relationships between these variables and soil physical and chemical properties were examined, hypothesizing that descriptive variables of earthworm communities would be impacted by the land use to which they are subjected. By estimating

these variables, the aim of this paper was to answer the following questions: Does land use influence earthworm communities? If so, does it impact biomass, density, or both? Are there any specific earthworm species or ecological groups that benefit or not due to the land use?.

## **2. Materials and methods**

### **2.1. Sites and sampling design**

We evaluated the impact of different land uses on earthworm communities in the departments of Colonia, Durazno, Flores, and Soriano in Uruguay, during the autumn of 2021. Pair plots separated by fences were sampled. In each pair, both plots had the same soil type and topography, but differed in the land use. The pair comparisons were as follows: 1) rotational grazing versus continuous grazing, 2) agricultural rotation in pasture phase versus agricultural rotation in crop phase; the former in each pair was considered as the less intense soil use. The pasture phase had at least 2 years of establishment, and the crop phase had at least 2 years with two crops per year before sampling. Each pair had 3 replicates, represented by paired plots in 3 different farms. Within each plot, 6 soil monoliths of 25 cm side by 20 cm depth were extracted, each representing a subsample. The monoliths were positioned 20 m apart from each other, following the recommendations of Tropical Soil Biology and Fertility [36].

### **2.2. Sampling technique**

Before sampling, the soil was checked with a Dutch auger in both plots to confirm that the soils exhibited similar properties. Observable disturbances, and cattle paths were avoided. The central point of the plots, the plot to be sampled first, and the order of extraction of the monoliths in each of the plots were randomly determined. The monoliths were extracted and placed in labelled bags for the subsequent hand sorting of earthworms [37]. The earthworms were placed in containers with water and gradually anaesthetised by adding 95% alcohol until reaching 10% [38], after which they were preserved in 95% alcohol.

### 2.3. Soil analysis

Once the monolith was extracted, a soil sample was taken from one face of the resulting pit for laboratory processing. For the chemical analyses, the samples were dried at 40 °C for 48 hours, ground, and a composite sample was generated from the 6 monoliths per plot. The bulk density was measured 1 metre away from each monolith.

The physical and chemical variables measured were: bulk density according to the methodology of Dane and Topp [39] and saturated in water following García and Kaplan [40], moisture content on a wet basis: obtained by weighing and drying the soil at 105 °C for 48 hours and reweighing to obtain the dry soil mass value, then the ratio between the water mass and the wet soil mass was calculated, pH in water [41,42]; exchangeable acidity (extraction with 1 M KCl and determination by titration with 0.05 M NaOH), assimilable phosphorus [43]; Ca, Mg, K, and Na, which were extracted with 1 M ammonium acetate buffered to pH 7 and determined by atomic absorption (Ca and Mg) and emission (K and Na) [44], cation exchange capacity (CEC). In granulometry, the clay content was calculated by the hydrometer method [45] after eliminating the organic carbon with perhydrol, and it was classified according to the categorisation of the USDA [46]. The sand content was determined by sieving and weighing, and the silt content by difference between clay and sand. Organic carbon was measured by the Walkley-Black method described by Nelson and Sommers [47] and total nitrogen by the Kjeldahl method, by wet digestion with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, distillation and subsequent titration [48], and the carbon:nitrogen ratio was calculated. Analyses were performed in the Laboratory of the Department of Soils and Waters of the Faculty of Agronomy (Udelar). The results of the analyses are shown in Table 1.

### 2.4. Processing and identification of earthworms

The earthworm biomass per monolith was measured after being fixed in 95% alcohol, with the earthworm density recorded in tandem with the taxonomic identification. Specimens were recognized as juvenile, subadult, and adult. Earthworms classified as subadults were those with the presence

of male pores but lacking a clitellum or with a partially developed clitellum. They were categorized by family based on the position of these pores.

Subadults and adults were taxonomically identified to the level of genus and species respectively, using keys [49–51] and the list compiled by Grosso and Brown [52]. They were further classified as native or exotic.

### 2.5. Data analysis

The biomass (g. m<sup>-2</sup>), density (individuals. m<sup>-2</sup>), and body weight (g. individual<sup>-1</sup>) of earthworms were linearly modelled in relation to land use; as were Richness, Shannon- Wiener indices [53], Simpson indices [54], and Evenness [55]. Soil variables were also linearly modelled and correlated with the biomass, density, and body weight of earthworms using Pearson's correlation for the four combined land uses. The software used was R Studio [56], version 2023.03.0+386, and the libraries employed were: the base library to utilise the "lm" function, "ggplot2" for graph creation, "BiodiversityR" for the calculation of diversity indices, "PerformanceAnalytics" for carrying out correlations, and "factoextra" for conducting the PCA.

## 3. Results

### 3.1. Community Composition of Earthworms

A total of nine different earthworm species were collected in our surveys: *Aporrectodea caliginosa* (Savigny, 1826), *A. trapezoides* (Dugès, 1828), *A. rosea* (Savigny, 1826), *Eukerria saltensis* (Beddard, 1895), *Glossoscolex bonariensis* (Cordero, 1942), *Microscolex dubius* (Fletcher, 1887), *Mi. phosphoreus* (Dugès, 1837), *Murchieona minuscula* (Rosa, 1905), and *Octolasion cyaneum* (Savigny, 1826). The subadult earthworms collected were from the families *Glossoscolecidae*, *Lumbricidae*, and *Ocnerodrilidae*. At the genus level, *Kerriona* sp. was also identified, with adult specimens classified as a potential native species.

These species were classified into various ecological groups, endoanecic (*G. bonariensis*), endogeic (*Mi. dubius*, *Mi. phosphoreus*, *Mu. minuscula*), polyhumic endogeic (*E. saltensis*), and mesohumic endogeic (*A. caliginosa*, *A.*

*rosea*, *A. trapezoides*, *O. cyaneum*) [10,31,57,58]. Both the rotational grazing paired with continuous grazing and the pasture phase paired with crop phase showed similar levels of richness, Shannon- Wiener index, Simpson index, and evenness (Table 2). The results of the PCA revealed an overlap between the two grazing systems, rotational and continuous, indicating similarities in earthworm species composition in these systems (Fig. 1A-B). On the other hand, the pasture phase showed partial overlap with the grazing systems in the top right quadrant, and the ellipse of the crop phase demonstrated separation from the other uses (Fig. 1A-C).

### 3.2. Earthworm biomass

The comparison of earthworm biomass between soils under rotational grazing and continuous grazing revealed no significant differences in the total values, or across the three earthworm developmental stages ( $p$ -value  $< 0.29$ ). However, a clear trend was observed, showing that the mean biomass value in juvenile and subadult worms tended to be higher in rotational grazing (Fig. 2A). In the comparison between the pasture phase and crop phase, showed a trend of lower biomass in the former than the latter ( $p$ -value  $< 0.15$ ). Particularly, it was observed that the biomass of juveniles in the crop phase was, on average, double that of the pasture phase. Additionally, the mean biomass of adult earthworms in the crop phase was also greater than in the pasture phase, although this difference was not found to be statistically significant.

If we analyze the biomass per species within each land use, in the comparison between rotational and continuous grazing, the earthworms identified as *A. caliginosa*, *Glossoscolex sp.*, and *G. bonariensis* exhibited the highest biomass values within each land use. These species had, respectively, 4.3 (4.7), 2.8 (1.9), and 2.7 (2.6) times more biomass than the rest of the combined species in rotational (continuous) grazing (Fig. 3A). In the comparison between pasture and crop phases of agriculture, the species *O. cyaneum* and *A. caliginosa* exhibited the highest biomasses within each land

use. These species had respectively 0 (4.6) and 2.3 (3.6) times more biomass than the rest of the combined species in the pasture (crop) phase.

### 3.3. Earthworm density

A significantly higher density of earthworms was observed both in rotational compared to continuous grazing, and in the crop phase compared to the pasture phase, although significant differences were observed only for some developmental stages ( $p$ -value $<0.05$ ) (Fig. 2B). If we analyze the density per species within each land use, in the comparison between rotational grazing and continuous grazing, the earthworms identified as *Glossoscolex sp.*, *G. bonariensis*, *A. caliginosa*, and *Kerriona sp.* exhibit the highest density values within each land use, with *Kerriona sp.* being the only species with higher density in continuous grazing compared to rotational grazing (Fig. 3B). These species respectively showed 3.7 (1.9), 2.3 (0), 2.1 (1.7), and 1.6 (3.5) times higher density than the rest of the combined species in rotational (continuous) grazing. In the comparison between pasture and crop phases of agriculture, the species *Mi. phosphoreus* exhibited the highest density just in the crop phase, while in the pasture phase the density was similar between all species collected. The density of *Mi. phosphoreus* was 0.5 times lower compared to the density of the rest of the combined species in the pasture phase, but 7 times higher than the rest of the combined species in the crop phase.

### 3.4. Earthworm body weight

Significant differences were found in body weight, (i.e. mean individual earthworm weight), between the pasture and the crop phase, but not in the comparison between rotational and continuous grazing (Table 2). Comparing different developmental stages, we observed that only adult earthworms were significantly larger in continuous grazing than in rotational grazing (Fig. 2C), explained by a higher density of the larger species *G. bonariensis* and *A. caliginosa* in rotational grazing (Fig. 3C). On average, juvenile and subadult earthworms were bigger in the pasture phase than in the crop phase, whereas adult earthworms were bigger in the crop phase. The largest species in this comparison were *A. caliginosa*, *A. trapezoides*, and *O. cyaneum*.



If we analyze land uses separately, the species with the biggest average size for rotational grazing were *Octolasion sp.*, *A. caliginosa*, and *G. bonariensis*, which were 4.6, 2.8, and 1.5 times larger, respectively, than the average of the other species. For continuous grazing, *A. caliginosa* and *G. bonariensis* were 2.7 and 2.6 times bigger, respectively, than the average of the other species. In the comparison between the pasture and crop phases, the species with bigger sizes in the pasture phase were *Glossoscolex sp.* and *A. caliginosa*, which were 2.9 and 2.4 times larger, respectively, than the rest of the species. In the crop phase, the species with the biggest size were *O. cyaneum* and *A. trapezoides*, which were 5.1 and 5 times bigger, respectively, than the rest of the species.

### 3.5. Soil Variables

No relationship was found between soil organic carbon and earthworm biomass and density. Clay and calcium were the variables most strongly related to biomass (Table 3). The correlation between soil moisture content and the percentage of clay and sand was 0.64 (p-value<0.05) for clay and -0.80 (p-value<0.01) for sand. When edaphic variables were modelled linearly, significant differences (p-value<0.05) in soil organic carbon were only observed between the pasture phase and crop phase, being higher in the pasture phase. It was observed that bulk density was higher and soil moisture lower in the pasture phase compared to the crop phase, although not significantly. The values of these variables were similar between rotational and continuous grazing.

## 4. Discussion

### 4.1. Diversity of earthworm communities

Our main objective was to study how earthworm communities are affected depending on land uses. There was not a significant difference (p-value <0.25), but a trend towards a greater number of species in the crop phase, considered a more intense agricultural system, compared to the pasture phase (Table 2). Contrarily, in a survey conducted in the south and

west coast of Uruguay, where agricultural rotations were compared with natural fields considered the least intense land use, it was reported that the latter had greater mean richness, although the difference between both systems was not significant [59] (this issue). In another study in the Argentine pampas, it was also observed that less disturbed soils exhibited a greater number of species [9]. Inherently, the land uses in this study do not have a high earthworm diversity, as indicated by the low values of the Shannon-Wiener index, although they fall within the ranges observed in other regions of the world [10,22,60,61]. This may be a characteristic specific to earthworm communities. The low values of evenness indicate that in each land use one or very few species dominate (Table 2). The Simpson's uniformity index, which represents the probability of drawing two individuals of the same species from a sample, has also low values. These indices may indicate that there is some edaphic or environmental variable that could be affecting certain species in a differential manner. However, these indexes may also be influenced by the low number of species.

The PCA showed differences in communities according to land use. The ellipse corresponding to the pasture phase (Fig. 1A) is significantly larger than the ellipses for rotational and continuous grazing, suggesting a greater variability in the composition of earthworm species in this system. Regarding the crop phase, the clear separation from the other land use systems, and location, indicates a composition of earthworm species different from those of the grazing systems (Fig. 1A-C). In the crop phase, the presence of several species are observed, including the exotic *A. caliginosa*, *A. trapezoides*, *O. cyaneum* and the native *Mi. phosphoreus* and *E. saltensis*, the latter two of small body size. It is not clear whether this indicates that small native species are the ones that adapt to agricultural rotations.

Of the nine identified species, one is endoanecic (*G. bonariensis*), which feeds on soil and plant residues, while the remainder are all polyhumic and mesohumic endogeics. The presence of polyhumic earthworms indicates carbon-rich soils, while mesohumic earthworms indicate soils with moderate

carbon contents [31]. In this study, polyhumic and mesohumic earthworms were sampled together, but in the sites with higher organic carbon content. The mesohumic earthworms were mainly collected in the crop phase, along with the polyhumic species *E. saltensis*, with carbon content ranges for the crop phase being 2.74% and 2.87%. The absence of anecic earthworms could suggest that there is no accumulation of plant residues on the surface. However, during the crop phase there is usually an accumulation of crop residues in the soil surface and the stubble is left, which could be a way to stimulate soil fauna. Despite this, there seems to be no earthworm species that are specialized on feeding on these residues.

In the rotational and continuous grazing sites, the dominant genus was *Glossoscolex sp.* (Fig. 3B). This native genus likely prevails in these land uses because the sites are in remote areas, far from population centers, where machinery traffic is minimal, thus potentially preventing the invasion of exotic species [62]. Only a single exotic individual from the *Octolasion sp.* genus was collected at one of these sites.

#### 4.2. Biomass, density, and body weight of earthworms

Evidence was found indicating that biomass, density, and body weight vary according to land use, yet no discernible pattern in their behavior based on land use intensity was observed. No significant differences in biomass were observed between the pasture and crop phases. This can be attributed to differences in the pasture floristic composition of the three sites. It was observed that only one of the pastures was composed of legumes in addition to grasses, and precisely this pasture exhibited the highest biomass value compared to the other two pastures evaluated. It is expected that pastures mainly composed of grasses, without the presence of legumes, would not reach biomass values as high as those in cropping systems that include legumes, as it has been demonstrated that legumes promote the growth and biomass of earthworms [12,13]. A study conducted in eastern Uruguay reported that permanent pastures composed of *T. repens*, *L. corniculatus*, and *L. multiflorum* presented higher earthworm biomass values than cropping

systems, which were similar to the systems used in the present study, where two crops were planted per year [63]. Another study in the Argentine pampas also reported that the land use with the highest earthworm biomass was the pasture composed of legumes and grasses [23].

Although the earthworms density in rotational grazing was significantly higher than continuous grazing in natural grasslands, both were lower than the density reported for natural grasslands in southern region of Uruguay [64], but similar to those reported for natural grasslands in the eastern region [65]. In the eastern region the density of adult earthworms in natural grasslands recorded in April 2003 was 17 individuals.  $m^{-2}$  [65]. One possible explanation for these low density values could be related to the high percentage of sandy loam and sandy clay loam textures, acidic pH values, presence of exchangeable acidity, and low organic carbon values (Table 1), as low organic carbon content and low pH can affect earthworm development [30,66,67]. For *A. caliginosa*, it has been reported that these variables negatively affect its density [29]. The soils from natural grassland sampled in the present study were characterized by having all these features, whereas sampling in the southern and western coastal regions of the country, where soils are characterized by higher clay contents, absence of exchangeable acidity, and higher soil organic carbon values, reported densities of 170 individuals.  $m^{-2}$  [59] (this issue). The density values of this study were also similar to those reported in Costa Rica on acidic soils (pH 5.9), where the study reported an average of 170 individuals.  $m^{-2}$  in pastures with rotational grazing [68].

The earthworm density was significantly higher in the crop phase compared to the pasture phase. This pattern was also observed in the eastern and northern part of the country [11,65] [69] (this issue), as well as in neighboring countries: in the Pampas [70] and Paraná region [18]. Although, Escudero et al. [9] found lower values of earthworm density in more intensive land uses than in undisturbed fields. One explanation for finding higher densities in a more intense land use, is that the crop phase uses fertilizers,

and fertilization stimulates cocoon production and increases earthworm density [32].

Another possible explanation for the higher density and biomass in the crop phase compared to the pasture phase may be the amount of crop residue left after a harvest. Crop residues are a significant source of organic matter for this system, resulting in greater abundance in agricultural systems than in pasture systems. Earthworms benefit from the presence of this resource, as the residue enhances their activity, whereas in pastures, the remaining vegetation is harvested by livestock, which decreases the resources available for their reproduction [11,71,72]. Furthermore, in agricultural rotation systems, crop residue prevents water evaporation, conserving soil moisture, which is a key factor for the development of earthworms [17,24,28].

Previous studies which have shown that grasslands generally exhibit higher values of biomass and earthworm density compared to agricultural systems, included tillage systems. Conventional tillage has a negative effect on earthworm biodiversity, damaging them and leaving them exposed to predation [73], as well as impacting soil properties e.g., reducing soil moisture and nutrient content [74,75].

#### 4.3. Soil variables and earthworm biomass and density

Soil bulk density and moisture play a significant role in shaping earthworm biomass and density [16,24–26,28,61]. Soils with high bulk density and low moisture, such as those found in the pasture phase, exhibited lower earthworm density compared to soils with low bulk density and high moisture, as observed in the crop phase. These findings align with the previous reports for bulk density [25] and for moisture [16,24,26,28,61].

Soil organic carbon was not correlated with either earthworm biomass or density. A study conducted in permanent grasslands and arable soils reported a non-significant relationship (Spearman correlation) between earthworm biomass and density with organic carbon [76]. Similar results were obtained by Chan and Barcia [25]. Other studies report that organic carbon influences earthworm density and biomass positively [15,16,24,28,61]. More

comprehensive studies are needed to clarify this point, as the diversity of earthworms is so vast that the species factor is likely to be influential, which may have a greater or lesser growth depending on the soil's organic carbon content.

Regarding the carbon:nitrogen ratio variable, a negative correlation ( $p < 0.05$ ) was found with earthworm density. This could be explained by the fact that agriculture in pasture phase showed higher values of organic carbon and lower values of earthworm density, while the nitrogen content was similar in these comparisons. However, no correlation was observed between biomass and the carbon:nitrogen ratio. This could be attributed to the fact that the species present in the permanent grasslands are bigger and the differences between the pairs of land uses for this variable are not as great as in the case of earthworm density. A review of 70 articles also reported a non-significant and negative correlation between both variables [3].

Clay contents showed a significant positive correlation with earthworm biomass and density. Clayey soils tend to retain moisture for a longer period, and moisture is a key factor for the development of earthworm populations [16,24,28] as they exhibit cutaneous respiration and require moisture to exchange oxygen and carbon dioxide in the soil [77]. This idea is reinforced by looking at the correlation between soil moisture content and the percentages of clay and sand, since these correlations were high, positive, and significant for clay and high, negative, and significant for sand.

Overall, our results and other works suggest that different management strategies such as legume planting or no till, impact earthworm communities. By promoting these best practices, we will be fostering the activity of earthworms and will reap benefits that will not only translate into crop yields but also into environmental benefits, such as carbon sequestration.

## **5. Conclusion**

The study focused on understanding the composition and characteristics of earthworm communities in different land use conditions in Uruguay. The

results revealed that land use significantly influenced the density of earthworm and mean body weight. Crop phases showed significantly higher earthworm densities compared to pasture phases, suggesting that agricultural practices with crop residues and fertilization positively impact earthworm populations. Rotational grazing also showed significantly higher earthworm density compared to continuous grazing, but how this land use impacts earthworm communities is not entirely clear. The biomass was not influenced by land use. Rotational and continuous grazing systems had similar earthworm richness, diversity, and evenness, with native species dominating these grazing systems. In contrast, the crop phase exhibited a different species composition, although the mean values of diversity indexes were similar. *Mi. phosphoreus* is the earthworm species that reached the highest density during the crop phase and *G. bonariensis* in grassland during rotational and continuous grazing.

Soils with low bulk density and high moisture, such as in the crop phase, supported higher earthworm populations. However, no significant correlation was observed between soil organic carbon and earthworm biomass or density, indicating that other factors and the diversity of earthworm species might be influencing this relationship.

Overall, the study highlights the importance of considering land use practices and soil properties in understanding and managing earthworm communities. By promoting sustainable agricultural practices that provide a suitable environment for earthworms, such as the incorporation of legumes and no-till systems, researchers and farmers can harness the benefits of earthworm activity in enhancing soil health, nutrient cycling, and crop yields. Further research in this area will help in developing more precise management strategies to optimize earthworm contributions to soil ecosystems.

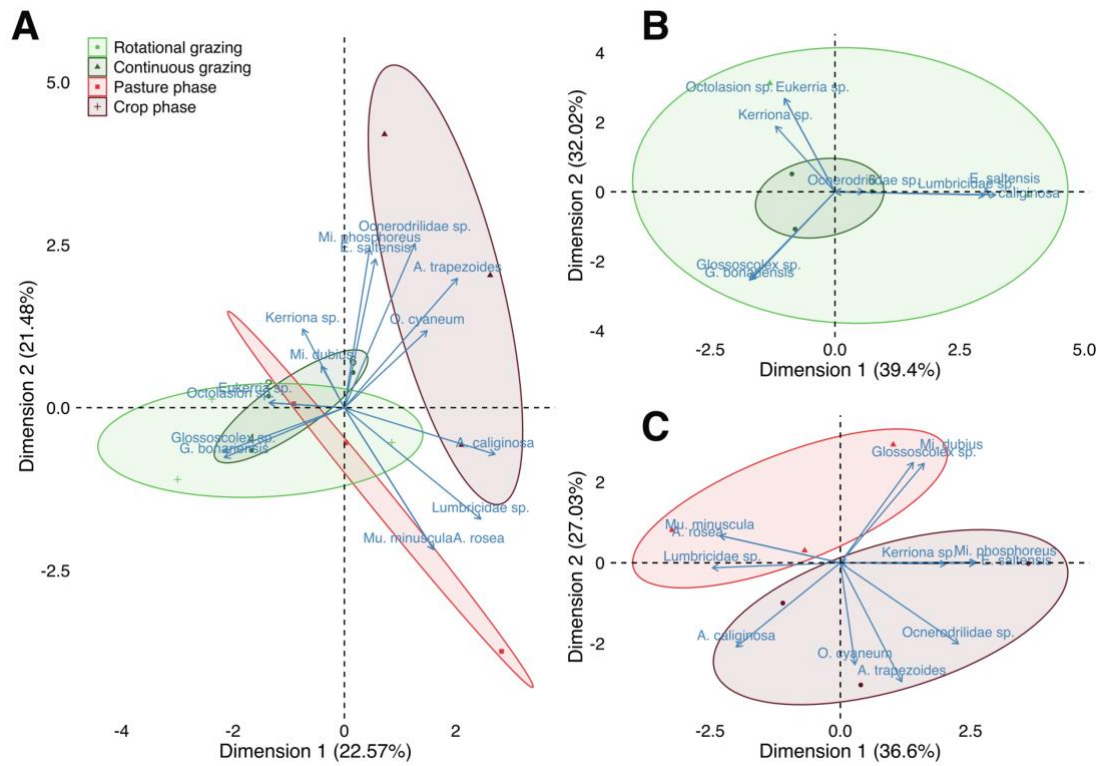


Fig. 1. Principal Component Analysis (PCA) for earthworm species based on land use. A: PCA for rotational grazing, continuous grazing and pasture phase and crop phase, B: PCA for rotational grazing and continuous grazing, C: PCA for pasture phase and crop phase.



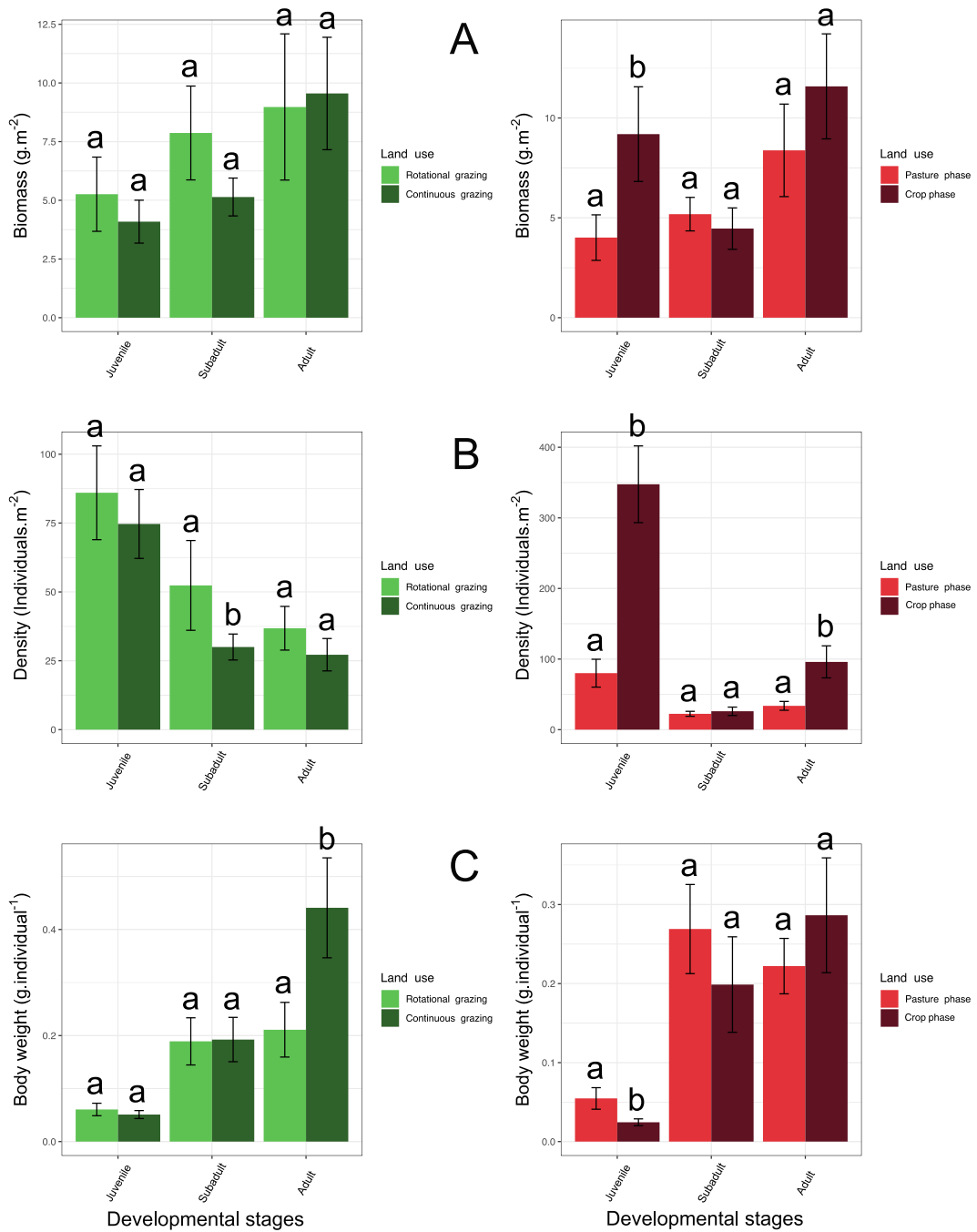


Fig. 2. Biomass (g. m<sup>-2</sup>) (A), density (individuals. m<sup>-2</sup>) (B), and body weight (g. individual<sup>-1</sup>) (C) of earthworms according to the developmental stages in relation to rotational grazing, continuous grazing, pasture phase, and crop phase. Vertical bars represent standard error.

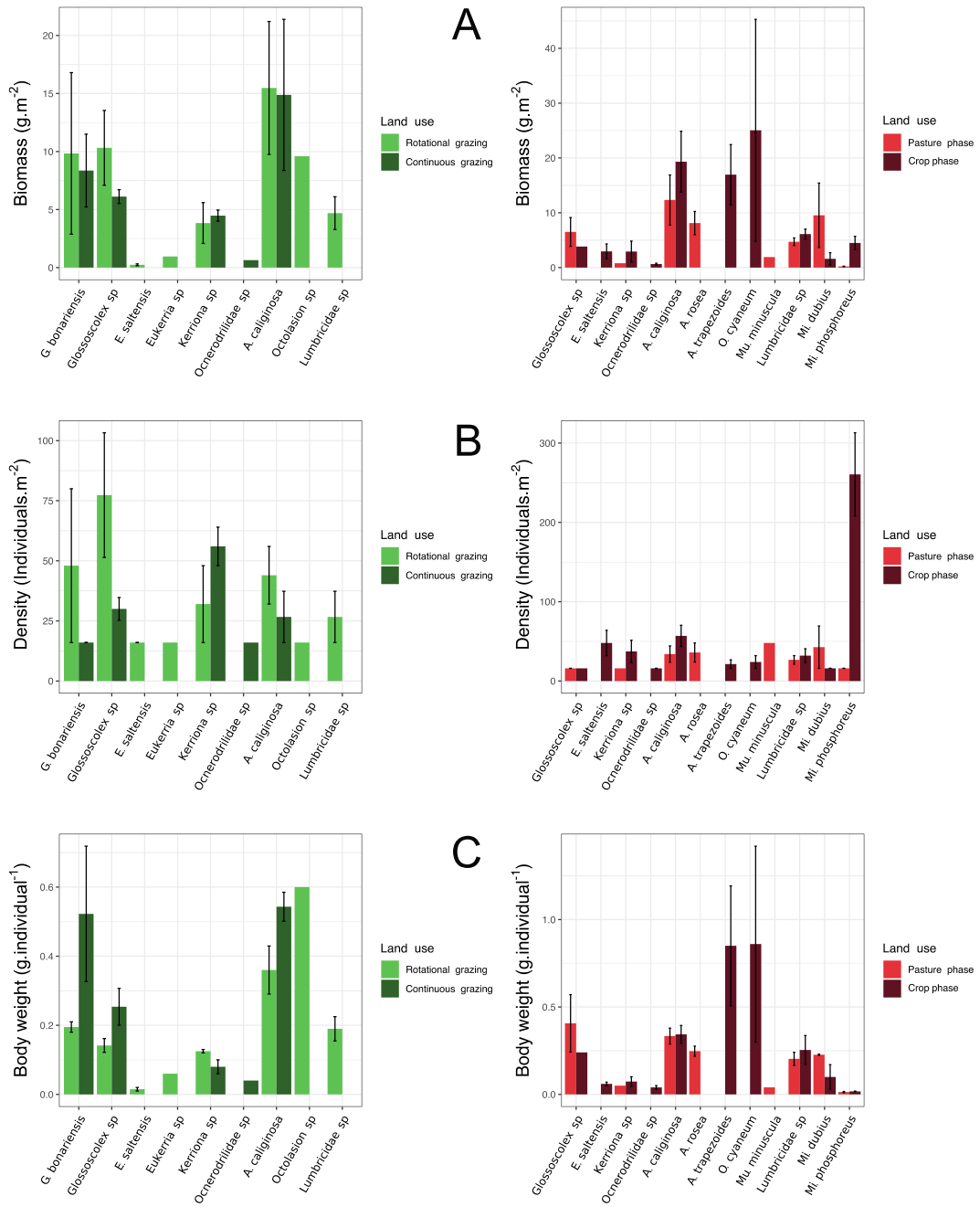


Fig. 3. Biomass (g. m<sup>-2</sup>) (A), density (individuals. m<sup>-2</sup>) (B), and body weight (g. individual<sup>-1</sup>) (C) of earthworms according to species in relation to rotational grazing, continuous grazing, pasture phase, and crop phase.

**Table 1.**

Mean and standard error for soil variables in rotational grazing, continuous grazing, pasture phase, and crop phase. Soil Organic Carbon (SOC), Total Nitrogen (TN), Carbon/Nitrogen ratio (C:N), Phosphorus Bray 1 (P Bray 1), Calcium (Ca), Magnesium (Mg), Potassium (K), Sodium (Na), Exchangeable aluminum (Al), Cation Exchange Capacity (CEC), pH (pH H<sub>2</sub>O), Sand, Silt, Clay, Moisture Content-wet weight (MC), Bulk density (BD).

Variable	Rotational grazing vs Continuous grazing		p-value	Pasture phase	Pasture phase vs Crop phase	p-value
COS (%)	1.76 ± 0.28	1.87 ± 0.30	0.09	3.20 ± 0.07	2.8 ± 0.06	<b>0.00</b>
TN (%)	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.78	0.24 ± 0.01	0.23 ± 0.01	<b>0.00</b>
C:N (%)	12.80 ± 0.53	13.7 ± 0.57	<b>0.01</b>	13.20 ± 0.82	11.80 ± 0.74	<b>0.00</b>
P Bray I (ppm)	2.98 ± 1.02	1.92 ± 0.65	0.06	13.30 ± 1.89	12.00 ± 1.68	0.55
Ca (cmol <sub>c</sub> kg)	3.05 ± 2.21	2.67 ± 1.94	0.19	13.50 ± 2.01	15.8 ± 2.35	<b>0.03</b>
Mg (cmol <sub>c</sub> kg)	1.39 ± 0.71	1.21 ± 0.62	<b>0.00</b>	3.12 ± 0.60	3.44 ± 0.66	<b>0.00</b>
K (cmol <sub>c</sub> kg)	0.31 ± 0.05	0.26 ± 0.04	<b>0.00</b>	0.42 ± 0.04	0.52 ± 0.05	<b>0.00</b>
Na (cmol <sub>c</sub> kg)	0.27 ± 0.11	0.25 ± 0.10	0.44	0.44 ± 0.06	0.38 ± 0.06	0.06
Al (cmol <sub>c</sub> kg)	0.21 ± 0.28	0.27 ± 0.32	0.87	0	0	
CEC (cmol <sub>c</sub> kg)	5.80 ± 0.16	5.51 ± 0.11	<b>0.00</b>	17.60 ± 2.52	20.30 ± 2.91	<b>0.02</b>
pH	5.40 ± 0.21 ±	5.32 ± 0.21	<b>0.00</b>	5.53 ± 0.13	5.46 ± 0.13	0.69
Sand (%)	59.30 ± 5.34	58.90 ± 5.30	0.68	23.00 ± 3.93	24.20 ± 4.13	0.61
Silt (%)	10.17 ± 5.27	8.53 ± 4.43	0.47	43.80 ± 3.81	40.00 ± 3.48	<b>0.00</b>
Clay (%)	28.40 ± 0.73	28.80 ± 0.74	0.10	32.00 ± 1.60	35.00 ± 1.74	0.07
MC (%)	17.7 ± 2.01	17.4 ± 1.98	<b>0.03</b>	20.70 ± 0.46	22.40 ± 0.50	<b>0.01</b>
BD (g cm <sup>-3</sup> )	1.28 ± 0.04	1.31 ± 0.04	0.25	1.21 ± 0.04	1.13 ± 0.03	<b>0.03</b>

Significant differences are in **bold** (p < 0.05).

**Table 2.**

Mean and standard error for richness, Shannon- Wiener index, Simpson index and Evenness index, biomass (g. m<sup>-2</sup>), density (individuals. m<sup>-2</sup>) and body weight (g. individual<sup>-1</sup>), of earthworms in rotational grazing, continuous grazing, pasture phase, and crop phase.

Variable	Rotational grazing	Continuous grazing	vs p-value	Pasture phase	Crop phase	p-value
Richness	2.67 ± 0.94	2.33 ± 0.88	0.80	3.67 ± 1.11	6.00 ± 1.41	0.20
Shannon- Wiener index	0.72 ± 0.15	0.60 ± 0.12	0.28	0.99 ± 0.26	0.99 ± 2.26	0.98
Simpson index	0.43 ± 0.08	0.38 ± 0.07	0.47	0.53 ± 0.14	0.48 ± 0.13	0.79
Evenness index	0.26 ± 0.05	0.22 ± 0.04	0.29	0.37 ± 0.09	0.37 ± 0.09	0.98
Biomass (g. m <sup>-2</sup> )	15.00 ± 2.41	11.20 ± 1.78	0.13	15.60 ± 3.34	30.40 ± 6.66	<b>0.01</b>
Density (individuals. m <sup>-2</sup> )	128.00 ±	65.20 ± 6.59	<b>0.000</b>	113.00 ±	499 ± 58.70	<b>0.000</b>
Body weight (g. individual <sup>-1</sup> )	0.12 ± 0.02	0.19 ± 0.03	<b>0.04</b>	0.14 ± 0.03	0.07 ± 0.02	<b>0.04</b>

Significant differences are in **bold** (p < 0.05).

Table 3. Pearson correlation between biomass (g. m<sup>-2</sup>), density (individuals. m<sup>-2</sup>), and body weight (g. individual<sup>-1</sup>) with physical and chemical soil variables.

Variable	Biomass (g, m <sup>-2</sup> )	Density (individuals, m <sup>-2</sup> )	Body weight (g, individual <sup>-1</sup> )
Soil Organic Carbon (%)	0,39 NS	0,32 NS	-0,25 NS
Total nitrogen (%)	0,50 NS	0,50•	-0,39 NS
Carbon:nitrogen ratio (%)	-0,40 NS	-0,61*	0,56•
Calcium (cmol <sub>c</sub> , kg)	0,75**	0,60*	-0,44 NS
Magnesium (cmol <sub>c</sub> , kg)	0,61*	0,40 NS	-0,33 NS
Potassium (cmol <sub>c</sub> , kg)	0,60*	0,74**	-0,62 NS
Capacidad de Intercambio	0,74**	0,58*	-0,43 NS
Clay (%)	0,90***	0,64*	-0,37 NS
Bulk density (g, cm <sup>-3</sup> )	-0,57•	-0,52•	0,37 NS
Soil moisture (%)	0,59*	0,55•	-0,44 NS

Significance codes for each correlation: 0 '\*\*\*\*' 0,001 '\*\*\*' 0,01 '\*\*' 0,05 '•' 0,1 'NS' Not Significant.

### **Acknowledgements**

This work was funded by the Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII), Montevideo, Uruguay. We would like to thank the Comisión Académica de Posgrados for the scholarship provided. We are grateful to the farmers and administrators of the sites where the samplings were conducted, and especially to the volunteers who participated in the study: Sabina Wlodek-Gravias; Valentina Calixto; Pablo Fernández-Busquets; Valentina Amespil-Sainz; Federico Alfaro and Mariana Pérez-Polanco.

### **References**

- [1] C.G. Jones, J.H. Lawton, M. Shachak, Organisms as Ecosystem Engineers, *Oikos*. 69 (1994) 373–386. <https://doi.org/10.2307/3545850>.
- [2] C.A. Edwards, *Earthworm ecology*, 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, 2004. <https://doi.org/10.1201/9781420039719>.
- [3] P. Heděnc, J.J. Jiménez, J. Moradi, X. Domene, D. Hackenberger, S. Barot, A. Frossard, L. Oktaba, J. Filser, P. Kindlmann, J. Frouz, Global distribution of soil fauna functional groups and their estimated litter consumption across biomes, *Sci Rep.* 12 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21563-z>.
- [4] J.W. Reynolds, *Earthworms of the world*, *Global Biodiversity*. 4 (1994) 11–16.
- [5] FAO, ITPS, GSBI, SCBD, EC, *State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities*, FAO, Rome. Italy, 2020. <https://doi.org/10.4060/cb1928en>.
- [6] J.C. Bedano, F. Vaquero, A. Domínguez, M.P. Rodríguez, L. Wall, P. Lavelle, Earthworms contribute to ecosystem process in no-till systems with high crop rotation intensity in Argentina, *Acta Oecologica*. 98 (2019) 14–24. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2019.05.003>.
- [7] J.W. van Groenigen, I.M. Lubbers, H.M.J. Vos, G.G. Brown, G.B. De Deyn, K.J. van Groenigen, Earthworms increase plant production: a meta-analysis, *Sci Rep.* 4 (2014). <https://doi.org/10.1038/srep06365>.

- [8] C. Emmerling, T. Ruf, V. Audu, W. Werner, T. Udelhoven, Earthworm communities are supported by perennial bioenergy cropping systems, *Eur J Soil Biol.* 105 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2021.103331>.
- [9] H.J. Escudero, A. Domínguez, J.C. Bedano, Large-scale ecologically-based farming systems foster earthworm communities and their contribution to ecosystem processes, *Applied Soil Ecology.* 185 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104800>.
- [10] J. Rüdissler, E. Tasser, T. Peham, E. Meyer, U. Tappeiner, Hidden engineers and service providers: Earthworms in agricultural land-use types of South Tyrol, Italy, *Sustainability (Switzerland).* 13 (2020) 1–15. <https://doi.org/10.3390/su13010312>.
- [11] M.S. Zerbino, Efecto de rotaciones cultivo-pasturas en siembra directa, con pastoreo, sobre comunidades de Oligochaeta Crop-pasture Rotations in Effects No-tillage, with Grazing, on Oligochaeta Communities, *Agrociencia Uruguay.* 16 (2012) 15–23.
- [12] A. Milcu, S. Partsch, C. Scherber, W.W. Weisser, S. Scheu, Earthworms and Legumes Control Litter Decomposition in a Plant Diversity Gradient, *Ecological Society of America.* 89 (2008) 1872–1882. <https://doi.org/10.1890/07-1377.1>.
- [13] O. Schmidt, R.O. Clements, G. Donaldson, Why do cereal-legume intercrops support large earthworm populations?, *Applied Soil Ecology.* 22 (2003) 181–190. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(02\)00131-2](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(02)00131-2).
- [14] G. Piñeiro, J.M. Paruelo, E.G. Jobbágy, R.B. Jackson, M. Oesterheld, Grazing effects on belowground C and N stocks along a network of cattle exclosures in temperate and subtropical grasslands of South America, *Global Biogeochem Cycles.* 23 (2009). <https://doi.org/10.1029/2007GB003168>.
- [15] S. Singh, J. Singh, A.P. Vig, Earthworm Community Structures in Three Wetland Ecosystems with Reference to Soil Physicochemical Properties, *Proc Zool Soc.* 75 (2022) 231–241. <https://doi.org/10.1007/s12595-022-00436-3>.

- [16] S. Singh, J. Singh, A.P. Vig, Diversity and Abundance of Earthworms in Different Landuse Patterns: Relation with Soil Properties, *Asian J Biol Life Sci.* 9 (2020a) 111–118. <https://doi.org/10.5530/ajbls.2020.9.18>.
- [17] D.R. Griffith, J.V. Mannering, J.E. Box, Soil and moisture, management with reduced tillage, in: M.A. Sprague, G.B. Triplett (Eds.), *No-Tillage and Surface-Tillage Agriculture: The Tillage Revolution*, 1 st ed., John Wiley & Sons, New York, 1986: pp. 19–57.
- [18] G. Brown, N. Benito, A. Pasini, K. Sautter, M. Guimarães, E. Torres, No-tillage greatly increases earthworm populations in Paraná state, Brazil, *Pedobiologia (Jena)*. 47 (2003) 764–771. <https://doi.org/10.1078/0031-4056-00256>.
- [19] K.Y. Chan, An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity - implications for functioning in soils, *Soil Tillage Res.* 57 (2001) 179–191. [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(00\)00173-2](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(00)00173-2).
- [20] P.R. Hobbs, K. Sayre, R. Gupta, The role of conservation agriculture in sustainable agriculture, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 363 (2008) 543–555. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2169>.
- [21] B.R. Stinner, G.J. House, Arthropods and other invertebrates in conservation-tillage agriculture, *Annu Rev Entomol.* 35 (1990) 299–318. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.35.010190.001503>.
- [22] M.L.C. Bartz, G.G. Brown, M.G. da Rosa, O.K. Filho, S.W. James, T. Decaëns, D. Baretta, Earthworm richness in land-use systems in Santa Catarina, Brazil, *Applied Soil Ecology*. 83 (2014) 59–70. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.03.003>.
- [23] M.P. Rodríguez, A. Domínguez, M.M. Ferroni, L.G. Wall, J.C. Bedano, The Diversification and Intensification of Crop Rotations under No-Till Promote Earthworm Abundance and Biomass, *Agronomy*. 7 (2020) 919. <https://doi.org/10.3390/agronomy10070919>.

- [24] R. Bisht, H. Pandey, D. Bharti, B.R. Kaushal, Population dynamics of earthworms (Oligochaeta) in cultivated soils of central Himalayan tarai region, *Trop Ecol.* 44 (2003) 229–234.
- [25] K.Y. Chan, I. Barchia, Soil compaction controls the abundance, biomass and distribution of earthworms in a single dairy farm in south-eastern Australia, *Soil Tillage Res.* 94 (2007) 75–82. <https://doi.org/10.1016/j.still.2006.07.006>.
- [26] S. Singh, A. Sharma, K. Khajuria, J. Singh, A.P. Vig, Soil properties changes earthworm diversity indices in different agro-ecosystem, *BMC Ecol.* 20 (2020b). <https://doi.org/10.1186/s12898-020-00296-5>.
- [27] J. Singh, E. Cameron, T. Reitz, M. Schädler, N. Eisenhauer, Grassland management effects on earthworm communities under ambient and future climatic conditions, *Eur J Soil Sci.* 72 (2020c) 343–355. <https://doi.org/10.1111/ejss.12942>.
- [28] S. Singh, J. Singh, A.P. Vig, Effect of abiotic factors on the distribution of earthworms in different land use patterns, *The Journal of Basic & Applied Zoology.* 74 (2016) 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.jobaz.2016.06.001>.
- [29] A. El-Duweini, S.I. Ghabbour, Population Density and Biomass of Earthworms in Different Types of Egyptian Soils, *Journal of Applied Ecology.* 2 (1965) 271–287. <https://doi.org/10.2307/2401479>.
- [30] W.-C. Ma, L. Brussaard, J.A. De Ridder, Long-term Effects of Nitrogenous Fertilizers on Grassland Earthworms (Oligochaeta: Lumbricidae): Their Relation to Soil Acidification, *Ecosystems and Environment.* 30 (1990) 71–80. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(90\)90184-F](https://doi.org/10.1016/0167-8809(90)90184-F).
- [31] Lavelle. P, Brussaard. L, Hendrix. P, *Earthworm Management in Tropical Agroecosystems*, CABI Publishing, New York, 1999.
- [32] U. Boström, A. Lofs-Holmin, Growth of earthworms (*Allolobophora caliginosa*) fed shoots and roots of barley, meadow fescue and lucerne studies in relation to particle size, protein, crude fiber content and toxicity, *Pedobiologia (Jena).* 29 (1986) 1–12.



- [33] MGAP, Actualización de Cobertura y Uso del Suelo del Uruguay al año 2020/2021, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, República Oriental del Uruguay, Montevideo, Uruguay, 2021.
- [34] MGAP, Regiones agropecuarias del Uruguay, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, República Oriental del Uruguay, Montevideo, Uruguay, 2015.
- [35] MGAP, Análisis sectorial y cadenas productivas. Temas de política. Estudios, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, República Oriental del Uruguay Montevideo, 2019.
- [36] J.M. Anderson, J.S.I. Ingram, Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Methods., 2nd ed., CAB International, Wallingford., UK, 1993.
- [37] ISO 23611-1, International Organization for Standardization. Soil quality - Sampling of soil invertebrates - Part 1: Hand-sorting and extraction of earthworms, Geneva, Switzerland, 2018.
- [38] G. Righi, Minhocas de Mato Grosso e de Rondônia, CNPq/AED. Relatório de Pesquisa, 12. Programa Polonoroeste. 157pp., Brasília, 1990.
- [39] J.H. Dane, C.G. Topp, Methods of soil analysis, Part 4: Physical methods, Soil science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, 2002.
- [40] F. García, A. Kaplan, Evaluación de un método para determinar densidad aparente, macroporosidad y microporosidad en el suelo, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, 1974.
- [41] W. Van Lierop, Soil pH and lime requirement determination, in: R.L. Westerman (Ed.), Soil Testing and Plant Analysis, 3rd ed., SSSA Book Series, 1990: pp. 73–126. <https://doi.org/10.2136/sssabookser3.3ed.c5>.
- [42] G.W. Thomas, Soil pH and Soil Acidity, in: D.L. Sparks, A.L. Page, P.A. Helmke, R.H. Loeppert, P.N. Soltanpour, M.A. Tabatabai, C.T. Johnston, M.E. Sumner (Eds.), Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods, SSSA Book Series, Madison, Wisconsin, 1996: pp. 475–490. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c16>.

- [43] R.H. Bray, L.T. Kurtz, Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils, *Soil Sci.* 59 (1945) 39–46. <https://doi.org/10.1097/00010694-194501000-00006>.
- [44] R.A. Isaac, J.D. Kerber, Atomic absorption and flame photometry: Techniques and uses in soil, plant, and water analysis. Instrumental methods for analysis of soils and plant tissue, 1971.
- [45] W. Forsythe, Física de suelos: manual de laboratorio, San José, Costa Rica, 1975.
- [46] USDA, Soil Survey Manual. Soil Science Division Staff Agriculture Handbook No. 18, Government Printing Office, Washington, D.C, 2017.
- [47] D.W. Nelson, L.E. Sommers, Total carbon, organic carbon, and organic matter, in: D.L. Sparks, A.L. Page, P.A. Helmke, R.H. Loeppert, P.N. Soltanpour, M.A. Tabatabai, C.T. Johnston, M.E. Sumner (Eds.), *Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods*, SSSA Book Series, Madison, Wisconsin, 1996: pp. 961–1010. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c34>.
- [48] J.M. Bremner, C.S. Mulvaney, Nitrogen-Total, in: A.L. Page, R.H. Miller, D.R. Keeney (Eds.), *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*, SSSA, Madison, Wisconsin, 1983: pp. 595–624. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c31>.
- [49] G. Righi, Introducción al estudio de las lombrices del suelo (oligoquetos megadrilos) de la Provincia de Santa Fe (Argentina), *Asociacion de Ciencias Naturales Del Litoral*, 1979.
- [50] J.W. Reynolds, *Earthworm Biology and Ecology*. Course manual, Ontario, 1996.
- [51] E. Sherlock, *Key to the earthworms of Britain and Ireland*, 2nd ed., The Field Studies Council, 2018.
- [52] E. Grosso, G. Brown, Biodiversidad y ecología de las lombrices de tierra en el Uruguay, in: *Minhocas Na América Latina: Biodiversidade e Ecologia*, 2007: pp. 287–296.
- [53] C.E. Shannon, W. , *The mathematical theory of communication*, Urbana, 1964.

- [54] E.H. Simpson, Measurement of Diversity, *Nature*. 163 (1949) 688–688.
- [55] J.H. Zar, *Biostatistical Analysis*, 5th ed., Prentice-Hall/Pearson, Upper Saddle River, NJ, USA, 2010.
- [56] R. R Core Team, *A Language and Environment for Statistical Computing.*, (2023).
- [57] M. Rätty, Growth of *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea caliginosa* in an acid forest soil, and their effects on enchytraeid populations and soil properties, *Pedobiologia* (Jena). 48 (2004) 321–328. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2004.03.006>.
- [58] C. van Capelle, S. Schrader, S. Arpaia, Selection of focal earthworm species as non-target soil organisms for environmental risk assessment of genetically modified plants, *Science of the Total Environment*. 548–549 (2016) 360–369. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.165>.
- [59] A. Ligrone, M. Alvarez, G. Jorge-Escudero, G. Piñeiro, Impacts of agricultural land use on earthworm communities: insights into diversity, abundance, and functional traits, *European Journal of Soil Biolgy*. (2023), (this issue).
- [60] S.J. Crittenden, T. Eswaramurthy, R.G.M. de Goede, L. Brussaard, M.M. Pulleman, Effect of tillage on earthworms over short- and medium-term in conventional and organic farming, *Applied Soil Ecology*. 83 (2014) 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.03.001>.
- [61] S. Mcinga, L. Muzangwa, K. Janhi, P.N.S. Mnkeni, Conservation agriculture practices can improve earthworm species richness and abundance in the semi-arid climate of Eastern Cape, South Africa, *Agriculture (Switzerland)*. 10 (2020) 1–12. <https://doi.org/10.3390/agriculture10120576>.
- [62] E.K. Cameron, E.M. Bayne, M.J. Clapperton. Human-facilitated invasion of exotic earthworms into northern boreal forests, *Ecoscience*. 14 (2007) 482–490.
- [63] M.S. Zerbino, Evaluación de la biomasa de lombrices de tierra en diferentes sistemas de producción del Uruguay, in: G. Brown, C. Fragoso

(Eds.), *Minhocas Na América Latina: Biodiversidade e Ecologia*, first ed., Embrapa, 2007.

[64] E. Grosso, G. Jorge, G.G. Brown, Exotic and Native Earthworms in Various Land Use Systems of Central, Southern and Eastern Uruguay, *Caribb J Sci.* 42 (2006) 294–300.

[65] M.S. Zerbino, C. Rodríguez, N.A. Altier, Earthworms in Agro-Ecosystems of Uruguay, *Caribb J Sci.* 42 (2006) 315–324.

[66] S. Cesarz, D. Craven, C. Dietrich, N. Eisenhauer, Effects of soil and leaf litter quality on the biomass of two endogeic earthworm species, *Eur J Soil Biol.* 77 (2016) 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2016.09.002>.

[67] J.P. Curry, O. Schmidt, The feeding ecology of earthworms - A review, *Pedobiologia (Jena)*. 50 (2007) 463–477. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2006.09.001>.

[68] C. Boschini-Figueroa, A. Chacón-Villalobos, J. Araya-Rodríguez, Población de lombrices (Oligochaeta:Annelida) en una finca con bovinos lecheros, en Costa Rica, *Agronomía Mesoamericana*. 20 (2009) 91–99.

[69] G. Jorge-Escudero, A. Ligrone, C. Pérez, C. Matínez, M. Cadenazzi, J. Lagerlöf, Land use effect on dominance of native and exotic earthworm species in two contrasting rural landscapes, *European Journal of Soil Biology*. (2023), (this issue).

[70] L.B. Falco, R. Sandler, F. Momo, C. Di Ciocco, L. Saravia, C. Coviella, Earthworm assemblages in different intensity of agricultural uses and their relation to edaphic variables, *PeerJ*. 2015 (2015). <https://doi.org/10.7717/peerj.979>.

[71] C. Emmerling, Response of earthworm communities to different types of soil tillage, *Applied Soil Ecology*. 17 (2001) 91–96. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00132-3](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00132-3).

[72] C. Pelosi, M. Bertrand, J. Roger-Estrade, Earthworm community in conventional, organic and direct seeding with living mulch cropping systems, *Agron Sustain Dev.* 29 (2009) 287–295. <https://doi.org/10.1051/agro/2008069>.

- [73] K.E. Giller, M.H. Beare, P. Lavelle, A.-M.N. Izac, M.J. Swift, Applied Soil Ecology Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function, *Applied Soil Ecology*. 6 (1997) 3–16. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(96\)00149-7](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(96)00149-7).
- [74] A.J. Ashworth, F.L. Allen, D.D. Tyler, D.H. Pote, M.J. Shipitalo, Earthworm populations are affected from long-term crop sequences and bio-covers under no-tillage, *Pedobiologia (Jena)*. 60 (2017) 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2017.01.001>.
- [75] A.S.A. Johnston, R.M. Sibly, M.E. Hodson, T. Alvarez, P. Thorbek, Effects of agricultural management practices on earthworm populations and crop yield: Validation and application of a mechanistic modelling approach, *Journal of Applied Ecology*. 52 (2015) 1334–1342. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12501>.
- [76] R. Kanianska, J. Jad'ud'ová, J. Makovníková, M. Kizeková, Assessment of relationships between earthworms and soil abiotic and biotic factors as a tool in sustainable agricultural, *Sustainability (Switzerland)*. 8 (2016). <https://doi.org/10.3390/su8090906>.
- [77] K.E. Lee, *Earthworms: their ecology and relationships with soils and land use*, Academic Press, Inc (London) LTD, London, 1985.