

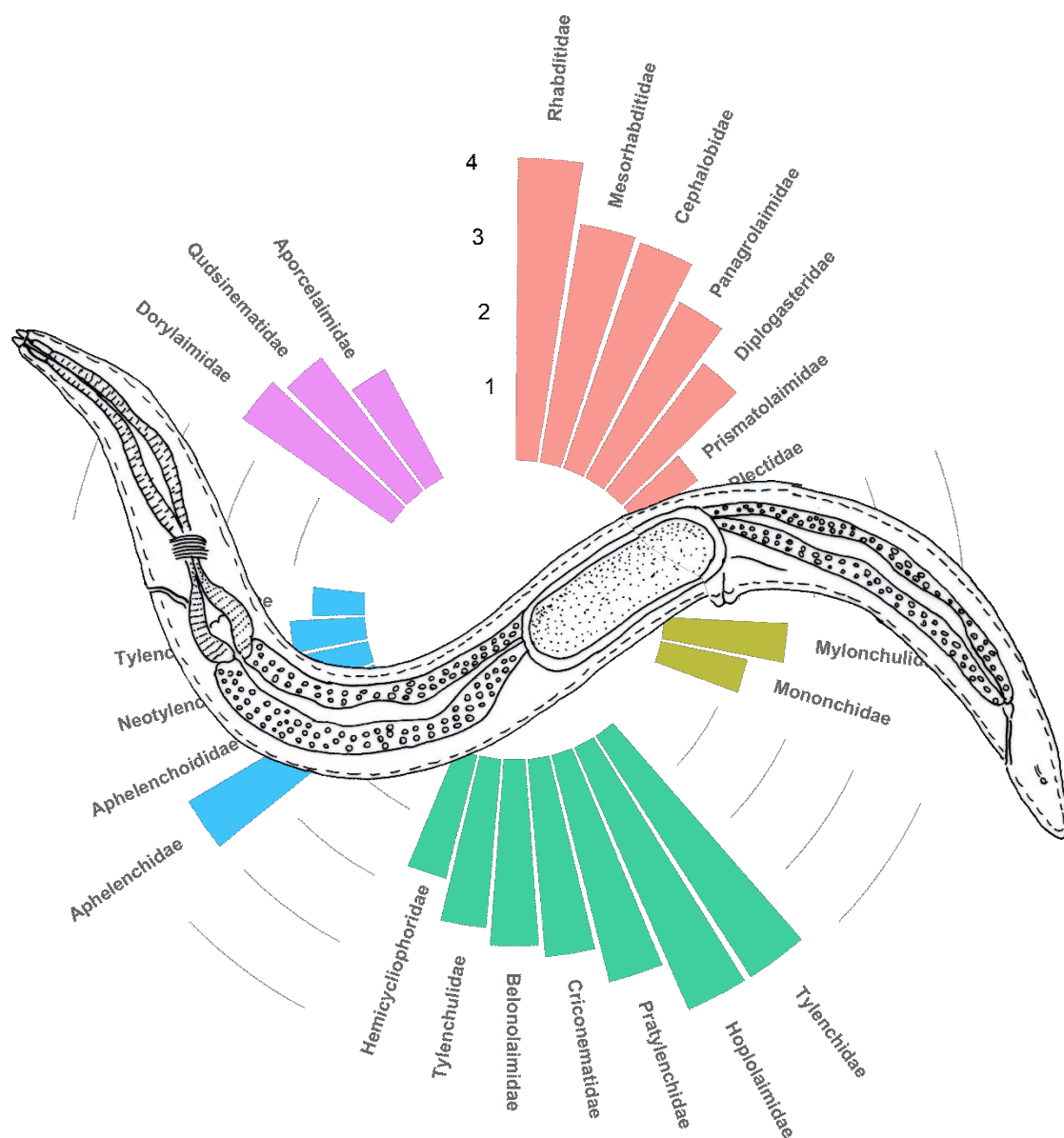


UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
Facultad de Ciencias Naturales y Museo

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE NEMATODOS ASOCIADOS AL SUSTRATO COMO INDICADORES DE LA CALIDAD DEL SUELO EN AGROECOSISTEMAS

Trabajo de investigación para optar por el título de Doctor en Ciencias Naturales

Lic. Salas, Augusto



2019

Directoras

Dra. María Fernanda Achinelly y Dra. Nora Beatriz Camino

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a mis directoras.

A Fernanda, por brindarme su apoyo y amistad incondicionales.

A Eliseo Chaves, por su amistad, guía espiritual y profesional.

A mi familia, en especial a Inés y Oscar, por estar presentes siempre.

A mi tío Diego, por aconsejarme desde el inicio de mi ciclo académico.

A mis amigos, Fran, Nico, Lea, Javi, Wence y Carlu.

A mis amigos: Ro, Fer, Pili, Nati, Eva, Dani, Leo, Cata, Facu, Kuzma y las Dai, de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo con los cuales comparto un vínculo inquebrantable.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), por el financiamiento otorgado para la realización de esta Tesis.

A la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata (FCNyM-UNLP) por la formación académica recibida.

A la Comisión de Posgrado por su tiempo y dedicación.

Al Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE. CONICET-UNLP), a sus directoras e integrantes, por brindarme el lugar de trabajo para realizar esta tesis doctoral.

A los productores del Cinturón Hortícola Platense, por brindarme su tiempo y confianza.

A Graciela Minardi, por su apoyo en los análisis estadísticos y sus apreciados consejos.

A María Laura Morote, por soportarme, brindarme su amistad, y por diseñar la tesis haciéndola agradable a la vista.

A mis colegas y amigos del CEPAVE e ILPLA: Sofi, Marianita, Fuss, Estefi, Maru, Eli, Coco, Na, Andre, Fran, Nati, Mar, Nacho y Pana, su amistad hizo que el tiempo transcurrido haya sido un regalo.

A mis compañeros de laboratorio: Dai, Mati y Rosales, gracias.

PROLOGO

La especie humana está hoy día en la imperiosa misión de producir alimentos tanto animales como vegetales que satisfagan la demanda del consumo de la población mundial. El recurso para desarrollar dicha tarea es el suelo, el ente primordial que sustenta los ecosistemas terrestres. La salud del suelo por lo tanto, tiene que ser el principal foco de atención a la hora de establecer prácticas y políticas de manejo agrícola. El suelo proporciona el soporte de la producción vegetal, filtración de agua, desintoxicación de contaminantes y alberga una gran cantidad de organismos que descomponen la materia orgánica y proporcionan nutrientes para las plantas.

Un suelo sano, entonces, debe tener una estructura física idónea para el crecimiento de las raíces de las plantas, buena capacidad de absorción, almacenamiento y liberación de nutrientes, supresión de plagas y enfermedades. De hecho, la productividad, regida por la vertiginosa demanda de alimentos, se mide en términos de velocidad y calidad. Estas tendencias generan la producción de organismos genéticamente modificados y la explotación de la capa superficial del suelo, usando insumos de síntesis química (agroquímicos) con el fin de obtener plantas más vistosas, grandes, con mayor cantidad de frutos y que se desarrollen en un medio libre de plagas y enfermedades.

Claramente es un objetivo que *a priori* parece atractivo, pero se estaría obviando un aspecto crucial ya que estas acciones afectan directamente la salud del suelo y los organismos que viven en él. Cuando en la década del 60 se inició la revolución verde, poco se sabía o se quería saber, sobre los efectos que podrían tener la siembra de monocultivos y el uso de agroquímicos. Hoy es de público conocimiento las consecuencias que estas prácticas tienen en la salud de los organismos vivos, incluida nuestra especie y los efectos que producen en el sistema suelo. Un caso puntual es la reducción de la biodiversidad reducción que aumenta las probabilidades de aparición de especies que en ausencia de enemigos naturales comienzan a establecerse sin impedimentos, llegando a convertirse en organismos plaga ocasionando cuantiosas pérdidas económicas a nivel mundial. Esto, sin considerar el delicado tema de cómo afectan estas prácticas a la salud humana, lleva al replanteo de cuáles son los manejos agrícolas más convenientes que retribuyan a la demanda de alimentos para la población sin afectar la calidad y salud del suelo y sus organismos. En este sentido aparecen términos como permacultura, agricultura ecológica, agricultura sustentable o agroecología. Estas disciplinas no son ajenas a la productividad, pero tienen como eje principal el mantenimiento de la salud del suelo y la biodiversidad para que la práctica agrícola sea eficiente a largo plazo. Quizás sea momento de tomar una profunda decisión y decidir el camino a seguir....

INDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	3
INTRODUCCIÓN	5
MARCO TEORICO	5
Suelo.....	5
Fauna del suelo	6
Calidad del suelo	6
Indicadores biológicos.....	7
Tabla I.1. Características de los bioindicadores.....	8
Nematodos como bioindicadores	8
Figura I.1. Esquema general de un nematodo.....	10
Consideraciones sobre el análisis de la comunidad de nematodos edáficos.....	11
El Cinturón Hortícola Platense	11
RELEVANCIA DEL PROBLEMA	12
HIPÓTESIS	13
OBJETIVO GENERAL.....	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
AREA DE ESTUDIO	15
Figura M.1. Mapa del partido de La Plata y alrededores.....	15
Caracterización de los manejos agrícolas presentes en los sitios de muestreo.....	16
Tabla M.1. Caracterización físico-química de los sitios de muestreo	20
Obtención de las muestras de suelo	20
Figura M.2. Elementos y metodología de muestreo.....	20
Extracción y aislamiento de los nematodos del suelo.....	21
Preparados permanentes e identificación de nematodos	21
Figura M.3. Elementos de laboratorio.....	22
ANALISIS DE LA COMUNIDAD DE NEMATODOS	23
Características ecológicas y clasificación de los nematodos para su análisis	23

Grupos Tróficos	23
Figura M.4. Esquema representativo de grupos tróficos	24
Escala colonizador-persistente	25
Figura M.5. Escala cp	25
Gremios.....	26
Tabla M.2. Clasificación de gremios funcionales.....	26
VARIABLES ECOLÓGICAS	26
Abundancia y frecuencia	26
Índices de diversidad de la comunidad de nematodos	27
Índices de madurez	28
Índices de la red trófica.....	29
Figura M.6. Perfil de fauna edáfica	31
Figura M. 7. Representación gráfica de las huellas metabólicas.....	32
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	32
ANOVA	33
ANOSIM & SIMPER	33
RESULTADOS	34
ANÁLISIS DE LA COMUNIDAD DE NEMATODOS DEL CHP.....	34
Figura R.1. Representación logarítmica de familias de nematodos	34
Tabla R.1. Resultados generales de las categorías de nematodos.	35
Figura R.2. Abundancia y frecuencia de los géneros de nematodos	36
Tabla.R.2. Abundancia y frecuencia en el cultivo agroecológico.	37
Tabla.R.3. Abundancia y frecuencia en el cultivo con enmiendas orgánicas.....	38
Tabla.R.4. Abundancia y frecuencia en el cultivo con BrMe.	39
Tabla.R.5. Abundancia y frecuencia en el bosque prístino.....	40
Lámina R.1. Fotografías de los principales géneros determinados	41
Tabla R.6. Resultados ANOSIM.....	42
Tabla R.7. Resultados SIMPER.....	43
Grupos Tróficos	44
Lámina R.2. Fotografías de grupos tróficos.....	45
Figura R.3. Porcentaje de grupos tróficos	46
Tabla R.8. Resultado estadístico de grupos tróficos.....	46
Tabla R.9. Abundancia de grupos tróficos	47
Figura R.4. Porcentaje de fitófagos	47
Escala colonizador-persistente	48

Figura R.5. Porcentajes de colonizadores-persistentes totales.....	49
Figura R.6. Porcentajes de colonizadores-persistentes por sitio de muestreo	49
Tabla R.10. Abundancias de colonizadores-persistentes por sitio de muestreo	49
Tabla R.11. Resultado estadístico para las categorías cp 1 y cp	50
Figura R.7. Porcentajes de nematodos pp2 y pp3	50
Tabla R.12. Abundancias de nematodos pp2 y pp3	50
Gremios funcionales	51
Figura R.8. Porcentaje de gremios funcionales	51
Tabla R.13. Abundancia de gremios funcionales	52
Figura R.9. Porcentaje de gremios funcionales por sitio de muestreo	52
Tabla R.14. Resultado estadístico para los gremios de nematodos	52
ÍNDICES ECOLÓGICOS	53
Índices de estructura de la comunidad de nematodos.....	53
Tabla R.15. Valores de los índices de diversidad	53
Tabla R.16. Resultado estadístico para los índices de diversidad	54
Índices de función del ecosistema	54
Tabla R.17. Valores de los índices de función del ecosistema.....	54
Tabla R.18. Resultado estadístico para los índices de función	55
Figura R.10. Representación gráfica de la red trófica	55
Figura R. 11. Representación gráfica de huellas metabólicas.....	56
DISCUSIÓN.....	57
CONCLUSIONES.....	65
PERSPECTIVAS FUTURAS	66
BIBLIOGRAFÍA	67

RESUMEN

El suelo es el sistema terrestre que alberga uno de los mayores reservorios de diversidad de organismos en el planeta. Constituye el sistema fundamental sobre el que se mantiene la producción agraria y una gran parte de los servicios ecosistémicos brindados por la diversidad de organismos presentes. La producción agrícola convencional degrada e impide el desarrollo de la biodiversidad en el ecosistema terrestre al producir diferentes grados de disturbios en el sistema edáfico produciendo suelos de baja calidad, capacidad de producción y sustentabilidad temporal. Para que un suelo sea saludable el mismo debe mantener la productividad biológica, la calidad del ambiente y promover la salud de plantas y animales. Una de las herramientas utilizadas en las últimas décadas para monitorear la calidad del suelo son los bioindicadores, organismos cuyas respuestas a disturbios en el ambiente pueden ser medidas y evaluadas, indicando el estado biótico y abiótico del ecosistema. Los nematodos son organismos cosmopolitas y poseen roles específicos en la red trófica clasificables en grupos tróficos y gremios funcionales.

En la Provincia de Buenos Aires la mayor concentración de producción hortícola se ubica en la zona sur en el Cinturón Hortícola Platense (CHP) con unas 6500 hectáreas cultivadas, en su mayoría con metodologías convencionales intensivas. Estas prácticas conllevan problemas como la utilización sin descanso del suelo, el uso de agroquímicos que pueden impactar negativamente sobre organismos no blanco y el ambiente y la reducción paulatina en la diversidad de especies cultivadas. El objetivo de esta tesis fue realizar un análisis de las comunidades de nematodos edáficos a través de la evaluación de índices ecológicos para determinar cuáles de ellos describen de manera apropiada los cambios ocasionados en suelos sometidos a diferentes tipos de prácticas hortícolas desarrolladas en el Partido de La Plata y alrededores.

La recolección de muestras se realizó en suelos hortícolas dedicados principalmente al cultivo de tomate sometidos a tres tipos diferentes de manejo, ubicados dentro del CHP definidos como: 1. cultivo agroecológico (sin aplicación de insumos de síntesis, amplia rotación de cultivos y presencia de malezas espontáneas). 2. cultivo con aplicación de enmiendas orgánicas como fertilizantes. 3. cultivo convencional intensivo con uso de fertilizantes inorgánicos y bromuro de metilo (BrMe) como nematocida y 4. bosque sin intervención antrópica perteneciente a la reserva del Parque Pereyra Iraola, libre de actividad agrícola. Las muestras extraídas de los distintos sistemas fueron llevadas al laboratorio donde se extrajeron los nematodos por el método de flotación y centrifugación en sacarosa. Los nematodos fueron clasificados taxonómicamente a nivel de género y familia. Se calculó la abundancia y frecuencia de los taxones y se agruparon en tres categorías de análisis: grupos

tróficos (bacteriófagos, fungívoros, fitófagos, omnívoros y depredadores), colonizadores-persistentes (valores 1-5) y gremios funcionales. Se calcularon y buscaron diferencias significativas mediante ANOVA y ANOSIM entre abundancias de géneros; índices de diversidad (Riqueza (S), Margalef (D_{mg}), Shannon (H') y Pielou (J')); índices de madurez (índice de madurez (MI), fitoparasitario (PPI), MI 2-5); índices de la red trófica (índice de enriquecimiento (EI), estructura (SI), basal (BI) y de canal (CI)) y huellas metabólicas entre cada sistema edáfico muestreado.

Los resultados permitieron determinar 47 taxones dentro de 24 familias. Los géneros más abundantes fueron *Rhabditis*, *Helicotylenchus* y *Filenchus*. Los nematodos oportunistas del enriquecimiento, indicadores de condiciones basales de la red trófica, se destacaron por su alto porcentaje en los sistemas hortícolas. Se determinaron diferencias significativas en: I. las abundancias de nematodos entre el cultivo con BrMe y los restantes sitios; II. los grupos tróficos bacteriófagos y fitófagos entre el bosque prístino y los cultivos con enmienda orgánica y con BrMe; III. los cp1 y cp2 entre el bosque prístino y los tres sistemas hortícolas; IV. los gremios funcionales de fitófagos (Fi3) y de fungívoros (Fu2) entre el bosque prístino y los tres sistemas hortícolas; V. los índices de diversidad D_{mg} y H' entre los cultivos agroecológico y con BrMe; VI. en los índices de madurez (MI) entre el bosque prístino y los cultivos con enmienda y con BrMe y en los índices de red trófica: EI y CI entre el bosque prístino y los tres sistemas hortícolas. El cultivo agroecológico presentó el mayor valor de grupos tróficos depredadores y omnívoros (cp 3-5) y de los índices de diversidad y equitabilidad y no se hallaron fitoparásitos sedentarios de importancia económica.

Los géneros bacteriófagos en los sitios tratados con fertilizantes respondieron al enriquecimiento y disponibilidad de alimentos, aumentando sus poblaciones y dominando en las muestras analizadas. En el bosque prístino la gran cantidad de fitófagos fue debido a la presencia de *Helicotylenchus*, género de hábito semiendoparásito de baja importancia económica y habitual en ambientes naturales. Los altos valores de nematodos cp1 en suelos cultivados, estarían indicando el estado de alteración del suelo independientemente del manejo agrícola utilizado. Acorde a lo esperado, el cultivo donde se aplicó BrMe mostró los valores más bajos de D_{mg} y H' , reflejando el efecto que tiene este biocida junto a la escasa rotación de cultivos sobre la diversidad de las comunidades edáficas. En línea con los resultados de los índices de diversidad, la madurez del ecosistema fue estimada gracias a los índices MI y EI indicando que los suelos cultivados se encontrarían en instancias primarias de sucesión presentando en su mayoría organismos en los niveles más bajos de la red trófica, no así en el sitio prístino donde MI tuvo el mayor valor respecto a todos los sitios muestreados mientras que EI el valor más bajo manifestando. Los resultados de las huellas metabólicas indicaron que el carbono fue utilizado por los gremios basales (Ba1, Fu2 y Ba2) for-

mando un rombo con una gran amplitud en el eje vertical, con muy poca presencia de indicadores de estructura, incluso para el bosque prístino donde se encontraron los mayores números de depredadores

Los resultados obtenidos en este trabajo indicaron que las comunidades de nematodos edáficos son capaces de evidenciar cambios de origen antrópico en los agroecosistemas del CHP relacionados a las diferentes prácticas de manejo de cultivos llevadas a cabo, principalmente las concernientes al manejo de plagas. Si bien los suelos sometidos a los tres tipos de manejo agrícola registraron perturbación, los resultados del análisis demostraron que los ambientes agroecológicos sufrieron menores alteraciones respecto a la diversidad y madurez de las comunidades indicando una menor alteración en la calidad del suelo.

ABSTRACT

Soil is the terrestrial system that houses one of the largest reservoirs of diversity of organisms on the planet, with millions of species of bacteria, fungi, nematodes, mites, oligochaetes and other organisms. It constitutes the fundamental system where agricultural production is maintained and a large part of the ecosystem services are provided by the diversity of organisms. The conventional agricultural production degrades the development of biodiversity in the terrestrial ecosystem producing different degrees of disturbances and soils of low quality, production capacity and temporary sustainability. A healthy or quality soil must maintain biological productivity, the quality of the environment and promote the health of plants and animals. One of the tools used in the last decades are the bioindicators, those that respond to disturbances in the environment, indicating the biotic and abiotic state of the ecosystem. To be reliable, the indicators must be easy to obtain, manipulate and identify, have a key role in the trophic food web and have socioeconomic and environmental importance.

Nematodes are cosmopolitan organisms, which are found in large abundances in small samples of soil, easily obtained, and they are identified taxonomically on the basis of morphological structures. In the trophic food web they have specific roles classified into trophic groups and functional guilds.

In the Province of Buenos Aires, the highest concentration of horticultural production is located in the southern zone in the area of La Plata with some 6500 cultivated hectares, mostly with conventional methodologies. These practices involve problems such as the intensive use of soil, the use of pesticides that threaten the health of organisms and the environment and the gradual reduction in the diversity of cultivated species. The objective of this thesis was to carry out an analysis of the communities of edaphic nematodes through

the evaluation of ecological indexes to determine which of them describe in an appropriate way the changes caused in soils subject to different types of horticultural practices developed in La Plata city and surroundings.

The sample collection was carried out in horticultural soils mainly dedicated to tomato crops subjected to three different types of management, defined as: 1. agroecological cultivation (without application of inorganic inputs, wide crop rotation and presence of spontaneous weeds)). 2. crops with application of organic amendments as fertilizers. 3. intensive conventional cultivation with the use of inorganic fertilizers and methyl bromide (BrMe) as a nematicide and 4. forest without anthropic intervention belonging to the reserve of the Pereyra Iraola Park, free of agricultural activity. The samples taken from the field were taken to the laboratory where the nematodes were extracted by the method of flotation and centrifugation in sucrose and were classified taxonomically at the level of gender and family. The abundances and frequencies of the taxa were calculated and classified into three categories of analysis: trophic groups (bacterivorous, fungivorous, phytophagous, omnivorous and predators), colonizers-persistent (values 1-5) and functional guilds. Significant differences were calculated and looked for by ANOVA and ANOSIM between abundances of genres; diversity indices (Richness (S), Margalef (D_{mg}), Shannon (H') and Pielou (J')); maturity indices (maturity index (MI), phytoparasitic index (PPI), MI 2-5); trophic food web indexes (enrichment index (EI), structure (SI), baseline (BI) and channel (CI)) and metabolic traces between each soil system sampled.

The results allowed determining 47 taxa within 24 families. The most abundant genera were *Rhabditis*, *Helicotylenchus* and *Filenchus*. The opportunistic nematodes of enrichment indicators of basal conditions of trophic complexity were highlighted by their high percentage in horticultural systems. Significant differences were determined in: I. the abundances of nematodes between the culture with BrMe and the other sites; II. the bacteriophagous and phytophagous trophic groups between the pristine forest and the crops with organic amendment and with BrMe; III. cp1 and cp2 between the pristine forest and the three horticultural systems; IV. the functional guilds of phytophagous (Fi3) and fungivorous (Fu2) between the pristine forest and the three horticultural systems; V. Diversity indices D_{mg} and H' among the agroecological crops and with BrMe; VI. in the maturity indices (MI) between the forest and crops with organic amendments and with BrMe, VII. the trophic food web indexes: EI and CI between the forest and the three horticultural systems. The agroecological crop showed the highest value of predatory and omnivorous trophic groups (cp3-5) and the indices of diversity and equitability. No sedentary phytoparasitic nematodes of economic importance were found.

The bacteriophage genera in the sites treated with fertilizers responded to the enrichment and availability of food, increasing their populations and dominating in the samples analyzed. In the pristine forest, the large number of plant parasitic nematodes was due to the presence of *Helicotylenchus*, a semi-parasite nematode of low economic importance and common in natural environments. The high values of nematodes cp1 in cultivated soils would indicate the state of soil alteration regardless of the agricultural management used. According to the expected, the crop where BrMe was applied showed the lowest values of Dmg and H', reflecting the effect that this agrotoxic has, together with the scarce crop rotation on the diversity of the edaphic communities. In line with the results of the diversity indexes, the maturity of the ecosystem was estimated with the MI and EI indices indicating that the cultivated soils would be in primary succession instances presenting mostly organisms at the lowest levels of the food web not so in the pristine site, where MI had the highest value with respect to all sites sampled while EI had the lowest value. Results of the metabolic footprints indicate that the carbon was used by the guilds (Ba1, Fu2 and Ba2) with little presence of indicators of structure, even for the pristine forest where the largest numbers of predators were found.

The results obtained in this work indicated that the communities of edaphic nematodes are able to show changes generated in the horticultural region of La Plata, due to different management practices developed. Although the soils subjected to the three types of agricultural management registered disturbance, the results of the analysis showed that the agroecological environments suffered minor alterations with respect to the diversity and maturity of the communities indicating a lower alteration in the quality of the soil.

INTRODUCCIÓN

MARCO TEORICO

Suelo

El suelo es el sistema terrestre que alberga uno de los mayores reservorios de diversidad de organismos en el planeta, encontrándose en él, millones de especies de bacterias, hongos, nematodos, ácaros, oligoquetos y otros organismos (Bardgett y Van der Putten, 2014). Según la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) el suelo es la raíz de la agricultura sustentable, ya que constituye el sistema fundamental sobre el que se mantiene no sólo la producción agraria, sino una buena parte de los

servicios de los ecosistemas que sustentan tanto el bienestar humano como el mantenimiento del ciclo de nutrientes, el secuestro de carbono o la producción de alimentos, fibras y madera (FAO, 2001; CEE, 2006). Precisamente son las prácticas agrícolas convencionales uno de los factores clave en la degradación del suelo que, debido a diversos disturbios que ejercen sobre él ya sea alterando los ciclos del agua, modificando drásticamente el perfil del suelo mediante el arado, vertiendo productos como plaguicidas y fertilizantes sintéticos que degradan e impiden el desarrollo de la biodiversidad en el ecosistema terrestre (Stavi y Lal, 2014).

Fauna del suelo

El suelo es el sustento para una inmensa diversidad de organismos habiendo sido estimado que en un gramo de suelo se pueden hallar 1 billón de especies en su mayoría de tamaños pequeños, con un rol fundamental en el desarrollo y funcionamiento de los ecosistemas del suelo que colaboran con la estructura fisicoquímica del mismo (Bender et al., 2016). Las variadas funciones de los organismos edáficos se ven reflejadas en los roles y nichos que ocupan en las redes tróficas proporcionando servicios al ecosistema del cual forman parte (Tsiafouli et al., 2014). Dentro de dichas funciones pueden considerarse: descomposición de la materia orgánica (M.O), ciclado de minerales y nutrientes, redistribución de minerales y nutrientes en el espacio y el tiempo, reservorios de minerales y nutrientes, secuestro de carbono, detoxificación de contaminantes, modificación de la estructura del suelo y regulación biológica de especies de plagas (Ferris et al., 2001). La fracción biótica es entonces el componente esencial en los procesos ecológicos, ya que los organismos edáficos son los principales responsables de la mineralización del carbono y el nitrógeno, de la reparación biológica de los suelos degradados y contaminados y en última instancia de la productividad agrícola (van der Heijden et al., 2008).

Calidad del suelo

Los criterios para definir la calidad del suelo varían según la perspectiva desde la cual se esté haciendo la observación, habiendo sido considerada como sinónimo de fertilidad, mediante la presencia de la macro fauna del suelo y abundancia o diversidad de especies de malezas espontáneas (Mäder et al., 2002) o mediante el conocimiento ancestral y observación directa de la textura, humedad y color del suelo por parte de los agricultores para distinguir los campos productivos (Mairura et al., 2007). Si bien definir de manera unánime qué es la calidad del suelo puede ser difícil, se considera que el mantenimiento

de los componentes que lo forman (diversidad de organismos, por ejemplo) es fundamental para garantizar la sustentabilidad del medio ambiente y la biósfera (Bastida et al., 2008).

En el marco de la producción agrícola, la calidad de suelo se define como la capacidad de funcionamiento del suelo, dentro del límite entre el ecosistema y las prácticas de manejo de suelo, que mantengan la productividad biológica, la calidad del ambiente y promuevan la salud de plantas, animales y de nuestra especie (Dilly et al., 2018). Powlosn et al. (2016) explican que cuando se estudia la calidad del suelo en agroecosistemas deben tenerse en cuenta dos objetivos principales: mantener la productividad agrícola a largo plazo y promover prácticas sustentables que mantengan o incrementen la mayor cantidad de servicios ecosistémicos posibles.

Indicadores biológicos

La preocupación por mantener un suelo dentro de los denominados límites de calidad no es nueva; Sin embargo, aún no hay criterios universales para evaluar los cambios en ella. Una de las herramientas utilizadas en las últimas décadas son los indicadores biológicos a través de organismos cuyas respuestas a diversos estímulos externos pueden ser representativas del estado biótico o abiótico de un ecosistema. En base a esto, se puede inferir cierto grado de influencia de dichos estímulos ajenos al sistema, por ejemplo: contaminantes, fertilizantes, plaguicidas y otros agroinsumos utilizados en la industria agrícola (Gerhardt, 2002). Los bioindicadores, por lo tanto, deben cumplir con ciertos criterios para ser considerados como herramientas fiables y utilizarse para establecer inferencias ambientales (Tabla I.1). Según Adriaanse (1993) son instrumentos de análisis que permiten simplificar, cuantificar y comunicar fenómenos complejos. Cuando se habla de calidad del suelo los indicadores biológicos deben permitir analizar la situación actual del sistema y ayudar a identificar los puntos críticos con respecto al desarrollo agrícola sustentable, analizar los posibles impactos antes de una intervención antrópica, monitorear el efecto de estas intervenciones y ayudar a determinar qué insumos aplicados son adecuados y favorables para alterar en la menor medida posible la biodiversidad del ecosistema de los suelos.

El desarrollo y evaluación de índices o indicadores que proporcionen información sobre la estructura y función de los procesos ecológicos en los suelos, es de suma importancia para determinar qué agroecosistemas pueden considerarse sustentables (Neher, 2001). Sin embargo, muchos trabajos relacionados con este tema de investigación se enfocan en la abundancia, riqueza de especies y estructura de la comunidad de pocos taxones, siendo necesario estudios que consideren las redes tróficas basadas en gremios funcionales, los cua-

les predicen de manera más eficiente las tasas de transferencia de nutrientes, carbono y energía entre dichos grupos (Tsiafouli et al., 2014). Además, evaluar el estado de madurez de la red trófica puede ser un objetivo de conservación. La biota del suelo es sumamente vulnerable a los contaminantes y otras alteraciones de origen antrópico, por lo que la evaluación permanente de los cambios que suceden en los organismos edáficos es una forma de detectar, prevenir y restringir acciones que puedan afectar su multifuncionalidad.

<p>Distribución</p> <ul style="list-style-type: none"> • distribución cosmopolita, útil para comparaciones internacionales <p>Características ecológicas</p> <ul style="list-style-type: none"> • fidelidad (valores altos de abundancia y amplia dispersión en un determinado ambiente) • especificidad (movilidad restringida, baja variabilidad genética) • posición clara en la red trófica • estrategias de alimentación definidas (ej. Omnívoros) • tasas metabólicas constantes (sin estados de diapausa) • ciclos de vida de medios a largos • buen conocimiento sobre la ecología y fisiología • posición ecológica relevante en el ecosistema • sensibilidad (a ciertos disturbios, como contaminantes) <p>Representatividad</p> <ul style="list-style-type: none"> • La respuesta del bioindicador debe ser representativa de las respuestas de otros taxones o incluso del ecosistema. <p>Practicidad</p> <ul style="list-style-type: none"> • de fácil muestreo, ordenamiento y almacenaje • de fácil reconocimiento e identificación taxonómica • robusto durante el manejo • de fácil cultivo en el laboratorio <p>Importancia social</p> <ul style="list-style-type: none"> • relevante a políticas o decisiones de manejo • de importancia económica por ser un recurso o un organismo plaga • importante para la agricultura o el ambiente

Tabla I.1. Características que deben considerarse para que un bioindicador sea efectivo en el momento de analizar cambios en el ambiente propuestas por Gerhardt, (2002).

Nematodos como bioindicadores

Los nematodos presentan una serie de ventajas respecto a la microflora y a la microfauna del suelo. Son los Metazoos más abundantes (Ferris et al., 2001), poseen una gran diversidad de especies, una gran abundancia y capacidad de adaptación, existiendo en cualquier lugar donde exista carbono orgánico. Presentan un sistema digestivo completo, sistema nervioso relativamente sencillo, generalmente dioicos y cuentan con un sistema excre-

tor formado por glándulas ventrales, canales laterales o ambas, estrechamente relacionadas a un poro excretor anterior que comunica con el exterior (Figura I.1).

Los nematodos son responsables del 10 a 15% de la respiración de la fauna del suelo (Sohlenius y Wasilewska, 1984), además de intervenir en la supresión o inducción de plagas, como agentes de control biológico de insectos. En este sentido, podemos mencionar el caso de los nematodos entomopatógenos pertenecientes a las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae ampliamente estudiados como agentes bioreguladores y controladores de numerosos insectos plaga del suelo (Vega y Kaya, 2012) cuyo estadio de desarrollo infestante de vida libre utiliza el suelo como vía de dispersión. Por otro lado, los nematodos cumplen un rol muy importante en los procesos edáficos. En la red trófica del suelo, están involucrados en la transformación de la M.O. en minerales y nutrientes orgánicos que pueden ser asimilados por las plantas influenciando así el crecimiento y producción de las mismas (Ferris et al., 2004). Los hábitos alimenticios de los nematodos depredadores regulan la frecuencia y abundancia de diversos organismos contribuyendo así a la estabilidad de la red trófica del suelo.

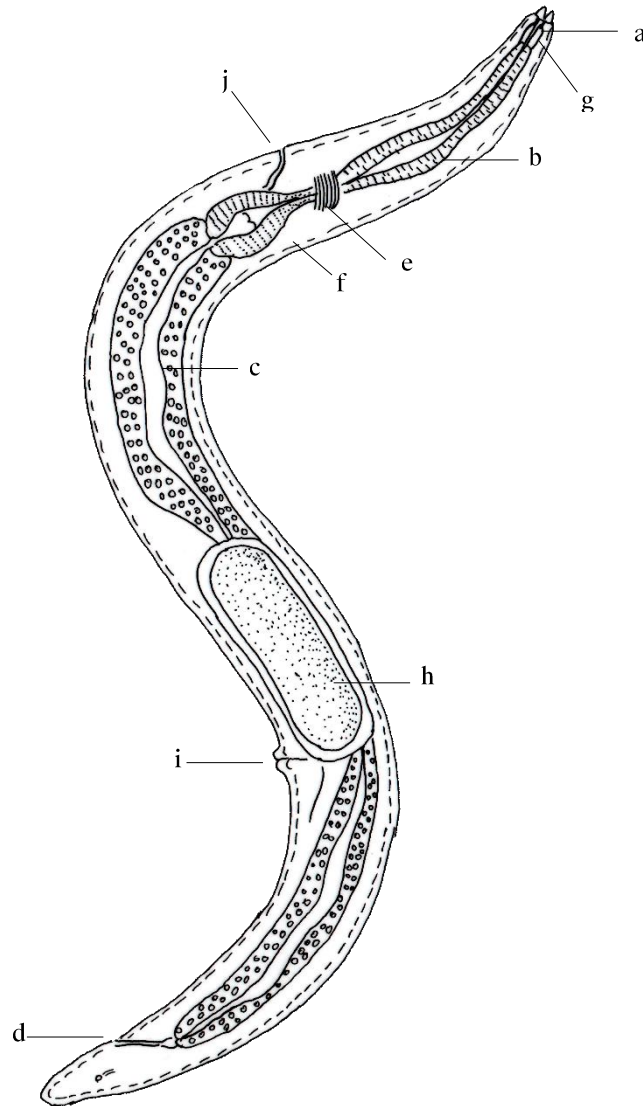
Los nematodos responden de distintas maneras a los disturbios ambientales causados por la intervención antrópica, siendo algunas especies extremadamente susceptibles a estresantes químicos y mecánicos mientras que otras especies son muy tolerantes (Bongers y Ferris, 1999). Estas características de respuesta los califican como bioindicadores relevantes del efecto que tienen la labranza, el uso de fertilizantes y de biocidas sobre el agroecosistema (Ferris, 2010).

Los nematodos edáficos son pequeños (miden entre 0,2 a 5 mm) pero son fáciles de extraer de muestras de suelo y relativamente sencillos de identificar. Millones de individuos pueden ocupar 1 m² de suelo proporcionando, una muestra de 100 cm³, suficientes individuos para un análisis confiable. Se puede realizar un muestreo estandarizado, intensivo y repetitivo, causando un impacto mínimo al ecosistema en estudio, pudiendo conservar y almacenar a los nematodos extraídos por tiempos prolongados para futuros análisis (Bongers y Ferris, 1999).

Los nematodos se pueden identificar a nivel familia y género usando caracteres morfológicos simples ubicándolos rápidamente en categorías funcionales confirmando un alto valor de información intrínseca en cada muestra, sobre la sucesión y los cambios en las rutas de descomposición en la red trófica del suelo, el estado de los nutrientes, la fertilidad y la acidez del suelo y los efectos de los contaminantes. Un análisis paulatino de las comunidades de nematodos permite una evaluación rápida de la respuesta de estos organismos frente

a las prácticas de manejo del suelo y los niveles de estrés ambiental, proporcionando así, criterios de decisión para la conservación y la remediación de los suelos agrícolas.

ESQUEMA GENERAL DE UN NEMÁTODO DE VIDA LIBRE



Acrobelloides sp.

Figura I.1. Esquema general. Sistema digestivo completo: a. estoma, b. esófago, c. intestino, d. ano. Sistema nervioso relativamente sencillo: e. anillo nervioso alrededor del esófago, f. cordones nerviosos longitudinales, g. órganos sensoriales (anfidios). Generalmente dioicos: h. ovarios, i. vulva. Sistema excretor: formado por glándulas ventrales, canales laterales, o ambas, estrechamente relacionadas cerca del extremo anterior con un poro excretor que comunica con el exterior, j.

Consideraciones sobre el análisis de la comunidad de nematodos edáficos

Para su análisis, posteriormente a su determinación taxonómica, los nematodos pueden ser fácilmente ubicados en distintas categorías de identificación. Los Grupos Tróficos, propuestos por Yeates et al. (1993), clasifican a estos organismos según sus hábitos alimenticios basándose en características del aparato bucal y esófago existiendo 5 grupos tróficos principales: bacteriófagos, fitófagos, fungívoros, depredadores y omnívoros. Otra categoría tenida en cuenta para el análisis de los nematodos de suelo es la propuesta por Bongers (1990), que diferencia a los nematodos en colonizadores (estrategas r) y persistentes (estrategas k) y les asigna valores en una escala del 1-5. Estos valores de *colonizador-persistente* (cp) son ampliamente utilizados para el cálculo de índices de madurez, enriquecimiento, vías de descomposición de la M.O. y estructura de la red trófica de los suelos. Una tercera caracterización es la representada por los gremios funcionales (Ferris et al., 2001) que consisten en combinar los valores cp y grupo trófico de los nematodos hallados. Esta última categoría es considerada por algunos autores la que mayor información aporta para el análisis de la comunidad edáfica de los nematodos.

El Cinturón Hortícola Platense

En la Provincia de Buenos Aires la horticultura es una de las actividades agrícolas más importantes donde se encuentra el denominado Cinturón Hortícola del Gran Buenos Aires formado por los Partidos de La Plata, Florencio Varela, Berazategui, Almirante Brown, Esteban Echeverría, La Matanza, Cañuelas, General Rodríguez, Luján, Marcos Paz, Merlo y Moreno. La mayor concentración de producción se ubica en la zona sur en el Cinturón Hortícola Platense (CHP) que se encuentra en el partido de La Plata (Colonia Urquiza, Los Hornos, Abasto, Lisandro Olmos, Etcheverry y El Peligro), extendiéndose hasta los partidos de Berazategui (Hudson), Florencio Varela y Magdalena (Garat et al., 2009; Hang et al., 2010). Esta región cuenta con unas 6500 hectáreas cultivadas en su mayoría con manejo convencional intensivo, conformando el área productiva hortícola más importante del país. Las principales hortalizas cultivadas en invernaderos, son: tomate, lechuga, apio, pimiento, espinaca y en menor medida pepino, chaucha, frutilla y albahaca. Las huertas locales aportan el 60% de la producción de tomate que se consume a nivel nacional (Ferratto et al., 2010).

RELEVANCIA DEL PROBLEMA

En el CHP se practica mayoritariamente la horticultura familiar donde los productos obtenidos son para el autoconsumo y venta en el mercado (Ferratto y Rodríguez Fazzone, 2010). La modalidad de cultivo característica de esta zona es a cielo abierto y bajo cubierta con un evidente avance en la tecnología de invernáculos y uso de agroinsumos que favorece la disponibilidad anual de cultivos de estación (como tomate, por ejemplo). La principal problemática en el CHP es que la modalidad de cultivo mencionada conlleva a un uso del suelo sin descanso (Strassera, 2009; Sarandón et al., 2015), con sistemas tradicionales de labranza y elevado uso de fertilizantes y plaguicidas que encaminan al sistema edáfico a instancias de agotamiento tanto en la disponibilidad de nutrientes como en la biodiversidad del agroecosistema. El exceso de agroquímicos constituye otro gran problema en el Cinturón Hortícola Platense donde el 57,8% de los productores utilizan al menos un producto de las categorías toxicológicas I y II, extremadamente tóxicos y altamente tóxicos respectivamente (Colombo et al., 2015). Cincuenta agroquímicos diferentes fueron citados como utilizados por productores convencionales de la región, 26 de ellos destinados al control de artrópodos plaga (insecticidas y/o acaricidas y/o nematicidas) (SENASA, 2018). El bromuro de metilo o bromometano es un fumigante orgánico halogenado con la fórmula química CH_3Br perteneciente, según SENASA, a la categoría toxicológica I y es considerado como una sustancia biocida agotadora de la capa de ozono, siendo una amenaza para la salud ambiental y humana (Sue et al., 2017) debido a la extensión del Protocolo de Montreal. Hoy día en la Argentina y más específicamente en el CHP su uso está permitido hasta que surja un producto que reemplace a este y que tenga la misma eficacia de control o hasta acabar con las reservas del insumo, pudiendo incluso producirse en más cantidades en caso de usos críticos (UNEP, 2016). Otra problemática emergente en los sistemas convencionales de producción es el origen de los materiales genéticos de los cultivos y la reducción paulatina de las variedades hortícolas locales que conlleva el desarrollo de los alimentos transgénicos, patentamiento y sustitución de especies criollas por especies más estéticas y rentables, lo cual sumado a la modificación de la vigente Ley 20247 pone en riesgo la agricultura familiar y el derecho a cultivar diferentes variedades hortícolas. Todo esto trae aparejado consecuencias negativas sobre la biodiversidad de los cultivos en cuanto a su origen genético (variabilidad) y que se relaciona a menor resistencia frente a plagas y menor adaptabilidad frente a cambios climáticos, entre otros.

Las prácticas de producciones orgánicas y agroecológicas emergen como alternativas al sistema hegemónico tradicional. La horticultura orgánica enfatiza el aprovechamiento máximo de los recursos del agroecosistema, reduce el uso de agroquímicos, utiliza insumos naturales y promueve el uso de organismos para el manejo de plagas (control biológico).

co) y les da la garantía a los consumidores que el producto que tienen en sus manos es de alta calidad ecológica y sin residuos de sustancias tóxicas para la salud. Sin embargo, esta modalidad presenta grandes costos que se ven reflejados en la economía de los pequeños productores, no pudiendo ser, en la mayoría de los casos, una práctica rentable para ellos. La Agroecología, definida por Altieri (1987) como el desarrollo y aplicación de la teoría de los sistemas ecológicos naturales para el manejo de los sistemas agrícolas de acuerdo a la disponibilidad de recursos, ha ido creciendo con el correr de los años desarrollando un enfoque socioeconómico, político y ambiental para el manejo de los cultivos, creando un principio base que es la Economía Social que estimula el trabajo cooperativo dentro del marco de prácticas sustentables.

El impacto que tienen las prácticas antrópicas sobre el ambiente edáfico debe ser analizado y discutido, con el fin de buscar propuestas que permitan el desarrollo de un suelo saludable. El uso de la diversidad de nematodos como bioindicadores ha sido estudiado en distintos sistemas a nivel mundial en las últimas décadas en trabajos como los de Bongers (1999); Bongers y Ferris (1999); Yeates y Bongers (1999); Ferris et al. (2001); Mondino (2001); Neher (2001); Bulluck III et al. (2002); Azpilicueta et al. (2008); Sun et al. (2013); Zhao y Neher (2013); Mateille et al. (2016); Ning Hu et al. (2016); Neher et al. (2017); Daneel et al. (2018); Gnamkoulamba et al. (2018).

El desarrollo y evaluación de índices que proporcionen información sobre la estructura y función de los procesos ecológicos en los suelos, supone el primer y fundamental paso a la hora de decidir qué agroecosistemas pueden considerarse sustentables. Los nematodos del suelo constituyen un grupo de invertebrados de elevada importancia ecológica con atributos que los convierte en valiosas herramientas como indicadores biológicos de disturbios de origen antrópico. No obstante, los estudios sobre los nematodos de suelo en el CHP son escasos, remontándose principalmente a los trabajos en fitonematodos realizados por la Dra. Silvestri, el Dr. Chaves, y el Dr. Guillermo Cap (Chaves, 1984; Chaves y Sisler, 1980; Chaves y Torres, 1993; Cap et al., 1981; 1983; Silvestri, 1985). Autores como Mondino (2001) y Azpilicueta et al. (2008), han desarrollado trabajos en otras localidades. Sin embargo no existe información actual de estudios sobre la potencialidad de estos como bioindicadores de perturbación en suelos del cinturón platense debido a las prácticas de manejo agrícola.

HIPÓTESIS GENERAL

Los nematodos de suelo responden de manera diferencial a las perturbaciones causadas por las prácticas antrópicas en los sistemas hortícolas del Cinturón Hortícola Platense.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo de esta tesis fue evaluar la capacidad y sensibilidad de los nematodos edáficos como bioindicadores de la calidad del suelo a través del cálculo de índices ecológicos para determinar cuales de ellos son indicadores que describan de manera apropiada los cambios en la estructura de las comunidades de nematodos edáficos ocasionados por diferentes tipos de prácticas llevadas a cabo en suelos hortícolas del Partido de La Plata.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Aislar y prospeccionar los nematodos presentes en muestras de suelo provenientes de cultivos de tomate bajo manejos agroecológicos, convencional con uso de enmiendas orgánicas como fertilizantes, convencionales con uso intensivo de bromuro de metilo como nematocida y suelos sin intervención antrópica dentro del CHP.
- II. Identificar taxonómicamente los ejemplares de nematodos presentes a nivel de familia y género.
- III. Caracterizar a los géneros hallados dentro de categorías de análisis establecidas para los nematodos edáficos (nematodos colonizadores o persistentes, grupos tróficos o gremios) en cada sitio estudiado y determinar sus valores de abundancia.
- IV. Caracterizar las comunidades de nematodos presentes en el suelo a través del cálculo de índices ecológicos.
- V. Relacionar los resultados de los índices obtenidos y los diferentes tipos de manejos agrícola estudiados.

MATERIALES Y MÉTODOS

AREA DE ESTUDIO

El área de estudio estuvo constituida por huertas destinadas principalmente al cultivo de tomate ubicadas en el Cinturón Hortícola Platense. Los sitios fueron caracterizados y definidos de acuerdo a la diversidad de cultivos existentes, uso de fertilizantes orgánicos e inorgánicos y uso de biocidas en: 1. agroecológico (ubicado en la localidad de Hudson, Partido de Berazategui), 2. con aplicación de enmiendas orgánicas como fertilizantes y 3. con aplicación de bromuro de metilo (BrMe) como nematicida (ambos ubicados en el Partido de La Plata). Además se seleccionó un sitio prístino en la región del Parque Pereyra Iraola para contar con datos de suelos sin intervención antrópica (Figura M.1). Para cada sitio de muestreo se estimaron valores promedio de parámetros fisicoquímicos (pH, conductividad, fósforo asimilable, M.O. y nitratos) de acuerdo a las muestras recolectadas a mitad de cada año de muestreo (Tabla M.1).

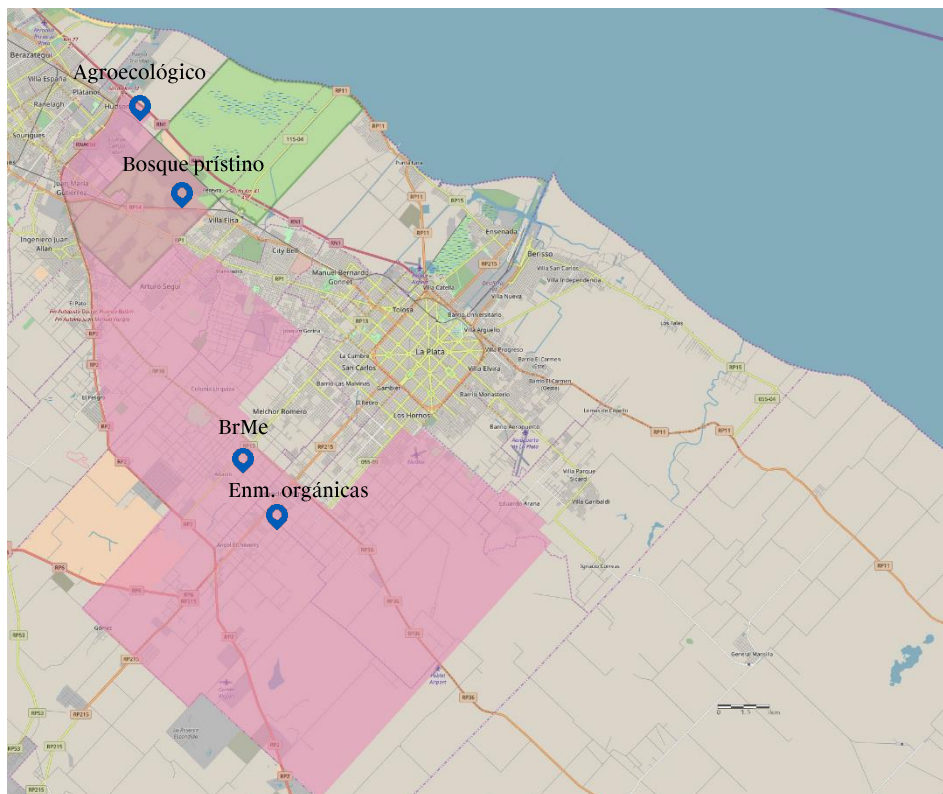


Figura M.1. Mapa del partido de La Plata y alrededores. En color rosa se aprecia la zona que conforma al CHP indicando cada sitio de muestreo seleccionado (mapa generado con ArcGis, 2018).

Caracterización de los manejos agrícolas presentes en los sitios de muestreo

1. **Cultivo agroecológico** (-34.806009, -58.124168): cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* var. platense) a campo con riego por infiltración (o canales), en el cual no se utilizó ningún tipo de insumo de síntesis química u orgánica antes ni durante las etapas de recolección de muestras. La rotación de cultivos y la conservación de malezas espontáneas son parte de las premisas de estos productores, que buscan, aumentando la diversidad de especies suprimir la aparición de organismos considerados plaga. Al inicio de la estación primaveral del 2015 se preparó la tierra de los camellones removiendo las malezas sobre ellos con un arado cincel. A mediados de la primavera se transplantaron los plantines de tomate, momento en el cual se inició la toma de muestras. En las inmediaciones del cultivo se encontraban presentes plantas de manzanilla (*Matricaria recutita*) y cardos (*Silybum marianum*). Durante el verano del 2016, el cultivo contó con la presencia de plantas de tomate var. platense (*Solanum lycopersicum*) y brócoli (*Brassica oleracea* var. italica). En el otoño se sembró puerro (*Allium ampeloprasum* var. porrum) y cebolla de verdeo (*Allium fistulosum* L.). Durante esta estación y hasta mediados de la época invernal los camellones se encontraron cubiertos parcialmente por malezas como verdolaga (*Portulaca oleracea*) y cardos (Fam. Asteraceae). A finales de invierno se preparó la tierra para sembrar en primavera repollo (*Brassica oleracea* var. capitata), brócoli y tomate platense.



2. Cultivo enmienda orgánica (-34.985029, -57.997141): cultivo convencional de tomate (*Solanum lycopersicum* var. platense) bajo cubierta con riego por goteo. En este sistema se aplicó en dos oportunidades el uso de enmiendas orgánicas formadas por restos de plantas (50 kg por cantero, aproximadamente) de la familia Brassicaceae como método de fertilización del suelo a base de nitrógeno orgánico, con el fin de buscar alternativas al uso de agroquímicos. La primera aplicación tuvo lugar hacia finales del invierno del 2014. A comienzos de la primavera del mismo año mediante arado convencional se preparó la tierra y se realizó el transplante del tomate (*Solanum lycopersicum* var. platense). El muestreo del suelo se inició hacia mediados de la primavera. A fines del verano del 2015 se aplicó la segunda fertilización luego de la cosecha, para preparar un segundo cultivo de tomate durante el otoño e invierno con rotación de cultivos (*Solanum lycopersicum* var. elpida).



3. **Cultivo Bromuro de Metilo** (-34.941579, -58.081815): cultivo convencionalintensivo donde predomina la producción de tomate (*Solanumlycopersicum*) bajo cubierta con riego por goteo y aplicación de nematicidas y fertilización con nitrógeno ($100 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N-NO}_3$). En este sistemase aplicó bromuro de metilo (32 gr/m^3) como método de desinfección del suelo (nematicida) con el fin de controlar a *Nacobbus aberrans*, el principal género de nematodos plaga en la región. La aplicación de bromuro correspondiente a este estudio tuvo lugar a inicios del invierno del 2014, luego el invernáculo fue cerrado para evitar el acceso de personas y animales. A comienzos de la primavera del mismo año se fertilizó el suelo y los plantines de tomate (*Solanumlycopersicum* var. platense) los cuales fueron transplantados hacia mediados de esta estación momento en el cual se inició la toma de datos. A fines del verano del 2015 ya finalizada la cosecha se preparó la tierra, y en la estación otoñal e invernal se transplantó tomate nuevamente (*Solanum lycopersicum* var. elpida y var. cerasiforme).



4. **Bosque prístino** (-34.848906, -58.120071): sitio prístino ubicado en la reserva de la biosfera del Parque Pereyra Iraola. Este sitio fue elegido por considerarse carente de intervención antrópica, lo cual permitió recolectar datos de un sistema estable en el tiempo, sin cambios artificiales en la composición físico-química del suelo. La fisonomía de este lugar de muestreo está caracterizada por la presencia de árboles del género *Quercus*, *Pinus*, *Cupressus* y pastizales de clima templado los cuales tienen un alto grado de cobertura (entre el 80 y 90%). Dicha fisonomía no varió en el correr de los muestreos y las distintas estaciones. Los muestreos se iniciaron durante el invierno del año 2016 y culminaron durante la estación otoñal del año 2017.



Los parámetros físico-químicos obtenidos para cada sitio de muestreo se observan en la siguiente tabla.

Sitio de muestreo	pH* (U de pH)	Conductividad** (μ hos/cm)	P asimilable (μ g/g)	NO ₃ ⁻ (μ g/g)	M.O (%)	Tipo de suelo***
Agroecológico	8,23	1421,5	409,45	267,65	4,25	Argiudol
Enm. Orgánica	8,23	2642	157,9	712,4	4,85	Argiudol
BrMe	7,03	1772	276,25	284,1	3,15	Argiudol
Prístino	6,87	551	6,5	5	5	Argiudol

Tabla M.1. Caracterización físico-química de los sitios de muestreo. Los valores promedio de las variables analizadas fueron pH (1:2,5 en agua)*; conductividad (en extracto de saturación) ** -USDA-SSLMM-rep 42 V3,0 - 8C1f y - 8A1a-; fósforo asimilable -Methods of soil analysis-; nitratos -Jackson M.L. An. Quim. Suelos 4th ed.-; M.O. -SSLMM-REP42-V3, 0-6°1 A- titulométrico; tipo de suelo según Stupino et al 2012***.

Obtención de las muestras de suelo

Los muestreos en cada sistema se realizaron durante 8 instancias en el transcurso de un año, abarcando el periodo total de trabajo de campo de la tesis desde la primavera del 2014 al verano del 2017. Los sitios de muestreo fueron delimitados en parcelas de 15 x 30 m. Se realizaron 20 tomas de muestras en cada parcela mediante la técnica en zigzag seleccionándose, con una separación de 3 metros entre surcos paralelos adyacentes, los puntos de recolección (Figura M.2). Cada muestra se tomó a una profundidad de 30 x 5 cm mediante el uso de un barreno o pala de jardín, se depositó en una bolsa protegiéndola de la incidencia de la luz solar y se rotuló. En el laboratorio, cada muestra se tamizó y se homogeneizó antes de almacenarla refrigerada en heladera a 4°C para su posterior análisis.

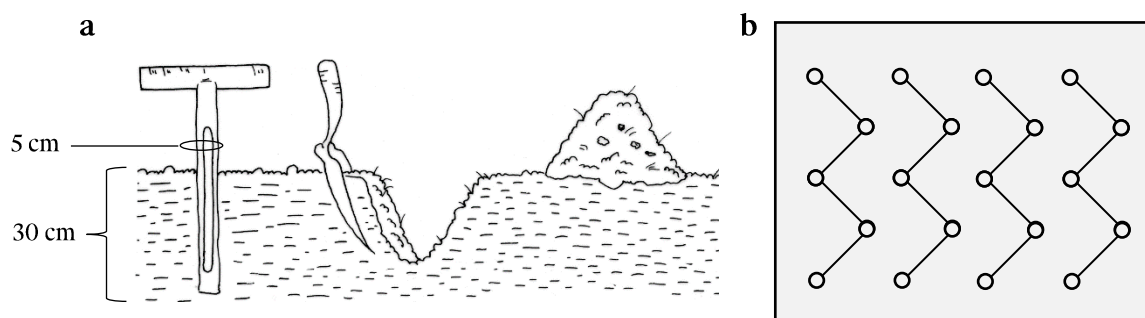


Figura M.2. Elementos y metodología de muestreo. **a.** Barreno y pala para la toma de muestras a una profundidad de 30 cm y 5 cm de diámetro. **b.** Toma de muestras en zigzag con una distancia entre puntos de 3 m aproximadamente.

Extracción y aislamiento de los nematodos del suelo

Para el aislamiento de nematodos, se tomaron 100 cm³ de suelo de cada muestra y se centrifugaron, disueltos en agua, durante 3 minutos a 3000 rpm para eliminar materia indeseada que dificulte la observación de los ejemplares. El sobrenadante resultante que contenía M.O. residual se descartó. El material decantado se homogeneizó nuevamente en una solución de sacarosa (484 g sucrosa / 1 L H₂O) y se centrifugó durante 3 minutos a 3000 rpm. (Caveness y Jensen, 1955). El sobrenadante con nematodos en suspensión se vertió en tamices de 38 µm de abertura, recolectando y depositando los ejemplares en una solución final de 25 ml: 22 ml de agua y 3 ml de TAF (trietanolamina al 2% (v / v) y formalina al 7% (v / v) en agua destilada). De esta suspensión final se tomaron 5 alícuotas al azar de 1 ml para el recuento de nematodos. El número final de nematodos hallados en los 5 ml fue extrapolado hasta alcanzar el volumen de la solución inicial (25 ml).

Preparados permanentes e identificación de nematodos

Los nematodos obtenidos se identificaron morfológica y morfométricamente bajo microscopio estereoscópico y óptico. Para la identificación se procedió a realizar preparados semi-permanentes: el método consiste en colocar sobre un portaobjetos (76 x 52 mm) una microgota de agua con los ejemplares rodeada por un aro de parafina, un cubreobjetos circular se apoya sobre el aro que al proporcionarle calor se derrite, conteniendo a los nematodos (Figura M.3).

Utilizando la clave de Heyns (1971), Chaves et al. (1995) y Manzanilla-López et al. (2012), se procedió a la identificación de los nematodos obtenidos. La determinación taxonómica se realizó bajo un aumento de 40x-100x utilizando una lupa estereoscópica (Hokenn Optik modelo ZTX E ZOOM) y un microscopio estereoscópico (Leyca modelo DM-500) a nivel de género (Figura M.3). Esta categoría se consideró como la más adecuada en cuanto a facilidad de identificación y grado de información que aporta para el análisis de las comunidades de nematodos. En los casos donde no se pudo identificar ejemplares a nivel de género, se los ubicó a nivel familia.

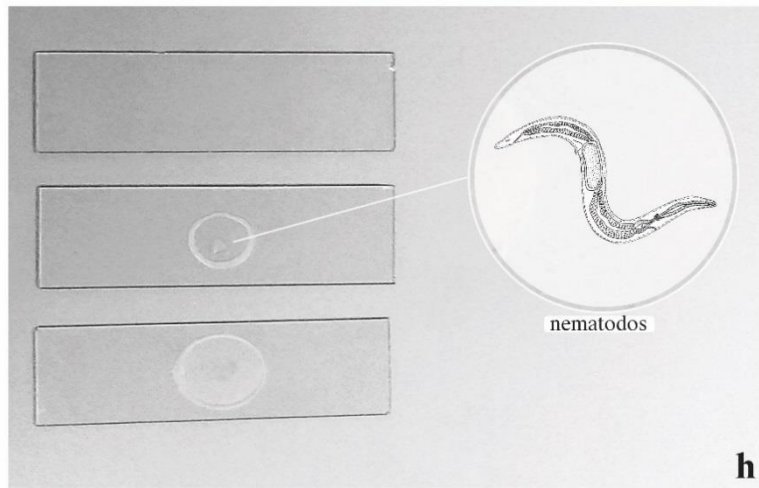
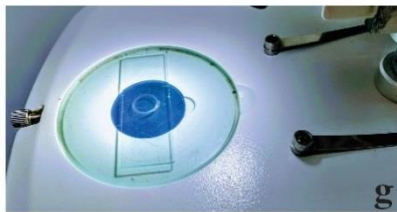
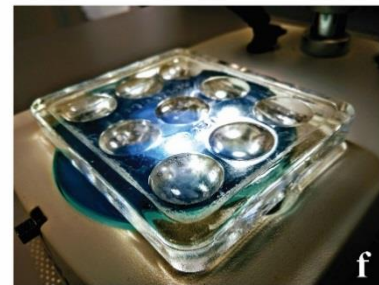


Figura M.3. Elementos de laboratorio. **a.** muestra de suelo en bolsa hermética para su refrigeración y análisis. **b.** tamices y filtros utilizados para homogenizar las muestras de suelo. **c.** 100 cm³ de suelo representando el volumen utilizado en el método de centrifugación y flotación. **d.** centrifuga Giumelli Z-500. **e.** frasco gradado con 25 ml de solución (H₂O+TAF) para la conservación de los nematodos. **f.** cámara de conteo. **g.** anillo de parafina. **h.** nematodos contenidos en un preparado semi-permanente. **i.** lupa estereoscópica Hokenn Optik modelo ZTX E ZOOM. **j.** microscopio Leyca modelo DM-500.

ANALISIS DE LA COMUNIDAD DE NEMATODOS

Características ecológicas y clasificación de los nematodos para su análisis

Los nematodos cuentan con una serie de categorías de clasificación las cuales permiten realizar el análisis de su comunidad desde diferentes enfoques. Para ello posteriormente a su determinación taxonómica, se calcularon los índices de estructura y diversidad del ecosistema e índices de función del ecosistema.

Para los índices de estructura y diversidad del ecosistema, se utilizaron solamente los valores de abundancia de nematodos para cada sitio de muestreo. Para el cálculo de los índices de función, los nematodos debieron ser clasificados en base a diversas características que presentan dentro de un ecosistema (agroecosistemas y sistemas naturales), ya sea si son colonizadores oportunistas o persistentes sensibles a las perturbaciones del medio (valor de cp), si se alimentan de bacterias, hongos, plantas u otros nematodos (grupo trófico) y en base a que función cumplen (gremios funcionales ecológicos). Por esta razón se procedió a clasificar a los nematodos en tres grandes categorías de análisis (escala colonizador-persistente, grupos tróficos, y gremios).

Grupos Tróficos

En base a la función (hábito alimenticio) en la red trófica de la comunidad edáfica y observando principalmente las estructuras que conforman el sistema digestivo (tipo estoma, dientes, estilete, tipo de esófago y glándulas asociadas) los nematodos se clasifican rápidamente en 5 de grupos tróficos principales, propuestos por Yeates et al. (1993).

Fitófagos: Se alimentan de plantas vasculares utilizando un estilete característico originado de la pared del estoma (estomatoestilete) o del esófago (odontoestilete). Generalmente tienen hábitos de alimentación migratorios. Los machos de las especies sedentarias suelen tener un estilete o esófago reducido. Los nematodos en este grupo pueden mostrar especificidad alimentaria o ser polípagos. Las especies migratorias generalmente pueden clasificarse como ecto- o endoparásitos. Los sitios de alimentación de los nematodos fitófagos pueden incluir las zonas radicales, epidérmicas, corticales o vasculares de las plantas. Por esta razón, al estudiar comunidades de nematodos fitófagos se los suele dividir en las siguientes subcategorías: parásitos sedentarios, endoparásitos migratorios, semi-

endoparásitos, ectoparásitos, los que se alimentan de células epidermales y pelos radiculares, y los que se alimentan de algas, líquenes o musgos (Figura M.4. a).

Fungívoros: Este grupo se alimenta penetrando en las hifas de hongos utilizando un estilete o lanza (estomatoestilete). Las levaduras pueden incluirse como fuente de alimento para esta categoría de nematodos, excepto cuando se ingieren enteras. La alimentación de hifas de hongos saprófitos tiene implicaciones ecológicas bastante diferentes de la alimentación con hongos micorrízicos (Figura M.4. b).

Bacteriófagos: Esta categoría incluye especies que se alimentan de cualquier organismo procariota. Poseen estomas variados pudiendo ser estrechos (Panagrolaimidae), amplios y tubulares (Rhabditidae) o extendidos (Diplogasteridae). Se incluyen en esta categoría los estadios del suelo de ciertos nematodos parásitos de vertebrados e invertebrados que se alimentan de bacterias. Algunos Rhabditidae y Diplogasteridae pueden usar un hospedador forético (transporte), especialmente insectos (Figura M.4. c).

Depredadores: Poseen dientes, dientecillos o barras cuticulares en el estoma. Algunas especies se alimentan de protozoos e invertebrados (nematodos, rotíferos y oligoquetos), ya sea mediante la ingesta (géneros como *Mononchus*, *Mylonchulus*) o como "perforadores", succionando fluidos del cuerpo a través de un estilete estrecho (géneros *Seinura*, *Labronema*, *Laimaphelenchus*) (Figura M.4. d).

Omnívoros: Presentan un diente axial o estilete originados de la pared del esófago (odontostilete) que a diferencia de los fitófagos no es hueco. Se alimentan de plantas, algas, hongos, protozoos, rotíferos, enquitreidos y nematodos. Son poco frecuentes en suelos perturbados y debido a esto suelen ser utilizados como indicadores de contaminación de origen antrópico. Esta categoría está representada mayoritariamente por el orden Dorylaimida (Figura M.4. e).

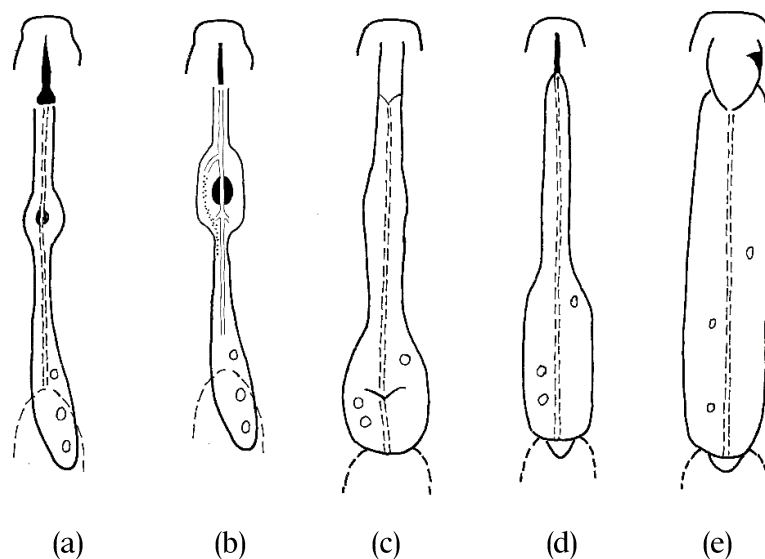


Figura M.4. Esquema representativo de cada grupo trófico. Se observan las principales estructuras claves (estoma, estilete, bulbos medios y basales, núcleos de las glándulas esofágicas) para la determinación de esta categoría. a. Fitófagos. b. Fungívoros. c. Bacteriófagos. d. Omnívoros. e. Depredadores.

Escala colonizador-persistente

Los nematodos pueden comportarse como organismos colonizadores (comparable al término *estrategas r*) o como persistentes (*estrategas k*) reflejando así su grado de respuesta frente a cambios en el medio que habitan (Figura M.5). En base a estas características Bongers (1990) asigna a las familias de nematodos valores de 1-5 en una escala de *colonizadores-persistentes*.

cp1: Nematodos colonizadores, presentan ciclos de vida cortos, gónadas grandes, huevos pequeños y numerosos, vivíparos, bacteriófagos en su gran mayoría, se alimentan continuamente en medios enriquecidos, forman *larva dauer* si las condiciones del medio no son óptimas para su desarrollo. Son tolerantes a disturbios (eutrofización, ambientes anóxicos). Dominantes en muestras de suelos intervenidos y sus tamaños poblacionales pueden variar mucho entre periodos de un mismo año.

cp2: Ciclos de vida más largos y menor fecundidad que los cp1, muy tolerantes frente a condiciones adversas pudiendo convertirse en organismos criptobióticos (reducen sus procesos metabólicos). Se alimentan deliberadamente y de forma continua mientras la presencia de alimento declina. Principalmente son bacteriófagos y fungívoros.

cp3: Ciclos de vida más largos que las categorías anteriores, gran sensibilidad a condiciones adversas. Fungívoros, bacteriófagos y carnívoros.

cp4: Ciclos de vida aún más largos, baja fecundidad, gran sensibilidad a disturbios. Generalmente depredadores y omnívoros.

cp5: Nematodos persistentes, presentan ciclos de vida extensos, tamaños más grandes, baja fecundidad y alta sensibilidad a los disturbios ambientales. Depredadores y omnívoros. Viven en ambientes estables, por lo cual, raramente fluctúan en número durante el año. Nunca son dominantes en las muestras de suelo analizadas.

pp: La categoría cp para los nematodos herbívoros se denomina pp. Esta diferenciación se utiliza para interpretar más adecuadamente el comportamiento de este grupo ya que sus estrategias adaptativas frente a cambios ambientales dependen en mayor medida de la disponibilidad de plantas hospedadoras.

Colonizadores (oportunistas de enriquecimiento)				Persistentes (estabilidad estructural)
1	2	3	4	5
Responden al enriquecimiento	Toleran condiciones adversas	Sensibles a las perturbaciones en el ambiente		

Figura M.5. Escala colonizador persistente representado las respuestas de cada valor a los disturbios en el ecosistema.

Gremios

Ferris et al. (2001) definieron gremio funcional como un ensamble de especies con atributos biológicos y respuestas a las condiciones ambientales similares y la clasificaron como la categoría más robusta e informativa para el análisis de comunidades de nematodos. Esta categoría combina el hábito alimenticio o grupo trófico de los nematodos con su valor en la escala cp formando 16 gremios funcionales conocidos (Tabla M.2). Los autores indican que estudiando por separado estas dos clasificaciones, puede estar siendo omitida información valiosa para la interpretación de la dinámica de las comunidades. Por ejemplo, si los *estrategas k* dentro de los bacteriófagos son reemplazados por bacteriófagos oportunistas de enriquecimiento (*estrategas r*) la frecuencia de grupo trófico no cambia (obtendríamos siempre el mismo valor de bacteriófagos). Otro ejemplo se daría cuando bacteriófagos con valor cp 2 son reemplazados por fungívoros cp 2, el índice de madurez (basado en valores cp) no se vería modificado.

	cp 1	cp 2	cp 3	cp 4	cp 5
Bacteriófagos	Ba 1	Ba 2	Ba 3	Ba 4	-
Fitófagos	-	Fi 2	Fi 3	Fi 4	Fi 5
Fungívoros	-	Fu 2	Fu 3	Fu 4	-
Depredadores	-	-	De 3	De 4	De 5
Omnívoros	-	-	-	Om 4	Om 5

Tabla M.2. Reordenamiento de los grupos tróficos en función de los valores en la escala colonizador-persistente determinando los 16 gremios funcionales conocidos de nematodos.

VARIABLES ECOLÓGICAS

Abundancia y frecuencia

Con el fin de ampliar el conocimiento de la fauna edáfica del CHP se realizó el análisis de las abundancias relativas expresadas en porcentaje y frecuencias de nematodos hallados en el total de los sitios de muestreo y por cada sitio en particular.

Abundancia relativa (%) = $n_s / N_{\text{total}} \times 100$

donde: n_s es el número de individuos de un género dado y N_{total} el número total de individuos en una muestra.

Frecuencia (%) = $100 \times (\text{número de muestras donde un determinado género estuvo presente}) / (\text{número de muestras totales examinadas})$.

Índices de diversidad de la comunidad de nematodos

Al estudiar comunidades pertenecientes a distintos ecosistemas se debe determinar en primera instancia la estructura de la misma. Para ello se analizaron, dentro de las comunidades, la cantidad de taxones presentes, la diversidad, el número de individuos y como estos individuos están distribuidos dentro de los taxones. Con tal fin, se realizó el cálculo de los índices de la estructura y diversidad del ecosistema utilizando el software PRIMER (Plymouth Routines Multivariate Ecological Research, version 6) (Clarke y Gorley 2001). Se calcularon los siguientes índices:

Riqueza genérica (S): cantidad de géneros presentes en cada sitio de muestreo.

Índice de riqueza de Margalef (D_{mg}): Transforma el número de especies por muestra a una proporción a la cual las especies son añadidas por expansión de la misma. Valores inferiores a 2 indican comunidades de baja riqueza específica, valores superiores a 5 son considerados como indicativos de alta biodiversidad.

$$D_{mg} = S - 1 / \ln N$$

donde: S indica el número de taxones y N el número total de individuos en una muestra.

Índice de diversidad de Shannon (H'): Expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra. Comúnmente adquiere valores entre 0,5 y 5 siendo valores menores a 2 indicativos de baja diversidad y superiores a 3 indicativos de alta diversidad de taxones (Magurran, 1988).

$$H' = -\sum_{i=1}^S p_i \cdot \log_2(p_i)$$

donde: p_i es la abundancia (número total de individuos) de cada género que contribuye a la diversidad total.

Índice de Pielou (J'): Expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra. Mide la proporción de la diversidad observada con relación a la máxima diversidad esperada. Toma valores entre 0 y 1 de forma que 1 corresponde a situaciones donde todas las especies son igualmente abundantes (Magurran, 1988).

$$J' = H' / H'max$$

donde: $H'max = \ln S$

Índices de función del ecosistema

Índices de madurez

Los nematodos edáficos cuentan con una serie de índices ecológicos propios del grupo. Bongers (1990) desarrolló una propuesta para el análisis de la comunidad de nematodos que permite estimar el grado de madurez de los ecosistemas en estudio, basándose en la capacidad de colonización y persistencia que los diferentes grupos de estos organismos poseen.

Índice de madurez (MI): El índice de madurez representa un valor semi-cuantitativo basado en la capacidad de colonizar ambientes (valor cp) por parte de los nematodos de vida libre sin tener en cuenta a los nematodos fitófagos. Su valor proporciona una apreciación del estado o condición de un ecosistema basándose en la comunidad de nematodos presentes. Cuanto menor sea el valor de MI indicará mayores perturbaciones en el ambiente y/o enriquecimiento del mismo. Este índice disminuye al aumentar la actividad microbiana y el estrés inducido por la contaminación. Valores altos indican ambientes estables (Bongers, 1990).

$$MI = \frac{\sum vi \times fi}{n}$$

donde: vi = valor de colonizador-persistencia (cp) asignado a la familia, fi = frecuencia de la familia i en la muestra, n = número total de individuos en una muestra.

Índice fitoparasitario (PPI): Debido a que la colonización por parte de los nematodos fitófagos depende casi exclusivamente de la presencia de plantas vasculares superiores, los valores cp se adecúan para este grupo de nematodos, creándose el índice de parásitos de plantas (PPI). Este índice considera exclusivamente los nematodos fitófagos ya que no se ven influenciados de la misma manera por el enriquecimiento ambiental como lo son los de vida libre. Este índice, por lo tanto, puede tener una relación inversa (Bongers et al., 1997) o directa (Neher y Campbell, 1994) con el índice de madurez. Su fórmula es igual a la del MI, asignándole los valores cp sólo a las familias de nematodos fitófagos (valor pp) (Bongers y

Ferris, 1999). En agroecosistemas, valores altos del PPI sugieren plantas hospedadoras vigorosas, reflejando el enriquecimiento del sistema, mientras que valores bajos del PPI indican poco crecimiento de los hospedadores debido a valores bajos en las categorías cp.

MI 2-5: El índice de madurez es muy sensible a los oportunistas de enriquecimiento (o cp1) por lo que esta categoría es excluida en este análisis. El índice MI 2-5 mide el impacto de contaminantes bajo condiciones agrícolas. Para su cálculo se excluye la abundancia de nematodos oportunistas de enriquecimiento (cp1) que responden a la presencia de MO en descomposición. Los nematodos con valores cp entre 2 y 5 son más estables temporalmente y pueden proveer información de las condiciones ambientales a largo plazo (Bongers y Kort-hals, 1993).

ΣMI: Este índice incluye a todos los nematodos en el sistema. Incluye a la categoría fitófagos argumentando que el análisis completo del ensamble provee información integral con respecto a los disturbios y condición del ambiente. Muchos nematodos fitófagos relativamente tolerantes a la contaminación (pp 3) al ser incluidos, podrían disminuir la sensibilidad de este índice.

Índices de la red trófica

El estudio de los gremios funcionales de nematodos es útil para describir la condición en la que se halla la red trófica, evaluando el estado de fertilidad, respuesta frente a disturbios y vías de descomposición de la materia a través de los índices de enriquecimiento (EI), estructura (SI) y canal (CI) (Ferris et al., 2001). Dichos índices ponderan la presencia o ausencia de ciertos gremios de nematodos permitiendo construir un perfil de la fauna de nematodos presentes en el ecosistema, indicando si la comunidad de nematodos se encuentra en un estado basal, enriquecido o estructurado y permitiendo conocer el estado en el cual se encuentra el suelo.

Ferris et al. (2001) propusieron ubicar la intersección entre los valores de los índices EI y SI obtenidos en una muestra, en puntos dentro de un gráfico de 4 cuadrantes (A, B, C y D). Dichos cuadrantes indican si el sistema suelo está disturbado (por el uso de fertilizantes o pesticidas), degradado (suelos sin recursos disponibles para los organismos) o maduro (suelos estables relacionados a ambientes naturales), si existe una baja o alta relación entre el consumo de carbono o nitrógeno (C: N baja= alta concentración de bacterias que se alimentan de nitrógeno; C: N alta= gran concentración de hongos, degradadores del carbono de la M.O. más recalcitrante). Otra función de estos índices es conocer si los suelos son conductivos, regulados o supresivos para la presencia de organismos considerados plaga (Figura M.6).

Los índices de enriquecimiento (EI), estructura (SI), basal (BI) y de canal (CI) se calculan a partir de los componentes ponderados (b, e, s) del conjunto de nematodos: $b = (Ba_2 + Fu_2) \times w_2$; $e = (Ba_1 \times w_1) + (Fu_2 \times w_2)$; $s = (Ba_n \times w_n + Fu_n \times w_n + Pr_n \times w_n)$, siendo Ba, Fu y Pr los gremios de bacteriófagos, fungívoros y predadores respectivamente; n indica el valor de la escala CP y w el valor de ponderación asignado a cada gremio (Figura M.6).

Índice de Enriquecimiento (EI): Indicador del incremento de las poblaciones de bacterias generadas tras un proceso de enriquecimiento. Este índice está basado en la respuesta de nematodos oportunistas (no herbívoros) al incremento en el alimento exhibiendo la abundancia y actividad de nematodos detritívoros (consumidores primarios). De esta manera los gremios Ba₁ y Fu₂ son indicadores de enriquecimiento.

$$EI = 100 \times e / (e + b)$$

donde: $e = (Ba_1 \times w_1) + (Fu_2 \times w_2)$ y

$$b = (Ba_2 + Fu_2)$$

Índice de Estructura (SI): Basado en los eslabones más altos de la red, es indicador de la complejidad de la red trófica y de la capacidad de supresión de especies invasoras y especies plaga. El SI indica sensibilidad a los disturbios. Los gremios formados por cualquier grupo trófico dentro de los valores cp 3-5 son indicadores de estructura.

$$SI = 100 \times s / (s + b)$$

donde: $s = (Ba_n \times w_n + Fu_n \times w_n +$

$$Pr_n \times w_n)$$
 y $b = (Ba_2 + Fu_2)$

Índice de Canal (CI): Indicador del camino predominante de descomposición de la M.O. presente en el ecosistema en estudio. Tiene en cuenta la presencia del gremio Ba₁ (bacteriófagos oportunistas del enriquecimiento) y del gremio Fu₂ (fungívoros). Si la M.O. tiene una alta concentración de N en los tejidos (baja relación C:N) se descompondrá a través del canal dominado por bacterias. Por el contrario si la M.O. tiene una alta relación C: N (alto contenido en celulosa y lignina) se descompondrá a través de la acción de hongos (que descomponen la M.O. más recalcitrante).

$$CI = 100 \times Fu_2 \times w_2 / (Ba_1 \times w_1 + Fu_2 \times w_2)$$

donde: w₁=valor de ponderación

y w₂= valor

Índice Basal (BI): Indicador de la presencia de los nematodos llamados basales, resistentes a las perturbaciones, se encuentran en las instancias iniciales de la sucesión ecológica. En ciertos sistemas es indicativo de redes tróficas degradadas.

$$BI = 100 \times b / (e + s + b)$$

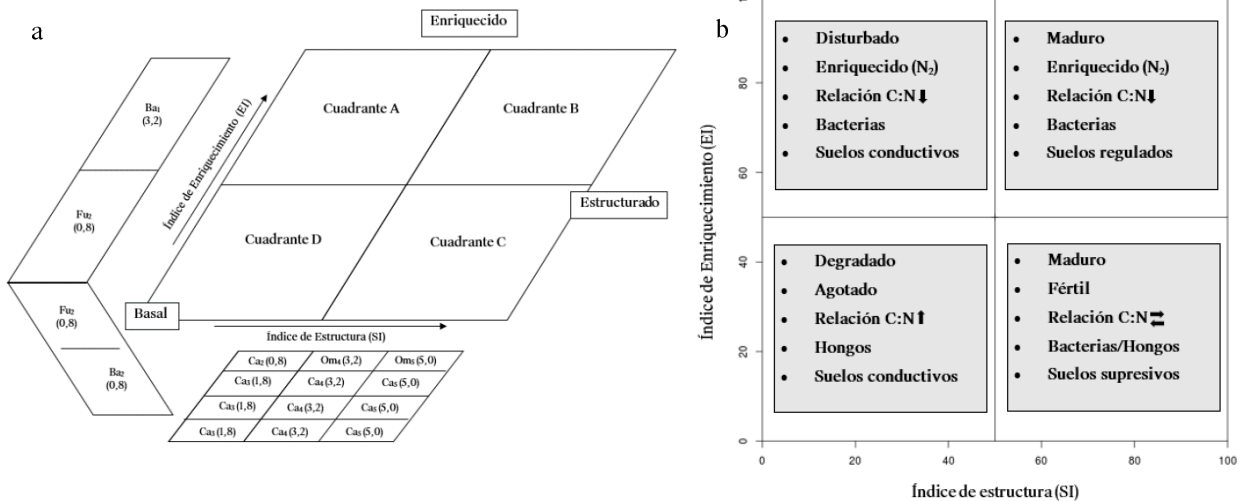


Figura M.6. Perfil de fauna propuesto por Ferris (2001). **a)** la condición en la que se encuentra un ecosistema puede estimarse en base a la proporción de gremios; un sistema enriquecido estará determinado por el incremento en Ba1 y un sistema estructurado por el incremento en los gremios con valores cp 5. **b)** cuatro condiciones en las que se encuentra un ecosistema según la presencia de los gremios de nematodos hallados.

Huellas Metabólicas: Este novedoso y reciente análisis expresa de manera sencilla la amplitud de la utilización de carbono por los diferentes gremios de nematodos que conforman las redes tróficas de cada ecosistema. Las huellas metabólicas de los nematodos proporcionan un método eficaz para monitorear los recursos disponibles en un sistema dado y estimar así la contribución de los nematodos a los servicios y funciones del ecosistema. Se analizan mediante la representación gráfica de rombos que indican el grado de utilización de dicho recurso, siendo el punto en el medio de un rombo la intersección de los valores hallados del EI y SI y la longitud de los ejes verticales y horizontales del rombo corresponde a las huellas de los componentes de enriquecimiento y estructura respectivamente (Ferris, 2010) (Figura M. 7). La utilización de carbono por parte de los nematodos en niveles altos de la red trófica (depredadores y omnívoros, por ejemplo) se aprecia en la expansión horizontal del rombo, mientras que la expansión sobre el eje vertical evidencia la utilización de carbono por parte de nematodos en los niveles basales de la trama trófica (bacteriófagos y fungívoros). El análisis de las huellas metabólicas proporciona información adicional sobre las diferencias que pueden encontrarse en la forma y función de la red alimentaria entre comunidades de nematodos de distintos sitios en estudio, pudiendo ser dichas dife-

rencias indetectables mediante el cálculo de otros índices (por ejemplo mediante el índice de Shannon-Wiener e índices de madurez). Con este análisis, entonces, se puede hipotetizar que al alcanzar la forma del rombo un aspecto cuadrangular, las tasas de productividad de los indicadores de enriquecimiento (gremios basales considerados presa) son suficientes para mantener las necesidades de los depredadores (indicadores de estructura), concluyendo que el sistema está en equilibrio metabólico.

Para los Índices de función del ecosistema y huellas metabólicas se utilizó el software online NINJA (Nematode INDicator Joint Analysis) (Sieriebriennikov et al., 2014).

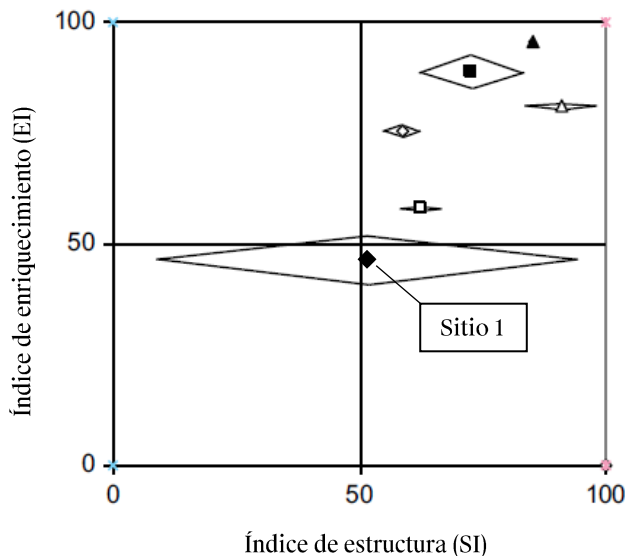


Figura M. 7. Ejemplo de la representación gráfica de las huellas metabólicas. Rápidamente se puede apreciar en el sitio 1 la utilización de carbono por nematodos pertenecientes a los niveles más altos de la trama trófica.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos de las distintas variables analizadas fueron comparados entre los distintos sitios de muestreo. Mediante el test de Levene se sometieron dichos datos a las hipótesis de homocedasticidad y la normalidad fue comprobada mediante q-q plots (gráfico cuantil-cuantil), cuando se cumplieron las mismas se aplicó un análisis de varianza (ANOVA). En casos donde fue necesaria una transformación para estabilizar la varianza se utilizó logaritmo natural. Cuando no se cumplieron las hipótesis, ni aún con los datos transformados, se usó test de Kruskal- Wallis. Si fueron encontradas diferencias significativas, los análisis post-hoc se realizaron con el método HSD de Tukey. El nivel de significación fue fijado en 5% ($p < 0.05$).

ANOVA

Se realizó el análisis de varianza ANOVA a los conjuntos de datos correspondientes a las abundancias de grupos tróficos, de nematodos colonizadores-persistentes y gremios funcionales, así también como a los valores obtenidos de los índices de diversidad y de función del ecosistema. Las diferencias entre sitios con $p < 0.05$ fueron consideradas significativas.

ANOSIM & SIMPER

Para evaluar la composición de las abundancias de los distintos géneros de nematodos en los muestreos se realizaron los análisis ANOSIM y SIMPER (Clarke y Gorley, 2006) para el estudio de esta variable. ANOSIM proporciona dos valores: valor p (nivel de significancia) y un valor R correspondiente a la magnitud con la cual los factores se diferencian o distancian. El valor R varía entre 0 y 1; valores cercanos a 1 indican una separación alta entre los niveles de los factores que se estén analizando (tratamientos, en este caso) y cercanos a 0 indican que no hay separación entre los niveles de los factores (Clarke y Warwick, 2001). SIMPER muestra el porcentaje de disimilitud entre factores (tratamientos) e indica el porcentaje de contribución de las variables (géneros) que explican dicha separación. Los géneros fueron ordenados en orden decreciente de importancia de acuerdo a la contribución que aportaron a la disimilitud hasta alcanzar el 90 % de la disimilitud explicada acumulada.

Para estos análisis se transformaron los valores de abundancia de géneros a raíz cuadrada, para disminuir las diferencias de la contribución de especies muy abundantes, y se utilizó el índice de similaridad de Bray Curtis mediante el software PRIMER (Plymouth Routines Multivariate Ecological Research, version 6) (Clarke y Gorley, 2001).

RESULTADOS

ANÁLISIS DE LA COMUNIDAD DE NEMATODOS DEL CHP

El resultado global luego de la determinación de nematodos hallados en los cuatro sitios de muestreo permitió identificar dentro de 24 familias un total de 47 taxones. Entre ellos 42 se determinaron a nivel de género, mientras que 5 taxones fueron identificados a nivel de familia. Rhabditidae fue la familia donde se observó el mayor número de individuos en el total de los muestreos (10810 ind.), alcanzando valores que duplican a las siguientes familias más abundantes, Tylenchidae y Hoplolaimidae (6675 y 6585 ind. respectivamente) (Figura R.1). Se encontraron representantes de los cinco grupos tróficos y todos los valores en la escala colonizador-persistente (1-5). En cuanto a los gremios de nematodos, se hallaron 10 de los 16 gremios conocidos (Tabla R.1.).



Figura R.1. Representación logarítmica de las abundancias de individuos por familia dentro de cada grupo trófico (Fi= fitófagos; Fu=fungívoros; Ba= bacteriófagos; Om= omnívoros; De= depredadores) considerando los 4 sitios de muestreo.

Grupo trófico	Familia	Taxón	cp	Gremio
Bacteriófagos	Cephalobidae	<i>Acrobeles</i>	2	Ba2
		<i>Acrobelloides</i>	2	Ba2
		Cephalobidae	2	Ba2
		<i>Cephalobus</i>	2	Ba2
		<i>Chiloplacus</i>	2	Ba2
		<i>Eucephalobus</i>	2	Ba2
	Diplogasteridae	Diplogasteridae	1	Ba1
	Panagrolaimidae	<i>Panagrolaimus</i>	1	Ba1
	Plectidae	<i>Plectus</i>	2	Ba2
	Prismatolaimidae	<i>Prismatolaimus</i>	3	Ba3
	Mesorhabditidae	<i>Mesorhabditis</i>	1	Ba1
	Rhabditidae	<i>Cruznama</i>	1	Ba1
		<i>Diploscapter</i>	1	Ba1
		<i>Distolabrellus</i>	1	Ba1
		<i>Protorhabditis</i>	1	Ba1
		<i>Rhabditidae</i>	1	Ba1
<i>Rhabditis</i>		1	Ba1	
Fungívoros	Anguinidae	<i>Ditylenchus</i>	2	Fu2
	Aphelenchidae	<i>Aphelenchus</i>	2	Fu2
	Aphelenchoididae	<i>Aphelenchoides</i>	2	Fu2
	Neotylenchidae	<i>Nothotylenchus</i>	2	Fu2
	Tylenchidae	<i>Filenchus</i>	2	Fu2
	Tylencholaimidae	<i>Tylencholaimus</i>	4	Fu4
Fitófagos	Belonolaimidae	<i>Tylenchorhynchus</i>	3	Fi3
		<i>Criconema</i>	3	Fi3
		<i>Criconemella</i>	3	Fi3
	Hemicycliophoridae	<i>Criconemoides</i>	3	Fi3
		<i>Hemicaloosia</i>	3	Fi3
		Hoplolaimidae	<i>Helicotylenchus</i>	3
	<i>Hoplolaimus</i>		3	Fi3
	<i>Rotylenchus</i>		3	Fi3
	Pratylenchidae	<i>Nacobbus</i>	3	Fi3
		<i>Pratylenchus</i>	3	Fi3
	Tylenchidae	<i>Aglenchus</i>	2	Fi2
		<i>Boleodorus</i>	2	Fi2
		<i>Coslenchus</i>	2	Fi2
		<i>Psilenchus</i>	2	Fi2
		<i>Sakia</i>	2	Fi2
		<i>Tylenchus</i>	2	Fi2
<i>Paratylenchus</i>		2	Fi2	
Omnívoros	Tylenchulidae	<i>Paratylenchus</i>	2	Fi2
	Aporcelaimidae	<i>Aporcelaimellus</i>	5	Om5
	Dorylaimidae	Dorylaimidae	4	Om4
	Qudsinematidae	<i>Eudorylaimus</i>	4	Om4
Depredadores	Mononchidae	Qudsianematidae	4	Om4
		<i>Coomansus</i>	4	De4
	<i>Mononchus</i>	4	De4	
	Mylonchulidae	<i>Mylonchulus</i>	4	De4

Tabla R.1. Clasificación general de los nematodos estudiados. Los nematodos fueron ordenados de acuerdo a su hábito alimenticio, jerarquización taxonómica, estrategia adaptativa y función en el ecosistema.

Debido al escaso registro de nematodos edáficos para sistemas agrícolas presentes en el CHP se calculó, en primera instancia, la abundancia relativa y frecuencia de cada género en el total de los sitios de muestreo. Los resultados indicaron que los géneros de nematodos más abundantes hallados en el total de comunidades fueron *Rhabditis*, *Helicotylenchus*, *Filenchus*, Rhabditidae (género sin determinar), *Tylenchus*, *Mesorhabditis* y *Nacobbus*. Estos 7 taxones representan el 75% de abundancia con respecto al total de ejemplares determinados y cuantificados (Figura R.2.a). Analizando la frecuencia de los géneros en el total de las muestras se encontró que los nematodos más frecuentes fueron *Mesorhabditis*, *Tylenchus*, *Rhabditis*, *Filenchus*, *Helicotylenchus*, Rhabditidae (s/d), *Aphelenchus* y *Acrobeles* (Figura R.2.b).

Las abundancias relativas y frecuencias de los nematodos fueron calculadas en cada sitio en particular. A través de estos valores los agroecosistemas y el sitio prístino fueron caracterizados mediante los principales géneros de nematodos edáficos hallados (Lamina R.1).

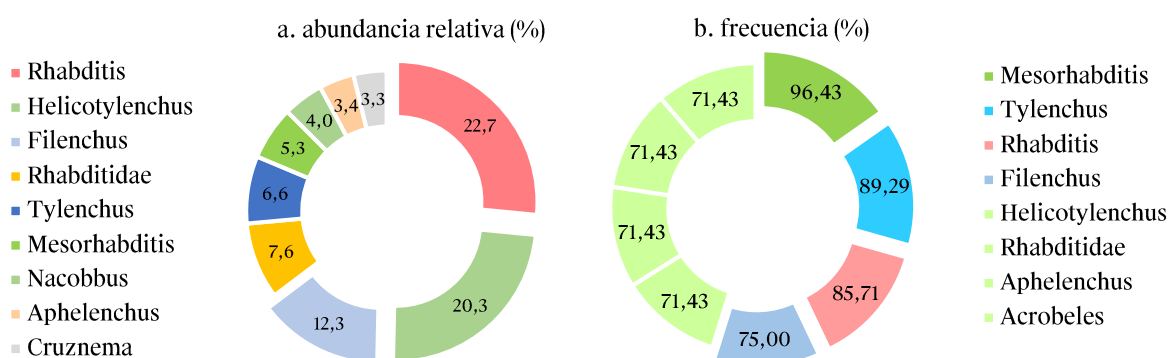


Figura R.2. a. Abundancia relativa porcentual y b. Frecuencia porcentual de los géneros de nematodos determinados para el total de comunidades analizadas.

En el sitio agroecológico las abundancias relativas más altas fueron para *Helicotylenchus*, que se destacó con un valor de abundancia mayor que el segundo y tercer género (*Tylenchus* y *Cruz nema* respectivamente), duplicándolos. Estos tres géneros aportaron un valor cercano al 50%. Los géneros *Rhabditis* y *Filenchus* fueron los siguientes géneros que superaron el 5% de abundancia relativa. Los géneros *Tylenchus*, *Filenchus*, *Mesorhabditis* y *Panagrolaimus* presentaron una frecuencia del 100% (Tabla R.2).

Cultivo agroecológico	a.r. (%)		fr. (%)
<i>Helicotylenchus</i>	24,58	<i>Tylenchus</i>	100,00
<i>Tylenchus</i>	12,78	<i>Filenchus</i>	100,00
<i>Cruz nema</i>	11,74	<i>Mesorhabditis</i>	100,00
<i>Rhabditis</i>	6,81	<i>Panagrolaimus</i>	100,00
<i>Filenchus</i>	6,04	<i>Acrobeles</i>	100,00
<i>Rhabditidae</i>	5,56	<i>Rhabditis</i>	75,00
<i>Mesorhabditis</i>	4,79	<i>Rhabditidae</i>	75,00
<i>Panagrolaimus</i>	4,51	<i>Eucephalobus</i>	75,00
<i>Aphelenchus</i>	4,03	<i>Helicotylenchus</i>	62,50
<i>Tylenchorhynchus</i>	4,03	<i>Aphelenchus</i>	50,00
<i>Acrobeles</i>	3,06	<i>Aglenchus</i>	50,00
<i>Cephalobus</i>	2,36	<i>Dorylaimidae</i>	50,00
<i>Aglenchus</i>	2,08	<i>Aphelenchoides</i>	50,00
<i>Acrobeloides</i>	1,32	<i>Eudorylaimus</i>	50,00
<i>Eucephalobus</i>	0,69	<i>Cruz nema</i>	37,50
<i>Dorylaimidae</i>	0,69	<i>Tylenchorhynchus</i>	37,50
<i>Aphelenchoides</i>	0,63	<i>Cephalobus</i>	37,50
<i>Eudorylaimus</i>	0,56	<i>Acrobeloides</i>	37,50
<i>Boleodorus</i>	0,56	<i>Chiloplacus</i>	37,50
<i>Chiloplacus</i>	0,49	<i>Mylonchulus</i>	37,50
<i>Aporcelaimellus</i>	0,35	<i>Boleodorus</i>	25,00
<i>Pratylenchus</i>	0,35	<i>Aporcelaimellus</i>	25,00
<i>Mylonchulus</i>	0,28	<i>Pratylenchus</i>	25,00
<i>Nothotylenchus</i>	0,28	<i>Nothotylenchus</i>	25,00
<i>Cephalobidae</i>	0,28	<i>Diploscapter</i>	25,00
<i>Criconema</i>	0,28	<i>Cephalobidae</i>	12,50
<i>Diplogasteridae</i>	0,21	<i>Criconema</i>	12,50
<i>Diploscapter</i>	0,14	<i>Diplogasteridae</i>	12,50
<i>Psilenchus</i>	0,14	<i>Psilenchus</i>	12,50
<i>Distolabrellus</i>	0,07	<i>Distolabrellus</i>	12,50
<i>Ditylenchus</i>	0,07	<i>Ditylenchus</i>	12,50
<i>Nacobbus</i>	0,07	<i>Nacobbus</i>	12,50
<i>Paratylenchus</i>	0,07	<i>Paratylenchus</i>	12,50
<i>Qudsianematidae</i>	0,07	<i>Qudsianematidae</i>	12,50
<i>Rotylenchus</i>	0,07	<i>Rotylenchus</i>	12,50

Tabla.R.2. Abundancia relativa (a.r. %) y frecuencia (%) de los géneros presentes en el cultivo agroecológico.

En los cultivos tratados con enmiendas orgánicas los géneros *Rhabditis*, *Helicotylenchus*, Rhabditidae (género sin determinar) y *Mesorhabditis* fueron los más abundantes representando, en conjunto, más del 60% de la abundancia relativa del total de géneros en estas comunidades. En este sitio el análisis de la frecuencia de estos tres primeros géneros fue del 100% mientras que para *Mesorhabditis* fue del 87.5% (Tabla R.3).

Cultivo enm. orgánica	a.r. (%)		fr. (%)
Rhabditis	26,08	Helicotylenchus	100,00
Helicotylenchus	24,64	Mesorhabditis	100,00
Rhabditidae	13,97	Tylenchus	100,00
Mesorhabditis	7,80	Rhabditis	87,50
Tylenchus	5,43	Filenchus	87,50
Aphelenchus	4,18	Chiloplacus	87,50
Filenchus	3,99	Rhabditidae	75,00
Chiloplacus	1,75	Aphelenchus	75,00
Nacobbus	1,50	Nacobbus	62,50
Acrobeles	1,43	Acrobeles	62,50
Acrobeloides	1,19	Acrobeloides	50,00
Panagrolaimus	1,19	Panagrolaimus	50,00
Cruznema	0,87	Cruznema	50,00
Aglenchus	0,81	Aglenchus	50,00
Eucephalobus	0,75	Dorylaimidae	50,00
Hemicaloosia	0,62	Eucephalobus	37,50
Dorylaimidae	0,56	Aphelenchoides	37,50
Cephalobus	0,56	Cephalobus	25,00
Criconemella	0,56	Criconemella	25,00
Rotylenchus	0,44	Criconema	25,00
Criconema	0,37	Cephalobidae	25,00
Aphelenchoides	0,31	Hemicaloosia	12,50
Eudorylaimus	0,31	Rotylenchus	12,50
Cephalobidae	0,25	Eudorylaimus	12,50
Qudsianematidae	0,12	Qudsianematidae	12,50
Sakia	0,12	Sakia	12,50
Tylenchorhynchus	0,12	Tylenchorhynchus	12,50
Mylonchulus	0,06	Mylonchulus	12,50

Tabla.R.3. Abundancia relativa (a.r. %) y frecuencia (%) de los géneros presentes en el cultivo con enmiendas orgánicas.

En el sitio con aplicación de BrMe se determinaron que las abundancias relativas más grandes fueron las presentadas por los géneros *Rhabditis*, el nematodo considerado plaga *Nacobbus*, Rhabditidae (género sin determinar) y *Mesorhabditis* alcanzando, la suma de sus valores, más de un 70% de la abundancia relativa del total de géneros analizados para este cultivo. Coincidiendo con el género más abundante, *Rhabditis* también fue el más frecuente alcanzando un 100% en el total de muestreos junto con *Mesorhabditis* (Tabla R.4).

Cultivo BrMe	a.r. (%)		fr. (%)
Rhabditis	51,06	Rhabditis	100
Nacobbus	12,85	Mesorhabditis	100
Rhabditidae	9,94	Rhabditidae	87,5
Mesorhabditis	7,15	Aphelenchus	75
Filenchus	5,87	Nacobbus	62,5
Aphelenchus	3,58	Tylenchus	62,5
Dorylaimidae	1,45	Dorylaimidae	50
Diplogasteridae	1,40	Chiloplacus	50
Chiloplacus	1,17	Acrobeloides	50
Cruznema	0,95	Diplogasteridae	37,5
Tylenchus	0,73	Helicotylenchus	37,5
Acrobeloides	0,56	Panagrolaimus	37,5
Helicotylenchus	0,50	Acrobeles	37,5
Diploscapter	0,45	Eudorylaimus	37,5
Panagrolaimus	0,39	Filenchus	25
Distolabrellus	0,34	Cruznema	25
Acrobeles	0,28	Diploscapter	25
Cephalobus	0,28	Distolabrellus	25
Pratylenchus	0,28	Cephalobus	25
Protorhabditis	0,28	Pratylenchus	25
Eudorylaimus	0,17	Protorhabditis	12,5
Mylonchulus	0,11	Mylonchulus	12,5
Eucephalobus	0,06	Eucephalobus	12,5
Prismatolaimus	0,06	Prismatolaimus	12,5
Rotylenchus	0,06	Rotylenchus	12,5
Tylenchorhynchus	0,06	Tylenchorhynchus	12,5

Tabla.R.4. Abundancia relativa (a.r. %) y frecuencia (%) de los géneros presentes en el cultivo con BrMe.

Los géneros que mayor abundancia relativa evidenciaron en el sitio prístino fueron *Helicotylenchus*, *Filenchus* y *Tylenchus* los cuales, que sumando sus respectivos valores alcanzaron un porcentaje de abundancia relativa superior al 70% del total. En concordancia, estos mismos géneros fueron los que alcanzaron una frecuencia del 100% (junto con *Aphelenchus* y *Acrobeles*). El hecho de que estos tres géneros tengan los valores más altos de abundancia y frecuencia evidencia una aparente dominancia de estos taxones en el sitio sin intervención antrópica (Tabla R.5).

Bosque prístino	a.r. (%)		fr. (%)
<i>Helicotylenchus</i>	34,70	<i>Helicotylenchus</i>	100,00
<i>Filenchus</i>	33,87	<i>Filenchus</i>	100,00
<i>Tylenchus</i>	8,96	<i>Tylenchus</i>	100,00
<i>Coslenchus</i>	3,97	<i>Aphelenchus</i>	100,00
<i>Paratylenchus</i>	2,24	<i>Acrobeles</i>	100,00
<i>Criconemella</i>	2,11	<i>Paratylenchus</i>	75,00
<i>Aphelenchus</i>	1,98	<i>Criconemella</i>	75,00
<i>Criconemoides</i>	1,54	<i>Rhabditis</i>	75,00
<i>Acrobeles</i>	1,34	<i>Cephalobus</i>	75,00
<i>Rhabditis</i>	1,22	<i>Eudorylaimus</i>	75,00
<i>Cephalobus</i>	1,09	<i>Mesorhabditis</i>	75,00
<i>Eudorylaimus</i>	1,02	<i>Cruznema</i>	75,00
<i>Mesorhabditis</i>	0,96	<i>Psilenchus</i>	75,00
<i>Criconema</i>	0,83	<i>Coslenchus</i>	50,00
<i>Eucephalobus</i>	0,70	<i>Criconema</i>	50,00
<i>Dorylaimidae</i>	0,58	<i>Eucephalobus</i>	50,00
<i>Cruznema</i>	0,51	<i>Dorylaimidae</i>	50,00
<i>Hoplolaimus</i>	0,51	<i>Hoplolaimus</i>	50,00
<i>Psilenchus</i>	0,32	<i>Mylonchulus</i>	50,00
<i>Aglenchus</i>	0,26	<i>Criconemoides</i>	25,00
<i>Aporcelaimellus</i>	0,26	<i>Aglenchus</i>	25,00
<i>Mylonchulus</i>	0,13	<i>Aporcelaimellus</i>	25,00
<i>Boleodorus</i>	0,13	<i>Boleodorus</i>	25,00
<i>Mononchus</i>	0,13	<i>Mononchus</i>	25,00
<i>Pratylenchus</i>	0,13	<i>Pratylenchus</i>	25,00
<i>Tylencholaimus</i>	0,13	<i>Tylencholaimus</i>	25,00
<i>Chiloplacus</i>	0,06	<i>Chiloplacus</i>	25,00
<i>Coomansus</i>	0,06	<i>Coomansus</i>	25,00
<i>Panagrolaimus</i>	0,06	<i>Panagrolaimus</i>	25,00
<i>Plectus</i>	0,06	<i>Plectus</i>	25,00
<i>Prismatolaimus</i>	0,06	<i>Prismatolaimus</i>	25,00
<i>Rhabditidae</i>	0,06	<i>Rhabditidae</i>	25,00

Tabla.R.5. Abundancia relativa (a.r. %) y frecuencia (%) de géneros en el bosque prístino.



Rhabditis



Helicotylenchus



Helicotylenchus
(estílete)



Filenchus



Nacobbus
(macho)



Nacobbus
(hembra grávida)



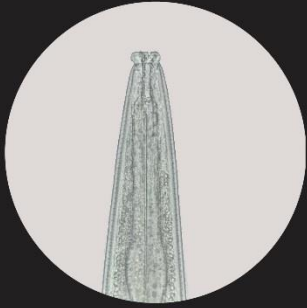
Criconematidae



Criconematidae



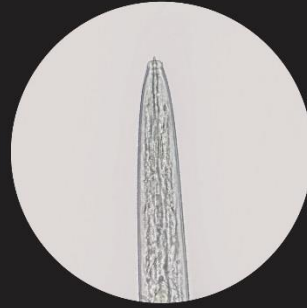
Acrobeles



Mesorhabditis



Diploscapter



Dorylaimidae



Mononchus



Mononchus
(estoma)



Mylonchulus

Los resultados del test no paramétrico ANOSIM mostraron diferencias significativas entre las abundancias de nematodos en los distintos sitios de muestreo ($R_{global}= 0,441$, $p=0,001$). El ensamble de nematodos en el cultivo con aplicación de BrMe se caracterizó por diferenciarse significativamente con todos los sitios de muestreo, mientras que el cultivo con enmienda orgánica se diferenció del bosque prístino (Tabla R.6).

	Enm. orgánica	BrMe	Prístino
Agroecológico	0,124	0,606*	0,393
Enm. orgánica		0,357*	0,735*
BrMe			0,836*

Tabla R.6. Resultados del valor de R en cada sitio, mediante el análisis ANOSIM, para la comparación entre las abundancias de los sitios estudiados. $p < 0,005$ (*) es indicado.

Los resultados del análisis SIMPER permitieron observar cuáles fueron los géneros más abundantes y que contribuyeron a la disimilitud entre los distintos sitios analizados, brindando información valiosa y original a los resultados de esta tesis. Entre los sitios donde se aplicaron enmiendas orgánicas y los que fueron tratados con BrMe se determinó una disimilitud promedio de 59,55% donde se destacan las diferencias entre las abundancias de *Helicotylenchus* (para enmienda orgánica) y *Rhabditis* (para BrMe) (Tabla R.7). Entre el sitio prístino y el cultivo con aplicación de enmiendas orgánicas se determinó un valor de disimilitud promedio de 59,42%, observando que las principales diferencias se dieron debido a los altos valores en la abundancia de los nematodos *Helicotylenchus* y *Filenchus* en el sitio prístino (Tabla R.7). Al comparar el sitio agroecológico con el sitio donde se utilizó BrMe se observó una disimilitud promedio elevada de 68,29% (Tabla R.18); para el sitio agroecológico los géneros que más aportaron a la disimilitud fueron *Helicotylenchus*, *Filenchus* y *Tylenchus*, mientras que para el cultivo con BrMe los que más aportaron fueron los bacteriófagos oportunistas *Rhabditis* y los nematodos plaga *Nacobbus* (Tabla R.18). La mayor disimilitud encontrada por este análisis fue entre los sitios tratados con BrMe y el sitio prístino con un valor de 79,80 % donde los géneros *Helicotylenchus* y *Filenchus* se destacaron en el sitio prístino y la gran abundancia de los bacteriófagos *Rhabditis* en BrMe (Tabla R.7).

Disimilitud promedio = 59,55 Enm. Org. BrMe

Género	a.p.	a.p.	contrib (%)	acum. (%)
<i>Rhabditis</i>	12,21	20,6	14,52	14,52
<i>Helicotylenchus</i>	14,8	1,39	13,71	28,23
Rhabditidae	9,6	8,63	8,17	36,4
<i>Nacobbus</i>	2,7	8,65	7,53	43,94
<i>Filenchus</i>	5,67	3,71	6,58	50,52
<i>Mesorhabditis</i>	7,99	7,93	4,9	55,42
<i>Tylenchus</i>	7,06	2,24	4,72	60,13

Disimilitud promedio= 79,03 BrMe Prístino

Género	a.p.	a.p.	contrib (%)	acum. (%)
<i>Helicotylenchus</i>	1,39	25,96	16,15	16,15
<i>Filenchus</i>	3,71	22,24	11,63	27,78
<i>Rhabditis</i>	20,6	4,01	10,68	38,46
<i>Tylenchus</i>	2,24	12,21	5,87	44,32
Rhabditidae	8,63	0,56	5,14	49,46
<i>Nacobbus</i>	8,65	0	5,02	54,49
<i>Mesorhabditis</i>	7,93	3,29	3,77	58,26
<i>Criconemella</i>	0	4,23	3,22	61,47
<i>Paratylenchus</i>	0	5,45	3,13	64,61
<i>Coslenchus</i>	0	5,12	2,82	67,42
<i>Aphelenchus</i>	4,89	5,11	2,68	70,1
<i>Acrobeles</i>	1,04	4,56	2,24	72,34
<i>Cephalobus</i>	0,84	3,84	2,08	74,42
<i>Eudorylaimus</i>	0,84	3,8	2,04	76,46
Dorylaimidae	2,49	2,34	1,9	78,36
<i>Criconema</i>	0	2,83	1,88	80,25

Disimilitud promedio = 68,29 Agroeco. BrMe

Género	a.p.	a.p.	contrib (%)	acum. (%)
<i>Rhabditis</i>	5,92	20,6	13,66	13,66
<i>Helicotylenchus</i>	9,98	1,39	8,47	22,14
<i>Nacobbus</i>	0,28	8,65	6,8	28,94
<i>Filenchus</i>	7,05	3,71	6,48	35,42
<i>Tylenchus</i>	9,79	2,24	6,48	41,9
Rhabditidae	5,22	8,63	6,12	48,02
<i>Cruzinema</i>	5,38	1,57	5,21	53,23
<i>Panagrolaimus</i>	5,85	1,25	4,35	57,57
<i>Aphelenchus</i>	3,92	4,89	4,29	61,87
<i>Mesorhabditis</i>	6,02	7,93	3,99	65,85
<i>Acrobeles</i>	5,07	1,04	3,82	69,68

Disimilitud promedio= 59,42 Enm. Org. Prístino

Género	a.p.	a.p.	contrib (%)	acum. (%)
<i>Filenchus</i>	5,67	22,24	12,04	12,04
<i>Helicotylenchus</i>	14,8	25,96	9,52	21,55
<i>Rhabditis</i>	12,21	4,01	7,8	29,36
Rhabditidae	9,6	0,56	7,1	36,46
<i>Tylenchus</i>	7,06	12,21	4,58	41,04
<i>Mesorhabditis</i>	7,99	3,29	4,38	45,43
<i>Paratylenchus</i>	0	5,45	3,88	49,31
<i>Criconemella</i>	1,17	4,23	3,86	53,17
<i>Coslenchus</i>	0	5,12	3,5	56,67
<i>Aphelenchus</i>	5,21	5,11	3,42	60,09

Tabla R.7. Resultados del análisis SIMPER. Se observan las abundancias promedio de géneros (a.p.) de cada sitio, su porcentaje de contribución y el porcentaje de disimilitud acumulada entre cada par de sitios donde se encontraron diferencias significativas mediante ANOSIM.

Grupos Tróficos

La caracterización morfológica de las principales estructuras del sistema digestivo permitió diferenciar los 5 grupos tróficos conocidos (Lámina R.2). Los resultados del estudio de esta categoría mostraron que los mayores porcentajes de bacteriófagos fueron encontrados en los cultivos tratados con BrMe y con enmienda orgánica (72,8% y 52,5% respectivamente). Los fitófagos fueron encontrados en mayor proporción en el sitio prístino y en los cultivos Agroecológicos (63,3% y 39,3% respectivamente). Los nematodos fungívoros fueron hallados en un 28,2% en el sitio Prístino. Debido a los escasos ejemplares de depredadores y omnívoros encontrados en cada sitio, sus respectivas abundancias fueron sumadas, hallándose los valores más altos de esta categoría en el cultivo agroecológico (3,4%) y en el sitio Prístino (2,3%) (Figura R.3).

Los resultados del análisis de la varianza (ANOVA) encontraron diferencias significativas en la abundancia de grupos tróficos entre sitios (Tabla R.8). Para bacteriófagos el test *post hoc* encontró diferencias entre los sitios BrMe-prístino siendo 2345 ind. / 100 cm³ el valor máximo de abundancia hallado para los cultivos con BrMe y 230 ind. /100 cm³ el máximo para el sitio prístino; y diferencias entre enmienda orgánica-prístino con abundancias máximas de 1360 ind. /100 cm³ y 230 ind. /100 cm³ respectivamente (Tabla R.9). Para fitófagos ($p=0,0058$) también se hallaron diferencias significativas en las abundancias entre los pares de sitios BrMe-prístino (585 ind. /100 cm³y 1435 ind. /100 cm³) y enmienda orgánica-BrMe (900 ind. /100 cm³y 1435 ind. /100 cm³) (Tabla R.8).

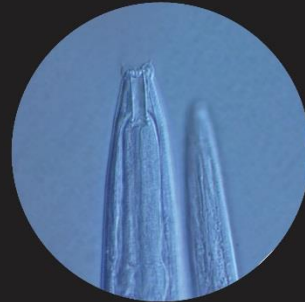
Lámina R.2. Fotografías de géneros ubicados dentro de los cinco grupos tróficos, tomadas con microscopio estereoscópico Leyca modelo DM-500.



Helicotylenchus



Aphelenchus



Mesorhabditis



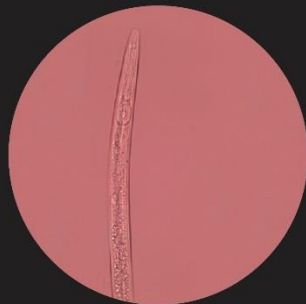
Mylonchulus



Eudorylaimus



Hoplolaimus



Aphelenchus



Acrobeles



Mononchus



Dorylaimidae

FITOFAGOS

FUNGIVOROS

BACTERIOFAGOS

DEPREDADORES

OMNIVOROS

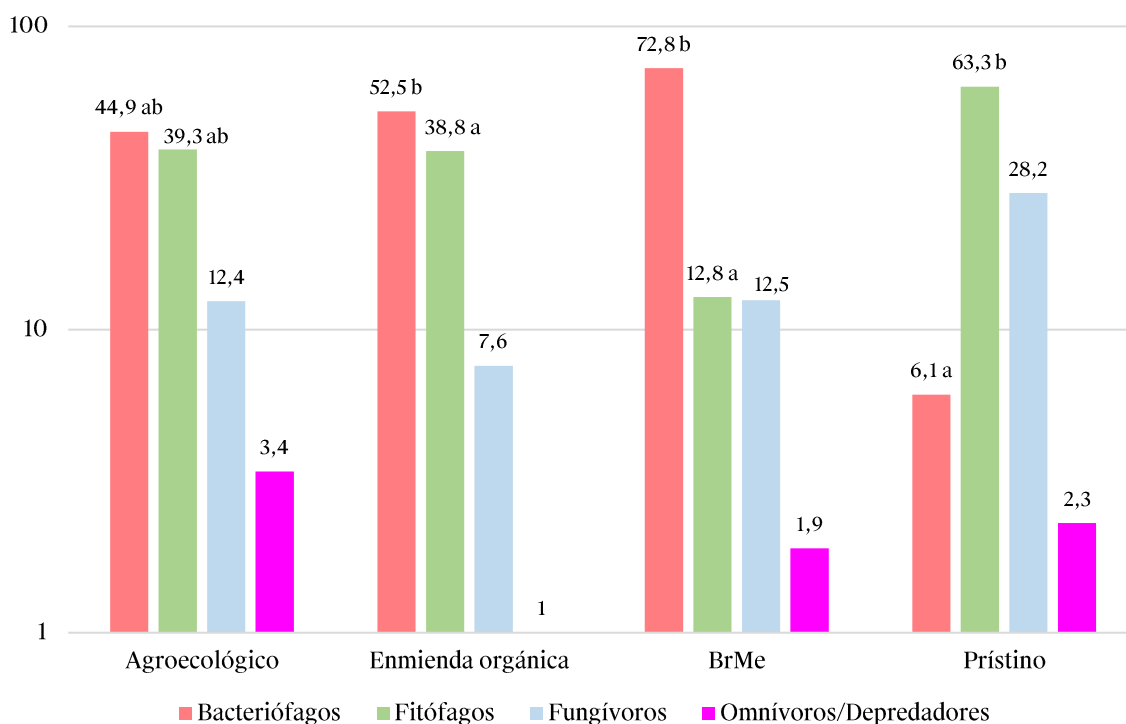


Figura R.3. Representación logarítmica del porcentaje de grupos tróficos hallados en 100 cm³ de suelo en cada sitio de muestreo analizado. Los valores dentro de cada categoría seguidos por una letra diferente (a-b) son significativamente diferentes con una probabilidad $p < 0.05$ basada ANOVA.

	Estadístico	F/H	g.l.	p valor	post hoc
Bacteriófagos	ANOVA	5.899	3	0,0036	Prístino-BrMe Enmienda-Prístino
Fitófagos	ANOVA	5.335	3	0,0058	Prístino-BrMe Enmienda-BrMe
Parásitos sedentarios	Kruskal Wallis	9.3568	3	0,0249	BrMe-Agroecológico Prístino-BrMe Enmienda- Agroecológico
Semi-endoparásitos	Kruskal Wallis	14.52	3	0,0023	Prístino-BrMe Enmienda-Prístino

Tabla R.8. Resultado del análisis estadístico para los grupos tróficos donde se determinaron diferencias significativas ($p < 0,05$). Los estadísticos utilizados fueron F para los ANOVA y H para Kruskal-Wallis, siendo $g.l.$ los grados de libertad establecidos para cada análisis.

Dentro de la categoría Fitófagos, se encontraron diferencias significativas entre aquellos nematodos considerados parásitos sedentarios, representados por *Nacobbus*) entre los pares de sitios BrMe-Agroecológico y Prístino-BrMe, y semi-endoparásitos representados casi exclusivamente por *Helicotylenchus* sp. entre los pares de sitios Enmienda-Agroecológico, Prístino-BrMe, Enmienda-Prístino (Tabla R.8). Se encontró un porcentaje de 72,9 % de *Nacobbus* sp. en los cultivos que aplicaron BrMe como nematicida y los mayores valores de semi-endoparásitos 71,1% y 68,8% en los sitios Enmienda Orgánica y Prístino respectivamente (Figura R. 4).

	Agroecológico	Enm. orgánica	BrMe	Prístino
Bacteriófagos	378,13 ab (60-1015)	559,38 b (70-1360)	831,88 b (60-2345)	120,00 a (25-230)
Fitófagos	405,00 ab (30-1245)	346,88 a (150-900)	161,88 a (10-585)	1087,50 b (735-1435)
Fungívoros	99,38 (25-195)	85,00 (0-180)	161,88 (0-510)	702,50 (90-1875)
Depredadores	2,50 (0-10)	0,62 (0-5)	1,25 (0-10)	6,25 (0-15)
Omnívoros	15,00 (0-45)	10,00 (0-25)	18,13 (0-95)	36,25 (15-60)

Tabla R.9. Valores y (rango de variación) de las abundancias promedio de cada grupo trófico en 100 cm³ de suelo en cada sitio estudiado. Los valores dentro de una fila seguidos por una letra diferente (a-b) son significativamente diferentes con una probabilidad $p < 0.05$.

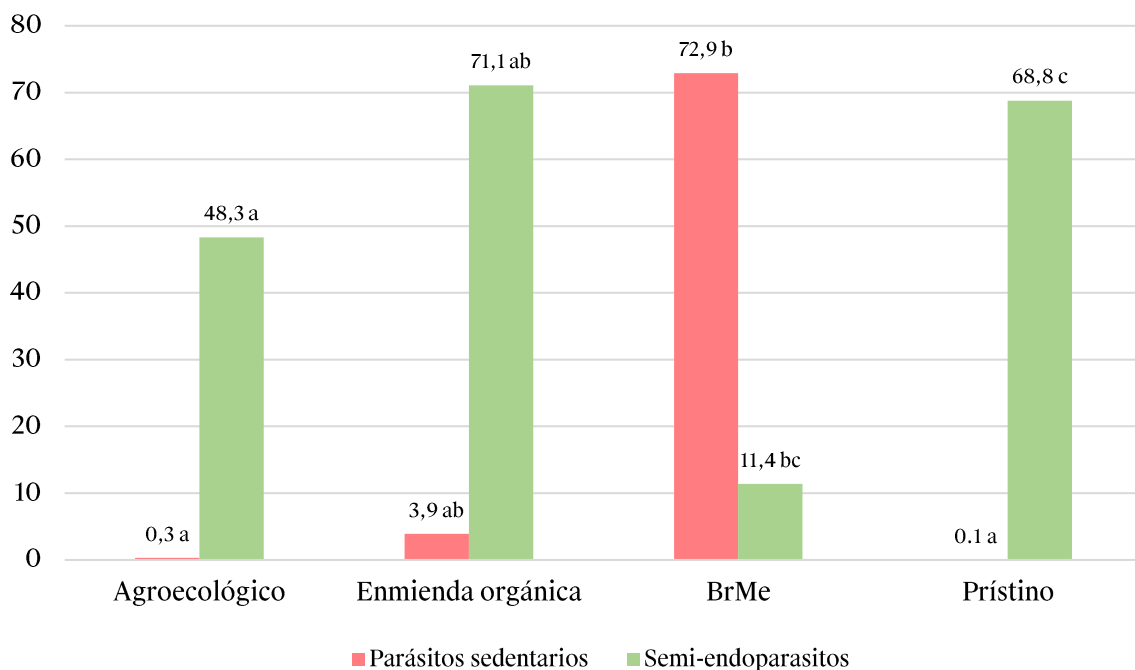


Figura R.4. Porcentaje de grupos de fitófagos en 100 cm³ de suelo en las comunidades de nematodos de cada sitio de estudio. Los valores dentro de cada categoría seguidos por una letra diferente (a-b) son significativamente diferentes con una probabilidad $p < 0.05$ basada Kruskal-Wallis.

Escala colonizador-persistente

El resultado del análisis de las características adaptativas de los nematodos edáficos determinó representantes de las 5 categorías de colonizadores-persistentes propuestas por Bongers (1990) para comprender las estrategias de vida que estos organismos presentan en los diversos ecosistemas. La categoría colonizador-persistente fue dividida en dos subcategorías con el fin una interpretación más adecuada de las adaptaciones de estos organismos:

- **cp de vida libre:** Para los nematodos que pasan todo su ciclo de vida en el suelo, sin contar los nematodos fitófagos que transitan estadios dentro de la planta hospedadora.
- **pp de fitonematodos:** Representando los valores de nematodos parásitos de plantas cuya estrategia adaptativa a la supervivencia y tolerancia a los disturbios, está relacionada en primera medida con la disponibilidad de hospedadores disponibles.

Considerando tanto los agrosistemas como el sitio prístino, los resultados del análisis de la categoría cp de vida libre permitieron observar todos los valores de la escala (cp 1-5) con un 64,46% de nematodos cp1 y un 32,73% de cp2, evidenciando la presencia casi exclusiva de sólo estos dos grupos, la categoría cp4 estuvo presente en un 2,54% (Figura R.5). Los nematodos cp3 y cp5 fueron observados en un 0,05% y 0,22% respectivamente.

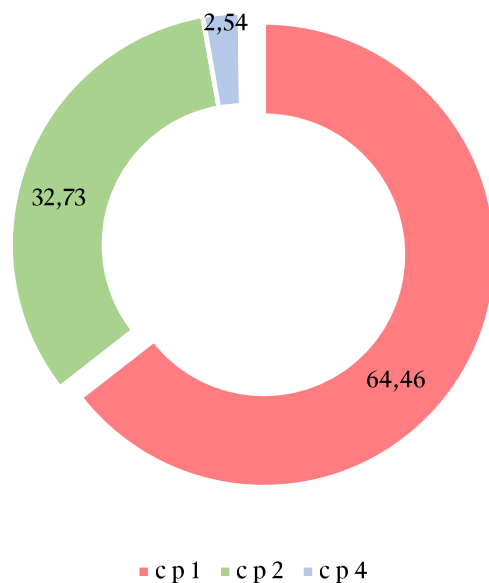


Figura R.5. Porcentajes de colonizadores-persistentes hallados en el total de los muestreos realizados. Los nematodos correspondientes a las categorías cp 1, cp 2 y cp 4 representan el 99,73% del total de cp encontrados (cp 3 y cp 5 no son mostrados en el gráfico por el bajo porcentaje registrado).

Sin embargo, cuando se discriminó el análisis por cada sitio de muestreo, los nematodos cp1 fueron encontrados en mayor porcentaje en los cultivos correspondientes a los tratamientos BrMe y Enmienda Orgánica. En el sitio Prístino se observaron los valores más altos de cp2 y cp3-5. En los cultivos con tratamiento Agroecológico se encontraron los segundos valores más altos de cp2 y de cp3-5 (Figura R.6). Las abundancias promedio de cada categoría cp y sus respectivos valores máximos y mínimos, fueron determinadas para cada uno de los sitios muestreados (Tabla R.10). El análisis estadístico mostró diferencias significativas para los nematodos cp1 y cp2 entre el sitio Prístino y los tres tipos de cultivo censados (Agroecológico, Enmienda Orgánica y BrMe) (Tabla R.11).

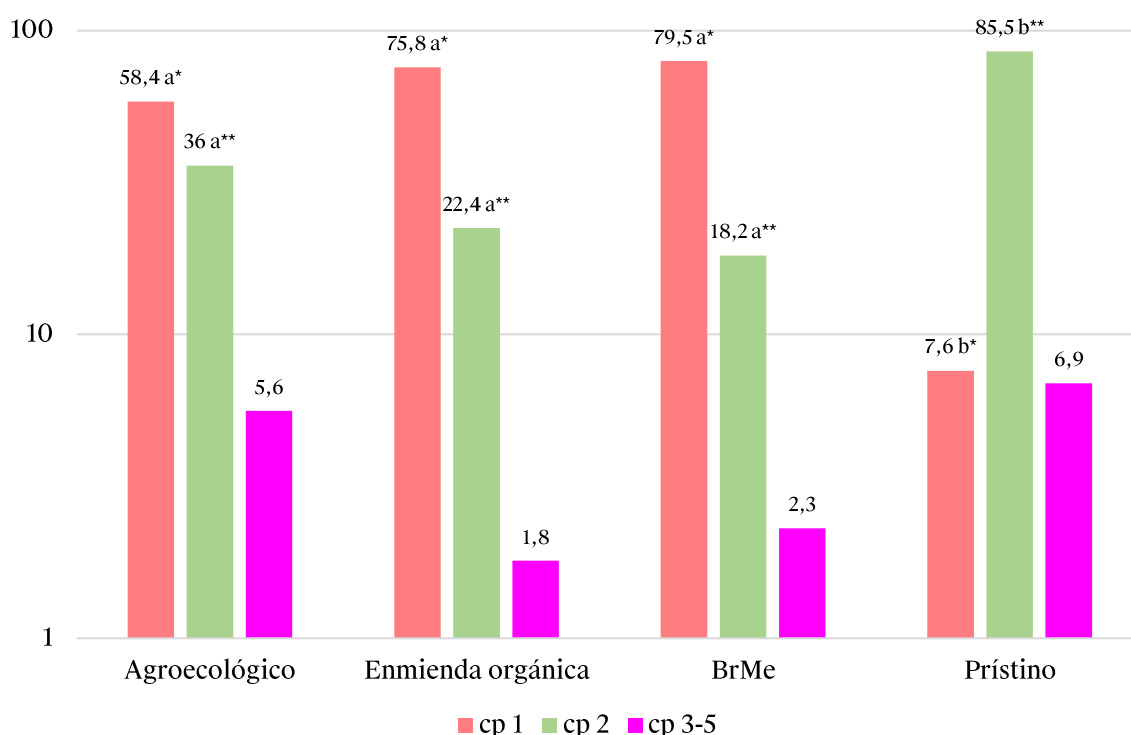


Figura R.6. Representación logarítmica del porcentaje de nematodos según su valor en la escala colonizador-persistente en 100 cm³ de suelo para cada sitio analizado. Los valores dentro de una misma categoría seguidos por una letra diferente (a-b) son significativamente diferentes con una probabilidad $p < 0.05$ basada en Kruskal-Wallis* y ANOVA**.

	cp 1	cp 2	cp 3	cp 4	cp 5
Agroecológico	304,37 (35-815) a*	173,12 (80-335) a**	0 (0-0)	14,37 (0-30)	3,12 (0-15)
Enm. orgánica	500 (55-1285) a*	144,37 (15-255) a**	0 (0-0)	10,62 (0-25)	0 (0-0)
BrMe	805 (50-2225) a*	131,87 (0-520) a**	0,62 (0-5)	19,37 (0-105)	0 (0-0)
Prístino	55 (15-90) b*	763,75 (100-1945) b**	1,25 (0-5)	40 (20-60)	5 (0-20)

Tabla R.10. Valores y (rango de variación) de las abundancias promedio para cada categoría cp de nematodos pertenecientes a las distintas comunidades estudiadas. Los valores dentro de una columna seguidos por una letra diferente (a-b) son significativamente diferentes con una probabilidad $p < 0.05$ basada en Kruskal-Wallis* y ANOVA**.

	<i>Estadístico</i>	<i>F/H</i>	<i>g.l.</i>	<i>p valor</i>	<i>post hoc</i>
cp1	Kruskal Wallis	12.893	3	0.0048	Prístino-Agroecológico Prístino-BrMe Enmienda-Prístino
cp2	ANOVA	8.499	3	0.0005	Prístino-Agroecológico Prístino-BrMe Enmienda-Prístino

Tabla R.11. Resultado del análisis estadístico para las categorías cp 1 y cp 2 donde se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$). Los estadísticos utilizados fueron F para los ANOVA y H para Kruskal-Wallis, siendo $g.l.$ los grados de libertad establecidos para cada análisis.

En la categoría pp de fitonematodos se observaron solo representantes pp 2 y pp 3. El resultado del análisis global de nematodos herbívoros reveló un 74,85% de pp 3 y 25,15% de pp 2 (Figura R.7). Si bien no se encontraron diferencias significativas para estos grupos entre los tratamientos, el cálculo de sus abundancias permitió conocer los valores promedio, máximos y mínimos para cada sitio estudiado (TablaR.12).

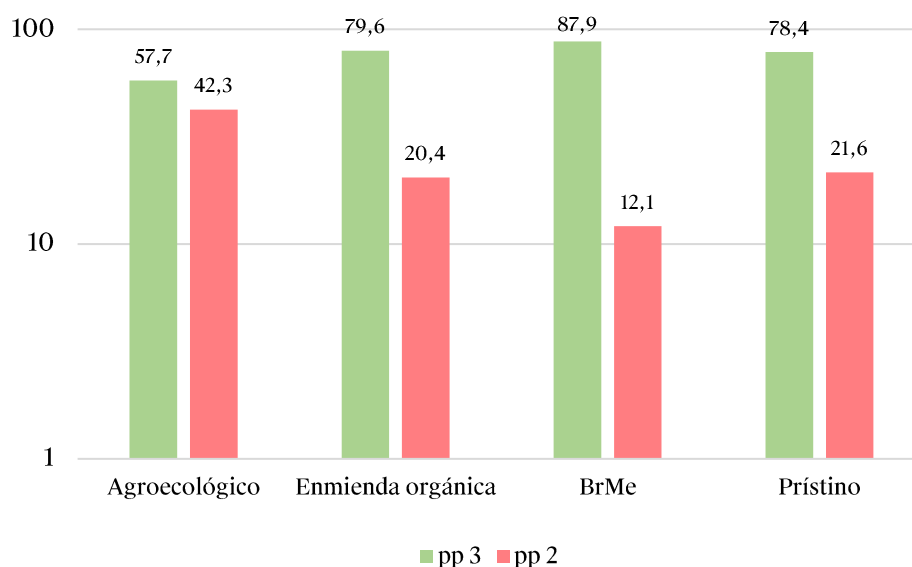


Figura R.7. Valores porcentuales correspondientes a los nematodos pp2 y pp3 hallados 100 cm³ de suelo.

	pp2	pp3
Agroecológico	140,62 (20-430)	264,37 (0-1080)
Enm. Orgánica	63,75 (25-155)	283,12 (115-795)
BrMe	8,12 (0-15)	153,75 (0-585)
Prístino	310 (35-660)	777,5 (590-975)

Tabla R.12. Valores promedio de la abundancia y (rango de variación) de nematodos pp2 y pp3 en 100 cm³ de suelo.

Gremios funcionales

Los resultados generales del análisis de los gremios de nematodos de las comunidades estudiadas mostraron que el más abundante fue el gremio Ba1, seguido por los Fi3 y Fu2 (Figura R.8). Se encontraron representantes de los gremios Ba1, Ba2, Fi2, Fi3, Fu2, De4 y Om4 en todos los sitios.

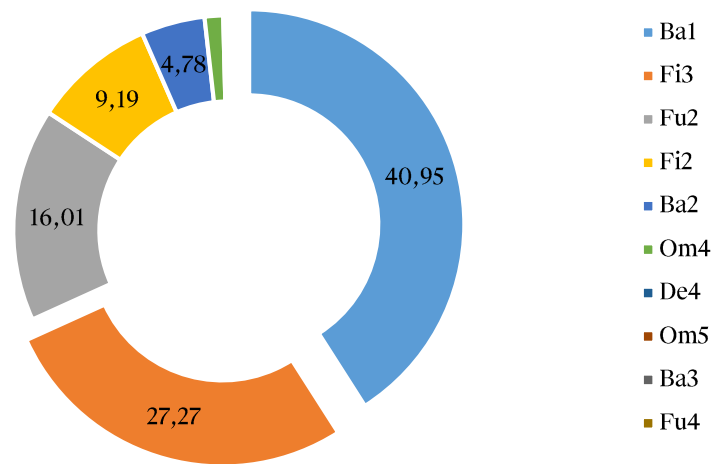


Figura R.8. Porcentaje de gremios funcionales en los distintos sitios muestreados.

El gremio Ba1 se encontró en mayor porcentaje (71,96%) en los cultivos tratados con BrMe siendo el gremio dominante para este sitio, su valor más bajo fue en el sitio Prístino (2,82%) (Figura R.9). Si bien no se encontraron diferencias significativas para este gremio entre los distintos sitios, los valores determinados de sus abundancias promedio y valores máximos alcanzados, permitieron observar amplias diferencias principalmente entre los cultivos BrMe y Prístino (Tabla R.13). Entre el sitio Prístino y los tres tipos de cultivos hortícolas se encontraron diferencias significativas respecto a las abundancias de los gremios Fi3 y Fu2. Para el gremio Fi2 se hallaron diferencias significativas entre el sitio Prístino y los cultivos tratados con BrMe y enmienda orgánica (Tabla R.14).

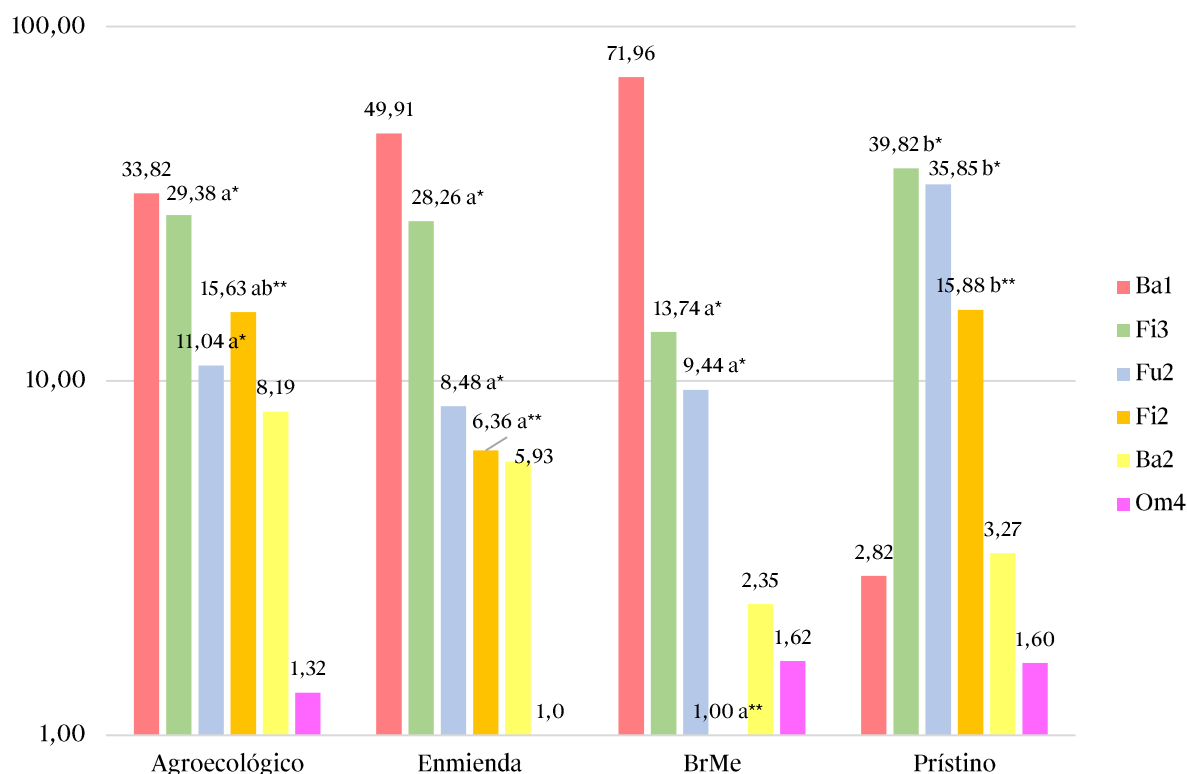


Figura R.9. Representación logarítmica del porcentaje de gremios presentes en 100 cm³ de suelo en cada sitio muestreado. Los valores dentro de una misma categoría seguidos por una letra diferente (a-b) son significativamente diferentes con una probabilidad $p < 0.05$ basada en ANOVA* y Kruskal-Wallis**.

	Ba1	Ba2	Ba3	Fi2	Fi3	Fu2	Fu4	De4	Om4	Om5
Agroecológico	304,375 (35-815)	73,75 (25-230)	0 (0-0)	140,62 (20-430) ab*	264,37 (0-1080) a**	99,37 (25-195) a**	0 (0-0)	2,5 (0-10)	11,87 (0-30)	3,12 (0-15)
Enmienda orgánica	500 (55-1285)	59,375 (15-90)	0 (0-0)	63,75 (25-155) a*	283,12 (115-795) a**	85 (0-180) a**	0 (0-0)	0,625 (0-5)	10 (0-25)	0 (0-0)
BrMe	805 (50-2225)	26,25 (0-115)	0,625 (0-5)	8,125 (0-15) a*	153,75 (0-585) a**	105,62 (0-510) a**	0 (0-0)	1,25 (0-10)	18,12 (0-95)	0 (0-0)
Prístino	55 (15-90)	63,75 (10-140)	1,25 (0-5)	310 (35-660) b*	777,5 (590-975) b**	700 (90-1875) b**	2,5 (0-10)	6,25 (0-15)	31,25 (15-55)	5 (0-20)

Tabla R.13. Valores y (rango de variación) de las abundancias promedio de gremios en 100 cm³ de suelo en cada sitio de muestreo analizado. Los valores dentro de una misma columna seguidos por una letra diferente (a-b) son significativamente diferentes con una probabilidad $p < 0.05$ basada en Kruskal-Wallis* y ANOVA**.

	Estadístico	F/H	g.l.	p valor	post hoc
Fi3	ANOVA	4.572	3	0.0114	Pristino-Agroecológico Pristino-BrMe Enmienda-Pristino
Fu2	ANOVA	4.474	3	0.0124	Pristino-Agroecológico Pristino-BrMe Enmienda-Pristino
Fi2	Kruskal Wallis	18.794	3	0.0003	Pristino-BrMe Enmienda-Pristino

Tabla R.14. Resultado del análisis estadístico para los gremios de nematodos Fi3, Fu2 y Fi2 donde se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$). Los estadísticos utilizados fueron *F* para los ANOVA y *H* para Kruskal-Wallis, siendo *g.l.* los grados de libertad establecidos para cada análisis.

ÍNDICES ECOLÓGICOS

Índices de estructura de la comunidad de nematodos

Los resultados del análisis de las comunidades de nematodos no evidenciaron diferencias significativas en el número de individuos (N) registrándose los mayores valores para el sitio pristino y los menores en el agroecológico (Tabla R.15). Entre los sitios BrMe y pristino se encontraron diferencias significativas en el número de géneros (S) y los índices de riqueza de Margalef (D_{mg}) y el índice de diversidad de Shannon-Weaver (H') mostraron diferencias significativas entre los cultivos tratados BrMe y agroecológico (Tabla R.16). El índice de equitatividad de Pielou (J') no arrojó diferencias significativas entre los sitios, observándose su valor promedio y máximo más alto, en los cultivos agroecológicos (Tabla R.15).

	S	N	D_{mg}	H'	J'
Agroecológico	15,125 (12-22) ab	900 (260-1510)	2,12 (1,62-3,34) a	1,99 (1,44-2,72) a	0,74 (0,55-0,88)
Enm. orgánica	13,5 (6-18) ab	1001,88 (290-1710)	1,81 (0,88-2,35) ab	1,77 (1,39-2,07) ab	0,7 (0,58-0,84)
BrMe	10,5 (6-18) a	1118,75 (255-3055)	1,4 (0,74-2,17) b	1,39 (0,93-2,25) b	0,61 (0,39-0,88)
Pristino	17,25 (14-20) b	1952,5 (1075-3520)	2,18 (1,84-2,44) ab	1,61 (1,18-2,13) ab	0,56 (0,45-0,75)

Tabla R.15. Valores promedio y (rango de variación) de la riqueza de géneros (S), número de individuos (N), índice de Margalef (D_{mg}), índice de Shannon-Weaver (H') e índice de Pielou (J') de nematodos hallados en 100 cm³ de suelo. Los valores dentro de una misma columna seguidos por una letra diferente (a-b) son significativamente diferentes con una probabilidad $p < 0.05$ basada en ANOVA.

	<i>Estadístico</i>	<i>F/H</i>	<i>g.l.</i>	<i>p valor</i>	<i>post hoc</i>
S	ANOVA	3.526	3	0,0301	BrMe-Prístino
D _{mg}	ANOVA	3.364	3	0,0352	BrMe-Agroecológico
H'	ANOVA	3.973	3	0,0197	BrMe-Agroecológico

Tabla R.16. Resultado del análisis estadístico para la riqueza de géneros (S) y los índices ecológicos de Margalef (D_{mg}) y Shannon-Weaver (H') donde se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$). Los estadísticos utilizados fueron *F* para los ANOVA y *H* para Kruskal-Wallis, siendo *g.l.* los grados de libertad establecidos para cada análisis.

Índices de función del ecosistema

Los análisis estadísticos no hallaron diferencias significativas para las variables PPI y MI 2-5, sin embargo los resultados de sus valores fueron contemplados (Tabla R. 17). Los valores promedio y máximo más altos para el PPI fueron observados en los cultivos convencionales tratados con enmienda orgánica y bromuro. En cuanto al MI 2-5 el valor promedio más alto se determinó para BrMe sin observarse grandes diferencias con respecto a los otros sitios analizados.

	Agroecológico	Enm. orgánica	BrMe	Prístino
MI	1,6 (1,12-2,11) ab*	1,29 (1,14-1,46) a*	1,29 (1-2,24) a*	2,11 (2,02-2,31) b*
PPI	2,38 (2-2,88)	2,79 (2,68-2,92)	2,68 (2-3,0)	2,74 (2,54-2,97)
MI 2-5	2,22 (2,07-2,7)	2,13 (2-2,47)	2,26 (2-4,0)	2,22 (2,06-2,46)
ΣMI	1,95 (1,19-2,73) ab*	1,87 (1,35-2,38) ab*	1,46 (1,02-2,46) a*	2,52 (2,23-2,88) b*
EI	82,86 (60,95-97,62) a**	92,38 (85,52-96,53) a**	90,7 (57,72-100) a**	56,87 (53,02-60) b**
SI	30,32 (13,33-67,06)	19,60 (0-55,17)	30,81 (0-100)	30,23 (10,98-54,55)
CI	16,05 (0,76-56,25) a**	4,48 (0-11,25) a**	12,29 (0-71,83) a**	67,79 (60-85,42) a**
BI	15,15 (2,35-32,8) a*	7,47 (3,32-14,29) a*	7,83 (0-31,52) a*	36,22 (27,03-44,41) b*

Tabla R.17. Valores promedio y (rango de variación) para los índices de función del ecosistema: MI (índice de madurez), PPI (índice fitoparasitario), MI 2-5 (índice de madurez 2-5), ΣMI (sumatoria índice de madurez), EI (índice de estructura), CI (índice de canal), BI (índice basal). Los valores dentro de una misma fila seguidos por una letra diferente (a-b) son significativamente diferentes, con una probabilidad $p < 0.05$ basada en ANOVA* y Kruskal-Wallis**.

Con respecto al MI, los análisis estadísticos encontraron diferencias significativas entre el sitio prístino y los cultivos convencionales tratados con enmienda orgánica y bromuro. En cuanto al índice Σ MI, también se encontraron diferencias significativas entre el sitio Prístino y los cultivos tratados con bromuro. Para los índices de la red trófica EI, CI y BI se determinaron diferencias significativas entre el sitio Prístino y el resto de los cultivos hortícolas (agroecológicos, con aplicación de enmienda orgánica y bromuro de metilo como nematicida) (Tabla R.18). La representación gráfica de los datos de EI y SI muestran que las comunidades estudiadas están en su mayoría en el cuadrante A, encontrándose en solo tres sitios (agroecológico, prístino y enmienda orgánica) muestreos donde los índices de red trófica mostraron valores dentro del cuadrante B (Figura R.10).

	<i>Estadístico</i>	<i>F/H</i>	<i>g.l.</i>	<i>p valor</i>	<i>post hoc</i>
MI	ANOVA	7.616	3	0.0009	Prístino-BrMe Enmienda-Prístino
Σ MI	ANOVA	5.228	3	0.0064	Prístino-BrMe Prístino-Agroecológico
EI	Kruskal-Wallis	12.798	3	0.0051	Prístino-BrMe Enmienda-Prístino
CI	Kruskal-Wallis	11.612	3	0.0088	Prístino-Agroecológico Prístino-BrMe Enmienda-Prístino
BI	ANOVA	10.43	3	0.0001	Prístino-Agroecológico Prístino-BrMe Enmienda-Prístino

Tabla R.18. Resultado del análisis estadístico para los índices tróficos MI (índice de madurez), Σ MI (sumatoria índice de madurez), EI (índice de estructura), CI (índice de canal) y BI (índice basal) donde se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$). Los estadísticos utilizados fueron *F* para los ANOVA y *H* para Kruskal-Wallis, siendo *g.l.* los grados de libertad establecidos para cada análisis.

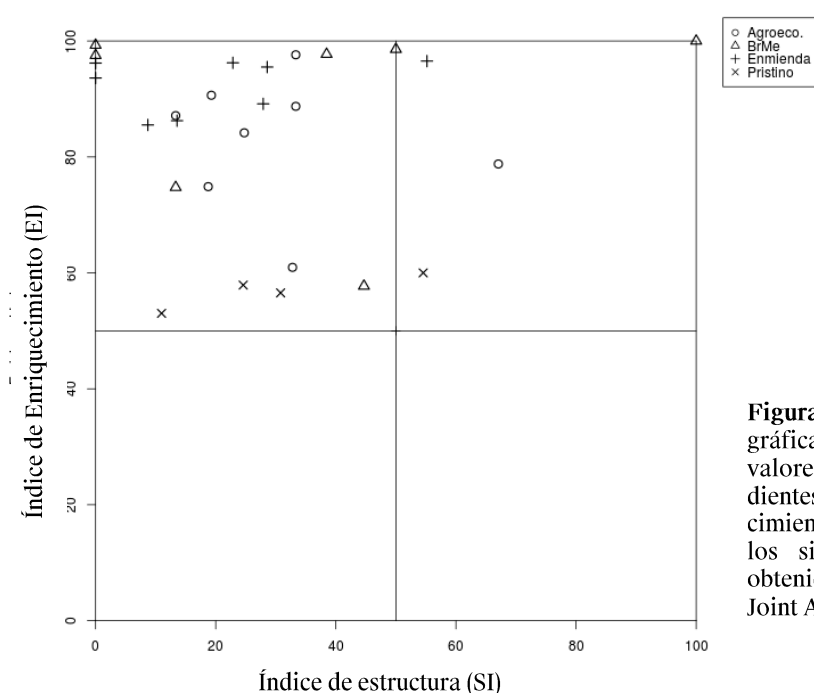


Figura R.10. Representación gráfica de la intersección de los valores promedios correspondientes a los índices de enriquecimiento (EI) y estructura (SI) en los sitios estudiados (gráfico obtenido de Nematode Indicator Joint Analysis).

A partir de los resultados obtenidos de las huellas metabólicas se observó la priorización en la utilización de carbono por parte de aquellos gremios de nematodos que responden al enriquecimiento. Al igual que los resultados de los índices de estructura y enriquecimiento, las comunidades de nematodos se encontraron en el cuadrante A (Figura R.11).

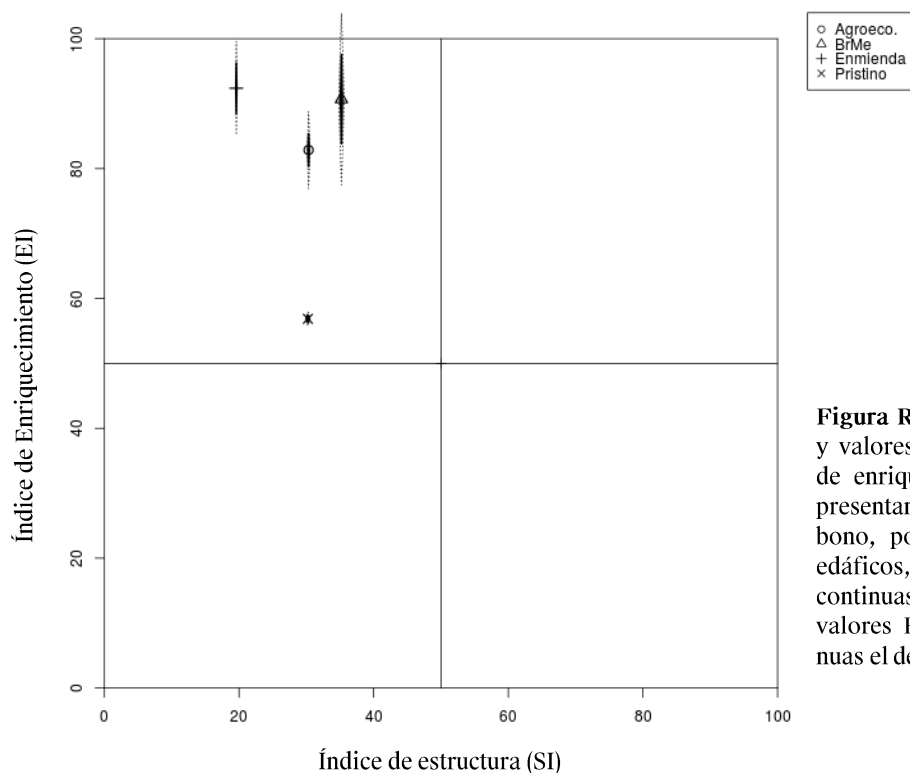


Figura R. 11. Representación gráfica y valores de las huellas metabólicas de enriquecimiento y estructura representando la utilización de carbono, por parte de los nematodos edáficos, en cada sitio. Las líneas continuas representan la media de los valores EI y SI, las líneas discontinuas el desvío estándar.

	S1	S2	S3	S4
Huella de Estructura (media)	502.43	780.85	1370.89	118.84
Huella de Enriquecimiento (d.s.)	680.45	660.59	1270.4	96.01
Huella de Estructura (media)	20.45	12.62	28.45	47.09
Huella de Enriquecimiento (d.s.)	19.92	11.27	53.06	27.15

DISCUSIÓN

El análisis de las comunidades de nematodos en los sitios de estudio demostró la presencia de 42 géneros de nematodos edáficos, tanto de vida libre como herbívoros. Este nuevo y actualizado registro de la fauna de nematodos comprende uno de los más importantes para el cinturón hortícola de La Plata considerando los pocos trabajos realizados hasta el momento en esta temática.

Los géneros de nematodos más abundantes fueron *Rhabditis*, *Helicotylenchus*, *Filenchus*, Familia Rhabditidae (género sin determinar), *Tylenchus*, *Mesorhabditis* y *Nacobbus* que representaron en conjunto el 75% de la abundancia total de ejemplares determinados y cuantificados.

En el sitio agroecológico *Helicotylenchus* fue el género más abundante con una frecuencia superior al 60%. Este género fue encontrado también por otros autores en zonas con diversidad de cultivos del tipo agroecológico (Gnamkoulamba et al., 2018).

Al observar el cultivo donde se aplicaron enmiendas orgánicas como fertilizantes se determinó que *Helicotylenchus* también presentó gran frecuencia en los muestreos y las mayores abundancias para este sitio junto al género *Rhabditis*. La presencia de este último género, al igual que otros nematodos bacteriófagos como *Mesorhabditis* y los de la familia Rhabditidae (sin det.) en este sistema podría deberse al efecto que las enmiendas orgánicas tienen sobre los nematodos oportunistas del enriquecimiento, que pueden aumentar rápidamente sus poblaciones debido al incremento de las concentraciones de nitrógeno en el suelo y por consiguiente de las poblaciones bacterianas ocasionado por la aplicación de estos insumos. *Helicotylenchus* también fue el nematodo más abundante dentro de los fitoparásitos en sitios donde se aplicaron fertilizantes orgánicos a base de plantas de la familia Brassicacea (Bulluck et al., 2002, Daneel et al., 2018).

En el sitio tratado con BrMe el género *Rhabditis* fue dominante, aportando más del 50% de la abundancia de géneros, registrándose en todos los muestreos (fr. 100%). Estos resultados evidencian la capacidad de este nematodo de colonizar suelos que se encuentran en estados de sucesión temprana (Yeates y van der Meulen, 1996; Ferris 2001) a causa de disturbios ambientales como la esterilización del suelo provocada por el uso de este agroquímico. El BrMe fue utilizado en este cultivo como biocida para combatir principalmente al nematodo parásito de plantas *Nacobbus aberrans*; sin embargo, este género presentó el segundo valor más alto de abundancia relativa y estuvo presente en más del 60% de los muestreos en estos sitios. Se ha determinado que el control químico provoca la aparición de

resistencia en organismos plaga y reduce las poblaciones de enemigos naturales de nematodos fitoparásitos como *Nacobbus* frente al uso de biocidas (Zarate-Escobedo et al., 2018). Si bien se desconocen las causas de la prevalencia de este nematodo agallador en sitios tratados con BrMe en el CHP, como desarrollo de resistencia o falta de competidores en el suelo, los resultados de la ineficacia de estos químicos para erradicar sus poblaciones llevan a replantearse la conveniencia de usar estos productos altamente tóxicos para su control. Respecto a *Helicotylenchus spp.*, estos nematodos presentaron una abundancia y frecuencia muy bajas lo que demuestra la sensibilidad de este género para recolonizar suelos tratados donde se aplicó BrMe (Yeates y van der Meulen, 1996, Webster et al., 2001). En este mismo sitio cabe destacar la presencia de la especie *Diploscapter coronata*, el cual constituyó el primer registro del género y especie en Argentina (Salas et. al, 2016). Este nematodo se alimenta de bacterias en el suelo y se encuentra en el compost, las aguas residuales o el suelo agrícola. Su importancia radica en la capacidad facultativa de parasitismo en insectos y vertebrados y ha sido documentado en humanos (Morimoto et. al 2006, Athari y Mahmoudi 2008), incluso en la región de muestreo correspondiente a Abasto, dentro del CHP (Falcone, com. pers.). Los síntomas clínicos incluyen sensibilidad epigástrica, diarrea, dolor abdominal tipo cólico, debilidad y náuseas. Además, han sido considerados como portadores potenciales de bacterias patógenas para la superficie de frutas y verduras antes de la cosecha en contacto con el suelo (Gibbs et al., 2005). La presencia de *D. coronata* en suelo agrícola se encontró en asociación con agallas radiculares, causadas por el nematodo parásito de plantas *Nacobbus aberrans*. La detección de este nematodo en invernaderos donde perros, gatos y aves de corral viven juntos sin ningún control de salud destaca la importancia de aplicar medidas de higiene adecuadas durante las prácticas agrícolas para evitar la contaminación de frutas y verduras y prevenir infecciones en animales domésticos y humanos.

En el bosque prístino, se observó una dominancia clara de los géneros *Helicotylenchus* y *Filenchus* con una frecuencia del 100% y una abundancia relativa que en conjunto alcanzó casi un 70% de individuos sobre el total, concordando con datos obtenidos por otros autores en bosques templados (Sun et al., 2013). El género *Filenchus* ha sido citado en bosques como un nematodo persistente en ambientes estructurados o tardíos de sucesión (Hánel, 2001), los cuales se alimentan no solo de hongos micorrízicos sino también de hongos saprófitos abundantes en estos tipos de ambiente con alto contenido de M.O. rica en carbono (Kudrin et al., 2015, Zhang et al., 2015).

Reforzando los resultados del estudio de géneros de nematodos, los resultados obtenidos mediante ANOSIM y SIMPER determinaron diferencias significativas entre las abundancias de los géneros para todos los sitios vs BrMe y para los sitios tratados con enmienda orgánica vs prístino. Los géneros *Rhabditis*, *Nacobbus*, *Rhabditidae s/d* y *Mesor-*

habditis en cultivos donde se aplicó BrMe presentaron una abundancia del 45% del total para este sitio estableciéndose como los principales taxones que aportaron la disimilitud entre este tipo de sistema hortícola y el resto. Los géneros *Helicotylenchus*, *Filenchus* y *Tylenchus* fueron los que mayor porcentaje de disimilitud brindaron para diferenciar al bosque prístino de los sistemas con aplicación de fertilizantes y plaguicidas mostrando cierto grado de sensibilidad hacia estas prácticas.

Al caracterizar los nematodos acorde a su grupo trófico, coincidiendo con Yeates y van der Meulen (1996) y Wang et al. (2006), se observó una mayor abundancia de bacteriófagos en cultivos tratados con BrMe en comparación con el resto de los grupos tróficos y con los otros sitios analizados. Los nematodos bacteriófagos se encontraron en mayor cantidad en los cultivos tratados con BrMe (72%) y con enmiendas orgánicas (52,5%) diferenciándose significativamente ambos valores, con los encontrados en el sitio prístino (6,1%). Como indica su nombre, estos nematodos se alimentan de bacterias cuyos aumentos poblacionales como se mencionó anteriormente incidirían en la abundancia de este grupo trófico. Esto evidencia el patrón de permanencia que este grupo tiene en sitios donde la aplicación de biocidas se utiliza como control de plagas. Lavallen et al. (2015) determinaron que la adición de nitrógeno en el suelo a través del uso de fertilizantes orgánicos aumentó las poblaciones de bacteriófagos en cultivos del cinturón frutihortícola de General Pueyrredón, Pcia. de Buenos Aires al igual que Azpilicueta et al. (2008) en suelos con fertilización nitrogenada donde la comunidad de nematodos bacteriófagos alcanzó frecuencias del 100% en todos los muestreos realizados dominando sobre las poblaciones de fungívoros, el cual constituye el otro gran grupo de nematodos descomponedores y mineralizadores del suelo. Sin embargo, en contraposición se han realizado estudios donde la fertilización nitrogenada no afectó la proporción de grupos tróficos (Mondino, 2001).

Los nematodos fitófagos se encontraron en mayor porcentaje en el sitio prístino y en el agroecológico donde predominaron los nematodos semi-endoparásitos de baja importancia económica, diferenciándose significativamente del sitio donde se aplicó BrMe, observándose de manera casi exclusiva, la presencia de parásitos sedentarios como el falso nematodo agallador *Nacobbus aberrans*, una de las principales plagas del CHP. Si bien la aplicación de este biocida tuvo el efecto de reducir las poblaciones de fitófagos, paradójicamente facilitó la presencia de *Nacobbus aberrans* convirtiéndolo en el fitófago más abundante y frecuente para este sitio, hecho que debe continuar siendo estudiado en profundidad.

Los fungívoros fueron encontrados en mayor porcentaje en el bosque prístino, valores que pueden estar asociados a un mayor contenido de M.O. recalcitrante que los sitios

con manejo agrícola o debido a la presencia de micorrizas que en ambientes naturales se desarrollan y establecen sirviendo de alimento a este grupo de nematodos (Mateille et al., 2016).

Los grupos tróficos omnívoros/depredadores no mostraron diferencias significativas entre los distintos sitios indicando bajos valores de abundancia, sin embargo en el cultivo agroecológico cuyas prácticas tienen como premisa el incremento en la diversidad de especies vegetales y su subsecuente efecto en la diversidad de especies animales, se encontraron los mayores porcentajes para esta categoría alimentaria de nematodos. El uso de omnívoros/depredadores como indicadores de la calidad del suelo ha sido discutido debido a que la baja abundancia de los taxones que componen este grupo hace imperceptible la respuesta inducida por disturbios ambientales en el suelo (Neher et al., 1995). En el cultivo tratado con BrMe la abundancia de estos nematodos fue prácticamente nula, concordando con los resultados obtenidos por López-Pérez et al. (2003).

El análisis de los valores colonizador-persistente permitió establecer diferencias significativas entre el bosque prístino y los tres tipos de cultivos hortícolas. Tanto los nematodos cp1 como los cp2 mostraron esta tendencia evidenciando el grado de respuesta que estos bioindicadores presentan frente a disturbios edáficos. Las categorías cp1 y cp2 incluyen nematodos con ciclos de vida cortos y altas tasas de reproducción características que les permiten colonizar y persistir en ambientes que sufren cambios constantes en su estructura. El hecho de que no se hayan encontrado diferencias entre los agro-ecosistemas indica la sensibilidad de esta categoría para ser utilizada solamente en la comparación de sitios intervenidos por el hombre. Si bien los cp 3-5 no mostraron diferencias significativas, los mayores valores se encontraron en el bosque prístino y en el cultivo agroecológico indicando, con su presencia, redes tróficas más complejas que en los otros sitios de muestreo (García Salazar, 2012). Los valores de la categoría pp (cp para fitófagos) no aportaron información suficiente para discriminar su respuesta frente a los distintos suelos muestreados. El gran porcentaje de pp3 hallados en este trabajo (74,85%) fue debido a la gran abundancia y frecuencia del género *Helicotylenchus* el cual es considerado un género cosmopolita, que habita dentro de una gran diversidad de ambientes y que puede hallarse en grandes números en torno a las raíces de gran diversidad de plantas (Subbotin, 2011).

El análisis de gremios arrojó diferencias significativas para gremios de fitófagos y fungívoros. Contrariamente a lo esperado, los resultados del análisis de gremios no arrojaron diferencias significativas para Ba1 el cual es considerado el principal gremio de bacteriófagos oportunistas según la clasificación de Ferris et al. (2001). Sin embargo, los valores porcentuales y de abundancia promedio fueron diferentes entre las poblaciones de Ba1 entre

los sitios donde se aplicó BrMe y el bosque prístino. Si bien el uso de pesticidas y fertilizantes como disturbios marcan el resurgimiento de gremios oportunistas como Ba1, es esperable que su abundancia decrezca una vez agotado el insumo (Bongers y Bongers, 1998; Odum, 1985). El gremio Ba1, representado en este trabajo principalmente por *Rhabditis*, tuvo una frecuencia del 100% en el sitio tratado con BrMe lo cual puede deberse al estado en que se encuentra este suelo, donde la aplicación de biocidas y fertilizantes se viene llevando a cabo de manera ininterrumpida propiciando la presencia constante de bacterias resistentes que sirven de alimento para este grupo de nematodos, indicando así la condición basal permanentemente del agroecosistema estudiado.

En el cultivo donde se aplicó enmiendas orgánicas también se observaron valores altos en el porcentaje de Ba1. Este tipo de enmiendas basadas en la adición de M.O. han demostrado que incrementan la disponibilidad de nutrientes, como el nitrógeno, la biomasa microbiana y por ende la abundancia de bacteriófagos (Ferris et al., 1998; Briar et al., 2007).

La abundancia del gremio Fi2 mostró diferencias significativas entre el bosque prístino y los cultivos tratados con enmiendas y BrMe. Este gremio estuvo representado mayoritariamente por el género *Tylenchus* (Tylenchidae) que ha sido citado como un nematodo persistente en sistemas convencionales hortícolas (sobre todo en los que se mantienen los monocultivos). Sin embargo, los hábitos alimenticios de *Tylenchus* no han sido aún comprendidos apropiadamente (Li., 2014) requiriéndose, por tal motivo, un análisis más detallado sobre las especies de este género y su relación con las plantas hospedadoras para poder discutir su capacidad como indicador. El gremio Fi3 presente en el bosque prístino estuvo representado mayoritariamente por *Helicotylenchus* y por géneros de la familia Criconematidae y se diferenció significativamente de los Fi3 hallados en los tres sitios cultivados. La cobertura vegetal total observada en el bosque prístino llevó a inferir que la abundancia de Fi3 en este sitio pudo ser consecuencia de la gran biomasa de raíces ya que los gremios de nematodos fitófagos suelen ser más abundantes cuando aumenta la producción radicular de las plantas (Azpilicueta et al., 2011, Ugarte et al., 2013). Sin embargo, en este estudio no se realizó el muestreo radicular por lo cual futuros estudios deberán realizarse para corroborar esta hipótesis.

Dentro de los gremios fungívoros, Fu2 mostró diferencias significativas entre el bosque prístino y los sitios cultivados. Este gremio estuvo conformado principalmente por el género *Filenchus* cuyo hábito alimenticio entre fitófago y fungívoro ha sido ampliamente debatido. Sin embargo estudios como los realizados por Kudrin (2017), Buchan et al. (2013), Christensen et al. (2007) y el software NINJA utilizado en esta tesis, ubican este género co-

mo de hábito fungívoro, por lo cual se decidió incluirlos también en dicha categoría. Si bien Ferris (2001) considera el gremio Fu2 como indicador de suelos en condiciones basales por ser oportunistas generales, en este trabajo *Filenchus* ha sido encontrado en mayor abundancia en bosques y pasturas sin intervenciones antrópicas que exhiben la vía de descomposición mediada por hongos como dominante por sobre la mediada por bacterias, favoreciendo así el crecimiento poblacional de gremios fungívoros en concordancia con los resultados obtenidos por Neher et al. (2017).

Al considerar los Índices de estructura de la comunidad de nematodos los resultados de sus valores permitieron establecer al cultivo agroecológico como el más equitativo y con mayor número de géneros hallados. Las diferencias significativas halladas en la riqueza de géneros (S), diversidad de Margalef (D_{mg}) y Shannon-Weaver (H') señalaron que el cultivo tratado con el biocida BrMe presentó la más baja diversidad de nematodos, producto de la permanencia de pocos géneros como *Rhabditis* y *Nacobbus* a los disturbios constantes ocasionados por la horticultura convencional. En contraste, observando las diferencias de D_{mg} y H' entre el cultivo con BrMe y agroecológico se determinó a este último como el sitio con la comunidad de nematodos más diversa, hecho que puede ser explicado debido a la gran diversidad de cultivos que se hallaron en los camellones asociados al tomate recordando que los productores tienen como objetivo mantener un elevado número de especies vegetales que influyan en el aumento de la biodiversidad en el agroecosistema. Estos re-diseños, contrarios a los propuestos por la agricultura convencional con tendencias al monocultivo proponen como ventajas que el mayor nivel de diversidad conlleva a una mayor diversidad de biota asociada, asegurando una mejor polinización y una mayor regulación de plagas, enfermedades y malezas. En este sentido, se demostró que a mayor biodiversidad mejora el reciclaje de nutrientes y energía donde sistemas complejos y multiespecíficos tienden a tener mayor productividad total (Altieri y Nichols, 2007).

Los índices de madurez se basan en el contraste que presentan las diferentes sensibilidades de los nematodos frente a disturbios (fertilizantes, pesticidas, arado) y sus valores pueden permitir clasificar el estado en que se encuentra un ecosistema edáfico (agotado, enriquecido, estructurado). Por ello, valores bajos de los índices indican ambientes más perturbados mientras que mayores valores menos perturbados. En este contexto, los resultados de esta familia de índices permitieron observar diferencias significativas que indican que el MI se diferenció entre el bosque prístino y los cultivos tratados con enmiendas y con BrMe, pero no se diferenció del agroecológico, lo cual en línea con los resultados recopilados por Neher (2001) indica que el uso de fumigantes (BrMe) y fertilizantes (orgánicos o inorgánicos) reducen la madurez del ecosistema y que la implementación de cultivos mixtos aumenta la complejidad y madurez de la red trófica debido a la mayor diversidad de gre-

mios funcionales. Los nematodos fitófagos responden a los cambios en el ambiente de diferente manera que los nematodos de vida libre dependiendo su desarrollo en muchos casos de la cantidad y sensibilidad de las plantas hospedadoras presentes. Si bien no mostraron diferencias significativas entre los grupos, en este trabajo se pudo observar en base a los valores calculados del índice PPI la relación entre nematodos fitófagos y nematodos de vida libre. Bongers (1990) y Bongers et al. (1997) señalaron que los individuos de las familias de nematodos fitófagos y de vida libre tienen una relación opuesta frente a un estímulo o disturbio, por lo cual se esperaría que frente a la aplicación de fertilizantes los valores del PPI aumenten y disminuyan los del MI. En este trabajo se observó el mismo patrón de respuesta, excepto en el bosque prístino donde hubo una relación positiva entre estos índices que puede explicarse por el efecto positivo de disponibilidad de nutrientes presentes en sistemas naturales (Ugarte et al., 2013). Futuros estudios deberán realizarse para reportar la relación entre nematodos fitófagos y de vida libre.

Si nos referimos al índice de enriquecimiento podemos subrayar que refleja la magnitud con la cual los nematodos oportunistas caracterizan a la red trófica en estudio, permitiendo a través de ellos reconocer suelos enriquecidos. Para el índice EI se encontraron diferencias significativas entre el bosque prístino y los tres cultivos hortícolas. La mayoría de los muestreos correspondientes a los cultivos estudiados se ubicaron en el cuadrante A propuesto por Ferris (2001) en su clasificación del perfil del suelo. El enriquecimiento con nitrógeno y la labranza favorecen las rutas de descomposición dominada por bacterias (Azpilicueta et al., 2011) lo cual justificaría estos resultados. Los valores más altos de EI se encontraron en los sitios donde hubo un incremento en la entrada de nutrientes (fertilizantes) y el valor más bajo fue hallado en el bosque prístino, resultados que se condicen con los obtenidos para el análisis de gremios Ba1 y los valores de géneros cp1 de nematodos oportunistas para los mismos sitios.

Los valores de SI altos indican redes tróficas más estructuradas y complejas esperando sean más estables y que cuenten con la presencia de nematodos omnívoros y predadores (Sánchez-Moreno y Ferris, 2007). En este trabajo los valores fueron bajos no encontrando diferencias significativas entre los sitios cultivados y el bosque prístino, pudiendo deberse a las bajas abundancias de nematodos persistentes (gremios Om y De) que no permitirían hacer un análisis concluyente para diferenciar ambientes más o menos estructurados. Los valores de este índice en ambientes donde continuamente se practican actividades agrícolas ya sean convencionales o alternativas, son característicamente bajos debido al constante arado y manipulación del suelo (Berkelmans et al., 2003).

La información sobre la vía de descomposición dominante en el sistema edáfico está suministrada por el índice de canal (CI) que refleja el porcentaje de nematodos oportunistas que se alimentan de hongos entre el total de nematodos oportunistas de hongos y bacterias (Cesarz et al., 2015). En este trabajo los valores del CI mostraron diferencias significativas destacando los mayores valores en el bosque prístino. La gran abundancia de Fu2 fue clave para determinar la vía de descomposición dominada por fungívoros en este sitio. Las grandes cantidades de M.O. recalcitrante han sido documentadas como una de las causas por las cuales este gremio de nematodos es abundante y persiste en sistemas naturales como bosques y pasturas (Ferris et al., 2001). En los tres cultivos hortícolas la vía de descomposición principal fue la mediada por bacterias siendo determinante para este resultado la presencia del gremio colonizador Ba1 oportunista del enriquecimiento.

Las huellas metabólicas transmiten información adicional sobre la biomasa, actividad metabólica y las magnitudes de carbono (C) y el flujo de energía en las redes alimentarias del suelo, proporcionando un método eficaz para monitorear los recursos disponibles y estimar la contribución de los nematodos a los servicios y funciones del ecosistema (Hu et al., 2016). Como se mencionó anteriormente, la forma observada del rombo en la representación gráfica puede utilizarse rápidamente para inferir si en un sistema la utilización de carbono está representada por indicadores de estructura (depredadores) o de enriquecimiento (gremios en niveles inferiores en la red trófica) y si dicho sistema está en un mayor o menor equilibrio metabólico. En los resultados de este trabajo, las huellas metabólicas indicaron que el carbono fue utilizado por los gremios basales (Ba1, Fu2 y Ba2) formando un rombo con una gran amplitud en el eje vertical, con muy poca presencia de indicadores de estructura, incluso para el bosque prístino donde se encontraron los mayores números de depredadores. Análisis como los propuestos por Zhang et al. (2015) determinaron que una huella de alto enriquecimiento indica un aumento en la entrada de recursos en la red alimentaria del suelo. Esto demuestra la sensibilidad de este análisis y que más instancias de muestreo por períodos de tiempo mayores deberán ser tenidas en cuenta en estudios futuros que tengan como objetivo el monitoreo de prácticas agrícolas que conduzcan al equilibrio metabólico de los ecosistemas.

CONCLUSIONES

- I. La abundancia relativa de nematodos bacteriófagos y fungívoros fue sensible a los cambios de manejo y puede ser un buen indicador del cambio subyacente en la composición de la fauna de nematodos.
- II. Los géneros *Helicotylenchus*, *Filenchus* y *Tylenchus* fueron los que mayor porcentaje de disimilitud brindaron para diferenciar al bosque prístino de los agroecosistemas.
- III. Los géneros más abundantes en los agroecosistemas fueron *Rhabditis*, *Helicotylenchus* y *Filenchus* debido a los gremios a los cuales pertenecen (Ba1, Fi3 y Fu2) indicando su sensibilidad y respuesta frente al agregado de nutrientes.
- IV. El género de nematodos fitófagos de importancia económica *Nacobbus*, evidenció su mayor valor de abundancia en el sitio donde se aplicó BrMe para el control de plagas.
- V. Los sitios donde no se aplicaron insumos de ningún tipo presentaron los valores más altos de diversidad y riqueza de las comunidades de nematodos (cultivo agroecológico).
- VI. Los valores más bajos de diversidad fueron hallados en el cultivo hortícola convencional con aplicación de BrMe como control de plagas.
- VII. El MI proporcionó información útil para contrastar el estado de madurez del suelo entre cultivos con tratamientos convencionales y sitios sin aplicación de insumos. La abundancia o proporción de los grupos cp1 y cp2 albergaron valor como buenos bioindicadores.
- VIII. Los índices EI, SI y huellas metabólicas fueron buenos indicadores del estado de enriquecimiento de suelos hortícolas, simplificando el estudio de la comunidad de nematodos, aportando una rápida y concisa observación de cambios en la utilización de recursos por parte de los organismos de la red trófica.
- IX. Dentro de los sitios estudiados, el cultivo agroecológico fue considerado el menos alterado. Presentó el mayor valor de grupos tróficos depredadores y omnívoros (cp3-5) y de los índices de diversidad y equitabilidad y no se hallaron fitoparásitos sedentarios de importancia económica.
- X. Los suelos pertenecientes a los agroecosistemas registraron perturbación, por lo que se sugiere un buen manejo hortícola y la implementación de prácticas que promueban el desarrollo de los niveles más altos en la red trófica, promoviendo sinergias entre los componentes de la biodiversidad y así aumentar los servicios ecosistémicos que los nematodos aportan a los ambientes naturales como la regulación de ne-

matodos fitófagos por parte de depredadores, reciclaje de nutrientes y productividad.

PERSPECTIVAS FUTURAS

En estudios futuros se deberán tener en cuenta diseños experimentales con mayores escalas temporales, que permitan monitorear a los nematodos en distintos estados de sucesión, para obtener así resultados con información más robusta sobre la respuesta de estos bioindicadores frente a disturbios ocasionados por prácticas antrópicas. También se deberá reconsiderar la profundidad a la cual se obtienen las muestras de suelo, ya que esta variable puede llegar a influenciar el hallazgo de nematodos pertenecientes a los niveles más altos de la red trófica.

BIBLIOGRAFÍA

Adriaanse, A. (1993). Environmental Policy Performance Indicators. A Study in the Development of Indicators for Environmental Policy in the Netherlands. Ministry of Housing, Physical Planning and Environment, The Hague.

Altieri, M. A. (1987). The significance of diversity in the maintenance of the sustainability of traditional agroecosystems. *ILEIA*, 3 (2): 3-7.

Altieri, M. A. y Nichols, C. (2007). Conversión agroecológica de sistemas convencionales de producción: teoría, estrategias y evaluación. *Ecosistemas*, 16 (1): 3-12.

Athari, A. y Mahmoudi, M. R. (2008). Diploscapter coronata Infection in Iran: Report of the first case and review of Literature. *Iranian Journal of Parasitology*, 3: 42-47.

Azpilicueta, C.V., Aruani, M.C., Chaves E., Reeb, P.D. (2014). Soil nematode responses to fertilization with ammonium nitrate after six years of unfertilized apple orchard. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 12: 353-363.

Azpilicueta, C.V., Aruani, M.C., Reeb, P. y Sánchez, E. (2008). Estructura de la comunidad de nematodos del suelo bajo dos niveles de fertilización nitrogenada en Alto Valle de Rio Negro-Argentina. *Nematropica*, 38:75-86.

Bardgett, R. D. y Van der Putten, W. H. (2014). Soil biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, 515: 505-511.

Bastida, F., Zsolnay, A., Hernandez, T. y García C. (2008). Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. *Geoderma*, 147:159-171.

Bender, S.F., Wagg, C. y van der Heijden, M.G.A. (2016). An underground revolution: biodiversity and soil ecological engineering for agricultural sustainability. *Trends in Ecology and Evolution*, 31: 440-452.

Berkelmans, R., Ferris, H., Tenuta, M. y van Bruggen, A.H.C. (2003). Effects of long-term crop management on nematode trophic levels other than plant feeders disappear after 1 year of disruptive soil management. *Applied Soil Ecology*, 23: 223-235.

Bongers, T. (1990). The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia*, 83: 14–19.

Bongers, T. (1999). The maturity index, the evolution of nematode life history traits, adaptive radiation and cp-scaling. *Plant and Soil*, 212: 13–22.

Bongers, T. y Bongers, M. (1998). Functional diversity of nematodes. *Applied Soil Ecology*, 10:239–251.

Bongers, T. y Ferris, H. (1999). Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *Trends in Ecology y Evolution*, 14: 224–228.

Bongers, T. y Korthals, G. (1993). The Maturity Index, an instrument to monitor changes in the nematode community structure. En: *Summaries of the 45th International symposium on crop protection*. Gent, Belgium, p. 80.

Bongers, T., van der Meulen, H. y Korthals, G. (1997). Inverse relationship between the nematode maturity index and plant parasite index under enriched conditions. *Applied Soil Ecology*, 6:195–199.

Briar, S. S., Grewal, P. S., Somasekhar, N., Stinner, D., y Miller, S. A. (2007). Soil nematode community, organic matter, microbial biomass and nitrogen dynamics in field plots transitioning from conventional to organic management. *Applied Soil Ecology*, 37: 256–266.

Buchan, D., Gebremikael, M. T., Ameloot, N., Sleutel, S. y De Neve, S. (2013). The effect of free-living nematodes on nitrogen mineralisation in undisturbed and disturbed soil cores. *Soil Biology and Biochemistry*, 60: 142–155.

Bulluck III, L.R., Brosius, M., Evanylo, G.K. y Ristaino, J.B. (2002). Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology*, 19:147–160.

Cap, G., Fatlhauser, P., Castellano, S. y Grondona, M. (1981). Control de nematodes en un cultivo de tomate y su expresión en los rendimientos. En: *IV Jornadas Fitosanitarias Argentinas*, Córdoba, Argentina. pp: 55-56.

Cap. G., Larroque, O. B., Bradanini, M. L. y Grondona, M. (1983). Control químico del “falso nematode del nudo radicular” *Nacobbus aberrans* en un cultivo de tomate. En: V Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Rosario, Argentina. 43 p.

Caveness, F. E. y Jensen, H. J. (1955). Investigations of various therapeutic measures to eliminate root lesion nematodes from Easter lilies. *Plant Disease Report*, 39: 710-715.

CEE, 2006 CEE (Comisión de las Comunidades Europeas). (2006). Propuesta de Directiva del Parlamento Europeo y del Consejo por la que se establece un marco para la protección del suelo y se modifica la Directiva 2004/35/CE. Bruselas. 31 p.

Cesarz, S., Reich, P.B., Scheu, S., Ruess, L., Schaefer, M. y Eisenhauer, N. (2015). Nematode functional guilds, not trophic groups, reflect shifts in soil food webs and processes in response to interacting global change factors. *Pedologia*, 58: 23-32.

Chaves, E. (1984). Observations on plant parasitic nematodes from Argentina. Thesis of State University of Ghent, Belgium, 106 p.

Chaves, E. y de Sisler G. M. (1980). Presencia de *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944 (Nematoda, Nacobbidae) en cultivos hortícolas de las provincias de Buenos Aires y Santa Fe, y su asociación con otros nematodos endoparásitos. *IDIA*, 385: 13-16.

Chaves, E. y Torres, M. (1993). Nematodos parásitos de la papa del sudeste bonaerense. *CERBAS-INTA, Boletín Técnico*, 115: 1-21.

Chaves, E.J., Echeverría, M.M. y Torres, M.S. (1995). Clave para determinar géneros de nematodos del suelo de la República Argentina. Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina. 91 p.

Christensen, S., Alpehi, J., Vestergard, M. y Vestergard, P. (2007). Nematode migration and nutrient diffusion between vetch and barley materia in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 39: 1410-1417.

Clarke, K. R. y Gorley, R. N. (2001). PRIMER User Manual: Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, UK.

Clarke, K. R. y Gorley, R. N. (2006). PRIMER v6: User Manual/Tutorial. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, UK.

Clarke, K.R. y Warwick, R.M. (2001). A further biodiversity index applicable to species lists: variation in taxonomic distinctness. *Marine Ecology Progress Series*, 216: 265-278.

Colombo, C. y Sarandón, S. (2015). Relevamiento de la utilización de agroquímicos en la provincia de Buenos Aires. Mapa de situación e incidencia sobre la salud. Defensor del pueblo, provincia de Buenos Aires. Universidad Nacional de La Plata. p. 532.

Daneel, M., Engelbrecht, E., Fourie, H. y Ahuja, P. (2018). The host status of Brassicaceae to Meloidogyne and their effects as cover and biofumigant crops on root-knot nematode populations associated with potato and tomato under South African field conditions. *Crop Protection*, 110: 198-206.

Dilly, O., Pompili, L. y Benedetti A. (2018). Soil micro-biological indicators separated land use practices in contrast to abiotic soil properties at the 50 km scale under summer warm Mediterranean climate in northern Italy. *Ecological Indicators*, 84: 298-303.

FAO (Food and Agriculture Organization). (2001). Agricultural Biological Diversity: Soil biodiversity and sustainable Agriculture: paper submitted by the Food and Agriculture Organization of the United Nations, 11:28 pp.

Ferrato, A.J., y Rodríguez, F. (2010). Buenas prácticas agrícolas para la agricultura familiar: cadena de las principales hortalizas de hoja en Argentina. Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca de la Nación Argentina, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y Universidad Nacional de Rosario, Buenos Aires, Argentina.

Ferratto, J. A., Mondino, M. C, Grasso, R., Ortiz Mackinson, M., Longo, A., Carrancio, L., Firpo, I. T., Rotondo, R., Zemboj, C., Castro, G., García, M., Rodríguez Fazzone, M. e Iribarren, M. J. (2010). Situación de la cadena hortícola. En: Buenas Prácticas Agrícolas para la agricultura familiar. Cadena de las principales hortalizas de hojas en Ar-

gentina, Ferratto y Rodriguez Fazzone (eds). Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, Buenos Aires, 17-54 pp.

Ferris, H. (2010). Form and function: metabolic footprints of nematodes in the soil food web. *European Journal of Soil Biology*, 46: 97-104.

Ferris, H., Bongers, T. y de Goede, R.G.M. (2001). A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology*, 18: 13-29.

Ferris, H., Venette, R.C. y Scow, K.M. (2004). Soil management to enhance bacterivore and fungivore nematode populations and their nitrogen mineralization function. *Applied Soil Ecology*, 25: 19-35.

Ferris, H., Venette, R.C., van der Meulen, H.R. y Lau, S.S. (1998). Nitrogen mineralization by bacterial-feeding nematodes: verification and measurement. *Plant and Soil*, 203: 159-171.

Garat, J.J., Ahumada, A., Otero, L., Terminiello, L., Bello, G. y Ciampagna, M.L. (2009). Las hortalizas típicas locales en el cinturón verde de La Plata: su localización, preservación y valorización. *Revista Horticultura Argentina*, 28: 32-39.

García Salazar, J. (2012). Densidad y diversidad de nematodos en sistemas agroforestales de café en asocio con bananos y sombra de leguminosas en Jinotega, Nicaragua. Tesis de Maestría. CATIE, Turrialba, CR.

Gerhardt, A. (2002). Bioindicator species and their use in biomonitoring. En: *Environmental Monitoring I. Encyclopedia of Life Support Systems*.

Gibbs, D.S., Anderson, G.L., Beuchat, L.R., Carta, L.K. y Williams, P.W. (2005). Potential role of *Diploscapter*, a free-living nematode, as a vector of pathogenic bacteria to pre-harvest fruits and vegetables in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 71 (5).

Gnamkoulamba, A., Tounou, A. K., Tchab, I. A., Kolombia, Y. A., Agboka, K., Tchao, M., Adjevi, A. K. M. y Batawila, K. (2018). Occurrence, abundance and distribu-

tion of plant-parasitic nematodes associated with rice (*Oryza* spp.) in different rice agroecosystems in Togo. *International Journal of Biological Chemistry*, 12: 618-635.

Háněl, L. (2001). Succession of soil nematodes in pine forests on coal-mining sands near Cottbus, Germany. *Applied Soil Ecology*, 16: 23-34.

Hang, G., Kebat, C., Bravo, M.L., Larrañaga, G., Seibane, C., Ferraris, G., Otaño M. y Blanco, V. (2010). Identificación de sistemas de producción hortícola en el partido de La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Revista Bioagro*, 22: 81-86.

Heyns, J. (1971). A guide to the plant and soil nematodes of South Africa. Balkema Academic and Technical Publications, Cape Town. 232 p.

Hu, N., Li, H. y Tang, Z. (2016). Community diversity, structure and carbon footprint of nematode food web following reforestation on degraded Karst soil. *Scientific Reports*, 6:28138.

Kudrin, A.A. (2017). Effects of low quantities of added labile carbon on soil nematodes in intact forest soil microcosms. *European Journal of Soil Biology*, 78:29-37.

Kudrin, A. A., Tsurikov, S. M., y Tiunov, A. V. (2015). Trophic position of microbivorous and predatory soil nematodes in a boreal forest as indicated by stable isotope analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 86: 193-200.

Lavallén, C. y Mondino, E. (2015). Nematodos edáficos en verduras y frutas provenientes cinturón frutihortícola del partido de general Pueyrredón, provincia de Buenos Aires. *Ciencia del Suelo*, 33: 167-171.

López-Pérez, J. A., Arias, M., Sanz, R. y Escuer, M. (2003). Evaluación de alternativas al bromuro de metilo para el control de *Meloidigyne incognita* en cultivos de pepino. *Nematropica*, Vol. 33.

Mäder, P., Fliessbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P. y Niggli, U. (2002). Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*, 296: 1694-1697.

Magurran, A. E. (1988). Ecological diversity and its measurement. Princeton University Press, New Jersey, 179 p.

Mairura, F.S., Mugendi, D.N., Mwanje, J.I., Rarnisch, J.J., Mbugua, P.K. y Chianu, J.N., (2007). Integrating scientific and farmers' evaluation of soil quality indicators in central Kenya. *Geoderma*, 139:134-143.

Manzanilla-López, R. H. y Marbán-Mendoza, N. (2012). Practical Plant Nematology. México. Editorial Colegio de Post-graduados, 876 p.

Mateille, T., Tavoillot, J., Martiny, B., Dmowska, E., Winiszewska, G., Ferji, Z y El Mousadik, A. (2016). Aridity or low temperatures: What affects the diversity of plant-parasitic nematode communities in the Moroccan argan relic forest? *Applied Soil Ecology*, 101: 64-71.

Mondino, E.A. (2001). Efecto de las rotaciones, las labranzas y la fertilización nitrogenada sobre la nematofauna del suelo. Tesis de maestría en Producción Vegetal, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. 66 p.

Morimoto, N., Korenaga, M. y Yagyū, K. (2006). Morphological observations and the effects of artificial digestive fluids on the survival of *Diploscaptercoronata* from a Japanese patient. *Journal of Helminthology*, 80: 341-348.

Neher, D.A. (2001). Role of nematodes in soil health and their use as indicators. *Journal of Nematology*, 33: 161-168.

Neher, D.A., Williams, K.M. y Lovell, S.T. (2017). Environmental indicators reflective of road design in a forested landscape. *Ecosphere*, 8. e01734. DOI: 10.1002/ecs2.1734.

Neher, D. A., Peck, S. L., Rawlings, J. O. y Campbell, C. L. (1995). Measures of nematode community structure and sources of variability among and within agricultural fields. *Plant Soil*, 170:167-181.

Neher, D.A., Campbell, C.L. (1994). Nematode communities and microbial biomass in soils with annual and perennial crops. *Applied Soil Ecology*, 1: 17-28.

Hu N, Li H, Tang Z et al. (2016). Community diversity, structure and carbon footprint of nematode food web following reforestation on degraded Karst soil. *Scientific Reports*, 6: 28138.

Odum, E. (1985). Trends expected in stressed ecosystems. *BioScience*, 35: 419–422.

Powelson, D.S., Stirling, C.M., Thierfelder, C., White, R.P. y Jat, M.L. (2016). Does conservation agriculture deliver climate change mitigation through soil carbon sequestration in tropical agro-ecosystems? *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 220: 164–174.

Salas A., Rusconi J.M., Camino, N.B., Eliceche D. y Achinelly M.F. (2016). First record of *Diploscaptercoronata* (Rhabditida), a possible health significance nematode associated with tomato crops in Argentina. *Revista Facultad de UNCUYO*, 49: 167-173.

Sanchez-Moreno, S. y Ferris, H. (2007). Suppressive service of the soil food web: effects of environmental management. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 119: 75–87.

Sarandón, S.J., Flores, C.C., Abbona, E., Iermanó, M.J., Blandi, M.L., Oyhhamburu, M. y Presutti, M. (2015). Análisis del uso de agroquímicos asociado a las actividades agropecuarias de la Provincia de Buenos Aires. En: Relevamiento de la utilización de Agroquímicos en la Provincia de Buenos Aires - Mapa de Situación e incidencias sobre la salud. Defensoría del Pueblo de la Provincia de Buenos Aires: 18-495.

SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria). (2018). <http://www.senasa.gob.ar/resolucion-9342010-productos-agropecuarios>.

Sieriebriennikov, B., Ferris, H. y de Goede, R.G.M. (2014). NINJA: an automated calculation system for nematode-based biological monitoring. *European Journal of Soil Biology*, 61: 90-93.

Silvestri (1985). Nematodos del suelo del área de La Plata. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, La Plata.

Sohlenius, B. y Wasilewska, L. (1984). Influence of irrigation and fertilization on the nematode community in a Swedish pine forest soil. *Journal of Applied Ecology*, 21: 327–342.

Stavi, I., y Lal, R. (2015). Achieving Zero Net Land Degradation: Challenges and opportunities. *Journal of Arid Environments*, 112: 44-51.

Strassera, M.E. (2009). Análisis de la sustentabilidad de diferentes sistemas de producción comercial de tomate bajo cubierta para el manejo de las plagas *Trialeurodes vaporariorum* y *Tuta absoluta* en el Cinturón Hortícola Platense. Trabajo de tesis presentado. Carrera de Magister Scientiae en Protección Vegetal con orientación en Manejo de Plagas Animales. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP.

Stupino, S. Frang, J. y Sarandón, S. (2012). Caracterización de fincas hortícolas según el manejo de los cultivos, en los alrededores de La Plata, Argentina. 7^{mo} Congreso de Medio Ambiente. La Plata.

Subbotin, S.A., Inserra, R.N., Marais, M., Mullin, P., Powers, T.O., Roberts, P.A., Van den Berg, E., Yeates, G.W. y Baldwin, J.G. (2011). Diversity and phylogenetic relationships within the spiral nematodes of *Helicotylenchus* Steiner, 1945 (Tylenchida: Hoplolaimidae) as inferred from analysis of the D2-D3 expansion segments of 28S rRNA gene sequences. *Nematology*, 13: 333-345.

Sue, G. R., Karanas, Y. L, Davis D. J. y Press B. (2017). The unusual presentation of a burn from methyl bromide exposure: A case report and review of the literature. *Burns*, 43: 43-46.

Sun, X., Zhang, X., Zhang, S., Dai, G., Han, S. y Liang, W. (2013). Soil nematode responses to increases in nitrogen deposition and precipitation in a temperate forest. *PLOS ONE*, 8: e82468.

Tsiafouli, M. A., Thébault, E., Sgardelis, S., De Ruiter, P. C., Van der Putten, W. H., Birkhofer, K., Hemerik, L., De Vries, F. T., Bardgett, R. D., Brady, M., Bjornlund, L., Bracht Jörgensen, H., Christensen, S., D'Hertfelt, T., Hotes, S., Hol, W. H. G., Frouz, J., Liiri, M., Mortimer, S. R., Setälä, H., Stary, J., Tzanopoulos, J., Uteseny, C., Wolters, V., y Hedlund, K. (2015). Intensive agriculture reduces soil biodiversity across Europe. *Global Change Biology*, 21:973-985.

Ugarte, C.M., Zaborski, E.R. y Wander, M.M. (2013). Nematode indicators as integrative measures of soil condition in organic cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 64:103-113.

UNEP (Naciones Unidas para el Medio Ambiente). (2016). Exenciones para usos críticos del bromuro de metilo en 2017 y 2018. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente: 28ª Reunión de las Partes en el Protocolo de Montreal relativo a las Sustancias que Agotan la Capa de Ozono, Kigali.

van der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D. y van Straalen, N.M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11:296-310.

Vega, F. E., Kaya H. K. (2012). *Insect Pathology*, Second Edition. Academic Press, San Diego.

Wang, K.H., McSorley, R. y Kokalis-Burelle, N. (2006). Effects of cover cropping, solarization, and soil fumigation on nematode communities. *Plant Soil*, 286: 229-243.

Webster, T. M., Csinos, A. S., Johnson, A. W. , Dowler, C. C., Sumner, D. R. y Fery. R. L. (2001). Methyl bromide alternatives in a bell pepper-squash rotation. *Crop Protection*, 20:605-614.

Yeates, G. W. y Bongers, T. (1999). Nematode diversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74: 113-135.

Yeates, G. W., y van der Meulen, H. (1996). Recolonization of methyl-bromide sterilized soils by plant and soil nematodes over 52 months. *Biology and Fertility of Soils*, 21:1-6.

Yeates, G.W., Bongers, T., De Goede, R.G.M., Freckman, D.W. y Georgieva, S.S. (1993). Feeding habits in soil nematode families and genera: an outline for soil ecologists. *Journal of Nematology*, 25: 315-331.

Zarate Escobedo, J., Castañeda González, E. L., Cuevas Sánchez, J. A., Carrillo-Fonseca, C. L., Mendoza García, E. M. y Serrato Cruz, M. A. (2018). Concentraciones e

intervalos de aplicación del aceite esencial de "*Tagetes lucida*" Cav. Contra *Nacobbus aberrans*. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas vol. 9.

Zhang, X. K., Guan, P.T., Wang, Y. L., Li, Q., Zhang, S. X., Zhang, Z. Y., Bezemer, M. y Liang, W. J. (2015).Community composition, diversity and metabolic footprints of soil nematodes in differently-aged temperate forests. *Soil Biology and Biochemistry*, 80: 118-126.

Zhao, J. y Neher, D. A. (2013). Soil nematode genera that predict specific types of disturbance. *Applied Soil Ecology*, 64:135-141.