

Effect of agro-ecosystem and periods of the year upon earthworm population density on silvopastoral systems

Efecto del agroecosistema y las estaciones del año en la densidad poblacional de la lombriz de tierra en los sistemas silvopastoriles

H. R. Benavides¹, S. Vargas², D. Caicedo¹, L. Carvajal¹, D.I. Gutiérrez², and J. Mina¹

¹Universidad Politécnica Estatal del Carchi, Tulcán, Ecuador

²Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuani. Km 6. Edificio C¹. Apto 110. Apartado Postal 54830. Santa Clara. Villa Clara. Cuba

Email: hernanrigo@hotmail.com

A completely randomized design with three treatments (agro-ecosystems): A1 (grasses and *Alnus acuminata* Kunth); A2 (grasses and *Acacia melanoxylon* R. Br.) and A3 (Grassland) and four periods of the years (PY): 1-12-2015 (1); 1-6-2016 (2); 1-12-2016 (3) and 1-6-2017 (4) in a factorial analysis was conducted to evaluate the effects of agro-ecosystems (AES) and periods of the years upon the earthworm population density (EPD). There was not interaction ($p > 0.001$) between AES and PY upon the EPD. The agro ecosystem A1 (189 m²) differed ($p < 0.001$) from A2 and A3 with (117 and 128 m²) while these were similar in earthworms. The periods of the years effect ($p < 0.001$) upon the EPD was higher in PY1 and PY2 (157 and 188 m²) without differences between them, meanwhile the PY3 and PY4 were similar (118 and 116 m²) but differed from the previous periods. The best results in the response variable was achieved in A1 agro-ecosystem which coincided with the better forestry indicators with a mean difference of 1.66 m and 5.84 cm, in height and diameter, respectively. The survival of earthworms and its population density in all agro-ecosystems and periods of the years suggested that EPD is an appropriate bio-indicator to assess the soil health in agroforestry systems and grasslands, closely related with the edaphoclimatic conditions, design and management.

Keywords: *agroforestry, soil biota, grassland*

Human activities can drastically alter the soil environment and influence earthworm populations directly by physical disturbances and indirectly by altering the physicochemical environment (Curry 2004). In this view, Mahecha and Angulo (2012) evaluating the nutrient management on silvopastoral systems (SPS) in the case study in Colombia, highlighted the higher content of soil organic matter and the improvement of the microclimate (moisture and temperature) due to the presence of trees in SPS, promoting the biological activity of the macro and micro fauna, resulting in a greater mineralization and availability of soil nutrients. These criteria were congruent with Crespo (2015) who assessed the factors influencing on nutrient recycling in permanent grasslands. The effect of earthworms upon the cropping systems have been recently reviewed summarizing the benefits of earthworms for crops and discussed some techniques to increase earthworms abundance (Bertrand *et al.* 2015). Several studies have been carried out to demonstrate the impact of trees on earthworm communities via

Se utilizó un diseño completamente al azar con tres tratamientos (agroecosistemas): A1 (pastos y *Alnus acuminata* Kunth); A2 (pastos y *Acacia melanoxylon* R. Br.) y A3 (pastizales) y cuatro períodos (PY): 1-12-2015 (1); 1-6-2016 (2); 1-12-2016 (3) y 1-6-2017 (4) en un análisis factorial, para evaluar los efectos de los agroecosistemas (AES) y las estaciones en la densidad poblacional de lombrices de tierra (DPL). No hubo interacción ($p > 0,001$) entre AES y PY en la DPL. El agroecosistema A1 (189 m²) difería ($p < 0,001$) de A2 y A3 con 117 y 128 m², respectivamente, mientras que estos eran similares en lombrices de tierra. El efecto de las estaciones ($p < 0,001$) en la DPL fue mayor en PY1 y PY2 (157 y 188 m²) sin diferencias entre ellos, mientras que el PY3 y PY4 fueron similares (118 y 116 m²) pero diferían de los periodos anteriores. Los mejores resultados en la variable de respuesta se lograron en el agroecosistema A1, que coincidió con los mejores indicadores forestales con una diferencia de medias de 1,66 m de altura y 5,84 cm de diámetro. La supervivencia de las lombrices y su densidad poblacional en todos los agroecosistemas y las estaciones sugirió que la DPL es un bioindicador apropiado para evaluar la salud del suelo en sistemas agroforestales y pastizales, estrechamente relacionados con las condiciones edafoclimáticas, el diseño y el manejo.

Palabras clave: *agroforestería, biota del suelo, pastizal*

La actividad humana puede alterar drásticamente el entorno del suelo e influir en las poblaciones de lombrices de tierra directamente por alteraciones físicas e indirectamente al alterar el entorno físico-químico (Curry 2004). Desde este punto de vista, Mahecha y Angulo (2012) evaluaron el manejo de nutrientes en sistemas silvopastoriles (SSP) en el estudio de caso en Colombia y destacaron el alto contenido de materia orgánica del suelo y la mejora del microclima (humedad y temperatura) debido a la presencia de árboles en SSP, que promueve la actividad biológica de la macro y micro fauna, y resulta en mayor mineralización y disponibilidad de nutrientes del suelo. Estos criterios coinciden con Crespo (2015), quien evaluó los factores que influyen en el reciclaje de nutrientes en los pastizales permanentes. El efecto de las lombrices en los sistemas de cultivo se ha revisado recientemente, resumiendo los beneficios de las lombrices para los cultivos y se han debatido algunas técnicas para aumentar la abundancia de lombrices (Bertrand *et al.* 2015). Se han llevado a cabo varios estudios para demostrar el impacto de los árboles en las comunidades de lombrices de tierra a través de la hojarasca estrechamente asociada a las características

leaf litter closely associated with soil characteristics e.g. anecic earthworms were abundant under *Acer pseudoplatanus*, *Fagus sylvatica* and *Fraxinus excelsior* which was related to calcium-rich litter and low soil acidification (Schelfhout *et al.* 2017). Following that line of research, the effect of the main soil characteristics (soil texture, organic matter, and nutrient contents) on the different mechanisms allowing earthworm to influence plant growth was discussed but the authors argued that it was difficult to predict the strength and direction of the effects of a given earthworm species on a given plant (Laossi *et al.* 2010). An integrated study of twelve ecological functions were characterized in the managed grassland plots varying in plant species richness. It was demonstrated that the diversity promotes stability across different ecological functions and levels of ecosystem organization in grasslands (Proulx *et al.* 2010). Moreover, the dynamics of global vegetation models was undertaken to provide a suitable modeling framework to assess grassland dynamics, productivity and the impact on the biogeochemical cycles under five different grassland management schemes at the global scale (Rolinski *et al.* 2017).

In tropical grasslands, it was evaluated the usefulness of earthworms and soil microbes as indicators of soil quality and how their occurrence, abundance, biomass and activity changed under different pastoral farming practices (Manono 2014). Soil health is defined as the continued capacity of the soil to function as a vital living ecosystem that sustains plants, animals and humans (USDA-NRCS 2018).

On the basis of the presented background, the current study aimed at evaluating the effects of agro-ecosystems, periods of the years and their interaction upon earthworm population density.

Materials and Methods

Location. The study was conducted in the parish "El Carmelo", Canton Tulcán, Carchi, Ecuador. It is located in the hydrographic area 230, between 0° 41' and 3" N and 77° 36' and 42' W, altitude 2955 m.a.s.l., (INAMHI 2014). The soil was classified as Andosols, which is distinguished by high content of Fe and Al, melanic horizon andic properties, highly humid organic matter, lower ratio of fulvic/humic acids, blackish (FAO 2014). Soil horizon A1 was thick and well structured, pH 5.5-6.5, soil organic carbon 15-25 %, cation exchange capacity 15-25 meq 100⁻¹ g of soil with predominant amount of Ca in the exchange complex, N ranged from medium to high values, bio-available P was low due to its fixation with humus-Al complexes (Zehetner *et al.* 2003). The precipitation and temperature (figure 1) during 2016 and partly 2017 were recorded (INAMHI 2016, 2017).

Experimental design and procedure. A completely randomized design with three treatments (agro-

del suelo. Por ejemplo, las lombrices anecicas fueron abundantes a la sombra de *Acer pseudoplatanus*, *Fagus sylvatica* y *Fraxinus excelsior*, que se relacionaron con la hojarasca rica en calcio y la baja acidificación del suelo (Schelfhout *et al.* 2017). Siguiendo esa línea de investigación, se debatió el efecto de las principales características del suelo (textura del suelo, materia orgánica y contenido de nutrientes) en los diferentes mecanismos que permiten que las lombrices de tierra influyan en el crecimiento de las plantas, pero los autores argumentaron que era complejo predecir la fuerza y la dirección de los efectos de una determinada especie de lombriz de tierra en una planta específica (Laossi *et al.* 2010). Se realizó un estudio integrado donde se caracterizaron doce funciones ecológicas en parcelas de pastizales mejorados que varían en la riqueza de especies de plantas. Se demostró que la diversidad promueve la estabilidad en diferentes funciones ecológicas y niveles de organización de ecosistemas en pastizales (Proulx *et al.* 2010). Además, la dinámica de los modelos de vegetación global se realizó para proporcionar un marco de modelado adecuado para evaluar la dinámica de los pastizales, su productividad y su impacto en los ciclos biogeoquímicos de los sistemas de manejo de cinco pastizales diferentes a escala mundial (Rolinski *et al.* 2017).

En pastizales tropicales se evaluó la utilidad de las lombrices de tierra y los microbios del suelo como indicadores de la calidad del suelo y los cambios ocurridos con su incidencia, abundancia, biomasa y actividad en diferentes prácticas de pastoreo (Manono 2014). La salud del suelo se define como la capacidad continua del suelo para funcionar como un ecosistema vital esencial que sustenta a las plantas, los animales y los seres humanos (USDA-NRCS 2018).

Sobre la base de los antecedentes presentados, el estudio actual tuvo como objetivo evaluar los efectos de los ecosistemas agrícolas, las estaciones del año y su interacción con la densidad poblacional de lombrices de tierra.

Materiales y Métodos

Localización. El estudio se realizó en la parroquia "El Carmelo", Cantón Tulcán, Carchi, Ecuador. Se ubica en el área hidrográfica 230, entre 0° 41' y 3" N y 77° 36' y 42' O, altitud 2955 m snm (INAMHI 2014). El suelo se clasificó como andosoles, que se distingue por alto contenido de Fe y Al, propiedades ándicas del horizonte melánico, materia orgánica altamente húmeda, menor proporción de ácidos fúlvico/húmico, negruzco (FAO 2014). El horizonte del suelo A1 fue grueso y bien estructurado, pH de 5.5-6.5, con carbono orgánico del suelo de 15-25 %, capacidad de intercambio de cationes 15-25 meq 100⁻¹ g de suelo con una cantidad predominante de Ca en el complejo de intercambio, el N varió de valores medios a altos, el P biodisponible fue bajo debido a su fijación con los complejos de humus-Al (Zehetner *et al.* 2003). Se registraron las precipitaciones y las temperaturas (figura 1) durante 2016 y parte del 2017

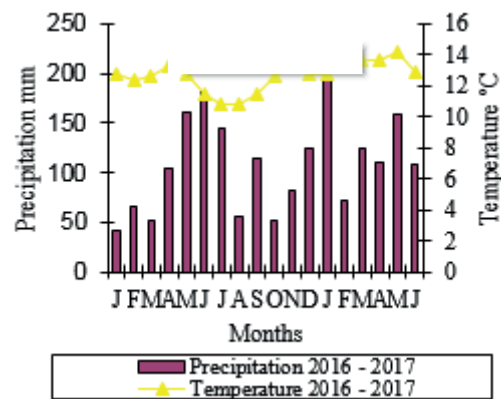


Figure 1. Means of precipitation and temperature

ecosystems): A1 (grasses and *Alnus acuminata* Kunth); A2 (grasses and *Acacia melanoxylon* R. Br.) and A3 (Grassland) and four periods of the years (PY): 1-12-2015 (1); 1-6-2016 (2); 1-12-2016 (3) and 1-6-2017 (4) in a factorial analysis was conducted to evaluate the effects of agro-ecosystems (AES) and periods of the years upon the earthworm population density (EPD). The predominant grasses in all AES were *Pennisetum clandestinum* L., *Lolium perenne* L., *Holcus lanatus* L. and *Trifolium repens* L. The AES consisted of A1 (grasses and trees of Alder, *Alnus acuminata* Kunth); A2 (grasses and acacia trees, *Acacia melanoxylon* B.R.) and A3, (grassland). The trees species were used because of their adaptation to the edaphoclimatic conditions of the Andean Ecuador.

Trees were planted in December 2015, taking into account the contour lines. The total area was divided into three AES. The grazing area managed for dairy cows consisted of 7.50, 4.64 and 6.25 ha in A1, A2 and A3, respectively. The soil quality was previously determined by Rosales *et al.* (2018). Double electric fences were established both to make paddocks and protect the young trees from animals' damages. The trees had a population density of 1,000 ha⁻¹, were planted in double rows and separated two meters apart each. Rational grass management in the paddocks of 2,000 m² was applied by means of electric fences. It allowed to control the resting period of grasses, staying periods of the animals and grazing pressure in a daily striped availability of pastures in the paddocks. Eleven and ten cows with an average of live weight of 445 kg and a stocking rate capacity of 1.46, 1.76 and 2.15 cows' ha⁻¹ were kept in A1, A3 and A2, respectively. The animals permanently grazed in the paddocks at all time and only were out of them to be milked. The genetic composition of dairy cows was 80 and 20 % of Holstein and crossbreed Holstein x Jersey, respectively.

Earthworms sampling and statistical analysis.

Field area to sample was geo-referenced with a global positioning system (Figure 2) and sampled in the same location four times in every subsequent period. The sampling layout was repeated in three transects, taking 10 samples in the high, middle and low relief

(INAMHI 2016, 2017).

Procedimiento y diseño experimental. Se aplicó un diseño completamente al azar con tres tratamientos (agroecosistemas): A1 (pastos y *Alnus acuminata* Kunth); A2 (pastos y *Acacia melanoxylon* R. Br.) y A3 (pastizales) y cuatro períodos (PY): 1-12-2015 (1); 1-6-2016 (2); 1-12-2016 (3) y 1-6-2017 (4) en un análisis factorial, para evaluar los efectos de los agroecosistemas (AES) y las estaciones en la densidad poblacional de lombrices (DPL). Los pastos predominantes en todas las AES fueron *Pennisetum clandestinum* L., *Lolium perenne* L., *Holcus lanatus* L. y *Trifolium repens* L. El AES consistió en A1 (pastos y árboles de Alder, *Alnus acuminata* Kunth), A2 (pastos y acacias, *Acacia melanoxylon* B.R.) y A3 (pastizales). Las especies arbóreas se utilizaron debido a su adaptación a las condiciones edafoclimáticas del Ecuador andino.

Los árboles se plantaron en diciembre de 2015, teniendo en cuenta las curvas de nivel. El área total se dividió en tres AES. El área de pastoreo para vacas lecheras consistió en 7.50, 4.64 y 6.25 ha en A1, A2 y A3, respectivamente. La calidad del suelo se determinó previamente por Rosales *et al.* (2018). Se establecieron cercas eléctricas dobles para hacer potreros y proteger a los árboles jóvenes de los daños de los animales. Los árboles tenían una densidad de población de 1 000 ha⁻¹, se plantaron en filas dobles y se colocaron cada dos metros. El manejo racionalizado del pasto en los potreros de 2 000 m² se aplicó mediante cercas eléctricas, lo que permitió controlar el período de reposo de los pastos, los períodos de permanencia de los animales y la presión de pastoreo en una disponibilidad diaria de pastos en los potreros. Once y diez vacas con un promedio de peso vivo de 445 kg y una capacidad de carga de 1.46, 1.76 y 2.15 vacas ha⁻¹ se mantuvieron en A1, A3 y A2, respectivamente. Los animales pastaban permanentemente en los potreros y solo salían para el ordeño. La composición genética de las vacas lecheras fue 80 y 20% de Holstein y el cruce Holstein x Jersey, respectivamente.

Muestreo de lombrices de tierra y analisis estadístico.

El área de campo a muestrear se georreferenció mediante el sistema de posicionamiento global (figura 2) y se tomó una muestra cuatro veces en la misma ubicación en cada período subsiguiente. El diseño del muestreo se repitió en

respectively, accounting 30 soil samples of 0.027 m^3 in each AES. In A1 and A2, soil samples were taken separated two meters apart from the trees rows, and soil sampling in A3 was diagonally randomized in the paddocks in zigzag. Earthworms were extracted from a $0.30 \text{ m} \times 0.30 \text{ m} \times 0.30 \text{ m}$ block of soil layer dug out using square-headed shovel so that the results were expressed as EPD (numbers of individuals m^{-2}). The soil extracted from the pit was placed onto a plastic sheet and searched for earthworms by crumbling the soil matrix by hand (Edwards and Lofty 1977).

tres transectos, tomando 10 muestras en el relieve alto, medio y bajo, respectivamente, con 30 muestras de suelo de 0.027 m^3 en cada AES. En A1 y A2, las muestras de suelo se tomaron separadas dos metros de las filas de árboles, y el muestreo de suelo en A3 se realizó diagonalmente al azar en los potreros en zigzag. Las lombrices de tierra se extrajeron de un bloque de $0.30 \text{ m} \times 0.30 \text{ m} \times 0.30 \text{ m}$ de la capa de suelo extraída con una pala de cabeza cuadrada, de modo que los resultados se expresaron como DPL (número de individuos m^{-2}). El suelo extraído del hoyo se colocó en una lámina de plástico y se buscaron las lombrices de

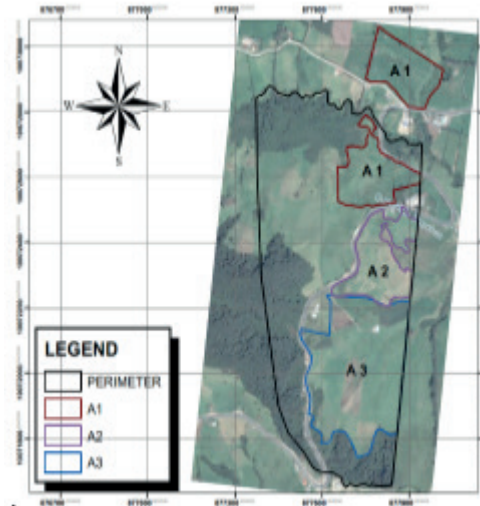


Figure 2. Images of agro-ecosystem: A1, A2 and A3

The assumptions of both normality and homogeneity of variance were met with p value greater than 0.05 after performing raw data transformation to root square using Shapiro-Wilk and Levine's test, IBM-SPSS (2013), respectively. Data were subjected to a factorial analysis using the following mathematical model, with p value of 0.001. A factorial analysis was conducted to evaluate the effects of agro-ecosystems (AES) and periods of the years upon the earthworm population density (EPD). To compare the means, the Tukey (1949) test was used. The statistical package IBM-SPSS (2013) version 22.0 was used. Original values of the amount of earthworms were transformed according to $\sqrt{x + 0.375}$ (DeCoster 2001).

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + P_j + (S,P)_{ij} + e_{ijk}$$

Where: Y_{ijk} observation corresponding to the individual k in the agro-ecosystem i and period of the year j; μ : general mean of the population; S_i : effect of the i-esimo agro-ecosystem; P_j : effect of the j-esimo period of the year; $(S, P)_{ij}$: effect due to the interaction of the i-esimo agro-ecosystem with the j-esimo period of the year and e_{ijk} : experimental error.

A comparison of forestry indicators between A1: *A. acuminata* and A2: *A. melanoxylon* was accomplished. It included variables as height: total height of trees in m, using a metric tape supported by a ruler; diameter: measured at 0.20 m of height in cm, with caliper; AMI-H or AMI-D: annual mean increment either height or diameter divided by 1.5 year, respectively.

tierra desmoronando la matriz del suelo a mano (Edwards y Lofty 1977).

Los supuestos de normalidad y homogeneidad de la varianza se cumplieron con un valor de P mayor que 0.05 después de realizar la transformación de datos sin procesar en el cuadrado de la raíz utilizando la prueba de Shapiro-Wilk y Levine, IBM-SPSS (2013), respectivamente. Los datos se sometieron a análisis factorial utilizando el siguiente modelo matemático, con un valor de P de 0.001. Se realizó un análisis factorial para evaluar los efectos de los agroecosistemas (AES) y las estaciones del año en la densidad de población de lombrices (DPL). Se utilizó la prueba de Tukey (1949) para comparar las medias, y el paquete estadístico IBM-SPSS (2013) versión 22.0. Los valores originales de la cantidad de lombrices de tierra se transformaron de acuerdo con $\sqrt{x + 0.375}$ (DeCoster 2001).

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + P_j + (S,P)_{ij} + e_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} observación correspondiente a la k individual en el agroecosistema i y estación del año j; μ : media general de la población; S_i : efecto del agroecosistema i-esimo; P_j : efecto del periodo j-esimo del año; $(S, P)_{ij}$: efecto debido a la interacción del agroecosistema i-esimo con el período j-esimo del año y e_{ijk} : error experimental.

Se realizó una comparación de los indicadores forestales entre A1: *A. acuminata* y A2: *A. melanoxylon*. Incluía variables como altura (altura total de árboles en m, usando una cinta métrica soportada por una regla), diámetro (medido a 0.20 m de altura en cm, con pinza),

Data were analyzed by means of the independent samples T-Test, IBM-SPSS (2013), with value of $p < 0.05$ (table 1).

AMI-H o AMI-D (incremento medio anual en altura o en diámetro dividido por 1.5 año, respectivamente). Los datos se analizaron mediante las muestras independientes T-Test, IBM-SPSS (2013), con un valor de $p < 0.05$ (tabla 1).

Table 1. Comparison of forestry indicators in the agro-ecosystems

Indicators	Mean	Mean diff.	SE diff. ±	Sig.	
Height, m	A1	4.11	1.66	0.077	P<0.000
	A2	2.44			
Diameter, cm	A1	5.84	3.02	0.138	P<0.000
	A2	2.81			
AMI-H, m	A1	2.74	1.11	0.051	P<0.000
	A2	1.62			
AMI-D, cm	A1	3.89	2.02	0.092	P<0.000
	A2	1.87			

n1: 192, n2: 183 (number of trees at 1.5 years after sowing); A1: *A. acuminata*, A2: *A. melanoxyton*. Independent samples T-Test, IBM-SPSS (2013), $p < 0.05$.

Results and Discussion

Effect of the agro ecosystems. There were highly significant differences among the agro ecosystems ($p < 0.001$) in which earthworm population density (EPD) got the highest amount of individuals (189 m^{-2}) in A1 (table 2). This result could be justified by the appropriate environment created by the effect of *A. acuminata* trees, where the mean difference ($p < 0.05$) of the forestry indicators was higher compared to *A. melanoxyton* (table 1). Arteaga *et al.* (2016) studied the performance upon chemical variables on Andisol subjected to different land uses and concluded that the SOM (soil organic matter) was the variable that better detects the effect of soil use and management using *Acacia melanoxyton* and *Alnus acuminata*. This evidence justifies the use of these tree species in the current research with the same classification of soils in which the *A. acuminata* got better performance (table 1).

Resultados y Discusión

Efecto de los agroecosistemas. Hubo diferencias altamente significativas entre los agroecosistemas ($p < 0.001$), en los cuales la densidad de población de las lombrices (DPL) obtuvo la mayor cantidad de individuos (189 m^{-2}) en A1 (tabla 2). Este resultado podría justificarse por el entorno apropiado creado por el efecto de los árboles de *A. acuminata*, donde la diferencia de medias ($p < 0.05$) de los indicadores forestales fue mayor en comparación con *A. melanoxyton* (tabla 1). Arteaga *et al.* (2016) estudiaron el rendimiento de las variables químicas en andisol sometidas a diferentes usos del suelo y concluyeron que la materia orgánica del suelo (MOS) era la variable que mejor detectaba el efecto del uso y manejo del suelo con la utilización de *Acacia melanoxyton* y *Alnus acuminata*. Esta evidencia justifica el uso de estas especies de árboles en la investigación actual con la misma clasificación de suelos en la que *A. acuminata* tuvo mejor rendimiento (tabla 1).

Table 2. Effect of the agro ecosystems upon earthworm's population density m^{-2}

Agro-ecosystems	Grasses+ <i>Alnus acuminata</i> ,A1	Grasses + <i>Acacia melanoxyton</i> ,A2	Grassland, A3	SE ±	Sig.
Earthworms population density	13.14 ^a (188.70)	9.95 ^b (116.85)	10.58 ^b (128.33)	0.511	P<0.000

^{ab} Means without common letter in the row are different at $p < 0.001$ (Tukey 1949).

() Means of original values *** $p < 0,001$

Earthworms (*Lumbricus terrestris* L., Annelida: Oligochaeta) comprise roughly 3,000 species grouped into five families. Earthworms are very versatile and are found in nearly all terrestrial ecosystems, and they play an important role in soil improvement. Soil (habitat quality), climate (temperature, precipitation, climatic water balance, time course) and food (nutrient flow) are the three main factors determining the abundance of earthworms in the forest and agro-ecosystems (Zhenjun 2011).

Las lombrices de tierra (*Lumbricus terrestris* L., Annelida: Oligochaeta) comprenden aproximadamente 3 000 especies agrupadas en cinco familias. Son muy versátiles y se encuentran en casi todos los ecosistemas terrestres, además de desempeñar un papel importante en la mejora del suelo. El suelo (calidad del hábitat), el clima (temperatura, precipitación, balance hídrico climático y transcurso del tiempo) y los alimentos (flujo de nutrientes) son los tres factores principales que determinan la abundancia de lombrices en el bosque y

In the current research, it was demonstrated that the SOM had the lowest value in A1 (Rosales *et al.* 2018). This effect could be explained as the soil organic matter (SOM) rate of production and biodegradation caused by the earthworms which were higher in EPD compared to A2 and A3. It was remarkable, that the SOM in the soil samples collected in all AES had very high values. These are normally found in Andosols, The main problem in the Andean soils is related with the SOM biodegradation (FAO 2015). The missing effects of interactions could be explained due to in the first three years, the fast growing trees removed part of the soil nutrient reserves and did not produce enough litter. However, once the canopy was closed (4-5 years) the trees can act as self-nourishing system via litter production and decay (Kumar *et al.* 1998). In this sense, Crespo (2015) stated that grassland litter was considered the most important source of nutrient recycling in permanent grasslands, depending on grass species, climate and biological activity of soil. In the present research, from the beginning to 18 months later, the effect of agro ecosystem on the botanical composition showed higher percentage ($P < 0.05$) of *Pennisetum clandestinum* (A2), *Lolium multiflorum* (A1), *Dactylis glomerata* (A1), *Holcus lanatus* (A2 and A3) and *Trifolium repens* (A2 and A3) (Chamorro 2018). On the other hand, the storage rate could have affected the EPD because of the agro-ecosystem A2 was 0.39 and 0.69 higher than A3 and A1, respectively. From this point of view, Murgueitio *et al.* (2006), assessing the impact of the silvopastoral systems on dairy cattle production stated that the SPS increased their stocking rate and milk production, ranging from 87.5-166.6 % and 20-35 %, respectively. On the other hand, Crespo and Martínez (2016) pointed out the increment of SOM in a biomass bank of *Cenchrus purpureus* (Schumach.) cv. CUBA CT-115 with different exploitation years in which the interactions of soil-plant-animal were highlighted. Moreover, earthworms, as ecosystem engineers, help to mineralize soil organic matter, construct and maintain soil structure, and stimulate plant growth (Marichal *et al.* 2017).

In another experiment with three years of study it was found higher EPD in protein bank with *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) and native grasses compared to *Sacharum officinarum* AES (Vargas 2013). In the current research were not found differences between *A. melanoxylon* and grassland (table 2). These findings were congruent with Decaëns *et al.* (2017) who found that permanent grasslands had higher EPD compared to crops AES.

Period of the years. There were not differences between PY1 and PY2, which were different from PY3 and PY4 ($p < 0.000$), while the latter periods were similar in EPD (table 3). The first samplings of earthworms in all AES were accomplished before

en los ecosistemas agrícolas (Zhenjun 2011).

En la investigación actual, se demostró que la materia orgánica del suelo (MOS) tenía el valor más bajo en A1 (Rosales *et al.* 2018). Este efecto podría explicarse como la tasa de producción y biodegradación de la MOS, causada por las lombrices de tierra que fueron mayores en DPL en comparación con A2 y A3. Fue notable que la MOS en las muestras de suelo recolectadas en todos los AES tenía valores muy altos. Estos se encuentran normalmente en los andosoles. El problema principal en los suelos andinos está relacionado con la biodegradación (FAO 2015). Los efectos faltantes de las interacciones se podrían deber a que, en los primeros tres años, los árboles de crecimiento rápido eliminaron parte de las reservas de nutrientes del suelo y no produjeron suficiente hojarasca. Sin embargo, una vez que se cerró el dosel (4-5 años), los árboles pueden actuar como un sistema de auto-alimentación a través de la producción de hojarasca y la descomposición (Kumar *et al.* 1998). En este sentido, Crespo (2015) declaró que la hojarasca de los pastizales se consideraba la fuente más importante de reciclaje de nutrientes en los pastizales permanentes, dependiendo de las especies de pastos, el clima y la actividad biológica del suelo. En la presente investigación, desde el comienzo hasta 18 meses más tarde, el efecto del agroecosistema en la composición botánica mostró mayor porcentaje ($P < 0.05$) de *Pennisetum clandestinum* (A2), *Lolium multiflorum* (A1), *Dactylis glomerata* (A1), *Holcus lanatus* (A2 y A3) y *Trifolium repens* (A2 y A3) (Chamorro 2018). Por otro lado, la tasa de almacenamiento podría haber afectado a la DPL debido a que el agroecosistema A2 fue 0.39 y 0.69 más alto que A3 y A1, respectivamente. Desde este punto de vista, Murgueitio *et al.* (2006), al evaluar el impacto de los sistemas silvopastoriles en la producción de ganado lechero, informaron que el SSP aumentó su carga animal y la producción de leche, con un rango de 87.5-166.6 % y 20-35 %, respectivamente. Por su parte, Crespo y Martínez (2016) señalaron el incremento de MOS en un banco de biomasa de *Cenchrus purpureus* (Schumach.) vc. CUBA CT-115 con diferentes años de utilización en los que se destacaron las interacciones suelo-planta-animal. Además, las lombrices de tierra, como ingenieras de ecosistemas, ayudan a mineralizar la materia orgánica del suelo, construyen y mantienen la estructura del suelo y estimulan el crecimiento de las plantas (Marichal *et al.* 2017).

En otro experimento con tres años de estudio, se encontró una DPL mayor en el banco de proteínas con leucaena (*Leucaena leucocephala*) y pastos nativos en comparación con AES con *Sacharum officinarum* (Vargas 2013). En esta investigación no se encontraron diferencias entre *A. melanoxylon* y el pastizal (tabla 2). Estos hallazgos fueron congruentes con Decaëns *et al.* (2017), quienes encontraron que los pastizales permanentes tenían mayor DPL en comparación con los cultivos en los AES.

Estaciones del año. No hubo diferencias entre PY1 y PY2, que fueron diferentes de PY3 y PY4 ($p < 0.000$), mientras que estos últimos períodos fueron similares en la

introducing the trees and fencing. The EPD was not affected from the first sampling to six months later with more than 150 individuals m^{-2} . The higher response in EPD could be explained because of the existence of permanent grassland with no-tilled practices in the PY1 that contributed to soil preservation (Pelosi *et al.* 2013, 2016). After one year and one and a half year of rational grass management the EPD was stabilized with lesser amount (116-118) of individual m^{-2} . The population density of trees was the same both in A1 and A2. In this sense, Hoosbeek *et al.* (2018) demonstrated changes on C, N and P stock with distance from trees in silvopastoral systems composed grasses with isolated trees, in Nicaragua and tree species effect was also pointed out. In the current research, the agro ecosystem with *A. acuminata* got better forestry indicators and its EPD was higher compared to *A. melanoxydon*, sown at the same time. Grazing indicators were measured after two months of pasture height stabilization. The average number of rotations per paddocks ranged from 14-18 to all AES, what could also have contributed to increase the SOM via feces and urine. The resting period in the paddocks ranged from 28 -32 days in all AES, and the total average assigned area of pasture was 227, 155 and 189 m^2 cow⁻¹ day⁻¹ to A1, A2, and A3, respectively. It was noticeable, the use of strip grazing in which a new portion of grasses was assigned to the cows at 7.00 a.m., 10.30 a.m. and 4.00 p.m. depending on the availability and residues of grasses, calculated with the folding plate pasture meter. The availability of pastures was adjusted every week, and calibrated according to the predominant pastures in the agroecosystems (Chamorro 2018).

DPL (tabla 3). Los primeros muestreos de lombrices de tierra en todas las AES se realizaron antes de introducir los árboles y poner las cercas. La DPL no se afectó desde el primer muestreo hasta seis meses después, con más de 150 individuos m^{-2} . La respuesta más alta en la DPL podría explicarse por la existencia de pastizales permanentes con prácticas no trabajadas en el PY1 que contribuyeron a la preservación del suelo (Pelosi *et al.* 2013, 2016). Después de un año y un año y medio de manejo racional del pasto, la DPL se estabilizó con una cantidad menor (116-118) de individuos por m^2 . La densidad de población del árbol fue la misma tanto en A1 como en A2. En este sentido, Hoosbeek *et al.* (2018) demostraron cambios en la reserva de C, N y P con la distancia de los árboles en sistemas silvopastoriles compuestos de pastos con árboles aislados, en Nicaragua, y también se señaló el efecto de las especies de árboles. En la investigación actual, el agroecosistema con *A. acuminata* tuvo mejores indicadores forestales y su DPL fue mayor que con *A. melanoxydon*, que se sembró al mismo tiempo. Los indicadores de pastoreo se midieron después de dos meses de estabilización de la altura de los pastizales. El número promedio de rotaciones por potreros osciló entre 14 y 18 en todos los AES, lo que también podría haber contribuido a aumentar la MOS a través de las heces y la orina. El período de descanso en los potreros varió de 28 a 32 días en todos los AES, y el área total promedio asignada de pasto fue de 227, 155 y 189 m^2 vaca⁻¹ día⁻¹ para A1, A2 y A3, respectivamente. Se notó el uso de pastoreo en franjas en el que se asignó una nueva porción de pastos a las vacas a las 7.00 a.m., 10.30 a.m. y 4.00 p.m., dependiendo de la disponibilidad y residuos de pastos, calculados con el medidor de pastos de placa plegable. La disponibilidad de los pastos se ajustó cada semana y se calibró de acuerdo con los pastos predominantes en los agroecosistemas

Table 3. Effect of the periods of the year upon earthworm population density m^{-2}

Periods of the year (PY)	Earthworm population density	SE \pm	Sig.
PY1 (01-1-25)	12.09 ^a (156.79)	0.590	P<0.000
PY2 (01-06-16)	12.75 ^a (188.40)		
PY3 (01-1-26)	10.01 ^b (117.65)		
PY4 (01-06-17)	10.05 ^b (115.68)		

^{ab} Means without common letter in the column are different at $p < 0.001$ (Tukey 1949)

() Means of original values

The accumulated rains in 17 out of 18 months of research time were higher than 50 mm and the temperature mean ranged (10.8-14.2 °C) in the whole research period (figure 1). These temperatures were considered as the optimum range to reproduce the earthworms (Otto 1990).

Besides, the other factor that might have influenced on earthworm survival was the shadow. It was found more EPD in A1 in which the trees got better forestry indicators. In addition, Eisenhauer *et al.* (2014) tested the hypothesis in the field warming experiment at two sites in Minnesota, USA by

(Chamorro 2018).

Las lluvias acumuladas en 17 de los 18 meses del tiempo de investigación fueron superiores a 50 mm y la temperatura promedio varió (10.8-14.2 °C) en todo el período de investigación (figura 1). Estas temperaturas se consideraron como el rango óptimo para la reproducción de las lombrices de tierra (Otto 1990).

Además, el otro factor que podría haber influido en la supervivencia de las lombrices fue la sombra. Se encontró más DPL en A1 en la que los árboles obtuvieron mejores indicadores forestales. Además, Eisenhauer *et al.* (2014) probaron la hipótesis en el experimento de calentamiento

sampling earthworms in closed and open canopy in three temperature treatments and stated that warming induced reductions in soil water content decreasing the earthworm performance. Fisichelli *et al.* (2013) reported that 93 % of the studied sites showed earthworm activity, and that activity was largely explained by soil pH, precipitation, and litter quality. In the current research, pH was above 5.55 in all AES ($p < 0.05$) but the best performance was obtained by A1 and A2 in which there were the presence of trees (Rosales *et al.* 2018). Moreover switching from a conventional to an alternative system like agroforestry systems, involves a transition period, from which the system moves towards a new state of equilibrium, encourages nutrient uptake from deep soil horizons, while their litter helps to replenish soil nutrients, maintain organic matter, and supports complex soil food chains (Altieri *et al.* 2017). In a broader perspective Dollinger and Shibu (2018) reviewed 28 papers that clearly illustrated that agroforestry would enrich soil organic carbon better than monoculture systems, it could improve soil nutrient availability and soil fertility due to the presence of trees in the agro-ecosystems and enhance soil microbial dynamics which would positively influence soil health. Furthermore, Emem-Obong *et al.* (2015) highlighted the efficacy of earthworms vs. genetically modified substances as a sustainable eco-friendly option constructively engineering soil and human health with minimal environmental and ecological impact. In other study, EPD and its biomass were higher in permanent grasslands than in arable land. Among different abiotic soil parameters, climate related characteristics and water availability affected the distribution of earthworms (Kanianska *et al.* 2016). In sum, the best results in EPD were achieved in A1 agro-ecosystem, which coincided with the best forestry indicators. The survival of earthworms and its population density in all agro-ecosystems and periods of the years suggested that EPD is an appropriate bio-indicator to assess the soil health in agroforestry systems and grasslands, closely related with the edaphoclimatic conditions, design and management.

de campo en dos sitios en Minnessota, EE. UU., mediante el muestreo de lombrices de tierra en dosel cerrado y abierto en tres tratamientos de temperatura y afirmaron que el calentamiento indujo reducciones en el contenido de agua del suelo, disminuyendo así el rendimiento de las lombrices de tierra. Fisichelli *et al.* (2013) informaron que el 93 % de los sitios estudiados mostraron actividad de lombrices de tierra, y esa actividad se explicó en gran medida por el pH del suelo, la precipitación y la calidad de la hojarasca. En la investigación actual, el pH fue superior a 5.55 en todos los AES ($p < 0.05$), pero se obtuvo el mejor rendimiento de A1 y A2 en los que hubo presencia de árboles (Rosales *et al.* 2018). Además, el cambio de un sistema convencional a uno alternativo como los sistemas agroforestales, implica un período de transición, desde el cual el sistema avanza hacia un nuevo estado de equilibrio, fomenta la absorción de nutrientes de los horizontes profundos del suelo, mientras que su hojarasca ayuda a reponer los nutrientes del suelo, mantiene la materia orgánica, y soporta complejas redes alimentarias del suelo (Altieri *et al.* 2017). Desde una perspectiva más amplia, Dollinger y Shibu (2018) revisaron 28 documentos que ilustraban claramente que la agroforestería enriquecería el carbono orgánico del suelo mejor que los sistemas de monocultivo, podría mejorar la disponibilidad de nutrientes y la fertilidad del suelo debido a la presencia de árboles en los agroecosistemas y aumentar la dinámica microbiana del suelo que influiría positivamente en la salud de este. Además, Emem-Obong *et al.* (2015) destacó la eficacia de las lombrices de tierra frente a las sustancias modificadas genéticamente como una opción sostenible y amigable con el medio ambiente que modifica de manera constructiva el suelo y la salud humana con un mínimo impacto ambiental y ecológico. En otro estudio, la DPL y su biomasa fueron mayores en los pastizales permanentes que en las tierras cultivables. Entre los diferentes parámetros abióticos del suelo, las características relacionadas con el clima y la disponibilidad de agua afectaron la distribución de las lombrices (Kanianska *et al.* 2016). En resumen, los mejores resultados en la DPL se lograron en el agroecosistema A1, que coincidió con los mejores indicadores forestales. La supervivencia de las lombrices y su densidad poblacional en todos los agroecosistemas y estaciones del año sugirió que la DPL es un bioindicador apropiado para evaluar la salud del suelo en sistemas agroforestales y pastizales, estrechamente relacionados con las condiciones edafoclimáticas, el diseño y el manejo.

References

- Altieri, M. A., Nicholls, C. I. & Montalba, R. 2017. Technological Approaches to Sustainable Agriculture at a Crossroads: An Agroecological Perspective. *Sustainability (Switzerland)* 9 (3): 1–13. doi:10.3390/su9030349.
- Arteaga, J., Navia, J. & Castle, J. 2016. Behavior of chemical variables of a soil subjected to different uses, Nariño Department, Colombia. *Rev. Cienc. Agr.* 33(2): 62 - 75. doi: <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.163302.53>.
- Bertrand, M., Barot, S., Blouin, M., Whalen, J., de Oliveira, T. & Roger-Estrade, J. 2015 Earthworm Services for Cropping Systems. A Review. *Agronomy for Sustainable Development*. doi:10.1007/s13593-014-0269-7.
- Chamorro, B. A. 2018. Evaluación del efecto de dos sistemas silvopastoriles de aliso (*Alnus acuminata*) y acacia (*Acacia melanoxylon*), en la producción de pasturas en la finca San Vicente, parroquia El Carmelo, provincia del Carchi. Graduated Thesis. Universidad Politécnica Estatal del Carchi. Carrera de Desarrollo Integral Agropecuario. p.51.

- Crespo, G. 2015, Factors influencing on nutrient recycling in permanent grasslands and development of their modeling. Cuban Journal of Agricultural Science, 49: 1-10.
- Crespo, G. & Martínez, R.O. 2016. Study of the chemical soil fertility in the biomass bank technology of *Pennisetum purpureum* Schum cv. CUBA CT-115 with different exploitation years. Cuban Journal of Agricultural Science, 50: 497-502.
- Curry, J. P. 2004. Factors affecting the abundance of earthworms in soils. In: Edwards, C.A. (Ed.), Earthworm Ecology. CRC Press, Boca Raton, pp. 91-113.
- Decaëns, T., Margerie, P., Aubert, M., Hedde, M., & Bureau, F. 2017. Assembly Rules within Earthworm Communities in North-Western France. A Regional Analysis. Accessed July 28. doi:10.1016/j.apsoil.2008.01.007.
- DeCoster, J. 2001. Transforming and Restructuring Data. <http://www.stat-help.com/notes.html>.
- Devendra, C. 2014. Perspectives on the Potential of Silvopastoral Systems. Agrotechnology, 3:1. doi:10.4172/2168-9881.1000117.
- Dollinger, J. & Shibu, J. 2018. Agroforestry for soil health. Agroforest Syst. 92:213-219. <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0223-9>.
- Edwards, C. A. & Lofty, J. R. 1977. Biology of earthworms. Rothamsted Experimental Station, Harpenden. A Halsted Press Book John Wiley & Sons, New York. doi: 10.1007/978-1-4613-338-2.
- Eisenhauer, N., Stefanski, A., Fisichelli, N. A., Rice, K., Rich, R., & Reich, P. B. 2014. Warming shifts “worming”: effects of experimental warming on invasive earthworms in northern North America. Scientific Reports, 4:1. doi:10.1038/srep06890.
- Emem-Obong, E., Muzenda, E. & Mandala, I. 2015. Earthworms as engineers of soil and human health. In: Proceedings of the World Congress on Engineering and Computer Science 2015 Vol II. WCECS 2015, October 21-23, 2015, San Francisco, USA. ISBN: 978-988-14047-2-5.
- FAO, 2014. World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015 International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106. FAO, Rome. p.192.
- FAO, 2015. World Reference Base for Soil Resources. Update 2015. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources 2014 Reports No. 106. FAO, Rome.
- Fisichelli, N. A., Frelich, L. E., Reich, P. B. & Eisenhauer, N. 2013. Linking direct and indirect pathways mediating earthworms, deer, and understory composition in Great Lakes forests. Biol. Inv. 15: 1057–1066.
- Hoosbeek, M.R., Remme, R.P. & Rusch, G.M. 2018. Trees enhance soil carbon sequestration and nutrient cycling in a silvopastoral system in south-western Nicaragua. Agrofor Syst. <https://doi.org/10.1007/s10457-016-0049-2>.
- IBM-SPSS, 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- INAMHI, 2014. National Institute of Meteorology and Hydrology. Directory Weather No. 51-2011. Quito, Ecuador. <http://www.serviciometeorologico.gob.ec/wp-content/uploads/yearbooks/weather/Am%202011.pdf>. Accessed 24 April 2017.
- INAMHI, 2016. National Institute of Meteorology and Hydrology. Meteorological station Rancheros del Norte - Code, M1256. Temperatures and precipitation. “El Carmelo” Tulcan, Carchi Ecuador.
- INAMHI, 2017. National Institute of Meteorology and Hydrology. Meteorological station Rancheros del Norte - Code, M1256. Temperatures and precipitation. “El Carmelo” Tulcan, Carchi Ecuador.
- Kanianska, R., Jad, J., Makovniková, J., & Kizeková, M. 2016. Assessment of Relationships between Earthworms and Soil Abiotic and Biotic Factors as a Tool in Sustainable Agricultural. doi:10.3390/su8090906.
- Kumar, B.M., Jacob, S. G., Jamaludheen V. & Suresh T. K. 1998. Comparison of biomass production, tree allometry and nutrient use efficiency of multipurpose trees grown in woodlot and silvopastoral experiments in Kerala, India. For Ecol Manage; 112(1-2): 145-63. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1127\(98\)00325-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1127(98)00325-9).
- Laossi, K.R., Decaëns, T., Jouquet, P. & Barot, S. 2010. Can We Predict How Earthworm Effects on Plant Growth Vary with Soil Properties? Applied and Environmental Soil Science 784342. Hindawi Publishing Corporation. doi:10.1155/2010/784342.
- Mahecha, L. and Angulo, J. 2012. Nutrient Management in Silvopastoral Systems for Economically and Environmentally Sustainable Cattle Production: A Case Study from Colombia In: Soil Fertility Improvement and Integrated Nutrient Management - A Global Perspective, Dr. Joann Whalen (Ed.), ISBN: 978-953-307-945-5.
- Manono, B. O. 2014. Effects of Irrigation, Effluent Dispersal and Organic Farming on Earthworms and Soil Microbes in New Zealand Dairy Farms. PhD Thesis. University of Otago, Dunedin, New Zealand. p.281.
- Marichal, R., Praxedes, C., Decaëns, T., Grimaldi, M., Oszwald, J., Brown G.G., Desjardins, T., Lopes da Silva, M., Feijoo, A., Oliveira, M., Velasquez, Elena & Lavelle, P. 2017. Earthworm functional traits, landscape degradation and ecosystem services in the Brazilian Amazon deforestation arc. European Journal of Soil Biology 83: 43-51.
- Murgueitio E., Cuellar, P., Ibrahim, M., Gobb, J., Cuartas, C.A., Naranjo, J.F., Zapata, A., Mejía, C.E., Zuluaga, A.F., & Casasola, F. 2006. Adopción de sistemas agroforestales pecuarios. Adoption of agroforestry systems for animal production. Pastos y Forrajes. 29 (4): 365-379.
- Otto, D. 1990. Life cycle and population dynamics of the earthworm *Lumbricus terrestris* L. Doctoral Thesis. Diss. ETH No. 9211. A dissertation submitted to the Swiss Federal Institute of Technology Zurich for the degree of Doctor of Natural Sciences. doi:10.3929/ethz-a-010782581.pp.77.
- Pelosi, C., Pey, B., Caro, G., Cluzeau, D., Peigné, J., Bertrand, M. & Hedde, M. 2016. Dynamics of earthworm taxonomic and functional diversity in ploughed and no-tilled cropping systems. Soil & Tillage Research 156: 25–32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2015.07.016>.
- Pelosi, C., Pey, B., Hedde, M., Caro, G., Capowiez, Y., Guernion, M., Peigné, J., Piron, D., Bertrand, M. & Cluzeau, D. 2013. Reducing tillage in cultivated fields increases earthworm functional diversity. Appl. Soil Ecol. 83: 79-87 <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.10.005>.
- Pearce, T. G. 1984. Earthworm populations in soils disturbed by trampling. Biological Conservation. 29:241-252.

- Proulx, R., Wirth, C., Voigt, W., Weigelt, A., Roscher, C., Attinger, S. & Jussi, B. J. 2010. Diversity Promotes Temporal Stability across Levels of Ecosystem Organization in Experimental Grasslands. PLoS ONE. doi:10.1371/journal.pone.0013382.
- Rolinski, S., Müller, C., Heinke, J., Weindl, I., Biewald, A., Bodirsky, L., Bondeau, A., Boons-Prins, E. R., Bouwma, A. F., Leffelaar, P. A., te Roller, J. A., Schaphoff, S. & Thonicke, K. 2017. Modeling Vegetation and Carbon Dynamics of Managed Grasslands at the Global Scale with LPJmL 3. 6, no. February: 1–32. doi:10.5194/gmd-2017-26.
- Rosales, Hernán R. B., Silvino V. Hernández, Digna I. G. Aguiar, Diego C. Rosero, Luis C. Perez and Marcelo I. Rosero. 2018. Assessment of Soil Quality in Andosols Using Silvopastoral Systems. The Open Agriculture Journal DOI: 10.2174/1874331501812010207, Volume 12, Pp.207-214.
- Schelfhout, S., Mertens, J., Verheyen, K., Vesterdal, L., Baeten, L., Muys, B. & Schrijver, A. D. 2017. Tree Species Identity Shapes Earthworm Communities. Forests. doi:10.3390/f8030085.
- Subin, K., Madan, K., & Udhav, R. K. 2015. Earthworm population in relation to different land use and soil characteristics. Journal of Ecology and the Natural Environment, 7 (5): 124–131. doi:10.5897/jene2015.0511.
- Tukey, J. W. 1949. Comparing Individual Means in the Analysis of Variance. Biometrics 5:99-114.
- USDA NRCS 2018. Healthy soil for life. <https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/main/soils/health/>. Accessed 18 October 2018.
- Vargas, S. 2013. Production of sustainable tropical bovine milk. Design, management and evaluation of agro-ecosystems. An integrated approach. Publicia Editorial. AV Akademikerv erlag GmbH & Co. KG Heinrich-Böcking-Str. 6-8 D - 66121 Saarbrücken. ISBN 978-3-639-55125-9. p.158.
- Zehetner, F., Miller, W.P. & West, L.T. 2003. Pedogenesis of volcanic ash soils in Andean Ecuador. Soil Science Society of American Journal. 67: 1797-1809.
- Zhenjun, S. 2011. Biology of earthworms. Series, Soil Biology 24. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. ISBN: 978-3-64-24635-0, 978-3-64-24636-7.

Received: November 11, 2018