



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Diversidad microbiana en cultivos ecológicos: aproximación meta- analítica

Alumno/a: David López Garvi

Julio, 2021

Trabajo Fin de Grado

Diversidad microbiana en cultivos ecológicos: aproximación meta-analítica



Alumno: David López Garvi

Jaén, Julio, 2021

Tabla de contenido

1. RESUMEN	5
2. INTRODUCCIÓN.....	6
3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE ESTUDIO.....	9
4. MATERIALES Y MÉTODOS	10
4.1 Búsqueda bibliográfica	10
4.2 Filtrado de la información.....	11
4.3 Análisis estadístico	13
5. RESULTADOS	15
5.1 Búsqueda bibliográfica y Filtrado de información	15
5.2 Efecto global del manejo en la diversidad microbiana	15
5.3 Efecto del tipo de cultivo sobre la diversidad microbiana (Moduladores).....	17
5.4 Efecto del tipo de técnica sobre la diversidad microbiana (Moduladores).....	21
5.5 Efecto del área del cultivo sobre la diversidad microbiana (Moduladores)	24
6. DISCUSION	24
6.1 La diversidad microbiana del suelo depende del tipo de manejo.....	24
6.2 Determinar cómo la técnica microbiana de estudio afecta a los patrones observados.....	26
6.3 Determinar si el tipo cultivo afecta a los patrones observados.....	27
7. CONCLUSIONES.....	28
8. AGRADECIMIENTOS	28
9. REFERENCIAS	28
Anexo I	34
Anexo II	36
Anexo III	40

1.RESUMEN

La diversidad microbiana de los suelos agrícolas se está viendo afectada debido a los manejos de uso convencional y los agroquímicos, incrementándose esta tendencia en los últimos años. Una alternativa natural para frenar la pérdida de diversidad son los cultivos de manejo orgánico/ecológico. En este estudio se ha evaluado las ventajas de la adopción de este tipo de manejo para la conservación de la biodiversidad microbiana del suelo, considerando el posible efecto de la técnica de estudio y de la variabilidad entre tipos de cultivo. Para ello se ha realizado una búsqueda bibliográfica de artículos que hayan testado esta hipótesis con el objetivo de desarrollar un meta-análisis. Los resultados generales mostraron un efecto positivo y significativo en la diversidad microbiana en cultivos con manejo orgánico, independientemente del tipo de cultivo (hortícolas vs cereales). No obstante, estas diferencias de diversidad de organismos entre tipo de manejos, dependieron de las técnicas empleadas. De hecho, estas diferencias se mantuvieron al considerar técnicas de secuenciación masiva, pero no al usar técnicas clásicas. Pese a estos resultados preliminares (se necesita la inclusión de más artículos en los análisis), este trabajo sugiere que los manejos orgánicos favorecen la conservación de la diversidad de organismos en el suelo. Por ello, la adopción de estas medidas de manejo orgánico favorece el correcto funcionamiento de los sistemas agrícolas.

ABSTRACT

The microbial diversity of agricultural soils is being affected due to conventional use management and agrochemicals, increasing this trend in recent years. A natural alternative to curb the loss of diversity are organic / ecologically managed crops. This study has evaluated the advantages of adopting this type of management for the conservation of soil microbial biodiversity, considering the possible effect of the study technique and the variability between types of crops. For this, a bibliographic search of articles that have tested this hypothesis has been carried out in order to develop a meta-analysis. The general results showed a positive and significant effect on microbial diversity in crops with organic management, regardless of the type of crop (horticultural vs cereals). However, these differences in the diversity of organisms between types of management depended on the techniques used. In fact, these differences were maintained when considering massive sequencing techniques, but

not when using classical techniques. Despite these preliminary results (the inclusion of more articles in the analyzes is needed), this work suggests that organic management favors the conservation of the diversity of organisms in the soil. Therefore, the adoption of these organic management measures favors the correct functioning of agricultural systems.

2. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas la diversidad de organismos está sufriendo un declive debido al impacto humano en los ecosistemas (Jochum *et al.* 2021; Erlich *et al.* 1988). Esta tendencia puede verse potenciada por diversas prácticas que afectan negativamente a la estabilidad de los sistemas. Por ejemplo, la plantación de soja en la región amazónica requiere de la quema de bosques nativos, lo cual perjudica seriamente a las especies residentes en dichos sistemas (Song *et al.* 2021, Paquette *et al.* 2010). Otro ejemplo similar es la plantación para la obtención de aceite de palma (Morand *et al.* 2021.) o los cultivos intensivos en zonas mediterráneas (Kavvadias *et al.* 2021; Turner *et al.* 2008). La persistencia de estas técnicas en el planeta conlleva la pérdida progresiva de biodiversidad, por ello, llevar a cabo estudios comparativos entre distintos manejos agrícolas permite determinar cuál es el manejo óptimo para la obtención de recursos, a la vez que se conserva la biodiversidad (Letourneau *et al.* 2008; Peltoniemi *et al.* 2021).

Uno de los enfoques más usados por los científicos desde que se abordó el problema es el concepto de los servicios ecosistémicos (Slootweg *et al.* 2021; Peterson *et al.* 2010). Los servicios ecosistémicos son aquellos beneficios directos e indirectos que aporta un ecosistema a la sociedad (Sandhu *et al.* 2008). Por ejemplo, un bosque proporciona un beneficio directo mediante provisión de alimentos, pastos para la ganadería o recursos forestales, a la vez que indirectamente controlan inundaciones, disminuyen la erosión del suelo, o fertilizan el mismo de forma natural (Crook *et al.* 2021). La relación entre la biodiversidad y la provisión de servicios ecosistémicos es proporcional, de hecho, para continuar obteniendo dichos beneficios es necesario el correcto funcionamiento del ecosistema, lo cual requiere el mantenimiento de la biodiversidad (Sebhatu *et al.* 2021; Brockerhoff *et al.* 2017).

A pesar de ello, aún siguen desarrollándose prácticas que merman los niveles de biodiversidad, originando pérdidas parciales de la resiliencia de los sistemas. Esto es especialmente notable en la práctica de la agricultura convencional, donde la intensificación y el monocultivo están ascendiendo notablemente desde los últimos años (Madhumitha *et al.* 2021; Lugo *et al.* 1997). La mayoría de estos sistemas de producción utilizan pesticidas, plaguicidas y/o fertilizantes de naturaleza química que cambian las condiciones del entorno, alterando la composición de especies y consecuentemente la biodiversidad de estos sistemas (Mahmood *et al.* 2016). Por el contrario, se ha observado que los cultivos orgánicos o ecológicos, proporcionan altos niveles de biodiversidad, una elevada resiliencia, un buen funcionamiento del sistema, y una mayor capacidad de adaptación a alteraciones (Yamagishi *et al.* 2021). Probablemente esto sea debido al uso de compuestos naturales y técnicas no invasivas en el manejo de estos sistemas (Fruscella *et al.* 2021; Reddy *et al.* 2021). Por ejemplo, la composición de microorganismos en el suelo puede verse afectada por la aplicación de fungicidas y plaguicidas en cultivos intensificados (Thiele-Bruhn *et al.* 2012).

Los microorganismos son uno de los componentes más importantes del suelo, ya que contribuyen a la transformación y el desarrollo del suelo, especialmente en el ciclo de reciclado de nutrientes (Wagg *et al.* 2019; Winding *et al.* 2005; Nannipieri *et al.* 2003). En una fracción de suelo podemos encontrar gran diversidad de microorganismos, donde determinados grupos realizan diferentes funciones. Por ejemplo, existen bacterias que promueven el crecimiento vegetal, fijan nitrógeno y descomponen materia orgánica (Glick *et al.* 2012 ; Franche *et al.* 2009 ; Westrich *et al.* 1984), a la vez que ciertos hongos, como las micorrizas arbusculares, establecen simbiosis con las plantas y proporcionan un suplemento adicional de fósforo (Powell *et al.* 2009; Miyasaka *et al.* 2001). Por estas razones, la actividad y diversidad microbiana del suelo tiene una gran importancia en la nutrición de las plantas, ya que favorecen tanto el fitness de las plantas como el funcionamiento del sistema donde se encuentran (Van der Heijden *et al.* 1998).

A pesar de la gran importancia que tienen estos microorganismos en el suelo, su actividad no es homogénea, sino decrece gradualmente a medida que el suelo es más profundo. Por ello, la actividad máxima y todo lo que esto conlleva, biomasa y

mineralización, suele situarse entre 0 y 30 cm de profundidad (Lavahun *et al* 1996; Doran *et al* 1987). Particularmente, si trasladamos esta profundidad a la labranza y a su persistencia en los manejos agrícolas convencionales, se ha observado que claramente perjudican a la diversidad de microorganismos del suelo, incluyendo a piezas claves como las micorrizas arbusculares (Wortmann *et al* 2008). Esto sugiere que las labores agrícolas que afecten físicamente el suelo no deben tener una acción continuada, sino más bien, intermitente. Conjuntamente, la intensificación de la agricultura y el monocultivo trae consigo la aplicación de químicos como fungicidas, pesticidas y herbicidas para maximizar la producción de los cultivo, pero su persistencia en el tiempo también puede acarrear serios problemas (D'Acunto *et al* 2018). Así pues, este manejo intensificado de la agricultura disminuye resiliencia del suelo, ya que la persistencia de estas técnicas afectan directamente a propiedades como el contenido de nutrientes, el suelo rizosférico, el carbono orgánico, el pH, la humedad o la actividad enzimática entre otros factores (Prasha&Shah *et al* 2016).

Debido a la encrucijada existente entre promover la agricultura intensiva (manejo convencional) o favorecer la agricultura orgánica (manejo orgánico), muchos autores han realizado estudios comparativos entre ambos tipos de manejos en diferentes sistemas de producción para testar su efecto sobre la diversidad microbiana del suelo (Hartmann *et al.* 2014; Ares *et al* 2021; Lopes *et al.* 2011; Jauregi *et al.* 2021; Van Diepeningen *et al.* 2006; S.Jezierska-Tys *et al.* 2020; Fong *et al.* 2021; Mohanacharya *et al.* 2021). No obstante, es necesario anotar que no todos los estudios han utilizado la misma técnica de secuenciación ni el mismo tipo de cultivo, por lo que es necesario tenerlo en cuenta a la hora de realizar comparaciones. Esa diversidad de resultados procedentes de estudios diversos, puede abordarse a través de técnicas meta-analíticas.

Un enfoque meta-analítico consiste en la recopilación de datos de artículos científicos para obtener unas conclusiones basadas en diferentes sistemas de estudio (Schwarzer *et al.* 2015). Este tipo de análisis aporta una información muy valiosa y está experimentando un importante crecimiento en los últimos años (e.g. Muus *et al.* 2021.). Un meta-análisis permite realizar regresiones y correlaciones entre las variables dependientes (por ejemplo, la diversidad alfa) y las variables

explicativas (por ejemplo, el manejo agrícola), permitiendo controlar la covarianza debida a las distintas condiciones de estudio entre publicaciones.

3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE ESTUDIO

El objetivo general de este trabajo es la comparación de la diversidad microbiana del suelo en los manejos ecológicos frente a los manejos convencionales. Una vez testado este objetivo general, se abordarán los siguientes sub-objetivos:

- Determinar cómo la técnica microbiana de estudio afecta a los patrones observados.
- Determinar si el efecto del tipo cultivo afecta a los patrones observados.

Debido a la serie de efectos perjudiciales que los manejos tradicionales tienen sobre la diversidad en general, la hipótesis de nuestro estudio es que 1) los cultivos ecológicos tienen mayor diversidad de microorganismos del suelo, 2) que con los estudios con técnicas de secuenciación masiva obtendremos una visión más clara de este efecto debido a su mayor capacidad para cuantificar la diversidad microbiana, y 3) la diversidad de microorganismos del suelo depende de la especie de planta cultivada.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Búsqueda bibliográfica

Se realizó una búsqueda bibliográfica en Google scholar usando las siguientes palabras claves: “soil” and “microbial” and “organic” and “conventional” and “diversity”. Debido a la gran cantidad de artículos que albergan dichas palabras claves, el estudio se centró en trabajos pertenecientes a las últimas dos décadas (2000-2021). De todos los artículos encontrados, se consideraron aquellos que cumplieran los siguientes criterios:

- I. Áreas de cultivo analizadas que incluyan pares de manejo orgánico y convencional.
- II. Existencia de réplicas para manejo convencional y manejo orgánico.
- III. Datos procedentes de análisis que incluyeran Unidades Taxonómicas Operacionales (OTUs) de microorganismos del suelo, a modo de aproximación al nivel especie, que permitan o provean el dato de riqueza de especies o índice de diversidad de Shannon (Shannon 1948).

Algunos artículos, pese a cumplir los requisitos, no presentaron los datos disponibles en el texto principal del artículo o en los datos suplementarios, por lo que se contactó con los autores responsables para obtener dichos datos (i.e. tabla de OTUs). En uno de los artículos, la tabla de OTUs fue obtenida a partir de los datos mostrados en una de las imágenes (Lopes et al. 2011) (metodología en Anexo I). Debido a la falta de artículos que presentaban el área de la parcela estudiada, se decidió incluir finalmente aquellos sin el dato. Algunos artículos recogían las tablas de OTUs, pero no la riqueza o el índice de Shannon. Por ello, se llevó a cabo la extracción de estos índices mediante las siguientes fórmulas:

Riqueza (S)

$S = \text{número de especies para cada replica}$

Shannon (H)

$$H = \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i$$

donde S es la riqueza de especie, p_i es la abundancia relativa de la especie i ($\frac{n_i}{N}$), siendo N el número de todos los individuos de todas las especies y n_i el número de individuos de la especie i .

Dichas fórmulas fueron implementadas en el software estadístico R (R Core Team *et al* 2020) y ambas variables fueron incorporadas a la tabla de datos. La metodología para el cálculo de los índices de diversidad está disponible en el Anexo I. La lista de artículos consultados, así como los requisitos para formar parte del meta-análisis pueden consultarse en el Anexo II.

4.2 Filtrado de la información

Todos los artículos usados en los posteriores análisis incluyeron el contraste entre manejo orgánico y manejo convencional. No obstante, dentro de un mismo artículo se encontraron distintas variedades de cultivo (lechuga, trigo, cebada...), por lo que cada tipo de cultivo fue considerado como un caso de estudio diferente, entrando a formar parte de dos categorías; cereal y hortalizas. Adicionalmente, los resultados fueron analizados por separado para la riqueza de especies (S) y para el índice de Shannon (H). Así pues, los análisis estadísticos se realizaron usando ambas variables dependientes, permitiendo matizar la importancia de la abundancia relativa (índice de Shannon) a la hora de discutir los resultados.

Para cada caso de estudio, se recabó el número de réplicas (N), la media del estadístico utilizado (S o H), y su correspondiente varianza, tanto para manejo orgánico, como para convencional. Así mismo, se incluyeron otras variables asociadas a cada caso de estudio: tipo de cultivo (hortaliza o cereal), técnica de estudio utilizada (clásica o secuenciación masiva) (ver Box 1). La tabla definitiva de datos incluida en el análisis está disponible en el Anexo II.

Box 1. Técnicas de caracterización de la diversidad microbiana

Clásicas	Cultivo y aislamiento, PCR-cloning-sequencing, fingerprinting
Cultivo y aislamiento	Estas técnicas se basan en el uso de medios de cultivo en los cuales se hace crecer la comunidad microbiana tomada de un suelo. Presenta el problema de que sólo se obtendrán la pequeña fracción de la microbiota capaz de crecer en esos cultivos. Por otro lado, el número de colonias que se pueden caracterizar por cada muestra suele llegar a lo sumo a los cientos.
PCR-cloning-sequencing	En esta versión el primer paso consiste en la extracción y amplificación por PCR del ADN microbiano. El resultado consiste en una mezcla de ADNs de distintos organismos que se analiza mediante un clonaje. Mediante esta técnica se inserta una copia de una de las cadenas de ADN de la mezcla en una bacteria <i>E. coli</i> repetidas veces, con lo cual al re-amplificar por PCR colonias individuales de <i>E. coli</i> se estarán analizando secuencias únicas del ADN original de la muestra analizada. Presenta nuevamente el problema del número de colonias que pueden ser procesadas, de nuevo, rondando los cientos de colonias (=secuencias de ADN), por muestra.
Fingerprinting	En este caso, se parte inicialmente de una amplificación por PCR del ADN microbiano contenido en la muestra. La diversidad de esas secuencias de ADN se analiza comparando patrones derivados de la propia secuencia, ya sea diferencias en la tasa de desnaturalización (dependientes de la secuencia de nucleótidos, por ejemplo, en el DGGE o TTGE), la conformación espacial derivada de la secuencia de ADN (SSCP) o la longitud de los fragmentos de ADN tras digestión con enzimas de restricción (RFLP o TRFLP), entre otras. Las mayores limitaciones de estas técnicas son la profundidad, no son capaces de identificar taxones poco abundantes, y la falta de exactitud a la hora de identificar taxones, ya que se basan en “marcas” derivadas de secuencias no en secuencias nucleotídicas en sí.
Masivas	Pirosecuenciación, Illumina, etc... Se trata de técnicas en las que se secuencia masivamente el ADN contenido en una muestra. Su profundidad alcanza los miles o decenas de miles de secuencias por muestra, por lo que su cobertura de los taxones menos abundantes es mucho más elevada y da una mejor estimación de los niveles de diversidad del sistema estudiado.

4.3 Análisis estadístico

Para determinar si el manejo agrícola afecta a la diversidad de organismos del suelo (i.e. H o S) se usó un enfoque meta-analítico. Además, se estudió si el resultado obtenido estaba modulado por el tipo de cultivo (hortaliza o cereal) y la técnica usada para la obtención de la diversidad (básica o secuenciación masiva). Se entiende como modulador aquel factor que actúa como una covariable, permitiendo matizar si existen diferencias entre manejos, y si estas diferencias persisten al considerar dichos moduladores (Schwarzer *et al.* 2015). Así pues, este trabajo abarca un análisis global y otros dos análisis incluyendo los moduladores.

El análisis global incluyó la diversidad microbiana (H y S) como variable respuesta o dependiente, y el tipo de manejo (orgánico y convencional) como variable explicativa o independiente. Además, dentro del análisis hubo que realizar un paso previo para testar la heterogeneidad de los datos recabados. Anotar que, en metanálisis existen dos tipos de modelos, modelos de efectos fijos y modelos de efectos aleatorios, donde los modelos de efectos fijos asumen que los datos provienen de una población homogénea. Esto es totalmente contrario a los datos trabajados, por lo que, *a priori*, se seleccionaron los modelos de efectos aleatorios.

Para poder comparar entre estudios se usó la diferencia de medias estandarizada (SMD), ya que las diferentes técnicas de secuenciación presentan escalas dispares, desde miles de OTUs descritos en secuenciación masiva, a decenas o cientos en secuenciación básica (Box 1). La diferencia de medias estandarizadas (g) viene dada por:

$$g_k = \left(1 - \frac{3}{4n_k - 9}\right) \frac{\mu_{ek} - \mu_{ck}}{\sqrt{((n_{ek} - 1)s_{ek}^2 + (n_{ck} - 1)s_{ck}^2)/(n_k - 2)}}$$

donde k representa cada estudio, n_k representa el número total de réplicas de cada estudio ($n_k = n_{ek} + n_{ck}$) para un tratamiento control (n_{ck}) y experimental (n_{ek}), S_{ck} y S_{ek} representan la desviación estándar del tratamiento control y el tratamiento experimental del estudio k , y $\mu_{ck} - \mu_{ek}$ representan la media de esos mismos tratamientos. Anotar que el factor $\left(1 - \frac{3}{4n_k - 9}\right)$ corrige la parcialidad del error estándar (para mayor información ver Schwarzer *et al.* 2015).

Los cálculos de la diferencia de medias estandarizadas y sus intervalos de confianza al 95% están implementados con la función “metacont” dentro del paquete “meta” (Balduzzi *et al.* 2019). Además, esta función fue empleada para calcular, el efecto de los moduladores categóricos y continuos sobre la diversidad microbiana según el tipo de manejo. Con este enfoque podemos estudiar si el manejo ecológico aumenta la diversidad microbiana del suelo, pero también si existen otros factores (moduladores), como el tipo de cultivo o la técnica de secuenciación utilizada, básica o masiva. El código para el análisis en R está disponible en el Anexo III.

5.RESULTADOS

5.1 Búsqueda bibliográfica y Filtrado de información

Después de haber realizado la búsqueda bibliográfica, hemos encontrado un total de 23 artículos, de los cuales 8 cumplían los requisitos para nuestro estudio (Anexo II, III). Uno de los objetivos principales del estudio era determinar si el área afecta de forma equitativa a la diversidad microbiana de cultivos con manejo orgánico y cultivos con manejo convencional. Sin embargo, debido a la escasez de datos del área (5 de 8, consultar Anexo II) se usaron hipótesis alternativas que permitieron abordar otros objetivos de una forma más explícita (ver sub-objetivos en Materiales y métodos).

5.2 Efecto global del manejo en la diversidad microbiana

Nuestros resultados han mostrado que existe una gran heterogeneidad entre estudios, tanto a la hora de evaluar el índice de Shannon como la riqueza de especie ($p = 0.009$; $p < 0.0001$, respectivamente) (Fig. 1). Por ello, los análisis se han realizado bajo un punto de vista conservativo, usando modelos de efectos aleatorios en todos los casos.

Los modelos de efecto aleatorio mostraron que la diversidad microbiana del suelo depende del tipo de manejo, tanto usando el índice de Shannon (H) como la Riqueza de especies (S), siendo mayor para el manejo orgánico ($H_{z-score} = 2.43$, $p = 0.015$ y $S_{z-score} = 2.22$, $p = 0.027$, respectivamente). Esto indica que la diversidad microbiana es aproximadamente el doble en el cultivo de manejo orgánico que en el convencional. Las diferencias de medias estandarizadas (SMD) que se obtuvieron fueron de 0.37 para Shannon y 0.74 para riqueza, cuyos intervalos de confianza no solaparon el valor de cero (Fig. 1), respaldando la significancia del análisis obtenido. Los intervalos de confianza al 95% para las predicciones, es decir, los valores que un nuevo estudio aportaría, oscilaron entre -0.29 y 1.03 para H, mientras que para S estos intervalos oscilan entre -2.55 y 4.02. Esto sugiere que un nuevo estudio incluido en el análisis tendería a aportar valores mayores que cero ya que el intervalo tiende más a los valores positivos de SMD en ambos casos.

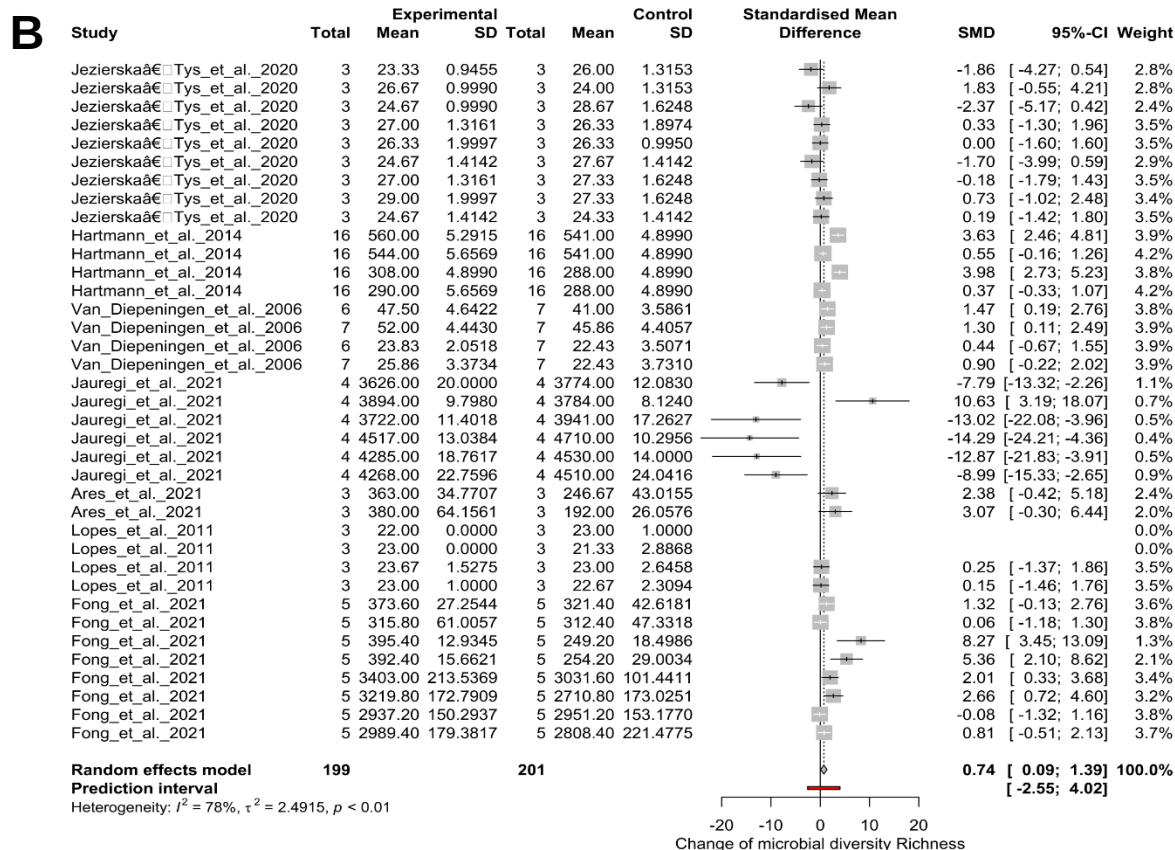
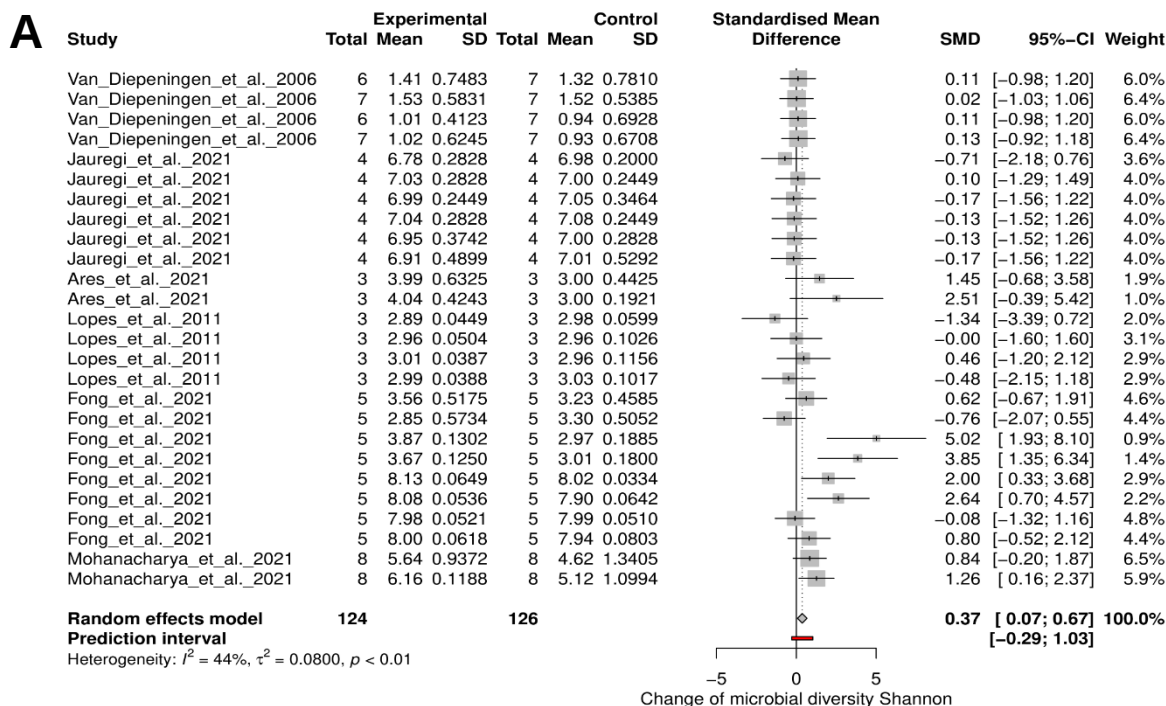


Figura 1. Resultados del análisis comparativo entre diversidad de organismos en manejo orgánico y manejo convencional. La figura 1A representa los resultados para el índice de Shannon (H), mientras que la figura 1B muestra los resultados para la Riqueza de especies (S). La figura también muestra los valores (SMD e intervalos de confianza al 95%) para cada estudio y para el total (negrita). La línea discontinua indica la predicción del modelo y su desviación con respecto a la media (SMD). Las líneas rojas resumen la SMD y los intervalos de confianza al 95% de la predicción del modelo.

5.3 Efecto del tipo de cultivo sobre la diversidad microbiana (Moduladores)

Los estudios incorporados en el análisis fueron categorizados en hortalizas y cereales. Un 37,5% de los cultivos estudiados corresponden con hortalizas, mientras que un 62,5% fueron cereales (Ver Anexo II para más información). Al evaluar si el índice de Shannon está afectado por el tipo de manejo en los diferentes tipos de cultivos obtuvimos que el tipo de cultivo no afectó al patrón general ($p = 0.807$, Fig. 2), por lo que el manejo orgánico afecta a la diversidad microbiana independientemente del tipo de cultivo (Tabla1). Este mismo patrón se observó al evaluar la riqueza de especies (S) (Tabla 1, Fig. 3).

Tabla 1. Diferencia de medias estandarizadas (SMD) de los distintos análisis usados en el trabajo. Las filas corresponden al índice de Shannon y a la Riqueza de especies, especificando también si existen diferencias ($p < 0.05$) entre los grupos de moduladores (Cultivo y Técnica). Anotar que en la columna de manejo orgánico se ha añadido la columna de z-score y SMD, indicando el efecto estandarizado con respecto al cultivo convencional.

Diferencia de media estandarizadas (SMD)						
	Manejo Orgánico		Cultivo		Técnica	
	z-score	SMD	Cereal	Hortaliza	Clásica	Masiva
Shannon (H)	2.43	0.371	0.375	0.456	-0.001	0.68*
Diferencias entre grupos	$p = 0.015^*$		$p = 0.807$		$p = 0.048^*$	
Riqueza (S)	2.22	0.736	0.307	1.087	0.447	0.415
Diferencias entre grupos	$p = 0.027^*$		$p = 0.150$		$p = 0.977$	

Al evaluar el índice de Shannon, los resultados mostraron que la heterogeneidad fue significativa dentro del cultivo de plantas hortícolas, mientras que en cereales la heterogeneidad no fue significativa (Fig. 2). Sin embargo, al estudiar exclusivamente la riqueza de especies, la heterogeneidad dentro de los cultivos fue significativa para ambos grupos (Fig. 3).

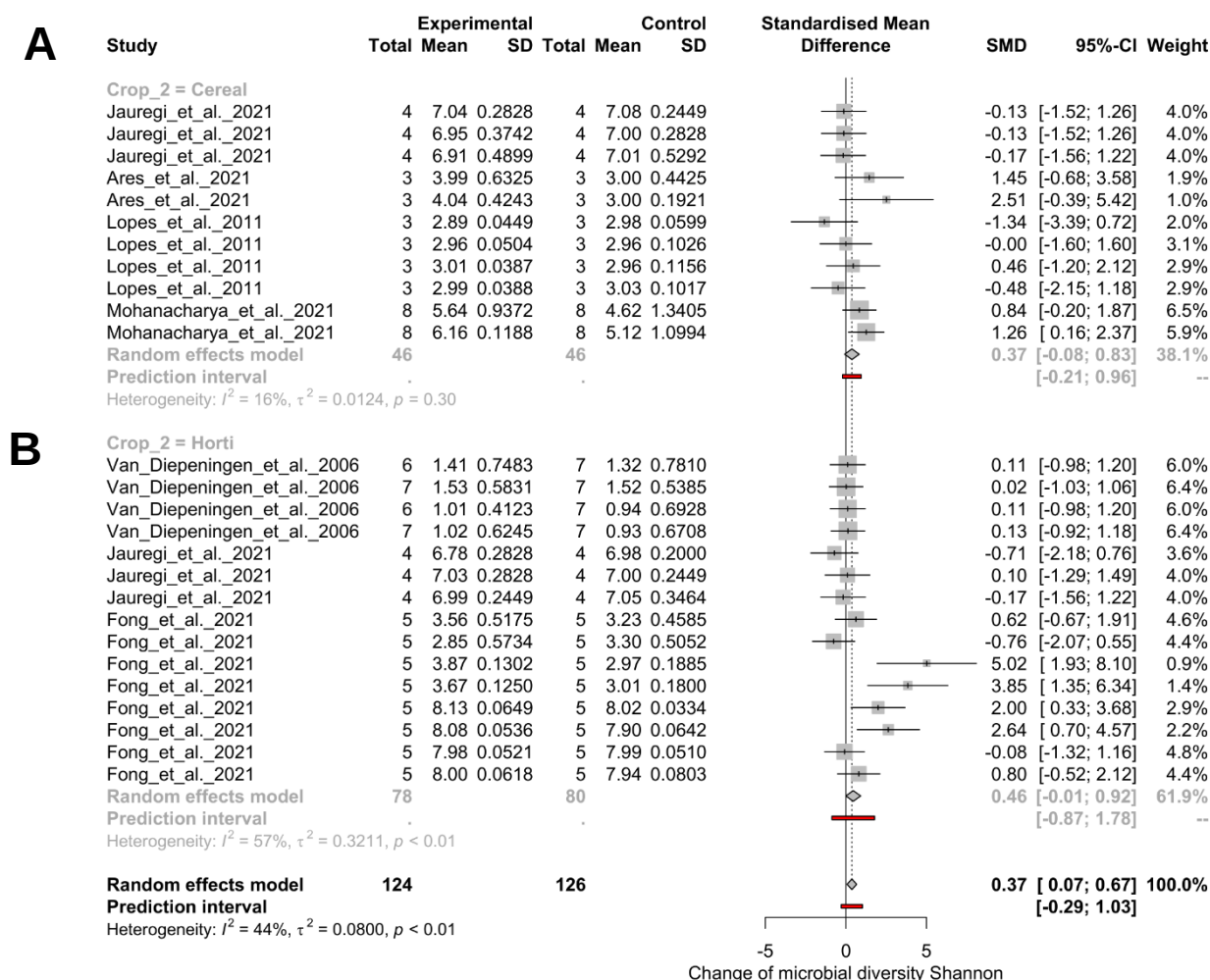


Figura 2. Resultados del análisis comparativo entre diversidad de organismos en manejo orgánico y manejo convencional basados en el índice de Shannon (H) y usando el tipo de cultivo como modulador. La figura 2A representa los resultados para cultivos de cereal, mientras que la figura 2B muestra los resultados para el cultivo de hortalizas. La figura también muestra los valores (SMD e intervalos de confianza al 95%) para cada estudio y para el total (negrita). La línea discontinua indica la predicción del modelo y su desviación con respecto a la media (SMD). Las líneas rojas resumen la SMD y los intervalos de confianza al 95% de la predicción del modelo. Anotar que la información disponible (N) varía en función del estudio, por lo que aquellos estudios con una mayor información obtienen un mayor peso en los análisis (Weight).

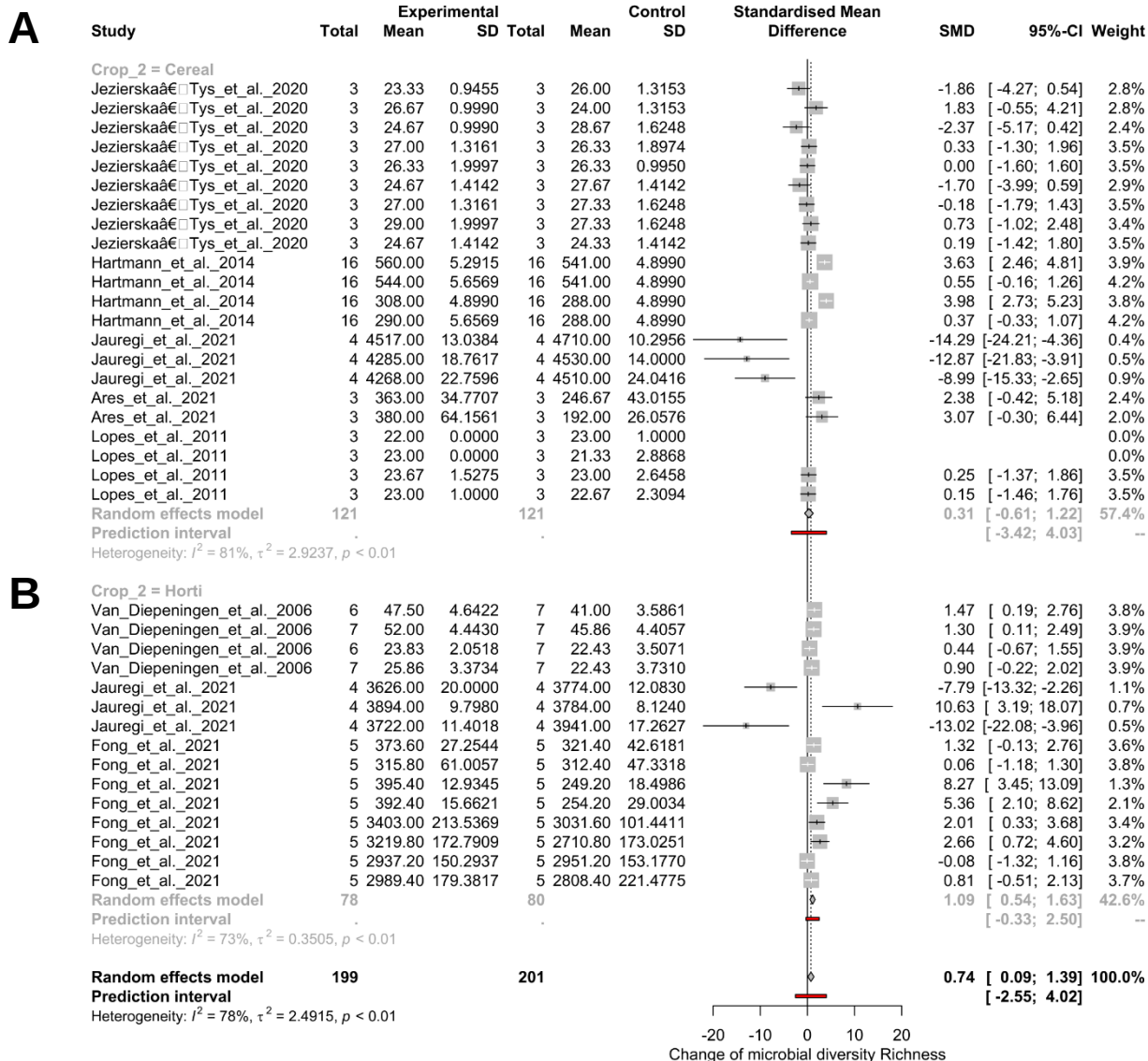


Figura 3. Resultados del análisis comparativo entre diversidad de organismos en manejo orgánico y manejo convencional basados en la riqueza de especies (S) y usando el tipo de cultivo como modulador. La figura 3A representa los resultados para cultivos de cereal, mientras que la figura 3B muestra los resultados para el cultivo de hortalizas. La figura también muestra los valores (SMD e intervalos de confianza al 95%) para cada estudio y para el total (negrita). La línea discontinua indica la predicción del modelo y su desviación con respecto a la media (SMD). Las líneas rojas resumen la SMD y los intervalos de confianza al 95% de la predicción del modelo. Anotar que la información disponible (N) varía en función del estudio, por lo que aquellos estudios con una mayor información obtienen un mayor peso en los análisis (Weight).

5.4 Efecto del tipo de técnica sobre la diversidad microbiana (Moduladores)

El 37,5% de los estudios corresponden con artículos que incluyeron técnicas básicas, mientras que un 62,5% con técnicas de secuenciación masiva (ver Anexo II para más información). Al evaluar si el índice de Shannon está afectado por el tipo de manejo dependiendo de las técnicas usadas para la medición de la diversidad (clásica o secuenciación masiva), obtuvimos que el tipo de técnica afecta significativamente al resultado relativo al índice de Shannon ($p = 0.048$). De hecho, aquellos estudios realizados mediante secuenciación masiva obtuvieron una SMD de 0.68, mientras que aquellos realizados mediante técnicas clásicas presentaron una SMD de aproximadamente 0, es decir, no efecto (Fig. 4). No obstante, la riqueza de especies no siguió el mismo patrón, determinando que existe igualdad en la diversidad de microorganismos entre el cultivo orgánico y convencional independientemente de la técnica usada (Fig. 5).

Al evaluar el índice de Shannon, los resultados mostraron que la heterogeneidad no fue significativa dentro de los estudios con técnicas básicas (Fig. 4A), posiblemente algo que está sesgado por la limitada capacidad de caracterización de las comunidades de microorganismos. No obstante, los estudios de técnicas de secuenciación masiva presentaron una heterogeneidad significativa (Fig. 4B). Además, estos resultados fueron consistentes, ya que siguieron el mismo patrón al evaluar la riqueza de especies (S) (Fig. 5A y 5B).

Así pues, el cultivo orgánico presenta una mayor diversidad de organismos que el cultivo convencional cuando esta comparación se realiza usando técnicas de secuenciación masiva (SMD = 0.68; CI95% = [0.17- 1.18]). Sin embargo, la riqueza de especies (S) no se ve alterada por la técnica de estudio. Por ello, esto sugiere la importancia que tiene el manejo orgánico en la frecuencia relativa de las especies.

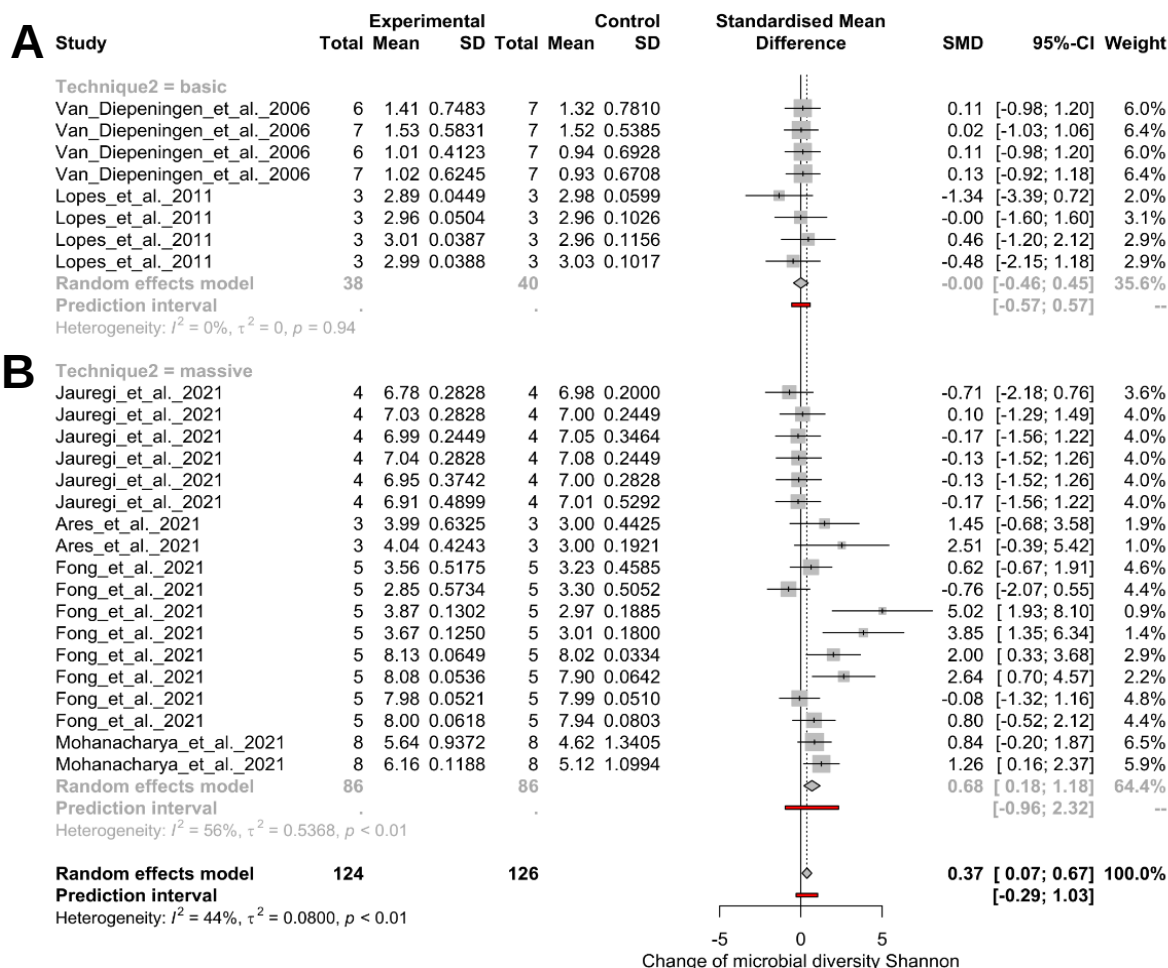


Figura 4. Resultados del análisis comparativo entre diversidad de organismos en manejo orgánico y manejo convencional basados en el índice de Shannon (H) y usando el tipo de técnica como modulador. La figura 4A representa los resultados para estudios que usaron técnicas básicas para estudiar la diversidad de microorganismos, mientras que la figura 4B muestra los resultados de los estudios que usaron técnicas de secuenciación masiva. La figura también muestra los valores (SMD e intervalos de confianza al 95%) para cada estudio y para el total (negrita). La línea discontinua indica la predicción del modelo y su desviación con respecto a la media (SMD). Las líneas rojas resumen la SMD y los intervalos de confianza al 95% de la predicción del modelo. Anotar que la información disponible (N) varía en función del estudio, por lo que aquellos estudios con una mayor información obtienen un mayor peso en los análisis (Weight).

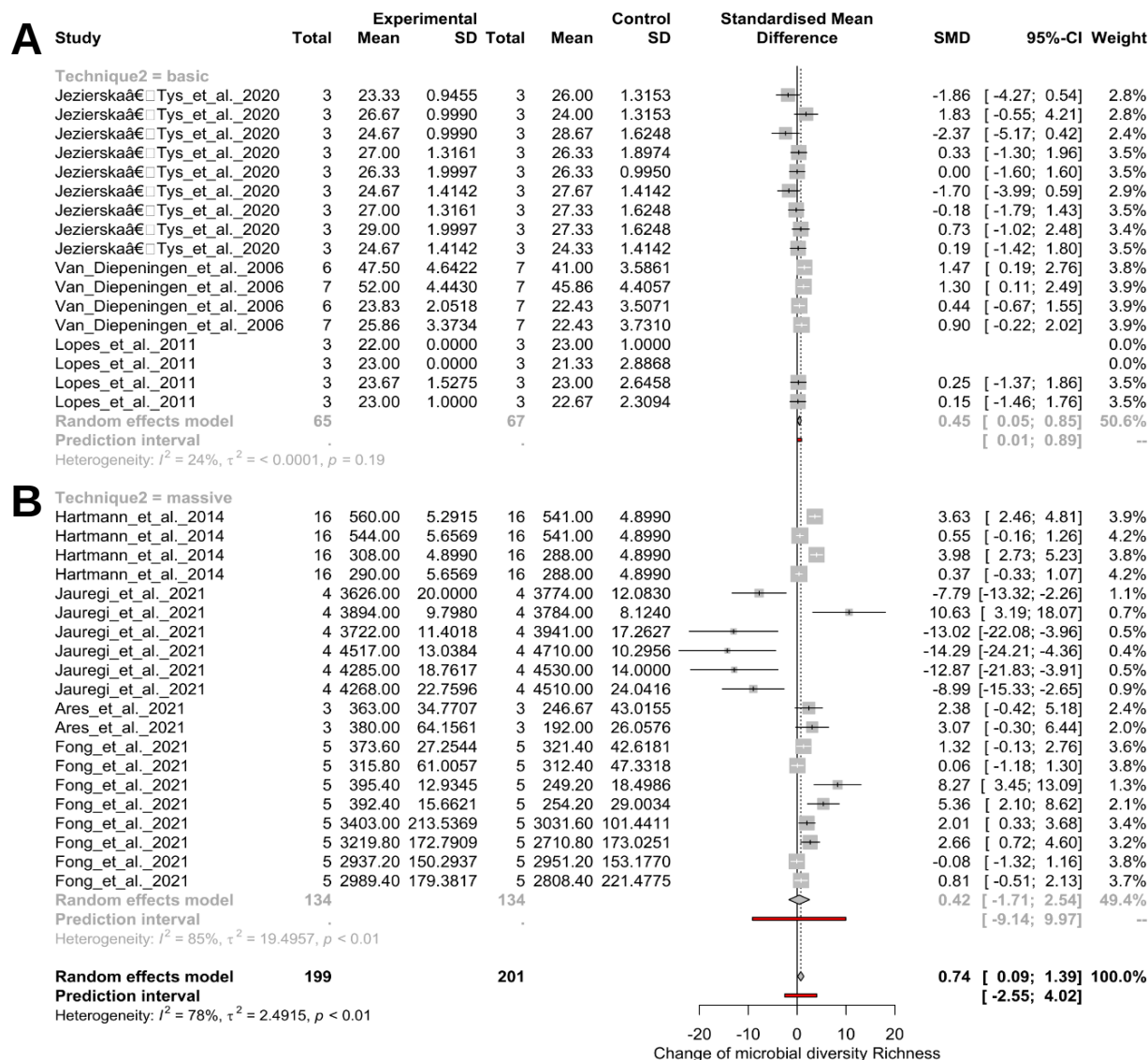


Figura 5. Resultados del análisis comparativo entre diversidad de organismos en manejo orgánico y manejo convencional basados en la riqueza de especies (S) y usando el tipo de técnica como modulador. La figura 5A representa los resultados para estudios que usaron técnicas básicas para estudiar la diversidad de microorganismos, mientras que la figura 5B muestra los resultados de los estudios que usaron técnicas de secuenciación masiva. La figura también muestra los valores (SMD e intervalos de confianza al 95%) para cada estudio y para el total (negrita). La línea discontinua indica la predicción del modelo y su desviación con respecto a la media (SMD). Las líneas rojas resumen la SMD y los intervalos de confianza al 95% de la predicción del modelo. Anotar que la información disponible (N) varía en función del estudio, por lo que aquellos estudios con una mayor información obtienen un mayor peso en los análisis (Weight).

5.5 Efecto del área del cultivo sobre la diversidad microbiana (Moduladores)

Uno de los objetivos principales del trabajo, era la relación diversidad-área, debido a que no hemos encontrado un número considerable de artículos que nos proporcionaran este dato decidimos plantear otros objetivos, los anteriormente citados, teniendo en cuenta la información comparable de los estudios

6.DISCUSION

Este trabajo ha permitido determinar el efecto general del manejo orgánico sobre la diversidad de organismos en el suelo. A pesar del bajo número de artículos evaluados, existió una tendencia al incremento de organismos cuando el manejo agrícola tiene un carácter orgánico. Además, esta tendencia no depende del tipo de cultivo, pero si del tipo de técnica utilizada en la caracterización de los microorganismos. Por ello, el uso de técnicas modernas de secuenciación puede determinar con una mayor precisión el impacto del tipo de manejo en sistemas agrícolas. No obstante, es necesaria una mayor recopilación de información para dar un mayor peso a los resultados obtenidos.

6.1 La diversidad microbiana del suelo depende del tipo de manejo

Los manejos convencionales en sistemas agrícolas llevan asociado el uso de plaguicidas, pesticidas y fungicidas, que no solo afectan a la composición de organismos perjudiciales para el cultivo, sino que pueden modificar indirectamente la riqueza de todas las especies en general y la abundancia relativa de éstas (Nicholls *et al.* 2015). Además, las técnicas de labranza en estos tipos de manejo suele ser bastante agresiva, ya que la profundidad del arado puede rondar los 30 cm de profundidad (Lavahun *et al* 1996; Doran *et al* 1987). La suma de todos estos impactos provoca un efecto sinérgico que afecta negativamente a la diversidad de organismos y a su abundancia relativa. En nuestro estudio, hemos considerado ambas variables, determinando que tanto riqueza de especies (S) como abundancia relativa (en base al índice de Shannon (H)) están positivamente afectadas por un manejo orgánico.

El manejo convencional, a diferencia del orgánico, conlleva la pérdida de funciones y servicios ecosistémicos claves en la agricultura. Por ejemplo, la pérdida de micorrizas arbusculares asociadas al uso de fungicidas (Sukarno *et al.* 1993), minimizaría el intercambio de nutrientes que existe entre suelo y plantas,

disminuyendo la capacidad competitiva de éstas (Wortmann *et al.* 2008). Otro ejemplo, más cercano, sobre el impacto negativo del manejo convencional es la pérdida de suelo, erosión y cárcavas en sistemas de olivares y viñedos mediterráneos, potenciada por la profundidad de labranza (Gómez *et al.* 2011) y la aplicación de herbicidas (Sánchez-Moreno *et al.* 2015). Tanto la erosión, como la aplicación de herbicidas tienen un efecto negativo e indirecto sobre la diversidad de organismos en el suelo, ya que alteran el ciclo de intercambio de nutrientes, reducen la cantidad de materia orgánica, modifican las condiciones físico-químicas del suelo y eliminan la mayor parte de simbiosis asociadas a plantas arvenses.

Debido a que el manejo orgánico tiene un impacto ambiental bajo en comparación al convencional, la salud de estos suelos promueve el correcto funcionamiento del sistema, una mayor fertilización orgánica y una mayor diversidad (Julca-otiniano *et al.* 2006; Canet *et al.* 2012). A su vez, esta diversidad de suelos influye directamente en la diversidad vegetal y animal (Sans *et al.* 2007; Coto *et al.* 2007; Obando *et al.* 2021), permitiendo que las especies autóctonas puedan residir en estos sistemas sin comprometer la producción del cultivo. Por ejemplo, recientemente se ha descubierto la especie de planta *Linaria qartobensis*, la cual habita en olivares con manejo orgánico y es difícil de encontrar en sistemas con otro tipo de manejo (Blanca *et al.* 2018). Además, otro de los beneficios del manejo orgánico es la ayuda al control de plagas, no solo de aquellas que afectan a la parte aérea de los cultivos, sino de plagas que afectan a la rizosfera (Altieri *et al.* 2007; Vida *et al.* 2020).

No obstante, estas diferencias entre manejos han sido testadas de forma independiente para cada tipo de cultivo y usando diferentes técnicas para caracterizar las comunidades de microorganismos (e.g. Hartmann *et al.* 2014; Ares *et al.* 2021; Lopes *et al.* 2011; Jauregi *et al.* 2021; Van Diepeningen *et al.* 2006; S.Jezierska-Tys *et al.* 2020; Fong *et al.* 2021; Mohanacharya *et al.* 2021), pero la obtención un resultado más general, como el evaluado en este trabajo, aporta una información más clara sobre si estas diferencias de diversidad entre tipo manejo dependen del tipo de cultivo o de la técnica empleada.

6.2 Determinar cómo la técnica microbiana de estudio afecta a los patrones observados

Al evaluar cómo el tipo de técnica afecta a las diferencias de diversidad entre manejos hemos encontrado que la técnica utilizada no determina que existan diferencias entre manejos al considerar la riqueza de especies (S). Por el contrario, las diferentes técnicas determinan que se observen o no cambios en la abundancia relativa de las especies de microorganismos. Este patrón significativo puede estar dirigido por el mayor número de especies (OTUs) que las técnicas modernas pueden encontrar (ver Box 1). Realmente es un resultado inesperado, ya que muchos artículos sostienen que un manejo convencional debe de tener menor riqueza de especies que un manejo orgánico (Purtauf *et al.* 2005; Gabriel *et al.* 2006; Pollnac *et al.* 2008; Bassa *et al.* 2012). Sin embargo, los modelos de efectos aleatorios controlan por el tipo de estudio, es decir por sistema de estudio. Consecuentemente, puede ser que la riqueza de especies en la zona de estudio sea constante, algo que es lógico si tenemos en cuentas que los cultivos orgánicos se encuentran frecuentemente dentro (“islas de diversidad”) y/o asociados espacialmente a los cultivos convencionales (Bassa *et al.* 2012).

Por otra parte, el índice de Shannon (H) tiene en cuenta la abundancia relativa de las especies, otorgando valores mayores de diversidad cuando la abundancia de especies en el sistema es equitativa (Shannon 1948). Con ello queremos decir que cultivos orgánicos y convencionales pueden tener la misma riqueza de especies (S). Sin embargo, nuestros resultados muestran que existen un mayor equilibrio de la abundancia, o bien una menor dominancia, de las especies en el manejo orgánico, sólo observado cuando se usan técnicas de secuenciación masiva. Por ello se sugiere que existe un filtro ambiental muy fuerte en los manejos convencionales, como puede ser la aplicación de agroquímicos (pesticidas, fungicidas, herbicidas...) o labranza profunda (> 30 cm), que minimiza la abundancia de ciertas especies y favorece a las que mejor se adaptan a estas condiciones (Wang *et al.* 2020). Como consecuencia, esta mayor dominancia en manejos convencionales disminuye la resiliencia y la estabilidad del sistema, lo cual es bastante delicado en el escenario actual de cambio climático (Hillebrand *et al.* 2008).

Dado que estos resultados se han obtenido gracias a la comparación entre manejos en base a técnicas de secuenciación masiva, este trabajo abre una perspectiva de futuro para priorizar el uso de estas técnicas. Adicionalmente, este resultado respalda el resultado obtenido en el análisis anterior (Global), donde se determinó el efecto positivo del manejo orgánico en las comunidades de organismos del suelo. A pesar de ello, la globalización de los cultivos nos obliga a desarrollar el siguiente resultado para determinar si estas diferencias entre manejos se mantienen en diferentes cultivos.

6.3 Determinar si el tipo cultivo afecta a los patrones observados

Nuestros resultados han mostrado que el tipo de cultivo no afecta a las diferencias entre cultivo orgánico y convencional, ni al evaluar la riqueza de especies ni su abundancia relativa. A pesar de ello, hay que destacar que los cultivos fueron categorizados en cereales y hortalizas, por lo que aumentar el tamaño muestral tanto en tipo de cultivo como en número de artículos aportaría una mayor información y unas conclusiones más claras sobre este trabajo.

El cultivo de cereal mostró homogeneidad en la SMD ($p > 0.05$) mientras que el cultivo de hortalizas fue totalmente heterogéneo ($p < 0.05$). Un patrón que se observó tanto al evaluar la riqueza de especies como el índice de Shannon. La homogeneidad que existe en cereales puede ser debida a su proximidad filogenética ya que se trata de especies próximas (Kellogg *et al* 1998). Algo que también explicaría la heterogeneidad encontrada en hortalizas, dado que son un grupo mucho más diverso. Por ello esta mayor o menor diversificación podría conllevar a diferencias en las comunidades de los organismos dentro de cada tipo de cultivo (Kaplan *et al.* 2020).

Aunque existieron diferencias entre cultivos en su heterogeneidad, el resultado general muestra que el tipo de cultivo no afecta a las diferencias entre manejo orgánico y convencional. Por ello, este trabajo sugiere que el manejo orgánico mejora la riqueza de especies y estabiliza su abundancia relativa, traducida en un aumento de diversidad en el índice de Shannon. Esto aporta una mayor resiliencia al sistema, independientemente del tipo de cultivo. A pesar de ello, se necesita la incorporación de una mayor información para encontrar unos resultados

más definitivos de este patrón, y la incorporación de otras variables como el área de extensión del cultivo estudiado.

7. CONCLUSIONES

Este trabajo bibliográfico ha permitido evaluar si existen diferencias significativas en la composición de especies de microorganismos en el suelo de sistemas agrícolas que emplean manejo orgánico y manejo convencional. Hemos encontrado que existe una gran cantidad de artículos relacionados con esta materia, por lo que el procesamiento de todos estos datos debe de ser muy exhaustivo. A pesar de que nuestro trabajo se ha centrado en pocos artículos en comparación con los existentes (2000-2021), nuestro meta-análisis ha mostrado claramente que el manejo orgánico en suelos agrícolas favorece la diversidad de microorganismos del suelo. Además, al considerar las técnicas de secuenciación masiva, hemos encontrado que la abundancia relativa de las especies es más equitativa en manejo orgánico que en manejo convencional. Esto podría aportar una mayor resiliencia y amortiguación a los sistemas orgánicos frente a alteraciones ambientales, como por ejemplo el cambio climático. Finalmente, estos resultados han mostrado ser consistentes para todos los cultivos estudiados. No obstante, debido a la limitada cantidad de artículos recogidos, su extrapolación a otros cultivos requiere de una mayor cantidad de información, por lo que este campo aún requiere mucho trabajo.

8. AGRADECIMIENTOS

Gracias en primer lugar a mis tutores, Álvaro López García y Antonio Jesús Perea Martos, por toda la ayuda recibida y haber sabido guiarme en este trabajo. Y en segundo lugar, pero no menos importante, a mis Padres por el apoyo incesable siempre en todo lo que hago y me propongo.

9.REFERENCIAS

1. Acharya, M., Ashworth, A. J., Yang, Y., Burke, J. M., Lee, J. A., & Acharya, R. S. (2021). Soil microbial diversity in organic and non-organic pasture systems. *PeerJ*, 9, e11184.
2. Altieri, M. A., & Nicholls, C. I. (2007). Biodiversidad y manejo de plagas en agroecosistemas (Vol. 2). Icaria editorial.
3. Ares, A., Costa, J., Joaquim, C., Pintado, D., Santos, D., Messmer, M. M., & Mendes-Moreira, P. M. (2021). Effect of Low-Input Organic and Conventional

- Farming Systems on Maize Rhizosphere in Two Portuguese Open-Pollinated Varieties (OPV), "Pigarro" (Improved Landrace) and "SinPre" (a Composite Cross Population). *Frontiers in microbiology*, 12.
4. Balduzzi, S., Rücker, G., & Schwarzer, G. (2019). How to perform a meta-analysis with R: a practical tutorial. *Evidence-based mental health*, 22(4), 153-160.
 5. Bassa, M., Chamorro, L., José-María, L., Blanco-Moreno, J. M., & Sans, F. X. (2012). Factors affecting plant species richness in field boundaries in the Mediterranean region. *Biodiversity and Conservation*, 21(4), 1101-1114
 6. Blanca, G., Cueto, M., Fuentes, J., Sáez, L., & Tarifa, R. (2018). *Linaria qartobensis* sp. nov. (Plantaginaceae) from the southern Iberian Peninsula. *Nordic Journal of Botany*, 36(8), e01914.
 7. Brockerhoff, E. G., Barbaro, L., Castagneyrol, B., Forrester, D. I., Gardiner, B., González-Olabarria, J. R., ... & Jactel, H. (2017). Forest biodiversity, ecosystem functioning and the provision of ecosystem services.
 8. Canet, R. (2012). Técnicas de cultivo innovadoras para incrementar la salud del suelo en el cultivo ecológico de frutales: el proyecto BIO-INCROP. *AE. Agricultura y ganadería ecológica. Revista de Divulgación Técnica*, 2012(7), 30.
 9. Coto, J. L. P., & Moreno, J. L. (2007). Cultivo Ecológico. *Horticultura: Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola: frutas, hortalizas, flores, plantas, árboles ornamentales y viveros*, (200), 14-27.
 10. Crook, S. E., Levine, A., & Lopez-Carr, D. (2021). Perceptions and Application of the Ecosystem Services Approach among Pacific Northwest National Forest Managers. *Sustainability*, 13(3), 1259.
 11. D'Acunto, L., Andrade, J. F., Poggio, S. L., & Semmartin, M. (2018). Diversifying crop rotation increased metabolic soil diversity and activity of the microbial community. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 257, 159-164.
 12. Doran, J. W. (1987). Microbial biomass and mineralizable nitrogen distributions in no-tillage and plowed soils. *Biology and Fertility of Soils*, 5(1), 68-75.
 13. Ehrlich, P. R. (1988). The loss of diversity. *Biodiversity*, 21-27.
 14. Franche, C., Lindström, K., & Elmerich, C. (2009). Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant and soil*, 321(1), 35-59
 15. Fruscella, L., Kotzen, B., & Milliken, S. (2021). Organic aquaponics in the European Union: towards sustainable farming practices in the framework of the new EU regulation. *Reviews in Aquaculture*, 13(3), 1661-1682.
 16. Gabriel, D., Roschewitz, I., Tschardt, T., & Thies, C. (2006). Beta diversity at different spatial scales: plant communities in organic and conventional agriculture. *Ecological applications*, 16(5), 2011-2021.
 17. Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012.
 18. Gómez, J. A., Llewellyn, C., Basch, G., Sutton, P. B., Dyson, J. S., & Jones, C. A. (2011). The effects of cover crops and conventional tillage on soil and runoff loss in vineyards and olive groves in several Mediterranean countries. *Soil Use and Management*, 27(4), 502-514.

19. Hartmann, M., Frey, B., Mayer, J., Mäder, P., & Widmer, F. (2015). Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *The ISME journal*, 9(5), 1177-1194.
20. Hillebrand, H., Bennett, D. M., & Cadotte, M. W. (2008). Consequences of dominance: a review of evenness effects on local and regional ecosystem processes. *Ecology*, 89(6), 1510-1520.
21. Jauregi, L., Epelde, L., Alkorta, I., & Garbisu, C. (2021). Antibiotic Resistance in Agricultural Soil and Crops Associated to the Application of Cow Manure-Derived Amendments From Conventional and Organic Livestock Farms. *Frontiers in veterinary science*, 8, 153.
22. Jezierska-Tys, S., Wesołowska, S., Gałazka, A., Joniec, J., Bednarz, J., & Cierpiąła, R. (2020). Biological activity and functional diversity in soil in different cultivation systems. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17, 4189-4204.
23. Jochum, M., Ferlian, O., Thakur, M. P., Ciobanu, M., Klarner, B., Salamon, J. A., ... & Eisenhauer, N. (2021). Earthworm invasion causes declines across soil fauna size classes and biodiversity facets in northern North American forests. *Oikos*, 130(5), 766-780.
24. Julca-Otiniano, A., Meneses-Florián, L., Blas-Sevillano, R., & Bello-Amez, S. (2006). La materia orgánica, importancia y experiencia de su uso en la agricultura. *Idesia (Arica)*, 24(1), 49-61.
25. Kaplan, I., Bokulich, N. A., Caporaso, J. G., Enders, L. S., Ghanem, W., & Ingerslew, K. S. (2020). Phylogenetic farming: Can evolutionary history predict crop rotation via the soil microbiome?. *Evolutionary Applications*, 13(8), 1984-1999.
26. Kavvadias, V., Vavoulidou, E., & Paschalidis, C. Soil Degradation in Mediterranean and Olive Mill Wastes. In *Bioremediation Science From Theory to Practice* (pp. 267-276). CRC Press.
27. Kellogg, E. A. (1998). Relationships of cereal crops and other grasses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(5), 2005-2010.
28. Lavahun, M. F. E., Joergensen, R. G., & Meyer, B. (1996). Activity and biomass of soil microorganisms at different depths. *Biology and Fertility of Soils*, 23(1), 38-42.
29. Lavahun, M. F. E., Joergensen, R. G., & Meyer, B. (1996). Activity and biomass of soil microorganisms at different depths. *Biology and Fertility of Soils*, 23(1), 38-42.
30. Letourneau, D. K., & Bothwell, S. G. (2008). Comparison of organic and conventional farms: challenging ecologists to make biodiversity functional. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(8), 430-438.
31. Lopes, A. R., Faria, C., Prieto-Fernández, Á., Trasar-Cepeda, C., Manaia, C. M., & Nunes, O. C. (2011). Comparative study of the microbial diversity of bulk paddy soil of two rice fields subjected to organic and conventional farming. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(1), 115-125.
32. Lugo, A. E. (1997). The apparent paradox of reestablishing species richness on degraded lands with tree monocultures. *Forest ecology and management*, 99(1-2), 9-19.

33. Madhumitha, S., Kumar, K. K., & Pattanayak, A. (2021). Crop Diversity and Resilience to Droughts: Evidence from Indian Agriculture.
34. Mahmood, I., Imadi, S. R., Shazadi, K., Gul, A., & Hakeem, K. R. (2016). Effects of pesticides on environment. In *Plant, soil and microbes* (pp. 253-269). Springer, Cham.
35. Miyasaka, S. C., & Habte, M. (2001). Plant mechanisms and mycorrhizal symbioses to increase phosphorus uptake efficiency. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 32(7-8), 1101-1147.
36. Morand, S., & Lajaunie, C. (2021). Outbreaks of vector-borne and zoonotic diseases are associated with changes in forest cover and oil palm expansion at global scale. *Frontiers in veterinary science*, 8, 230.
37. Muus, C., Luecken, M. D., Eraslan, G., Sikkema, L., Waghray, A., Heimberg, G., ... & Ziegler, C. G. (2021). Single-cell meta-analysis of SARS-CoV-2 entry genes across tissues and demographics. *Nature medicine*, 27(3), 546-559.
38. Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M., Landi, L., Pietramellara, G., & Renella, G. (2003). Microbial diversity and soil functions. *European journal of soil science*, 54(4), 655-670.
39. Nicholls, C. I., Altieri, M. A., & Vázquez, L. L. (2015). Agroecología: principios para la conversión y el rediseño de sistemas agrícolas. *Agroecología*, 10(1), 61-72.
40. Obando, E., Flores, S. S., Raaijmakers, J., & van't Hof, P. (2021). El microbioma vegetal explorado: Implicaciones para la fisiología vegetal y sus aplicaciones en la agricultura.
41. Paquette, A., & Messier, C. (2010). The role of plantations in managing the world's forests in the Anthropocene. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 8(1), 27-34.
42. Peltoniemi, K., Velmala, S., Fritze, H., Lemola, R., & Pennanen, T. (2021). Long-term impacts of organic and conventional farming on the soil microbiome in boreal arable soil. *European Journal of Soil Biology*, 104, 103314.
43. Peterson, M. J., Hall, D. M., FELDPAUSCH-PARKER, A. M., & Peterson, T. R. (2010). Obscuring ecosystem function with application of the ecosystem services concept. *Conservation Biology*, 24(1), 113-119.
44. Pollnac, F. W., Rew, L. J., Maxwell, B. D., & Menalled, F. D. (2008). Spatial patterns, species richness and cover in weed communities of organic and conventional no-tillage spring wheat systems. *Weed Research*, 48(5), 398-407.
45. Powell, J. R., & Rillig, M. C. (2018). Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi and ecosystem function. *New Phytologist*, 220(4), 1059-1075..
46. Purtauf, T., Roschewitz, I., Dauber, J., Thies, C., Tschardtke, T., & Wolters, V. (2005). Landscape context of organic and conventional farms: influences on carabid beetle diversity. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 108(2), 165-174.
47. R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
48. Reddy, D. S., & Chowdary, N. M. (2021). Botanical biopesticide combination concept—a viable option for pest management in organic farming. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1), 1-10.

49. Sánchez-Moreno, S., Castro, J., Alonso-Prados, E., Alonso-Prados, J. L., García-Baudín, J. M., Talavera, M., & Durán-Zuazo, V. H. (2015). Tillage and herbicide decrease soil biodiversity in olive orchards. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 691-700.
50. Sandhu, H. S., Wratten, S. D., Cullen, R., & Case, B. (2008). The future of farming: the value of ecosystem services in conventional and organic arable land. An experimental approach. *Ecological Economics*, 64(4), 835-848.
51. Sans, F. X. (2007). La diversidad de los agroecosistemas. *Ecosistemas*, 16(1).
52. Schwarzer, G., Carpenter, J. R., & Rücker, G. (2015). Meta-Analysis with R. https://doi.org/10.1007/978-3-319-21416-0_5
53. Sebhatu, K. T., Taheri, F., Berhanu, T., Maertens, M., Van Passel, S., & D'Haese, M. (2021). Beyond focus: Exploring variability of service provision of agricultural cooperatives. *Annals of Public and Cooperative Economics*, 92(2), 207-231.
54. Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. *The Bell system technical journal*, 27(3), 379-423.
55. Slootweg, R. (2021). Ecosystem services in strategic environmental assessment: an integrating concept in a world of silos. In *Handbook on Strategic Environmental Assessment*. Edward Elgar Publishing.
56. Song, X. P., Hansen, M. C., Potapov, P., Adusei, B., Pickering, J., Adami, M., ... & Tyukavina, A. (2021). Massive soybean expansion in South America since 2000 and implications for conservation. *Nature Sustainability*, 1-9.
57. Sukarno, N., Smith, S. E., & Scott, E. S. (1993). The effect of fungicides on vesicular–arbuscular mycorrhizal symbiosis: I. The effects on vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth. *New Phytologist*, 125(1), 139-147.
58. Thiele-Bruhn, S., Bloem, J., de Vries, F. T., Kalbitz, K., & Wagg, C. (2012). Linking soil biodiversity and agricultural soil management. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 4(5), 523-528.
59. Turner, E. C., Snaddon, J. L., Fayle, T. M., & Foster, W. A. (2008). Oil palm research in context: identifying the need for biodiversity assessment. *PloS one*, 3(2), e1572.
60. van der Heijden, M. G., & Wagg, C. (2013). Soil microbial diversity and agro-ecosystem functioning. *Plant and soil*, 363(1), 1-5.
61. van Diepeningen, A. D., de Vos, O. J., Korthals, G. W., & van Bruggen, A. H. (2006). Effects of organic versus conventional management on chemical and biological parameters in agricultural soils. *Applied soil ecology*, 31(1-2), 120-135.
62. Vida, C., de Vicente, A., & Cazorla, F. M. (2020). The role of organic amendments to soil for crop protection: Induction of suppression of soilborne pathogens. *Annals of Applied Biology*, 176(1), 1-15.
63. Wagg, C., Bender, S. F., Widmer, F., & Van Der Heijden, M. G. (2014). Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(14), 5266-5270.

64. Wang, Z., Li, Y., Li, T., Zhao, D., & Liao, Y. (2020). Tillage practices with different soil disturbance shape the rhizosphere bacterial community throughout crop growth. *Soil and Tillage Research*, 197, 104501.
65. Westrich, J. T., & Berner, R. A. (1984). The role of sedimentary organic matter in bacterial sulfate reduction: The G model tested 1. *Limnology and oceanography*, 29(2), 236-249.
66. Winding, A., Hund-Rinke, K., & Rutgers, M. (2005). The use of microorganisms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(2), 230-248.
67. Wortmann, C. S., Quincke, J. A., Drijber, R. A., Mamo, M., & Franti, T. (2008). Soil microbial community change and recovery after one-time tillage of continuous no-till. *Agronomy journal*, 100(6), 1681-1686.
68. Wortmann, C. S., Quincke, J. A., Drijber, R. A., Mamo, M., & Franti, T. (2008). Soil microbial community change and recovery after one-time tillage of continuous no-till. *Agronomy journal*, 100(6), 1681-1686.
69. Yamagishi, J. F., Saito, N., & Kaneko, K. (2021). Adaptation of metabolite leakiness leads to symbiotic chemical exchange and to a resilient microbial ecosystem. *PLOS Computational Biology*, 17(6), e1009143.
70. Zhou, J., & Fong, J. J. (2021). Strong agricultural management effects on soil microbial community in a non-experimental agroecosystem. *Applied Soil Ecology*, 165, 103970.

Anexo I

Obtención de datos de riqueza a partir de tabla de bandas de intensidad, siendo la intensidad proporcional al número de especies. Los datos obtenidos fueron trasladados al software R para la obtención de la riqueza de especies y el índice de Shannon. A continuación se muestra como ejemplo la tabla con las bandas de intensidad y el script usado para calcular los índices de diversidad del artículo de Lopes et al. 2011 “Comparativestudy of themicrobialdiversity of bulkpaddysoil of two rice fieldssubjected to organic and conventionalfarming”.

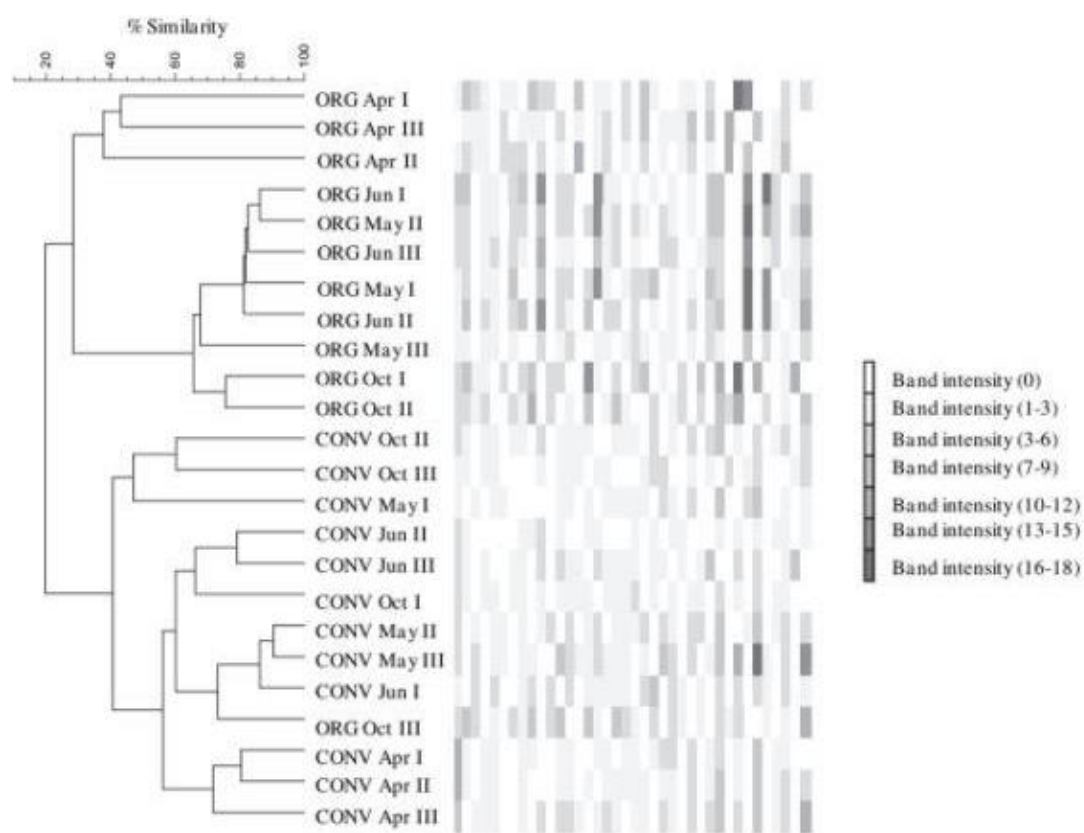


Tabla anexo 1. Número de especies por cada caso de estudio del artículo de Lopes et al. 2011.

Script usado para la obtención de datos de riqueza de especies e índice de Shannon una vez extraídos los datos de la tabla anterior.

##cargar	paquetes
library(vegan)	
##cargar	datos
otu_table<-read.table("Lopes2011.txt",	header=T)
##calculo	de
	riqueza
S_Lopes2011<-specnumber(otu_table)	
##calculo	de
	shannon
H_Lopes2011<-diversity(otu_table,	index="shannon")
##combinar	y
	salvar
indices_Lopes2011<-cbind(S_Lopes2011,H_Lopes2011)	
write.table(indices_Lopes2011,file="indices_Lopes2011.txt").	

Anexoll

Lista de artículos encontrados y Lista de artículos que cumplieron requisitos para formar parte del estudio. También se muestra la base de datos con la que se trabajó durante este trabajo. Los artículos usados están en negrita en la siguiente tabla.

STUDY	YEAR	CROP	STUDIED ORGANISM	ORG	CONV	REP	AREA	SUITABLE FOR ANALYSIS
Hartmann et al	2014		Bacterias y hongos	yes	yes	yes	yes	yes
Ares et al	2021	maiz	Bacterias	yes	yes	yes	no	yes
Lopes a et al	2011	Arroz	Bacterias	yes	yes	yes	yes	yes
Jauregi et al	2021	Cultivos relacionados con la ganaderia	Bacterias	yes	yes	yes	no	yes
Velmourougane et al	2016	coffee	Bacterias	yes	yes	no	no	no
Reeve et al	2010	strawberry	Bacterias y hongos	yes	yes	yes	no	no
Sugiyama et al	2010	potatoes	Bacterias y hongos	yes	yes	yes	no	no
Bendinga et al	2004	cereal	Bacterias	yes	yes	yes	yes	no
Moeskops et al	2010	Vegetables	Bacterias	yes	yes	yes	no	no
Drinkwater et al	1995	tomato	Bacterias	yes	yes	yes	yes	no
MCDANIEL et al	2014	Maíz y Judías	Bacterias y hongos	yes	yes	yes	no	no
van Diepeningen et al	2006	grassland, potato, onion, cereal or sugar beet	Nematodes	yes	yes	yes	no	yes
Flieûbach et al	2000		Bacterias	yes	yes	yes	no	no
Karanja et al	2020	Maíz y Judías	Bacterias y hongos	yes	yes	yes	yes	no
Cabrera-Rodríguez et al	2020	pacano	Bacterias y hongos	yes	yes	yes	yes	yes
Nderitu Karanja et al	2020		Bacterias	yes	yes	yes	no	no
Abdelrazek et al	2020	zanahorias	nematodos, bacterias y hongos	yes	yes	yes	yes	no
S. Jezierska-Tys et al	2020		bacterias y hongos	yes	yes	yes	yes	yes
Abdelrazek et al	2020	zanahorias	nematodos, bacterias y hongos	yes	yes	yes	yes	no
Armalyte et al	2019	winter wheat, rapeseed, maize	bacterias y hongos	yes	yes	yes	yes	no
Gazdag et al	2019		bacterias y hongos	yes	yes	yes	yes	no
Fong et al	2021	col y lechuga	Bacterias y hongos	yes	yes	yes	yes	yes
Mohanacharya et al	2021	gramineas	Bacterias	yes	yes	yes	no	yes

La siguiente tabla muestra la base de datos con la cual se ha trabajado en los análisis del trabajo. La primera columna representa el artículo y el estudio dentro de cada artículo. Las Norg, Morg y Sorggnifican el número de réplicas, la media y la desciación estándar del cultivo orgánico, mientras que Nconv, Mconv y Sconv corresponden con el convencional. La columna Div hace referencia a la riqueza de especies (S) o al índice de shannon (H) en cada estudio. Las columnas Ap y At corresponden con el área por plot y área total. La columna Species indica las especies de cultivo, las cuales fueron agrupadas en cereal (C) y Hotaliza (H) en la columna Species 2. La columna Sp. Div corresponden con los organismos del suelo que fueron analizados en cada estudio, siendo estos Bacterias (Bac), Hongos (Hon), ambos conjuntamente (Bac_hon) y nematodos (Nem). Por último, la columna Tec1 muestra la técnica de secuenciación para estos organismos, las cuales se agruparon en Tec2, como Clasicas (Clasic) y Masivas (Mass).

Artículo y estudio dentro de artículo		N org	M org	S org	N conv	M conv	S conv	Div.	Ap	At	Species	Sp. Div	Species 2	Tec1	Tec2
Jezierska-Tys et_al. 2020	I	3	23.330	0.894	3	26	1.73	S	30	90	Trigo	Bac_hon	C	Ecoplate	Clasic
	II	3	26.670	0.998	3	24	1.73	S	30	90	Trigo	Bac_hon	C	Ecoplate	Clasic
	III	3	24.667	0.998	3	28.67	2.64	S	30	90	Trigo	Bac_hon	C	Ecoplate	Clasic
	I	3	27.000	1.732	3	26.33	3.60	S	30	90	Avena	Bac_hon	C	Ecoplate	Clasic
	II	3	26.333	3.999	3	26.33	0.99	S	30	90	Avena	Bac_hon	C	Ecoplate	Clasic
	III	3	24.667	2.000	3	27.67	2.00	S	30	90	Avena	Bac_hon	C	Ecoplate	Clasic
	I	3	27.000	1.732	3	27.33	2.64	S	30	90	Cebada	Bac_hon	C	Ecoplate	Clasic
	II	3	29.000	3.999	3	27.33	2.64	S	30	90	Cebada	Bac_hon	C	Ecoplate	Clasic
	III	3	24.667	2.000	3	24.33	2.00	S	30	90	Cebada	Bac_hon	C	Ecoplate	Clasic
Hartmann et_al. 2014	I	16	560.000	28.000	16	541	24.00	S	100	1600	Trigo	Bac	C	Pyro	Mass
	II	16	544.000	32.000	16	541	24.00	S	100	1600	Trigo	Bac	C	Pyro	Mass
	I	16	308.000	24.000	16	288	24.00	S	100	1600	Trigo	Hon	C	Pyro	Mass
	II	16	290.000	32.000	16	288	24.00	S	100	1600	Trigo	Hon	C	Pyro	Mass
Van Diepeningen et_al.	I	6	47.500	21.550	7	41	12.86	S	NA	NA	Mixed	Bac	H	DGGE	Clasic
	II	7	52.000	19.740	7	45.86	19.41	S	NA	NA	Mixed	Bac	H	DGGE	Clasic

2006	I	6	1.410	0.560	7	1.32	0.61	H	NA	NA	Mixed	Bac	H	DGGE	Clasic
	II	7	1.530	0.340	7	1.52	0.29	H	NA	NA	Mixed	Bac	H	DGGE	Clasic
	I	6	1.010	0.170	7	0.94	0.48	H	NA	NA	Mixed	Nem	H	DGGE	Clasic
	II	7	1.020	0.390	7	0.93	0.45	H	NA	NA	Mixed	Nem	H	DGGE	Clasic
	I	6	23.830	4.210	7	22.43	12.30	S	NA	NA	Mixed	Nem	H	DGGE	Clasic
	II	7	25.860	11.380	7	22.43	13.92	S	NA	NA	Mixed	Nem	H	DGGE	Clasic
Jauregiet_al. 2021	I	4	3626.00	400.000	4	3774	146.00	S	NA	NA	lechuga	Bac	H	Illumina	Mass
	II	4	3894.00	96.000	4	3784	66.00	S	NA	NA	lechuga	Bac	H	Illumina	Mass
	III	4	3722.00	130.000	4	3941	298.00	S	NA	NA	lechuga	Bac	H	Illumina	Mass
	I	4	6.780	0.080	4	6.98	0.04	H	NA	NA	lechuga	Bac	H	Illumina	Mass
	II	4	7.030	0.080	4	7	0.06	H	NA	NA	lechuga	Bac	H	Illumina	Mass
	III	4	6.990	0.060	4	7.05	0.12	H	NA	NA	lechuga	Bac	H	Illumina	Mass
	I	4	4517.00	170.000	4	4710	106.00	S	NA	NA	Trigo	Bac	C	Illumina	Mass
	II	4	4285.00	352.000	4	4530	196.00	S	NA	NA	Trigo	Bac	C	Illumina	Mass
	III	4	4268.00	518.00	4	4510	578.00	S	NA	NA	Trigo	Bac	C	Illumina	Mass
	I	4	7.040	0.080	4	7.08	0.06	H	NA	NA	Trigo	Bac	C	Illumina	Mass
	II	4	6.950	0.140	4	7	0.08	H	NA	NA	Trigo	Bac	C	Illumina	Mass
	III	4	6.910	0.240	4	7.01	0.28	H	NA	NA	Trigo	Bac	C	Illumina	Mass
	I	3	363.00	1.209	3	2	1.85	S	NA	NA	maíz	Bac_hon	C	Illumina	Mass
	I	3	380.00	4.116	3	192	6.79	S	NA	NA	maíz	Bac_hon	C	Illumina	Mass
Ares et_al. 2021	I	3	3.991	0.400	3	3	0.20	H	NA	NA	maíz	Bac_hon	C	Illumina	Mass
	I	3	4.035	0.180	3	3	0.04	H	NA	NA	maíz	Bac_hon	C	Illumina	Mass
	I	3	22.000	0.000	3	23	1.00	S	NA	4200	Arroz	Bac	C	DGGE	Clasic
	II	3	23.000	0.000	3	2	8.33	S	NA	4200	Arroz	Bac	C	DGGE	Clasic
Lopes et_al. 2011	III	3	2.367	2.333	3	23	7.00	S	NA	4200	Arroz	Bac	C	DGGE	Clasic
	IV	3	23.000	1.000	3	2	5.33	S	NA	4200	Arroz	Bac	C	DGGE	Clasic
	I	3	2.894	0.002	3	3	0.00	H	NA	4200	Arroz	Bac	C	DGGE	Clasic
	II	3	2.958	0.003	3	3	0.01	H	NA	4200	Arroz	Bac	C	DGGE	Clasic
	III	3	3.014	0.001	3	3	0.01	H	NA	4200	Arroz	Bac	C	DGGE	Clasic
	IV	3	2.988	0.002	3	3	0.01	H	NA	4200	Arroz	Bac	C	DGGE	Clasic
	I	5	373.600	742.800	5	321.4	1816.30	S	20	100	Col	Hon	H	Illumina	Mass
	II	5	315.800	3721.700	5	312.4	2240.30	S	20	100	Col	Hon	H	Illumina	Mass
Fong et_al. 2021	III	5	395.400	167.300	5	249.2	342.20	S	20	100	Lechuga	Hon	H	Illumina	Mass
	IV	5	392.400	245.300	5	254.2	841.20	S	20	100	Lechuga	Hon	H	Illumina	Mass
	I	5	3.563	0.268	5	3	0.21	H	20	100	Col	Hon	H	Illumina	Mass
	II	5	2.849	0.329	5	3	0.26	H	20	100	Col	Hon	H	Illumina	Mass

Mohanacharya et_al. 2021	III	5	3.866	0.017	5	3	0.04	H	20	100	Lechuga	Hon	H	Illumina	Mass
	IV	5	3.674	0.016	5	3	0.03	H	20	100	Lechuga	Hon	H	Illumina	Mass
	I	5	3403.000	45598.000	5	3031.6	10290.30	S	20	100	Col	Bac	H	Illumina	Mass
	II	5	3219.800	29856.700	5	2710.8	29937.70	S	20	100	Col	Bac	H	Illumina	Mass
	III	5	2937.200	22588.200	5	2951.2	23463.20	S	20	100	Lechuga	Bac	H	Illumina	Mass
	IV	5	2989.400	32177.800	5	2808.4	49052.30	S	20	100	Lechuga	Bac	H	Illumina	Mass
	I	5	8.131	0.004	5	8	0.00	H	20	100	Col	Bac	H	Illumina	Mass
	II	5	8.076	0.003	5	8	0.00	H	20	100	Col	Bac	H	Illumina	Mass
	III	5	7.984	0.003	5	8	0.00	H	20	100	Lechuga	Bac	H	Illumina	Mass
	IV	5	8.001	0.004	5	8	0.01	H	20	100	Lechuga	Bac	H	Illumina	Mass
	I	8	5.645	0.878	8	5	1.80	H	NA	12000	gramineas	Bac	C	Illumina	Mass
	II	8	6.160	0.014	8	5	1.21	H	NA	12000	gramineas	Bac	C	Illumina	Mass

Anexo III

Script usado para la obtención de los resultados del trabajo.

Lectura de datos y cálculos previos

```
data<-read.table("dataset.txt", header=T)
```

```
View(data)
```

```
SDorg<-sqrt(data$Sorg)
```

```
SDconv<-sqrt(data$Sconv)
```

```
data<-cbind(data,SDorg,SDconv)
```

```
##### Produce forest plot. SHANNON INDEX ("H") #####
```

#1 Efecto del cultivo en el índice de Shannon

```
m_H_manejo<- metacont(Norg, Morg, SDorg, Nconv, Mconv,  
SDconv,sm="SMD",method.tau="ML",  
studlab=Articulo,data=data[which(data$Estadistico=="H"),])
```

#2 Efecto del cultivo en el índice de Shannon usando variables categóricas como moduladores (Cultivo & Técnica)

```
m_H_cultivo<- metacont(Norg, Morg, SDorg, Nconv, Mconv,  
SDconv,sm="SMD",method.tau="ML",byvar=Crop_2,  
studlab=Articulo,data=data[which(data$Estadistico=="H"),])
```

```
m_H_tecnica<- metacont(Norg, Morg, SDorg, Nconv, Mconv,  
SDconv,sm="SMD",method.tau="ML",byvar=Technique2,  
studlab=Articulo,data=data[which(data$Estadistico=="H"),])
```

#3 Resultados SHANNON INDEX ("H"). Resumen y Gráficos

```
print(summary(m_H_manejo,prediction=TRUE), digits=3)
```

```
print(summary(m_H_tecnica,prediction=TRUE), digits=3)
```

```
print(summary(m_H_cultivo,prediction=TRUE), digits=3)
```

```
forest(m_H_manejo, prediction=T,comb.fixed=FALSE, xlab="Change of  
microbial diversity Shannon")
```

```
forest(m_H_tecnica, prediction=T, comb.fixed=FALSE,xlab="Change of  
microbial diversity Shannon")
```

```
forest(m_H_cultivo, prediction=T,comb.fixed=FALSE, xlab="Change of  
microbial diversity Shannon")
```

Produce forest plot. SPECIES RICHNESS ("S")

#1 Efecto del cultivo en la riqueza de especies

```
m_S<- metacont(Norg, Morg, SDorg, Nconv, Mconv,  
SDconv,sm="SMD",method.tau="ML",  
studlab=Articulo,data=data[which(data$Estadistico=="S"),])
```

#2 Efecto del cultivo en el índice de Shannon usando variables categóricas como moduladores (Cultivo & Técnica)

```
m_S_cultivo<- metacont(Norg, Morg, SDorg, Nconv, Mconv,  
SDconv,sm="SMD",method.tau="ML",byvar = Crop_2,  
studlab=Articulo,data=data[which(data$Estadistico=="S"),])
```

```
m_S_tecnicque<- metacont(Norg, Morg, SDorg, Nconv, Mconv,
SDconv,sm="SMD",method.tau="ML",byvar = Technique2,
studlab=Articulo,data=data[which(data$Estadistico=="S"),])
```

#3 Resultados speciesrichness ("S"). Resumen y Gráficos

```
print(summary(m_S,prediction=TRUE), digits=3)
```

```
print(summary(m_S_cultivo,prediction=TRUE), digits=3)
```

```
print(summary(m_S_tecnicque,prediction=TRUE), digits=3)
```

```
forest(m_S,prediction=T,comb.fixed=FALSE,xlab="Change of microbial
diversity Richness")
```

```
forest(m_S_cultivo,prediction=T,comb.fixed=FALSE,xlab="Change of microbial
diversity Richness")
```

```
forest(m_S_tecnicque,prediction=T,comb.fixed=FALSE,xlab="Change of
microbial diversity Richness")
```