



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

# Licenciatura en Ciencias Ambientales

Escuela Nacional de Estudios Superiores,  
Unidad Morelia

Dinámica de C, N y P y composición de la  
comunidad bacteriana del suelo de un  
gradiente de manejo agrícola en el Valle de  
Cuatro Ciénegas, Coahuila

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**LICENCIADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

P R E S E N T A

Natali Hernández Becerra

TUTOR DE TESIS: M. en C. Yunuen Tapia Torres

COTUTOR DE TESIS: Dr. Felipe Francisco García Oliva

MORELIA, MICHOACÁN

Enero de 2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, UNIDAD MORELIA  
SECRETARÍA GENERAL  
SERVICIOS ESCOLARES

**DR. ISIDRO ÁVILA MARTÍNEZ**  
**DIRECTOR GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR, UNAM**  
**PRESENTE.**

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la sesión 06 del **H. Consejo Técnico** de la ENES Unidad Morelia celebrado, el día 12 de junio del 2013, acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el Examen Profesional de la alumna **NATALI HERNÁNDEZ BECERRA** con número de cuenta **306230426**, con la tesis titulada: "**Dinámica de C, N y P y composición de la comunidad bacteriana del suelo de un gradiente de manejo agrícola en el Valle de Cuatro Ciénegas Coahuila**" bajo la dirección de la Tutora.- **M. en C. Yunuen Tapia Torres**

Presidente: Dr. John Larsen  
Vocal: Dra. Valeria Francisca Eugenia Leopoldina de  
María de Guadalupe Souza Saldivar  
Secretario: M. en C. Yunuen Tapia Torres  
Suplente: Dr. Felipe Francisco García Oliva  
Suplente: Dr. Antonio González Rodríguez

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Morelia, Michoacán a, 06 de enero del 2014.

  
**DRA. TAMARA MARTÍNEZ RUIZ**  
**SECRETARIA GENERAL**

## **Agradecimientos**

A la **M. en C. Yunuen Tapia Torres**, por ser tutora de esta tesis. Gracias maestra por ser la primera en confiar en mí, por todo el apoyo y por todas las enseñanzas de bacterias y de la vida.

Al **Dr. Felipe Francisco Oliva**, por aceptar ser tutor de ésta tesis, por todas las enseñanzas, el apoyo, la confianza depositada y por contagiarme su gusto por la ciencia.

A la **Dra. Valeria Souza Saldívar**, **Dr. Antonio González Rodríguez** y **Dr. John Larsen** por aceptar revisar, corregir y aportar valiosas contribuciones a la presente tesis.

Al **Sr. Oscar Sánchez Liceaga** y al **Sr. Héctor Javier Castillo González** por permitirme usar sus parcelas para realizar la presente tesis y por toda la disposición para realizar la caracterización del manejo.

A la **Dirección del Área de Protección de Flora y Fauna Cuatro Ciénegas, CONANP** por permitirme realizar los muestreos dentro del área protegida.

A **PRONATURA Noreste AC** por permitirnos tomar muestras del Rancho Pozas Azules.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)**, al **Centro de Investigaciones en Ecosistemas (CIEco)**, y al **laboratorio de Biogeoquímica de Suelos**, por las facilidades para realizar los análisis biogeoquímicos.

A **Rodrigo Velázquez Duran** por el apoyo durante los análisis de laboratorio.

Al **laboratorio de Evolución Molecular y Experimental** del Instituto de Ecología, UNAM por las facilidades para realizar los análisis moleculares para determinar las comunidades bacterianas del suelo. A la Dra. Valeria Souza por todo su apoyo en los análisis moleculares.

Este proyecto fue financiado por **PAPIIT-DGAPA, UNAM**.

**¡Gracias!**

A **Ofelia Beltrán Paz** por compartir conmigo los datos de la parcela agrícola, brindarme su amistad, sus conocimientos y consejos. ¡Y también por la carpeta de artículos!

Al Dr. **Ernesto Vega Peña** por todos sus consejos y la ayuda en los análisis estadísticos.

A **Christine Rooks** por enseñarme y trabajar conmigo en la técnica de extracción de ADN.

A **Jazmín Blaz Sánchez** por enseñarme y trabajar conmigo en las librerías de clonas. También por compartir sus conocimientos de secuencias, resolver mis dudas y no abandonarme durante los dramas. ¡Muchas gracias Jaz!

A mis compañeros del cubículo: **Alberto, Andrei, Bruno, Celeste, Cristina, Dainiz, Ofelia, Pamela** y **Yunuen**, por brindarme su amistad. También por compartir conmigo sus conocimientos, los viajes a CCC, los congresos la ayuda en campo, por la retroalimentación y pláticas. Todos ustedes aportaron algo a esta tesis.

A mis amiguitos: **Daniel, David, Claudia, Karem, Iván Jimena, Mariana** y **Octavio** por crecer profesionalmente y emocionalmente conmigo, acompañarme todo este tiempo y ayudarme a ser mejor cada día jajajaja... you wish! ¡Los quiero amigos!

A todos mis maestros de la **Licenciatura en Ciencias Ambientales**.

A **Alejandro Rebollar** por toda la ayuda con los trámites para la titulación.

## Dedicatorias

Con todo mi cariño y amor a mis padres, **Martha y Enrique**. Porque no hay palabras y además no hay necesidad de decirles todo lo que hacen siempre por mí, solamente queda recordarles que son mi ejemplo y que gracias a ustedes estoy aquí.

A mis hermanos, **Daniel y Luis** porque me acompañan siempre, por cuidarme y por reír conmigo o de mí. ¡Y porque sí!

Al resto de la familia, **abuel@s, tí@s, y prim@s** por todo el apoyo y el cariño.

¡Los quiero mucho!

## Índice

Resumen .....	3
Abstract .....	4
Introducción .....	6
Relación planta-suelo-microorganismos en los ciclos biogeoquímicos .....	8
Efecto del cambio de uso de suelo en la dinámica de nutrientes y en la comunidad de los microorganismos del suelo .....	12
Resistencia y resiliencia del suelo.....	14
Antecedentes.....	17
Objetivos.....	20
General .....	20
Particulares .....	20
Hipótesis .....	20
Metodología .....	21
Sitio de estudio .....	21
Diseño de muestreo .....	22
Análisis de laboratorio.....	25
Análisis biogeoquímicos .....	26
Análisis enzimáticos.....	29
Análisis moleculares .....	29
Índices de resistencia y resiliencia.....	33
Análisis estadísticos .....	34
Resultados .....	35

Formas dinámicas de nutrientes y actividad de la fosfomonoesterasa .....	35
Composición de la comunidad bacteriana del suelo .....	42
Resistencia y resiliencia .....	46
Discusión.....	48
Análisis general del efecto del cambio de uso de suelo provocado por el cultivo de alfalfa .....	48
Dinámica de C, N y P en un gradiente de manejo agrícola .....	50
Composición de la comunidad bacteriana en un gradiente de manejo agrícola.....	54
Resiliencia y resistencia de propiedades del suelo de un pastizal halófilo al cambio de uso de suelo agrícola .....	58
Modelo de la dinámica de C, N y P y composición de la comunidad microbiana en un gradiente de manejo .....	59
Conclusiones.....	62
Bibliografía.....	63

## Resumen

---

La demanda global de alimentos ha provocado un incremento en la transformación de ecosistemas áridos a sistemas de producción agrícola, lo cual ha generado diversos problemas ambientales. En el valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila (VCC), el cultivo de alfalfa amenaza la sostenibilidad de los humedales y tiene un fuerte impacto en el suelo y la vegetación. Este trabajo analizó el efecto del cambio de uso de suelo provocado por el cultivo de alfalfa, en la dinámica de C, N, P y la composición de la comunidad bacteriana del suelo en el VCC. De esta manera, se trabajó con un gradiente de manejo conformado por tres sitios: un pastizal halófilo considerado como el sitio conservado, una parcela agrícola cultivada con alfalfa y con inundación de agua rodada y una parcela en estado de abandono por un periodo de 30 años. En estos tres sitios se analizaron las formas dinámicas de C, N y P (nutrientes disueltos, disponibles y contenidos en la biomasa microbiana), se cuantificó la actividad de la fosfomonoesterasa, la cual cataliza la hidrólisis de ésteres de fosfato, y se determinó la composición de la comunidad bacteriana mediante librerías de clonas del gen que codifica para la subunidad 16s del ARN ribosomal. Los resultados muestran que el suelo de la parcela agrícola tiene mayor disponibilidad de agua y carbono orgánico disuelto (COD), condiciones que favorecen los procesos de mineralización mediados por la actividad de los microorganismos heterótrofos. Por otra parte, los sitios sin manejo agrícola actual, están limitados por agua y COD. En la parcela abandonada, estas condiciones promueven el proceso de nitrificación, el cual está mediado por los microorganismos autótrofos; mientras que en el sitio conservado, se favorece la inmovilización de N en la biomasa microbiana. Adicionalmente, se identificaron cambios en composición taxonómica de la comunidad bacteriana del suelo a lo largo del gradiente. La composición microbiana fue similar en el sitio abandonado y conservado, mientras que el sitio agrícola fue diferente. Nuestros resultados sugieren que el cultivo de alfalfa induce cambios drásticos en la dinámica de nutrientes y en la composición microbiana del suelo. Sin embargo, con el abandono de la

actividad agrícola, algunas propiedades del suelo tienden lentamente a recuperar su estado natural.

## Abstract

---

The global food demand has caused an increase of land-use change of dryland ecosystems into agricultural production systems, which has resulted in several environmental issues. In the Cuatro Ciénegas valley (CCV), alfalfa production by flooding the fields (“agua rodada”) threatens the wetlands’ sustainability and also has a strong impact on soil and vegetation. In order to analyze the effect of such agricultural land-use change on soil nutrients dynamics (C, N and P) and soil bacterial community composition, we examined an agricultural gradient within the CCV. The gradient was comprised by three contrasting sites in relation to management but with the same soil type: native desert grassland, a plot with actual alfalfa growth and a former agricultural field abandoned for over 30 years. For each site, we analyzed C, N and P dynamic fractions (dissolved, available and microbial biomass), phosphomonoesterase activity was quantified and bacterial composition was obtained by using 16S rRNA clone libraries. The results showed that the agricultural site presented greater availability of water and dissolved organic carbon (DON), these conditions promoted the mineralization processes mediated by the activity of heterotrophic microorganisms. As expected, the sites without current management and flooding were limited by water and DON. At the abandoned site, these conditions promoted the nitrification process, which is mediated by autotrophic microorganisms; meanwhile, the microbial N immobilization process was favored in the native grassland. Additionally, differences in bacterial taxonomical composition were observed among soils. The sites without current management exhibited similar composition, while the agricultural site was different. Our results suggest that the

land-use change of native grassland into agricultural land induces drastic shifts in the soil nutrient dynamics as well as in the bacterial community. However, with the suspension of agricultural practices, some of the soil characteristics analyzed tends to slowly recover its natural state.

## Introducción

---

En la actualidad, la población mundial se estima en 7 mil millones de habitantes y aproximadamente el 12% de la superficie terrestre es utilizada como campos de producción agrícola (FAO, 2013). Sin embargo, las tendencias demográficas indican que la población humana alcanzará los 9 mil millones de personas para el año 2050 (FAO, 2013), por lo que se espera un incremento en la demanda tanto de alimentos como de materias primas. Por esta razón, es probable que la extensión de las áreas destinadas a la agricultura aumente con la finalidad de satisfacer las necesidades de la población.

La producción agrícola por medio de prácticas convencionales requiere de grandes entradas de energía y materia (combustibles, agua, plaguicidas, fertilizantes), para alcanzar el máximo rendimiento (Rey-Benayas y Bullock, 2012). Si bien, la intensificación y expansión agrícola han aumentado considerablemente el suministro de alimentos a escala global, también han provocado diversos impactos en los ecosistemas (Rey-Benayas y Bullock, 2012). Entre estos impactos se encuentran: el cambio en la dinámica de los ciclos biogeoquímicos, la fragmentación de los hábitats, la contaminación de mantos acuíferos, procesos de eutroficación, deforestación y la degradación de los suelos.

Específicamente en el suelo, las prácticas agrícolas pueden generar procesos de degradación, tales como, erosión, compactación, salinización, disminución de materia orgánica (MO) y diversidad biológica (van Bruggen y Semenov, 2000). Todos estos impactos generan una disminución de la calidad del suelo (Islam y Weil, 2000) y en consecuencia, la degradación de las tierras. A nivel mundial, se ha estimado que el área de las tierras degradadas por las actividades agrícolas es de 12 400 000km<sup>2</sup> (Rey-Benayas et al., 2007), y que constituyen entre el 10% y 20% de las zonas áridas del planeta (Lepers et al., 2005; Reynolds et al., 2007).

La desertificación se ha definido como el proceso de degradación de las tierras en zonas áridas, semiáridas y subhúmedas, la cual se genera como resultado de varios

factores, entre los que se incluyen las variaciones climáticas y las actividades humanas (UNCCD, 1994). La degradación del suelo se ha atribuido típicamente a la pérdida de recursos (nutrientes, agua y microorganismos) que resulta en la reducción de la cobertura vegetal. Sin embargo, se han identificado tres procesos principales responsables de la desertificación: el primero se refiere a la pérdida de nutrientes a causa de la erosión hídrica o eólica, el segundo proceso es la acumulación de sales que impiden el crecimiento vegetal, y el último está asociado a la disminución del contenido de agua como consecuencia de la compactación, la pérdida de la capacidad de retención de agua y la disminución de la permeabilidad (D'Odorico et al., 2013). En las zonas agrícolas, la degradación del suelo provoca una disminución en la productividad de los cultivos, razón que conduce al abandono de las tierras.

De toda la gama de ecosistemas del planeta, los desiertos y semidesiertos, caracterizados por presentar baja disponibilidad de agua, son los biomas con la mayor extensión, ya que cubren más de un tercio de la superficie terrestre (Laity, 2008). En México, las zonas desérticas ocupan el 50% del territorio (Schmidt, 1989) y se ubican principalmente en los desiertos Chihuahuense y Sonorense, así como en la región semiárida del complejo del valle de Tehuacán-Cuicatlán, ubicado entre los estados de Puebla y Oaxaca (Hernández, 2006). En estos ecosistemas se desarrolla una gran diversidad de especies de plantas y animales (Rzedowski, 1983). Desafortunadamente, la mayor parte de los suelos de estas zonas tienen algún nivel de degradación asociado a las prácticas agrícolas (Semarnat, 2009).

El valle de Cuatro Ciénegas está ubicado dentro del desierto Chihuahuense y es un ecosistema único en términos biológicos, hidrológicos y geológicos (Pisanty et al., 2013). Este lugar presenta altos niveles de diversidad y endemismos de especies biológicas, por lo que en 1994 fue declarado Área de Protección de Flora y Fauna por la Comisión Nacional de Áreas Protegidas (CONANP). A pesar de esto, la conservación de este sitio se encuentra en peligro debido a las amenazas relacionadas con la explotación no sustentable del agua, las especies invasoras, el aumento del turismo y el crecimiento poblacional.

El desarrollo de la actividad agrícola y particularmente el caso del cultivo de alfalfa, el cual requiere grandes volúmenes de agua, han sido señalados como las causas principales del deterioro del ecosistema dentro del valle (Souza et al., 2006). Esto se debe a que tanto la sobre explotación de los recursos hídricos destinados al riego agrícola, como la perforación no regulada de pozos, han provocado una disminución considerable de los niveles del agua subterránea y superficial (Pisanty et al., 2013). Adicionalmente, se determinó que durante el periodo 2003-2007 la agricultura fue la actividad que generó un mayor impacto en la vegetación del valle (CONANP, 2007). De esta manera, se han evaluado los efectos negativos del manejo agrícola en los cuerpos de agua y la vegetación del valle. Sin embargo, aún son pocos los trabajos que abordan los efectos en las propiedades del suelo (Martínez-Piedragil, 2013).

### **Relación planta-suelo-microorganismos en los ciclos biogeoquímicos**

La biosfera está compuesta en un 95% por seis elementos fundamentales, carbono (C), hidrogeno (H), oxígeno (O), nitrógeno (N), fósforo (P) y azufre (S), que son los constituyentes mayoritarios de los tejidos vivos (Schlesinger, 2000). Sin embargo, estos elementos básicos se encuentran en diferentes formas químicas, desde compuestos que pueden ser utilizados directamente en el metabolismo de todos los organismos, hasta compuestos no accesibles para la vida. Los ciclos biogeoquímicos integran el movimiento y la transformación de estos elementos por medio de actividades químicas y bioquímicas entre la atmósfera, hidrósfera y litósfera (Atlas y Bartha, 1998).

En el suelo se llevan a cabo muchos de los procesos que determinan la disponibilidad de nutrientes, asimismo es la matriz que sostiene la vegetación; por lo que tiene un rol fundamental en el funcionamiento de los ecosistemas. Además, se ha señalado que las interacciones entre los componentes que se encuentran sobre y debajo del suelo influyen los procesos de la dinámica de nutrientes en los ecosistemas terrestres (Wardle et al., 2004). Por ejemplo, las plantas, a través de la fotosíntesis,

suministran el C orgánico que es utilizado por los descomponedores (entre los que sobresalen los hongos, las bacterias y los insectos) y también por medio de la rizodeposición de compuestos lábiles para los organismos de la rizósfera. Asimismo, la biota del suelo regula la disponibilidad de nutrientes que pueden ser utilizados por las plantas a través de la descomposición (Wardle et al., 2004).

De esta manera, la estructura de la vegetación afecta directamente la dinámica de nutrientes debido a que la cantidad, composición y propiedades de la materia vegetal son factores que controlan formación de la materia orgánica (MO) del suelo (Kögel-Knabner, 2002). La MO es un componente clave del suelo, ya que promueve la estabilidad estructural del mismo, lo cual previene procesos de erosión y mejora la capacidad de retención de agua (Bardgett, 2005; X. Li et al., 2009; Masciandaro y Ceccanti, 1999). Además es la fuente principal de los nutrientes esenciales para el crecimiento de plantas y microorganismos (Eldor, 2007; McLauchlan, 2006).

La actividad de los microorganismos también es fundamental para el desarrollo de los ciclos biogeoquímicos, a tal grado que se ha señalado que este grupo de organismos regula aproximadamente del 80% al 90% de los procesos realizados en el suelo (Nannipieri et al., 2003), lo que es posible debido a la gran diversidad de estrategias metabólicas que presentan. Muchos procesos de transformación, pérdida y suministro de nutrientes en el suelo son catalizados por enzimas producidas principalmente por los microorganismos (Aon et al., 2001; Murphy et al., 2007). La mayoría de las enzimas del suelo pertenecen al grupo de las hidrolasas, aunque también se pueden encontrar oxidorreductasas, transferasas y liasas (Dick y Tabatabai, 1992). Los microorganismos pueden producir enzimas de manera rutinaria o inducida por la presencia del sustrato específico o en la ausencia de un inhibidor (Eldor, 2007). Diversos factores pueden afectar a los microorganismos del suelo y en consecuencia su actividad, entre los que sobresalen: las fuentes de C y energía, los nutrientes, la disponibilidad de agua, la temperatura, el pH, la presión, la radiación y el potencial redox (Nannipieri et al., 2003).

Las plantas tienen la capacidad de fijar el CO<sub>2</sub> atmosférico por medio del proceso de fotosíntesis, pero la asimilación de N y P se realiza de manera diferente. Para el caso del N, la principal fuente de este elemento se encuentra en la atmósfera formando un compuesto muy estable (N<sub>2</sub>). Únicamente algunos procariontes tienen la capacidad de sintetizar la nitrogenasa que cataliza la conversión de N<sub>2</sub> atmosférico a amoníaco (NH<sub>3</sub>), el cual puede ser asimilado por las plantas. Las bacterias que realizan este proceso pueden ser de vida libre como las cianobacterias y representantes de los géneros *Bacillus*, *Klebsiella*, *Azotobacter* y *Clostridium*; bacterias simbiotes de leguminosas como *Rhizobium*; y fijadoras de vida libre asociadas a la rizósfera de pastos de la familia Poaceae, entre las que se encuentran algunas especies de *Azospirillum* (Hopkins y Dungait, 2010; Madsen, 2011).

A diferencia del N, el P carece de fase gaseosa estable y la fuente principal de este elemento deriva de la meteorización de minerales como la apatita (Smil, 2000). La actividad bacteriana también puede promover la disponibilidad de P, ya que algunos géneros tienen la capacidad de solubilizar fosfatos minerales, mediante la liberación de ácidos. Entre los géneros que pueden realizar este proceso se encuentran: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium* y *Erwinia* (Rodríguez y Fraga, 1999). Debido a que la cantidad de P inorgánico disponible es reducida, los organismos persisten gracias a un reciclado eficiente del P orgánico (Schlesinger, 2000).

Además de los mecanismos previamente descritos, la descomposición de la MO del suelo también controla la disponibilidad de nutrientes. Este proceso se lleva a cabo a través de dos fases: la despolimerización que se refiere a la fragmentación de compuestos orgánicos complejos a moléculas estructuralmente más sencillas, y la mineralización que es la transformación de un compuesto orgánico a su forma inorgánica (Chesworth, 2008; Fenchel et al., 2012). Los factores principales que controlan la descomposición son: la calidad del sustrato, los microorganismos y las condiciones ambientales.

La despolimerización está mediada por enzimas que catalizan la fragmentación de la MO formando compuestos orgánicos solubles de C, N y P (COD, NOD, POD). Entre las enzimas importantes en la dinámica de C se encuentran la galactosidasa, lacasa, celulasa, y glucosidasa entre otras; mientras que las ureasas y proteasas participan en el ciclo del N; y las fosfatasas en el ciclo del P (Karaca et al., 2011). El COD y NOD pueden ser directamente inmovilizados o utilizados como fuente energía por los microorganismos; por otra lado, las plantas solamente pueden utilizar compuestos en formas inorgánicas.

La amonificación es el proceso de mineralización del NOD, el cual está mediado por la actividad de los microorganismos heterótrofos y se realiza de manera intracelular; a través de este proceso se libera amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) al suelo. Sin embargo, el  $\text{NH}_4^+$  en el suelo puede ser transformado por medio de la nitrificación, la cual se lleva a cabo en dos fases, cada una es realizada por un grupo específico de bacterias autótrofas. La primera fase, que está mediada por bacterias del género *Nitrosomonas*, consiste en la oxidación del  $\text{NH}_4^+$  a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), mientras que en la segunda fase se oxida el  $\text{NO}_2^-$  a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y este proceso está regulado un grupo de Proteobacterias, entre las que sobresale *Nitrobacter*, y por bacterias del phylum Nitrospirae (Attard et al., 2010; Madsen, 2011; Paul, 2007). Las plantas tienen la capacidad de asimilar  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ , sin embargo consumen preferentemente  $\text{NH}_4^+$  (Paul, 2007). La forma química en la que se encuentre el N en el suelo, puede generar la pérdida o mantenimiento de este nutriente en el ecosistema. Cuando el N se encuentra como  $\text{NH}_4^+$ , se favorecen los mecanismos de protección tales como, la inmovilización en la biomasa de los microorganismos y la retención en la superficie de intercambio catiónico de partículas del suelo. Mientras que al encontrarse en forma de  $\text{NO}_3^-$ , el N es más susceptible a perderse del ecosistema por lixiviación o desnitrificación, que es el proceso de reducción de este compuesto a formas gaseosas de N ( $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  y  $\text{N}_2$ ) (Paul, 2007).

La mineralización de compuestos orgánicos de P se realiza por medio de la actividad de las fosfatasas (fosfomonoesterasa, fosfodiesterasa, fosfotriesterasa entre otras) (Nannipieri et al., 2011; Rodríguez y Fraga, 1999), las cuales catalizan la hidrólisis de los fosfatos orgánicos, liberando ortofosfato ( $\text{PO}_4^+$ ). Estas enzimas pueden ser producidas

por plantas, hongos y bacterias, entre las que se encuentran: *Bacillus*, *Serratia*, *Proteus*, *Arthrobacter* y *Streptomyces* (Paul, 2007). Una vez que se ha mineralizado el P orgánico, el  $\text{PO}_4^+$  puede ser asimilado por las plantas, inmovilizado por la biomasa microbiana, adsorbido a las superficies minerales o precipitado con Ca o Al dependiendo del pH del suelo (Bünemann y Condron, 2007; Paul, 2007).

### **Efecto del cambio de uso de suelo en la dinámica de nutrientes y en la comunidad de los microorganismos del suelo**

Los cambios de uso de suelo originados por las actividades agrícolas, sustituyen a la vegetación natural de los ecosistemas y afectan a las características del suelo (Raiesi, 2012). Se han identificado cuatro componentes del manejo agrícola que tienen la capacidad de alterar las propiedades del suelo, los cuales son: alteraciones de la biomasa vegetal, labranza, fertilización e irrigación (McLauchlan, 2006). La agricultura modifica la biomasa vegetal de los ecosistemas al sustituir la vegetación nativa por los cultivos y también con las cosechas, mientras que las prácticas de labranza modifican las propiedades físicas del suelo, la fertilización incrementa el suministro de nutrientes y el riego puede originar procesos de salinización y sedimentación (McLauchlan, 2006).

En general, se ha determinado que el manejo agrícola convencional produce la pérdida de MO del suelo, que puede ir desde el 16% al 77% de MO (Knops y Tilman, 2000). Esto se debe a dos procesos principales: la disminución en la cantidad de biomasa vegetal que regresa al suelo y el aumento del proceso de descomposición inducido por el arado y el consecuente aumento de la aireación (Beheshti et al., 2012; Trasar-Cepeda et al., 2008). Los cambios en la MO del suelo pueden modificar algunas características del suelo, tales como: la densidad, estabilidad de los agregados, porosidad, biomasa microbiana y actividades enzimáticas, con lo que se altera la dinámica de los ciclos de nutrientes (Beheshti et al., 2012; Raiesi, 2012).

En varios ecosistemas, se ha reportado que el carbono orgánico total (COT) disminuye considerablemente en los suelos cultivados en comparación con los sitios naturales (García-Orenes et al., 2010; Lal, 2002; Liu et al., 2010; McLauchlan, 2006; Trasar-Cepeda et al., 2008; Zhao et al., 2005). Por otra parte, la suspensión de la actividad agrícola y el consiguiente proceso de sucesión secundaria provocan un aumento en el contenido de COT en el suelo, debido al incremento en la cantidad de biomasa vegetal que entra al suelo (Knops y Tilman, 2000; Lesschen et al., 2008; Wang et al., 2011; Zhao et al., 2005).

El proceso de sucesión secundaria posterior al abandono de las parcelas agrícolas es complejo y está influenciado por factores bióticos y abióticos, tales como: las condiciones ambientales, la dispersión de semillas y el estatus del banco de semillas, presencia de especies exóticas y la historia del uso de suelo (Lesschen et al., 2008; Morris et al., 2013). En ecosistemas áridos, la recuperación de la vegetación puede tomar al menos 40 años, por lo que se puede considerar como un proceso lento al contrastarlo con los 8 a 15 años que puede tardar en ecosistemas húmedos, principalmente tropicales (Lesschen et al., 2008; Wang et al., 2011).

El cambio de uso de suelo generado por la agricultura también tiene un efecto sobre la estructura y composición de las comunidades microbianas del suelo. Por ejemplo, se ha reportado que la conversión de bosques tropicales a parcelas agrícolas altera la composición de las comunidades microbianas (Bossio et al., 2005; Waldrop et al., 2000), lo anterior también se ha observado en la transición de matorrales desérticos a parcelas de cultivo (Ding et al., 2013). El efecto del manejo agrícola en la diversidad de las comunidades microbianas aun no es claro. Algunos trabajos han identificado una disminución en la diversidad de las comunidades (Lupwayi et al., 1998), mientras que otras investigaciones han reportado un incremento (Jangid et al., 2008), por lo que la respuesta de las comunidades es depende de las condiciones del ecosistema.

Diversos trabajos han evaluado los efectos de las prácticas agrícolas en las comunidades microbianas. Hartmann y Windmer (2006) encontraron que la diversidad de

las comunidades bacterianas no se modifica en sitios con manejo contrastante (convencional, biodinámica y orgánico); sin embargo, identificaron cambios en la estructura de las mismas. Adicionalmente, el tipo de fertilización también tiene un efecto en la composición de las comunidades; Chaudhry et al. (2012) analizaron las comunidades bacterianas en sitios fertilizados químicamente y orgánicamente, y encontraron una mayor diversidad en las comunidades de los sitios con fertilización orgánica, así como una mayor abundancia de los phyla Proteobacteria, Bacteroidetes y Gemmatimonadetes, mientras que en los sitios con fertilización mineral las Actinobacterias y Acidobacterias tuvieron una mayor abundancia.

Los efectos del manejo agrícola en las comunidades microbianas pueden persistir incluso años después de la suspensión del manejo. En un estudio previo, no se encontraron diferencias significativas entre la comunidad bacteriana de un sitio con abandono de 9 años y las comunidades en las parcelas agrícolas en uso; mientras que la comunidad de un sitio con un abandono más largo (más de 45 años) fue similar a la del sitio con vegetación nativa (Buckley y Schmidt, 2001, 2003).

## **Resistencia y resiliencia del suelo**

El suelo es un componente fundamental de los ecosistemas terrestres y es considerado como un recurso no renovable en escalas de tiempo humanas (Lal, 1993). A pesar de esto, este recurso se encuentra bajo diversas presiones externas, generalmente relacionadas con la intensificación de la producción agrícola, lo que ha ocasionado la degradación de los suelos. La degradación se refiere a los procesos, principalmente inducidos por las actividades humanas, que provocan una disminución en la calidad del suelo y afectan su capacidad de proveer diversos servicios ecosistémicos (Lal, 1993, 1997); entre los que sobresalen: el ciclaje de nutrientes, la regulación del ciclo del agua y la provisión de alimentos y materias primas (Millennium Ecosystem Assessment, 2006).

Debido a la importancia de estos servicios, ha surgido el interés de analizar los procesos que le permiten al suelo hacer frente a la degradación o a los disturbios

El análisis de la degradación del suelo se puede realizar en términos de estabilidad ecosistémica. La estabilidad de un ecosistema determina la habilidad que este tiene de mantener el equilibrio bajo condiciones cambiantes. Se ha determinado que la estabilidad ecosistémica tiene dos componentes: la resistencia que es la cantidad de cambio provocada por un disturbio y la resiliencia que se refiere a la velocidad en la que un sistema regresa a su estado pre-disturbio (Pimm, 1984). La estabilidad de un ecosistema depende de sus propiedades intrínsecas, así como de las características de la perturbación o disturbio (intensidad, duración o tamaño).

La susceptibilidad del suelo a los procesos de degradación está en función de sus características inherentes y de las condiciones climáticas. Dependiendo de la susceptibilidad que presenten los suelos pueden ser clasificados en: frágiles o estables (Lal, 1997). La primera categoría incluye suelos que son muy sensibles a las perturbaciones, inestables y que no pueden recuperarse a su estado inicial; por lo que estos suelos, se degradan fácilmente a estados poco favorables para el crecimiento de las plantas. Mientras que los suelos estables tienen la capacidad de amortiguar, resistir y recuperarse de una perturbación, es decir son resilientes (Blanco-Canqui y Lal, 2010; Lal, 1997). La resiliencia del suelo depende de sus condiciones previas al disturbio; de esta manera, se ha considerado que los suelos estructurados, profundos y con alto contenido de MO presentan mayor resiliencia (Blanco-Canqui y Lal, 2010)

Para evaluar la resiliencia y resistencia del suelo, se pueden analizar los cambios generados a partir de un disturbio en las propiedades físicas, químicas y biológicas del mismo. Estas propiedades deben de ser monitoreadas desde el principio del disturbio hasta la restauración. De manera práctica, se puede determinar la resistencia y resiliencia del suelo a un disturbio, comparando su funcionamiento con el de un suelo con vegetación nativa (Orwin y Wardle, 2004).

Diversos parámetros permiten evaluar los cambios en las propiedades del suelo. Sin embargo, se ha sugerido que los indicadores más adecuados son los bioquímicos y los

biológicos, especialmente aquellos relacionados con la dinámica de nutrientes, tales como: la respiración de suelo, la biomasa microbiana, los nutrientes disponibles y la actividad enzimática en el suelo (Laudicina et al., 2012; Trasar-Cepeda et al., 2000).

La actividad de enzimas en el suelo, es un indicador que permite identificar cambios en funciones claves, como es el caso de la descomposición de MO y la actividad de los microorganismos (Laudicina et al., 2012). Además, este indicador es sensible a diferentes prácticas agrícolas, clima, tipo de cultivo y propiedades edáficas. (Ros et al., 2003). Las actividades enzimáticas se han utilizado como indicadores en trabajos sobre la resiliencia del suelo a la adición de compuestos orgánicos tóxicos y han demostrado una rápida respuesta a la perturbación así como un proceso de recuperación con el paso del tiempo (Benitez et al., 2004).

Como ha sido mencionado, los microorganismos del suelo están involucrados en una gran variedad de funciones del ecosistema. De esta manera, la comunidad microbiana del suelo influencia directamente la estabilidad y fertilidad de los ecosistemas. Además, dado que las tasas de crecimiento de los microorganismos son rápidas, se les puede considerar como un indicador altamente sensible a las perturbaciones (Hueso et al., 2011). Por lo tanto, se pueden utilizar como indicadores las características de las comunidades microbianas, como son: la biomasa, la actividad y la composición (Laudicina et al., 2012). De manera general, se reconoce que la composición de una comunidad microbiana es resistente, si es similar a largo de una variedad de condiciones de disturbio. Mientras que se considera que una comunidad es resiliente, si tiene la habilidad de recuperarse después de haber sido alterada, por medio del crecimiento o por adaptaciones fisiológicas o genéticas (Allison y Martiny, 2008). La “hipótesis del seguro”(Loreau et al., 2002), plantea que la probabilidad de encontrar especies con la capacidad de adaptarse a condiciones cambiantes, es mayor en comunidades con mayor diversidad. Por lo tanto, las comunidades microbianas más diversas presentarán una mayor resiliencia y promoverán la estabilidad ecosistémica.

## Antecedentes

---

En los ecosistemas áridos, la disponibilidad del agua tiene un rol central afectando muchos de los procesos bióticos, ya que la producción primaria neta (PPN) está regulada por la estacionalidad de las lluvias, la precipitación media anual y la temperatura (Austin, 2011). Debido a la variación en los eventos de precipitación, se genera una dinámica de pulsos de agua que generan ciclos de condiciones húmedas y secas en el suelo, las cuales afectan la actividad de los microorganismos y en consecuencia la dinámica de los nutrientes (Austin et al., 2004). Además, los suelos de los ecosistemas áridos se han caracterizado por presentar concentraciones bajas de P.

El valle de Cuatro Ciénegas es un lugar caracterizado por ser extremadamente oligotrófico. Recientemente, se ha determinado que en este valle la concentraciones de P total en el suelo se encuentran en el rango de 70-200  $\mu\text{g g}^{-1}$ , lo cual es considerablemente menor que las concentraciones reportadas para otros ecosistemas desérticos que oscilan entre los 500-1000  $\mu\text{g g}^{-1}$  (Tapia-Torres y García-Oliva, 2013). Al contrario de lo que sucede en la mayoría de los ecosistemas desérticos, en el valle de Cuatro Ciénegas la concentración de P orgánico en el suelo es mayor que la de P inorgánico (Tapia-Torres y García-Oliva, 2013). Por tanto, es posible que el almacén de P orgánico represente la fuente principal de este nutriente para los microorganismos y las plantas. La mineralización de los compuestos de P orgánico esta mediada por las fosfatasas del suelo, tales como: fosfomonoesterasa, fosfodiesterasa, y la fosfonatasa. La fosfomonoesterasa cataliza la hidrólisis de los ésteres de fosfato en los nucleótidos y en los azúcares fosfato liberando así  $\text{PO}_4^+$  a la solución del suelo (Nannipieri et al., 2011). Existen dos tipos de fosfomonoesterasas en el suelo: ácidas o alcalinas. Las primeras son producidas por las plantas, mientras que los microorganismos sintetizan las alcalinas (Nannipieri et al., 2011). De esta manera, el análisis de la actividad de la fosfomonoesterasa alcalina en el suelo del valle de Cuatro Ciénegas, permitirá evaluar una función ecosistémica fundamental y la actividad de los microorganismos.

En el valle de Cuatro Ciénegas se ha analizado la dinámica de C, N y P en el suelo de sitios conservados (Montiel-González, 2011; Tapia-Torres, 2010) y en parcelas agrícolas abandonadas (Martínez-Piedragil, 2013). Montiel-González (2011) identificó que la dinámica de nutrientes en el suelo de un pastizal halófilo se caracteriza por una marcada estacionalidad, en la cual la disponibilidad de agua genera un aumento en la concentración de nutrientes disueltos, con lo que se favorece el proceso de mineralización, mientras que al disminuir la disponibilidad del agua se limita la productividad de las plantas y el ingreso de MO al suelo. Por otra parte, en el trabajo de Martínez-Piedragil (2013) se encontró que dos parcelas con un abandono mayor a 25 años, presentaron diferencias de cobertura vegetal, lo cual influyó en la dinámica de C, N y P en el suelo. De esta manera, en la parcela con mayor porcentaje de cobertura vegetal se encontró una mayor disponibilidad de COD y agua, estas condiciones favorecen la actividad de los microorganismos heterótrofos. Por otra parte, la parcela con poca cobertura vegetal está limitada por COD y agua, por lo que predomina la actividad de los microorganismos autótrofos y el proceso de nitrificación.

En las últimas décadas, el estudio de las comunidades de microorganismos se ha desarrollado con base en técnicas moleculares, las cuales tienen el potencial de identificar organismos que no son cultivables (Hill et al., 2000). Principalmente, se ha utilizado como marcador molecular el gen que codifica para la subunidad 16S del ARN ribosomal, esto se debe a que es un gen presente en todos los procariontes y a que su secuencia está conformada por regiones muy conservadas, así como por regiones hipervariables, lo cual permite la realización de análisis filogenéticos (Neufeld y Mohn, 2006).

La mayor parte de los estudios de las comunidades bacterianas en valle de Cuatro Ciénegas se han enfocado a los hábitats acuáticos. De esta manera, se han realizado análisis sobre los patrones de distribución de la diversidad de procariontes (Cerritos et al., 2011; Escalante et al., 2008); también hay análisis de la composición y estructura de los tapetes microbianos y estromatolitos (Bonilla-Rosso et al., 2012; Falcón et al., 2007; Peimbert et al., 2012); así mismo se han estudiado grupos de organismos específicos, como es el caso de los Firmicutes (Alcaraz et al., 2008; Moreno-Letelier et al., 2011). Con

base en estos estudios se ha determinado que las comunidades bacterianas tienen un origen marino y se caracterizan por presentar distribuciones de especies equitativas, linajes raros, diferenciación geográfica y endemismos locales (Souza et al., 2012).

El análisis de las comunidades bacterianas del suelo en el valle se ha explorado en menor medida. Sin embargo, se ha identificado que las comunidades bacterianas tienen una gran diversidad taxonómica en comparación con otros sitios desérticos (López-Lozano et al., 2012). Además, Tapia-Torres (2010) determinó que el tipo de vegetación afecta a la comunidad bacteriana del suelo y la dinámica de C, N y P, debido a que el tipo de vegetación puede controlar la disponibilidad de CO disponible en el suelo y esta fracción a su vez puede tener un efecto en los grupos bacterianos y su actividad. También se ha analizado, mediante un enfoque experimental, el proceso de sucesión secundaria microbiana. En este estudio se demostró que en dos sitios con condiciones contrastantes en relación a la humedad y los nutrientes en el suelo, las comunidades microbianas tienen un proceso de sucesión similar después de un disturbio y que después de un año no se recupera la composición original de la comunidad (López-Lozano et al., 2013).

Todos los trabajos sobre las comunidades bacterianas del suelo se han realizado en la región Oeste del Valle, donde el tipo de roca predominante es el yeso ( $\text{CaSO}_4$ ); mientras que en la porción Este del Valle, donde los suelos corresponden a calcisoles, no se han realizado trabajos que describan la composición de la comunidad bacteriana.

Como se ha mencionado anteriormente, el desarrollo de la actividad agrícola en el valle de Cuatro Ciénegas tiene diversos impactos ambientales. A pesar del rol fundamental del suelo en el ecosistema, aún se tiene poca información sobre el impacto del manejo agrícola en el mismo. Por esto, es necesario el análisis del efecto del cambio de uso de suelo agrícola en la composición de la comunidad bacteriana y en la dinámica de C, N y P. Esto permitirá describir los cambios en las características del suelo provocados por el manejo agrícola y su posterior abandono, las cuales pueden alterar el funcionamiento del ecosistema. Con este tipo de información, el presente trabajo podrá sentar las bases para el establecimiento de estrategias de conservación y restauración del suelo.

## Objetivos

---

### General

Analizar la dinámica de C, N y P y su relación con la composición de la comunidad bacteriana del suelo en un gradiente de manejo agrícola ubicado en el valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila.

### Particulares

- Determinar la concentración de los nutrientes disponibles, disueltos y contenidos en la biomasa microbiana del suelo en un gradiente de manejo agrícola.
- Cuantificar la actividad de la fosfomonoesterasa en el suelo de un gradiente de manejo agrícola.
- Determinar la composición de la comunidad bacteriana en el suelo de un gradiente de manejo agrícola.
- Analizar el efecto del cultivo de alfalfa en la resistencia y resiliencia de ciertos atributos del suelo agrícola.

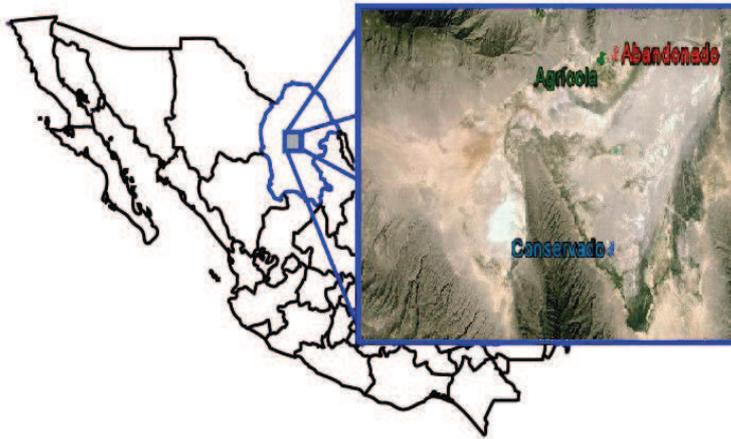
### Hipótesis

Los cambios en las características físicas y químicas del suelo debidas al manejo agrícola (fertilizantes y riego) y el posterior abandono de las parcelas agrícolas afectan los procesos involucrados en la dinámica de C, N y P, así como la composición de la comunidad bacteriana del suelo

### **Sitio de estudio**

El valle de Cuatro Ciénegas se localiza en el centro del Desierto Chihuahuense en el estado de Coahuila (Imagen 1). Este valle cuenta con una extensión aproximada de 840km<sup>2</sup>, una altitud de 740 m.s.n.m y se encuentra rodeado por montañas que alcanzan los 2500 m.s.n.m (Escalante et al., 2008; Souza et al., 2006, 2012). Su clima es muy seco, semi-cálido con pocas lluvias en invierno, la temperatura media anual es de 22 °C (Souza et al., 2004), mientras que la precipitación media anual es de 230 mm (CONAGUA, 2012). A pesar de tener un clima seco, es considerado como un oasis debido a que presenta un sistema de cuerpos de agua compuesto por manantiales, arroyos y pozas (Cerritos et al., 2011; Peimbert et al., 2012; Souza et al., 2006)

Los hábitats acuáticos y terrestres que se encuentran en este valle son extremadamente oligotróficos (Cerritos et al., 2011; López-Lozano et al., 2013; Peimbert et al., 2012) y esta característica se relaciona con la diversidad de organismos en la zona. De esta manera, se considera que el valle de Cuatro Ciénegas es el lugar con mayor diversidad endémica de América del Norte, los endemismos abarcan especies de plantas, animales y microorganismos (Peimbert et al., 2012; Souza et al., 2008). Estos últimos tienen una gran importancia ecosistémica en este sitio, dado que las comunidades formadoras de tapetes microbianos y los estromatolitos son la base de la cadena trófica (Souza et al., 2006).



**Imagen 1.** Ubicación de los sitios que integran el gradiente de manejo en el valle de Cuatrociénegas, Coahuila.

### Diseño de muestreo

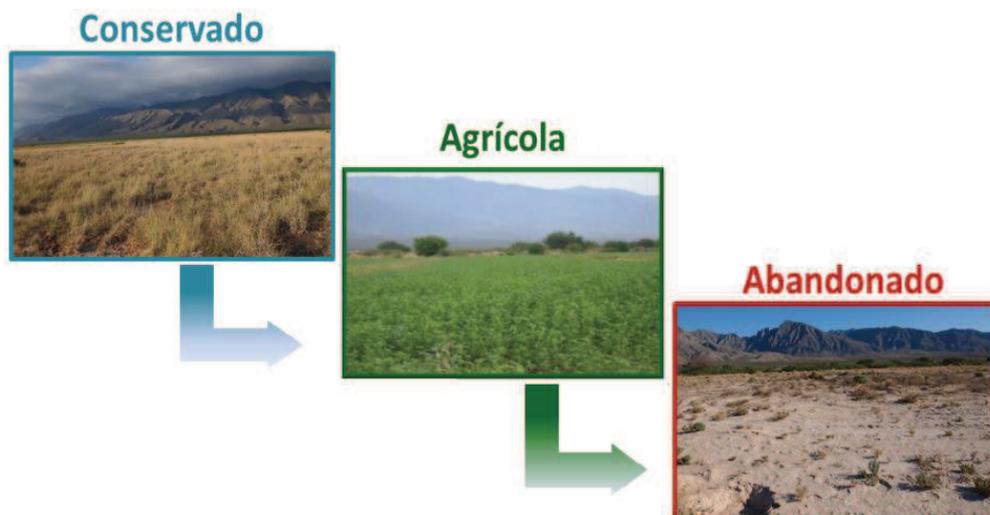
El muestreo se llevó a cabo durante el verano de 2011, en la región Este del valle donde los suelos dominantes corresponden a calcisoles. Se trabajó con un gradiente de manejo agrícola compuesto por tres sitios con características contrastantes en relación al manejo y que representan el cambio de uso de suelo provocado por la actividad agrícola (Imagen 1), los cuales se clasificaron en tres estados: abandonado, agrícola y conservado (Imagen 2). Previo a la colecta de muestras, se hicieron entrevistas semi-estructuradas a los propietarios de las parcelas, con la finalidad de identificar las prácticas agrícolas desarrolladas en cada sitio.

El sitio conservado es un pastizal halófilo, que se encuentra en los terrenos del rancho Pozas Azules perteneciente a PRONATURA ( $26^{\circ} 49' 30.55''$  latitud N  $102^{\circ} 1' 26.91''$  longitud O). En este sitio la cobertura vegetal está dominada por *Sporobolus airoides*, sin embargo el 40% del suelo no presenta vegetación (Montiel-González, 2011).

Por otra parte, el sitio agrícola corresponde a una parcela cultivada con alfalfa (*Medicago sativa*) variedad alta verde. Está ubicada en el ejido de Cuatro Ciénegas ( $26^{\circ} 58' 47.00''$  latitud N  $102^{\circ} 02' 12.88''$  longitud O) y tiene una extensión de 2.7 ha. Esta parcela ha recibido manejo agrícola desde el año de 1992 y el cultivo actual tiene una antigüedad de 3 años. Las prácticas de manejo se caracterizan principalmente por el uso

de fertilizante fosfatado granulado (MAP 11-52-00, 70 kg/ha), nitrogenado foliar (LOBI\*44, 2 kg/ha) y ocasionalmente abono orgánico. Adicionalmente, se utilizan mensualmente herbicidas (Select, Cedrus o Pivot, 1.5 L/ha) y plaguicidas (Warrior 600, 1.5 L/ha). El tipo de irrigación que recibe esta parcela es por inundación (5 522 160 L) y se realiza una vez al mes. En cuanto a la productividad, se reportó un rendimiento de 180 a 200 pacas por corte realizado mensualmente (Castillo-González, *comunicación personal*).

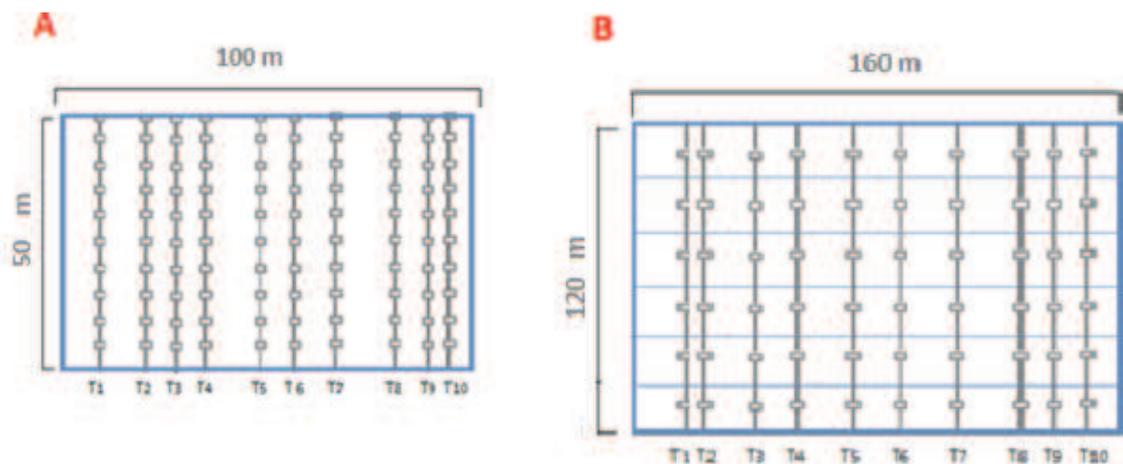
El sitio abandonado se refiere a una parcela ubicada en el ejido de Cuatro Ciénegas (26° 58' 57.5" latitud N 102° 01' 7.90" Longitud O). Esta parcela tiene aproximadamente 30 años sin recibir ningún tipo de manejo agrícola, por lo que se considera en estado de abandono. La vegetación en este sitio es escasa, ya que el 70% del suelo está desnudo; mientras que en los parches de vegetación la especie dominante es *Salicornia uttaensis*. Además, se ha reportado que la conductividad eléctrica en el suelo es de 17 milisiemens por metro (ms/m), por lo que se considera extremadamente salino (Martínez-Piedragil, 2013). El manejo agrícola previo al abandono se caracterizó por la utilización de fertilizantes químicos y riego por inundación; y los motivos que provocaron el abandono de esta parcela fueron la salinización del suelo y las fallas en el canal de riego (Sánchez-Liceaga, *comunicación personal*).



**Imagen 2.** Cambio de uso de suelo representado por los tres sitios que integran el gradiente de manejo agrícola

Para representar la heterogeneidad de los sistemas de estudio, se realizaron dos tipos de muestreo. Para coleccionar las muestras en el sitio conservado y en el sitio abandonado se estableció un cuadrante de muestreo de 100m x 50m (Imagen 3-A). El cuadrante se dividió en 10 segmentos, dentro de cada uno de ellos se trazó un transecto ubicado de manera aleatoria, de esta manera se tuvieron 10 transectos en total. En cada uno de los transectos se tomó una muestra de suelo cada 5m, con un nucleador de 7.5 cm de diámetro de los primeros 15 cm de profundidad, las cuales se mezclaron para formar una muestra compuesta por transecto ( $n=10$ ).

Para realizar la colecta de muestras en el sitio con manejo agrícola actual, se estableció un cuadrante de muestreo de 120m x 160m en la parcela (Imagen 3-B). El cuadrante se dividió en 10 segmentos dentro de los cuales se trazó un transecto ubicado de manera aleatoria, de esta manera se tuvieron 10 transectos en total. La parcela agrícola estaba dividida en 6 melgas (porciones de tierra en las cuales se siembra que se encuentran separadas por bordes) y presentó una topografía homogénea, por lo que se consideró que el sitio más representativo de cada melga era el centro de la misma. De esta manera se tomó una muestra de suelo por melga con el mismo nucleador utilizado en los otros sitios. Por lo tanto, se tomaron 6 muestras de suelo por transecto y estas se mezclaron para formar una muestra compuesta por transecto ( $n=10$ ).



**Imagen 3.** Diagrama del diseño de muestreo realizado en los sitios sin manejo agrícola actual (A) y en el sitio cultivado con alfalfa (B).

Para la realización de los análisis de actividad enzimática se tomó una alícuota de 15 g de suelo de cada una de las muestras compuestas, la cual se almacenó a 4°C hasta el su procesamiento en el laboratorio. Además, se tomó una alícuota de 15g de suelo de cada una de las muestras para formar una muestra compuesta por sitio, se almacenaron en nitrógeno líquido y posteriormente se refrigeraron a -80 °C; para utilizarse en el análisis molecular de las comunidades microbianas. El resto de las muestras se colocaron en bolsas negras y se mantuvieron refrigeradas hasta el momento de los análisis biogeoquímicos.

### **Análisis de laboratorio**

Con el propósito de realizar un análisis integral de la dinámica de nutrientes y la comunidad bacteriana en el suelo de los sitios del gradiente, en este estudio se siguieron dos estrategias de trabajo. La primera estrategia consistió en la realización de análisis de laboratorio y la segunda en la incorporación de datos provenientes de investigaciones realizadas de manera simultánea en los mismos sitios. Los análisis de laboratorio realizados se pueden dividir en tres categorías: biogeoquímicos, enzimáticos y moleculares. Los análisis biogeoquímicos y enzimáticos se hicieron en el laboratorio de Biogeoquímica de Suelos del Centro de Investigaciones en Ecosistemas, UNAM, y los moleculares en el laboratorio de Evolución Molecular y Experimental del Instituto de Ecología, UNAM. Para la caracterización de la dinámica de nutrientes del sitio abandonado se realizaron todos los análisis biogeoquímicos y enzimáticos; mientras que para el sitio agrícola y el conservado se utilizaron los datos reportados en los trabajos de Beltrán-Paz *en prep* y Tapia-Torres *en prep*, respectivamente. Los análisis moleculares de la comunidad microbiana se hicieron para los tres sitios del gradiente.

## **Análisis biogeoquímicos**

### **Humedad y pH**

El porcentaje de humedad se determinó utilizando el análisis gravimétrico, para el cual se pesó una submuestra de suelo fresco y se secó en el horno a 80 °C, durante 24 horas y finalmente se registró el peso seco. Para determinar el pH del suelo se utilizó una solución 1:10 p/v de suelo en agua desionizada y se leyó utilizando un potenciómetro digital (Thermo Scientific, modelo Orion 3star Plus) previamente calibrado.

### **Nutrientes en el suelo**

Las formas de carbono (C) contenidas en el suelo se determinaron utilizando un Analizador de Carbono Total (UIC Mod. Cm50120; Chicago, E.U.A), mientras que para la determinación de todas las formas de nitrógeno (N) y fósforo (P), a excepción del P microbiano, se utilizó un Autoanalizador Bran-Lubbe III (marca Bran-Lubbe, modelo AA3; Norderstedt, Alemania). La determinación del P contenido en la biomasa microbiana se realizó con un fotospectrómetro de UV-Visible (marca Thermo Scientific, modelo Evolution 201)

- Nutrientes disueltos

Para la extracción de las formas de C, N y P inorgánicas disueltas (CID, NID Y PID), es decir las formas de estos nutrientes que pueden estar disueltas en agua, se pesó una sub muestra de 20g de suelo fresco, a la que se le adicionó 80ml de agua desionizada. Posteriormente, se agitó por 30 minutos a baja velocidad y se filtró por Whatman No. 42  $\mu\text{m}$  (Jones & Willett, 2006), a continuación se filtró al vacío en membranas millipore de 0.45  $\mu\text{m}$ . Del extracto obtenido se leyó el CID y el carbono total disuelto (CTD), para el primero se utilizó el módulo de acidificación CM513 con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N, y para el segundo el módulo para líquidos (UIC-COULOMETRICS), ambos del analizador de carbono. El NID ( $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ ) y el PID ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) se leyeron con el autoanalizador Bran-Lubbe III.

Para determinar el N y P total disuelto (NTD Y PTD) se tomaron 25 ml del extracto anterior, el cual fue digerido con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 250 °C. Posteriormente, se adicionaron 25 ml de agua desionizada, se neutralizó, aforó a 50 ml y filtró a través de Whatman # 1. Finalmente, se leyeron como  $\text{NH}_4^+$  y ortofosfatos en el autoanalizador. Las formas orgánicas disueltas de C (COD), N (COD), Y P (POD) se determinaron por la diferencia entre el total disuelto y el inorgánico disuelto de cada nutriente ( $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^+$ ).

- Nutrientes disponibles

La extracción de las formas inorgánicas de N ( $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ ) se hizo a partir de 10 g de muestras frescas con KCl 2N, los extractos obtenidos se filtraron a través de papel Whatman # 1. Para la determinación se utilizó el método colorimétrico del hipoclorito-fenol (Robertson et al., 1999)

El P inorgánico disuelto ( $\text{PO}_4^+$ ) se obtuvo por el método de fraccionamiento secuencial (Hedley et al., 1982). La extracción se realizó con  $\text{NaHCO}_3$  0.5M que se agregó a 1g de suelo fresco y la solución se agitó por 16 horas a 150 rpm. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 3500 rpm y el sobrenadante se filtró a través de papel Whatman # 42.

Con la finalidad de separar la fase orgánica de la inorgánica, se dejó en refrigeración el extracto durante 12 horas. Posteriormente, se tomó una alícuota de la parte superior del extracto refrigerado y se le agregó HCl 5M para que se desgasificara. Después se neutralizó y aforó a 25 ml con agua desionizada y finalmente se determinó el P disponible con un autoanalizador Bran-Lubbe III.

- Nutrientes en biomasa microbiana

Esta fracción se refiere a la cantidad de C, N y P que está contenida en la biomasa microbiana presente en el suelo. Para determinar estas concentraciones se utilizó el método de extracción-fumigación con cloroformo (Vance et al., 1987). En este método se trabajó con duplicados de cada muestra, una fumigada con cloroformo y otra no fumigada, todas las muestras se incubaron durante 24 horas a 25°C y humedad constante.

Para determinar el C y N microbiano se realizó una extracción con 80 ml de  $K_2SO_4$  que se agregó a las muestras, tanto fumigadas, como no fumigadas. La solución se agitó y filtró a vacío por membranas millipore de  $0.45\mu m$ . Se tomó una alícuota de los extractos obtenidos para determinar las fracciones de C y el resto se sometió a una digestión ácida para obtener el N microbiano.

El C total microbiano (CTM) de las muestras fumigadas y no fumigadas se determinó por el método coulométrico. Para obtener el C inorgánico microbiano (CIM) se utilizó el módulo de acidificación CM513 con  $H_2SO_4$  2N y el C orgánico microbiano se calculó con la diferencia de CTM menos CIM.

Como se mencionó anteriormente, para obtener la concentración de N se realizó una digestión de los extractos con  $H_2SO_4$  y  $CuSO_4$  como catalizador a  $300\text{ }^\circ C$ . Posteriormente, se filtró en Whatman # 1 y finalmente se determinó el N microbiano por el método colorimétrico en el autoanalizador Bran-Lubbe III.

El P microbiano se obtuvo por medio de una extracción realizada a las muestras previamente sometidas a fumigación e incubación. El extractante utilizado fue  $NaHCO_3$  0.5 M a pH 8.5, que se agregó a las muestras y a continuación la solución se agitó a baja velocidad por 16 horas. Posteriormente, se centrifugó a 6000 rpm y el sobrenadante se filtró por Whatman #42. Al extracto obtenido se le realizó una digestión con ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) 11M y persulfato de amonio ( $(NH_4)_2S_2O_8$ ) al 50%, en una autoclave a  $121\text{ }^\circ C$  durante una hora. Finalmente, se neutralizó con NaOH y se aforó a 25 ml con agua desionizada. La determinación de la concentración de P microbiano se hizo por el método de colorimetría, para el que se utilizó un sistema reductor con ácido ascórbico ( $C_6H_8O_6$ ) y antimonio (Sb) como catalizador y se leyó utilizando un espectrofotómetro a una  $\lambda$  de 882nm.

Las concentraciones finales de C, N y P microbiano se calcularon con la siguiente ecuación y se utilizaron diferentes coeficientes de extracción para cada nutriente: 0.45 para el caso de  $C_{mic}$  (Joergensen, 1996), 0.54 para el  $N_{mic}$  (Joergensen y Mueller, 1996) y para el  $P_{mic}$  0.4 (Hedley et al., 1982).

$$[\ ]_{mic} = \frac{[\ ]_{fumigado} - [\ ]_{sin\ fumigar}}{Coeficiente\ de\ extraccion}$$

### **Análisis enzimáticos**

El método para medir la actividad de la fosfomonoesterasa en el suelo, se basa en una determinación espectrofométrica del p-nitrofenol liberado por gramo de suelo por unidad de tiempo, cuando el suelo es incubado con un sustrato (pNP-fosfato) en una solución buffer (Bob sinsabaugh Lab, 1994; Baldrian,2009; Fioretto 2009)

Para realizar este método, se pesó una sub muestra de 2 g de suelo fresco a la que se le adicionaron 30 ml de MUB (Modiffed Universal Buffer), con un pH correspondiente al del suelo de cada sitio, y se agitó por 30 min. Posteriormente, se tomaron 670 µl del homogenizado anterior y 670 µl del sustrato unido a p-Nitrofenol y se incubó durante 1 h 15 min. Para cada ensayo se utilizó un control del sustrato y un control de la muestra. Después de la incubación, las muestras se centrifugaron a 10,000 rpm durante 2 min. A continuación se tomó un alícuota de 750 µl del sobrenadante a la que se le adicionaron 75 µl de NaOH 1N y 2 ml de agua y la mezcla se agitó. Finalmente se determinó la absorbancia con un espectrofotómetro a una  $\lambda$  de 410 nm.

### **Análisis moleculares**

#### **Extracción y purificación de ADN**

La extracción de ADN genómico de las muestras de suelo se realizó por triplicado para cada uno de los sitios y se utilizó el método de extracción de ácidos nucleicos de muestras ambientales por medio de columnas de centrifugación de hidroxapatita (Purdy et al., 1996). Este método tiene cuatro etapas principales: la lisis celular, el aislamiento, la purificación y la precipitación.

El proceso de lisis celular es mecánico y se llevó a cabo por medio de agitación de micro esferas “*bead beating*”. Para provocar la lisis de las células se mezclaron 500 mg de

suelo fresco, el mismo volumen de perlas de vidrio, 600 µl de buffer de fosfatos (fosfato de sodio 120 mM pH 8, 1% (p/v) PVPP), 400 µl de fenol pH 8 y 40 µl de SDS 20%. La mezcla se agitó tres veces a 50 Hz por 30 segundos (TissueLyser LT, Qiagen), con intervalos de 30 segundos de reposo en hielo entre cada agitación. Después, se centrifugó a 13000 rpm por un minuto y se extrajo la fase acuosa, mientras que el sedimento se lavó con 500 µl de fosfato de sodio 120 mM pH 8 y se repitieron los pasos de agitación-reposo, centrifugación y extracción de la fase acuosa mencionados anteriormente.

Para aislar el ADN obtenido mediante el proceso de lisis, el extracto se colocó en la columna de hidroxiapatita y se centrifugó a 1500 rpm durante dos minutos. Después, se lavó la columna tres veces con 500 µl de fosfato de sodio 120 mM pH 7.2, entre cada lavado se hizo una centrifugación a 1500 rpm por 2 minutos. Para eluir el ADN de la columna, se agregaron 400 µl de fosfato dipotásico 150 mM pH 7.2 y a continuación se centrifugó nuevamente siguiendo las condiciones anteriores. La purificación de ADN se realizó al colocar el eluyente en una columna de Sephadex, una vez que la columna fue cargada se centrifugó a 6000 rpm por 8 minutos y el ADN fue colectado.

Para precipitar el ADN se agregó 0.1 vol. de acetato de sodio 3M, 2.5 vol. de etanol frío al 100% y 2 µl de Glycoblue, la mezcla se colocó a 20°C durante 2 horas. Posteriormente, se centrifugó a 13000 rpm durante 10 minutos y el sobrenadante se retiró por aspiración, obteniendo una pastilla de ADN. Después, se le agregó 1 ml de etanol frío al 70% a la pastilla, se centrifugó a 1300rpm por 2 minutos y nuevamente se quitó el sobrenadante. A continuación se dejó secar la pastilla por 30 minutos, luego se resuspendió en 20 µl de agua libre de RNAsas y finalmente se almacenó a -20°C. El tamaño y calidad del ADN extraído se verificó por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1 %.

### **Amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

A partir del ADN extraído de las muestras de suelo de cada sitio, se amplificó el gen 16s rRNA por medio de la reacción en cadena de la polimerasa. Se utilizaron los *primers* universales 27 F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') y 1492 R (5' GGTTACCTTGTTACGACTT

3'). Para cada sitio se realizaron tres ensayos independientes de PCR, todas las reacciones se hicieron de la siguiente manera: buffer 1 x PCR, 0.2 mM de la mezcla de dNTP, 2 mM de MgSO<sub>4</sub>, 0.2 μM de cada uno de los primers, DMSO 5%, 1 unidad de Taq polimerasa (Platinum Taq HighFidelity, *Invitrogen*) y 2 μl de ADN. El programa del PCR fue el siguiente: 94°C por 5 minutos; después 30 ciclos de 94° C por 1 minuto, 52°C por 1 minuto y 72°C por 1 min 20 seg, y una extensión final de 30 minutos a 72°.

Las tres amplificaciones de cada uno de los sitios se mezclaron y se visualizaron por medio de electroforesis en un gel de agarosa al 1%; posteriormente se extrajo la banda del tamaño correspondiente (1500 pb) con el Kit Qiaquick gel extraction de *Qiagen*, siguiendo las indicaciones del fabricante.

### **Librerías de clonas**

Previó a la clonación, los productos del PCR se poliadenilaron por medio de la siguiente reacción: 100 ng del producto de PCR, 1 unidad de taq, buffer 1x con MgCl<sub>2</sub> y 166 μM de dATP que se incubó 15 minutos a 72°C.

La clonación de los productos de PCR se hizo en el vector pCR2.1 con el kit Topo TA cloning (*Invitrogene*), siguiendo las indicaciones del fabricante. A continuación, se realizó la transformación de las células competentes de *E. coli* por medio de un shock térmico. Las células transformantes se sembraron en placas de agar de medio LB con ampicilina y se incubaron a 37°C por 12 horas. Posteriormente, se seleccionaron las colonias transformadas y se sembraron en placas con medio LB 2x con Kanamicina y se incubaron a 37°C a 320 rpm por 24 horas. Finalmente, se extrajeron las células y purificaron los plásmidos con el Kit Montage Plasmid MiniPre (*Millipore*), siguiendo el protocolo del fabricante.

## Secuenciación

Los plásmidos purificados se secuenciaron en el Instituto de Biología, UNAM, utilizando como base el primer 27F. El secuenciador analizó el ADN marcado con fluorescencia por medio de electroforesis capilar, siguiendo el método de Sanger.

## Análisis Bioinformáticos

La evaluación de la calidad de las secuencias así como la eliminación del vector de clonación y primers se realizó con el programa Phred (Erwing y Green, 1998). Posteriormente, se utilizó el programa Mothur (Schloss et al., 2009) para procesar, agrupar y clasificar las secuencias. La identificación de quimeras se hizo con el comando *chimera.uchime* tomando como templado la base SILVA, las secuencias identificadas como quimeras se eliminaron de los análisis posteriores. Para realizar el alineamiento se utilizó el algoritmo NAST (Nearest Alignment Space Termination) y se tomó como templado la base del SILVA del gen 16S rRNA, después se hizo un filtro de las columnas compuestas únicamente por gaps con el comando *filter.seqs*, la longitud final de las secuencias fue de 1398 bases. Posteriormente, se calculó una matriz de distancia genética entre pares de secuencias, con la cual se determinaron las unidades taxonómicas operacionales (OTUs), utilizando el método del vecino más lejano (Furthest neighbor) al 3%, por lo tanto las secuencias dentro de un OTU son a lo sumo 3% diferentes entre sí. Además, se calcularon los índices de Simpson y Shannon (H), el estimador de riqueza de Chao y las curvas de rarefacción para cada uno de los sitios. Con base en la matriz de distancias genéticas, se realizó un diagrama de similitud entre sitios basado en el índice Bray-Curtis. Finalmente, se hizo la asignación taxonómica de las secuencias, por medio del método Wang, tomando la base de datos SILVA como referencia.

## Índices de resistencia y resiliencia

Los valores de resistencia y resiliencia de las variables biogeoquímicas y la actividad de la fosfomonoesterasa se determinaron con base en los índices propuestos por Orwin y Warde (2004). Para calcular los índices se consideró como control el suelo del sitio conservado, mientras que el disturbio correspondió al suelo de la parcela agrícola y el sitio abandonado se utilizó para determinar la resiliencia de las variables después de 30 años de manejo agrícola.

La resistencia (RS) definida como la capacidad de soportar un disturbio (Pimm, 1984) se estimó de la siguiente manera:

$$RS = 1 - \frac{2 |D_0|}{(C_0 + |D_0|)}$$

Dónde:

$C_0$ : valor de la variable en el suelo control.

$D_0$ : es la diferencia entre el valor de la variable en el suelo control ( $C_0$ ) y con disturbio ( $P_0$ ).

Este índice arroja valores que van de 1 a -1, siendo 1 la máxima resistencia (disturbio no tuvo efecto en la variable analizada). Un valor de 0 indica el aumento o reducción del 100% en la variable analizada. Si el valor de  $P_0$  es mayor que  $2C_0$  el índice arrojará valores negativos.

La resiliencia que se define como la velocidad con la que un sistema regresa al estado que tenía antes del disturbio (Pimm, 1984), fue determinada con la siguiente fórmula:

$$RL = \frac{2 |D_0|}{(|D_0| + |D_x|)} - 1$$

Dónde:

$D_0$ : es la diferencia entre el valor de la variable en el suelo control ( $C_0$ ) y con disturbio ( $P_0$ ).

$D_x$ : la diferencia entre el control ( $C_0$ ) y el suelo con disturbio al tiempo  $x$  ( $P_x$ )

Este índice está estandarizado por la cantidad de cambio causado por el disturbio, ya que esto determina el estado del que se tiene que recuperar. El índice arroja valores entre -1 y 1. El valor de 1 indica máxima resiliencia (recuperación total). El valor de 0 puede indicar que el suelo en el tiempo  $x$  no se ha recuperado en lo absoluto desde el disturbio o que al tiempo  $x$  la variable analizada está a la misma distancia con respecto al control en tiempo del disturbio, pero en dirección opuesta. Se obtendrán valores de índices negativos si el valor absoluto de  $D_x$  es mayor que el valor de  $D_0$ .

### **Análisis estadísticos**

Se utilizó el programa R versión 2.10.1 (R Core Development Team 2009) para realizar todos los análisis estadísticos. Por medio de pruebas de análisis de varianza de una vía (ANOVA) se determinó la significancia de las diferencias en las variables biogeoquímicas y en la actividad de la fosfomonoesterasa entre los sitios del gradiente, se tomó como factor el sitio y tuvo tres niveles: conservado, agrícola y abandonado. Previo al análisis, todos los datos se transformaron a *Log*, a excepción de la humedad cuya transformación fue *arcsen*, y posteriormente se evaluaron los supuestos de normalidad de los datos y homogeneidad de varianza por medio de las pruebas de Shapiro-Wilk y Flinger-Killeen, respectivamente. Cuando se obtuvieron diferencias significativas se realizó una prueba *a posteriori* de comparación múltiple de Tukey. En caso de que los datos no cumplieran los supuestos se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (en la librería *Pgirmess*).

Con la finalidad de explorar las posibles relaciones entre las variables se hizo un análisis de correlación de Pearson. También se realizó un análisis de componentes principales (en la librería *Vegan*) en el que se incluyeron los nutrientes disponibles, disueltos, contenidos en la biomasa microbiana y la actividad de la fosfomonoesterasa.

## Resultados

---

### Formas dinámicas de nutrientes y actividad de la fosfomonoesterasa

El porcentaje de humedad en el suelo fue significativamente diferente en las tres parcelas de estudio. La parcela agrícola presentó el mayor porcentaje de humedad, que representa casi el doble del porcentaje que se reportó para la parcela conservada y que es cuatro veces mayor que el de la parcela abandonada (Tabla 1). Así mismo, el pH del suelo tuvo diferencias significativas entre los sitios del gradiente. Se determinó que los valores de pH de la parcela conservada y abandonada tienden a ser alcalinos, mientras que el pH de la parcela agrícola se acerca a valores neutros (Tabla 1).

**Tabla 1.** Medias (error estándar) del porcentaje de humedad y pH en los sitios del gradiente. La letra supernumérica indica diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

	<b>Conservado</b>	<b>Agrícola</b>	<b>Abandonado</b>
Porcentaje de humedad	12.44 <sup>A</sup> (±0.16)	21.17 <sup>B</sup> (±0.11)	5.73 <sup>C</sup> (±0.15)
pH	8.47 <sup>A</sup> (±0.03)	7.94 <sup>B</sup> (±0.04)	8.82 <sup>C</sup> (±0.04)

Los nutrientes potencialmente solubles con diferencias significativas fueron el COD (carbono orgánico disuelto),  $D\text{-NH}_4^+$  (amonio disuelto) y POD (fósforo orgánico disuelto) (Tabla 2.) El COD fue diferente en los tres sitios, la mayor concentración se presentó en el suelo del sitio con manejo agrícola y la menor se presentó en suelo del pastizal (conservado). En los valores de  $D\text{-NH}_4^+$  y POD se identificó un patrón en el cual la parcela agrícola fue significativamente diferente de la parcela conservada y de la abandonada, mientras que no se presentaron diferencias entre estas dos últimas. La concentración de  $D\text{-NH}_4^+$  fue mayor en los sitios sin manejo agrícola actual (conservado y abandonado) en comparación con el sitio cultivado con alfalfa. Por otra parte, los valores más altos de POD se presentaron en la parcela agrícola (Tabla 2).

La fracción de nitrógeno orgánico disuelto (NOD) no presentó diferencias significativas, sin embargo la parcela agrícola tiende a tener una menor concentración de este nutriente. No fue posible determinar la concentración de fósforo inorgánico disuelto (PID) en los tres sitios. El único cociente de las formas orgánicas potencialmente solubles con diferencias significativas fue el C:N, el cual fue diferente entre los tres sitios del gradiente, siendo la parcela agrícola la que presentó el cociente más alto y la parcela conservada presentó el valor más bajo.

**Tabla 2.** Medias (error estándar) de los formas potencialmente solubles ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) y los cocientes entre nutrientes en los sitios del gradiente. La letra supernumérica indica diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

	Conservado	Agrícola	Abandonado
<b>Parámetro</b>			
COD	9.59 <sup>A</sup> ( $\pm 2.27$ )	116.13 <sup>B</sup> ( $\pm 9.31$ )	38.88 <sup>C</sup> ( $\pm 6.58$ )
D-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.68 <sup>A</sup> ( $\pm 0.17$ )	0.03 <sup>B</sup> ( $\pm 0.01$ )	0.77 <sup>A</sup> ( $\pm 0.14$ )
NOD	7.67 ( $\pm 0.83$ )	6.64 ( $\pm 0.16$ )	13.57 ( $\pm 3.51$ )
PID	0	0	0
POD	1.13 <sup>A</sup> ( $\pm 0.30$ )	14.66 <sup>B</sup> ( $\pm 0.20$ )	2.08 <sup>A</sup> ( $\pm 0.76$ )
<b>Cocientes</b>			
C:N	1.31 <sup>A</sup> ( $\pm 0.31$ )	17.65 <sup>B</sup> ( $\pm 1.56$ )	5.15 <sup>C</sup> ( $\pm 1.32$ )
C:P	9.44 ( $\pm 6.37$ )	7.91 ( $\pm 0.59$ )	12.51 ( $\pm 7.42$ )
N:P	4.24 ( $\pm 1.77$ )	0.45 ( $\pm 0.01$ )	3.22 ( $\pm 2.41$ )

COD: carbono orgánico disuelto, D-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: amonio disuelto, NOD: nitrógeno orgánico disuelto, PID: fósforo inorgánico disuelto, POD: fósforo orgánico disuelto. ND: no determinado

Todas las formas de nutrientes disponibles en el suelo presentaron diferencias significativas entre tratamientos. El suelo de la parcela agrícola tuvo la concentración más alta de amonio disponible (Dp- NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) y fue significativamente diferente de las concentraciones correspondientes a las parcelas que no tienen manejo agrícola actual, las cuales no presentaron diferencias entre sí. Para el caso del nitrato disponible (Dp-NO<sub>3</sub>), la mayor concentración se presentó en la parcela abandonada y fue cuatro veces mayor que

el valor que se obtuvo para la parcela agrícola. La concentración de P disponible (Dp-P) más alta correspondió al suelo de la parcela conservada y fue casi 10 veces mayor que la concentración de parcela agrícola, mientras que la parcela abandonada tuvo la concentración más baja de este nutriente; sin embargo no hubo diferencias estadísticas entre estos dos últimos. (Tabla 3).

**Tabla 3.** Medias (error estándar) de las formas de nutrientes disponibles ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) en los sitios del gradiente. La letra supernumérica indica diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

	Conservado	Agrícola	Abandonado
<b>Parámetro</b>			
Dp-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1.64 <sup>A</sup> (±0.08)	3.51 <sup>B</sup> (±0.40)	1.55 <sup>A</sup> (±0.13)
Dp-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0 <sup>A</sup>	4.91 <sup>B</sup> (±0.41)	18.16 <sup>C</sup> (±1.30)
Dp-P	0.096 <sup>A</sup> (±0.015)	0.010 <sup>B</sup> (±0.002)	0.004 <sup>B</sup> (±0.001)

Dp-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: amonio disponible, Dp-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: nitratos disponibles, Dp-P: fósforo inorgánico disponible.

La concentración de C en la biomasa microbiana del suelo (Cmic) presentó nuevamente el patrón en el cual la parcela agrícola fue significativamente diferente de la parcela abandonada y de la conservada, mientras que estas dos no tuvieron diferencias entre sí; el Cmic en la parcela cultivada con alfalfa fue cuatro veces mayor en comparación con el sitio conservado y abandonado.

Con respecto al N contenido en la biomasa microbiana, se determinó que los tres sitios del gradiente presentan diferencias significativas, el suelo de la parcela agrícola presentó la mayor concentración de este nutriente en biomasa microbiana, por otra parte la menor concentración se encontró en la parcela abandonada.

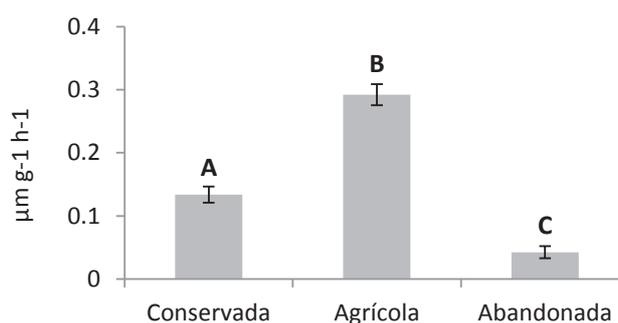
En cuanto a la fracción de P microbiano (Pmic), las diferencias se presentaron entre el sitio agrícola, con mayor concentración de este nutriente, y el sitio conservado, con menor concentración, mientras que el sitio abandonado no fue diferente de estos dos. Únicamente el cociente N:P tuvo diferencias significativas entre sitios. Los sitios sin manejo agrícola no fueron diferentes entre sí, sin embargo el sitio con cultivo de alfalfa fue mayor que los otros dos sitios.

**Tabla 4.** Medias (error estándar) de la concentración de nutrientes en la biomasa microbiana del suelo en los sitios del gradiente. La letra supernumérica indica diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

	Conservado	Agrícola	Abandonado
<b>Parámetro</b>			
Cmic	108.73 <sup>A</sup> (±12.59)	450.79 <sup>B</sup> (±68.34)	144.73 <sup>A</sup> (±29.24)
Nmic	13.80 <sup>A</sup> (±1.34)	95.30 <sup>B</sup> (±23.59)	4.48 <sup>C</sup> (1.00)
Pmic	1.95 <sup>A</sup> (±0.41)	5.88 <sup>B</sup> (±1.21)	3.20 <sup>AB</sup> (±0.48)
<b>Cocientes</b>			
C:N	8.13 (±0.89)	9.00 (±2.30)	23.37 (±6.98)
C:P	42.01 (±9.60)	99.80 (±17.50)	56.60 (±13.33)
N:P	5.28 <sup>A</sup> (±1.13)	33.23 <sup>B</sup> (±16.45)	1.67 <sup>A</sup> (±0.34)

Cmic: carbono microbiano, Nmic: nitrógeno microbiano, Pmic: fósforo microbiano

La actividad de la fosfomonoesterasa en el suelo presentó diferencias significativas entre los tres sitios que conforman el gradiente. En el suelo de la parcela agrícola se presentó la mayor actividad de esta enzima ( $0.292, \pm 0.017$ ), la cual fue más del doble de la actividad reportada en la parcela conservada ( $0.134, \pm 0.013$ ), mientras que en el suelo de la parcela abandonada se presentó la menor actividad de esta enzima ( $0.043, \pm 0.009$ )



**Gráfico 1.** Medias y error estándar de la actividad de la fosfomonoesterasa ( $\mu\text{m g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) en el suelo de las tres parcelas de estudio.

En la Tabla 5 se presentan los resultados del análisis de correlación de Pearson que se realizó con las siguientes variables: humedad, pH, formas activas de nutrientes

(disueltas, disponibles y microbianas) y la actividad de la fosfomonoesterasa. Por medio de este análisis se determinó que la humedad y pH son las variables que tienen más correlaciones significativas con el resto de variables analizadas.

**Tabla 5.** Coeficiente de correlación de Pearson para la Humedad, pH, actividad de la fosfomonoesterasa, formas disponibles, disueltas y microbianas de C, N y P. Con color rojo se indican las correlaciones significativas ( $p < 0.05$ )

	Hum	pH	COD	D-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NOD	POD	Dp-NH <sub>4</sub> <sup>*</sup>	Dp-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Dp-P	Cmic	Nmic	Pmic	Fosf
<b>Hum</b>	1												
<b>pH</b>	-0.95	1											
<b>COD</b>	0.69	-0.70	1										
<b>D-NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	-0.58	0.59	-0.46	1									
<b>NOD</b>	-0.40	0.46	-0.12	0.21	1								
<b>POD</b>	0.85	-0.85	0.88	-0.65	-0.37	1							
<b>Dp-NH<sub>4</sub><sup>*</sup></b>	0.72	-0.68	0.65	-0.41	-0.23	0.72	1						
<b>Dp-NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	-0.62	0.59	-0.01	0.19	0.46	-0.19	-0.21	1					
<b>Dp-P</b>	-0.02	0.09	-0.51	0.27	-0.17	-0.44	-0.27	-0.61	1				
<b>Cmic</b>	0.66	-0.68	0.79	-0.43	-0.24	0.74	0.70	-0.09	-0.32	1			
<b>Nmic</b>	0.65	-0.70	0.52	-0.46	-0.22	0.66	0.67	-0.18	-0.20	0.44	1		
<b>Pmic</b>	0.42	-0.41	0.68	-0.32	-0.21	0.57	0.39	-0.01	-0.30	0.62	0.15	1	
<b>Fosf</b>	0.93	-0.88	0.65	-0.58	-0.40	0.84	-0.76	-0.52	-0.11	0.64	0.62	0.30	1

Hum: humedad, COD: carbono orgánico disuelto, D-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: amonio disuelto, NOD: nitrógeno orgánico disuelto, POD: fósforo orgánico disuelto, Dp-NH<sub>4</sub><sup>\*</sup>: amonio disponible, Dp-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: nitratos disponibles, Dp-P: fósforo inorgánico disponible, Cmic: carbono microbiano, Nmic: nitrógeno microbiano, Pmic: fósforo microbiano, Fosf: actividad de la fosfomonoesterasa

La humedad del suelo se correlacionó de manera positiva con el COD, POD, NH<sub>4</sub> disponible, la actividad de la fosfomonoesterasa y los nutrientes contenidos en la biomasa microbiana (C, N y P), además tuvo correlación negativa con el pH, las formas de N disuelto (NOD y D-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) y el Dp-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

El pH del suelo se correlacionó de manera negativa con las formas orgánicas disponibles de C y P, el Dp-NH<sub>4</sub><sup>\*</sup>, los nutrientes contenidos en la biomasa microbiana (C, N y P) y la actividad de la fosfomonoesterasa; también correlacionó de manera positiva con las formas disueltas de N, y el Dp-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Tabla 5).

El COD presentó correlaciones positivas con el POD, Dp-NH<sub>4</sub>, la actividad de la fosfomonoesterasa y los nutrientes contenidos en la biomasa microbiana (C, N y P). Esta fracción de carbono también tuvo relaciones negativas con el D-NH<sub>4</sub>\* y el Dp-P (Tabla 5).

Las formas de N disueltas en el suelo correlacionaron de la siguiente forma: el NH<sub>4</sub>\* presentó correlaciones negativas con el POD, Dp-NH<sub>4</sub>\*, la actividad de la fosfomonoesterasa, C y N microbiano; mientras que el NOD correlacionó negativamente con el POD y la fosfomonoesterasa y positivamente con el NO<sub>3</sub><sup>-</sup> disponible (Tabla 5).

El POD se relacionó de manera negativa con el P disponible, y de manera positiva con el NH<sub>4</sub>\* disponible, los nutrientes contenidos en la biomasa microbiana (C, N y P) y la actividad de la fosfomonoesterasa (Tabla 5). Por otra parte, el NH<sub>4</sub> disponible tuvo relaciones positivas con C, N y P contenidos en la biomasa microbiana y la actividad de la fosfomonoesterasa, mientras que el NO<sub>3</sub><sup>-</sup> disponible presentó correlaciones negativas con el Dp-P y la actividad de la fosfomonoesterasa (Tabla 5).

Los nutrientes contenidos en la biomasa microbiana correlacionaron de la siguiente manera: el Cmic tuvo relaciones positivas con el N y el P microbianos y la actividad de la fosfomonoesterasa, mientras que el Nmic se correlacionó positivamente con la actividad de la fosfomonoesterasa y finalmente el Pmic presentó una correlación positiva con la fosfomonoesterasa (Tabla 5)

El análisis de componentes principales determinó que los dos primeros componentes (PC1 y PC2) explicaron el 70.6% de la varianza total observada en las variables; de este porcentaje el 55% corresponde al primer componente y el 17.3% restante corresponde al segundo componente. En el primer componente, las variables de más peso fueron el POD y humedad de manera positiva, y de manera negativa el pH y D-NH<sub>4</sub>. Mientras que en el segundo componente las variables de mayor peso fueron el Dp-P de manera negativa y el Dp-NO<sub>3</sub> y NOD positivamente (Tabla 6).

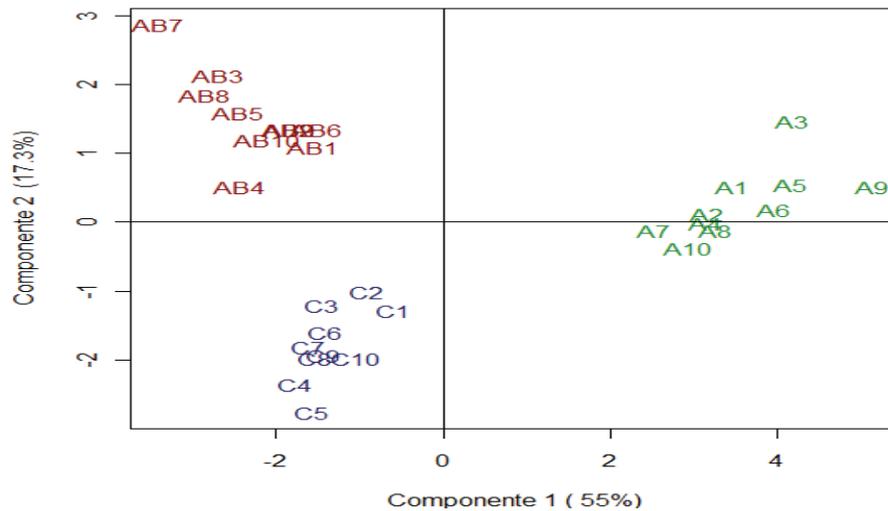
**Tabla 6.** Porcentaje de la varianza que se explica por los dos primeros componentes y el peso de las variables analizadas en los mismos. Con negritas se indican las variables de mayor importancia en cada componente

	<b>PC1</b>	<b>PC2</b>
Desviación estándar	2.67	1.49
Proporción de la varianza	55%	17.3%
Proporción acumulada	55%	72.3%
<i>Eigenvector</i>		
Humedad	<b>0.34</b>	-0.18
pH	<b>-0.34</b>	0.16
COD	0.31	0.26
D-NH <sub>4</sub>	<b>-0.24</b>	-0.03
NOD	-0.15	<b>0.31</b>
POD	<b>0.35</b>	0.11
Dp-NH <sub>4</sub>	0.30	0.05
Dp-NO <sub>3</sub>	-0.14	<b>0.57</b>
Dp-P	-0.10	<b>-0.56</b>
Cmic	0.30	0.16
Nmic	0.26	-0.01
Pmic	0.21	0.22
Fosfomonoesterasa	0.33	-0.14

COD: carbono orgánico disuelto, D-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: amonio disuelto, NOD: nitrógeno orgánico disuelto, POD: fósforo orgánico disuelto, Dp-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: amonio disponible, Dp-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: nitratos disponibles, Dp-P: fósforo inorgánico disponible, Cmic: carbono microbiano, Nmic: nitrógeno microbiano, Pmic: fósforo microbiano, Fosf: fosfomonoesterasa

En el gráfico 2 se muestra la ordenación de las muestras de los tres sitios en los dos primeros componentes. En el primer componente, que corresponde al eje x, se observó que las muestras de la parcela agrícola se distribuyen principalmente en los valores positivos y se separan de las muestras de la parcela conservada y abandonada las cuales se distribuyen en los valores negativos del eje. En el segundo componente (eje y), se observan diferencias entre la ordenación de las muestras de los tres sitios que conforman el gradiente; las muestras de la parcela abandonada se distribuyen en los valores positivos del eje, mientras que la parcela conservada se ubican en la parte negativa y las muestras de la parcela conservada están en valores alrededor del cero. Por medio de ANOVAs y

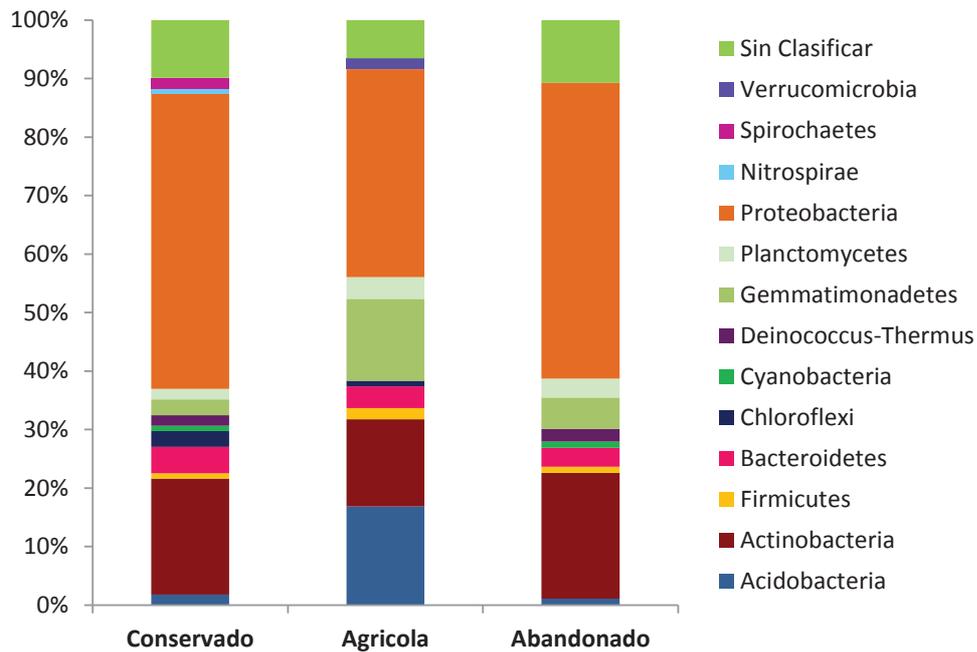
pruebas *a posteriori* de Tukey se determinó que en ambos componentes (PC1 y PC2), los tres sitios del gradiente presentan diferencias significativas entre sí ( $p < 0.05$ .)



**Gráfico 2.** Ordenación de las muestras de suelo del sitio conservado (C), agrícola (A) y abandonado (AB) en los dos primeros componentes.

### Composición de la comunidad bacteriana del suelo

Se obtuvieron 111 secuencias para el sitio conservado, las cuales se distribuyeron en 12 phyla y 19 clases. El phylum con el mayor porcentaje de secuencias asignadas fue Proteobacteria con 50.5%, de las clases Alphaproteobacteria (23.4%), Gammaproteobacteria (15.3%), Betaproteobacteria (8.1%) y Deltaproteobacteria (2.7%). Seguido del phylum Actinobacteria que representó el 19.8% del total de secuencias. Los siguientes phyla se encontraron en menor abundancia: Bacteroidetes (4.5%), Gemmatimonadetes y Chloroflexi 2.7% respectivamente, Deinococcus-Thermus, Acidobacteria, Spirochaetes y Planctomycetes con 1.8% cada uno. Mientras que los phyla con la menor abundancia fueron Nitrospirae, Firmicutes y Cyanobacteria (0.9%). El 9.9% de las secuencias no se pudo asignar taxonómicamente a un phylum (Gráfico 3).

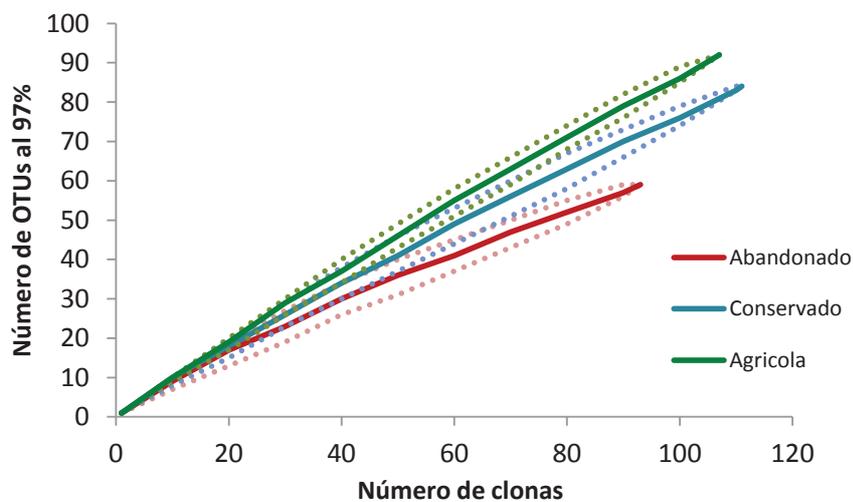


**Gráfico 3.** Abundancia relativa de los phyla presentes en cada uno de los tres sitios del gradiente de manejo

En el sitio agrícola se obtuvieron 107 secuencias que se asignaron a 9 phyla y 14 clases. El phylum Proteobacteria presentó la mayor cantidad de secuencias asignadas con 35.5%, siendo las clases más abundantes Alphaproteobacteria (16.8%) y Gammaproteobacteria (10.3%) y las de menor abundancia Betaproteobacteria (5.6%) y Deltaproteobacteria (2.8). Los siguientes phyla en abundancia fueron Acidobacteria (16.8%), Actinobacteria (15%) y Gemmatimonadetes (14%). En menor proporción se encontraron los phyla Bacteroidetes y Planctomycetes con 3.7% cada uno, Verrucomicrobia y Firmicutes con 1.9 % respectivamente, y finalmente con el 0.9% se encontró el phylum Chloroflexi. El 6.5 % de las secuencias no pudieron ser clasificadas (Gráfico 3.)

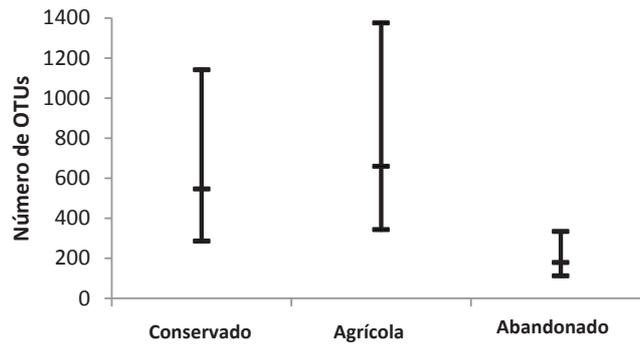
En el sitio abandonado se analizaron 93 secuencias, que se distribuyeron en 9 phyla y 12 clases. Nuevamente, al phylum Proteobacteria le correspondió el mayor número de secuencias (50.5%), de las cuales las clases Alphaproteobacteria y Gammaproteobacteria tuvieron un 18.3% respectivamente; mientras que las clases

Betaproteobacteria (11.8%) y Deltaproteobacteria (2.2%) se encontraron con menor proporción. El siguiente phylum en orden de abundancia fue Actinobacteria con 21.5%, seguido de Gemmatimonadetes (5.4%) y con 3.2% los phyla Bacteroidetes y Planctomycetes. En menor abundancia se encontró Deinococcus-Thermus (2.2%) y por último cada uno de los siguientes phyla represento el 1.1%: Acidobacteria, Cyanobacteria y Firmicutes. Las secuencias sin asignación taxonómica representaron el 10.8% (Gráfico 3.)



**Gráfico 4.** Curvas de rarefacción (IC 95%) de OTUs al 97% de similitud para cada sitio.

Las curvas de rarefacción de los OTUs de los sitios del gradiente no alcanzaron la asíntota, lo cual indica que se requiere un mayor esfuerzo de muestreo, sin embargo las pendientes presentaron diferencias. La parcela agrícola tuvo la mayor pendiente, mientras que la menor correspondió a la parcela abandonada, por tanto, la primera podría presentar mayor número de OTUs (Gráfico 4.). De igual manera, el estimador Chao indicó que en el sitio agrícola se puede esperar el mayor número de OTUs (659), mientras que en el conservado la riqueza de OTUs esperada es de 547. Sin embargo, con un intervalo de confianza (IC) de 95% no hay diferencias entre la riqueza esperada en estos dos sitios, finalmente el número de OTUs estimados para la parcela abandonada fue 179 (Gráfico 5).

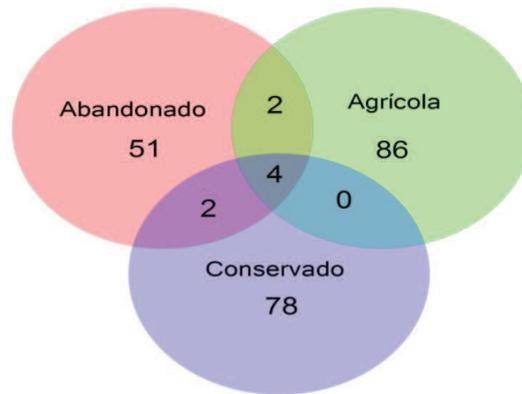


**Gráfico 5.** Riqueza OTUs esperada (IC 95%), con base en el estimador de Chao

Con base en los índices de Simpson (D) y Shannon (H), se determinó que la comunidad bacteriana en el suelo de la parcela abandonada fue poco equitativa ( $D=0.025$ ,  $H=3.8$ ), es decir está dominada por pocos OTUs, los cuales se asignaron al phylum Proteobacteria, principalmente del orden Pseudomonadales y Burkholderiales. Por otra parte, las comunidades de los sitios agrícola y conservado son más equitativas ( $D=0.04$ ,  $H=4.4$  y  $D=0.013$ ,  $H=4.2$  respectivamente).

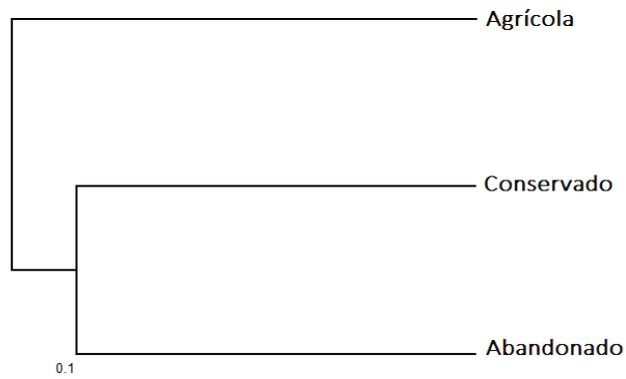
Se obtuvo un total de 307 secuencias a lo largo del gradiente, las cuales se agruparon en 223 OTUs al 97% de similitud. En la parcela agrícola se registró la mayor cantidad de OTUs (92), seguida por el sitio conservado con 84 y la menor riqueza de OTUs (59) correspondió a la parcela abandonada (Figura 1).

Se determinó que los tres sitios del gradiente comparten 4 OTUs, los cuales se asignaron taxonómicamente a proteobacterias de las clases Rhizobiales, Pseudomonadales, Burkholderiales y Xanthomonadales. Además se identificó que la parcela abandonada comparte 2 OTUs con cada uno de los sitios restantes; los OTUs que tiene en común con la parcela agrícola asociaron al orden Actinobacteria y Acidobacteriales, mientras que los OTUs compartidos con el sitio conservado correspondieron a la clase Alphaproteobacteria de los órdenes Rhizobiales y Rhodobacterales. Finalmente, ningún OTU se compartió únicamente entre el sitio agrícola y el conservado (Figura 1.)



**Figura 1.** Diagrama de Venn en el cual se representa el número de OTUs únicos y compartidos entre los sitios del gradiente de manejo agrícola.

Por medio del índice Bray-Curtis se determinó la similitud entre la composición de la comunidad en los diferentes sitios. Las comunidades bacterianas del sitio conservado y abandonado tuvieron mayor similitud entre sí, mientras que la comunidad del sitio conservado fue diferente de estas dos (Fig 2)



**Figura 2.** Similitud entre las comunidades de OTUs al 97% de los sitios del gradiente, basada en el algoritmo de Bray-Curtis.

## Resistencia y resiliencia

Con base en los índices de resistencia y resiliencia calculados se evaluó el efecto del manejo agrícola en suelo del sitio conservado. Se determinó que los atributos del

suelo analizados tienen una resistencia mínima al disturbio provocado por las actividades agrícolas, dado que los valores del índice son negativos o cercanos a 0, a excepción del NOD y el pH este último fue la variable con el valor de resistencia más alto (Tabla 7).

En cuanto a los valores de resiliencia del sistema después a 30 años del abandono de la actividad agrícola, se encontró que los nutrientes en la biomasa microbiana, el POD, COD y  $\text{NH}_4^+$  muestran una tendencia a retornar a su estado original. Sin embargo, ninguna de las variables tuvo un valor de resiliencia de 1, es decir ninguna de las variables analizadas ha regresado a sus condiciones originales a 30 años de la suspensión de las prácticas agrícolas (Tabla 7).

**Tabla 7.** Media (error estándar) de los valores resistencia y resiliencia de las variables biogeoquímicas y la actividad de la fosfomonoesterasa.

<b>Variable</b>	<b>Resistencia</b>	<b>Resiliencia</b>
<b>Humedad</b>	0.18 ( $\pm 0.02$ )	0.13 ( $\pm 0.03$ )
<b>pH</b>	0.88 ( $\pm 0.01$ )	0.20 ( $\pm 0.12$ )
<b>COD</b>	-0.81 ( $\pm 0.06$ )	0.61 ( $\pm 0.06$ )
<b>NOD</b>	0.54 ( $\pm 0.08$ )	-0.28 ( $\pm 0.18$ )
<b>POD</b>	-0.84 ( $\pm 0.04$ )	0.81 ( $\pm 0.06$ )
<b><math>\text{NH}_4^+</math></b>	0.04 ( $\pm 0.15$ )	0.42 ( $\pm 0.16$ )
<b><math>\text{NO}_3^-</math></b>	-1.00 ( $\pm 0.00$ )	-0.57 ( $\pm 0.03$ )
<b><math>\text{PO}_4^+</math></b>	0.08 ( $\pm 0.02$ )	-0.04 ( $\pm 0.02$ )
<b>Cmic</b>	-0.43 ( $\pm 0.09$ )	0.56 ( $\pm 0.13$ )
<b>Nmic</b>	-0.45 ( $\pm 0.16$ )	0.56 ( $\pm 0.15$ )
<b>Pmic</b>	-0.28 ( $\pm 0.17$ )	0.37 ( $\pm 0.13$ )
<b>Fosf</b>	-0.06 (0.10)	0.25 ( $\pm 0.12$ )

COD: carbono orgánico disuelto,  $\text{D-NH}_4^+$ : amonio disuelto, NOD: nitrógeno orgánico disuelto, POD: fósforo orgánico disuelto,  $\text{NH}_4^+$ : amonio disponible,  $\text{NO}_3^-$ : nitratos disponibles,  $\text{PO}_4^+$ : fósforo inorgánico disponible, Cmic: carbono microbiano, Nmic: nitrógeno microbiano, Pmic: fósforo microbiano, Fosf: fosfomonoesterasa

### **Análisis general del efecto del cambio de uso de suelo provocado por el cultivo de alfalfa**

El gradiente analizado en este trabajo representa el cambio de uso de suelo provocado por el desarrollo agrícola en el valle de Cuatro Ciénegas, de esta manera los sitios que integran el gradiente presentaron coberturas vegetales diferentes.

El sitio conservado es un pastizal halófilo, se ha establecido que en ecosistemas con este tipo de vegetación la disponibilidad de agua y nutrientes son los principales factores que limitan el crecimiento de las plantas (Jamieson et al., 1998). La producción de la alfalfa para forraje por medio de agua rodada ha provocado el cambio de la cobertura vegetal natural, sustituyendo principalmente los pastizales por alfalfares en el valle de Cuatro Ciénegas (CONANP, 2007).

La alfalfa es una leguminosa perenne, por lo que el manejo se caracteriza por el corte de la biomasa aérea de la planta para ser utilizada como forraje, mientras que las raíces permanecen en crecimiento continuo. Por esta razón, los cultivos de leguminosas perennes requieren poca labranza del suelo, generando así un mayor contenido de carbono orgánico total (COT) en el suelo en comparación con los cultivos anuales (Bell et al., 2012; Franzluebbers, 2009; Sainju y Lenssen, 2011). Adicionalmente, se ha reportado un incremento en la biomasa y actividad de los microorganismos del suelo en los cultivos de leguminosas en comparación con los cultivos anuales; esto se debe al crecimiento continuo de raíces, a las entradas de C vía rizodeposición y a las condiciones de poco disturbio en el suelo (Sainju y Lenssen, 2011).

En zonas áridas, la cantidad de agua que se evapora es mucho mayor a la que entra al sistema por precipitación (Barica, 1972; Laity, 2008). Esta característica desencadena un proceso, llamado iluviación, en el cual el agua se mueve por capilaridad a través del perfil del suelo, provocando que las sales solubles se acumulen en la superficie

del mismo (Li et al., 2009; Pan et al., 2012; Rietz y Haynes, 2003). El exceso de sales en el suelo, interfiere con el crecimiento de las plantas y por lo tanto, afecta su productividad (Chhabra, 2004). Debido a la degradación del suelo provocada por el proceso de salinización, los sistemas de cultivo requieren de grandes entradas de fertilizantes para mantener cosechas rentables (Paz et al., 2006). En los alfalfares del ejido de Cuatro Ciénegas, el proceso de salinización del suelo se acelera debido a la irrigación por inundación que reciben los cultivos y a las condiciones climáticas, de esta manera la salinización de los suelos agrícolas provoca la disminución de la fertilidad de las parcelas y el posterior abandono de las mismas.

Previamente se señaló que una de las consecuencias principales del cambio de uso de suelo agrícola es la disminución del COT del suelo, mientras que la suspensión de las prácticas agrícolas promueve un aumento de COT. En el gradiente de manejo se identificó una tendencia opuesta, el sitio conservado presentó una concentración de COT (mg/g) de 5.9 (Montiel-González, 2011), mientras que la parcela de alfalfa tuvo 21.7 (Beltrán-Paz *en prep.*) y en el suelo de la parcela abandonada se reportó una concentración de 8.2 (Martínez-Piedragil, 2013).

La transformación del sitio conservado a agrícola provocó un aumento del 267% en la concentración de COT en el suelo. Es posible que el aumento de COT se deba a que las prácticas de manejo que realizan en la parcela agrícola incluyen poca labranza y utilización de fertilizantes orgánicos (McLauchlan, 2006). Además, en zonas áridas la escasa precipitación provoca una distribución de vegetación natural dispersa y concentrada en parches, lo que limita la entrada de MO al suelo; mientras que en los cultivos agrícolas, el proceso de irrigación y la fertilización promueven una vegetación homogénea, la cual genera mayores entradas de C al suelo, aun a pesar de la recolección de cosechas (Li et al., 2009; Yang et al., 2013), sobre todo en cultivos perennes como la alfalfa.

Por otra parte, con el abandono de la actividad agrícola se generó una disminución del 62% en la fracción de COT. La pérdida de COT se puede atribuir a que la productividad del sistema agrícola depende de grandes entradas de fertilizantes y agua por lo que al

detener las entradas de insumos el sistema agrícola no puede mantener sus condiciones de fertilidad y por una reducción en la cobertura vegetal. En la parcela abandonada, solamente el 30% del suelo tiene vegetación, lo cual reduce la entrada de MO al suelo. Finalmente, el sitio abandonado tiene 38% más COT que el pastizal natural, el incremento se puede considerar como un legado del manejo agrícola previo (McLauchlan, 2006).

### **Dinámica de C, N y P en un gradiente de manejo agrícola**

Las prácticas agrícolas como la irrigación, labranza, rotación de cultivos uso de pesticidas y aplicación de fertilizantes modifican las características del suelo y en consecuencia, inducen cambios en la dinámica de nutrientes. En el gradiente de manejo analizado en este trabajo, la humedad y el pH son variables que explican un porcentaje alto de la varianza entre los tres sitios. Como se esperaba, el suelo de la parcela agrícola presentó el porcentaje de humedad más alto, debido al riego por inundación. Adicionalmente, se identificó un proceso de acidificación en el suelo de la parcela agrícola, el cual se puede atribuir principalmente a tres factores: el uso de fertilizantes químicos, la lixiviación de las sales y el tipo de cultivo (Chesworth, 2008). La utilización de fertilizantes nitrogenados promueve el proceso de nitrificación en el cual se libera  $H^+$  y en consecuencia disminuye el pH (Moore et al., 2000). Así mismo, el riego continuo provoca que las sales acumuladas en los horizontes superficiales del suelo se lixivien a horizontes profundos reduciendo así los cationes alcalinos, tales como  $Ca^+$  y  $Mg^+$ . El cociente C:N en el sitio conservado fue 59 (Montiel-González, 2011) y en agrícola 9.3 (Beltrán-Paz, *en prep.*), lo cual indica que la alfalfa se encuentra extremadamente enriquecida de N. De esta manera, la vegetación del sitio agrícola retorna más N al suelo, lo cual puede generar un incremento en el proceso de nitrificación y por lo tanto un exceso de cargas positivas ( $H^+$ ) que acidifican el suelo.

En los sitios sin manejo agrícola actual el pH es alcalino, lo cual es característico de suelos calcáreos, mientras que el porcentaje de humedad es bajo en comparación con la

parcela agrícola. En ecosistemas áridos, la humedad del suelo depende en gran medida de la precipitación, la cual fue de 36 mm en el año del muestreo (Montiel-González, *comunicación personal*). Esta cantidad equivale al 15% de la precipitación media anual. La definición de sequía de la FAO (2007) propone que este proceso sucede cuando la cantidad de precipitación está por debajo de la media, con base en esta definición podemos sugerir que el sistema se encontraba en un periodo de sequía al tiempo de muestreo. Lo anterior puede explicar que los valores de humedad del sitio conservado y abandonado sean menores a los reportados previamente para estos sitios (Martínez-Piedragil, 2013; Montiel-González, 2011).

La materia orgánica (MO) del suelo es la fuente principal de los nutrientes esenciales para las plantas y los microorganismos (Paul, 2007), la estructura de la vegetación del ecosistema controla la cantidad, calidad y composición de la MO (Kögel-Knabner, 2002). En los ecosistemas áridos, la producción primaria neta está regulada por la disponibilidad de agua, la cual depende de la estacionalidad de las lluvias, la precipitación media anual y la temperatura (Austin, 2011). Considerando el estado de sequía en el que se encontraba nuestro sistema de estudio, podemos sugerir que tanto en el sitio conservado, como en el abandonado, la productividad de las plantas y en consecuencia el ingreso de MO, estuvo limitado por la baja disponibilidad de agua. Mientras que en el sitio agrícola, la irrigación inhibió el efecto negativo de la sequía en la productividad de las plantas y en las entradas de MO. Además, la utilización de abonos orgánicos en esta parcela puede aumentar la incorporación de MO y de esta manera, generar un aumento en la concentración de C orgánico (Vineela et al., 2008).

Para que la MO del suelo pueda ser utilizada por los microorganismos se requiere del proceso de despolimerización, que se refiere a la fragmentación de partículas orgánicas complejas a compuestos sencillos de bajo peso molecular, este proceso está mediado por reacciones de oxidación e hidrólisis. Nuestros datos muestran una correlación positiva entre la humedad y las concentraciones de COD y POD en el suelo; lo cual puede sugerir que en el sitio agrícola, la mayor disponibilidad de agua permite la

hidrólisis de MO lábil, mientras que en los sitios donde hay menor disponibilidad de agua este proceso se restringe.

El COD es un sustrato de fácil mineralización y se ha propuesto como un indicador del C disponible para los microorganismos del suelo (García-Orenes et al., 2010; Lundquist et al., 1999). Se ha propuesto un mecanismo que describe cómo la disponibilidad de COD puede regular la actividad de los microorganismos y las transformaciones de N; en el cual la disponibilidad de COD favorece la actividad de los heterótrofos que lo utilizan como energía y son capaces de mineralizar NOD generando  $\text{NH}_4^+$ , el cual queda disponible en la solución del suelo, y promoviendo la inmovilización de N en biomasa microbiana. Por otro lado, cuando el COD es limitante, se promueve el proceso de nitrificación realizado por microorganismos autótrofos, los cuales utilizan el  $\text{NH}_4^+$  como fuente de energía, en esta condición disminuye la inmovilización de N (Montaño et al., 2007).

En el gradiente de manejo, el COD tuvo una correlación positiva con el  $\text{NH}_4^+$  disponible y el N microbiano. Lo anterior sugiere que en la parcela agrícola, en donde se encontró la concentración más alta de COD, hay una mayor actividad de los microorganismos heterótrofos que pueden mineralizar el NOD para satisfacer sus necesidades y producir  $\text{NH}_4^+$  que queda disponible; además estas condiciones permiten una mayor inmovilización de N en la biomasa microbiana. En los sitios limitados por COD, se esperaba una mayor actividad de los microorganismos autótrofos, la cual se reflejaría en un aumento de  $\text{NO}_3^-$  como producto de la nitrificación. Sin embargo esta tendencia se observó únicamente en el sitio abandonado; mientras que en el sitio conservado no se detectó  $\text{NO}_3^-$ , a pesar de presentar la concentración más baja de COD en el gradiente. Sin embargo, la concentración de N contenido en la biomasa microbiana del sitio conservado fue mayor a la del sitio abandonado, lo cual indica que hay una mayor inmovilización de este nutriente en el pastizal. El incremento de N inmovilizado puede estar asociado a una mayor producción de solutos, principalmente formados por aminoácidos como prolina, glutamina y glicina, lo cual le permite a los microorganismos reducir su potencial hídrico y así evitar la deshidratación en periodos de sequía (Belnap et al., 2005; Schimel et al., 2007).

Para que el P pueda ser adquirido por los microorganismos y las plantas necesita estar en forma inorgánica. El proceso de mineralización de POD se lleva a cabo de manera extracelular por medio de enzimas que catalizan la hidrólisis de los enlaces éster-fosfato, conocidas como fosfatasas (Nannipieri et al., 2011). Las bacterias, hongos y plantas pueden sintetizar fosfatasas y su producción puede depender de la demanda de P o de la disponibilidad nutrientes, energía y agua (Allison y Vitousek, 2005).

La actividad de la fosfomonoesterasa correlacionó positivamente con el COD, POD y la humedad, lo anterior puede sugerir que en el gradiente de manejo, la producción de esta enzima depende de la disponibilidad de energía y agua. De esta manera, la mayor actividad de la fosfomonoesterasa en la parcela agrícola se debe a que existen las condiciones necesarias para su producción. Por otra parte, la baja actividad encontrada en la parcela abandonada se puede deber a que las condiciones de energía y agua no son aptas para la síntesis de la enzima y además la actividad de la enzima puede ser inhibida por la extrema salinidad del suelo (Egamberdieva et al., 2011; Saviozzi et al., 2011).

A pesar de que la biomasa microbiana representa un porcentaje bajo de la MO del suelo, tiene un rol importante en los ciclos biogeoquímicos, ya que actúa simultáneamente como fuente y almacén de nutrientes (Vineela et al., 2008). Los cambios en el contenido de C orgánico están asociados con cambios en la biomasa microbiana y su actividad en el suelo (Vineela et al., 2008; Wardle, 1992). En este trabajo encontramos una correlación positiva entre el COD y los nutrientes contenidos en la biomasa microbiana ( $C_{mic}$ ,  $N_{mic}$  y  $P_{mic}$ ), lo anterior puede sugerir que la disponibilidad de COD promueve el crecimiento de los microorganismos principalmente heterótrofos, ya que lo utilizan como fuente de energía.

A lo largo del gradiente de manejo, los cocientes C:N:P de la biomasa microbiana fueron diferentes. El cociente del sitio conservado fue 42:5:1, el de la parcela agrícola 100:33:1 y en la parcela abandonada fue 57:2:1. Con base en una revisión de las concentraciones de  $C_{mic}$ ,  $N_{mic}$  y  $P_{mic}$  en diversos ecosistemas naturales, Cleveland y Liptzin (2007) propusieron que el cociente general C:N:P de la biomasa microbiana del

suelo es 60:7:1; el cual es similar a los cocientes de los sitios sin manejo agrícola, sin embargo en la parcela cultivada con alfalfa se modifican completamente las relaciones estequiométricas de los microorganismos. Lo anterior puede sugerir que el manejo agrícola modifica la manera en que las comunidades microbianas utilizan los nutrientes.

### **Composición de la comunidad bacteriana en un gradiente de manejo agrícola**

Las comunidades bacterianas del suelo son de gran importancia en el funcionamiento de los ecosistemas terrestres dado que regulan el ciclaje de nutrientes a través de la descomposición de la MO (Falkowski et al., 2008). Diversos factores bióticos y abióticos pueden alterar la diversidad, actividad y abundancia de las bacterias del suelo. Específicamente en regiones áridas, los principales factores son: la temperatura, la radiación UV, la vegetación, la disponibilidad de nutrientes y agua (Andrew et al., 2012; Clark et al., 2009; Cregger et al., 2012; Kim et al., 2013).

La transformación de los ecosistemas naturales a sistemas agrícolas provoca cambios en los factores bióticos y abióticos del suelo y de esta manera, se afecta a los microorganismos y los procesos en los que intervienen (García-Orenes et al., 2010). La riqueza y composición son atributos de la microbiota con los que se puede analizar el efecto del manejo agrícola.

Las curvas de rarefacción elaboradas para cada uno de los sitios del gradiente mostraron que el número de secuencias analizadas fue insuficiente para abarcar la riqueza total a nivel de OTUs al 3% de similitud, lo cual es común en comunidades altamente diversas e indica que se requiere una mayor intensidad de muestreo (Madsen, 2011). Resultados similares fueron reportados en el trabajo de López-Lozano et al. (2013), ya que tampoco pudieron describir la riqueza total de las bacterias del suelo en la región oeste del valle, a pesar de utilizar la metodología de pirosecuenciación, la cual permite la determinación de secuencias de ADN a gran escala (Madsen, 2011). Sin embargo, con base en las diferencias entre las pendientes de las curvas de rarefacción de cada uno de

los sitios del gradiente y en el estimador de diversidad de Chao, podemos sugerir que la riqueza de las bacterias se modifica con el cambio de uso de suelo provocado por el manejo agrícola.

Por ejemplo, la transición del pastizal nativo a la parcela de alfalfa provocó incremento en la riqueza de OTUs, lo cual se puede deber a un incremento en el número de nichos relacionado con la mayor abundancia de nutrientes y agua en el sitio agrícola. Esta tendencia se ha reportado previamente en comunidades microbianas de regiones desérticas (Köberl et al., 2011; Wang et al., 2012). En la investigación de Köberl et al. (2011), el aumento de OTUs en las zonas agrícolas es casi del doble en comparación con el desierto, nuestros resultados sugieren que el incremento en la riqueza de OTUs en el sitio agrícola del gradiente es más discreto, esto se puede atribuir a que las comunidades bacterianas en el valle de Cuatro Ciénegas son más diversas que las observadas en otros desiertos (López-Lozano et al., 2012). Por otra parte, con el abandono de la actividad agrícola se observó una disminución en la riqueza de la comunidad bacteriana que puede estar asociada al estrés osmótico provocado por la extrema salinidad que restringe a los organismos que pueden sobrevivir en este sitio, así como la reducción en la disponibilidad de energía y nutrientes (Dilfuza y Wirth, 2011; Keshri et al., 2013).

El análisis taxonómico de la composición de la comunidad bacteriana reveló que los phyla presentes en el gradiente de manejo corresponden a grupos comúnmente encontrados en el suelo (Janssen, 2006). Además, las comunidades de los tres sitios estuvieron dominadas por el phylum Proteobacteria, el cual agrupa bacterias con una gran diversidad de estrategias metabólicas (Madigan et al., 2008). La dominancia de esta división se ha reportado previamente en comunidades bacterianas del suelo en zonas cultivadas (Buckley y Schmidt, 2003; Chaudhry et al., 2012; Yin et al., 2010) y en desiertos (Chanal et al., 2006). Dentro de este phylum se encuentran organismos que realizan funciones claves en la dinámica de nutrientes. En los tres sitios se encontraron en abundancia miembros de la clase Alphaproteobacteria y Betaproteobacteria, la primera incluye bacterias con la capacidad de fijar  $N_2$  y en la segunda se encuentran las bacterias nitrificantes (Madigan et al., 2008; L. Zhang y Xu, 2008). En la comunidad de la parcela

abandonada presentó el mayor porcentaje de Betaprotobacterias, lo cual puede estar asociado con la predominancia del proceso de nitrificación en este sitio. Adicionalmente, a lo largo del gradiente se identificaron bacterias con la capacidad de solubilizar P, tales como: *Pseudomonas*, que se encuentran dentro de las Gammaproteobacteria, y bacterias de la familia Alcaligenaceae.

El phylum Actinobacteria también fue dominante en las comunidades de los tres sitios, este phylum incluye bacterias importantes en el ciclaje de C, ya que participan en la descomposición de celulosa y quitinas. Sin embargo, en el sitio agrícola la abundancia de este phylum disminuyó. Acosta-Martínez et al. (2008) han sugerido que este puede ser un cambio típico en la composición de microbios cuando sucede la transformación de pastizal a sistema agrícola. La disminución de este phylum en el sitio agrícola, puede estar asociada al incremento en las concentraciones de COD y POD, ya que la ausencia de estos organismos puede limitar la descomposición y en consecuencia generar una acumulación de estas fracciones.

Los cambios en la abundancia de ciertos grupos en las comunidades bacterianas de los sitios del gradiente se pueden asociar a modificaciones en las características del suelo generadas por el manejo agrícola. Por ejemplo, las Acidobacterias tuvieron una mayor representación en la comunidad del sitio agrícola, en el cual se registró el pH más bajo de los sitios del gradiente, trabajos previos han reportado que la mayor abundancia de este grupo de bacterias ocurre en ambientes con pH ácido (Jones et al., 2009; Yin et al., 2010). Como se mencionó en la sección anterior, el proceso de acidificación del suelo en la parcela agrícola se da como consecuencia de las prácticas de manejo utilizadas en la producción de alfalfa.

Las costras biológicas del suelo, son comunidades formadas por la asociación bacterias, algas, y hongos, las cuales se encuentran en la capa superficial del suelo. Son de especial importancia en las zonas áridas puesto que fijan tanto C como N y se ha determinado que las Cyanobacterias son los organismos más abundantes de estas comunidades (Li et al., 2012). Además se ha demostrado que las costras tienen una alta

resistencia a la sequía, altas temperaturas y radiación, sin embargo, son muy sensibles a los disturbios físicos (Belnap, 2001). Por lo tanto, la ausencia del phylum Cyanobacteria en el sitio agrícola sugiere que las prácticas de manejo, principalmente la labranza, provocan la pérdida de la costra biológica que domina normalmente en el suelo del desierto.

Como ya hemos mencionado ampliamente, el valle de Cuatro Ciénegas se caracteriza por ser oligotrófico razón por la que las bacterias han desarrollado estrategias para hacer frente a la limitación de P (Alcaraz et al., 2008; Tapia-Torres y García-Oliva, 2013). Las bacterias del phylum Gemmatimonadetes se identificaron en los tres sitios del gradiente, estos organismos tienen la capacidad de almacenar P en forma de polifosfatos (H. Zhang et al., 2003), lo cual les permite tener una fuente de P inorgánico para satisfacer sus necesidades metabólicas (Dao, 2011). Adicionalmente, se identificaron bacterias del género *Bacillus* y *Arthrobacter*, las cuales tienen la capacidad de sintetizar fosfatasas, que permiten la mineralización de la fracción de P orgánico (Nannipieri et al., 2011).

El análisis de Bray-Curtis reveló que las comunidades bacterianas de los sitios conservado y abandonado tienen una composición similar, mientras que la composición de la comunidad en el sitio agrícola difiere de estas dos. Esto probablemente se debe a que el manejo agrícola cambia todas las condiciones ambientales y que la suspensión del manejo promueve la recuperación de algunas de las condiciones originales, por lo tanto la comunidad bacteriana se asemeja más al pastizal natural. El cambio en la composición de las comunidades bacterianas, del suelo generado por la conversión de los ecosistemas a zonas agrícolas se ha identificado previamente (Buckley y Schmidt, 2001, 2003; Ding et al., 2013; Wang et al., 2012) y se asocia a modificaciones de las propiedades del suelo provocadas por las prácticas de manejo.

El efecto del cambio de uso de suelo fue evidente en los grupos extremófilos, como es el caso del phylum Deinococcus-Thermus, que incluye bacterias con diferentes adaptaciones como resistencia a la desecación, radiación ultravioleta, altas temperaturas y concentración de sales (Nienow, 2009). En este trabajo encontramos que este grupo se

pierde con la transformación del sitio natural al agrícola, lo cual ha sido reportado (Köberl et al., 2011); sin embargo, con el abandono de la actividad agrícola éste grupo vuelve a estar presente en el suelo. Esta recuperación se debe a que las condiciones ambientales, como la baja disponibilidad de agua y COD, son similares a las del pastizal natural.

### **Resiliencia y resistencia de propiedades del suelo de un pastizal halófilo al cambio de uso de suelo agrícola**

La capacidad del suelo de resistir a las diferentes perturbaciones, tanto naturales como antropogénicas, depende de su estabilidad. La estabilidad tiene dos componentes: la resistencia y resiliencia (Pimm, 1984). Estos componentes determinan si los suelos pueden mantener su funcionamiento y sus características bajo condiciones cambiantes, o bien, si son vulnerables a procesos de degradación (Lal, 1997).

Con base en la determinación de índices, evaluamos la resistencia y resiliencia de las propiedades biogeoquímicas del suelo de un pastizal natural al cambio de uso de suelo provocado por el cultivo de alfalfa. Cada una de las propiedades biogeoquímicas analizadas fue sensible al disturbio y después de 30 años del abandono de la actividad agrícola, ninguna variable recuperó su estado original. Por lo tanto, el suelo del pastizal tiene poca resistencia y resiliencia al cambio de uso de suelo agrícola, siendo un sistema frágil.

La estructura de la comunidad bacteriana del suelo del pastizal natural también se modificó por el cambio de uso de suelo y después de 30 años de abandono no recuperó su condición original. Principalmente, se identificó una disminución de la diversidad en la comunidad de la parcela abandonada en comparación con la del sitio conservado, de acuerdo con la teoría del seguro (Loreau et al., 2002), las comunidades menos diversas tienen una menor capacidad de resiliencia.

Se ha establecido que la resiliencia del suelo depende de sus características previas al disturbio (Blanco-Canqui y Lal, 2010). Por ejemplo, tienen mayor resiliencia los suelos que cuentan con contenidos altos de MO. Además, los suelos de climas húmedos tienen una mayor capacidad de recuperación a los disturbios, en comparación con los suelos de climas secos. Esto es debido a que los suelos de zonas secas tienen disponibilidad de agua

por periodos cortos de tiempo y por tanto, se reduce la velocidad de la transformación de los nutrientes en el suelo. Adicionalmente, la cobertura vegetal también influye en la resiliencia de los suelos, ya que funciona como protección a los procesos de erosión (Blanco-Canqui y Lal, 2010). Considerando lo anterior, la fragilidad del pastizal analizado está asociada a su condición de ecosistema desértico. De esta manera, este sitio tiene una mayor susceptibilidad a la degradación del suelo en comparación con otros ecosistemas, por ejemplo, los bosques tropicales que presentan una mayor precipitación y cobertura vegetal.

### **Modelo de la dinámica de C, N y P y composición de la comunidad microbiana en un gradiente de manejo**

En el sitio agrícola, las prácticas de manejo, como el riego y la utilización de fertilizantes, generan condiciones de mayor disponibilidad de agua y nutrientes (COD y POD) en el suelo, las cuales favorecen la actividad de los microorganismos heterótrofos. De esta manera, se promueve el proceso de mineralización e inmovilización de N en la biomasa microbiana; así como la mineralización de POD que está mediada por la fosfomonoesterasa (Fig 3).

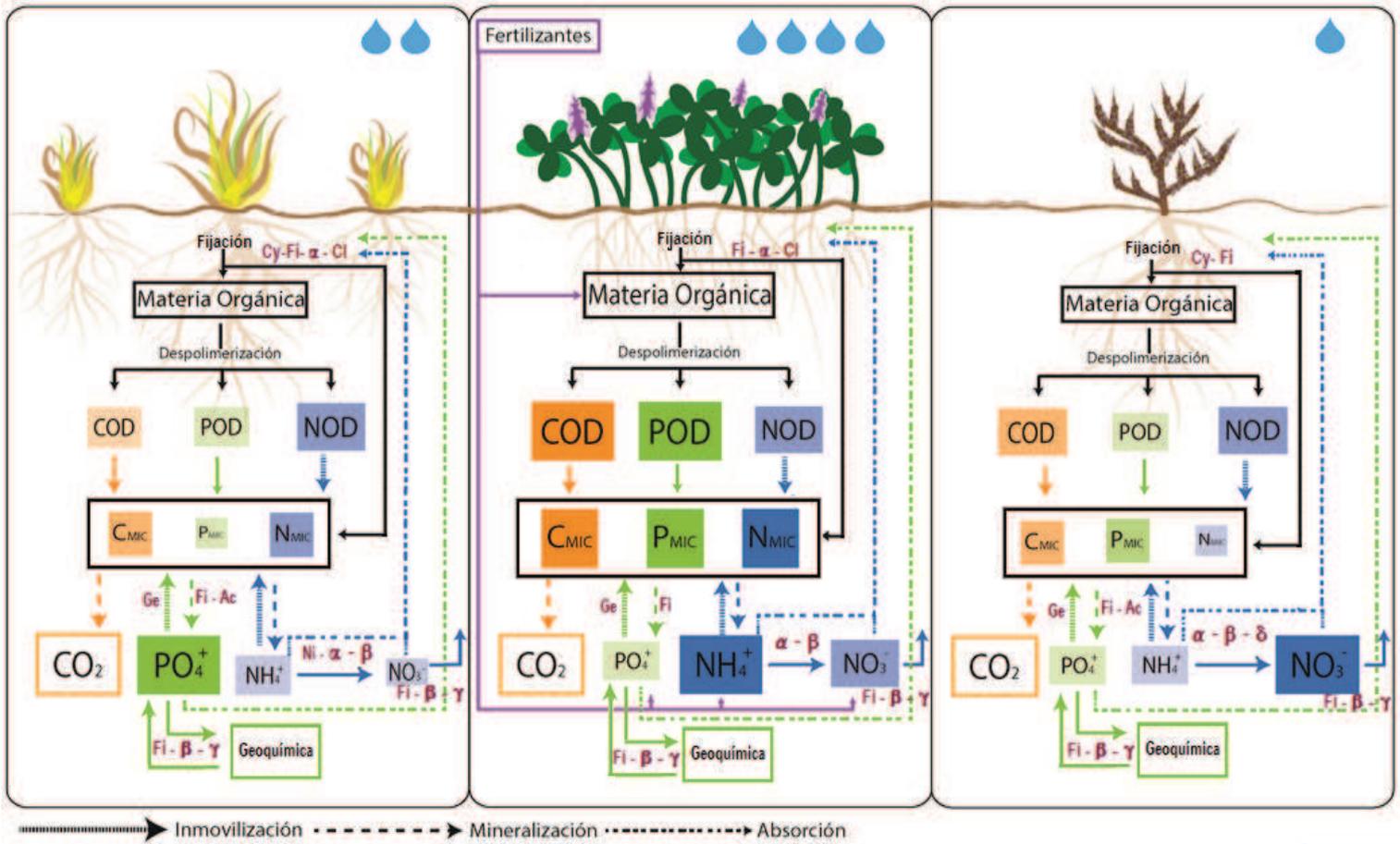
Los sitios sin manejo agrícola actual presentaron condiciones limitantes de agua, nutrientes y energía. En la parcela abandonada, estas condiciones promueven la actividad de los microorganismos autótrofos que llevan a cabo la nitrificación, lo cual se refleja en la mayor concentración de  $\text{NO}_3^-$  y en el alto porcentaje de Betaproteobacterias encontradas en la comunidad bacteriana del suelo. Por otra parte, en el sitio conservado no se identificó  $\text{NO}_3^-$ , a pesar de que hay una baja disponibilidad de COD. Sin embargo, la concentración de N contenido en la biomasa microbiana, sugiere que hay una mayor inmovilización de este nutriente. De esta manera, en el sitio abandonado hay una mayor susceptibilidad a la pérdida de N, a través de procesos de lixiviación o desnitrificación. Mientras que en el sitio conservado se genera un mecanismo de protección de N. A pesar de que la mayoría del año el suelo está seco, la pérdida de  $\text{NO}_3^-$  por lixiviación se presenta

en los pulsos intensos de lluvia, lo cuales son pocos frecuentes en el año (C. Montiel, com. Pers.). Sin embargo, estos pulsos pueden favorecer la reducción del N en el suelo a lo largo de 30 años de abandono.

La fosfomonoesterasa cataliza la mineralización del P orgánico, esta enzima es producida principalmente por los microorganismos. En las comunidades bacterianas de los tres sitios del gradiente se identificaron bacterias con la capacidad de sintetizar fosfatasas del género *Bacillus*. Mientras que el género *Arthrobacter*, se encontró únicamente en los sitios sin manejo agrícola actual. Las diferencias en la actividad de la fosfomonoesterasa, están asociadas a la disponibilidad de energía y agua de cada sitio. Además sugerimos que la actividad de esta enzima es inhibida por el contenido de sales en el suelo de la parcela abandonada.

La principal entrada de N a los ecosistemas se da por medio de la fijación biológica de N<sub>2</sub>, que es realizada por grupos de bacterias. En el sitio conservado se identificó la presencia Cyanobacterias, las cuales tienen la capacidad de fijar N. En este sitio también se encontró *Azospirillum*, que es una bacteria fijadora vida libre asociada a la rizósfera de pastos de la familia *Poaceae*, como es el caso de *Sporobolus*. En el sitio agrícola, la principal fuente de N, está representada por la fertilización química. Sin embargo, también se encontraron bacterias fijadoras de vida libre como *Bacillus*, y posiblemente bacterias simbiotes del orden Rhizobiales. Finalmente, en la parcela abandonada únicamente se identificaron fijadoras de vida libre.

La comunidad microbiana presento diferencias a lo largo del gradiente, en primer lugar se encontraron diferencias en los cocientes C:N:P de la biomasa microbiana, lo cual indica que el manejo agrícola modifica la utilización de nutrientes por parte de los microorganismos. Adicionalmente, se identificaron diferencias en la composición de la comunidad bacteriana del suelo, sin embargo la presencia del phylum Gemmatimonadetes en los tres sitios, lo cual puede sugerir que en los tres sitios hay una limitación por P.



**Figura 3.** Representación gráfica de la dinámica de C, N y P en los sitios del gradiente de manejo agrícola, los contrastes en color y tamaño de las cajas simbolizan diferencias significativas entre las concentraciones. Las flechas indican flujos. Los grupos bacterianos se abreviaron de la siguiente manera: *Ac*: Actinobacteria, *Cy*: Cyanobacteria, *Cl*: Chloroflexi, *Fi*: Firmicutes, *Ge*: Gemmatimonadetes,  $\alpha$ : Alphaproteobacteria,  $\beta$ : Betaproteobacteria,  $\delta$ : Deltaproteobacteria,  $\gamma$ : Gammaproteobacteria, *Ni*: Nitrospirae

## Conclusiones

---

Los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que en el valle de Cuatro Ciénegas, las prácticas agrícolas asociadas al cultivo de alfalfa alteran la composición de la comunidad bacteriana y la dinámica de C, N y P en el suelo.

Las prácticas agrícolas relacionadas con el cultivo de alfalfa generan una mayor disponibilidad de energía y agua en el suelo, lo cual promueve la actividad de microorganismos heterótrofos y los procesos de mineralización, como la actividad de la fosfomonoesterasa, y la inmovilización de nutrientes.

Los sitios sin manejo agrícola están limitados por energía y agua. En estas condiciones, las comunidades microbianas desarrollan dos estrategias. En el sitio abandonado se promueve la actividad de los microorganismos autótrofos, con lo que aumenta la nitrificación y por lo tanto, el N es vulnerable a perderse del sistema. Mientras que en el sitio conservado aumenta la inmovilización de N en la biomasa microbiana y de esta manera la permanencia del N en el sistema. En ambos sitios, estas condiciones limitan la actividad de la fosfomonoesterasa.

El cambio de uso de suelo provocado por la actividad agrícola induce cambios en la dinámica de nutrientes y en la composición de la comunidad bacteriana del suelo. Después de 30 años del abandono de la actividad agrícola el suelo no puede recuperar totalmente sus condiciones naturales.

## Bibliografía

---

- Acosta-Martinez, V., Dowd, S., Sun, Y., & Allen, V. (2008). Tag-encoded pyrosequencing analysis of bacterial diversity in a single soil type as affected by management and land use. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(11), 2762–2770. doi:10.1016/j.soilbio.2008.07.022
- Alcaraz, L. D., Olmedo, G., Bonilla-Rosso, G., Cerritos, R., Cruz, A., Ramírez, E., ... Herrera-Estrella, L. (2008). The genome of *Bacillus coahuilensis* reveals adaptations essential for survival in the relic of an ancient marine environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(15), 5803–8. doi:10.1073/pnas.0800981105
- Allison, S. . D., & Vitousek, P. (2005). Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(5), 937–944. doi:10.1016/j.soilbio.2004.09.014
- Allison, S. D., & Martiny, J. B. H. (2008). Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105, 11512–11519.
- Andrew, D. R., Fitak, R. R., Munguia-Vega, A., Racolta, A., Martinson, V. G., & Dontsova, K. (2012). Abiotic factors shape microbial diversity in Sonoran Desert soils. *Applied and environmental microbiology*, 78(21), 7527–37. doi:10.1128/AEM.01459-12
- Aon, M., Cabello, M., Sarena, D., Colareni, A., Franco, M., Burgos, J. ., & Cortassa, S. (2001). I. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. *Applied Soil Ecology*, 18(3), 239–254.
- Atlas, R. M., & Bartha, R. (1998). *Microbial Ecology: fundamentals and applications* (4<sup>o</sup> ed.). California: Pearson.
- Attard, E., Poly, F., Commeaux, C., Laurent, F., Terada, A., Smets, B. F., ... Le Roux, X. (2010). Shifts between Nitrospira-and Nitrobacter-like nitrite oxidizers underlie the response of soil potential nitrite oxidation to changes in tillage practices. *Environmental Microbiology*, 12(2), 315–326. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.02070.x
- Austin, A. (2011). Has water limited our imagination for aridland biogeochemistry? *Trends in Ecology & Evolution*, 26(5), 229–35. doi:10.1016/j.tree.2011.02.003
- Austin, A., Yahdjian, L., Stark, J., Belnap, J., Porporato, A., Norton, U., ... Shaeffer, S. (2004). Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems. *Oecologia*, 141(2), 221–235. doi:10.1007/s00442-004-1519-1
- Bardgett, R. (2005). *The Biology of Soil. A community and ecosystem approach* (Oxford Uni., p. 241). New York,.
- Barica, J. (1972). Salinization of groundwater in arid zones. *Water Research*, 6, 925–933.

- Beheshti, A., Raiesi, F., & Golchin, A. (2012). Soil properties, C fractions and their dynamics in land use conversion from native forests to croplands in northern Iran. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *148*, 121–133. doi:10.1016/j.agee.2011.12.001
- Bell, L. W., Sparling, B., Tenuta, M., & Entz, M. H. (2012). Soil profile carbon and nutrient stocks under long-term conventional and organic crop and alfalfa-crop rotations and re-established grassland. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *158*, 156–163. doi:10.1016/j.agee.2012.06.006
- Belnap, J. (2001). Comparative structure of physical and biological soil crusts. In J. Belnap & O. . Lange (Eds.), *Biological Soil Crusts: Structure, Function and Management* (pp. 177–191). Springer-Verlag.
- Belnap, J., Welter, J. R., Grimm, N. B., Barger, N., & Ludwig, J. A. (2005). Linkages between microbial and hydrologic processes in arid and semiarid watersheds. *Ecology*, *86*(2), 298–307.
- Benitez, E., Melgar, R., & Nogales, R. (2004). Estimating soil resilience to a toxic organic waste by measuring enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry*, *36*(10), 1615–1623. doi:10.1016/j.soilbio.2004.07.014
- Blanco-Canqui, H., & Lal, R. (2010). Soil resilience and conservation. In *Principles of soil conservation and management* (pp. 425–447). New York: Springer.
- Bonilla-Rosso, G., Peimbert, M., Alcaraz, L. D., Hernández, I., Eguiarte, L. E., Olmedo-Alvarez, G., & Souza, V. (2012). Comparative metagenomics of two microbial mats at Cuatro Ciénegas Basin II: community structure and composition in oligotrophic environments. *Astrobiology*, *12*(7), 659–73. doi:10.1089/ast.2011.0724
- Bossio, D. A., Girvan, M. S., Verchot, L., Bullimore, J., Borelli, T., Albercht, A., ... Osborn, A. M. (2005). Soil microbial community response to land use change in an agricultural landscape of western Kenya. *Microbial ecology*, *49*, 50–62.
- Buckley, D. H., & Schmidt, T. M. (2001). The structure of microbial communities in soil and the lasting impact of cultivation. *Microbial Ecology*, *(42)*, 11–21.
- Buckley, D. H., & Schmidt, T. M. (2003). Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems. *Environmental Microbiology*, *5*(6), 441–452.
- Bünemann, E. K., & Condon, L. M. (2007). Phosphorus and sulphur cycling in terrestrial ecosystems. In P. Marschner & Z. Rengel (Eds.), *Nutrient Cycling in Terrestrial Ecosystems* (pp. 65–92). Leipzig: Springer.
- Cerritos, R., Eguiarte, L. E., Avitia, M., Siefert, J. L., Travisano, M., Rodríguez-Verdugo, A., & Souza, V. (2011). Diversity of culturable thermo-resistant aquatic bacteria along an environmental gradient in Cuatro Ciénegas, Coahuila, México. *Antonie van Leeuwenhoek*, *99*(2), 303–18. doi:10.1007/s10482-010-9490-9
- Chanal, A., Chapon, V., Benzerara, K., Barakat, M., Christen, R., Achouak, W., ... Heulin, T. (2006). The desert of Tataouine: an extreme environment that hosts a wide diversity

- of microorganisms and radiotolerant bacteria. *Environmental Microbiology*, 8(3), 514–25. doi:10.1111/j.1462-2920.2005.00921.x
- Chaudhry, V., Rehman, A., Mishra, A., Chauhan, P. S., & Nautiyal, C. S. (2012). Changes in bacterial community structure of agricultural land due to long-term organic and chemical amendments. *Microbial ecology*, 64(2), Online. doi:10.1007/s00248-012-0025-y
- Chesworth, W. (2008). *Encyclopedia of soil science* (p. 902). Dordrecht: Springer.
- Chhabra, R. (2004). Classification of salt-affected soils. *Arid Land Research and Management*, 19(1), 61–79. doi:10.1080/15324980590887344
- Clark, J. S., Campbell, J. H., Grizzle, H., Acosta-Martínez, V., & Zak, J. C. (2009). Soil microbial community response to drought and precipitation variability in the Chihuahuan Desert. *Microbial ecology*, 57(2), 448–260. doi:10.1007/s00248-008-9475-7
- Cleveland, C. C., & Liptzin, D. (2007). C:N:P stoichiometry in soil: is there a “Redfield ratio” for the microbial biomass? *Biogeochemistry*, 85(3), 235–252. doi:10.1007/s10533-007-9132-0
- CONANP. (2007). *Programa de desarrollo regional Sustentable. Estudio sobre el cambio de uso de suelos en el Valle de Cuatro Ciénegas periodo 2002-2006* (pp. 1–50).
- Cregger, M. A., Schadt, C. W., McDowell, N. G., Pockman, W. T., & Classen, A. T. (2012). Response of the soil microbial community to changes in precipitation in a semiarid ecosystem. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(24), 8587–8594. doi:10.1128/AEM.02050-12
- D’Odorico, P., Bhattachan, A., Davis, K. F., Ravi, S., & Runyan, C. W. (2013). Global desertification: Drivers and feedbacks. *Advances in Water Resources*, 51, 326–344. doi:10.1016/j.advwatres.2012.01.013
- Dao, T. H. (2011). Extracellular enzymes in sensing environmental nutrients and ecosystem changes: ligand mediation in organic phosphorus cycling. In G. Shukla & A. Varma (Eds.), *Soil enzymology* (Vol. 22, pp. 75– 102). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-14225-3
- Dick, W. A., & Tabatabai, M. A. (1992). Significance and potential uses of soil enzymes. In F. B. Metting (Ed.), *Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management* (pp. 95–127).
- Dilfuza, E., & Wirth, S. (2011). Impact of crop cultivation and tillage on microbial activity in saline arid soil. *Soil Tillage and Microbial Activities*, 661(2), 85–99.
- Ding, G., Piceno, Y. M., Heuer, H., Weinert, N., Dohrmann, A. B., Carrillo, A., ... Smalla, K. (2013). Changes of soil bacterial diversity as a consequence of agricultural land use in a semi-arid ecosystem. *PLoS one*, 8(3), e59497. doi:10.1371/journal.pone.0059497

- Egamberdieva, D., Renella, G., Wirth, S., & Islam, R. (2011). Enzyme activities in the rhizosphere of plants. In G Shukla & A. Varama (Eds.), *Soil Enzymology*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Eldor, P. A. (2007). *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry* (3rd Editio., p. 532). Canada: Academic Press.
- Erwing, B., & Green, P. (1998). Basecalling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. *Genome Research*, 8, 186–194.
- Escalante, A. E., Eguiarte, L. E., Espinosa-Asuar, L., Forney, L. J., Noguez, A. M., & Souza Saldivar, V. (2008). Diversity of aquatic prokaryotic communities in the Cuatro Ciénegas basin. *FEMS microbiology ecology*, 65(1), 50–60. doi:10.1111/j.1574-6941.2008.00496.x
- Falcón, L. I., Cerritos, R., Eguiarte, L. E., & Souza, V. (2007). Nitrogen fixation in microbial mat and stromatolite communities from Cuatro Ciénegas, Mexico. *Microbial ecology*, 54(2), 363–373. doi:10.1007/s00248-007-9240-3
- Falkowski, P. G., Fenchel, T., & Delong, E. F. (2008). The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science*, 320(5879), 1034–9. doi:10.1126/science.1153213
- FAO. (2013). *FAO statistical yearbook 2013. World food and agriculture*.
- Fenchel, T., King, G. M., & Blackburn, H. (2012). *The Ecophysiology of the bacterial Biochemistry: the Ecophysiology of mineral cycling* (3° ed., p. 312). Academic Press.
- Franzluebbers, A. J. (2009). Achieving soil organic carbon sequestration with conservation agricultural systems in the southeastern United States. *Soil Science Society of America Journal*, 74, 347–357.
- García-Orenes, F., Guerrero, C., Roldán, J., Mataix-Solera, J., Cerdà, A., Campoy, M., ... Caravaca, F. (2010). Soil microbial biomass and activity under different agricultural management systems in a semiarid Mediterranean agroecosystem. *Soil and Tillage Research*, 109(2), 110–115. doi:10.1016/j.still.2010.05.005
- Hartmann, M., & Widmer, F. (2006). Community structure analyses are more sensitive to differences in soil bacterial communities than anonymous diversity indices. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12), 7804–7812. doi:10.1128/AEM.01464-06
- Hedley, M. J., Stewart, J. W. B., & Chauhan, B. S. (1982). Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Science Society of America Journal*, 46, 970–976.
- Hernández, H. M. (2006). *La vida en los desiertos mexicanos*.
- Hill, G. T., Mitkowski, N. A., Aldrich-Wolfe, L., Emele, L. R., Jurkonie, D. D., Ficke, A., ... Nelson, E. B. (2000). Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology*, 15(1), 25–36.

- Hopkins, D. W., & Dungait, J. A. J. (2010). Soil microbiology and nutrient cycling. In G. R. Dixon & E. Tilston (Eds.), *Soil microbiology and sustainable crop production* (pp. 59–80). Springer.
- Hueso, S., Hernández, T., & García, C. (2011). Resistance and resilience of the soil microbial biomass to severe drought in semiarid soils: the importance of organic amendments. *Applied Soil Ecology, 50*, 27–36. doi:10.1016/j.apsoil.2011.07.014
- Jamieson, N., Barraclough, D., Unkovich, M., & Monaghan, R. (1998). Soil N dynamics in a natural calcareous grassland under a changing climate. *Biology and Fertility of Soils, 27*(3), 267–273.
- Jangid, K., Williams, M., Franzluebbers, A., Sanderlin, J., Reeves, J., Jenkins, M., ... Whitman, W. (2008). Relative impacts of land-use, management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry, 40*(11), 2843–2853. doi:10.1016/j.soilbio.2008.07.030
- Janssen, P. (2006). Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology, 72*(3), 1719–1728. doi:10.1128/AEM.72.3.1719
- Joergensen, R. G. (1996). The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the kEC value. *Soil Biology and Biochemistry, 28*, 25–31.
- Joergensen, R. G., & Mueller, T. (1996). The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the kEN value. *Soil Biology Biochemistry, 28*, 33–37.
- Jones, R. T., Robeson, M. S., Lauber, C. L., Hamady, M., Knight, R., & Fierer, N. (2009). A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses. *The ISME Journal, 3*(4), 442–53. doi:10.1038/ismej.2008.127
- Karaca, A., Cetin, S. C., Turgay, O. C., & Kizilkaya, R. (2011). Soil enzymes as indication of soil quality. In Girish Shukla & A. Varma (Eds.), *Soil Enzymology* (Vol. 22, pp. 119–148). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-14225-3
- Keshri, J., Mody, K., & Jha, B. (2013). Bacterial Community Structure in a Semi-Arid Haloalkaline Soil Using Culture Independent Method. *Geomicrobiology Journal, 30*(6), 517–529. doi:10.1080/01490451.2012.737092
- Kim, M., Boldgiv, B., Singh, D., Lkhagva, A., & Adams, J. M. (2013). Structure of soil bacterial communities in relation to environmental variables in a semi-arid region of Mongolia. *Journal of Arid Environments, 89*, 38–44. doi:10.1016/j.jaridenv.2012.09.014
- Knops, J. M. H., & Tilman, D. (2000). Dynamics of soil nitrogen and carbon accumulation for 61 years after agricultural abandonment. *Ecology, 81*(1), 88–98.
- Köberl, M., Müller, H., Ramadan, E. M., & Berg, G. (2011). Desert farming benefits from microbial potential in arid soils and promotes diversity and plant health. *PLoS one, 6*(9), 1–9. doi:10.1371/journal.pone.0024452

- Kögel-Knabner, I. (2002). The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, *34*, 139–162.
- Laity, J. (2008). *Deserts and desert environments* (1st ed., p. 360). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Lal, R. (1993). Introduction Tillage effects on soil degradation , soil resilience , soil quality , and sustainability. *Soil and Tillage Research*, *27*, 1–8.
- Lal, R. (1997). Degradation and resilience of soils. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *352*(1356), 997–1010. doi:10.1098/rstb.1997.0078
- Lal, R. (2002). Soil carbon dynamics in cropland and rangeland. *Environmental pollution*, *116*(3), 353–62.
- Laudicina, V. A., Dennis, P. G., Palazzolo, E., & Badalucco, L. (2012). Key biochemical attributes to assess soil ecosystem sustainability. In A. Malik & E. Grohmann (Eds.), *Environmental protection strategies for sustainable development* (pp. 193–227). Dordrecht: Springer Netherlands. doi:10.1007/978-94-007-1591-2
- Lepers, E., Lambin, E. F., Janetos, A. C., De Fries, R., Archad, F., Ramankutty, N., & Scholes, R. J. (2005). A synthesis of rapid land-cover change information for the 1981–2000 period. *BioScience*, *55*(2), 115–124.
- Lesschen, J. P., Cammeraat, L. H., Kooijman, a. M., & van Wesemael, B. (2008). Development of spatial heterogeneity in vegetation and soil properties after land abandonment in a semi-arid ecosystem. *Journal of Arid Environments*, *72*(11), 2082–2092. doi:10.1016/j.jaridenv.2008.06.006
- Li, K., Liu, R., Zhang, H., & Yun, J. (2012). The Diversity and Abundance of Bacteria and Oxygenic Phototrophs in Saline Biological Desert Crusts in Xinjiang, Northwest China. *Microbial ecology*. doi:10.1007/s00248-012-0164-1
- Li, X., Li, Y., Li, F., Ma, Q., Zhang, P., & Yin, P. (2009). Changes in soil organic carbon, nutrients and aggregation after conversion of native desert soil into irrigated arable land. *Soil and Tillage Research*, *104*(2), 263–269. doi:10.1016/j.still.2009.03.002
- Liu, X., Li, F.-M., Liu, D.-Q., & Sun, G.-J. (2010). Soil organic carbon, carbon fractions and nutrients as affected by land use in semi-arid region of Loess Plateau of China. *Pedosphere*, *20*(2), 146–152. doi:10.1016/S1002-0160(10)60002-1
- López-Lozano, N. E., Eguiarte, L. E., Bonilla-Rosso, G., García-Oliva, F., Martínez-Piedragil, C., Rooks, C., & Souza, V. (2012). Bacterial communities and the nitrogen cycle in the gypsum soils of Cuatro Ciénegas Basin, coahuila: a Mars analogue. *Astrobiology*, *12*(7), 699–709. doi:10.1089/ast.2012.0840
- López-Lozano, N. E., Heidelberg, K. B., Nelson, W. C., García-Oliva, F., Eguiarte, L. E., & Souza, V. (2013). Microbial secondary succession in soil microcosms of a desert oasis in the Cuatro Cienegas Basin, Mexico. *PeerJ*, *1*, e47. doi:10.7717/peerj.47
- Loreau, M., Downing, A., Emmerson, M., Gonzalez, A., Hughes, J., Inchausti, P., ... Sala, O. (2002). A new look at the relationship between diversity and stability. In M. Loreau, S.

- Naeem, & P. Inchausti (Eds.), *Biversity and Ecosystem Functioning* (pp. 79–91). Oxford: Oxford University Press.
- Lundquist, E. J., Jackson, L. E., & Scow, K. M. (1999). Wet–dry cycles affect dissolved organic carbon in two California agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, *31*, 1031–1038.
- Lupwayi, N. Z., Rice, W. A., & Clayton, G. W. (1998). Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry*, *30*(13), 1733–1741.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (2008). *Biología de los microorganismos* (10th ed., p. 1011). Madrid: Pearson.
- Madsen, E. (2011). *Environmental microbiology: from genomes to biogeochemistry* (1st ed., p. 467). Blackwell Publishing.
- Martínez-Piedragil, C. (2013). *Dinámica de nutrientes en parcelas agrícolas abandonadas en el Valle de Cuatrociénegas, Coahuila*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Masciandaro, G., & Ceccanti, B. (1999). Assessing soil quality in different agro-ecosystems through biochemical and chemico-structural properties of humic substances. *Soil and Tillage Research*, *51*(1-2), 129–137.
- McLauchlan, K. K. (2006). The Nature and Longevity of Agricultural Impacts on Soil Carbon and Nutrients: A Review. *Ecosystems*, *9*(8), 1364–1382. doi:10.1007/s10021-005-0135-1
- Millennium Ecosystem Assessment. (2006). *Millennium Ecosystem Assessment Synthesis Reports*.
- Montaño, N. M., García-Oliva, F., & Jaramillo, V. J. (2007). Dissolved organic carbon affects soil microbial activity and nitrogen dynamics in a Mexican tropical deciduous forest. *Plant and Soil*, *295*(1-2), 265–277. doi:10.1007/s11104-007-9281-x
- Montiel-González, C. (2011). *Dinámica de C, N y P en suelos calcáreos en el Valle de Cuatro Ciénegas de Carranza, Coahuila*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Moore, J. M., Klose, S., & Tabatabai, M. A. (2000). Soil microbial biomass carbon and nitrogen as affected by cropping systems. *Biology and Fertility of Soils*, (3), 200–210.
- Moreno-Letelier, A., Olmedo, G., Eguiarte, L. E., Martínez-Castilla, L., & Souza, V. (2011). Parallel evolution and horizontal gene transfer of the pst operon in Firmicutes from oligotrophic environments. *International Journal of Evolutionary Biology*.
- Morris, L. R., Monaco, T. a., Leger, E., Blank, R., & Sheley, R. (2013). Cultivation legacies alter soil nutrients and differentially affect plant species performance nearly a century after abandonment. *Plant Ecology*, *214*(6), 831–844. doi:10.1007/s11258-013-0212-z
- Murphy, D. V., Stockdale, E. A., Brookes, P. C., & Goulding, K. W. . T. (2007). Impact of microorganisms on chemical transformations in soil. In L. K. Abbott & D. V. Murphy

- (Eds.), *Soil Biological Fertility - A Key to Sustainable Land Use in Agriculture* (pp. 37–59). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M. T., Landi, L., Pietramellara, G., & Renella, G. (2003). Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*, *54*, 655–670. doi:10.1046/j.1365-2389.2003.00556.x
- Nannipieri, P., Giagnoni, L., Landi, L., & Renella, G. (2011). Role of phosphatase enzymes in soil. In E. Bünemann, A. Oberson, & E. Frossard (Eds.), *Phosphorus in action* (Vol. 100, pp. 215–243). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-15271-9
- Neufeld, J. D., & Mohn, W. W. (2006). Assessment of microbial phylogenetic diversity based on environmental nucleic acids. In E. Stackebrandt (Ed.), *Molecular identification, systematics, and population structure of prokaryotes* (pp. 219–256). Berlin Heidelberg: Springer.
- Nienow, J. (2009). Extremophiles: dry environments (including cryptoendoliths). In *Encyclopedia of Microbiology* (pp. 159–173). Oxford: Elsevier.
- Orwin, K. H., & Wardle, D. A. (2004). New indices for quantifying the resistance and resilience of soil biota to exogenous disturbances. *Soil Biology and Biochemistry*, *36*(11), 1907–1912. doi:10.1016/j.soilbio.2004.04.036
- Pan, C., Liu, C., Zhao, H., & Wang, Y. (2012). Changes of soil physico-chemical properties and enzyme activities in relation to grassland salinization. *European Journal of Soil Biology*, *55*, 13–19. doi:10.1016/j.ejsobi.2012.09.009
- Paul, E. A. (2007). *Soil microbiology, ecology and biochemistry* (3<sup>o</sup> ed.). Academic Press.
- Paz, J. de, Sánchez, J., & Visconti, F. (2006). Combined use of GIS and environmental indicators for assessment of chemical, physical and biological soil degradation in a Spanish Mediterranean region. *Journal of Environmental Management*, *79*(2), 150–162. doi:10.1016/j.jenvman.2005.06.002
- Peimbert, M., Alcaraz, L. D., Bonilla-Rosso, G., Olmedo-Alvarez, G., García-Oliva, F., Segovia, L., ... Souza, V. (2012). Comparative metagenomics of two microbial mats at Cuatro Ciénegas Basin I: ancient lessons on how to cope with an environment under severe nutrient stress. *Astrobiology*, *12*(7), 648–58. doi:10.1089/ast.2011.0694
- Pimm, S. L. (1984). The complexity and stability of ecosystems. *Nature*, *307*, 321–326.
- Pisanty, I., Sosa, C. P., & Gálvez, G. (2013). Agriculture, Water Mismanagement and Ecosystem Transformations in the Cuatrociénegas Valley in the Chihuahuan Desert, Mexico. In K. Schwabe, J. Albiac, J. D. Connor, R. M. Hassan, & L. Meza-González (Eds.), *Drought in Arid and Semi-Arid Regions* (pp. 199–216). Dordrecht: Springer.
- Purdy, K. J., Embley, T. M., Takii, S., & Nedwell, D. B. (1996). Rapid Extraction of DNA and rRNA from Sediments by a Novel Hydroxyapatite Spin-Column Method. *Applied and Environmental Microbiology*, *62*(10), 3905–3907.

- Raiesi, F. (2012). Soil properties and C dynamics in abandoned and cultivated farmlands in a semi-arid ecosystem. *Plant and soil*, 351(1-2), 161–175. doi:10.1007/s11104-011-0941-5
- Rey-Benayas, J. M., & Bullock, J. M. (2012). Restoration of Biodiversity and Ecosystem Services on Agricultural Land. *Ecosystems*, 15(6), 883–899. doi:10.1007/s10021-012-9552-0
- Rey-Benayas, J. M., Martins, A., Nicolau, J. M., & Schulz, J. J. (2007). Abandonment of agricultural land: an overview of drivers and consequences. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 2(057). doi:10.1079/PAVSNNR20072057
- Reynolds, J. F., Smith, D. M. S., Lambin, E. F., Turner, B. L., Mortimore, M., Batterbury, S. P. J., ... Walker, B. (2007). Global desertification: building a science for dryland development. *Science*, 316(5826), 847–51. doi:10.1126/science.1131634
- Rietz, D., & Haynes, R. (2003). Effects of irrigation-induced salinity and sodicity on soil microbial activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(6), 845–854. doi:10.1016/S0038-0717(03)00125-1
- Robertson, P. G., Coleman, D. C., Bledsoe, C. S., & Sollins, P. (1999). *Standard soil methods for long-term ecological research* (pp. 258–271). New York: University Press, Oxford.
- Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17(4-5), 319–339.
- Rzedowski, J. (1983). *Vegetación de México* (p. 432). México: Limusa.
- Sainju, U. M., & Lenssen, A. W. (2011). Dryland soil carbon dynamics under alfalfa and durum-forage cropping sequences. *Soil and Tillage Research*, 113(1), 30–37. doi:10.1016/j.still.2011.02.002
- Saviozzi, A., Cardelli, R., & Di Puccio, R. (2011). Impact of Salinity on Soil Biological Activities: A Laboratory Experiment. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 42(3), 358–367. doi:10.1080/00103624.2011.542226
- Schimel, J., Balsler, T. C., & Wallenstein, M. (2007). Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecology*, 88(6), 1386–1394.
- Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., ... Weber, C. F. (2009). Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and environmental microbiology*, 75(23), 7537–41. doi:10.1128/AEM.01541-09
- Schmidt, R. H. (1989). The arid zones of Mexico: climatic extremes and conceptualization of the Sonoran Desert. *Journal of Arid Environments*, 16, 241–256.
- Semarnat. (2009). *El medio ambiente en México 2009: en resumen* (p. 51). México.

- Smil, V. (2000). Phosphorus in the environment: natural flows and human interferences. *Annual review of energy and the environment*, 25(1), 53–88.
- Souza, V., Eguiarte, L. E., Siefert, J. L., & Elser, J. J. (2008). Microbial endemism: does phosphorus limitation enhance speciation? *Nature Reviews Microbiology*, 6(7), 559–564. doi:10.1038/nrmicro1917
- Souza, V., Escalante, A. E., Espinoza, L., Valera, A., Cruz, A., Eguiarte, L. E., ... Elser, J. J. (2004). Cuatro Ciénegas un laboratorio natural de astrobiología. *Ciencias*.
- Souza, V., Espinosa-Asuar, L., Escalante, A. E., Eguiarte, L. E., Farmer, J., Forney, L., ... Elser, J. J. (2006). An endangered oasis of aquatic microbial biodiversity in the Chihuahuan desert. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(17), 6565–6570.
- Souza, V., Siefert, J. L., Escalante, A. E., Elser, J. J., & Eguiarte, L. E. (2012). The Cuatro Ciénegas Basin in Coahuila, Mexico: an astrobiological Precambrian Park. *Astrobiology*, 12(7), 641–7. doi:10.1089/ast.2011.0675
- Tapia-Torres, Y. (2010). *Efecto del tipo de vegetación en la dinámica de nutrientes y en la estructura de las comunidades bacterianas del suelo en el Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila*. Director. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Tapia-Torres, Y., & García-Oliva, F. (2013). La disponibilidad de fósforo es producto de la actividad bacteriana en el suelo en ecosistemas oligotróficos: una revisión crítica. *Terra Latinoamericana*, 3(31), en prensa.
- Trasar-Cepeda, C., Leirós, M. C., Seoane, S., & Gil-Sotres, F. (2008). Biochemical properties of soils under crop rotation. *Applied Soil Ecology*, 39(2), 133–143. doi:10.1016/j.apsoil.2007.12.003
- Trasar-Cepeda, C., Leiros, M. C., Seoane, S., & Gil-Stores, F. (2000). Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(13), 1867–1875.
- UNCCD. (1994). Elaboration of an International Convention to Combat Desertification in Countries Experiencing Serious Drought and/or Desertification, Particularly in Africa.
- Vance, E., Brookes, P., & Jenkinson, D. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19(703–707).
- Vineela, C., Wani, S. P., Srinivasarao, C., Padmaja, B., & Vittal, K. P. R. (2008). Microbial properties of soils as affected by cropping and nutrient management practices in several long-term manurial experiments in the semi-arid tropics of India. *Applied Soil Ecology*, 40(1), 165–173. doi:10.1016/j.apsoil.2008.04.001
- Waldrop, M. P., Balsler, T. C., & Firestone, M. K. (2000). Linking microbial community composition to function in a tropical soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 1837–1846.

- Wang, B., Liu, G., Xue, S., & Zhu, B. (2011). Changes in soil physico-chemical and microbiological properties during natural succession on abandoned farmland in the Loess Plateau. *Environmental Earth Sciences*, 62(5), 915–925. doi:10.1007/s12665-010-0577-4
- Wang, B., Zhang, C., Liu, J., Zeng, X., Li, F., Wu, Y., ... Jia, Z. (2012). Microbial community changes along a land-use gradient of desert soil origin. *Pedosphere*, 22(5), 593–603. doi:10.1016/S1002-0160(12)60044-7
- Wardle, D. A. (1992). A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biological reviews*, (67), 321–358.
- Wardle, D. A., Bardgett, R. D., Klironomos, J. N., Setälä, H., van der Putten, W. H., & Wall, D. H. (2004). Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 304(5677), 1629–33. doi:10.1126/science.1094875
- Yang, R., Su, Y., Gan, Y., Du, M., & Wang, M. (2013). Field-scale spatial distribution characteristics of soil nutrients in a newly reclaimed sandy cropland in the Hexi Corridor of Northwest China. *Environmental Earth Sciences*. doi:10.1007/s12665-013-2356-5
- Yin, C., Jones, K. L., Peterson, D. E., Garrett, K. A., Hulbert, S. H., & Paulitz, T. C. (2010). Members of soil bacterial communities sensitive to tillage and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(12), 2111–2118. doi:10.1016/j.soilbio.2010.08.006
- Zhang, H., Sekiguchi, Y., Hanada, S., Hugenholtz, P., Kim, H., Kamgata, Y., & Nakamura, K. (2003). *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a Gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating micro-organism, the first cultured representative of the new bacterial phylum Gemmatimonadetes phyl. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, (53), 1155–1163.
- Zhang, L., & Xu, Z. (2008). Assessing bacterial diversity in soil. *Journal of Soils and Sediments*, 8(6), 379–388. doi:10.1007/s11368-008-0043-z
- Zhao, W., Xiao, H., Liu, Z., & Li, J. (2005). Soil degradation and restoration as affected by land use change in the semiarid Bashang area, northern China. *Catena*, 59(2), 173–186. doi:10.1016/j.catena.2004.06.004