



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

**EFFECTO DE *Mimosa luisana* Y DE LAS COSTRAS BIOLÓGICAS SOBRE
LAS COMUNIDADES MICROBIANAS DEL SUELO DE UN ECOSISTEMA
SEMIÁRIDO: ABUNDANCIA Y CAPACIDAD ANTIBIÓTICA
HACIA HONGOS PATÓGENOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

B I Ó L O G O

PRESENTA:

Francisco Javier Yépez Hernández

Director de tesis: Dr. Alejandro Alarcón, COLPOS campus Montecillo

Asesor interno: Dr. Gerardo Cruz Flores, FES Zaragoza



MÉXICO, MAYO DEL 2011



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.

Dedicatoria:

A mi madre, Gloria Hernández Rivera†, una gran profesora que tuvo un gran compromiso con la enseñanza y el aprendizaje de la niñez mexicana. Siempre queriendo salir adelante, proponiéndose nuevos retos y metas.

A mi padre, Francisco Yépez Maciel, quien posee mucha fuerza y coraje para continuar adelante, incluso en los momentos más difíciles, sin nunca darse por vencido. Gracias padre, por haberme apoyado en todos estos años.

A mi familia, en especial a mi abuelita Juana Rivera, una gran persona con un gran corazón, que tiene un amplio sentido de la unión familiar. Eres una de las personas más importantes en mi vida, gracias por todo Juanita.

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM y a la FES Zaragoza por impartir una formación de calidad y en especial al laboratorio de Edafología y Nutrición Vegetal y al Dr. Gerardo Cruz Flores, por adentrarme en el estudio del suelo y por apoyar parte de esta tesis.

Al Colegio de Posgraduados y al Área de Microbiología del suelo, por brindar todas las condiciones y facilidades necesarias para la realización de esta investigación.

A la UAM-I, a la Dra. Sara Lucía Camargo-Ricalde y al Área de Botánica por el apoyo durante la colecta de muestras en campo y financiamiento del trabajo de campo. A Israel Castro-López, Susana A. Montaña Arias y Ana Lidia Sandoval-Pérez por su ayuda y compañía durante las salidas al campo.

Muy especialmente quiero agradecer a los Doctores Alejandro Alarcón y Noé Manuel Montaña Arias, por su asesoría teórica y metodológica, su disposición y completo apoyo durante el tiempo que estuve realizando mi tesis, sin los dos, esta investigación no se hubiera concretado.

Al personal de apoyo del Área de Microbiología, a Rosario Galicia López y a los técnicos: Manuel Solano Díaz, Fernando López, Edmundo Martínez Galán y a Lorenzo Viana Monsalvo por toda su ayuda y compañía durante mi estancia en el laboratorio de microbiología del COLPOS.

A todas mis compañeras de laboratorio: Yessica, Elvia, Cristina, Rosalba, Alejandra, Claudia, Itzel, Yadira, Blanca, Esmeralda, Alicia y Gaby. Gracias, por toda su ayuda durante la realización de mi investigación en el laboratorio y por todos aquellos convivios que realizaron, mostrándome que la escuela es un gran compromiso, pero siempre hay tiempo para darse un descanso y convivir.

Esta tesis fue realizada en el Laboratorio del Área de Microbiología de Suelos del Colegio de Postgraduados (COLPOS) Campus Montecillos, bajo la dirección del Dr. Alejandro Alarcón (COLPOS), con la asesoría del Dr. Gerardo Cruz Flores de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM como asesor interno.

El trabajo de campo así como el análisis y la discusión de los resultados se realizaron en el Laboratorio de Biosistemática de Leguminosas del Departamento de Biología (Área de Botánica) en la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa (UAM-I), con la asesoría del Dr. Noé Manuel Montaña Arias y la Dra. Sara Lucía Camargo-Ricalde.

Esta tesis forma parte y fue financiada por el proyecto de investigación SEP-CONACyT 58594 “Hongos micorrízicos arbusculares en el metabolismo de plantas hortícolas, inoculadas con microorganismos antagónicos a hongos fitopatógenos”

El autor de esta tesis recibió una beca por parte del proyecto SEP-CONACyT 58594



Forma sugerida para citar esta tesis:

Yépez-Hernández F.J., 2011. Efecto de *Mimosa luisana* y de las costras biológicas sobre las comunidades microbianas del suelo de un ecosistema semiárido: abundancia y capacidad antibiótica hacia hongos fitopatógenos. *Tesis de Licenciatura*, UNAM, México Distrito Federal. 83 pp.

Contenido

RESUMEN.....	VII
ABSTRACT	VIII
I. INTRODUCCIÓN	1
II. LAS COSTRAS BIOLÓGICAS: PROCESOS DE FORMACIÓN E IMPORTANCIA EN LOS ECOSISTEMAS ÁRIDOS Y SEMIÁRIDOS	4
2.1 DEFINICIÓN.....	4
2.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS COSTRAS BIOLÓGICAS DEL SUELO.....	5
2.3 ESTRUCTURA FÍSICA DE LAS COSTRAS BIOLÓGICAS	6
2.4 COMPONENTES DE LAS COSTRAS BIOLÓGICAS	6
2.4.1 COMPONENTES MICROBIÓTICOS DE LAS COSTRAS BIOLÓGICAS DEL SUELO	7
2.4.1.1 BACTERIAS	7
2.4.1.2 CIANOBACTERIAS	8
2.4.1.3 ACTINOMICETOS	9
2.4.1.4 HONGOS	10
2.4.1.4 ALGAS VERDES.....	12
2.4.2 COMPONENTES MACROBIÓTICOS DE LAS COSTRAS BIOLÓGICAS DEL SUELO	13
2.4.2.1 LÍQUENES	13
2.4.2.2 MUSGOS	14
2.4.2.3 HEPÁTICAS.....	14
2.5 FACTORES QUE AFECTAN LAS POBLACIONES MICROBIANAS EN EL SUELO	15
2.6 LAS COSTRAS BIOLÓGICAS DEL SUELO Y SU FUNCIÓN DENTRO DEL ECOSISTEMA.....	17
2.7 IMPORTANCIA DE LAS COSTRAS BIOLÓGICAS Y DE SUS COMPONENTES EN LA AGRICULTURA	18
2.8 CASO DE ESTUDIO: HONGOS FILAMENTOSOS PATÓGENOS DE LA CEBOLLA Y EL USO DE MICROORGANISMOS PARA SU TRATAMIENTO	19
III. HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	22
IV. OBJETIVOS.....	22
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
5.1 ÁREA DE ESTUDIO.....	23

5.2 FASE DE CAMPO: DISEÑO EXPERIMENTAL Y COLECTA DE SUELO	25
5.3 FASE DE LABORATORIO	29
5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	34
VI. RESULTADOS	35
6.1 MICROORGANISMOS Y NUTRIMENTOS DEL SUELO	35
6.2 ANTAGONISMO IN VITRO DE GRUPOS DE MICROORGANISMOS CONTRA HONGOS FITOPATÓGENOS	44
VII. DISCUSIÓN	56
VIII. CONCLUSIONES.....	64
IX. REFERENCIAS.....	65
X. APÉNDICE I	77
XII. APÉNDICE II	80
XIII. ÍNDICE DE FIGURAS.....	81
XIV. ÍNDICE DE CUADROS	82

RESUMEN

En los ecosistemas semiáridos, las costras biológicas del suelo (CBS) son críticas para el mantenimiento de los procesos ecosistémicos. Las CBS pueden promover el desarrollo y la abundancia de grupos microbianos que intervienen en los ciclos biogeoquímicos del C, N y P, y que podrían servir como microorganismos antagonistas. En este estudio, realizado en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, se cuantificó la variación estacional (secas vs. lluvias) de bacterias totales (BAC), hongos totales (HON), actinomicetos (ACT), bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre (BFNVL), microorganismos celulolíticos (CMC) y solubilizadores de fósforo (FOS), del suelo en tres microambientes: costra biológica (CB) en isla de recursos (IR) formada por *Mimosa luisana* Brandegees (CB-IR), CB fuera de IR (CB-FIR) y área abierta (AA). Cepas de bacterias y hongos fueron aisladas del suelo bajo CB-IR y confrontadas contra dos hongos fitopatógenos: *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary y *Sclerotium cepivorum* Berk., para evaluar su capacidad antibiótica. Siete muestras de suelo (0-3 cm), de cada microambiente, fueron diluidas y sembradas, bajo condiciones estériles, en medios de cultivo selectivo: Agar nutritivo, PDA-rosa de bengala, Czapeck Dox, Rennie, carboximetil-celulosa y Picovskaya. Los medios fueron incubados a 28 °C durante 3 a 5 días, según el grupo microbiano. Al final, se contaron las colonias y se correlacionaron con variables físico-químicas del suelo determinadas por métodos estándar. CB-IR y CB-FIR tuvieron mayor humedad, materia orgánica, nutrientes (N y P) y abundancia de BAC, ACT, BFNVL y FOS que AA. En los tres microambientes, la abundancia de BAC, HON, BFNVL y FOS aumentó en lluvias, pero los ACT fueron más abundantes en secas. En contraste, la abundancia de CMC no tuvo ninguna variación. Tres cepas bacterianas y cuatro fúngicas formaron un halo de inhibición que redujo el crecimiento de los fitopatógenos. Otras cinco cepas fúngicas inhibieron el crecimiento y parasitaron los esclerocios de los fitopatógenos. Se concluye que: (1) las CB, tanto fuera como dentro de IR, favorecen a los microorganismos por tener más recursos y mejores condiciones microambientales, y (2) en este ecosistema semiárido, las CB-IR de *M. luisana* son sitios de alta abundancia microbiana (*hotspots*), que contienen cepas con antibiosis hacia hongos fitopatógenos.

Palabras clave: Zonas semiáridas, bacterias, hongos, nutrientes, fertilidad, leguminosas.

ABSTRACT

Within the semiarid ecosystems, there are microbiotic groups known as soil biological crusts (BC), which are critical for maintenance of ecosystem processes. The BC could promote both development and abundance of microorganisms linked to biogeochemical cycles of C, N and P, and may act as antagonists to phytopathogens. This study, realized in the Valley of Zapotitlán Salinas, Puebla quantified the seasonal variation (dry vs. rainy seasons) of total bacteria (BAC), total fungi (FUN), actinomycetes (ACT), N fixing bacteria (NFB), cellulolytic (CEL) and phosphate solubilizing microorganisms (PHO), from soils under three micro environments: Biological crusts (BC) inside resource island (RI) formed by *Mimosa luisana* Brandegees (BC-RI), BC outside the RI (BC-ORI) and open area (OA). Bacterial and fungal strains were isolated from BC-RI and confronted against two fungal phytopathogens: *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary and *Sclerotium cepivorum* Berk., to assess their antibiotic capacity. Seven soil samples (0-3 cm) of each microenvironment were diluted and inoculated, under sterile conditions, on selective growth media: Nutrient Agar, PDA, Czapeck Dox, Rennie, Carboxymethyl-cellulose, and Picovskaya, respectively. The inoculated Petri dishes were incubated at 28 °C from 3 to 5 days, depending on the microbial group. After the incubation finished, the colony forming units (CFU) were quantified and correlated with soil physical and chemical properties determined by standard methods. BC-RI and BC-ORI had more moisture, soil organic matter, nutrients (N and P) and abundance of BAC, ACT, NFB, and PHO than OA. In all micro environments, the abundance of BAC, FUN, NFB, and PHO increased in the rainy season, but the ACT was more abundant during the dry season. In contrast, the abundance of CEL did not have variation between the seasons. Three bacterial strains and four fungal strains presented zones of inhibition that reduced the growth of the fungal phytopathogens. Another five fungal strains inhibit the growth by competition, production of antibiotic substances shown by a yellow color in the growth medium, and by sclerotia parasitism. This study concluded that: (1) BC, both outside and inside the RI, the microbial communities increased due to a higher content of resources and better micro environmental conditions, and (2) in this semiarid ecosystem, the BC-RI formed by *M. luisana* could be microbial hotspots containing antibiotic strains against phytopathogens.

Key words: Semiarid zone, bacteria, fungus, nutrients, leguminous.

I. INTRODUCCIÓN

Las costras biológicas del suelo (CBS) son comunidades conocidas como criptobióticas, microbióticas o microfíticas constituidas por cianobacterias, algas, microhongos, plantas hepáticas, líquenes y musgos (Belnap *et al.*, 2001; García-Pichel *et al.*, 2003; Maestre *et al.*, 2005; Bhatnagar *et al.*, 2008). Las CBS forman sobre el suelo una micropelícula viviente y son componentes importantes de las zonas áridas y semiáridas de todo el mundo, donde la falta de agua y la baja fertilidad del suelo restringen el crecimiento y desarrollo de las plantas (Eldridge *et al.*, 2000; García-Pichel *et al.*, 2003; Rivera-Aguilar *et al.*, 2004). Las cianobacterias (procariontes) y microalgas (eucariontes), así como las bacterias de vida libre o en simbiosis con líquenes y musgos, son esenciales para el mantenimiento de la productividad primaria en estos ecosistemas (Alexander, 1980; Cable y Huxman, 2004). Por lo tanto, las CBS tiene un papel importante en la fertilidad y formación de los agregados del suelo lo que reduce los efectos de la erosión, disminuye la temperatura e incrementa la humedad y la disponibilidad de nutrimentos (Eldridge *et al.*, 2000; Fragoso *et al.*, 2001; Bamforth, 2008). Incluso se ha reportado que las CBS promueven la germinación de semillas y la sobrevivencia y crecimiento de las plantas (García-Pichel *et al.*, 2003; Nagy *et al.*, 2005; Rivera-Aguilar *et al.*, 2005, 2006; Weibo *et al.*, 2008; Bhatnagar *et al.*, 2008).

Las CBS son también un refugio importante de la microbiota del suelo, y pueden mantener y controlar la abundancia y la diversidad de los diferentes grupos microbianos en los ecosistemas áridos y semiáridos. Así, las CBS ayudan a que los microorganismos tengan un microhábitat con condiciones y recursos favorables (*e.g.* nutrimentos, humedad, pH) para su metabolismo y desarrollo, y a su vez estos microorganismos pueden beneficiar el crecimiento y desarrollo de las plantas, debido a que algunos establecen relaciones simbióticas, como por ejemplo, la micorrización y la formación de nódulos en las raíces de las plantas, mediante las cuales incrementan la captación de fósforo y la fijación biológica del nitrógeno, respectivamente. Asimismo, los microorganismos pueden ser utilizados como control biológico para combatir microorganismos fitopatógenos que pueden dañar diversos cultivos de importancia económica y alimenticia para el país.

A nivel mundial, las CBS se han caracterizado con base en sus componentes líquenes, musgos, cianobacterias, protozoarios, y en su efecto sobre la infiltración del agua y otros aportes (nutrimentos) al ecosistema (Austin *et al.*, 2004; Maestre *et al.*, 2002). Sin embargo, no se sabe si sus efectos sobre la fertilidad, humedad y temperatura del suelo, puedan ser generalizados a todas las zonas áridas y semiáridas. En México, son muy pocas las investigaciones que se han realizado sobre CBS, y son aún menos las que cuantifican la abundancia y diversidad de los organismos que las componen. Por ejemplo, se ha estudiado el comportamiento de las CBS en relación al ciclo hidrológico y al pastoreo de acuerdo a su actividad metabólica y al proceso de regeneración, respectivamente (Jiménez-Aguilar *et al.*, 2009), su función en el ciclo del nitrógeno y la diversidad de cianobacterias (Yeager *et al.*, 2004) y también su distribución y composición (Rivera-Aguilar *et al.*, 2009). Sin embargo, aún no se ha demostrado: *i)* cómo se comportan las comunidades microbianas en relación a la presencia o ausencia de las CBS, *ii)* cómo podrían verse afectadas estas comunidades si la CBS se encuentra bajo el efecto de una planta vascular nodriza y, mucho menos, *iii)* cómo afectan a los microorganismos con propiedades contra fitopatógenos y a los que influyen en los ciclos biogeoquímicos del C, N y P.

En México, se ha documentado que la leguminosa *Mimosa luisana* Brandegees forma islas de recursos (IR) en los ecosistemas semiáridos (Camargo-Ricalde *et al.*, 2010), por lo que se puede esperar que las IR también puedan favorecer la abundancia de las comunidades microbianas. Camargo-Ricalde y Esperón-Rodríguez (2005) indican que esta leguminosa ayuda en gran parte a la conservación de la materia orgánica y por lo tanto, favorecen la fertilidad del suelo y permiten mantener una gran cantidad de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), los cuales establecen una asociación mutualista con las raíces de las plantas formando las micorrizas arbusculares. Rivera-Aguilar *et al.* (2009) estudiaron la influencia de las características físicas y químicas del suelo en el establecimiento de las diferentes especies de los grupos que componen las CBS (cianobacterias, musgos y líquenes). Este estudio indica que la composición de las especies y la dominancia de los grupos que las conforman determinan la forma en la que las CBS modifican las características físico-químicas del suelo. Asimismo, Ruiz *et al.* (2008)

demonstraron que las IR bajo leguminosas como *Prosopis laevigata* ayudan a la microbiota del suelo, sugiriendo que en las leguminosas los microorganismos encargados de la descomposición de la MOS se agrupan en *Rhizobium* (con 25×10^6 UFC g^{-1}), *Gordonia* y *Microbacterium* (con 2×10^6 UFC g^{-1}) y un grupo de *Streptomyces* (con 10×10^6 UFC g^{-1}). Lo anterior sugiere que *M. luisana*, al ser una leguminosa asociada a CBS, podría ser un importante refugio de microorganismos en el Valle semiárido de Tehuacán-Cuicatlán, en particular de microorganismos con algún potencial biotecnológico; como aquellos con propiedades antibióticas.

Hasta hace unos años, el control de plagas y enfermedades de los cultivos se realizaba sólo mediante procesos químicos, lo que ocasiona deterioro en los agroecosistemas (Zavaleta-Mejía, 1999). Sin embargo, los microorganismos interactúan entre sí mediante procesos de sinergismo y antagonismo. Así, los hongos, actinomicetos y bacterias son útiles para combatir enfermedades de plantas y pueden inhibir el crecimiento o destruir algunos fitopatógenos (Quiroz *et al.*, 2008). Algunos microorganismos del suelo de CBS podrían ser utilizados como controladores biológicos de fitopatógenos, tales como *S. sclerotiorum* y *S. cepivorum*, los cuales provocan la pudrición de la cebolla y del ajo mediante la formación de un micelio blanco en las raíces y hojas infectadas, además de producir dentro de los tejidos enfermos unas estructuras negras conocidas como esclerocios, las cuales son estructuras de resistencia y que sirven como inóculo durante largos periodos (Granados, 2005).

El objetivo de este estudio fue mostrar cómo las IR de *M. luisana* en interacción con las CBS afectan la abundancia de las comunidades microbianas y cómo esto se relaciona con la fertilidad del suelo mediante el aporte de nutrimentos disponibles para los mismos microorganismos y las plantas, así como detectar microorganismos que, favorecidos por las IR y CBS, puedan ser empleados como antagonistas de hongos fitopatógenos.

REVISIÓN DE LITERATURA

II. LAS COSTRAS BIOLÓGICAS: PROCESOS DE FORMACIÓN E IMPORTANCIA EN LOS ECOSISTEMAS ÁRIDOS Y SEMIÁRIDOS

2.1 Definición

Los ecosistemas áridos y semiáridos poseen una microbiota diferente a otros ecosistemas. Dentro de estos ecosistemas, existen pequeños consorcios de organismos altamente especializados capaces de tolerar la deshidratación y la sequía, los cuales forman una película viviente que reside sobre la primera capa del suelo o en la superficie del mismo. Estas comunidades son conocidas como criptobióticas o microbióticas y están conformadas por cianobacterias, líquenes, musgos y hepáticas como se muestra en la Figura 1 (Rivera-Aguilar *et al.*, 2004; Nagy *et al.*, 2005; Bhatnagar *et al.*, 2008).

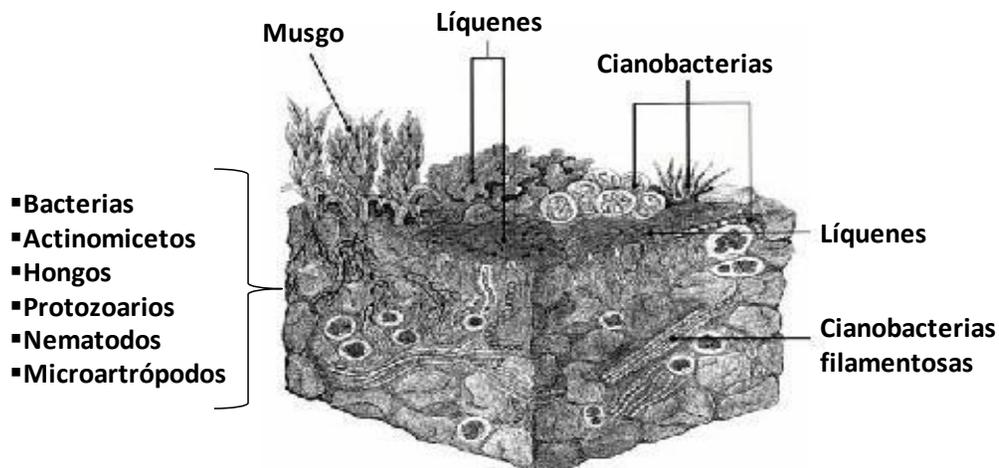


Figura 1. Corte longitudinal de una costra biológica donde se muestran sus componentes micro- y macrobióticos (Imagen modificada a partir de Rivera-Aguilar *et al.*, 2004).

Estos grupos de organismos son conocidos como costras biológicas del suelo (CBS) y contienen diversos microorganismos como bacterias, microhongos, actinomicetos, protozoarios, nematodos y hasta microartrópodos, intermezclados con partículas de suelo

que forman así redes tróficas en pequeña escala (Austin *et al.*, 2004), las cuales se encargan del reciclaje de nutrimentos útiles para los mismos microorganismos y las plantas.

Las CBS son comunidades muy importantes dentro de estos ecosistemas porque ayudan al mantenimiento de la productividad primaria liberando nutrimentos al suelo que quedan disponibles para otros microorganismos o para las plantas vasculares, por lo que mejoran la fertilidad del suelo (Belnap *et al.*, 2001), más adelante se describirán las funciones de las CBS dentro de estos ecosistemas. En estudios a microescala sobre CBS compuestas por cianobacterias, se han identificado dos zonas, la primera que corresponde a los primeros 5 mm del suelo conocida como la zona eufótica y una segunda que corresponde a todo aquello después de los 5 mm. La zona eufótica se caracteriza por una gran cantidad de biomasa microbiana y mayor cantidad de clorofila α , alta intensidad de luz, grandes cambios en la temperatura y ausencia de humedad durante la temporada seca (García-Pichel *et al.*, 2003; Mager, 2010). La zona eufótica es de vital importancia dentro de las costras biológicas porque es donde se lleva a cabo la descomposición de la materia orgánica.

2.2 Distribución geográfica de las costras biológicas del suelo

Las costras biológicas del suelo se pueden encontrar en una gran variedad de hábitats alrededor de todo el mundo: desiertos, bosques, incluso entre la vegetación alpina y de la tundra (Belnap *et al.*, 2001). Las CBS cubren grandes porciones de suelos en zonas desérticas y semidesérticas del mundo, como la zona oriental de Estados Unidos, las praderas y desiertos Australianos y Africanos, asimismo son comunes en los desiertos del medio Oriente, del continente Asiático y del sur de Europa (Belnap y Lange, 2001; García-Pichel *et al.*, 2003). En México, el 60% del territorio nacional corresponde a ecosistemas áridos y semiáridos (Montaño y Monroy, 2000; Montaño *et al.*, 2007). En los ecosistemas áridos y semiáridos mexicanos es posible encontrar a las CB sobre el suelo (Rivera-Aguilar *et al.*, 2005; Jiménez-Aguilar *et al.*, 2009; López-Cortés *et al.*, 2010).

2.3 Estructura física de las costras biológicas

Las CBS son muy diversas, en particular aquellas de zonas desérticas. Existen componentes de las CBS que son similares aunque se encuentran en distintas partes del mundo, tales como las cianobacterias *Microcoleus* y *Nostoc* y ciano-líquenes como *Collema*, entre muchos otros. Asimismo, existen CBS con características físicas diferentes, debido a las condiciones climáticas del lugar en donde se formaron. Por ejemplo, en sitios donde las CBS están dominadas por cianobacterias y las temperaturas son muy bajas, el congelamiento levanta el suelo dando origen a una microtopografía de tipo pinaculada. Mientras que en zonas donde también ocurre el congelamiento, las CBS están constituidas principalmente por líquenes, musgos y raíces de plantas vasculares, y presentan una superficie curvada más que pinaculada. Por otro lado, cuando el congelamiento es poco frecuente y sólo se encuentran las cianobacterias, entonces su forma física es plana, o bien es rugosa cuando la costra biológica está constituida en su mayoría por líquenes o musgos (Belnap y Lange, 2001).

2.4 Componentes de las costras biológicas

Las CBS están compuestas comúnmente por diversos organismos (Figura 1), (cianobacterias, líquenes y musgos, también bacterias, hongos y actinomicetos), los cuales comparten características fisiológicas muy similares, ya que tienen la capacidad de secarse y detener sus actividades tanto metabólicas como respiratorias sin causarles efectos negativos (Grishkan *et al.*, 2006). A estos organismos es común dividirlos en componentes microbióticos y macrobióticos y son importantes porque dentro de las mismas CBS ayudan a mantener las mismas poblaciones microbianas y a su vez ayudan con la provisión de nutrimentos favoreciendo la fertilidad del suelo (Austin *et al.*, 2004).

De acuerdo con la coloración y con el componente principal de las CBS, se puede determinar la edad de la costra. Las cianobacterias en las CBS son las primeras en aparecer, le siguen las CBS con una coloración parda compuesta por líquenes indicando una edad madura, y finalmente se pueden encontrar las CBS oscuras, compuestas principalmente por musgos que indican una costra con edad más avanzada (Jiménez-Aguilar *et al.*, 2009). Las CBS

pueden presentar una coloración diferente dependiendo de las comunidades microbianas que las constituyen y de la humedad del suelo. Por ejemplo, las costras de color verde-gris poseen mayor cantidad de cianobacterias y de algas verde-azules en asociación con microhongos, y para formar una costra biológica dominada por líquenes, dichas cianobacterias migran entre la superficie y la subsuperficie de la CB (1-3 mm) de acuerdo con las temporadas de lluvias y secas. Por otro lado, las costras biológicas de color verde intenso están formadas por musgos, en donde la presencia de cianobacterias sésiles (*e.g. Nostoc, Scytonema*), con un metabolito secundario oscuro (scytonemin), le proveen protección contra los rayos UV permitiendo que los microorganismos heterótrofos colonicen la parte superficial de la costra. Es importante mencionar que el cambio en la coloración es posiblemente debido a un incremento en la diversidad microbiana y a cambios en la humedad del suelo (García-Pichel *et al.*, 2003; Rivera-Aguilar *et al.*, 2006; Bamforth, 2008; López-Cortés *et al.*, 2010).

2.4.1 Componentes microbióticos de las costras biológicas del suelo

2.4.1.1 Bacterias

Las bacterias son microorganismos que carecen de una membrana nuclear que aisle el material genético del resto de los componentes celulares, por lo cual se conocen como procariontes. Su importancia en el suelo se debe principalmente a su diversa capacidad metabólica. Las bacterias son heterótrofas (*i.e.*, utilizan sustratos que contienen carbono, tales como la materia orgánica del suelo o -MOS- para alimentarse). La mayoría de las bacterias contribuyen a la fertilidad del suelo. Dentro del ciclo del carbono, las bacterias participan reduciendo el monóxido de carbono hasta metano y oxidando la MOS hasta dióxido de carbono, también intervienen en el ciclo del nitrógeno, nutrimento clave en el crecimiento de los organismos y que forma parte de aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, enzimas. Otras bacterias pueden oxidar formas no aprovechables de azufre, hierro, manganeso, cobre, etc., o formas aprovechables de N como el amonio en el caso de las

nitrificantes, pero en todos los casos se obtienen formas útiles para las plantas y otros organismos autotróficos (Alexander, 1980).

El aumento de la materia orgánica y su rápida degradación a materia orgánica particulada (MOP) en el suelo provoca que la actividad metabólica de las bacterias sea más rápida, favoreciendo así su crecimiento poblacional (Núñez *et al.*, 2001). Algunos estudios reportan de 4 a 8×10^8 unidades formadoras de colonias (UFC) bacterianas por gramo de CBS en el desierto Sonorense (Bamforth, 1984). También Bolton *et al.* (1993), usando conteos en placa para heterótrofos aerobios, reportaron 3×10^6 UFC g^{-1} debajo de los arbustos en pastizales semidesérticos, pero no separaron el efecto del arbusto y el efecto de la CBS. Kuske *et al.* (2002) encontraron cerca de 105×10^5 UFC g^{-1} en el suelo debajo de CBS en el desierto de la meseta de Colorado, Utah, Estados Unidos. García-Pichel *et al.* (2003) reportaron la diferencia de tamaño en la población bacteriana entre las costras claras y oscuras. Una costra oscura posee $2.1 \pm 0.9 \times 10^9$ células teñibles por gramo de suelo, mientras que una costra clara tiene $1.3 \pm 0.2 \times 10^9$ células teñibles por gramo de suelo. Estos estudios sugieren un efecto positivo de la costra sobre la abundancia microbiana, pero no separan el efecto de la costra del efecto de la planta nodriza.

2.4.1.2 *Cianobacterias*

Las cianobacterias son capaces de realizar fotosíntesis oxigénica, pero algunas viven heterotróficamente o con un metabolismo mixto. Las cianobacterias comparten con algunas otras bacterias la capacidad de usar N_2 atmosférico como fuente de nitrógeno. Pertenecen al grupo de las bacterias gram negativas. Son las únicas algas procariotas, por lo que se les considera cianofitas, según la ponderación de varios taxónomos. El citoplasma presenta estructuras reconocibles como los carboxisomas (corpúsculos que contienen la enzima ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa, RuBisCO) importante para que realicen la fijación del CO_2 y liberen oxígeno al ambiente. Las cianobacterias más comunes son unicelulares cocoides (esferoidales), a veces agregadas en una cápsula mucilaginosa, o formando filamentos simples. Los filamentos pueden aparecer agregados en haces, envueltos por mucílago, o de

una manera que aparentan ramificación. Existen además cianobacterias que forman filamentos con ramificación verdadera. Las cianobacterias colonizan numerosos ecosistemas terrestres y acuáticos.

En las CBS donde dominan cianobacterias se presenta una fuente muy grande de Carbono Orgánico del Suelo (COS) que se acumula en forma de carbohidratos y como energía de reserva para las células a través de su mecanismo fotosintético. Mager (2010) en el desierto de Kalahari en África, encontró que las concentraciones estimadas de C dentro de este tipo de CBS pueden variar entre 60 y 140 g C·m⁻² en la superficie (los 5 mm superiores) y que el componente principal del carbono orgánico total son los carbohidratos en forma de glucosa. El mismo estudio también indica que las concentraciones de C en el nivel superior del perfil del suelo (400-800 mm de profundidad) varían entre 180 y 400 g C·m⁻². Por otro lado, Weibo *et al.* (2008) demostraron como las CBS dominadas por cianobacterias, pueden servir para restaurar zonas áridas y semiáridas degradadas debido a que incrementan los niveles de C orgánico y N total del suelo y promueven la sucesión ecológica, ya que son las primeras en colonizar los suelos degradados. Estos autores incluso mencionan que las herbáceas y los arbustos incrementan el tiempo de recuperación de un suelo cuando las CBS dominadas por cianobacterias están presentes, mostrando un alto coeficiente de correlación entre la cubierta de las plantas vasculares y el N total del suelo. Asimismo, el estudio reporta también una buena correlación entre los contenidos de clorofila *a* y N total, lo que sugiere que las CBS de cianobacterias son necesarias para el establecimiento de la cobertura vegetal.

2.4.1.3 Actinomicetos

Los actinomicetos son una clase de bacterias, del grupo de las actinobacterias, todos los actinomicetos son gram positivos y se caracterizan por presentar ramificaciones en forma radial, lo cual origina un crecimiento somático y reproductivo que se presenta como una estructura miceliar semejante a aquellas de los hongos, y que puede caracterizarse como micelio rudimentario, micelio muy fino, o bien, micelio bien ramificado. En el suelo, su proporción es menor que la de las bacterias, pero en un número mayor a la de los hongos,

con rangos estimados entre 1.0×10^5 y 1.0×10^8 UFC por gramo de suelo seco. El número de actinomicetos está relacionado con los contenidos de materia orgánica o humus, y sobre todo, en suelos abonados con excretas de animales o residuos de cosechas, lo mismo que en la rizósfera (Alexander 1980). Sus actividades en el suelo pueden resumirse en los siguientes puntos: descomposición de residuos vegetales y animales de composición compleja, liberación de amonio a partir de proteínas, procesos de humificación, reducción de nitratos a nitritos, favorecen el crecimiento de las plantas al descomponer la materia orgánica, fijan nitrógeno atmosférico (*Frankia*) y, en condiciones anaeróbicas o microaerofílicas, intervienen en procesos de reducción de Fe^{3+} y SO_4^{2-} . Asimismo, algunos actinomicetos contribuyen a la precipitación de CaCO_3 en el suelo, alterando así el pH del suelo, e incluso producen enzimas termorresistentes útiles en la industria farmacéutica, como la vitamina B₁₂ (Alexander, 1980).

2.4.1.4 Hongos

Los hongos son organismos con núcleo bien diferenciado (eucariontes), pueden ser mucilaginosos, filamentosos y levaduriformes, el conjunto de filamentos llamados hifas, forman el micelio. Todos son aclorofílicos, requieren de materia orgánica preformada para su nutrición, la cual obtienen por absorción, ayudados por la excreción de enzimas extracelulares. Las funciones de los hongos son determinadas por sus características morfológicas y fisiológicas, ya que al ser heterotróficos, generalmente se comportan como saprobios, parásitos o simbioses. Son organismos que se reproducen sexual y asexualmente mediante la producción de esporas (Webster y Weber, 2009). Algunos hongos crecen y se reproducen en condiciones de nutrición muy simples, sólo necesitan agua, carbono, nitrógeno, nutrimentos minerales y en algunos casos vitaminas. Los carbohidratos de origen vegetal constituyen la fuente de energía más abundante para los hongos. Los hongos desempeñan, en interacción con otros microorganismos, un papel importante en la descomposición de la materia orgánica, así como en la liberación de nutrimentos inorgánicos a través de la mineralización (Alexander, 1980; Webster y Weber, 2009).

En el desierto de Negev, en Israel, Grishkan *et al.* (2006) realizaron un estudio sobre hongos asociados a las CBS y sobre cómo su diversidad es afectada por dos microambientes, el primero fue la CBS y el segundo microambiente fueron muestras de suelo que se encuentran bajo la vegetación (arbustos). Estos autores demostraron que los microambientes son muy diferentes en la diversidad de hongos que albergan. Los sitios con CBS tienen en total de 500 a 5500 CFU·g⁻¹ de suelo seco, pero tuvieron 79 especies de hongos diferentes, mientras que los suelos con vegetación poseían una mayor cantidad de hongos mostrando un total de 5500 a 36200 CFU·g⁻¹ de suelo seco, sin embargo, sólo se aislaron 43 especies de hongos diferentes. Dentro de las muestras de CBS se encontró que los micromicetos que contienen melanina y los coelomicetos dominan en el suelo, estos autores reportaron especies como *Alternaria chlamyospora*, *Ulocladium atrum*, *Embellisia phragmospora*, *Sporormiella australis* y un coelomiceto, *Phoma exigua*. Otros géneros contribuyen también a la población de hongos como *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. Por otro lado, en los suelos debajo de la vegetación se encontraron en primer lugar las especies de micromicetos que contienen melanina, seguida de *Penicillium* spp. (*P. aurantiogriseum* y *P. lanosum*) y de los géneros *Aspergillus* y pocos del phylum Zygomycota. Por su parte, Bates *et al.* (2010) realizaron un estudio sobre la diversidad de hongos dentro de las CBS compuestas por líquenes, encontrando que los hongos del phylum Ascomycota son constituyentes primordiales de estas costras. Estos autores, encontraron también que los hongos del género *Alternaria* son dominantes en las CBS conformadas por líquenes, mientras que los hongos *Acremonium* eran dominantes de las CBS conformadas por cianobacterias. Asimismo, demostraron que las CBS conformadas por líquenes poseen mayor diversidad de hongos en comparación con las CBS conformadas por cianobacterias y que esa diversidad está correlacionada con el grado de cobertura de la CBS, e inversamente relacionada con la perturbación.

2.4.1.4.1 *Los hongos en la formación de costras biológicas y la vegetación*

Los microhongos en conjunto con las cianobacterias son importantes en la formación de las CBS. Primero, las cianobacterias se encargan de segregar polisacáridos que sirven como agente cementante y junto con el crecimiento y desarrollo miceliar de los hongos se contribuye a la agregación de las partículas del suelo que más tarde forman los agregados del suelo (Jiménez-Aguilar *et al.*, 2009). A partir de esto, se forma una capa de suelo que soporta el desarrollo radicular de la vegetación. Por otro lado, a la relación mutualista que existe entre hongos y raíces de las plantas se le llama micorriza. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), en particular, aumentan la actividad fisiológica vegetal al incrementar el área radical y la absorción de agua, N, P, K, Ca y otros nutrimentos con mayor eficiencia. Producen hormonas y antibióticos que estimulan el desarrollo radical, merman las poblaciones microbianas adversas, transforman a ciertos complejos minerales y sustancias orgánicas del suelo en nutrimentos para las plantas; el micelio forma una barrera física que aumenta la tolerancia al daño mecánico, a las altas temperaturas, al pH extremo, a la toxicidad por sustancias nocivas y, sobre todo, protege a la planta del ataque de fitopatógenos (Montaño *et al.*, 2007).

2.4.1.4 *Algas verdes*

Las algas verdes o cianofitas, poseen plastidios y núcleo, son unicelulares y tienen clorofila y un pigmento azul (ficocianina) contenidos en gránulos microscópicos llamados cromatóforos. Sin embargo, unas cuantas especies son rojas. Con frecuencia las células se mantienen unidas por medio de una secreción mucilaginosa, formando colonias. Estas colonias son por lo regular, filamentosas, forman grupos o constituyen capas de células. Su reproducción es asexual, en su mayor parte por fisión. Unas cuantas especies forman esporas de “vida latente”. En el ecosistema agregan materia orgánica y aumentan la fertilidad del suelo. Ciertas especies fijan el nitrógeno atmosférico a moléculas orgánicas (Fuller y Ritchie, 1984).

2.4.2 Componentes macrobióticos de las costras biológicas del suelo

2.4.2.1 Líquenes

Los líquenes son asociaciones entre ciertas algas (cianofitas y clorofitas) y hongos (en especial ascomicetos) en un estado de simbiosis (beneficio mutuo). Los hongos obtienen alimento de las células algales, absorbiendo y reteniendo agua, parte de la cual es utilizada por las algas en la fotosíntesis. Las algas y los hongos asociados se reproducen de manera simultánea, formando cuerpos compuestos por células de algas y de hongos capaces de formar un nuevo líquen (Fuller y Ritchie, 1984). Dentro de los estudios sobre CBS conformadas por líquenes, se ha observado que en zonas que sufrieron disturbios por pastoreo, los líquenes dominan en estos sitios cuando se da una recuperación sucesional temprana (Martínez *et al.*, 2006; Jiménez-Aguilar *et al.*, 2009). Se ha encontrado que los primeros líquenes en aparecer son generalmente *Collema*, seguido de *Placidium* y *Colaplaca*. En estadios de sucesión tardía encontramos especies como *Fulgensia bracteata*, *F. desertorum*, *Squamarina lentigeria*, *Diploschistes muscorum* y *Psora* spp. (Belnap y Lange, 2001).

Existen varios tipos de CBS conformadas por líquenes y esto se debe a las características como el color y la forma que presentan. Existen líquenes de tipo escuamuloso, costroso, folioso, gelatinoso y fruticoso. En el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Rivera-Aguilar *et al.* (2006), encontraron líquenes de tipo escuamuloso, costroso y folioso e identificaron las especies de líquenes más representativas para el Valle como: *Placydium squamulosum* (Ach.) Breuss, *Lepraria* spp., *Psora* spp., *Endocarpon pallidum* Ach., *Placopsis* spp., *Xanthoparmelia terrestris* (Kurokawa y Filson) Elix y Johnston, *Collema coccophorum* Tuck y *Caloplaca* spp. (Para mayor información relacionada a especies de líquenes identificadas en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, véase **Apéndice II**). Por otro lado, en un estudio de identificación de componentes macrobióticos de costras biológicas realizado en ecosistemas semiáridos para España, Martínez *et al.* (2006) encontraron especies de líquenes escuamulosos, gelatinosos y costroso como *Acarospora nodulosa*, *Collema crispum*, *Diploschistes diacapsis*, *Diplotomma epipolium*, *Fulgensia subbracteata*, *Lepraria crassissima*, *Placidium rufescens* y

Placidium squamulosum, entre otros, y mencionan que su abundancia está muy relacionada con la cantidad de hojarasca, la respiración del suelo, el contenido de potasio y principalmente los agregados del suelo.

2.4.2.2 Musgos

Los musgos, crecen en sentido vertical con relación al crecimiento horizontal que es peculiar de las hepáticas. Los musgos presentan una estructura de aspecto caulinar con apéndices pequeños, verdes, de tipo foliáceo. A estas estructuras no se les considera tallos ni hojas verdaderas, debido a que carecen de los tejidos vasculares que caracterizan a los tallos y hojas de las plantas superiores. Las “hojas” o mejor conocidas como filidios, tienen nervaduras centrales que las distinguen de las hepáticas foliosas. En la base del tallo crecen rizoides que anclan al musgo y absorben agua y minerales. Los musgos raramente pasan de unos quince centímetros de altura. La parte de los musgos que se observa a simple vista es la gametofítica. Su reproducción es sexual y también puede ser asexual por crecimiento de brotes nuevos en las ramas viejas. En los ecosistemas, reducen la erosión del suelo y pueden ayudar a la formación del suelo (Fuller y Ritchie, 1984). Una CBS constituida por musgos indica que los sitios están bien conservados y en un estadio tardío de sucesión ecológica en el ecosistema. El factor necesario para su desarrollo dentro de zonas áridas y semiáridas es la humedad del suelo, por lo que encuentran en microambientes en donde hay sombra de árboles, arbustos e incluso de pastos, debido a que se pueden encontrar en mayor cantidad debido a la reducción en la evapotranspiración (Martínez *et al.*, 2006; Sandoval-Pérez, 2011 tesis en preparación) (Las especies de musgos identificadas dentro de CBS en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, se reportan en el **Apéndice II**).

2.4.2.3 Hepáticas

El cuerpo de las hepáticas es un talo plano, horizontal, ramificado, con rizoides en su parte inferior, el cual crece hacia el suelo. El talo de una hepática raramente pasa de 8 a 10

centímetros de longitud por 1.5 centímetros de ancho. Algunas especies presentan cuerpos particularmente erectos, con partes semejantes a tallos y hojas. En la mayoría de las hepáticas la diferenciación celular es poco notable, y su reproducción es muy similar a la de los musgos, la cual es sexual y se da mediante gametofitos. Sus hojas pueden absorber suficiente agua y como las hojas son grandes, son útiles en las zonas desérticas, ya que protegen al suelo de la erosión provocada por el impacto de las gotas de lluvia (Fuller y Ritchie, 1984).

2.5 Factores que afectan las poblaciones microbianas en el suelo

Existen factores que ayudan o perjudican a las comunidades microbianas, estas características pueden ser: temperatura, pH, humedad y la misma vegetación. La temperatura juega un papel importante en el crecimiento de los microorganismos. Cada microorganismo tiene una temperatura óptima de desarrollo. Si las temperaturas bajan, los microorganismos pueden morir por el choque frío, por otro lado, si las temperaturas se elevan también puede ocurrir la muerte celular a causa del calor excesivo. A los microorganismos que soportan temperaturas muy elevadas se les conoce como termófilos y su resistencia se debe a la formación de esporas termorresistentes (Alexander, 1980).

El pH es otro factor que afecta a las especies, el número y la actividad de los microorganismos en los suelos. Estos microorganismos, a su vez, regulan la mineralización de la materia orgánica en los suelos y la disponibilidad de N, S, P y de micronutrientes. Con pH inferior a 5.5, la actividad de las bacterias y actinomicetos disminuye, aunque ahora se sabe que en algunos suelos existen especies nitrificantes que son tolerantes a pH ácidos. En ámbitos de acidez alta, los hongos son más tolerantes a estas condiciones y al tener pocos competidores, son los principales responsables de la descomposición de la materia orgánica (Collins *et al.*, 2008; Montañaño *et al.*, 2010).

La disponibilidad de agua tiene consecuencias significativas en el ciclo del carbono y de los nutrientes. Los eventos conocidos como pulsos de agua controlan los procesos en el suelo (Cable y Huxman, 2004). La rápida respuesta de los microorganismos a la disponibilidad

de humedad a menudo resulta en una mineralización de C y N casi instantánea y a cambios en el balance de los nutrientes por mineralización-inmovilización, particularmente en las zonas desérticas (Austin *et al.*, 2004). La fauna del suelo difiere en su respuesta a la desecación del suelo y a los pulsos del agua, debido a la diferencia en su resistencia a la deshidratación, por lo que se sugiere que los pulsos de agua en zonas áridas pueden servir como un mecanismo de selección microbiana (Cable y Huxman, 2004). Por ejemplo, la actividad de los protozoarios está limitada a los periodos en que la humedad es relativamente alta (>-0.1 MPa) y el movimiento no está limitado por la delgada capa de agua. Al mismo tiempo, nematodos y microartropodos son muy tolerantes a las condiciones de sequía y no muestran cambios en su actividad durante la temporada de lluvias (Austin *et al.*, 2004). Una porción de la biomasa microbiana muere durante la época de secas, la cual es descompuesta por los microorganismos sobrevivientes cuando el suelo se vuelve a humedecer. Los hongos son más tolerantes a la desecación que las bacterias y por lo tanto, la abundancia relativa de los hongos puede incrementar durante la temporada seca. Por el contrario, en algunos ecosistemas secos las bacterias incrementan su metabolismo y su biomasa al inicio de la época de lluvias (Montaño *et al.*, 2009).

Otro factor que interviene mucho en la cantidad de las poblaciones microbianas y en la disponibilidad de nutrientes en las zonas semiáridas es la presencia de la cobertura vegetal. Las plantas provocan una retroalimentación dentro del ciclo de los nutrientes, ya que afectan sus respectivos ciclos por medio de la absorción, uso y pérdida de los nutrientes (Camargo-Ricalde *et al.*, 2010). Se ha mostrado, que los arbustos en zonas áridas contribuyen a una mayor fertilidad del suelo comparada con las zonas abiertas, estos arbustos proporcionan un vasto reservorio de nitrógeno debajo de sus doseles mediante la incorporación de hojarasca (Reynolds *et al.*, 1999; Camargo-Ricalde *et al.*, 2010). También ayudan a que otras plantas herbáceas se establezcan generando así una barrera que impide la pérdida de hojarasca por efecto de la erosión generada por el viento. Finalmente, se muestra como se forma una “isla de recursos” (IR) con abundante nitrógeno en el suelo a través de la descomposición, que sirve como reserva ya que libera nitrógeno al suelo a medida que las partes del arbusto (raíz, tallo y hojas) comienzan a morir y a descomponerse

(García-Moya y McKell, 1970). En el presente trabajo se escogió a la leguminosa *Mimosa luisana* porque forma islas de recursos, almacena nutrientes y microorganismos debajo de su dosel y aporta sombra, humedad y nitrógeno (Camargo-Ricalde *et al.* 2002, 2010).

2.6 Las costras biológicas del suelo y su función dentro del ecosistema

Las CBS brindan al suelo funciones como: estabilidad, humedad, fertilidad y favorecen el establecimiento de las plantas vasculares. Eldridge *et al.* (2000), mostraron como las CBS tienen un grado jerárquico de protección contra la erosión del suelo, teniendo como mejores a las CBS compuestas por musgos, seguidas de las CBS dominadas por líquenes. Se muestra cómo las cianobacterias y las algas verdes comienzan el proceso de unión de partículas del suelo debido a la secreción de polisacáridos a partir de sus rizinas. Al aumentar la estructura el suelo, las CBS también ayudan a la infiltración del agua y evitan la escorrentía. Las CBS forman también un sello sobre el suelo, lo cual evita la pérdida de humedad. Maestre *et al.* (2002) reportan que la infiltración cambia con base al componente principal de la costra, siendo mayor la infiltración en CBS conformadas por musgos que en aquellas conformadas por cianobacterias. Los musgos son útiles debido a que retienen más humedad y favorecen las condiciones para el establecimiento de las plantas vasculares.

En los ciclos biogeoquímicos de C, N y P, las CBS tienen un papel importante. Sin embargo, los componentes de las CBS (cianobacterias, líquenes y musgos) dependen de los ciclos de lluvias o pulsos de agua. Las CBS dominadas por musgos y líquenes fotosintetizan a tasas equivalentes a las de una planta vascular con tasas entre 4 y 23 kg C ha año⁻¹ (Thomas *et al.*, 2008). Se estima que alrededor del 50% del C fijado durante la fotosíntesis es rápidamente secretado por las cianobacterias como sustancias poliméricas extracelulares, resultando en el incremento del carbono orgánico del suelo hasta en un 300 %; el C orgánico estimula la actividad bacteriana del suelo y con ello la liberación de nutrimentos.

Las CBS aportan nitrógeno mediante la fijación biológica del nitrógeno (FBN), que es mayor en costras compuestas por cianobacterias y líquenes. Algunas cianobacterias fijadoras

de nitrógeno con heterocistos son *Anabaena*, *Calothrix* y *Nostoc*. Otros géneros de cianobacterias que también fijan nitrógeno dentro de las CBS, pero que no presentan heterocistos son *Lyngbya*, *Microcoleus* y *Oscillatoria*. Dentro de las especies de líquenes más comunes que pueden fijar nitrógeno podemos encontrar *Collema* spp. y *Peltula* spp (Bhatnagar *et al.*, 2008). Por otro lado, las CBS pueden ayudar a capturar esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) que cuando se desarrollen crearán simbiosis con las raíces de plantas vasculares permitiéndoles obtener fuentes de fósforo (P) (Camargo-Ricalde y Dhillion, 2003). A su vez, las CB pueden contener dentro de la microbiota, microorganismos con capacidad para solubilizar los fosfatos presentes en el suelo. Estos microorganismos conocidos como bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV), se encargan de liberar el P de las reservas inorgánicas y orgánicas del P total en el suelo, mediante procesos de solubilización y mineralización (Chen *et al.*, 2006; Guang-Can *et al.*, 2008).

Los factores mencionados dentro de las CB crean un microambiente propicio para el establecimiento de las plantas vasculares; sin embargo, el éxito en la germinación de una semilla depende de la morfología de una CBS. Existen CBS rugosas que son mejores en comparación con las CBS lisas, debido a que atrapan más agua y más semillas originando lugares viables para su germinación (Rivera-Aguilar *et al.*, 2005). En condiciones de laboratorio, se ha visto que la germinación de plantas es más rápida en presencia de una CBS, ya que incrementa la germinación de *M. luisana* hasta en un 50%, sin embargo, el tipo de costra y su edad no muestra grandes cambios en el porcentaje de germinación de las semillas de otras plantas (Su *et al.*, 2009).

2.7 Importancia de las costras biológicas y de sus componentes en la agricultura

Estudios recientes muestran que existen microorganismos que son útiles para controlar la presencia y severidad de alguna enfermedad producida por microorganismos fitopatógenos dentro de cultivos agrícolas. A esta rama de estudio se le conoce como control biológico de fitopatógenos mediante el uso de microorganismos antagonistas (Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2001). Esto es importante puesto que últimamente se han utilizado

agroquímicos que afectan al agroecosistema y reducen la biodiversidad del mismo, causando una inestabilidad que se manifiesta con una mayor incidencia de plagas y enfermedades en los cultivos. El control biológico permite cosechar un cultivo a pesar de que se presente un patógeno (Zavaleta-Mejía, 1999).

Las CBS, podrían ser un importante reservorio de microorganismos con potencial de ser utilizados como antagonistas de fitopatógenos; sin embargo, estudios sobre su efecto en microorganismos antagonistas aún no han sido realizados. En México existen estudios que muestran la diversidad de cianobacterias, hongos y bacterias presentes en las CBS (Rivera-Aguilar *et al.*, 2006; Jiménez-Aguilar *et al.*, 2009; López-Cortés *et al.*, 2010), pero no sobre el efecto que ejercen contra ciertos patógenos de cultivos. Es por ello, que es necesario realizar estudios de este tipo que ayuden a encontrar microorganismos con algún efecto de antibiosis o de antagonismo.

2.8 Caso de estudio: Hongos filamentosos patógenos de la cebolla y el uso de microorganismos para su tratamiento

La cebolla (*Allium cepa* L.) es una planta monocotiledónea muy importante dentro del comercio mexicano, representa el 26% de la producción en los estados de la región del Bajío como Guanajuato (Ponce-Herrera *et al.*, 2008). No obstante, este cultivo se ve fuertemente afectado por la enfermedad de la pudrición blanca, ocasionada por dos hongos filamentosos, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary y *Sclerotium cepivorum* Berk. (Dwayne y Roger, 2005; Ponce-Herrera *et al.*, 2008). *Sclerotinia sclerotiorum* es un hongo ascomiceto patógeno de plantas. Afecta al menos 400 especies de plantas, incluyendo granos de leguminosas y semillas oleaginosas. Como su nombre lo indica, el hongo produce esclerocios grandes (1-10 mm). Los esclerocios pueden germinar de dos maneras, carpogénicamente para formar un apotecio que liberará ascosporas o pueden germinar en forma de micelio para producir hifas. Por otro lado, *Sclerotium cepivorum* es un hongo que se reproduce a través de esclerocios más pequeños (0.2-0.5 mm) que funcionan como propágulos e inóculos. Al momento de su germinación, en la superficie del esclerocio aparece una protuberancia conocida como

appressorium (en inglés), que luego germina por donde el micelio comienza a salir, a crecer y a ramificarse. Una vez que el esclerocio ha germinado, crece intra- e intercelularmente del tejido cortical desintegrándolo y luego, el tejido vascular es invadido por micelio algodonoso mostrando una pudrición semiacuosa (Granados, 2005; Webster y Weber, 2009).

En el proceso de infección del fitopatógeno, el ácido oxálico es necesario para iniciar el proceso de patogenicidad. El ácido oxálico causa un secuestro de calcio en forma de cristales de oxalato insoluble. A su vez, el ácido oxálico acidifica el pH intermedio entre el suelo y el tejido vegetal, el cual activa tanto enzimas pectinolíticas como endo- y exopoligalacturonasas (PG), así como la pectin-metilesterasa, las cuales actúan como enzimas despolimerizadoras de la pared celular de la planta, que resulta en la pérdida de su integridad (Dwayne y Roger, 2005). Ambos hongos causan una enfermedad llamada pudrición blanca de la cebolla que consiste en el amarillamiento general de las hojas, continuando con la muerte de las hojas más externas y retardo del crecimiento. El deterioro gradual ocurre por días o semanas hasta concluir con el colapso final de las hojas y una pudrición basal. En las raíces y hojas inferiores hay abundancia de micelio blanco, lanoso y superficial que produce esclerocios negros y esféricos constituidos por melanina, que se encuentran sobre la superficie o dentro de los tejidos enfermos, éstos pueden servir como inóculo durando periodos prolongados de tiempo en latencia. Para que la germinación de los esclerocios se pueda efectuar, es necesario tener una temperatura cercana a 20 °C y un pH de 4.8, aunque algunos pueden germinar en pH cercanos a 8 (Bolton *et al.*, 2006).

El combate a estos fitopatógenos se da mediante productos químicos como el cloruro de mercurio o los bencimidazoles, en su mayoría plaguicidas, por inundación, por solarización con plástico o por la adición de residuos orgánicos con un alto contenido de compuestos volátiles constituidos por azufre, isotiocinatos y mercaptanos (Coventry *et al.*, 2002). También por la adición de bicarbonato de sodio, de potasio o de amonio, que posee propiedades antimicrobianas que inhiben el crecimiento de varios hongos patógenos y que son considerados seguros para la salud humana y para el ecosistema (Ordoñez-Valencia *et al.*, 2009). El control biológico mediante la adición de microorganismos antagonistas puede

ser una mejor alternativa (Montaño *et al.*, 2010), con la finalidad de disminuir la cantidad de esclerocios o evitar su formación. Especies de hongos como *Trichoderma harzianum*, *Verticillium* sp., *Fusarium* sp., *Mucor* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Teratosperma oligocladum*, *Sporidesmium sclerotivorum* y *Paecilomyces lilacinus* tienen efectos antagónicos contra los esclerocios de *S. sclerotiorum* y *S. cepivorum*. Asimismo, especies bacterianas como *Bacillus subtilis* han sido evaluadas contra estos dos hongos fitopatógenos y forman una zona de inhibición *in vitro*, indicando que la bacteria es un antagonista potencial (Whipps, 2001; Granados, 2005). De manera similar, la bacteria *Serratia marcescens* Br3129 inhibió al patógeno *S. cepivorum* en 63.5%, mientras que *Pantoea agglomerans* Br3124, *Bacillus subtilis* Br006, *B. lentus* Br3118 y *Paenibacillus alvei* Br3119 lo inhiben en 40 y 56%, respectivamente (Granados, 2005). Por su parte, Ibarra-Medina *et al.* (2010), utilizó distintas cepas de *Trichoderma* aisladas de suelos agrícolas y forestales de distintas zonas de México, para combatir dos patógenos de plantas: *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor* Jagger. Encontraron que las cepas de *Trichoderma* son efectivas en inhibir el crecimiento de estos patógenos y sus esclerocios. Muchos de estos microorganismos fueron encontrados en suelo agrícola o en suelo de ecosistemas naturales, indicando que las CBS por su efecto en la abundancia microbiana, pueden tener microorganismos con capacidad antagónica hacia hongos fitopatógenos.

III. HIPÓTESIS DE TRABAJO

H1: Si las costras biológicas del suelo (CBS) incrementan la fertilidad del suelo entonces favorecerán la abundancia de grupos microbianos, por lo que se espera que esta abundancia sea mayor debajo de CBS aunado al efecto que produce *M. luisana* a comparación de los suelos de áreas abiertas, y será mayor aún en la temporada de lluvias con respecto a la temporada de secas, por lo tanto, se espera encontrar dentro de esa abundancia, bacterias y hongos con probable capacidad antibiótica hacia los hongos fitopatógenos a probar.

IV. OBJETIVOS

1. Cuantificar las comunidades microbianas encargadas de la degradación e incorporación de nutrimentos en el suelo: bacterias totales, microorganismos celulolíticos, hongos totales y actinomicetos (carbono), bacterias fijadoras de N en vida libre (nitrógeno), así como microorganismos solubilizadores de fosfato de calcio (fósforo) en el suelo bajo CBS de IR, suelo bajo CB-FIR y del suelo de área abierta, SAA.
2. Cuantificar y aislar las bacterias y hongos filamentosos con propiedades antibióticas hacia dos hongos fitopatógenos, *S. sclerotiorum* y *S. cepivorum*.
3. Analizar el efecto de la variación estacional de la humedad, temperatura y disponibilidad de nutrimentos (C, N, P) sobre la abundancia microbiana y de su capacidad antibiótica hacia *S. sclerotiorum* y *S. cepivorum*.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de estudio

El Valle de Tehuacán se localiza entre los 17° 20' - 18° 53' N y 96° 55' - 97° 44' W, forma parte de la Reserva de la Biosfera de Tehuacán-Cuicatlán, la cual cuenta con una superficie de 10,000 km² y colinda con los estados de Puebla y Oaxaca; está rodeado por una compleja topografía, con altitudes entre 500 y 3,200 msnm. La precipitación media anual varía entre >400 y 600 mm, manifestándose generalmente en verano. La temperatura media anual es 20 °C. La vegetación es un matorral xerófilo con dominancia de cactáceas columnares y leguminosas (Rzedowski, 1978). La flora de este lugar posee entre 2,700 y 3,000 especies de plantas vasculares, de las cuales un 30% son endémicas. Los suelos corresponden a Leptosol, Phaeozems, Regosol y Fluvisol, en general rocosos, poco profundos y bien drenados, con texturas que van de arenosa-limosa a arcillosa-limosa (Ruiz *et al.*, 2008).

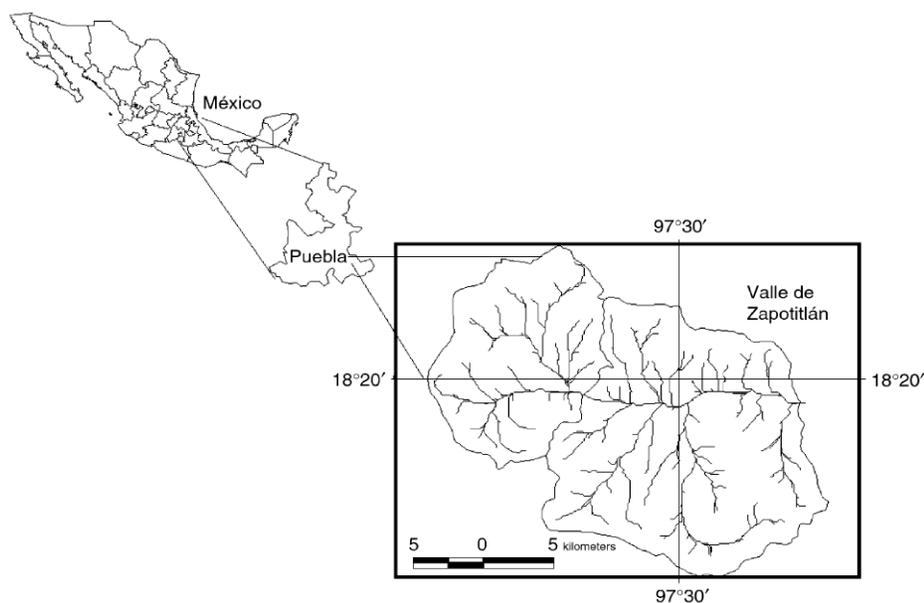


Figura 2. Subcuenca del Valle de Zapotitlán, situada dentro de la Reserva de la Biósfera de Tehuacán-Cuicatlán en el estado de Puebla, México.

Una región dentro del Valle de Tehuacán y donde se realizó esta investigación es el denominado Valle de Zapotitlán Salinas, ubicado dentro de la Reserva de la Biosfera de Tehuacán-Cuicatlán (Figura 2), al sureste del Estado de Puebla y abarca zonas adyacentes al noroeste de Oaxaca. Limita al este con las sierras de Atzingo y Mihuatepec, al norte con los cerros Chacateca y Pajarito, al oeste con los cerros Gordo y Otate, y al sur con los cerros Yistepec y Acatepec. Tiene una superficie de 270 km² y se ubica entre los 18°12' y 18°24' de latitud N y entre los 97°36' y 97°24' de longitud W, en un rango altitudinal de 1,460 a 2,000 msnm. Zapotitlán Salinas pertenece a la provincia fisiográfica de la Sierra Madre del Sur y a la provincia florística del Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Espinosa *et al.*, 2008). Sus suelos son someros y pedregosos, con diferentes niveles de alcalinidad y salinidad producto de la influencia de los diferentes substratos geológicos presentes en el sitio. Las principales unidades de suelos reportadas son: Feozem calcárico, Leptosoles líticos, Leptosoles réndzicos, Fluvisoles calcáricos, Regosoles calcáricos, Regosoles éutricos derivados de evaporitas del Cretácico Inferior y Medio y por materiales transportados derivados de sedimentos aluviales (García-Oliva, 1991). El clima se clasifica en el sistema Köppen modificado por García (1981) como seco semicálido, con lluvias en verano (BSohw) y con poca oscilación térmica. La temperatura media varía entre 15.4 y 25 °C. La precipitación media anual es de 480 mm, con variaciones de 370 hasta 600 mm, dependiendo de la temporada del año (López-Galindo *et al.*, 2003).

El Valle de Zapotitlán comprende un complejo mosaico de vegetación y se ha desarrollado en una región con alta diversidad biótica y una elevada cantidad de endemismos, 365 especies de plantas vasculares son endémicas de esta región y contiene aproximadamente el 10% de las 30,000 especies de plantas vasculares reportadas en México (López-Galindo *et al.*, 2003). En comparación con otras provincias florísticas podemos observar que, de acuerdo con su diversidad florística local, ésta se encuentra dentro de los promedios más altos como la Sierra de Manantlán en Jalisco, el estado de Querétaro y las estaciones biológicas de “Los Tuxtlas” en Veracruz y de Chamela en Jalisco (Dávila *et al.*, 2002). La vegetación dominante es el matorral xerófilo, en el que predominan los tetechos, *Neobuxbaumia tetetzo* (F.A.C. Weber es K. Schum.) Backeb., complementados con otros

elementos florísticos importantes como: *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd) M.C. Johnst. (Mezquite), *Fouquieria formosa* H.B. & K. (Ocotillo), *Cercidium praecox* (Ruiz & Pav.) Harms. (Palo verde), *Beaucarnea gracilis* Lem. (Sotolín) y varias especies de *Mimosa*, entre ellas *Mimosa luisana* Brandegees (Dávila *et al.*, 2002).

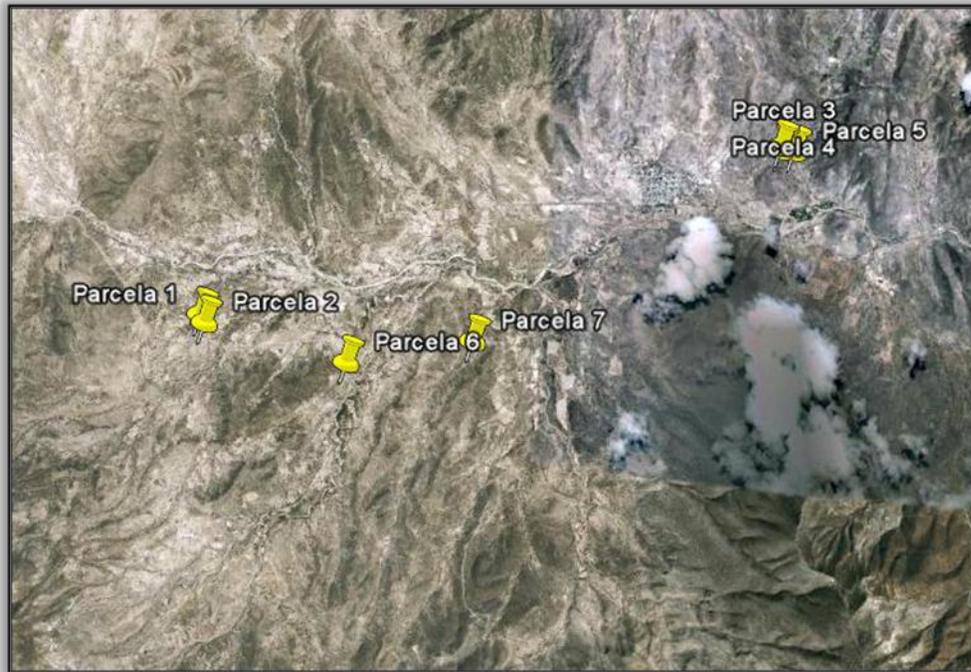


Figura 3. Fotografía satelital tomada de Google Earth (2009), en la cual se ubicaron los sitios en donde se establecieron las parcelas de muestreo para realizar las distintas recolectas del suelo dentro del Valle de Zapotitlán-Salinas en el estado de Puebla, México.

5.2 Fase de campo: Diseño experimental y colecta de suelo

Se seleccionaron siete sitios ($n=7$) dentro del Valle de Zapotitlán Salinas con base en estudios previos (García-Oliva, 1991; Camargo-Ricalde, 2002) (Figura 3; Cuadro 1). Los sitios elegidos presentan a la leguminosa *Mimosa luisana* y no mostraron indicios de una elevada perturbación natural o antropogénica, se ubicaron dentro de un mismo tipo de suelo, clasificando como rendzinas (suelos poco profundos, de 0-20 cm, textura media, 41% arena,

37% limo y 22% arcillas, pH alcalino y con un 31 % de materia orgánica) (García-Oliva, 1991; Perroni-Ventura *et al.*, 2006; Sandoval-Pérez 2011, en preparación).

En cada sitio se estableció una parcela de 20 x 50 m, la cual se consideró como la unidad y réplica de muestreo. Cada parcela estuvo separada de las otras por al menos 2 km de distancia, y se tuvieron un total de siete parcelas, una por cada sitio (n= 7; Figura 3). La localización de cada parcela fue distinta, pero su distribución representó la heterogeneidad del Valle de Zapotitlán Salinas. Cada parcela se dividió a lo largo en 3 secciones iguales (16.7 m). En cada sección se seleccionaron 5 individuos de *Mimosa luisana* con características estructurales similares (altura de 2 a 3 m y diámetro de copa de 2 a 3 m) y tres microambientes (Figura 5) fueron seleccionados en cada parcela y por sección (Figura 4). Se recolectaron 5 muestras de suelo debajo de CB con la presencia de *M. luisana* formando una IR, 5 muestras de suelo debajo de CB sin la presencia de vegetación y 5 muestras de suelo de áreas sin la presencia de vegetación y de costras biológicas. Los microambientes estudiados fueron: el suelo de la CB debajo de *M. luisana* (SCB-IR), el suelo debajo de la CB que estaba fuera de la isla de recursos (SCB-FIR), y el suelo de áreas abiertas (SAA) (Figura 5). La temperatura del suelo se registró *in situ* en cada uno de los microambientes de las parcelas (3 puntos por sección del microambiente), con ayuda de un termómetro para suelo (Extech).

El suelo se recolectó de cada uno de los tres microambientes de cada sección hasta obtener 15 submuestras para cada microambiente por parcela. Se obtuvieron muestras compuestas de suelo a partir de mezclar las 15 submuestras de cada microambiente, para obtener como resultado 3 muestras compuestas de suelo, una por cada microambiente, para cada parcela o sitio de muestreo. La recolecta del suelo se realizó con el mismo diseño y método de muestreo durante la estación seca (marzo) y durante la estación lluviosa (septiembre) en el 2009. El suelo se recolectó de los primeros 0-3 cm de profundidad con una pala y una cinta métrica. Para la colecta de suelo se retiró previamente la costra biológica y/o el mantillo de la superficie del suelo. Las muestras compuestas de suelo se almacenaron en bolsas negras y se mantuvieron en refrigeración a menos de 4 °C para disminuir la actividad de los microorganismos y preservarlas hasta su procesamiento en el laboratorio.

Cuadro 1. Localización y ubicación de los sitios de muestreo distribuidos en el Valle de Zapotitlán-Salinas, Puebla, México.

Parcela	Coordenadas	Altitud (msnm)	Ubicación	Distancia entre sitios
P1	14Q 0653154 UTM 2025155	1615	Municipio de Zapotitlán Salinas, Puebla	A 6 km. en dirección a San Juan Raya
P2	14Q 0654065 UTM 2024375	1580	Municipio de Zapotitlán Salinas, Puebla	A 3.5 km. en dirección a San Juan Raya
P3	14Q 0656149 UTM 2023733	1578	Municipio de Zapotitlán Salinas, Puebla	A 1.5 Km sobre la carretera a Huajuapán
P4	---	---	Municipio de Zapotitlán Salinas, Puebla	A 6 km. en dirección a Reyes Metzontla
P5	14Q 06 630090 UTM 2027241	1509	Municipio de Zapotitlán Salinas, Puebla	Dentro del Jardín Botánico, dirección a las cárcavas
P6	14Q 0663294 UTM 2027162	1460	Municipio de Zapotitlán Salinas, Puebla	Dentro del Jardín Botánico, parte alta del cerro frente a la dirección del Jardín
P7	14Q 06063194 UTM 2026925	1455	Municipio de Zapotitlán Salinas, Puebla	---

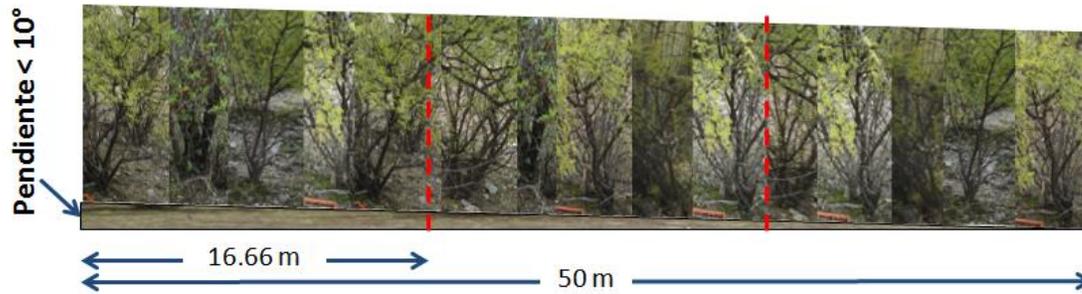


Figura 4. Diseño experimental para el muestreo de suelo en los diferentes microambientes. En este diseño, cada parcela tuvo una pendiente menor a 10° y se dividió en tres (3) secciones iguales en tamaño, las cuales presentaron al menos 5 plantas de *Mimosa luisana* y pocos indicios de perturbación.

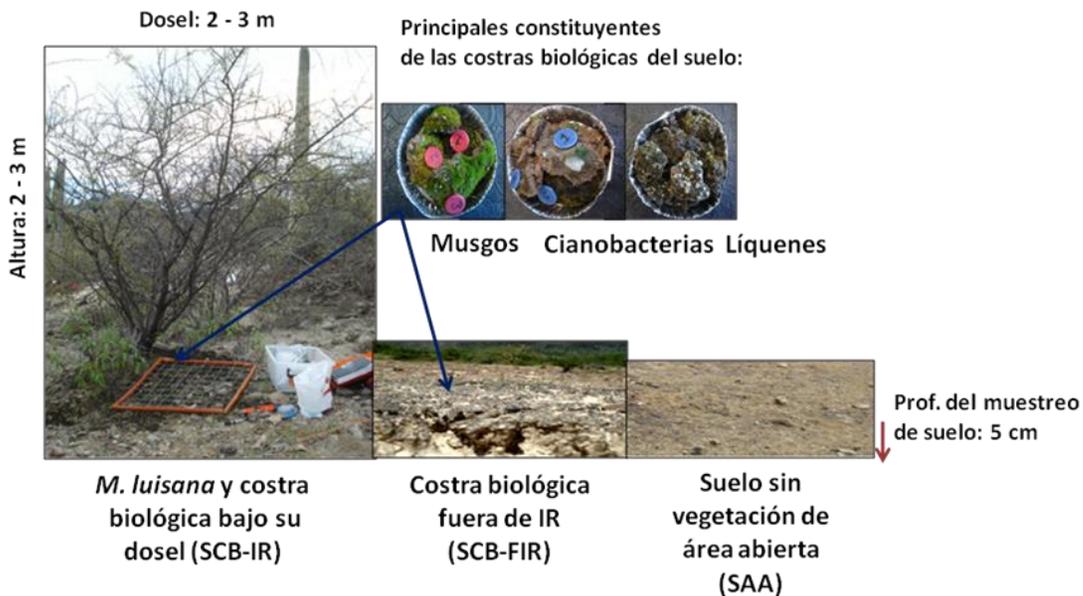


Figura 5. Ilustración que muestra los tres microambientes elegidos para la realización de esta investigación y los componentes principales de las costras biológicas del suelo (CBS). El primer microambiente corresponde al suelo de CBS debajo de isla de recursos formada por la leguminosa *Mimosa luisana* (SCB-IR), el segundo corresponde al suelo de CBS que no presenta el efecto de la isla de recursos (SCB-FIR) y por último se tiene al suelo que se encuentra en un área abierta (SAA) que corresponde a suelo sin ningún tipo de cobertura.

5.3 Fase de laboratorio

pH, conductividad eléctrica, humedad y densidad aparente del suelo

El pH activo del suelo se determinó en una suspensión de 1:2 p/v en agua desionizada con un potenciómetro (Corning). La conductividad eléctrica (CE) se midió en una suspensión de 1:5 p/v en agua desionizada y con un conductivímetro. El porcentaje de humedad (% H₂O) se calculó utilizando el método gravimétrico (secado de una submuestra de suelo en un horno durante 72 h hasta obtener peso constante). La densidad aparente del suelo (DA) se obtuvo usando un tubo de un diámetro de 5.5 cm y una altura de 3 cm, el cual se enterró de forma uniforme en el suelo, el monolito del suelo colectado se secó en un horno a 75 °C por 72 h (Ortiz-Villanueva y Ortiz-Solorio, 1990).

Cuantificación de la materia orgánica en el suelo

La materia orgánica del suelo (MOS) se cuantificó utilizando el método de Walkley-Black reportado por Jackson (1964). Para ello, se pesaron 0.5 g de suelo de la muestra y se agregaron 10 mL de K₂Cr₂O₇. Se añadieron 10 mL de H₂SO₄ concentrado y se agitó cada muestra. Se agregaron 10 mL de H₃PO₄, 0.1 g de NaF y 20 gotas de indicador de difenilamina. La cuantificación se realizó mediante una titulación con FeSO₄. Los cálculos se realizaron conforme al manual del IRENAT (ISP, 1994). El carbono orgánico (C_{org}) fue estimado a partir de los contenidos de materia orgánica.

Medición del nitrógeno total del suelo

La determinación del nitrógeno total (Nt) del suelo se realizó por el método semimicro-Kjeldahl modificado para incluir nitratos, propuesto por Bremner (1965). Primero se realizó una pre-digestión, para lo cual se tomó 0.1 g de suelo, se le adicionaron 4 mL de una mezcla de ácido sulfúrico – salicílico, y se dejaron en reposo por 24 h. Posterior a eso, se añadieron 0.5 g de Na₂S₂O₃ y 1.1 g de mezcla catalizadora (K₂SO₄, 10 g; CuSO₄·5H₂O, 1 g;

Selenio metálico, 0.1 g) y se pusieron a digerir a una temperatura mayor de 350 °C hasta que la muestra se aclaró. La muestra se mezcló con 3 mL de agua destilada y se destiló. Se transfirió la muestra al bulbo de destilación y se le añadió 10 mL de NaOH 10 N. El amonio liberado fue recibido en un matraz con 10 mL de H₃BO₃. Finalmente, se cuantificó mediante una titulación con H₂SO₄ 0.05 N.

Cuantificación de amonios y nitratos

Las formas inorgánicas disponibles de N (NH₄⁺ y NO₃⁻) fueron extraídas con KCl 2N, los extractos se filtraron a través de papel Whatman No. 1 y fueron determinados por colorimetría por el método de fenol-hipoclorito y leídos en un auto-analizador Bran+Luebbe Auto Analyzer III (Robertson *et al.*, 1999). El nitrógeno inorgánico fue calculado como la suma de las concentraciones de amonio y nitrato.

Cuantificación del fósforo inorgánico

El fósforo inorgánico disponible (P_{disp}) se determinó por el método de Olsen (1965). Se pesaron 2.5 g de suelo y se colocaron en tubos de vidrio, tapándolos con una película plástica para evitar su posible contaminación. Se adicionaron 50 mL de solución extractora (NaHCO₃, 42 g; ajustado a un pH de 8.5 con NaOH 10 N) y se agitaron por 30 min a 180 oscilaciones por minuto (rpm). Posteriormente, se filtraron los extractos con papel Whatman No. 5. Se tomó una alícuota de 5 mL del filtrado y se colocó en un matraz aforado de 50 mL, se adicionó agua destilada, 5 mL de solución reductora (C₆H₈O₆, 0.5 g; solución de molibdato de amonio, 100 mL), se aforó y se agitó. La cuantificación se realizó con un espectrofotómetro para leer la absorbancia a 882 nm después de 30 min de reposo. Paralelamente se preparó una curva de calibración de PO₄ que sirvió para hacer los cálculos de concentración de P del suelo.

Análisis microbiológico

Para la cuantificación del número de unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias heterótrofas se usaron 10 g de suelo seco y previamente tamizado. Se agitaron con 90 mL de agua desionizada, y se prepararon diluciones con esa mezcla. A partir de ahí se tomaron alícuotas de 0.1 mL como inóculo para determinar las bacterias heterótrofas, por el método de conteo en placa propuesto por Zuberer (1994). Cada 100 μ L de alícuota fue usada para inocular las cajas Petri con medio de cultivo estéril de Agar Nutritivo. Las cajas Petri fueron incubadas a 28 °C, y las UFC se contaron después de 3 días (Ferrera-Cerrato *et al.*, 1993).

El método de conteo en placa se empleó para cuantificar microorganismos celulolíticos (Zuberer, 1994), el procedimiento es similar al utilizado para las bacterias heterótrofas, para lo cual se prepararon diluciones a partir de una solución de suelo inicial y se usó como inóculo una alícuota (100 μ L) en una caja Petri con medio de cultivo rico en celulosa y con un pH de 6.5 (solución salina estándar de Winogradsky, 5.0 mL; NH_4NO_3 , 1.0 g; extracto de suelo, 20 g; solución de micronutrientos, 1.0 g; carboximetil celulosa (viscosidad media), 10 g; en 1 L de agua destilada; para una descripción más detallada de la preparación del medio de cultivo revisar el **Apéndice I**). Se incubaron las cajas Petri a 28 °C por 5 días. Finalizado este tiempo, se empleó NaOH al 1.0 M, pasados 15 minutos se utilizó rojo Congo para revelar la actividad de este tipo de microorganismos (formación de un halo de solubilización alrededor de la colonia). Posterior a esto se realizó el conteo de las colonias microbianas.

La cuantificación de hongos filamentosos totales se realizó a partir de extraer los hongos mediante una solución con 10 g de suelo y 90 mL de agua destilada. Se realizaron diluciones hasta 10^{-3} . El medio empleado para su posterior inoculación fue PDA con rosa de bengala (3.3 mL L^{-1}) y estreptomycin (0.033 g L^{-1}). Se incubaron durante 3 días a 28 °C y al finalizar este periodo se contaron en cada placa las UFC fúngicas (Ramírez-Gama *et al.*, 1998).

Los actinomicetos presentes en las muestras de suelo se cuantificaron con el método de conteo en placa propuesto también por Zuberer (1994) y Ramírez-Gama *et al.* (1998). Se prepararon diluciones de las muestras de suelo (inicialmente 10 g de suelo en 90 mL de agua). Se tomaron alícuotas de 100 μ L y se cultivaron en cajas Petri con medio de cultivo Czapeck Dox (Baker®). Se incubaron a 28 °C por 5 días. Al finalizar el periodo de incubación, se contaron las UFC en cada placa.

Las bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre (BFNVL) se cuantificaron a partir de diluciones de 1 g de suelo en 9 mL de agua destilada estéril. Se tomó una alícuota de 100 μ L y se colocó en la mitad de una caja Petri con medio de cultivo de carbón activado (Rennie, 1981) (Solución 1: K_2HPO_4 , 0.8 g; KH_2PO_4 , 0.2 g; KCl, 0.1 g; $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, 0.025 g; $Na_2Fe-EDTA$, 0.01 g; extracto de levadura, 0.025 g; manitol, 5.0 g; sacarosa, 2.5 g; lactato de sodio (60% v/v), 0.5 mL; agar, 15 g; en 900 mL de agua; Solución 2: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.2 g; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.06 g; en 100 mL de agua; para una descripción más detallada de la preparación del medio de cultivo revisar el **Apéndice I**). Se incubaron las muestras a 28 °C por 5 días. Al finalizar este tiempo de incubación se realizaron los conteos de las UFC en cada placa.

Los microorganismos solubilizadores de fosfatos de calcio fueron cuantificados a partir de preparar diluciones con una solución de suelo inicial. Se tomarán alícuotas de 100 μ L y se inocularon en cajas Petri con medio de cultivo Picovskaya (glucosa, 10 g; $Ca(PO_4)_2$, 5 g; $(NH_4)SO_4$, 0.5 g; KCl, 0.2 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.1 g; $MnSO_4$ en trazas; $FeSO_4 \cdot H_2O$ en trazas; extracto de levadura, 0.5 g; agar, 15 g; en 1 litro de agua destilada; para una descripción más detallada de la preparación del medio de cultivo revisar el **Apéndice I**). Se incubaron a 28 °C por 5 días, y posteriormente, se contaron las colonias crecidas en cada placa de medio de cultivo.

En todos los casos, los cultivos microbianos se realizaron por triplicado para cada dilución y en cada muestra de suelo, y los valores de UFC se reportaron por gramo de suelo seco en cada muestra.

Selección de cepas bacterianas y fúngicas para evaluar su capacidad antibiótica hacia dos hongos fitopatógenos: Sclerotinia sclerotiorum y Sclerotium cepivorum.

Se utilizaron las cepas de bacterias totales, bacterias fijadoras de nitrógeno en vida libre (BFNVL) y de hongos totales encontradas y aisladas del suelo debajo de CB en isla de recursos formada por *M. luisana* (SCB-IR) durante la temporada de lluvias, debido a que en este microambiente y en esta temporada se encontró la mayor abundancia de colonias para estos grupos microbianos. Estas cepas fueron utilizadas como antagonistas para probar su capacidad antibiótica hacia los hongos fitopatógenos, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotium cepivorum*. Los hongos fitopatógenos fueron proporcionados por el Área de Microbiología del Colegio de Postgraduados. Las cepas de bacterias, BFNVL y hongos filamentosos antagonistas aislados, así como los hongos fitopatógenos se reactivaron en cajas Petri con medio de cultivo estéril de agar papa-dextrosa (PDA).

Las bacterias y BFNVL se inocularon utilizando un asa previamente esterilizada a la flama. Los hongos antagonistas se inocularon utilizando un sacabocados previamente esterilizado a la flama. Para las cepas de bacterias y hongos antagonistas se esperó un día para poder sembrar a los hongos fitopatógenos, mientras que para las cepas de BFNVL la siembra del fitopatógeno se realizó después de cuatro días. Este desfase en el tiempo de sembrado permitió favorecer la fase *Lag* del crecimiento de las bacterias antagonistas. Simultáneamente, se sembraron cajas Petri como testigo y/o control de los microorganismos antagonistas y de los fitopatógenos que sirvieron para conocer la finalización de las pruebas. Las cajas Petri fueron selladas por completo con parafilm® y se incubaron a 26 °C por 72 h. Las pruebas de confrontación finalizaron cuando los cultivos fúngicos de los patógenos (control) llenaron la caja de Petri. Para verificar si las cepas de bacterias, BFNVL y de hongos tuvieron propiedades antagónicas hacia las cepas de los dos fitopatógenos, *S. sclerotiorum* y *S. cepivorum*, se midió con un vernier digital la distancia (en mm) que la bacteria o el hongo, avanzó en crecimiento en la caja cada 24 h, además de observar si la cepa bacteriana formó un halo de inhibición. Otras observaciones como la parasitación de esclerocios o la

producción de sustancias por parte de las cepas confrontadas fueron también evaluadas cualitativamente.

Al final del experimento se calculó la inhibición causada por cada cepa de bacteria o de hongo filamentoso con capacidad antibiótica y, de igual forma, se finalizó esta medición cuando el cultivo control del hongo patógeno colonizó completamente la caja (Ortega-Aguilar, 2009; Ibarra-Medina *et al.*, 2010).

5.4 Análisis estadístico

Los conteos de microorganismos, así como la concentración de nutrimentos del suelo se reportaron por gramo de suelo seco. Los datos se sometieron a un análisis de varianza de medidas repetidas (RMANOVA) con un factor entre grupos (microambiente: SCB-IR, SCB-FIR y SAA) y otro dentro de grupos (estación: secas y lluvias). Cuando el RMANOVA indicó efectos significativos de algún factor, los promedios se compararon usando una prueba de Tukey's HSD (von Ende, 1993; Sokal y Rohlf, 1995). Se utilizó un análisis de correlación de *r*-Pearson (Sokal y Rohlf, 1995) para relacionar la abundancia de microorganismos con las variables del suelo principalmente nutrimentos (C, N, P) y las condiciones microambientales (humedad y temperatura). Los datos, cuando se requirió, fueron transformados a logaritmos para satisfacer los supuestos de la distribución normal, pero los valores promedio fueron reportados en su escala original de medición. Todos los análisis se realizaron en el programa Statistica 6 (Statsoft, 2000) y los promedios se consideraron diferentes a $p \leq 0.05$. Los datos de capacidad antibiótica producto de las pruebas de confrontación de las cepas microbianas, fueron analizados mediante el uso de curvas de trayectoria de crecimiento en el tiempo construidas en el programa Excel 2007 para Windows 7. Los comportamientos de crecimiento y/o antagonismo de cada cepa fueron ilustrados mediante imágenes fotográficas que permitieron una evaluación cualitativa de las pruebas de confrontación, y de los datos de evaluación del crecimiento de las cepas seleccionadas como antagonistas y de los dos hongos fitopatógenos.

VI. RESULTADOS

6.1 Microorganismos y nutrientes del suelo

La abundancia de bacterias totales (UFC) en el suelo del microambiente SCB-IR fue mayor que en los otros dos microambientes (SCB-FIR y SAA) y su población aumentó de manera significativa de la estación seca a la estación de lluvias, pero sólo en el microambiente SCB-IR (Cuadro 4 y Figura 6a). Los hongos totales presentaron una abundancia similar entre los tres microambientes estudiados (SCB-IR, SCB-FIR y SAA), pero su abundancia fue mayor durante la estación de lluvias (Cuadro 4 y Figura 6b). Los actinomicetos fueron más abundantes en SCB-IR que en SCB-FIR y SAA, no obstante, y en contraste con los otros dos grupos microbianos mencionados anteriormente, el número de UFC fue mayor durante la estación de secas y disminuyó en la estación de lluvias (Cuadro 4 y Figura 6c). Las UFC de microorganismos celulolíticos no mostraron una variación significativa entre los tres microambientes, y el efecto de la estacionalidad tampoco fue significativo (Cuadro 4 y Figura 7a). Las bacterias fijadoras de nitrógeno en vida libre (BFNVL) no variaron entre los microambientes; sin embargo, se observó una interacción del microambiente con la estacionalidad (M x E), la cual indicó que en el microambiente SAA durante la estación de secas, tuvo el menor número de UFC de BFNVL (Cuadro 4 y Figura 7b). Los solubilizadores de fosfatos de calcio (FOS) tuvieron una abundancia similar en los tres microambientes, sin embargo, se observó que su abundancia aumentó de la estación seca a la lluviosa (Cuadro 4 y Figura 7c).

El pH del suelo fue de ligeramente alcalino a neutro y sus valores fueron parecidos entre los tres microambientes. Sin embargo, los valores de pH del suelo disminuyeron de la estación seca a la estación de lluvias (Cuadro 2). La temperatura del suelo fue mayor en los microambientes SAA y SCB-FIR en comparación con el SCB-IR; asimismo, la temperatura del suelo fue mayor durante la estación seca y menor en la estación de lluvias (Cuadro 4 y 2). La humedad del suelo fue mayor en el microambiente SCB-IR en comparación con SAA, pero SCB-FIR tuvo un porcentaje de humedad similar a los otros dos microambientes. La humedad del suelo aumentó significativamente de la estación de seca a la lluviosa (Cuadro 2).

Cuadro 2. Valores promedio (\pm error estándar) de pH, conductividad eléctrica, temperatura del suelo, densidad aparente y humedad del suelo de los tres microambientes estudiados (SCB-IR, SCB-FIR y SAA) y durante dos estaciones (secas y lluvias) en un ecosistema semiárido en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, México.

Variables	Microambientes		
	SCB-IR	SCB-FIR	SAA
pH (H ₂ O 1:2)			
Secas	7.85 (\pm 0.03)Aa	7.88 (\pm 0.03)Aa	7.81 (\pm 0.03)Aa
Lluvias	6.98 (\pm 0.10)Ab	7.05 (\pm 0.10)Ab	7.09 (\pm 0.10)Ab
Temperatura del suelo (°C)			
Secas	26.65 (\pm 1.29)Ba	38.04 (\pm 3.10)Aa	41.62 (\pm 3.64)Aa
Lluvias	24.11 (\pm 0.93)Bb	27.66 (\pm 1.85)Ab	29.71 (\pm 1.90)Ab
Humedad del suelo (% H ₂ O)			
Secas	0.81 (\pm 0.12)Ab	1.01 (\pm 0.07)ABb	1.01 (\pm 0.16)Bb
Lluvias	24.39 (\pm 1.72)Aa	21.69 (\pm 1.91)ABa	16.39 (\pm 1.81)Ba
Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)			
Secas	67.18 (\pm 3.49)Ab	62.53 (\pm 6.94)Ab	63.60 (\pm 6.85)Ab
Lluvias	238.47 (\pm 37.19)Aa	183.98 (\pm 28.87)Aa	186.17 (\pm 21.25)Aa
Densidad aparente (g cm ³)			
Secas	1.11 (\pm 0.02)Ba	1.14 (\pm 0.03)Ba	1.21 (\pm 0.03)Aa
Lluvias	1.09 (\pm 0.03)Ba	1.15 (\pm 0.03)Ba	1.26 (\pm 0.03)Aa

Las letras mayúsculas (A y B) indican que los promedios son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) entre microambientes (SCB-IR, SCB-FIR y SAA). Las letras minúsculas (a y b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los promedios de las estaciones dentro de un microambiente; n = 7.

La conductividad eléctrica del suelo no presentó variación significativa entre los microambientes, pero mostró un aumento de la estación seca a la estación de lluvias (Cuadro 2). La densidad aparente del suelo tuvo valores mayores en el microambiente SAA que en los microambientes SCB-IR y SCB-FIR. La densidad aparente del suelo no mostró diferencias significativas entre las dos estaciones (Cuadro 2).

El contenido de materia orgánica en el suelo (MOS) fue mayor en los microambientes con la presencia de las costras biológicas (SCB-IR y SCB-FIR) y menor en el microambiente en donde el suelo está sin cobertura (SAA). Asimismo, la cantidad de MOS también varió entre estaciones y su contenido fue mayor durante la estación de lluvias que en la estación seca

(Cuadro 4 y 3). El carbono orgánico presentó mayor porcentaje en el suelo de los microambientes SCB-IR y SCB-FIR en comparación con SAA. El carbono orgánico del suelo incrementó de la estación seca a la estación de lluvias (Cuadro 4 y 3).

Cuadro 3. Valores promedio (\pm error estándar) de los contenidos de materia orgánica, carbono orgánico, nitrógeno total, nitrógeno inorgánico y fósforo inorgánico del suelo de tres microambientes (SCB-IR, SCB-FIR y SAA) y en dos estaciones (secas y lluvias) en un ecosistema semiárido en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, México.

Variables	Microambientes		
	SCB-IR	SCB-FIR	SAA
Materia orgánica (%)			
Secas	3.75 (\pm 0.62)Ab	3.72 (\pm 0.26)Ab	0.95 (\pm 0.34)Bb
Lluvias	5.3 (\pm 0.58)Aa	4.84 (\pm 0.51)Aa	2.79 (\pm 0.42)Ba
Carbono orgánico (%)			
Secas	2.18 (\pm 0.36)Ab	2.16 (\pm 0.15)Ab	0.55 (\pm 0.19)Bb
Lluvias	2.95 (\pm 0.32)Aa	2.70 (\pm 0.28)Aa	1.56 (\pm 0.23)Ba
Nitrógeno total (%)			
Secas	0.0088 (\pm 0.0006)Ab	0.0089 (\pm 0.0002)Ab	0.0074 (\pm 0.0007)Ab
Lluvias	0.0170 (\pm 0.0013)Aa	0.0162 (\pm 0.0013)Aa	0.0135 (\pm 0.0011)Aa
Nitrógeno inorgánico ($\mu\text{g g}^{-1}$)			
Secas	12.08 (\pm 2.10)Aa	8.81 (\pm 1.07)Aa	10.62 (\pm 1.24)Aa
Lluvias	11.62 (\pm 1.97)Aa	9.84 (\pm 1.37)Aa	6.66 (\pm 1.35)Aa
Amonio ($\mu\text{g NH}_4^+ \text{g}^{-1}$)			
Secas	7.27 (\pm 0.81)Aa	5.6 (\pm 1.16)Aa	6.42 (\pm 0.93)Aa
Lluvias	1.25 (\pm 0.09)Ab	1.16 (\pm 0.07)Ab	0.91 (\pm 0.06)Ab
Nitratos ($\mu\text{g NO}_3^- \text{g}^{-1}$)			
Secas	4.8 (\pm 1.78)Ab	3.2 (\pm 0.54)Ab	4.2 (\pm 0.81)Ab
Lluvias	10.36 (\pm 1.97)Aa	8.67 (\pm 1.34)Aa	5.74 (\pm 1.33)Aa
C:N			
Secas	248.25 (\pm 36.28) Aa	243.22 (\pm 19.82)Aa	84.33 (\pm 31.11)Ba
Lluvias	172.74 (\pm 13.32)Aa	165.61 (\pm 9.61)Aa	124.12 (\pm 31.11)Ba
Fósforo disponible ($\mu\text{g g}^{-1}$)			
Secas	13.35 (\pm 2.70)Ab	14.62 (\pm 2.96)Ab	18.01 (\pm 4.80)Ab
Lluvias	35.58 (\pm 7.93)Aa	34.94 (\pm 4.08)Aa	41.87 (\pm 8.59)Aa

Las letras mayúsculas (A y B) indican que los promedios son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) entre microambientes (SCB-IR, SCB-FIR y SAA). Las letras minúsculas (a y b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los promedios de las estaciones dentro de un mismo microambiente; $n = 7$.

Cuadro 4. Valores de *F* y sus niveles de significancia del ANOVA de medidas repetidas para las variables del suelo cuantificadas en tres microambientes (SCB-IR, SCB-FIR y SAA) y en dos estaciones (secas y lluvias) de un ecosistema semiárido en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, México.

Variables	Factores					
	Microambiente (M)		Estacionalidad (E)		M x E	
	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Microorganismos						
Bacterias totales	16.56	0.0001*	38.63	0.0001*	13.65	0.0002*
Hongos totales	0.51	0.606	7.54	0.01*	0.98	0.39
Actinomicetos	9.68	0.001*	6.15	0.023*	0.66	0.54
Celulolíticos	1.32	0.28	0.44	0.51	0.45	0.63
Bacterias Fijadoras de N ₂ en vida libre	3.53	0.05	0.27	0.60	7.95	0.003*
Solubilizadores de fosfatos de calcio	1.11	0.35	48.23	0.0001*	0.62	0.54
Propiedades físicas						
pH	0.31	0.73	124.12	0.0001*	0.37	0.69
Temperatura del suelo	8.56	0.002*	24.32	0.0001*	2.98	0.07
Humedad del suelo	4.54	0.025*	372.52	0.0001*	5.41	0.01*
Conductividad eléctrica	1.23	0.31	60.21	0.0001*	0.84	0.44
Densidad aparente	4.82	0.02*	0.87	0.36	2.45	0.11
Nutrimientos						
Materia orgánica	19.97	0.0001*	14.05	0.001*	0.27	0.76
Carbono orgánico	20.17	0.0001*	11.59	0.003*	0.35	0.70
Nitrógeno total	2.63	0.09	107.13	0.0001*	0.75	0.48
Nitrógeno inorgánico	0.48	0.62	0.83	0.37	0.06	0.93
Amonio (NH ₄ ⁺)	0.83	0.45	87.64	0.0001*	0.67	0.52
Nitratos (NO ₃ ⁻)	1.68	0.21	14.42	0.001*	1.43	0.26
Relación C:N	15.97	0.0001*	3.01	0.099	3.17	0.06
Fósforo disponible	0.34	0.71	72.77	0.0001*	0.15	0.85

* $p \leq 0.05$

El nitrógeno total (Nt) del suelo no varió entre microambientes, pero sí entre las estaciones. El suelo recolectado en la estación de lluvias tuvo mayor contenido de Nt que el suelo de la estación seca (Cuadro 3). El nitrógeno inorgánico no fue diferente entre microambientes, y tuvo contenidos parecidos durante las dos estaciones.

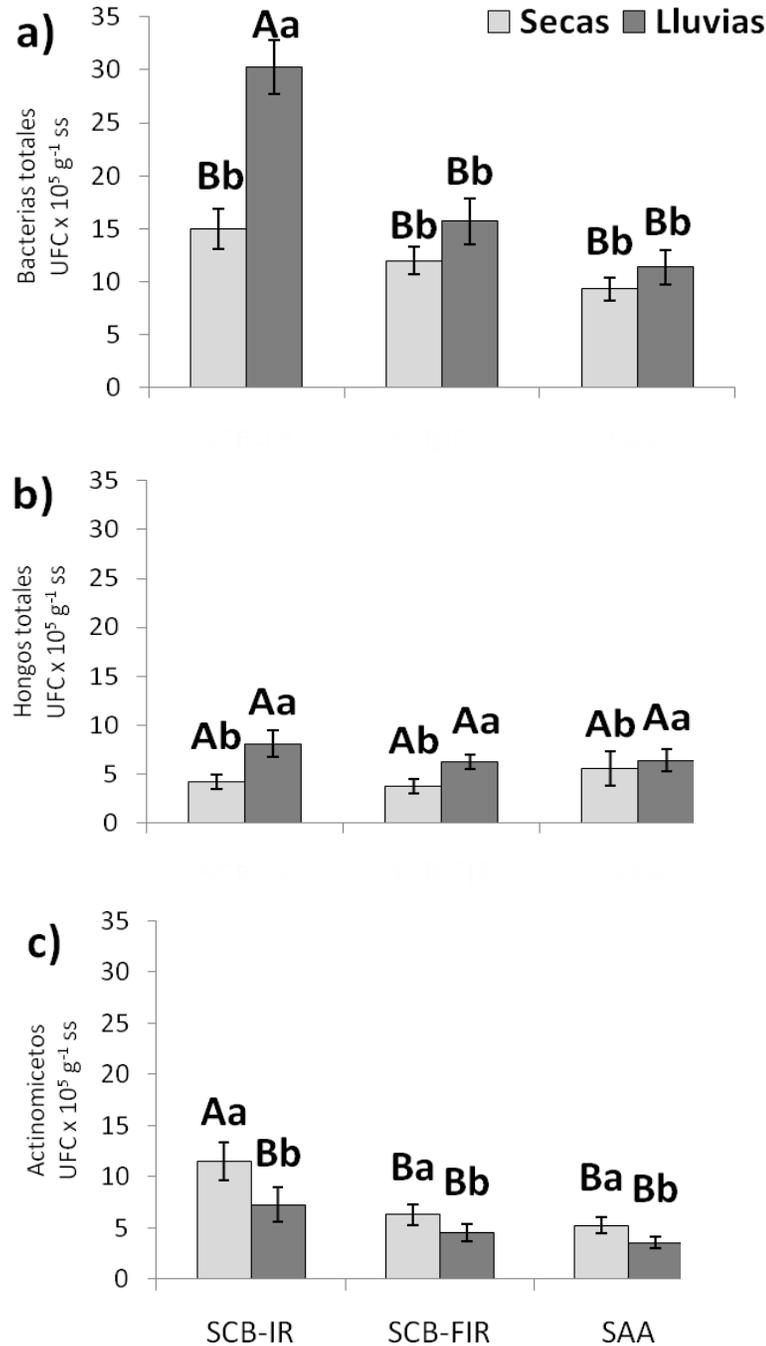


Figura 6. Variación estacional (promedio ± error estándar) de las unidades formadoras de colonias (UFC) expresadas en gramos de suelo seco: (a) bacterias totales, (b) hongos totales y (c) actinomicetos del suelo de tres microambientes (SCB-IR, SCB-FIR y SAA) en un ecosistema semiárido del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, México. Las letras mayúsculas (A y B) indican que los promedios son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) entre microambientes. Las letras minúsculas (a y b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los promedios de las estaciones (secas y lluvias) dentro de un mismo microambiente.

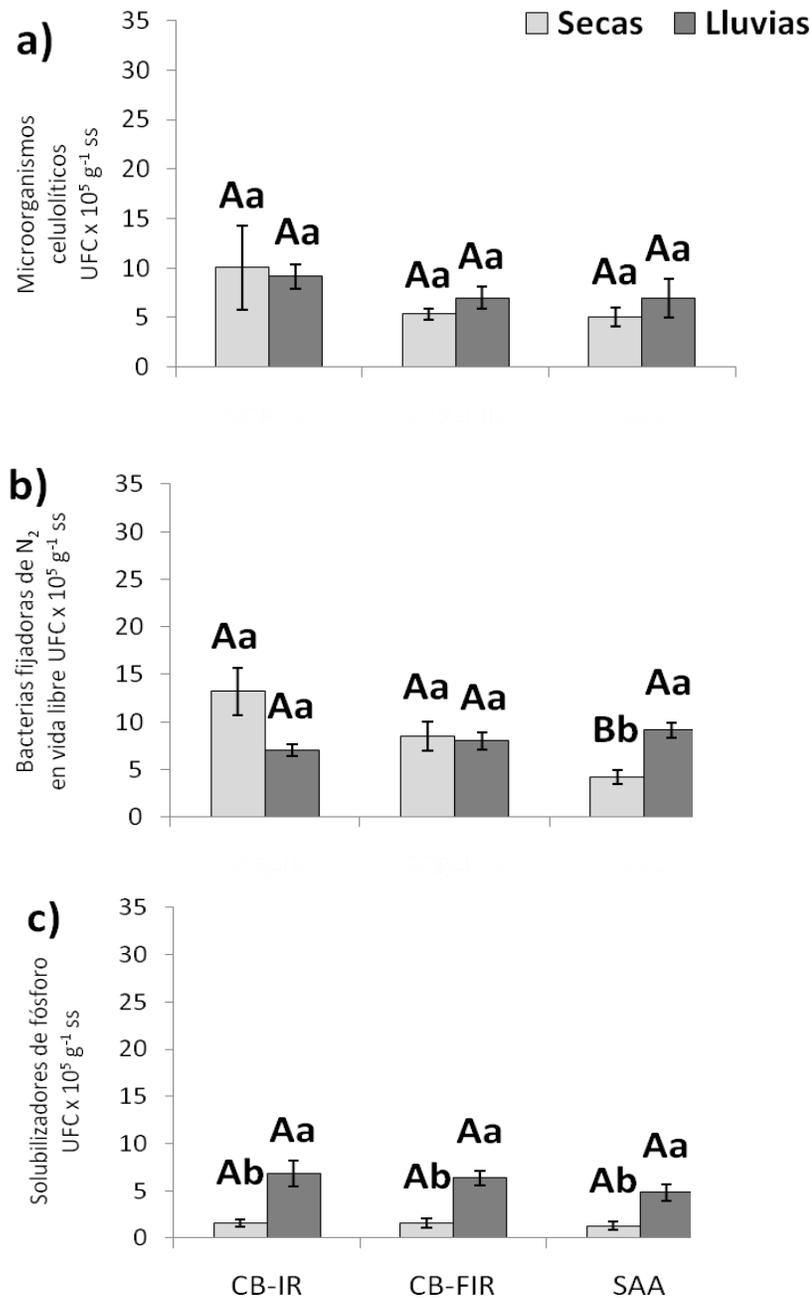


Figura 7. Variación estacional (promedio ± error estándar) de las unidades formadoras de colonias (UFC) expresadas en gramos de suelo seco: (a) microorganismos celulolíticos, (b) bacterias fijadoras de N₂ en vida libre y (c) solubilizadores de fosfatos de calcio del suelo de tres microambientes en un ecosistema semiárido del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, México. Las letras mayúsculas (A y B) indican que los promedios son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) entre microambientes (SCB-IR, SCB-FIR y SAA). Las letras minúsculas (a y b) indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los promedios de las estaciones (secas y lluvias) dentro de un mismo microambiente.

En contraste, el contenido de amonio y de nitrato del suelo fue parecido entre los tres microambientes. Sin embargo, en los tres microambientes estas formas inorgánicas de N tienen un patrón estacional opuesto. La cantidad de amonio fue mayor durante la estación seca que en la estación de lluvias, mientras que la cantidad de nitrato aumentó de la estación seca a la lluviosa (Cuadro 4 y 3). El cociente C:N fue similar en los microambientes SCB-IR y SCB-FIR, pero éstos presentaron un cociente C:N mayor que SAA, aunque no hubo variaciones por efecto de estacionalidad (Cuadro 4 y 3). La cantidad del fósforo inorgánico disponible del suelo, fue similar en los tres microambientes, pero aumentó de la estación seca a la estación de lluvias (Cuadro 3).

Las UFC de bacterias totales correlacionaron negativamente con el pH, la temperatura y la densidad aparente, y de manera positiva con la conductividad eléctrica, la humedad del suelo, la materia orgánica, el nitrógeno total, el nitrato y el P disponible (Cuadro 5). Los hongos totales fueron negativamente correlacionados con el pH y la temperatura, mientras que la humedad del suelo correlacionó de manera positiva con su abundancia (Cuadro 5). Los actinomicetos aumentaron su abundancia cuando existió una buena cantidad de amonio y cuando la relación de C:N fue mayor (Cuadro 5). Los microorganismos celulolíticos sólo correlacionaron positivamente con la concentración de nitrato en el suelo (Cuadro 5). La abundancia de las bacterias fijadoras de nitrógeno en vida libre no correlacionó con ninguna de las propiedades del suelo estudiadas. Finalmente, la abundancia de solubilizadores de fosfatos de calcio correlacionó positivamente con la conductividad eléctrica, la humedad del suelo, la MOS, el nitrógeno total, la concentración de nitrato y con el P disponible. El pH, la temperatura y el amonio correlacionaron negativamente con la abundancia de solubilizadores de fósforo (Cuadro 5).

Cuadro 5. Coeficientes de correlación de Pearson (*r*) entre las variables del suelo y la abundancia de seis grupos de microorganismos del suelo en un ecosistema semiárido del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, México.

Variables del suelo	Bac	Hon	Act	CMC	BFNVL	Fos
	----- <i>r</i> -----					
pH	-0.43**	-0.41**	0.12	-0.09	0.14	-0.62***
CE	0.54***	0.28	-0.17	0.02	-0.08	0.56***
T	-0.51***	-0.41**	-0.10	-0.23	-0.38	-0.50***
DA	-0.35*	0.05	-0.29	-0.24	0.10	-0.11
H ₂ O	0.59***	0.45**	-0.23	0.11	-0.04	0.75*
MOS	0.63***	0.02	0.14	0.21	0.03	0.43**
Nt	0.60***	0.19	-0.23	0.12	-0.14	0.66*
NH ₄ ⁺	-0.19	-0.21	0.50***	0.08	0.02	-0.54*
NO ₃ ⁻	0.63***	0.12	0.07	0.49***	-0.07	0.45**
C:N	0.17	-0.19	0.42**	0.17	0.22	-0.09
P _{disp}	0.47**	0.27	-0.10	0.23	-0.14	0.59*

*** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$, Bac= Bacterias totales, Hon= Hongos totales, Act= Actinomicetos, CMC= Microorganismos celulolíticos, BFNVL= Bacterias fijadoras de nitrógeno en vida libre, Fos= Solubilizadores de fósforo, pH= potencial de hidrógeno, CE= conductividad eléctrica, T= temperatura, DA= densidad aparente, H₂O= humedad del suelo, MOS= materia orgánica del suelo, Nt= nitrógeno total, NH₄⁺= amonio, NO₃⁻= nitrato, C:N= relación carbono nitrógeno, P_{disp}= fósforo disponible.

La humedad del suelo tuvo un efecto positivo en la conductividad eléctrica, la materia orgánica, el nitrógeno total, el nitrato del suelo y sobre el P disponible, pero tuvo un efecto negativo con la concentración de amonio (Cuadro 6; si los valores de *p* son menores a 0.05, entonces existe una relación entre ambas variables y, a su vez, si *r* es positiva indica que ambas variables son directamente proporcionales y aumentan, por otro lado, si el valor de *r* negativa, entonces ambas variables presentan una disminución inversamente proporcional). La MOS correlacionó con la conductividad eléctrica, con la humedad, el nitrógeno total, el nitrato y con el cociente C:N (Cuadro 6). El nitrógeno total (Nt) aumentó proporcionalmente a la CE, la humedad y la MOS, pero disminuyó su concentración con relación al pH, la temperatura y el amonio (Cuadro 6). La abundancia de bacterias correlacionó positivamente con microorganismos celulolíticos y con solubilizadores de fosfatos de calcio. Los actinomicetos correlacionaron positivamente con los microorganismos celulolíticos (Cuadro 7). En contraste, los hongos no correlacionaron con ningún otro grupo microbiano.

Cuadro 6. Coeficientes de correlación de Pearson (*r*) entre las variables del suelo de tres microambientes dentro de un ecosistema semiárido del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, México.

	pH	CE	T	H ₂ O	MOS	Nt	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	C:N
Variab del suelo	----- <i>r</i> -----								
pH	---								
CE	-0.78***	---							
T	0.47***	-0.51***	---						
H ₂ O	-0.81***	0.77***	-0.52***	---					
MOS	-0.35*	0.50***	-0.57***	0.50***	---				
Nt	-0.64***	0.63***	-0.40***	0.86***	0.59***	---			
NH ₄ ⁺	0.71***	-0.60***	0.26	-0.76***	-0.23	-0.68***	---		
NO ₃ ⁻	-0.43**	0.49***	-0.33*	0.65***	0.46**	0.65***	-0.37*	---	
C:N	0.17	-0.02	-0.30	-0.18	0.65***	-0.15	0.32*	-0.02	---
P _{disp}	-0.52***	0.51***	-0.28	0.66***	0.20	0.63***	-0.43**	0.58***	-0.24

*** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$ y * $p \leq 0.05$, pH= potencial de hidrógeno, CE= conductividad eléctrica, T= temperatura, DA= densidad aparente, H₂O= humedad del suelo, MOS= materia orgánica del suelo, Nt= nitrógeno total, NH₄⁺= amonio, NO₃⁻= nitrato, C:N= relación carbono nitrógeno, P_{disp}= fósforo disponible

Cuadro 7. Coeficientes de correlación de Pearson (*r*) entre la abundancia de seis grupos de microorganismos del suelo de un ecosistema semiárido del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, México.

	Bac	Hon	Act	CMC	BFNVL
	----- <i>r</i> -----				
Bac	---				
Hon	0.26	---			
Act	0.26	0.12	---		
CMC	0.38*	0.01	0.45**	---	
BFNVL	-0.06	-0.05	0.13	-0.04	---
Fos	0.60***	0.22	-0.24	0.21	-0.06

*** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$ y * $p \leq 0.05$, Bac= Bacterias totales, Hon= Hongos totales, Act= Actinomicetos, CMC= Microorganismos celulolíticos, BFNVL= Bacterias fijadoras de nitrógeno en vida libre, Fos= Solubilizadores de fósforo

6.2 Antagonismo in vitro de grupos de microorganismos contra hongos fitopatógenos

El crecimiento de los hongos fitopatógenos fue rápido, en menos de tres días cubrieron la caja de cultivo con su micelio y al término de cuatro días ya existía la formación de los esclerocios. Sin embargo, cuando se confrontaron los fitopatógenos con las cepas de microorganismos antagonistas, fue necesario esperar hasta seis días para observar resultados.



Figura 8. Evidencias de un posible antagonismo de cepas de bacterias y hongos extraídos del suelo de CBS en isla de recursos debajo de *Mimosa luisana* contra dos hongos fitopatógenos. A) Efecto nulo de antibiosis por parte de dos cepas de bacterias contra *Sclerotium cepivorum*, y su respectivo control, B) Formación de un halo de inhibición que impide el crecimiento del patógeno *Sclerotium cepivorum* y su respectivo control, y C) Confrontación entre una cepa de hongo antagonista y *Sclerotinia sclerotiorum* en donde se presenta la zona de confrontación.

Se seleccionaron 15 cepas del grupo de las bacterias que crecieron en agar nutritivo y que provenían del suelo del microambiente SCB-IR y fueron sembradas en agar de papa-dextrosa (PDA), sin embargo, sólo se lograron aislar siete de estas cepas bacterianas. Las cepas que se lograron aislar fueron etiquetadas con un número de identificación: 1, 4, 5, 7, 13, 14 y 15. Estas cepas fueron confrontadas contra el hongo fitopatógeno *S. sclerotiorum* y después contra *S. cepivorum*. Las cepas bacterianas 1, 4, 5 y 7 no presentaron antibiosis contra ninguno de los dos fitopatógenos, ya que al finalizar la prueba de confrontación, el hongo patógeno había crecido sobre estas cepas bacterianas (Figura 8A y Figura 10). En contraste, las cepas bacterianas 13, 14 y 15 crecieron desde el primer día y evitaron que los

dos fitopatógenos avanzaran mediante la formación de un halo de inhibición (HI), lo que les permitió conservar su integridad durante los seis días que duró la confrontación (Figura 8B, Figura 9 y Figura 11). Para las cepas de BFNVL del microambiente SCB-IR se eligieron 16 cepas cultivadas en el medio de Rennie; de las cuales sólo 12 cepas se lograron cultivar en medio PDA. Al realizar la confrontación contra los hongos fitopatógenos, ninguna de las cepas presentó algún tipo de antibiosis contra cualquiera de los dos hongos fitopatógenos.

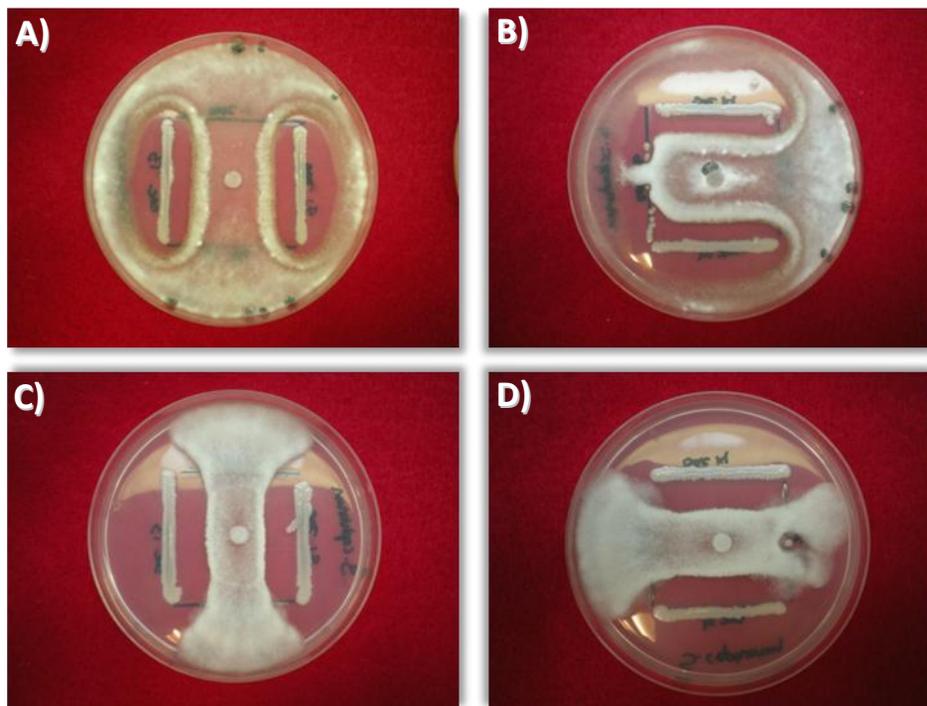


Figura 9. Antibiosis presente después de finalizadas las confrontaciones (6 días) de bacterias aisladas a partir de muestras de suelo de costras biológicas en isla de recursos debajo de *Mimosa luisana* contra dos hongos fitopatógenos: A) Cepa bacteriana 13 contra *Sclerotinia sclerotiorum*, B) Cepas bacterianas 14 (inferior y superior) y 15 (lateral izquierdo) contra *Sclerotinia sclerotiorum*, C) Cepa bacteriana 13 contra *Sclerotium cepivorum*, y D) Cepas bacterianas 14 (inferior y superior) y 15 (lateral derecho) contra *Sclerotium cepivorum*.

Del grupo de los hongos se aislaron 15 cepas, pero sólo se lograron cultivar 12 de éstas. Los hongos cultivados fueron las cepas con número de clave: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 14 y 15. Estas 12 cepas de hongos fueron confrontadas contra los dos hongos fitopatógenos, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotium cepivorum*. Las cepas fúngicas 4 y 10 no presentaron ningún efecto de antibiosis contra los dos hongos fitopatógenos; por su parte,

las cepas fúngicas 2 y 15 no presentaron antibiosis contra *S. sclerotiorum* y al término de la prueba (seis días) los hongos fitopatógenos habían avanzado sobre las colonias de los hongos antagonistas (Figura 12C y 12I).

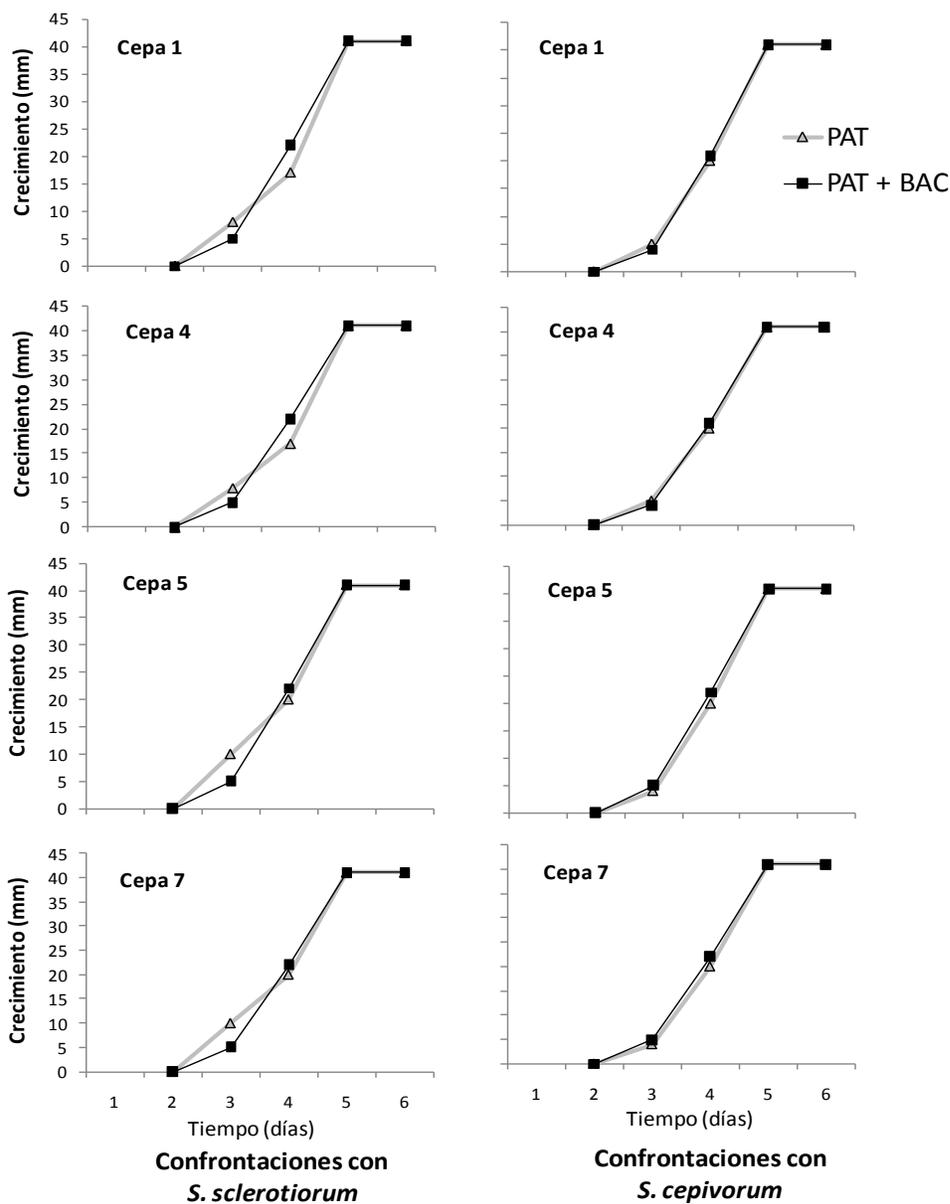


Figura 10. Crecimiento de los hongos fitopatógenos *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotium cepivorum* con y sin las cepas bacterianas 1, 4, 5 y 7 aisladas del suelo de costras biológicas en islas de recursos bajo el dosel de *Mimosa luisana*. Del lado izquierdo están confrontadas las cepas bacterianas 1, 4, 5 y 7 contra *S. sclerotiorum*, asimismo del lado derecho se encuentran las mismas cepas bacterianas (1, 4, 5 y 7) contra *S. cepivorum*. Se observa que tanto el crecimiento del hongo fitopatógeno por si solo como durante la confrontación es similar, indicando que las bacterias no presentaron antibiosis.

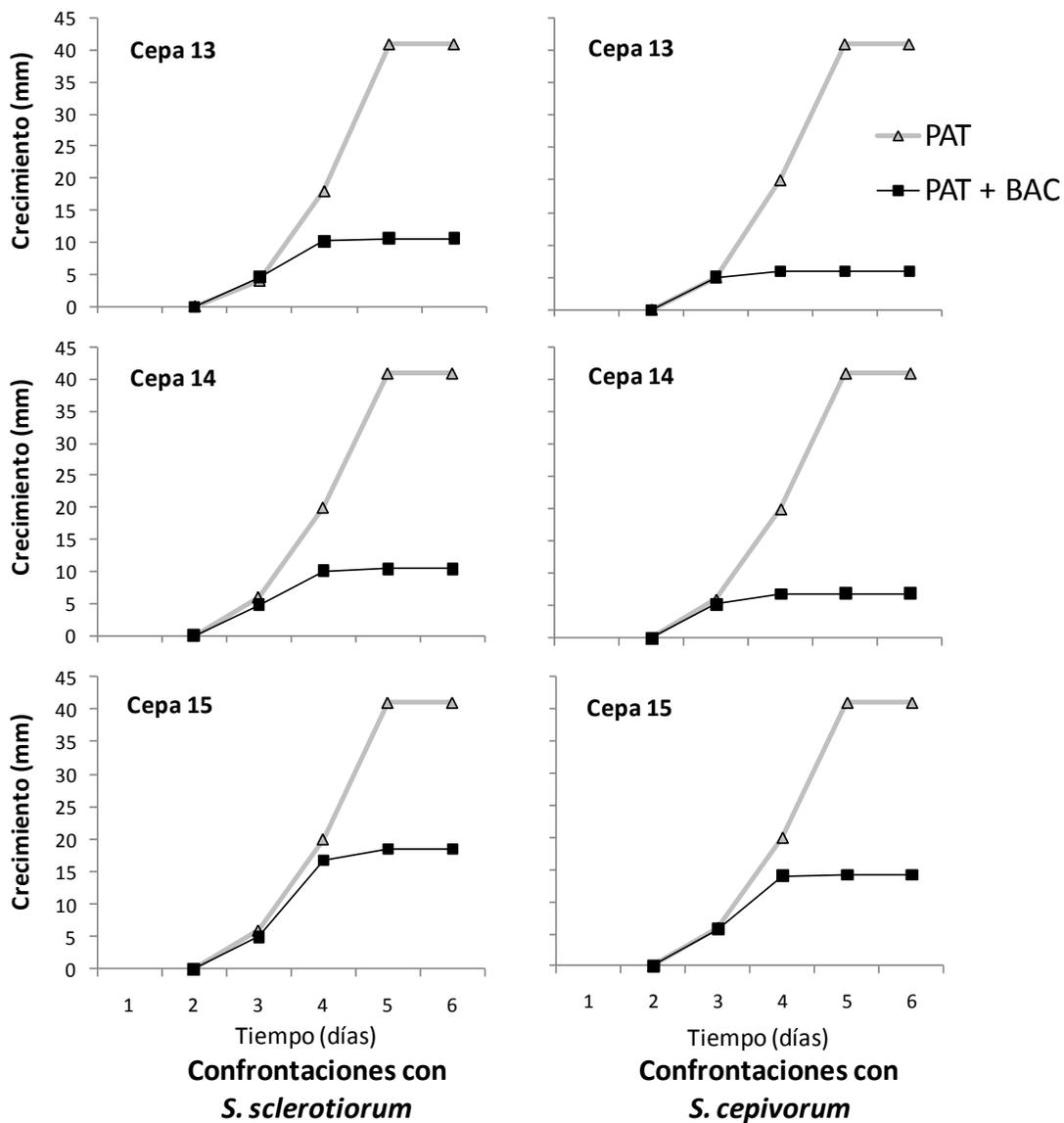


Figura 11. Crecimiento de los hongos fitopatógenos *S. sclerotiorum* y *S. cepivorum* con y sin las cepas bacterianas 13, 14 y 15 aisladas del suelo de costras biológicas en islas de recursos bajo el dosel de *M. luisana*. En el lado izquierdo están confrontadas las cepas bacterianas 13, 14 y 15 contra *S. sclerotiorum* y del lado derecho las mismas cepas bacterianas (13, 14 y 15) contra *S. cepivorum*. Se observa que durante la confrontación el hongo fitopatógeno presentó un crecimiento menor, causado por un halo de inhibición originado por las cepas bacterianas y que detuvo el avance de los hongos fitopatógenos, por lo que estas cepas si presentan algún tipo de antibiosis.

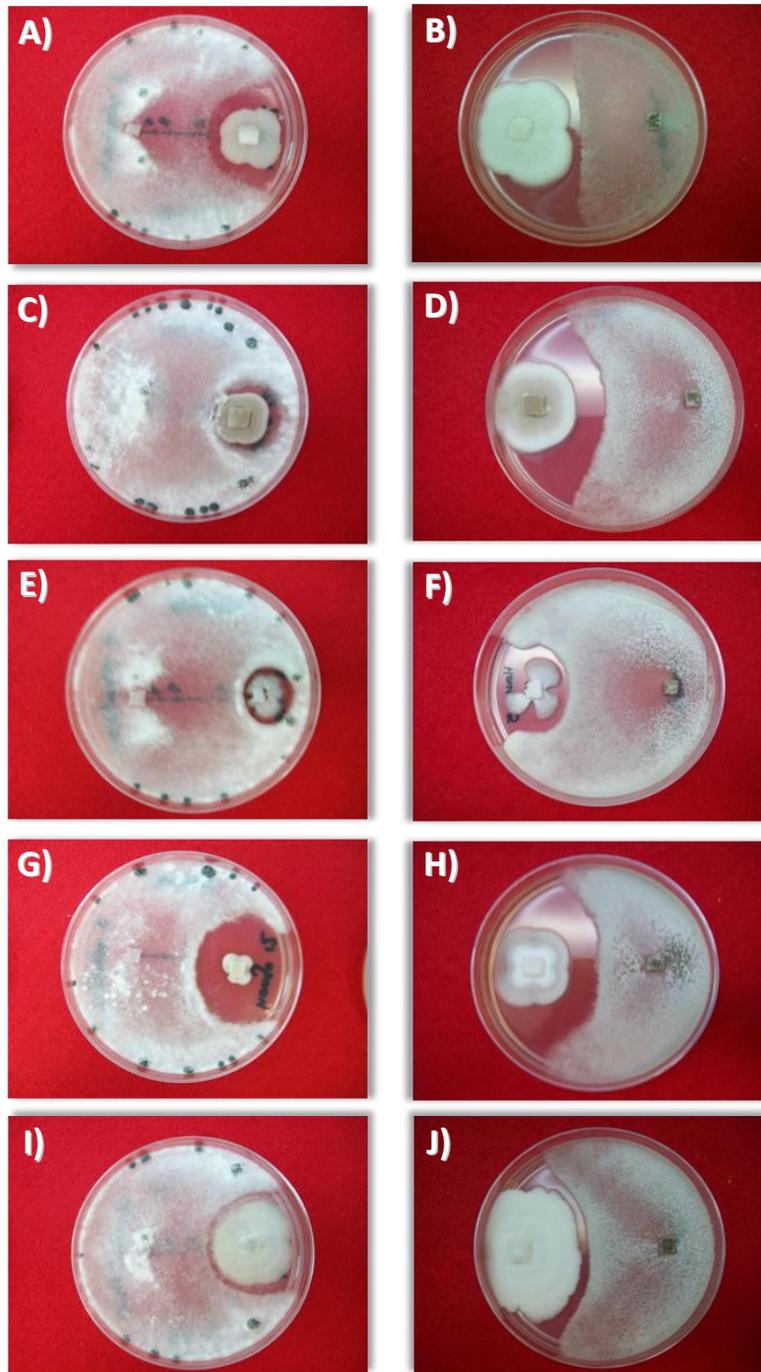


Figura 12. Cepas de hongos del suelo de costras biológicas en isla de recursos y confrontadas contra dos hongos fitopatógenos, del lado izquierdo *Sclerotinia sclerotiorum* contra A) Cepa 1, C) Cepa 2, E) Cepa 5, G) Cepa 12, I) Cepa 15; y del lado derecho *Sclerotium cepivorum* contra B) Cepa 1, D) Cepa 2, F) Cepa 5, H) Cepa 12 y J) Cepa 15, respectivamente. Se aprecia como la mayoría de las cepas de hongos ejercen un posible efecto de antibiosis en contra del hongo fitopatógeno manifestado mediante la formación de un halo de inhibición, excepto en las imágenes C) e I), en las cuales se logra apreciar como el hongo fitopatógeno comienza a invadir al hongo antagonista.

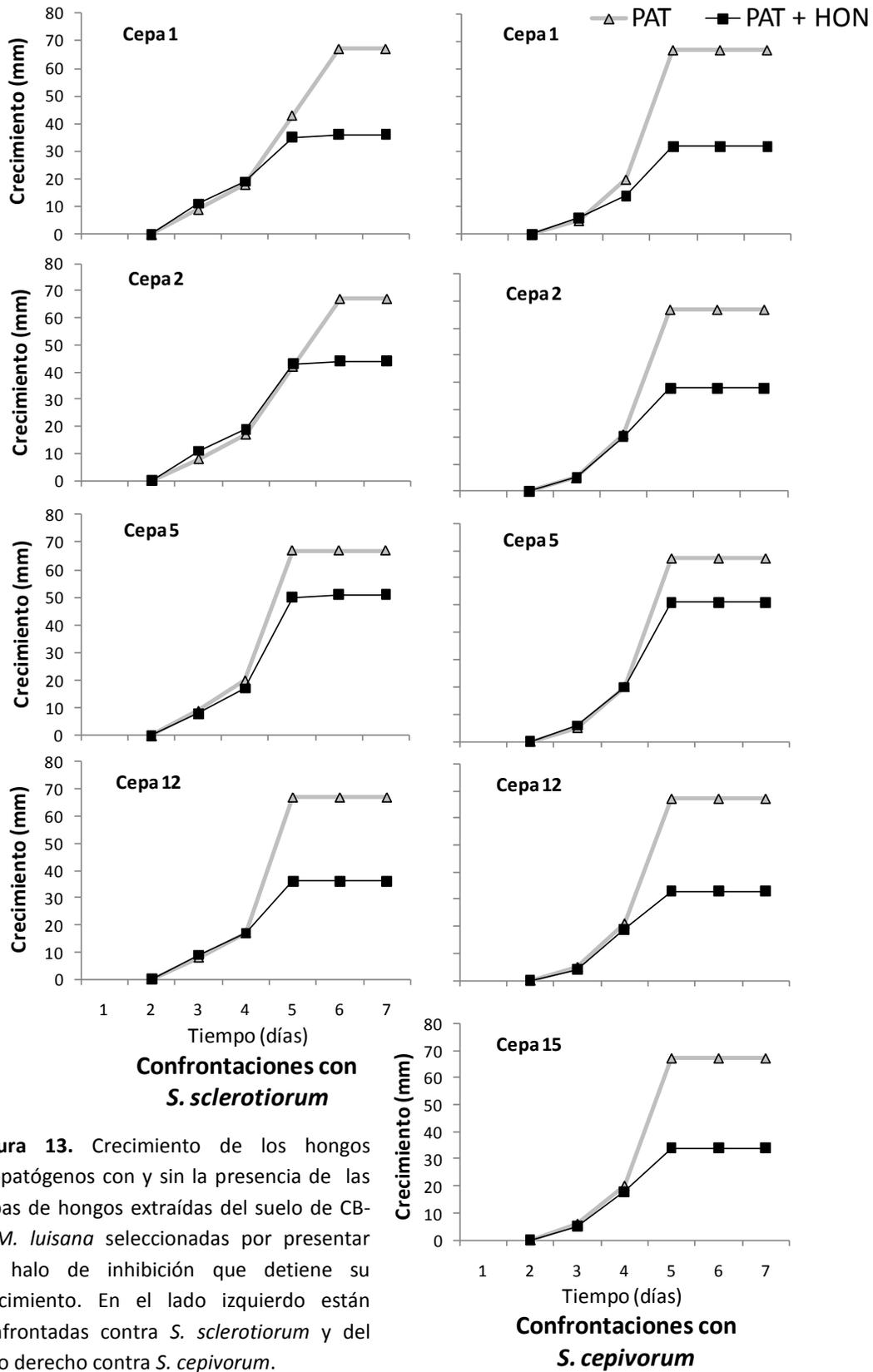


Figura 13. Crecimiento de los hongos fitopatógenos con y sin la presencia de las cepas de hongos extraídas del suelo de CB-IR-M. *luisana* seleccionadas por presentar un halo de inhibición que detiene su crecimiento. En el lado izquierdo están confrontadas contra *S. sclerotiorum* y del lado derecho contra *S. cepivorum*.

El comportamiento de las cepas fúngicas se dividió en dos grupos de acuerdo al tipo de confrontación que presentaron. El primer grupo correspondió a la formación de un halo de inhibición que detuvo el crecimiento del hongo fitopatógeno. El segundo grupo está integrado por cepas que presentaron un crecimiento acelerado y alta formación de esporas, dando origen a una confrontación que pudo ser apreciada de manera visual (Zona de confrontación, Figura 8C). Las cepas de los hongos 1, 2, 5, 12 y 15 pertenecieron al primer grupo, y se caracterizaron por presentar un crecimiento lento (en comparación con el patógeno) y por la formación de un halo de inhibición en contra de ambos fitopatógenos, *S. sclerotiorum* y *S. cepivorum* (Figura 12 y Figura 13). Las cepas de los hongos 2 y 15 también presentaron un halo de inhibición cuando se confrontaron contra *S. cepivorum* evitando así, el crecimiento del fitopatógeno; cuando estas mismas cepas se confrontaron contra *S. sclerotiorum* ocurrió la formación de un halo de inhibición, pero no fue suficiente y el fitopatógeno comenzó a invadir el micelio del hongo antagonista (Figura 12C y 12I).

Las cepas de los hongos 6, 7, 8, 13 y 14 pertenecieron al segundo grupo, en el que tanto el fitopatógeno como el antagonista, tuvieron un crecimiento rápido durante la confrontación, presentándose una zona de posible competencia en la mitad de la caja de Petri entre el antagonista y el patógeno. Cuando las cepas de los hongos antagonistas se confrontaron a *S. sclerotiorum*, el hongo fitopatógeno presentó un crecimiento más rápido; por otro lado, cuando los hongos antagonistas se confrontaron contra *S. cepivorum*, la velocidad de crecimiento del hongo patógeno fue similar o menor en comparación con las cepas de los hongos antagonistas (Figura 14 incisos C, E, I y Figura 15).

Es importante señalar los siguientes casos. La cepa 7 del hongo antagonista tuvo un crecimiento similar a *S. cepivorum* (Figura 14C y Figura 15). Asimismo, cuando la cepa 8 se confrontó a *S. cepivorum* tuvo un crecimiento mayor comparado con el fitopatógeno (Figura 14E).

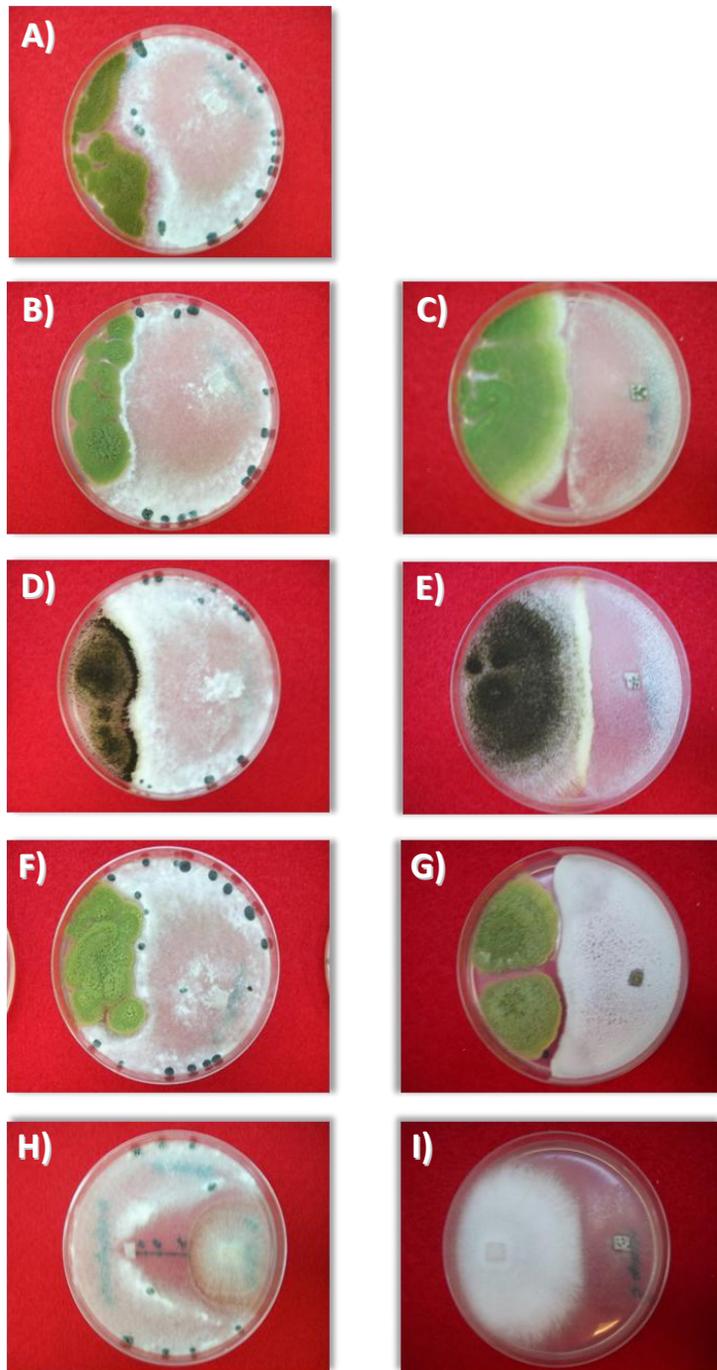


Figura 14. Cepas de hongos del suelo de costras biológicas debajo de *Mimosa luisana* en isla de recursos y confrontadas contra dos hongos fitopatógenos, del lado izquierdo *Sclerotinia sclerotiorum* contra A) Cepa 6, B) Cepa 7, D) Cepa 8, F) Cepa 13, H) Cepa 14 y del lado derecho *Sclerotium cepivorum* contra C) cepa 7, E) Cepa 8, G) Cepa 13 y I) Cepa 14, respectivamente. No se pudo obtener una buena imagen para mostrar la confrontación de la cepa 6 contra el hongo patógeno *Sclerotium cepivorum*.

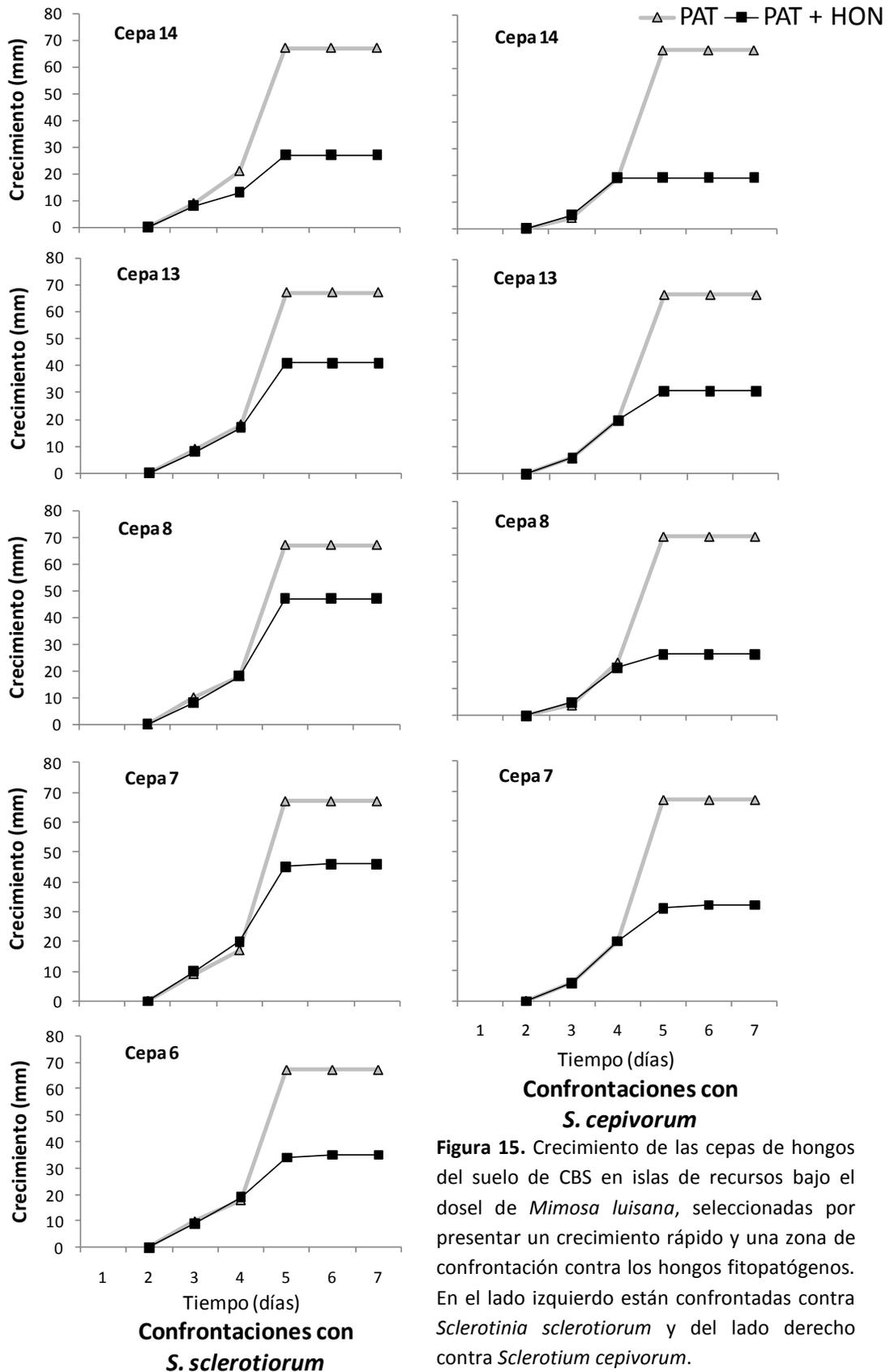


Figura 15. Crecimiento de las cepas de hongos del suelo de CBS en islas de recursos bajo el dosel de *Mimosa luisana*, seleccionadas por presentar un crecimiento rápido y una zona de confrontación contra los hongos fitopatógenos. En el lado izquierdo están confrontadas contra *Sclerotinia sclerotiorum* y del lado derecho contra *Sclerotium cepivorum*.

La cepa 14, presentó los mejores resultados, contra *S. sclerotiorum*, ésta tuvo un buen crecimiento (Figura 15) y mostró debilitar marcadamente el crecimiento del micelio del fitopatógeno (Figura 14H). Esta cepa presentó también mayor crecimiento en comparación con *S. cepivorum* (Figura 15) y mostró un crecimiento sobre el micelio del hongo fitopatógeno (Figura 14I).

Dos semanas después de haber concluido las pruebas de confrontación se revisaron las cajas de Petri que contenían los cultivos de las cepas de los hongos y se observó que las cepas del primer grupo (cepas 1, 2, 5, 10 y 12) habían sido invadidas por los fitopatógenos tras la disminución del halo de inhibición debido posiblemente a la falta de nutrientes en el medio de cultivo necesarios para la formación de dichos metabolitos implicados en la formación del halo de inhibición.

Por otro lado, las cepas que presentaron un crecimiento rápido, posible parasitismo y alta formación de esporas (segundo grupo) ejercieron un efecto de antibiosis muy marcado sobre los hongos fitopatógenos. Las cepas fúngicas 6, 7, 8 y 13 crecieron sobre el micelio de *S. sclerotiorum* mediante la liberación de metabolitos al medio de cultivo, micoparasitación de los esclerocios del fitopatógeno, y/o mayor formación de esporas sobre el hongo fitopatógeno (Figura 16). La cepa 6 liberó alguna sustancia química que provocó una coloración amarilla en el medio y permitió su crecimiento sobre el fitopatógeno *S. sclerotiorum* (Figura 16A). La cepa 7 avanzó de manera más lenta, sin embargo, colonizó esclerocios, los cuales mostraron indicios de micoparasitismo (Figura 16 inciso B y E). La cepa 8 por su parte, comenzó a invadir a *S. sclerotiorum* mediante la formación de abundantes esporas (Figura 16C y 16F). La cepa fúngica 13 también liberó sustancias al medio de cultivo tornándolo de un color amarillo, lo cual pudo provocar la muerte del micelio del fitopatógeno y favoreció el crecimiento del hongo antagonista (Figura 16D).

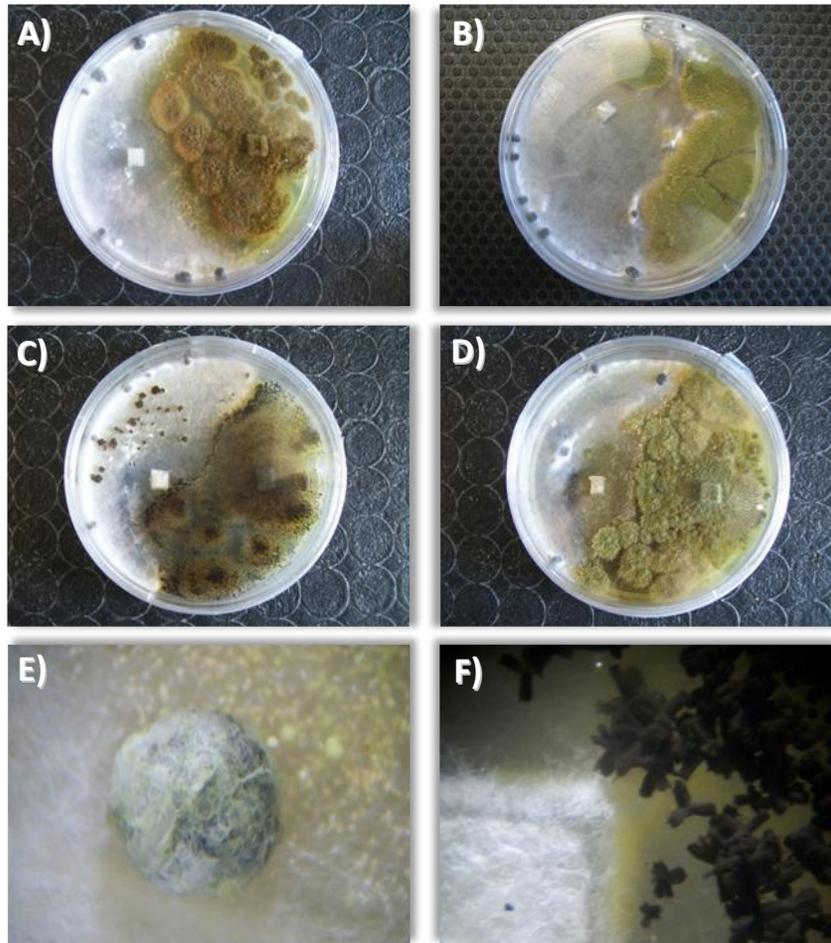


Figura 16. Cepas de hongos antagonistas del suelo debajo de costras biológicas en islas de recursos formadas por *Mimosa luisana* que presentaron antibiosis en contra de *Sclerotinia sclerotiorum*: A) Cepa 6, B) Cepa 7, C) Cepa 8, D) Cepa 13, E) Esclerocio parasitado por la cepa 7 y F) Liberación de metabolitos al medio de cultivo (color amarillo) y avance de las esporas de la cepa 8.

Asímismo, se revisaron las cajas de Petri de las confrontaciones entre los hongos antagonistas y el hongo fitopatógeno *S. cepivorum* con el fin de evaluar cualitativamente la existencia de algún efecto antagónico. Se encontró que la cepa fúngica 6 avanzó sobre el micelio del hongo fitopatógeno y formó esporas sobre la superficie colonizada (Figura 17A). Las cepas fúngicas 7 y 8 también empezaron a invadir con sus esporas al micelio del hongo fitopatógeno y provocaron una coloración amarilla en el medio de cultivo, lo cual debilitó el micelio del hongo fitopatógeno provocando un avance de crecimiento de las cepas 7 y 8.

Finalmente, la cepa 14 fue la cepa antagonista más agresiva, después de dos semanas, invadió casi por completo al hongo fitopatógeno *S. cepivorum* (Figura 17D).

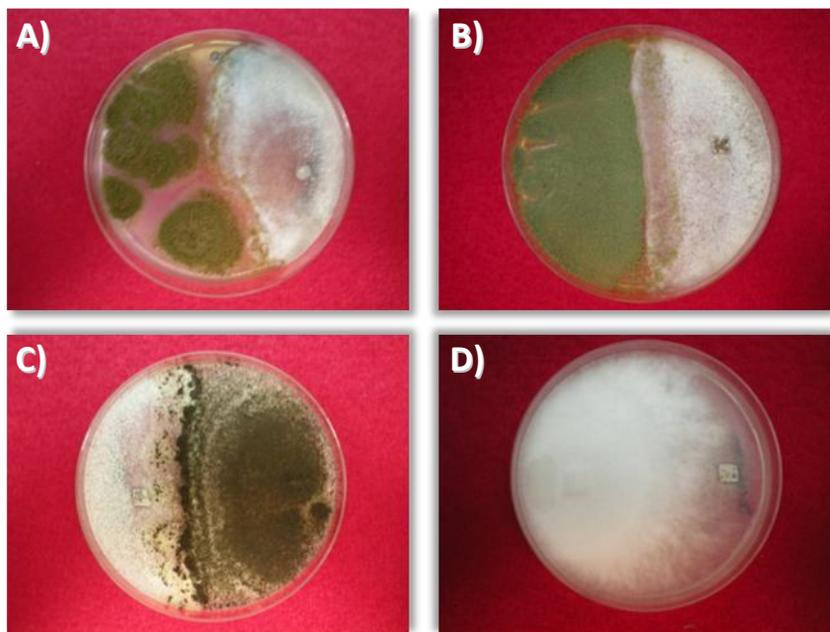


Figura 17. Cepas de hongos antagonistas aislados del suelo de costras biológicas debajo de isla de recursos formada por *Mimosa luisana* y confrontadas contra *Sclerotium cepivorum*. Se observa un avance de los hongos antagonistas sobre el patógeno originado por la liberación de un metabolito que colorea el medio de amarillo: A) cepa 6, B) cepa 7 y C) cepa 8. En el inciso D) se observa la cepa fúngica 14 invadiendo a *S. cepivorum*.

VII. DISCUSIÓN

La abundancia de los microorganismos en el suelo de los ecosistemas áridos y semiáridos está completamente correlacionada con la distribución y abundancia de los recursos, incluyendo materia orgánica, nitrógeno, contenido de humedad e incluso con las condiciones como el pH y la temperatura, ya que los microorganismos son los encargados de completar la mineralización de la materia orgánica, la conversión de sustancias con altos pesos moleculares (celulosa y ligninas) a pequeños iones inorgánicos, del flujo de nutrimentos y de la formación de agregados en el suelo (Pavón *et al.*, 2005; Galicia y García-Oliva, 2008).

La mayoría de los grupos microbianos cuantificados presentaron una mayor población en suelos bajo costras biológicas con presencia de *M. luisana* y durante la estación de lluvias (bacterias totales, actinomicetos, bacterias fijadoras de N₂ en vida libre y solubilizadores de fosfatos de calcio) comparada con aquella población de microorganismos en costras biológicas o en los suelos sin vegetación (área abierta). Lo anterior se puede deber a que dentro del microambiente SCB-IR, las condiciones (*e.g.*, temperatura, humedad, pH) y la cantidad de recursos como la materia orgánica y nutrimentos estimulan el crecimiento microbiano (Thompson *et al.*, 2005; Rivera-Aguilar *et al.*, 2009; Montañaño *et al.*, 2009). Aunado a todo esto, en la estación de lluvias aumenta la cantidad de humedad del ecosistema provocando un incremento en el metabolismo celular de los microorganismos y de la vegetación en el ecosistema (Cable y Huxman, 2004; Yeager *et al.*, 2004).

Como se mostró en los resultados, al correlacionar los datos, se observó que las poblaciones de microorganismos (*e.g.*, bacterias) están relacionadas con las propiedades físicas y químicas del suelo. Por ejemplo, la población de bacterias totales en el suelo podría tener un crecimiento proporcional al incremento de variables como la materia orgánica del suelo, la humedad e inclusive otros microorganismos como los celulolíticos o los solubilizadores de fosfatos. Por el contrario, y como lo menciona Alexander (1980), variables como el potencial hídrico y la temperatura, presentan intervalos muy marcados. Estas

variables, si no están dentro del rango óptimo influyen negativamente sobre las comunidades microbianas.

La distribución espacial de la abundancia de las poblaciones microbianas aquí presentada, concuerda con lo demostrado por Félix-Herrán *et al.* (2007), que al realizar cuantificaciones de microorganismos bajo el dosel de *Mimosa monancistra* Benth. (Gatuño) encontró que la abundancia de bacterias fue mayor ($2.9 - 18 \times 10^3$ UFC g^{-1} ss) en comparación con la encontrada en suelos de área abierta ($8.4 - 9.5 \times 10^3$ UFC g^{-1} ss). Por su parte, Ruiz *et al.* (2008), mostraron que las poblaciones de bacterias fijadoras de N_2 en vida libre fueron mayores bajo *P. laevigata* (Humb. & Bonpl. Ex Willd) (mezquite) y *P. hollianus* (F.A.C. Weber) buxb. en comparación con los espacios abiertos de una terraza degradada ubicada en el Valle semiárido de Zapotitlán Salinas. También, Rodríguez-Zaragoza *et al.* (2008), al realizar conteos de bacterias, hongos y bacterias fijadoras de N_2 en vida libre, encontraron que los conteos bacterianos son mayores bajo *P. laevigata* ($4.8 \times 10^6 - 14 \times 10^7$ UFC g^{-1} ss) que en los sitios donde no existe vegetación ($1.6 \times 10^6 - 4 \times 10^7$ UFC g^{-1} ss). Los conteos de hongos totales mostraron un comportamiento similar, con conteos debajo de *P. laevigata* de $1.7 \times 10^4 - 22 \times 10^5$ UFC g^{-1} ss, mientras que en las áreas abiertas fueron de $5.5 \times 10^3 - 5.5 \times 10^4$ UFC g^{-1} ss. Finalmente, los conteos de BFNVL mostraron que en suelos sin vegetación no existieron las BFNVL, pero si bajo el dosel de *P. laevigata* ($4 \times 10^6 - 8.1 \times 10^7$ UFC g^{-1} ss). Por lo tanto, las poblaciones de microorganismos son generalmente más altas bajo los arbustos, los cuales presentan mayor abundancia de recursos que aquellos sitios entre los arbustos donde existen pocos nutrientes. Sin embargo, es necesario recalcar que los estudios mencionados no hacen alusión sobre el aporte de las costras biológicas del suelo a la abundancia y diversidad de las comunidades microbianas.

Los resultados del presente estudio sobre los grupos microbianos, concuerdan con la hipótesis de “islas de recursos” (Reynolds *et al.*, 1999). El microambiente SCB-IR, conformado por *M. luisana* y costras biológicas, contribuyó al enriquecimiento de la fertilidad del suelo de estos ecosistemas, ya que crean entradas positivas en el ciclo de nutrientes: 1) por un lado, contribuye a la acumulación y enriquecimiento de la materia orgánica del suelo por efecto de

la deposición de tejido foliar, y por consiguiente, al ciclo del carbono y del nitrógeno, 2) también al ser una leguminosa, su sistema radical contribuye en la fijación de nitrógeno atmosférico, mediante la formación de nódulos con *Rhizobium* sp., 3) sus raíces establecen una asociación con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) formando una estructura radicular llamada micorriza que ayuda a la planta a obtener P inorgánico (Camargo-Ricalde y Dhillion, 2003; Camargo-Ricalde *et al.*, 2010). Estos ejemplos de simbiosis entre las raíces de las leguminosas y los microorganismos favorecen al establecimiento y desarrollo de la microfauna del suelo mediante liberación de sustancias nutritivas al suelo. La formación de islas de recursos micorrízicos fue propuesta por Camargo-Ricalde y Dhillion (2003), y los resultados de este estudio permiten proponer que *M. luisana*, probablemente en interacción con las CB, forma islas de recursos microbianos.

Los patrones de acumulación de nutrientes son parecidos a los encontrados en este trabajo, donde se muestra que la cantidad de los recursos como materia orgánica del suelo (MOS), nitrógeno total, concentración de amonio y de nitratos y la calidad de la MOS (relación C:N), están acumulados en mayor cantidad y calidad dentro del microambiente SCB-IR formado por *M. luisana*, pero que también las costras biológicas sin vegetación contribuyen a aumentar la cantidad de recursos; en comparación con los resultados observados para las CB fuera de las IR, donde la cantidad de nutrimentos, e inclusive las condiciones de humedad y temperatura, fueron mejores que las del suelo de las zonas sin vegetación. Asimismo, el aumento en la humedad provocado por la estación lluviosa, da como resultado un incremento en los recursos del suelo como materia orgánica, nitrógeno total, nitratos y fósforo disponible (Austin *et al.*, 2004). Como se mencionó, el aumento en la humedad del suelo activa de manera casi instantánea el metabolismo de los microorganismos favoreciendo la mineralización de la materia orgánica y como consecuencia el aumento de nutrientes en el suelo.

Patrones similares a los encontrados en este estudio han sido descritos a nivel mundial, aunque con otras especies vegetales dentro de ecosistemas áridos y semiáridos. En la meseta de Ordos, al norte de China, Ping-Xing *et al.* (2008) mostraron que *Artemisa*

ordosica Krasch., arbusto perenne dominante de esa zona y con propiedades medicinales, forma islas de recursos, las cuales están más desarrolladas en suelos someros que en suelos profundos y bajo individuos maduros que bajo individuos jóvenes. Herman *et al.* (1995), indican que el mezquite (*Prosopis laevigata*), la gobernadora (*Larrea tridentata* Cov.) y *Flourensia cernua* DC., ayudan a la fertilidad de las zonas áridas en Chihuahua, aportando abundantes nutrimentos al suelo y albergando una mayor cantidad de microorganismos, por lo que concluyen que, los parches de vegetación en las zonas desérticas predicen la distribución de los microorganismos. Finalmente, Thompson *et al.* (2005), analizaron los efectos causados por los arbustos *Ambrosia dumosa* (A. Gray) Payne, *Larrea tridentata* y *Coleogyne ramosissima* Torr. y de las costras biológicas, sobre la fertilidad del suelo, demostrando que el pH, la materia orgánica, el N total, la mineralización del N y la humedad del suelo es mayor en sitios con arbustos y con CB que en aquellos sitios donde no existe la presencia de estos componentes del ecosistema.

El presente trabajo ofrece evidencias de que las CBS aumentan la abundancia de los microorganismos, y por lo tanto, también podrían contribuir a incrementar la fertilidad del suelo de los ecosistemas áridos y semiáridos. De manera particular, las CBS presentes en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán poseen mayor abundancia de microorganismos en comparación con aquellos suelos donde no existe ningún tipo de vegetación (mayor abundancia de bacterias totales, actinomicetos, BFNVL y solubilizadores de fosfatos). Esto sugiere que las CBS sirven en estos ecosistemas como islas de recursos o mejor conocidos como “mantos de fertilidad” similares de alguna manera a la rizósfera (García-Pichel *et al.*, 2003), porque aumentan la disponibilidad de nutrimentos (mayor cantidad de MOS, Nt, NO_3^- , C:N y P_{disp}), disminuyen la erosión del suelo y pueden servir como sitios para la germinación de semillas (Jiménez-Aguilar *et al.*, 2009; Langhans *et al.*, 2009; Delgado-Baquerizo *et al.*, 2010; Mager, 2010).

La información sobre el uso de medios de cultivo para estimar las comunidades microbianas dentro de las CBS es escasa o nula; los estudios más recientes de costras biológicas y de su abundancia, diversidad e identificación de microorganismos se han

realizando mediante técnicas moleculares (García-Pichel *et al.*, 2003; Yeager *et al.*, 2004; Nagy *et al.*, 2005; Bates *et al.*, 2010). No obstante, utilizando conteos directos en microscopio, Bamforth (1984) encontró 4×10^8 bacterias g^{-1} dentro de CB conformadas por líquenes, 8×10^8 bacterias g^{-1} para CBS conformadas por musgos y, 1×10^8 bacterias g^{-1} para muestras de suelo en el desierto de Sonora. Para el conteo directo de actinomicetos, Bamforth (1984) encontró longitudes de hifas de $3 \text{ m } g^{-1}$ dentro de líquenes, $1 \text{ m } g^{-1}$ dentro de musgos, y $0.01 \text{ m } g^{-1}$ en muestras de suelo. Por último, este autor reportó que la longitud de hifas en muestras de suelo, para los hongos cuantificados en CB con líquenes fue de $26 \text{ m } g^{-1}$, en CBS con musgos $12 \text{ m } g^{-1}$, y para el suelo sin vegetación se encontraron $7 \text{ m } g^{-1}$. Asimismo encontró que existe mayor número de bacterias y mayor longitud de hifas de actinomicetos y hongos en las capas de hojarasca que en el suelo de área abierta.

Por su parte, Colwell *et al.* (1989) realizaron conteos de bacterias en muestras de suelo del sureste de Idaho, y reportaron que la abundancia de bacterias fue superior en la primera capa de suelo y que su población es menor conforme aumenta la profundidad del suelo. Kuske *et al.* (2002) compararon comunidades de bacterias entre suelos de la rizósfera de tres especies de pastos: *Stipa hymenoides* R. & S. Ricker, *Hilaria jamesi* L. y *Bromus tectorum* L. y de costras biológicas sin la presencia de vegetación utilizando conteos en cajas Petri con medio de cultivo TSB. Estos autores reportan que en los primeros 10 cm, *Hilaria* presentó mayor cantidad de bacterias con 105×10^5 UFC g^{-1} , seguida de *Bromus* con 96×10^5 UFC g^{-1} , después se encontró *Stipa* con 73×10^5 UFC g^{-1} , y finalmente las CB con una población bacteriana de 51×10^5 UFC g^{-1} . También, García-Pichel *et al.* (2003) realizaron conteos de microorganismos copiótrofos aeróbicos viables dentro de CBS. En costras claras encontraron $7 \pm 3 \times 10^6$ UFC g^{-1} y dentro de costras oscuras $8 \pm 6 \times 10^5$ UFC g^{-1} . De manera similar al trabajo mencionado anteriormente, pero utilizando métodos moleculares, Soule *et al.* (2009) encontraron que una CB clara tiene una densidad poblacional promedio de bacterias de $48 \pm 55 \times 10^7$ copias de genes por gramo de suelo (copias g^{-1}), mientras que una costra oscura posee $39.6 \pm 18.3 \times 10^7$ copias g^{-1} , datos parecidos con los reportados por García-Pichel *et al.* (2003), quienes demostraron que una costra clara posee mayor abundancia de bacterias en comparación con una costra oscura.

Con base en las investigaciones mencionadas, podemos reforzar el hecho de que las CBS aumentan la abundancia de comunidades microbianas en comparación con suelos de área abierta, y que a su vez sirven como “mantos de fertilidad”. Por lo tanto, y como mencionan Montaña *et al.* (2009), la distribución espacial de los microorganismos y la riqueza de especies microbianas en los ecosistemas está relacionada completamente con la cantidad de recursos disponibles en dicho ecosistema, por lo que donde exista mayor cantidad de recursos existirá también, mayor cantidad de microorganismos (*M. luisana* y costras biológicas) ya que representan a su vez, más nichos ecológicos que pueden ser colonizados por microorganismos.

El papel que tienen los microorganismos dentro de los ecosistemas áridos y semiáridos (microorganismos celulolíticos, las bacterias fijadoras de nitrógeno en vida libre y los microorganismos solubilizadores de fosfatos de calcio), ya sea en islas de recursos, costras biológicas e incluso el suelo de áreas abiertas, es trascendental para la ecología de estos ecosistemas. Estos microorganismos favorecen la fertilidad del suelo mediante la liberación de enzimas extracelulares o fijando N de la atmósfera al suelo en forma de amonio, dando paso a la incorporación de macronutrientes esenciales como carbono, nitrógeno y fósforo (Collins *et al.*, 2008).

Es importante mencionar que el microambiente SCB-IR, con mayor presencia de recursos y de microorganismos, podría presentar redes tróficas más complejas que en los otros dos microambientes (SCB-FIR y SAA), dando origen a interacciones entre poblaciones de microorganismos, tales como los procesos de antibiosis que contribuyen en la regulación de otras poblaciones microbianas, la competencia por P u otros nutrientes, el parasitismo o micoparasitismo, la producción de enzimas extracelulares que degradan paredes celulares, inducción de resistencia entre comunidades y por lo general, mayor crecimiento de las plantas (Hoitink y Beohm, 1999; Whipps 2001). Algunas poblaciones de bacterias, actinomicetos y hongos controlan otras poblaciones de bacterias y hongos mediante la inhibición de su crecimiento o mediante procesos de parasitismo de los mismos. Por lo tanto, estos microorganismos actúan como controladores biológicos dentro de pequeños

micrositios. Estudios sobre las redes tróficas contenidas dentro de las IR o dentro de las CBS son prácticamente nulos, sin embargo, existen trabajos sobre poblaciones de microorganismos y el biocontrol dentro de la rizósfera (Whipps, 2001; Ibarra-Medina *et al.*, 2010), lo que indica que muchas de estas interacciones microbianas podrían estar dentro de las costras biológicas y de las islas de recursos.

En estudios realizados sobre el control biológico de fitopatógenos de la cebolla y el ajo (*S. sclerotiorum* y *S. cepivorum*), se ha documentado que existen microorganismos que pueden ser utilizados para combatirlos. Por ejemplo, Rai y Saxena (1975) concluyeron que los hongos *Penicillium* y *Aspergillus* colonizan esclerocios de *S. sclerotiorum*. McLean *et al.* (2001), por su parte, mostraron esclerocios de *S. cepivorum* infestados por hongos como *Trichoderma*, *Fusarium* y *Aspergillus*. Mientras que Utkhede y Rahe (1983) utilizaron a *Bacillus subtilis* como controlador biológico que forma una zona de inhibición *in vitro*, lo cual sugiere que es una bacteria antagonista contra *S. cepivorum*. McLean y Stewart (2000) confirmaron el antagonismo de los hongos *Chaetomium globosum*, *Coniothyrium minitans* y *T. harzianum* contra *S. cepivorum*. Paris *et al.* (2002) encontraron que las bacterias *Bacillus subtilis* Br006, *B. lentus* Br3118 y *Paenibacillus alvei* Br3119 tienen capacidad de supresión del hongo *S. cepivorum*. Finalmente, Ibarra-Medina *et al.* (2010) aislaron cepas de *Trichoderma* provenientes de distintos suelos de México con uso forestal y agrícola y encontraron que existen cepas como *T. viride*, *T. pseudokoningii*, *T. harzianum* y *T. virens* que resultan agresivas en la parasitación y degradación de esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor*.

A su vez, se han identificado microorganismos de CBS utilizando técnicas moleculares. States y Christensen (2001), a partir de CBS del desierto de Utah, encontraron e identificaron hongos como *Chaetomium perlucidum*, *Fusarium spp.*, *F. equiseti*, *F. flocciferum*, *Aspergillus leporis*, *A. ustus*, y en sólo seis de 943 conteos se encontró a *Penicillium*. Por su parte, Grishkan *et al.* (2006) identificaron varias especies de hongos, entre ellas se encuentran varias especies de *Penicillium* (*P. lanosum*, *P. aurantiogriseum*, *P. chrysogenum*), *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. niger*, *A. asperescens*) y *Fusarium* (*F. oxysporum*), entre otras, a partir de

muestras de CBS del desierto de Negev. Recientemente, Bates *et al.* (2010) encontraron *Coniothyrium palmarum* entre otras especies de hongos, en CBS de la meseta de Colorado. García-Pichel *et al.* (2003) identificaron una banda a partir de un extracto de ADN que podía ser asignada mediante el análisis filogenético al género *Paenibacillus* (bacteria utilizada en pruebas de control biológico) y también cita el caso de la bacteria *Bacillus mojavenis*, la cual es muy parecida a *Bacillus subtilis*, pero con análisis moleculares se puede distinguir una divergencia en el ADN (Robert *et al.*, 1994). Lo anterior permite concluir que muchos de los microorganismos identificados en ecosistemas áridos y semiáridos, no concuerdan con los identificados en otros ecosistemas. Los microorganismos de ecosistemas áridos posiblemente han evolucionado dando diferencias en su ADN debido a las actuales condiciones extremas (Robert *et al.*, 1994).

Los hongos que fueron utilizados en las pruebas de confrontación y que presentaron antibiosis contra los dos hongos fitopatógenos en el presente trabajo, pueden corresponder a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, alguna especie de los géneros *Chaetomium* y *Coniothyrium* y tal vez *Penicillium* y *Trichoderma*. Este es el mismo caso para las bacterias que presentaron antibiosis, las cuales podrían corresponder a los géneros *Bacillus* o *Paenibacillus* o inclusive a otros géneros de bacterias que no han sido identificadas en CBS, pero si en zonas desérticas o debajo del dosel de algunas leguminosas como *Pseudomonas* o *Burkholderia* (Kuske *et al.*, 1999; Bontemps *et al.*, 2010).

Para confirmar esta hipótesis y tener mayor precisión, se sugiere aplicar métodos moleculares o bioquímicos (ácidos grasos) en la identificación de los géneros bacterianos y fúngicos que presentaron actividad antibiótica e incluso parasítica hacia hongos fitopatógenos. En este sentido las evidencias de este trabajo sugieren, por primera vez, que tanto las CBS por separado como en interacción con *M. luisana*, podrían ser *hotspots* microbianos de cepas bacterianas y fúngicas con antibiosis hacia hongos fitopatógenos, por lo que podrían tener un impacto en las prácticas agrícolas locales que se realizan en estos ecosistemas.

VIII. CONCLUSIONES

Las CBS encontradas en el Valle de Zapotitlán-Salinas aumentan la abundancia de bacterias, actinomicetos, bacterias fijadoras de N en vida libre y de microorganismos solubilizadores de fosfatos en el suelo, y están ligadas a una mayor cantidad de C, N y P inorgánico, resultando en mayor fertilidad del suelo en comparación con zonas donde el suelo está sin cobertura vegetal, por lo cual, la hipótesis de “manto de fertilidad y microbiodiversidad” puede aplicarse a las CBS encontradas en el Valle de Zapotitlán-Salinas.

El aumento en la humedad del suelo originado por las lluvias, estimula el crecimiento de la población de la mayoría de los grupos microbianos estudiados, lo cual explica el aumento en la descomposición de la materia orgánica dando como resultado mayor cantidad de recursos disponibles para la vegetación y los mismos microorganismos.

El efecto de las costras biológicas en IR de *M. luisana* y de la humedad produjo mayor abundancia de microorganismos en el suelo, lo que permitió aislar cepas bacterianas y fúngicas con capacidad antibiótica hacia hongos fitopatógenos.

Este trabajo sugiere: (1) Las CB, tanto fuera como dentro de IR formadas por *M. luisana*, favorecen a los microorganismos por tener más recursos y mejores condiciones microambientales, y (2) en este ecosistema semiárido, las CB-IR de *M. luisana* son *hotspots* para microorganismos con antibiosis hacia hongos fitopatógenos (Se sugiere en el futuro aplicar técnicas moleculares (16S rADN) y bioquímicas (e.g. ác. grasos) para la identificación de los microorganismos que presentan actividad antibiótica y antagónica).

Por lo tanto, las costras biológicas del suelo, al ser un reservorio de abundantes microorganismos, pueden ser estudiadas y utilizadas para aislar microorganismos con fines ecológicos y biotecnológicos.

IX. REFERENCIAS

- Alexander, M. 1980. *Introducción a la Microbiología del suelo*. AGT, S.A., México.
- Austin, A.T., Yahdjian, L., Stark, J.M., Belnap, J., Porporato, A., Norton, U., Ravetta, D.A. y Schaeffer, S.M. 2004. Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems. *Oecologia* 141:221-235.
- Bamforth, S.S. 1984. Microbial distributions in Arizona deserts and woodlands. *Soil Biology and Biochemistry* 6: 133-137.
- Bamforth, S.S. 2008. Protozoa of biological soil crusts of a cool desert in Utah. *Journal of Arid Environments* 72:722-729.
- Bates, S.T., Nash III, T.H., Sweat, K.G. y García-Pichel, F. 2010. Fungal communities of lichen-dominated biological soil crusts: Diversity, relative microbial biomass, and their relationship to disturbance and crust cover. *Journal of Arid Environments* 74: 1192-1199.
- Belnap, J., Hilty, K.J., Rosentreter, R., Williams, J., Leonard, S. y Eldridge, D. 2001. Biological Soil Crusts: Ecology and Management. United States Department of the Interior, Bureau of Land Management, Printed Materials Distribution Center, Denver, Colorado.
- Belnap, J. y Lange, O.L. 2001. *Biological Soil Crust: Structure, Function and Management*. Springer, NY.
- Bhatnagar, A., Makandar, M.B., Garg, M.K. y Bhatnagar, M. 2008. Community structure and diversity of cyanobacteria and green algae in the soils of the Thar Desert (India). *Journal of Arid Environments* 72:73-83.
- Bontemps, C., Elliott, G.N., Simon, M.F., Dos Reis Júnior, F.B., Gross, E., Lawton, R.C., Neto, N.E., Loureiro, Ma. de F., De Faria, S.M., Sprent, J.I., James, E.K. y Young, J.P.W. 2010. *Burkholderia* species are ancient symbionts of legumes. *Molecular Ecology* 19: 44-52.

- Bolton, Jr. H., Smith, J.L. y Link, S.O. 1993. Soil Microbial biomass and activity of a disturbed and undisturbed shrub-steppe ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 25:545-552.
- Bolton, M.D., Thomma, B.P.H.J. y Nelson, B.D. 2006. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: Biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Molecular Plant Pathology* 7: 1-6.
- Bremner, J.M. 1965. Total Nitrogen. Pags. 1149-1178. En: Black, C.A. (ed.), *Methods of soil analysis*. Part 2. Agronomy 9. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin.
- Cable, J.M. y Huxman, T.E. 2004. Precipitation pulse size effects on Sonoran Desert soil microbial crusts. *Oecologia* 141:317-324.
- Camargo-Ricalde, S.L. 2002. Endemic *Mimosa L.* species (*Fabaceae- Mimosoideae*) of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, México: biology, mycorrhiza and use. *Tesis de Doctorado*. Agricultural University of Norway, Department of Biology and Nature Conservation.
- Camargo-Ricalde, S.L. y Dhillion, S.S. 2003. Endemic *Mimosa* species can serve as mycorrhizal “resource islands” within semiarid communities of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Mycorrhiza* 13:129-136.
- Camargo-Ricalde, S.L. y Esperón- Rodríguez, M. 2005. Efecto de la heterogeneidad espacial y estacional del suelo sobre la abundancia de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares en el valle semiárido de Tehuacán-Cuicatlán, México. *International Journal of Tropical Biology* 53(3-4): 339-352.
- Camargo-Ricalde, S.L., Reyes-Jaramillo, I. y Montaña, N.M. 2010. Forestry Insularity effect of four *Mimosa L.* species (*Leguminosae-Mimosoideae*) on soil nutrients of a Mexican semiarid ecosystem. *Agroforest Systems* 80: 385-397.
- Chen, Y.P., Rekha, P.D., Arun, A.B., Shen, F.T., Lai, W.A. y Young, C.C. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from a subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology* 34: 33-41.

- Collins, L.S., Sinsabaugh, L.R., Crenshaw, C., Green, G., Porrás-Alfaro, A., Stursova, M. y Zeglin, H.L. 2008. Pulse dynamics and microbial processes in aridland ecosystems. *Journal of Ecology* 96:413-420.
- Colwell, F.S. 1989. Microbial comparison of the surface soil and unsaturated subsurface soil from a semiarid high desert. *Applied Environmental Microbiology* 55:2420-2423.
- Coventry, E., Noble, R., Mead, A. y Whipps, J.M. 2002. Control of *Allium* white rot (*Sclerotium cepivorum*) with composted onion waste. *Soil Biology and Biochemistry* 34:1037-1045.
- Dávila, P., Arizmendi, Ma. de C., Valiente-Banuet, A., Villaseñor, J.L., Casas, A. y Lira, R. 2002. Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Biodiversity and Conservation* 11:421-442.
- Delgado-Baquerizo, M., Castillo-Monroy, A.P., Maestre, F.T. y Gallardo, A. 2010. Plants and biological soil crusts modulate the dominance of N forms in a semi-arid grassland. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 376-378
- Dwayne, D.H. y Roger, S.R., 2005. *Sclerotinia sclerotiorum*: When “to be or not to be” a pathogen? *FEMS Microbiology Letters* 251: 177-184.
- Eldridge, D.J., Zaady, E. y Shachak, M. 2000. Infiltration through three contrasting biological soil crusts in patterned landscapes in the Negev, Israel. *Catena* 40:323-336.
- Espinosa, O.D., Ocegueda, C.S., Aguilar, Z.C., Flores, V.O. y Llorente-Bousquets, J. 2008. El conocimiento biogeográfico de las especies y su regionalización natural, en *Capital natural de México*, vol. I: *Conocimiento actual de la biodiversidad*. CONABIO, México, 33-65.
- Felix Herrán, J., Angoa, P.M., Serrato, F.R., Frías, H.J. y Olalde, P.V. 2007. Impacto de la densidad de gatuño (*Mimosa monancistra*) en la microflora de suelos del semiárido del estado de Aguascalientes. *Ra Ximhai* 3: 461-480.

- Ferrera-Cerrato, R., González-Chávez, M. del C., Rodríguez, M.N. 1993. *Manual de agromicrobiología*. Editorial Trillas, México, D.F.
- Ferrera-Cerrato, R. y Alarcón, A. 2001. La microbiología del suelo en la agricultura sostenible. *Ciencia Ergo Sum* 8: 175-183.
- Fragoso, C., Reyes-Castillo, P. y Rojas, P. 2001. La importancia de la biota edáfica en México. *Acta Zoológica Mexicana* Número Especial 1:1-10.
- Fuller, H. y Ritchie, D. 1984. *Botánica General*. CECSA, México.
- Galicia, L. y García-Oliva, F. 2008. Remnant tree effects on soil microbial carbon and nitrogen in tropical seasonal pasture in western Mexico. *European Journal of Soil Biology* 44: 290-297.
- García, E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a condiciones de la república Mexicana). 2ª. Edición, Instituto de Geografía, UNAM, México, D.F., 252 pp.
- García-Oliva, F. 1991. Influencia de la dinámica del paisaje en la distribución de las comunidades vegetales en la Cuenca del Río Zapotitlán, Puebla. *Investigaciones Geográficas* 23.
- García-Moya, E. y McKell, C.M. 1970. Contribution of shrubs to the nitrogen economy of a desert-wash plant community. *Ecology* 51:81-88.
- García-Pichel, F., Jonson, S.L., Youngkin, D. y Belnap, J. 2003. Small-scale vertical distribution of bacterial biomass and diversity in biological soil crusts from arid lands in the Colorado plateau. *Microbial Ecology* 46:312-321.
- Grishkan, I., Zaady, E. y Nevo, E. 2006. Soil crust microfungi along a southward rainfall gradient in desert ecosystems. *European Journal of Soil Biology* 42:33-42.
- Granados, Ma. Del M. 2005. Pudrición blanca de la cebolla: Una enfermedad difícil de combatir. *Agronomía costarricense* 29(2):143-156.

- Guang-Can, T., Shu-Jun, T., Miao-Ying, C. y Guang-Hui, X. 2008. Phosphate-solubilizing and –mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. *Pedosphere* 18: 515-523.
- Herman, R.P., Provencio, K.R., Herrera-Matos, J. y Torrez, R.J. 1995. Resource islands predict the distribution of heterotrophic bacteria in Chihuahua desert soils. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 1816- 1821.
- Hoitink, H.A.J. y Beohm, M.J. 1999. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependant phenomenon. *Annual Review of Phytopathology* 37: 427-446.
- Ibarra-Medina, V.A., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Lara-Hernández, Ma. E. y Valdez-Carrasco, J.M. 2010. Isolation and screening of *Trichoderma* strains antagonistic to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotinia minor*. *Revista Mexicana de Micología* 31: 53-63.
- ISP, 1994. *Manual de procedimientos analíticos para análisis de suelos y plantas del laboratorio de fertilidad de suelos*. IRENAT- Colegio de Posgraduados. México
- Jackson, M.L. 1964. *Análisis químico de suelos*. Omega, Barcelona, España.
- Jimenez-Aguilar, A., Huber-Sannwald, E., Belnap, J., Smart, D.R. y Arredondo Moreno, J.T. 2009. Biological soil crusts exhibit a dynamic response to seasonal rain and release from grazing with implications for soil stability. *Journal of Arid Environments* 73:1-12.
- Kuske, C.R., Busch, J.D., Adorada, D.L., Dunbar, J.M. y Barns, S.M. 1999. Phylogeny, ribosomal RNA gene typing and relative abundance of new *Pseudomonas* species (sensu strict) isolated from two pinyon-juniper woodland soils of the arid southwest U.S. system. *Applied Microbiology* 22: 300-311.
- Kuske, C.R., Ticknor, L.O., Miller, M.E., Dunbar, J.M., Davis, J.A., Barns, S.M. y Belnap, J. 2002. Comparison of soil bacterial communities in the rhizospheres of three plant species and the interspaces in arid grassland. *Applied Environmental Microbiology* 68:1854-1863.

- Langhans, T.M., Storm, C. y Schwabe, A. 2009. Biological soil crusts and their microenvironment: Impact on emergence, survival and establishment of seedlings. *Flora* 204: 157-168.
- López-Cortés, A., Maya, Y. y García-Maldonado, J.Q. 2010. Diversidad filogenética de especies de *Microcoleus* de costras biológicas de suelo de la península de Baja California, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 81: 1-7.
- López-Galindo, F., Muñoz-Iniestra, D., Hernández-Moreno, M., Soler-Aburto, A., Castillo-López, Ma. de C. y Hernández-Arzate, I. 2003. Análisis integral de la toposecuencia y su influencia en la distribución de la vegetación y la degradación del suelo en la Subcuenca de Zapotitlán Salinas, Puebla. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana* tomo LVI, núm. 1: 19-41.
- McLean, K.L. y Stewart, A. 2000. Application strategies for control of onion white rot by fungal antagonists. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 28: 115-122.
- McLean, K.L., Swaminathan, J. y Stewart, A. 2001. Increasing soil temperature to reduce sclerotial viability of *Sclerotium cepivorum* in New Zealand soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 137-143.
- Mager, D.M. 2010. Carbohydrates in cyanobacterial soil crusts as a source of carbon in the southwest Kalahari, Botswana. *Soil biology and Biochemistry* 42 (2010): 313-318.
- Maestre, F.T., Huesca, M., Zaady, E., Bautista, S. y Cortina, J. 2002. Infiltration, penetration resistance and microphytic crust composition in contrasted microsites within a Mediterranean semi-arid steppe. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 895-898.
- Maestre, F.T., Escudero, A., Martínez, I., Guerrero, C. y Rubio, A. 2005. Does spatial pattern matter to ecosystem functioning? Insights from biological soil crusts. *Functional Ecology* 19: 566-573.

- Martínez, I., Escudero, A., Maestre, F.T., de la Cruz, A., Guerrero, C. y Rubio, A. 2006. Small scale patterns of abundance of mosses and lichens forming biological soil crusts in two semi-arid gypsum environments. *Australian Journal of Botany* 54:339-348.
- Montaña N.M. y Monroy A. 2000. Conservación ecológica de suelos en zonas áridas y semiáridas de México. *Ciencia y Desarrollo* 26(154): 26-37.
- Montaña, N.M., Camargo-Ricalde, S.L., García-Sánchez, R. y Monroy, A. 2007. Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos. Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Mundi Prensa S.A. de C.V., UAM-Iztapalapa, FES Zaragoza, UNAM, Distrito Federal, México
- Montaña, N.M., Sandoval-Pérez, A.L., García-Oliva, F., Larsen, J. y Gavito, M.E. 2009. Microbial activity in contrasting conditions of soil C and N availability in a tropical dry forest. *Journal of Tropical Ecology* 25:1-13.
- Montaña, N., Sandoval-Pérez, A.L., Camargo-Ricalde, S.L. y Sanchez-Yañez, J.M. 2010. Los microorganismos: pequeños gigantes. *Elementos* 77: 15-23
- Nagy, M.L., Pérez, A. y García-Pichel, F. 2005. The prokaryotic diversity of biological soil crusts in the Sonoran Desert (Organ Pipe Cactus National Monument, AZ). *Microbiology Ecology* 54:233-245.
- Nuñez, S., Martínez-Yrizar, A., Búrquez, A. y García-Oliva, F. 2001. Carbon mineralization in the southern Sonoran Desert. *Acta Oecologica* 22:269-276.
- Olsen, S.R. y Dean, L.A. 1965. Phosphorus. Pags. 1035-1049. En: Black, C.A. (ed.) *Methods of soil analysis*. Part 2. Agronomy 9. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.
- Ordoñez-Valencia, C., Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R. y Hernández-Cuevas, L. 2009. In vitro antifungal effects of potassium bicarbonate on *Trichoderma* sp. and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Mycoscience* 50:380- 387.

- Ortega-Aguilar, B.L. 2009. Bicarbonato de potasio como agente antifúngico durante el enfrentamiento *in vitro* de *Sclerotium cepivorum* y *Trichoderma* sp. Tesis de licenciatura. Centro Universitario UAEM Zumpango, México
- Ortiz-Villanueva, B. y Ortiz-Solorio, C.A. 1990. *Edafología*. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de suelos. México.
- Paris, M.A., Cotes, A.M., Elad, Y., Kolh, J. y Shtienberg, D. 2000. Evaluation of microbial isolates for control of *Sclerotium cepivorum* in onion. *En: Proceedings of 7th working group meeting. IOBC-WPRS Working Group "Biological control of fungal and bacterial plant pathogens"*. Kusadasi, Turkey 25: 311-314.
- Pavón, N.P., Briones, O. y Flores-Rivas, J. 2005. Litterfall production and nitrogen content in an intertropical semi-arid Mexican scrub. *Journal of Arid Environments* 60: 1-13.
- Perroni-Ventura, Y., Montaña. C., y García-Oliva, F. 2006. Relationship between soil nutrient availability and plant species richness in a tropical semi-arid environment. *Journal of Vegetation Science* 17: 719-728.
- Ping-Xing, Li, Ning, W., Wei-Hing, He, Bertil, O.K., Shu-Qin, G., Shu-Ming, Z., Fei-Hai, Yu y Ming, D. 2008. Fertile islands under *Artemisa ordosica* in inland dunes of northern China: Effects of habitats and plant developmental stages. *Journal of Arid Environments* 72: 953-963.
- Ponce-Herrera, V., García-Espinoza, R., Rodríguez-Guzmán, Ma. del P. y Zavaleta-Mejía, E. 2008. Análisis temporal de la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) de la cebolla (*Allium cepa* L.) bajo tres niveles de inóculo del patógeno. *Agrociencia* 42:71-83.
- Quiroz, S.V.F., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A. y Lara, H. Ma. de E. 2008. Antagonismo *in vitro* de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo de ajo. *Revista Mexicana de Micología* 26: 27-34.

- Rai, J. y Saxena, V.C. 1975. Sclerotial mycoflora and its role in natural biological control of "white rot" disease. *Plant and Soil* 43: 509-513.
- Ramírez-Gama, R.M., Luna-Millán, B., Mejía-Chávez, A., Velázquez-Madrado, O., Tsuzuki-Reyes, G., Vierna-García, L., Hernández-Gómez, L. y Müggenburg, I. 1998. *Manual de prácticas de microbiología general*. Facultad de Química. UNAM. México.
- Rennie, R.J. 1981. A single medium for the isolation of acetylene-reducing (dinitrogen-fixation) bacteria from soils. *Canadian Journal of Microbiology* 27: 8-14.
- Reynolds, J.F., Ross, A.V., Kemp, P.R., De Soyza, A.G. y Tremmel, D.C. 1999. Impact of Drought on desert shrubs: Effects of seasonality and degree of resource islands development. *Ecological Monographs* 96: 69-106.
- Rivera-Aguilar, V., Godínez-Alvarez, H. y Manuell-Cacheux, I. 2004. Las costras biológicas del suelo y las zonas áridas. *Ciencias* 75: 24-27.
- Rivera-Aguilar, V., Godínez-Alvarez, H., Manuell-Cacheux, I. y Rodríguez-Zaragoza, S. 2005. Physical effects of biological soil crusts on seed germination of two desert plants under laboratory conditions. *Journal of Arid Environments* 63:344-352.
- Rivera-Aguilar, V., Montejano, G., Rodríguez-Zaragoza, S. y Durán-Díaz, A. 2006. Distribution and composition of cyanobacteria, mosses and lichens of the biological soil crusts of the Tehuacán Valley, Puebla, México. *Journal of Arid Environments* 67:208-225.
- Rivera-Aguilar, V., Godínez-Alvarez, H., Moreno-Torres, R. y Rodríguez-Zaragoza, S. 2009. Soil psycho-chemical properties affecting the distribution of biological soil crusts along an environmental transect al Zapotitlán Drylands, México. *Journal of Arid Environments* 73:1023-1028.
- Robert, M.S., Nakamura, L.K. y Cohan, F.M. 1994. *Bacillus mojavensis* sp. nov., distinguishable from *Bacillus subtilis* by sexual isolation, divergence in DNA sequence,

- and differences in fatty acid composition. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 44: 256-264.
- Robertson, P.G., Coleman, D.C., Bledsoe, C.S. y Sollins, P. 1999. *Standard soil methods for Long-term Ecological Research (LTER)*. Oxford University Press (457pp).
 - Rodríguez-Zaragoza, S., González-Ruiz, T., González-Lozano, E., Lozada-Rojas, Abraham, Mayzlish-Gati, Einav, Steinberger, J. 2008. Vertical distribution of microbial communities under the canopy of two legume bushes in the Tehuacán Desert, México. *European Journal of Soil Biology* 44:373-380.
 - Ruiz, T.G., Zaragoza, S.R. y Cerrato, R.F. 2008. Fertility islands around *Prosopis laevigata* and *Pachycereus hollianus* in the drylands of Zapotitlán Salinas, México. *Journal of Arid Environments* 72:1202-1212.
 - Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Limusa, México.
 - Sandoval-Pérez, A.L. 2011. Efecto de *Mimosa luisana* (Leguminosae) y de las costras biológicas sobre la dinámica del carbono y del nitrógeno en el suelo de un ecosistema semiárido en México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana, México, D.F.
 - Sokal, R.R. y Rohlf, F.J. 1995. *Biochemistry. The principles and practice of statistics in biological research*. W.H. Freeman y Co., New York.
 - States, J.S. y Christensen, M. 2001. Fungi associated with biological soil crusts in desert grasslands of Utah and Wyoming. *Mycologia* 93: 432- 439.
 - Soule, T., Anderson, J.I., Johnson, L.S. y Bates, T.S. 2009. Archaeal populations in biological soil crusts from arid lands in North America. *Soil Biology and Biochemistry* 41:2069-2074.

- Su, Y.G., Li, X.R., Zheng, J.G. y Huang, G. 2009. The effect of biological soil crusts of different successional stages and conditions on the germination of seeds of three desert plants. *Journal of Arid Environments* 73: 931-936.
- Thomas, A.D., Hoon, S.R. y Linton, P.E. 2008. Carbon Dioxide fluxes from cyanobacteria crusted soils in the Kalahari. *Applied Soil Ecology* 39: 254-263.
- Thompson, D.B., Walker, L.R., Landau, F.H. y Stark, L.R. 2005. The influence of elevation, shrub species, and biological soil crusts on fertile islands in the Mojave Desert, USA. *Journal of Arid Environments* 61: 609-629.
- Utkhede, R.S. y Rahe, J.E. 1983. Chemical and Biological control of onion White rot in muck and mineral soils. *Plant Disease* 73: 980-893.
- von Ende, C.N. 1993. Repeated-measures analysis: growth and other time-dependant measures. En: Scheiner, S.M., Gurevitch, J. (Ed), *Design and analysis of ecological experiments*. Chapman & Hall; New York: 113-137.
- Webster, J. y Weber, R. 2009. *Introduction to fungi*. 3th. Edition UK. University Press, Cambridge.
- Weibo, W., Yongding, L., Dunhai, L., Chungxiang, H. y Benqiang, R. 2008. Feasibility of cyanobacterial inoculation for biological soil crusts formation in desert area. *Soil Biology and Biochemistry* 2009:926-929.
- Whipps, J. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 52:487-511.
- Yeager, C.M., Kornosky, J.L., Housman, D.C., Grote, E.E., Belnap, J. y Kuske, C.R. 2004. Diazotrophic community structure and function in two successional stages of biological soil crusts from the Colorado plateau and Chihuahuan desert. *Applied and Environmental Microbiology* 70:973-983.

- Zavaleta-Mejía, E. 1999. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. *TERRA Latinoamericana* 17: 003: 201-207.
- Zuberer, D.A. 1994. Recovery and enumeration of viable bacteria. *En: Weaver, R.W. (ed.), Methods of soil analysis. Part 2. Microbiological and biochemical properties. SSSA Book Ser. 5. SSSA, Madison WI: 119-144.*

X. APÉNDICE I

PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS EN ESTA TESIS

1. *Medio para microorganismos celulolíticos* (Modificado por Pochon y Tardieux, 1962; Siyama *et al.*, 1993)

REACTIVO	Cantidad a aplicar g L ⁻¹
Solución salina estándar de Winogradsky	5.0 mL
NH ₄ NO ₄	1.0 g
Extracto de suelo	20.0 mL
Solución de micronutrientes	1.0 mL
Agua destilada	1000 mL
pH	6.5
Carboximetil celulosa	10.0 g
Agar	10.0 g

Solución salina estándar de Winogradsky (pH 7)

K ₂ HPO ₄	5.0 g
MgSO ₄	2.5 g
NaCl	2.5 g
Fe(SO ₄) ₃	0.5 g
Agua destilada	1000 mL

Modo de preparación

Preparar la solución con los primeros cuatro reactivos listados en 1000 mL de agua destilada, mezclarlos y ajustar el pH a 6.5. Tomar 500 mL de la solución y licuarla con 5 g de CMC y vaciar en matraz, repetir este proceso con los otros 500 mL. Finalmente, agregar 5.0 g de agar por matraz como agente solidificante. Esterilizar en autoclave a temperatura de 120 °C durante 18 min. Dejar enfriar y vaciar en cajas Petri.

2. Medio de cultivo de carbón activado. Para bacterias fijadoras de nitrógeno (Rennie, 1891)

Solución A

REACTIVO	Cantidad a aplicar g L ⁻¹
K ₂ HPO ₄	0.8 g
KH ₂ PO ₄	0.2 g
KCl	0.1 g
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.025 g
Na ₂ Fe EDTA	0.01 g
Extracto de levadura	0.025 g
Manitol	5.0 g
Sacarosa	2.5 g
Lactato de sodio (60% V/V)	0.5 mL
Agar	15
Agua destilada	900 mL

Solución B

MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.06 g
Agua destilada	100 mL

Modo de preparación

Para la solución A, mezclar todos los reactivos en 900 mL de agua destilada. Preparar la solución B aparte. Esterilizar ambas soluciones en la autoclave a temperatura de 120 °C durante 18 min. Finalizado el tiempo, dejar enfriar la solución B y dentro de la campana de flujo laminar adicionarle a la solución B:

Biotina	0.5 mL L ⁻¹
Acido p-amino benzoico (PABA)	2.0 mL L ⁻¹

Posteriormente, mezclar la solución B dentro de la A, vaciándola por las paredes para evitar la formación de burbujas y mezclar en cajas Petri.

3. Medio de Picovskaya (medio para solubilizadores de fosfatos)

REACTIVO	Cantidad a aplicar g L ⁻¹
Glucosa	10.0 g
Ca(PO ₄) ₂ *	5.0 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5 g
KCl	0.2 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.1 g
MnSO ₄	Trazas
FeSO ₄ ·7H ₂ O	Trazas
Extracto de levadura	0.5 g
Agar agar *	15.0 g
Agua destilada	1000 mL

Modo de preparación

Se mezclan todos los reactivos (excepto los marcados con un asterisco) dentro de un vaso de 1000 mL. Dividir y vaciar la mezcla en dos matraces de 500 mL y agitar. Los reactivos marcados con asterisco son pesados a la mitad y son mezclados cada uno en su respectivo matraz, agitar. Esterilizar en autoclave a una temperatura de 120 °C durante 18 min. Después de la esterilización, se agita lentamente el medio para evitar la formación de burbujas. Dejar enfriar y vaciar en cajas Petri.

XII. APÉNDICE II

CUADRO QUE PRESENTA LOS PRINCIPALES CONSITUTYENTES DE LAS COSTRAS BIOLÓGICAS DEL SUELO IDENTIFICADOS PARA EL VALLE DE ZAPOTITLÁN SALINAS, PUEBLA, MÉXICO

	Musgos	Líquenes	Cianobacterias
Sandoval-Pérez en preparación, 2011	<i>Aloina hamulus</i> (C. Muell.) Broth	<i>Gloeoheppia</i> sp.	<i>Anabaena</i> sp.
	<i>Brachymenium exile</i> (Dosz et Molk.) Bosch et Lac	<i>Lempholemma</i> sp.	<i>Chroococcus turgidus</i> (Kutzing) Nägeli
	<i>Brachymenium</i> sp. Schwaegr	<i>Lichinella</i> sp. 1	<i>Microcoleus chitonoplastes</i>
	<i>Bryum argenteum</i> Hedw	<i>Lichinella</i> sp. 2	<i>Oscillatoria</i> sp.
	<i>Didymodon rigidulus</i> var. <i>gracilis</i> (Brtr.) Zand	<i>Peltula euploca</i> (Ach.) Poelt	<i>Oscillatoria agardhii</i>
	<i>Neohophyla</i> sp.	<i>Peltula patellata</i> (Bagl.) Swinscow & Krog	<i>Schizothrix</i> sp.
	<i>Pseudocrossidium aureum</i> Zand	<i>Placydium lacinalatum</i> (Ach.) Breus	<i>Scytonema javanicum</i> (Kütz) Bornet ex. Born. et Flah.
	<i>Pseudocrossidium replicatum</i> (Tayl.) Zand	<i>Psora crenata</i> (Taylor) Reinke	
	<i>Trichostomun brachydontium</i>		
	<i>Weissia</i> sp. Hedw		
Rivera-Aguilar et al., 2006	<i>Aloina Hamulus</i> (C. Muell.) Broth	<i>Placydium squamulosum</i> (Ach.) Breuss	<i>Aphanocapsa</i> sp. (Drouet et Daily)
	<i>Brachymenium</i> sp. Schwaegr	<i>Lepraria</i> spp.	<i>Chlorogloea</i> sp.
	<i>B. exile</i> (Dozy and Molk.) Bosch y Lac	<i>Psora</i> spp.	<i>Chroococcidiopsis</i> sp.
	<i>Bryum argenteum</i> Hedw.	<i>Endocarpon pallidum</i> Ach.	<i>Gloeocapsa</i> sp. (Drouet et Daily)
	<i>Didymodon australasiae</i> var. <i>umbrosus</i> (C. Muell.) Zand.	<i>Placopsis</i> spp.	<i>Microcoleus paludosus</i> (Kütz.) Gomont
	<i>D. revolutus</i> (Card.) Will.	<i>Xanthoparmelia terrestris</i> (Kurokawa y Filson) Elix y Johnston	<i>Nostoc</i> sp. (Vaucher ex Bornet & Flahault)
	<i>D. rigidulus</i> var. <i>gracilis</i> (Hook. y Grev.) Zand.	<i>Collema coccophorum</i> Tuck	<i>Schizothrix</i> sp. (Kütz)
	<i>Erpodium acrifolium</i> (Purs.)	<i>Caloplaca</i> spp.	<i>Scytonema javanicum</i> (Kütz.) Bornet ex Born. et Flah.
	<i>Fabronia ciliaris</i> var. <i>wrightii</i> (Sull. ex Sull. y Lesq.) Buck.		
	<i>Fissidens crispus</i> Mont.		
	<i>Neohyophyla sprengelii</i> var. <i>stomatodonta</i> (Card.) Zand.		
	<i>Physcomitrium subsphaericum</i> Schimp. ex C. Muell.		
	<i>Pseudocrossidium aureum</i> (Bartr.) Zand.		
	<i>P. replicatum</i> (Tayl.) Zand.		
	<i>P. replicatum</i> var. <i>longicuspidatum</i> Zand.		
	<i>Splachnobryum obtusum</i> (Brid.) C. Muell.		
	<i>Trichostomum brachydontium</i> Bruch ex F. Muell.		
	<i>Weissia controversa</i> Hedw.		
	<i>W. jamaicensis</i> (Mitt.) Grout.		

XIII. ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. CORTE LONGITUDINAL DE UNA COSTRA BIOLÓGICA DEL SUELO	4
FIGURA 2. SUBCUENCA DEL VALLE DE ZAPOTITLÁN, PUEBLA, MÉXICO.	23
FIGURA 3. SITIOS DE MUESTREO DENTRO DEL VALLE DE ZAPOTITLÁN-SALINAS EN EL ESTADO DE PUEBLA, MÉXICO	25
FIGURA 4. DISEÑO EXPERIMENTAL DE MUESTREO	28
FIGURA 5. MICROAMBIENTES ELEGIDOS PARA REALIZAR ESTA INVESTIGACIÓN.....	28
FIGURA 6. VARIACIÓN ESTACIONAL DE LAS UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE MICROORGANISMOS DEL SUELO: (A) BACTERIAS TOTALES, (B) HONGOS TOTALES Y (C) ACTINOMICETOS	39
FIGURA 7. VARIACIÓN ESTACIONAL DE LAS UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DE MICROORGANISMOS DEL SUELO: (A) MICROORGANISMOS CELULOLÍTICOS, (B) BACTERIAS FIJADORAS DE N ₂ EN VIDA LIBRE Y (C) SOLUBILIZADORES DE FÓSFORO	40
FIGURA 8. POSIBLE ANTAGONISMO DE CEPAS DE BACTERIANAS Y FÚNGICAS EXTRAÍDAS DEL SUELO DE ISLA DE RECURSOS DEBAJO DE <i>MIMOSA LUISANA</i> CONTRA DOS HONGOS FITOPATÓGENOS	44
FIGURA 9. ANTIBIOSIS DE BACTERIAS TOTALES AISLADAS	45
FIGURA 10. CRECIMIENTO DE LAS CEPAS BACTERIANAS 1, 4, 5 Y 7 CONFRONTADAS CON DOS HONGOS FITOPATÓGENOS.....	46
FIGURA 11. CRECIMIENTO DE LAS CEPAS BACTERIANAS 13, 14 Y 15 CONFRONTADAS CON DOS HONGOS FITOPATÓGENOS	47
FIGURA 12. CEPAS DE HONGOS DEL SUELO BAJO COSTRAS BIOLÓGICAS	48
FIGURA 13. CRECIMIENTO DE LAS CEPAS DE HONGOS DEL SUELO CONFRONTADAS CON HONGOS FITOPATÓGENOS	49
FIGURA 14. CEPAS DE HONGOS DEL SUELO BAJO COSTRAS BIOLÓGICAS	51
FIGURA 15. CRECIMIENTO DE LAS CEPAS DE HONGOS DEL SUELO CONFRONTADAS CONTRA <i>SCLEROTINIA</i> <i>SCLEROTIORUM</i> Y <i>SCLEROTIUM CEPIVORUM</i>	52
FIGURA 16. CEPAS DE HONGOS ANTAGONISTAS DEL SUELO.....	54
FIGURA 17. CEPAS DE HONGOS ANTAGONISTAS DEL SUELO.....	55

XIV. ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. LOCALIZACIÓN Y UBICACIÓN DE LOS SITIOS DE MUESTREO DISTRIBUIDOS EN EL VALLE DE ZAPOTITLÁN-SALINAS, PUEBLA, MÉXICO.	27
CUADRO 2. VALORES PROMEDIO DE PH, CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA, TEMPERATURA DEL SUELO, DENSIDAD APARENTE Y HUMEDAD DEL SUELO	36
CUADRO 3. VALORES PROMEDIO DE LOS CONTENIDOS DE MATERIA ORGÁNICA, CARBONO ORGÁNICO, NITRÓGENO TOTAL, NITRÓGENO INORGÁNICO Y FÓSFORO INORGÁNICO DEL SUELO	37
CUADRO 4. VALORES DE <i>F</i> Y SUS NIVELES DE SIGNIFICANCIA DEL ANOVA DE MEDIDAS REPETIDAS PARA LAS VARIABLES DEL SUELO CUANTIFICADAS	38
CUADRO 5. COEFICIENTES DE CORRELACIÓN DE PEARSON (<i>r</i>) ENTRE LAS VARIABLES DEL SUELO Y LA ABUNDANCIA DE SEIS GRUPOS DE MICROORGANISMOS DEL SUELO	42
CUADRO 6. COEFICIENTES DE CORRELACIÓN DE PEARSON (<i>r</i>) ENTRE LAS VARIABLES DEL SUELO	43
CUADRO 7. COEFICIENTES DE CORRELACIÓN DE PEARSON (<i>r</i>) ENTRE LA ABUNDANCIA DE MICROORGANISMOS DEL SUELO.....	43