



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD
ECOLOGÍA

**Efecto de tres manejos agrícolas en la dinámica de carbono y nitrógeno del
suelo en la región del Bajío, Guanajuato.**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

KARLA VIOLETA SÁNCHEZ ORTIZ

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: DR. FELIPE FRANCISCO GARCÍA OLIVA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. YUNUEN TAPIA TORRES
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES- UNIDAD MORELIA, UNAM
DR. JOHN LARSEN
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM

MORELIA, MICHOACÁN, JUNIO 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD
ECOLOGÍA

**Efecto de tres manejos agrícolas en la dinámica de carbono y nitrógeno del
suelo en la región del Bajío, Guanajuato**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

KARLA VIOLETA SÁNCHEZ ORTIZ

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: DR. FELIPE FRANCISCO GARCÍA OLIVA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. YUNUEN TAPIA TORRES
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES- UNIDAD MORELIA, UNAM
DR. JOHN LARSEN
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM

MORELIA, MICHOACÁN, JUNIO 2019

OFICIO CPCB/600/2019

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Por medio de la presente me permito informar a usted, que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas, en su sesión ordinaria del día 08 de abril de 2019, aprobó el siguiente jurado para la presentación del examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** a la alumna **SÁNCHEZ ORTIZ KARLA VIOLETA**, con número de cuenta **517007772**, con la tesis titulada, "Efecto de tres manejos agrícolas en la dinámica de carbono y nitrógeno del suelo en la región del Bajío, Guanajuato", realizada bajo la dirección del **DR. FELIPE FRANCISCO GARCÍA OLIVA**:

Presidente: Dr. Roberto Antonio Lindig Cisneros
Vocal: Dr. Luis David Alcaraz Peraza
Secretaria: Dra. Yunuen Tapia Torres
Suplente: Dr. Noé Manuel Montaña Arias
Suplente: Dr. Bruno Manuel Chávez Vergara

Sin otro particular, quedo de usted.

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 22 de mayo de 2019



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para mis estudios de Maestría en Ciencias Biológicas (CVU 777363).

Este estudio fue financiado por el proyecto titulado “El papel de la disponibilidad del Carbono sobre la dinámica del Nitrógeno y Fósforo edáfico en ecosistemas contrastantes de México”, financiado por el programa PAPIIT, UNAM (Clave: IN201718).

Al financiamiento del proyecto “Uso eficiente del fósforo en sistemas agroecológicos de México: ejemplos de sistemas áridos y templados” PAPIIT-DGAPA IA206617, del cual forma parte esta tesis.

Al Dr. Felipe Francisco García Oliva por su orientación y conocimiento brindado durante este trabajo de tesis, además de su apoyo, su experiencia, enseñanzas y dedicación y por la motivación que nos brinda.

A la Dra. Yunuen por su apoyo en los análisis enzimáticos, y todas sus aportaciones y sugerencias para este trabajo de tesis, además de todos sus consejos.

Al Dr. John Larsen por aceptar ser parte de mi comité tutorial, por todos los aportes y sugerencias brindadas.

AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL

A quienes me ayudaron en mis muestreos: Felipe, Yunuen, Beto y Gaby

Al Mtro. Rodrigo Velázquez-Durán por su apoyo en los análisis de laboratorio de las muestras vegetales y de suelo.

A Alberto Valencia por su apoyo en el soporte de acceso a biblioteca electrónica y comunicación por medio de internet.

A todos mis maestros durante la maestría por las enseñanzas que me brindaron y por todos sus conocimientos.

A mis compañeros de laboratorio de Biogeoquímica de suelos: Pam, Beto, Fanny, Gaby, Semiramis y Brenda por su apoyo y enseñanzas, sus consejos y retroalimentación y por su amistad.

A mis papás por alentarme en esta etapa de mi vida, por todo el apoyo y por la motivación que me dieron.

A mi hermano Omar, quien ha sido una inspiración para mí, por el apoyo y por los consejos.

Al Laboratorio de Biogeoquímica de Suelos, IIES, UNAM por facilitar las instalaciones para realizar los análisis de laboratorio e interpretar los resultados de la presente tesis.

Al Laboratorio de Microbiómica de la ENES Unidad Morelia, UNAM por facilitar las instalaciones para realizar los análisis enzimáticos.

A Natalia Cintli Valdespino Vázquez, Sergio López Valencia y José Alberto Sánchez Zavala por permitir realizar los muestreos dentro de sus parcelas agrícolas, por la disponibilidad y el apoyo brindado durante el trabajo de campo.

ÍNDICE

I ÍNDICE DE CUADROS	1
II ÍNDICE DE FIGURAS	3
III RESUMEN.....	5
IV ABSTRACT	7
1. Introducción	9
2. Pregunta de investigación	11
3. Objetivos	11
3.1 Objetivo general	11
3.2 Objetivos particulares.....	11
3.3 Hipótesis.....	12
Fase 1:	12
Fase 2:	12
4. Antecedentes.....	13
4.1 Dinámica del Carbono y Nitrógeno	13
4.1.2 Enzimas en el suelo	16
4.2 Agricultura	18
4.2.1 Agricultura convencional	18
4.2.1.1 Efectos del manejo convencional en la dinámica del C y N.....	18
4.2.2 Agricultura integrada	21
4.2.2.1 Efectos del manejo agrícola integrado en la dinámica del C y N	22
5. Materiales y métodos	23
5.1 Área de estudio.....	23
5.2 Diseño de muestreo	24
5.3 Análisis de laboratorio	28
5.3.1. Humedad y pH del suelo.....	28
5.3.2. Nutrientes en el suelo.....	29
5.3.3. Nutrientes totales	29
5.3.3. Nutrientes disponibles	29
5.3.4. Nutrientes disueltos	29
5.3.5. C y N microbiano.....	30
5.3.6. Análisis de Actividad enzimática	31
5.3.7. Experimento con incubaciones aeróbicas de suelo.....	32
5. 4 Análisis estadísticos	34
6. Resultados.....	35
6.1. Fase I: Dinámica del C y N en el suelo	35
6.1.1. Análisis de componentes principales.....	37
6.1.2. Nutrientes en la biomasa vegetal	39
6.1.3. Relación entre nutrientes en la biomasa del maíz y nutrientes disponibles del suelo	40
6.2. Fase II: Experimento de Incubación	42
7. Discusión.....	49
7.1. Fase I: Caracterización de la dinámica del C y N en la parcela agrícola con manejo	
convencional y la parcela agrícola con manejo integrado	49

7.1.1. Dinámica de nutrientes en el suelo	49
7.1.2. Nutrientes en la biomasa vegetal	54
7. 2. Fase II: Experimento de fertilización orgánica e inorgánica	55
8. Perspectivas	57
9. Conclusiones.....	57
Literatura citada.....	58

I ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro 1.** Cuadro comparativo de las dos parcelas muestreadas con diferente manejo agrícola: convencional intensivo e integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. **26**
- Cuadro 2.** Diseño del experimento de incubaciones del suelo de tres parcelas agrícolas ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México: parcela abandonada, parcela con manejo agrícola convencional y parcela con manejo integrado..... **33**
- Cuadro 3.** Medias (y error estándar) de las concentraciones del C y N total, disueltos, disponibles, microbianos y actividad enzimática en el suelo de las tres parcelas agrícolas estudiadas, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. A: parcela abandonada, I: parcela con manejo integrado y C: parcela con manejo convencional intensivo. Se presentan los valores de F y P del ANOVA de una vía. **36**
- Cuadro 4.** Coeficientes de correlación de Pearson entre las siguientes variables: C y N disponible, disueltos, biomasa microbiana y actividad enzimática del suelo de tres parcelas analizadas: Parcela abandonada, parcela con manejo agrícola convencional y parcela con manejo agrícola integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. **37**
- Cuadro 5.** Porcentaje de la varianza explicada por los dos primeros componentes (Eigenvalor) y el peso de las variables analizadas, en dichos componentes, de las muestras provenientes de las tres parcelas estudiadas: Parcela Parcela abandonada, parcela con manejo agrícola convencional y parcela con manejo agrícola integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. **37**
- Cuadro 6.** Medias y error estándar de las concentraciones de C y N totales de la parte aérea y radical del pasto y maíz, y del grano y olote del maíz de las tres parcelas agrícolas estudiadas: Parcela abandonada (A), parcela integrada (I) y parcela con manejo convencional (C), ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. **40**
- Cuadro 7.** Probabilidad de significancia estadística y coeficiente de correlación (r^2) de las concentraciones y contenido de N total de diferentes tejidos de maíz (parte aérea y radical, grano y olote) provenientes de las tres parcelas estudiadas: parcela abandonada, parcela con manejo convencional y parcela integrada, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. **41**
- Cuadro 8.** Análisis de Varianza Factorial del experimento de incubación del suelo de la parcela con manejo convencional y la parcela con manejo integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. Se presentan los valores de F y P entre paréntesis. Así mismo, se presenta este análisis factorial sin el tratamiento de fertilización inorgánica. a Tasa potencial de mineralización de $\text{CO}_2\text{-C}$, b Amonio, c Nitrato, d Tasa neta de mineralización de nitrógeno. **43**

Cuadro 9. Coeficientes de correlación de Pearson del control entre las variables de CO₂, transformaciones de N, nutrientes disueltos, biomasa microbiana y actividad enzimática del suelo de la parcela con manejo convencional y la parcela con manejo integrad, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México..... **47**

Cuadro 10. Coeficientes de correlación de Pearson del tratamiento con fertilizante (NH₄NO₃) entre las variables de CO₂, transformaciones de N, nutrientes disueltos, biomasa microbiana y actividad enzimática del del suelo de la parcela con manejo convencional y la parcela con manejo integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México..... **47**

Cuadro 11. Coeficientes de correlación de Pearson del tratamiento del maíz molido entre las variables de CO₂, transformaciones de N, nutrientes disueltos, biomasa microbiana y actividad enzimática del suelo de la parcela con manejo convencional y la parcela con manejo integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. **48**

II ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de Manuel Doablado, Guanajuato, Mexicio. El círculo rojo representa el área de muestreo donde se colectaron las muestras de suelo de la parcela abandonada, la parcela con manejo agrícola convencional y la parcela con manejo agrícola integrado.....23

Figura 2. Parcelas muestreadas ubicadas en Manuel doblado, Guanajuato, México.(A) parcela abandonada, (B) parcela agrícola con manejo integrado, (C) parcela agrícola con manejo convencional intensivo. Fotografía: Valdespino, 2018. **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 3. Representación del diseño de muestreo aleatorio sistemático realizado en las tres parcelas muestreadas en Manuel Doblado: Parcela abandonada, parcela agrícola con manejo convencional y parcela agrícola con manejo integrado.25

Figura 4. Ordenación de las muestras de suelo de tres parcelas con diferente manejo agrícola, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. A: parcela abandonada, I: parcela con manejo agrícola integrado y C: parcela agrícola con manejo convencional38

Figura 5. Regresiones de las diferentes formas de nitrógeno en el suelo y en el Maíz de tres parcelas con diferente manejo agrícola: Parcela abandonada, parcela con manejo convencional y parcela integrada ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México.41

Figura 6. Mineralización potencial de C ($\text{CO}_2\text{-C}$) después de 15 días de incubación del suelo de la parcela con manejo integrado y la parcela con manejo convencional con fertilización inorgánica. Las barras representan el tratamiento control, tratamiento fertilizado con NH_4NO_3 , tratamiento con la planta de maíz molida. Letras mayúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($P<0.05$) entre tratamientos al interior de cada parcela. Letras minúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($P<0.05$) entre la parcela con manejo convencional y manejo integrado al interior de cada tratamiento44

Figura 7. (A) Amonio, (B) nitrato, (C) Amonificación neta de nitrógeno, (D) nitrificación neta y tasa neta de mineralización de nitrógeno (TNMN) después de 15 días de incubación del suelo de la parcela con manejo convencional y la parcela con manejo integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. Las barras representan el tratamiento control, tratamiento fertilizado con NH_4NO_3 , tratamiento con la planta de maíz molida. Letras mayúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($P<0.05$) entre tratamientos al interior de cada parcela. Letras minúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($P<0.05$) entre parcelas al interior de cada tratamiento..... **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 8. (A) Tasa neta de mineralización de nitrógeno y (B) nitrificación neta después de 15 días de incubación del suelo de la parcela con manejo convencional y la parcela con manejo integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. Sin el tratamiento de

fertilización inorgánica. Letras distintas indican diferencia estadística significativa (P<0.05).....46

Figura 9. Modelo de la dinámica de nutrientes en las tres parcelas analizadas: Parcela abandonada, parcela con manejo convencional y parcela integrada ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. Las cajas más gruesas, representan un mayor almacén, así como también las líneas más gruesas un mayor flujo. Las líneas punteadas representan procesos no determinados y los cuadros sombreados los procesos que fueron dominantes en cada parcela.53

III RESUMEN

Globalmente, la alta demanda de la producción agrícola ha traído como consecuencia el incremento del uso de fertilizantes nitrogenados para satisfacer las demandas nutricionales de las plantas. Sin embargo, el uso intensivo de dichos fertilizantes en la agricultura convencional afecta negativamente al suelo y consecuentemente, al medio ambiente. Por lo tanto, se están implementando alternativas a la agricultura convencional que sean más sostenibles y amigables con el ambiente, como la agricultura integrada. No obstante, se necesita hacer más investigación sobre cómo diferentes manejos agrícolas afectan la dinámica del nitrógeno (N) y carbono (C) en el suelo. Por lo que los objetivos de esta investigación fueron evaluar la dinámica del C y N en el suelo con tres diferentes manejos agrícolas. Así como también se evaluó el efecto de la fertilización orgánica e inorgánica sobre las transformaciones de N en el suelo, bajo condiciones controladas de laboratorio.

El suelo fue colectado en tres diferentes parcelas agrícolas: una parcela agrícola con manejo convencional con fertilización inorgánica intensiva, una parcela con manejo integrado y una parcela abandonada (2 años de abandono). Para cada parcela se cuantificó el C y N en sus formas disponibles, el C y N en la biomasa microbiana, así como en sus formas orgánicas disueltas, además se midió la actividad de las enzimas B-glucosidasa (BG) y N-acetil glucosaminidasa (NAG). También se midió la biomasa aérea y subterránea de las plantas, así como su concentración de C y N. Para la fase experimental, se realizaron incubaciones de suelo utilizando un tratamiento con residuos vegetales de maíz y otro tratamiento con fertilizante nitrogenado inorgánico, a los cuales se les midió la mineralización potencial de C, la amonificación neta, la nitrificación neta y la tasa neta de mineralización de nitrógeno (TNMN).

Los resultados indican que en la parcela abandonada fueron mayores el carbono orgánico disuelto (COD) y el nitrógeno orgánico disuelto (NOD), así como también el carbono total CT y el nitrógeno total NT, además del C microbiano, en comparación con las parcelas cultivadas. Mientras que en la parcela bajo manejo convencional con fertilización inorgánica intensiva fue mayor la actividad enzimática de la NAG y la BG, así como también la concentración de nitrato (NO_3^-). Los valores del CT y el NT de la parte aérea del

maíz fueron mayores en la parcela convencional, pero la relación C:N del pasto fue mayor en la parcela abandonada. La tasa potencial de mineralización de C fue mayor en el tratamiento con maíz en comparación con el tratamiento con fertilización inorgánica. Además, el COD correlacionó positivamente con la TNMN en los tres tratamientos, siendo el control el que tuvo la correlación más alta, mientras que la correlación más baja la tuvo el tratamiento con fertilización inorgánica. Se concluye que el manejo agrícola afecta la dinámica del C y N, debido a que en la parcela con agricultura convencional no hay un retorno de compuestos orgánicos al suelo y la disponibilidad del C orgánico del suelo disminuye, además de la alta aplicación de fertilizante nitrogenado que altera las transformaciones de N y vuelve más abierto el ciclo del N, lo cual hace al N más susceptible a que se pierda del suelo.

IV ABSTRACT

Globally, the high demand of products from agriculture increased the use of nitrogen fertilizers for improving the nutritional plant requirements. However, the intensive use of chemical fertilizers in the conventional agriculture (CA) lead to soil degradation, as well as environment degradation. Therefore, it is required to design sustainable agriculture managements and environmentally friendly, as the integrated agriculture (IA). Hence, it is necessary to do research to evaluate the effects of different agriculture managements on the dynamics of carbon (C) and nitrogen (N). The objectives of the present study were to evaluate the C and N dynamic in the soil from three different agricultural management. Additionally, the effect of organic and inorganic fertilization on the soil N transformations using an experimental microcosmos was analyzed.

The soil was sampled in three agricultural plots with different management: conventional agriculture with intensive inorganic fertilization (CA), integrated agriculture (IA) and agriculture plot that was abandoned two years ago (AP). For all samples, C and N was analyzed for available forms, within microbial biomass and soil dissolved forms. Additionally, the enzymatic activity of β -glucosidase (BG) and N-acetylglucosaminidase (NAG) were measured. The above- and belowground plant biomass and their concentration of C and N were also quantified. For the experimental microcosm, the effect of organic amendment with corn material, and inorganic N fertilization were tested in controlled soil incubations. The potential C mineralization, net ammonification, net nitrification, and the rate of net N mineralization (RNNM) were measured.

The abandoned plot (AP) had higher dissolved organic C (DOC), dissolved organic N (DON), microbial C and total C and N than the other two agricultural plots. While the Conventional agricultural plot (CA) had the highest nitrate concentration, and BG and NAG activities. The concentration of C and N in the aboveground biomass were higher in the CA than in the IA, but the aboveground biomass C:N ratio was highest in the AP. The potential C mineralization was higher in the treatments with maize amendment than inorganic N fertilization. Additionally, DOC concentration had positive correlation with the RNNM in the three experimental treatments, where the control treatment (without maize

amendment and N fertilization) had stronger correlation, while the inorganic N fertilization had the weakest correlation. Therefore, the CA plot had lower available organic molecules, because this management promote low C return to the soil. As a conclusion, the CA management favors the soil N losses in comparison to the abandoned plot (AP).

1. Introducción

La población mundial se ha incrementado exponencialmente a lo largo de las cuatro últimas décadas (Tilman et al., 2002) y se espera que para el año 2050 aumente a 9.7 mil millones de personas (FAO, 2009). A medida que la población aumenta, la demanda alimentaria se incrementa. Se espera un aumento de esta demanda entre el 59% y el 98% para el 2050. Para satisfacer esta demanda creciente de alimentos, una de las estrategias ha sido la intensificación de la agricultura, además del uso de mayores extensiones de tierras cultivadas, lo que ha ocasionado, entre otras cosas, la conversión de suelo forestal a suelo agrícola. Por otro lado, la agricultura convencional (Sección 4.2.1), lleva a cabo prácticas agrícolas incorrectas, las cuales se caracterizan por la siembra de monocultivos que provocan pérdida de la diversidad de especies de plantas (Brummer, 1998). Así mismo, involucra la utilización de altas cantidades de plaguicidas, como consecuencia de la rápida dispersión de enfermedades y aparición de plagas, lo cual se exagera cuando el cultivo es monoespecífico, éste es más susceptible a la propagación de elementos patógenos. Además de los monocultivos, la agricultura convencional se caracteriza por la disminución del carbono orgánico del suelo (COS) (Krall y Schumman, 1996) y la demanda de altos niveles de agua, plaguicidas y fertilizantes, que causa, a largo plazo, un cambio en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo que hacen que este pierda o en el mejor de los casos disminuya su fertilidad (van Bruggen y Semenov, 2000).

La agricultura convencional intensiva, requiere de la utilización de fertilizantes inorgánicos para satisfacer la demanda nutricional de las plantas, ya que en algunos sistemas los nutrientes pueden estar limitando el crecimiento vegetal o han sido agotados por la extracción asociada a la cosecha de la biomasa. El nitrógeno (N), que es uno de los principales nutrientes esenciales para las plantas, es uno de los nutrientes limitantes de la producción agrícola, de manera natural sólo este se incorpora al suelo mediante fijación biológica por medio de algunas especies de bacterias y por reciclaje (mineralización) de la materia orgánica del suelo. Sin embargo, para satisfacer la demanda de la producción agrícola, los agricultores aplican insumos de N, lo cual ha llevado a realizar métodos industrializados de fijación de este elemento para cumplir esta demanda, como el método Haber-Bosch, para su utilización en el suelo como fertilizante químico. Además, la

producción anual de N reactivo, en la atmósfera y la biosfera, el cual incluye todos los compuestos de nitrógeno biológicamente y químicamente activos, como por ejemplo óxido nitroso (N_2O), nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2), amonio (NH_4). Se estima, que a nivel global es de aproximadamente 100 millones de toneladas (Galloway et al., 2002). La producción elevada de N para satisfacer las demandas agrícolas y su entrada en los ecosistemas ha provocado su acumulación en el suelo (Galloway et al., 2003; Vitousek et al., 1997), y debido a su rápida transformación, se puede perder fácilmente, ya sea por volatilización en forma de gases de efecto invernadero (N_2O , NO_x , N_2) o por lixiviación en forma de NO_3 . Lo anterior provoca que se transporte fácilmente como contaminante a la atmósfera, a los ríos, océanos y al subsuelo. Es por esto que las actividades agrícolas son las principales fuentes de contaminación por N reactivo en el planeta (Prather et al., 1995).

Para contrarrestar dichos efectos, y dada la importancia crucial de mantener las funciones del suelo, se han propuesto diferentes alternativas de manejo agrícola más sostenible. Tal es el caso de la agricultura integrada, la cual combina la aplicación de biofertilizantes y fertilizantes químicos (Hendrickson et al., 2008) y ha demostrado que puede mejorar la calidad del suelo (Wagg et al., 2014). Lo anterior, al reducir la labranza, promover la rotación de cultivos y disminuir el uso de fertilizantes sintéticos. También incrementa la cantidad de carbono (C) orgánico del suelo (COS) al retornar la biomasa de los residuos vegetales al suelo. Sin embargo, se requiere indagar sobre el efecto de diferentes prácticas agrícolas en la dinámica del C y N en el suelo, para poder entender mejor cuáles son los factores claves que la regulan (Sombrero y de Benito, 2010), ya que el efecto de las diferentes formas de manejo agrícola impacta sobre la actividad y composición de las comunidades microbianas del suelo, lo cual puede reducir las funciones ecológicas y la estabilidad biológica que realizan estas comunidades en el suelo (Griffiths y Philippot, 2013).

2. Pregunta de investigación

Fase I: Caracterización

- ¿Cuál es el efecto del manejo agrícola convencional e integrado sobre las transformaciones de C y N en el suelo?

Fase II: Experimento de incubación

- ¿Cuál es la respuesta de la comunidad microbiana del suelo bajo manejo agrícola convencional e integrado a la fertilización orgánica e inorgánica?

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

- Analizar el efecto del manejo agrícola integrado y el manejo agrícola convencional intensivo sobre la dinámica del C y N en el suelo.

3.2 Objetivos particulares

- Caracterizar la dinámica del C y N del suelo con manejo agrícola integrado y con manejo convencional intensivo.
- Cuantificar experimentalmente el efecto de la fertilización orgánica e inorgánica en las transformaciones del N en el suelo en condiciones controladas de laboratorio.

3.3 Hipótesis

Fase 1:

Las parcelas donde la disponibilidad de C es menor, serán más susceptibles a las pérdidas de N del suelo debido a que el proceso de nitrificación se incrementa por la disminución de la entrada de C orgánico al suelo.

Fase 2:

La fertilización inorgánica favorece la nitrificación, por lo tanto, puede favorecer las pérdidas de N del suelo como consecuencia de una baja disponibilidad de C, mientras que la fertilización orgánica favorecería la protección de N, debido a la actividad de la comunidad microbiana heterotrófica del suelo.

4. Antecedentes

4.1 Dinámica del Carbono y Nitrógeno

El C y N son esenciales para la vida, ya que son necesarios para mantener las funciones fisiológicas de todos los organismos. Así mismo, estos elementos son muy importantes para la calidad del suelo, porque determinan varias de sus propiedades físicas, químicas y biológicas.

El suelo es el principal almacén de C, ya que este contiene tres veces más C que la atmósfera, y cuatro veces más que los organismos vivos (Lal, 2004). La dinámica del C en el suelo es resultado del balance entre la fotosíntesis (fijación de C) y la respiración (mineralización del C; Post et al., 2001). El CO₂ atmosférico es incorporado a los ecosistemas terrestres por medio de la fotosíntesis de los organismos autótrofos, como las plantas y los microorganismos quimioautótrofos, que convierten el CO₂ a carbohidratos que posteriormente, una parte, se asimila e incorpora a su biomasa. Después, la biomasa de las plantas se incorpora al suelo como residuos orgánicos. La fauna y los microorganismos del suelo descomponen estos residuos vegetales que pasan a formar parte de la materia orgánica del suelo (MOS). La MOS del suelo consiste de partículas orgánicas con diferentes niveles de descomposición, así como de compuestos macro y micromoleculares. Las moléculas orgánicas de tamaños menores o iguales a 0.45 µm se le conoce como materia orgánica disuelta (MOD), mientras que las que son más grande a ese tamaño se les conoce como materia orgánica particulada (MOP) (Thurman, 1985). La MOD representa tanto a las principales fuentes de nutrientes orgánicos, así como también a la fuente de energía de fácil acceso para los microorganismos heterótrofos, ya que está constituida por compuestos tales como carbono orgánico disuelto (COD), que es la forma lábil de C que los microorganismos requieren para la adquisición de energía. El COD puede estar en forma de moléculas pequeñas (azúcares simples o aminoácidos) o en forma de moléculas más grandes (celulosa) que deben ser despolimerizadas por los microorganismos, por lo que estos requieren sintetizar enzimas extracelulares para poder transformar las moléculas orgánicas de gran tamaño a moléculas orgánicas más pequeñas (Farrell et al., 2014).

Posteriormente, de las moléculas que pueden entrar a través de la membrana, una parte se incorpora a la biomasa microbiana y otra es oxidada para adquirir energía mediante la respiración, liberando nuevamente CO_2 a la atmósfera como producto metabólico.

Así como el C, el N forma parte importante del ciclo biogeoquímico del suelo, ya que es un elemento esencial para la vida que constituye aproximadamente el 78% de la concentración de los gases de la atmósfera de la Tierra. En la composición química de los seres vivos, este elemento se encuentra en una gran proporción, formando parte del ADN y de proteínas (Galloway et al., 2004). A pesar de que forma parte importante de la composición de los seres vivos, los animales y las plantas no pueden utilizar el N atmosférico (N_2), porque no cuentan con las enzimas necesarias (Nitrogenasa) que se encargan de romper el triple enlace que mantiene unidas a las dos moléculas de N y que hace que el N_2 sea altamente inerte y no reactivo. Por lo que se requiere de procesos clave para que se pueda transformar en N asimilable (Postgate 1982).

El N_2 se puede fijar mediante procesos sintéticos como el proceso de Haber-Bosch (Smith, 2004) o mediante procesos biológicos, por medio de bacterias y otros procariontes unicelulares que cuentan con las enzimas necesarias para reducir el N_2 a amonio (NH_4^+), un compuesto biológicamente asimilable, mediante el proceso denominado fijación del nitrógeno (Moir, 2011). Algunas especies de bacterias fijadoras de nitrógeno viven libremente en el suelo o el agua, mientras que otras son simbiontes benéficos que se asocian a las raíces de las plantas. Sin embargo, incluso con adaptaciones de las bacterias para usar el nitrógeno de manera eficiente, muchos ecosistemas del mundo están limitados por el nitrógeno (Galloway et al., 2004).

Una vez que los microorganismos de vida libre capturan el N_2 y lo han convertido en NH_4^+ , lo incorporan a su metabolismo para producir moléculas orgánicas e incorporarlas a su biomasa microbiana. Ya que los microorganismos han inmovilizado el N en su biomasa, liberan el N en exceso como NH_4^+ a la solución del suelo, proceso al cual se le llama mineralización (Barraclough, 1997). Dentro de la solución del suelo, el NH_4^+ está sujeto a competencia entre otros microorganismos y plantas, ya que el NH_4^+ es la forma de N

preferida para su metabolismo y para la síntesis de proteínas (Harrison y Bardett, 2007; Dannenmann et al., 2009; Kuzyakov y Xu, 2013). Cuando las plantas logran adquirir el NH_4^+ , también incorporan el N a su metabolismo y este N contenido en sus moléculas, es regresado al suelo en los tejidos vegetales (o animales) cuando estos cumplieron su ciclo de vida, y una vez llevada a cabo la fragmentación de las partículas de gran tamaño que son visibles, hasta partículas de menor tamaño que ya no pueden ser reconocibles (Satchell, 1974). Las partículas que ya no son reconocibles y que son menores a $0.45\mu\text{m}$ pasan a ser parte de la materia orgánica disuelta (MOD). El N orgánico del suelo (NOD) es un subconjunto del almacén de la MOD, el cuál es la principal entrada del N orgánico al suelo (Neff, 2002). El el N orgánico del suelo se encuentra en diferentes fracciones con diferente disponibilidad. El 25-35% del nitrógeno orgánico total se obtiene como N insoluble en ácido, el cual forma parte de componentes estructurales de sustancias húmicas; mientras que del 20 al 25% se recupera como $\text{NH}_3\text{-N}$ por destilación con MgO y se deriva de las amidas de algunos aminoácidos, del 5 al 10% se deriva de los amino azúcares y del 10 al 20% se deriva de compuestos hidrolizables no conocidos (Stevenson, 1982). El NOD, al igual que el COD, puede pasar por la membrana de los microorganismos heterótrofos mediante asimilación directa (partículas $< 1\text{kDa}$), o mediante la despolimerización del NOD. A continuación, el N puede ser inmovilizado en la biomasa microbiana, dependiendo de la disponibilidad de C y N, y posteriormente puede ser mineralizado, dependiendo del balance estequiométrico definido por los requerimientos nutrimentales de los microorganismos.

El NH_4^+ en la solución del suelo, además de ser asimilado por los microorganismos del suelo y por las plantas, también puede nitrificarse. La nitrificación ocurre cuando los microorganismos nitrificantes (*Nitrosomonas* y *Nitrobacter*) oxidan el NH_4^+ a nitrito y nitrato (NO_2 y NO_3^-). Estas bacterias obtienen energía de la oxidación de NH_4^+ a NO_3^- mientras usan CO_2 como fuente de carbono (Paul, 2007). Aparte de las bacterias nitrificantes, se ha demostrado la existencia de arqueas que tienen un papel importante en la nitrificación, ya que se ha reportado que representan a los organismos oxidantes de NH_4^+ más abundantes en los ecosistemas del suelo (Leininger et al., 2006). Además, Existen factores ambientales que afectan la tasa de conversión de NH_4^+ a NO_3^- , tales como la

presencia de agua que a su vez esta relacionada con la presencia de O_2 , ya que a mayor humedad del suelo la mayoría de los espacios porosos del suelo están ocupados por agua, y consecuentemente esto afecta la aireación del suelo y por lo tanto la nitrificación (Sahrawat, 2008). Así como también se sabe que la nitrificación está influenciada indirectamente por la disponibilidad de C (Strauss y Lamberti, 2000), ya que cuando la actividad de los microorganismos heterótrofos disminuye debido a que hay menos fuentes de C disponibles, hay una reducción de la actividad metabólica microbiana, activándose las bacterias nitrificantes, dando lugar a que la nitrificación sea el proceso dominante (Vitousek y Matson, 1988).

El nitrato está sujeto a la desnitrificación, proceso por el cual el N es convertido a formas gaseosas como los óxidos de nitrógeno, óxido nitroso y nitrógeno atmosférico (NO_x , N_2O y N_2), principalmente mediante los microorganismos heterótrofos, que usan NO_3^- en lugar de O_2 como aceptor final de electrones en la respiración. Para que se lleve a cabo la desnitrificación, los microorganismos desnitrificantes requieren de una baja concentración de O_2 , así como también requieren del C disponible como fuente de energía (Paul, 2007). Esta condición se presenta principalmente después de la lluvia en suelos donde sus poros se saturan de agua y existe baja difusión de O_2 . Así mismo se presenta en grupo de suelo saturados de agua, como en los humedales y arrozales, ya que la difusión de O_2 puede estar restringida la mayor parte del tiempo. También dentro de los agregados del suelo, ya que la demanda de O_2 puede ser mayor que su entrada dentro de los agregados del suelo.

4.1.2 Enzimas en el suelo

El papel de las enzimas es de gran importancia en la despolimerización de compuestos derivados de la MOS. Debido a que la actividad enzimática interviene en la adquisición de nutrientes microbianos a partir de materia orgánica, estas actividades se interpretan comúnmente como indicadores de la demanda de nutrientes microbianos (Sinsabaugh et al., 2008). La actividad enzimática es una medida de la cantidad de enzima activa presente y de su nivel de actividad. Las enzimas más estudiadas son aquellas que están involucradas en la degradación de compuestos lignocelulósicos, por ser de los compuestos más abundantes en

las plantas (Allison et al., 2007). Por ejemplo, las enzimas como la B-glucosidasa (BG) participan en la hidrólisis de la celobiosa (proveniente de la hidrólisis de la celulosa) para formar moléculas de glucosa. Las BG (EC 3.2.1.21) tienen un rango de pH y temperatura que varía de especie a especie, y coincide con la temperatura óptima de crecimiento del microorganismo que la produce. Por ejemplo, la temperatura puede variar desde los 25° hasta los 90° C (Ahmed et al., 2017). El pH también puede variar en un rango de 4.5 hasta 7.5 (Ahmed et al., 2017). Son ubicuas y las producen comúnmente en bacterias, hongos, plantas y animales. Algunos hongos del género *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* son ejemplos de hongos que producen estas enzimas, así como también algunas bacterias del género *Bacillus*. Se pueden producir intracelular como extracelularmente en diferentes organismos (Bai et al., 2013). Otras enzimas que son estudiadas son las que hidrolizan proteínas, quitina y los peptidoglicanos, los cuales son los principales reservorios de N orgánico (Caldwell, 2005). Por ejemplo, la enzima NAG (EC 3.2.1.50) juega un papel importante en la degradación de quitina y otros polímeros de glucosamina (Sinsabaugh, 2005). Además, es muy sensible a las adiciones de N en el suelo. El pH y temperatura puede ser de 5-8 y ~40 °C respectivamente, dependiendo de los microorganismos que la produzcan (Swiontek Brzezinska et al., 2013). Estas enzimas son producidas por bacterias, hongos, insectos, plantas y animales, y también pueden ser encontradas en algunos productos de la sangre humana (Gohel et al., 2006). Generalmente se aíslan de microorganismos que tienen fuerte actividad quitinolítica. *Aspergillus*, *Mucor*, and *Mortierella* son ejemplos de géneros de hongos con fuerte actividad quitinolítica mientras que *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Cytophaga*, *Pseudomonas* son ejemplos de algunos géneros de bacterias (Swiontek Brzezinska et al., 2013). La estructura de los polímeros del suelo requiere de la interacción de varios tipos de enzimas para reducirlos a monómeros disponibles para el consumo microbiano (Sinsabaugh, 2005).

4.2 Agricultura

4.2.1 Agricultura convencional

El manejo agrícola convencional se caracteriza por el uso de grandes cantidades de fertilizantes químicos, plaguicidas, labranza intensiva y uso de grandes cantidades de agua para riego, todo esto con la finalidad de mantener una alta producción agrícola. En el manejo agrícola convencional, se suele aplicar labranza, la cual implica la preparación del suelo para la siembra y es utilizada con el fin de airear el suelo, mezclarlo y quitar malezas o residuos de cosecha (Acquaah, 2002). Hay diferentes técnicas de labranza y su intensidad depende del manejo que se le dé al cultivo. En el manejo agrícola convencional utilizan maquinaria para mezclar el suelo y posteriormente, implementan la rastra que corta mediante discos al suelo que está más compactado. Además, la agricultura convencional se enfoca en la siembra de monocultivos, ya que involucra menos costos de mantenimiento y un manejo más simple, al utilizar las mismas técnicas de cultivo para la misma especie.

4.2.1.1 Efectos del manejo convencional en la dinámica del C y N

Como ya se mencionó en el apartado anterior, la agricultura convencional se basa en prácticas agrícolas que a largo plazo pueden deteriorar las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. Por ejemplo, la labranza, que es aplicada en este tipo de agricultura, puede cambiar algunas propiedades del suelo, como el volumen de los poros del suelo, la estabilidad de los agregados y el contenido de materia orgánica y, en consecuencia, la estructura del suelo (Badalíkova, 2010). Esto a su vez influye en las tasas de infiltración y el movimiento del agua y los nutrientes del suelo.

Aunado a lo anterior, el manejo agrícola se caracteriza por la disminución en las entradas de materia orgánica fresca al sistema; lo cual, disminuye las formas particuladas y, por lo tanto, la principal fuente de nutrientes orgánicos disueltos en la solución del suelo (Liu et al., 2006). Al disminuir las formas más lábiles de C, la comunidad microbiana del suelo entra en estrés por falta de C orgánico necesario para su crecimiento y obtención de energía (Wu et al., 2018). Por lo que empiezan a obtener C de compuestos más estables. El C que logran obtener es utilizado para la obtención de energía y su mantenimiento metabólico

más que para su crecimiento. Se ha observado que hay una fuerte correlación positiva entre la biomasa microbiana y el contenido de COD (Wang et al., 2005). esto quiere decir que la biomasa microbiana puede ser un almacén importante de C y de nutrientes, y está altamente correlacionada con el contenido de MOS. Consecuentemente, existe una relación entre la fertilidad biológica del suelo y la biomasa microbiana (Yao et al., 2000). Una menor biomasa microbiana puede indicar baja fertilidad en el suelo (Kushwaha et al., 2000). Además de la disminución de la biomasa microbiana, se ha encontrado que la actividad enzimática cambia con las diferentes prácticas agrícolas, por lo que también resulta ser un importante indicador de la fertilidad del suelo (Tian et al., 2010). Generalmente, se sabe que las prácticas agrícolas que minimizan la adición de residuos orgánicos al suelo pueden reducir la actividad enzimática de enzimas tales como la BG y NAG. Sin embargo, esto depende de la complejidad de las moléculas de C que hay en el suelo. Se ha registrado que, en suelos degradados, la mayor parte del COS mineralizado deriva de las moléculas de C recalcitrante (Zhang et al., 2018). No obstante, la descomposición de moléculas recalcitrantes de C requiere más pasos enzimáticos, así como mayor variedad de enzimas y por lo tanto, mayor gasto energético (Zhang et al., 2018).

Consecuentemente, las transformaciones del N, al estar fuertemente ligadas con la disponibilidad del C, se ven afectadas por la disminución de la entrada de materia orgánica fresca al sistema, debido a las implicaciones del manejo agrícola convencional, que no contempla la adición de materia orgánica al suelo. Si no hay suficiente fuente de energía para los microorganismos, así como NOD para incorporar dentro de su metabolismo, los microorganismos entran en estrés y su eficiencia metabólica disminuye (Mooshammer et al., 2014).

Así mismo, se sabe que las grandes cantidades de fertilizante nitrogenado a largo plazo, así como la labranza en parcelas con manejo agrícola convencional, modifica las transformaciones del N. Las necesidades de N por el cultivo pueden variar ampliamente, en función de la especie del cultivo y de las condiciones de crecimiento del mismo. Sin embargo, el N que se introduce al sistema es menor del que se extrae, debido a las cantidades removidas de N que se pierden con la extracción de las plantas del cultivo,

durante la cosecha y la labranza. Las cantidades de N removido varían en función del cultivo. Por ejemplo, Robertson (1997) evaluó la tasa de extracción de N de diferentes cultivos de alto rendimiento y reportó que en promedio se removían de 100-200 kg N ha⁻¹ durante la cosecha, y encontró valores hasta 50% más altos cuando la parte aérea entera de la planta era removida. Al no reabastecerse completamente el N de fuentes de los residuos vegetales entrantes al sistema, se tiene una deficiencia de N en la medida que no se pueda proporcionar N mineralizado a partir de la MOS.

Consecuentemente, el N podría ser el elemento limitante en las parcelas con manejo agrícola, por lo que se agregan cantidades excesivas de fertilizante nitrogenado, promoviendo la nitrificación, ya que cuando hay menos disponibilidad de C lábil, la actividad microbiana heterótrofa disminuye, por lo tanto, el NH₄⁺ que hay en el suelo, como resultado de la fertilización, es oxidado por los quimioautótrofos, para la obtención de energía, y como consecuencia la nitrificación es el proceso dominante. Por ejemplo, Doran (1980) evaluó dos diferentes manejos agrícolas, un manejo convencional con labranza y un manejo agrícola sin labranza, y registró que en el manejo sin labranza había una disminución de los microorganismos oxidantes de NH₄⁺. Así mismo, evaluó las tasas de nitrificación y detectó que en el manejo convencional con labranza la nitrificación fue significativamente mayor.

La modificación de los procesos relacionados con las transformaciones de N mediante el manejo agrícola convencional trae consigo un cambio en las formas inorgánicas presentes en el suelo, que pueden incrementar el riesgo de la lixiviación y, por lo tanto, las pérdidas de N. Adicionalmente, en el manejo convencional hay una tendencia a la acidificación del suelo, ya que se suele favorecer la nitrificación. A medida que el NH₄⁺, que entra al suelo mediante los fertilizantes, se nitrifica se incrementa la acidez al oxidarse el NH₄⁺, lo cual ocurre mediante la liberación de iones H⁺ que vuelven ácida a la solución del suelo (Chien et al., 2008).

4.2.2 Agricultura integrada

Este tipo de producción nace en los países desarrollados, principalmente en Europa, debido al uso indiscriminado de pesticidas y al exceso de fertilización, especialmente nitrogenada. Este último aspecto ya fue reglamentado por los parlamentos de varios países de Europa (Martín, 2003). La agricultura integrada puede definirse como el uso apropiado y restringido de productos químicos agrícolas y fertilizantes que se logra mediante la integración de métodos de cultivo biológico y químico que tiene como resultado la reducción en los costos de los fertilizantes químicos (Morris y Winter, 1999). Cabe destacar que en nuestro país aún no existe una reglamentación ni una normativa concreta respecto al contenido máximo de nitrógeno en suelos de cultivos.

La agricultura integrada pretende hacer eficiente el uso de nutrientes, mediante el balance entre la demanda de nutrientes de los cultivos y el suministro de nutrientes a lo largo de la temporada de crecimiento del cultivo (Matson et al., 1998; Cassman et al., 2002; Cui et al., 20018). Esto requiere del conocimiento de las concentraciones de nutrientes, en las diferentes etapas de crecimiento, para lograr la sincronización de la absorción de nutrientes por parte del cultivo y el suministro de nutrientes aplicados (Zhang et al., 2011). Además, en este sistema, la entrada de residuos orgánicos es más común que en el sistema convencional, ya que se adopta el sistema de labranza de la conservación o labranza cero. La labranza de la conservación consiste en una técnica en la que no se aplica el arado y en la cual se dejan los restos de los cultivos en el suelo después de la cosecha, en vez de ararlos o quemarlos. Esto depende del tipo de cosecha, ya que cuando hacen una cosecha completa donde no se incorpora de nuevo al suelo la biomasa de los residuos aéreos, pero queda la biomasa radical, por lo que la matriz del suelo se altera en menor cantidad que cuando se hace la cosecha completa y la labranza, ya que la biomasa radical, después de su descomposición, es otra fuente de materia orgánica fresca que se incorpora al suelo. Posteriormente se procede a hacer la siembra de manera directa con una perturbación mínima mediante una sembradora de precisión.

4.2.2.1 Efectos del manejo agrícola integrado en la dinámica del C y N

La aplicación del manejo integrado provee una alternativa para desarrollar una agricultura que tenga alta productividad y un uso eficiente del N, sin ningún incremento en la aplicación de fertilizante (Zhang et al., 2011). Se ha documentado que el contenido de materia orgánica en este tipo de sistemas aumenta, debido al incremento de la incorporación de los residuos de cosecha en parcelas que adoptan la labranza de la conservación o labranza cero (Huang y Sun, 2006). También se han hecho investigaciones donde se desarrollaron sistemas de manejo de cultivos y suelos que mantenían los rendimientos y la calidad del grano, al mismo tiempo que reducían en gran medida los insumos de fertilizante nitrogenado y, en mayor medida, reducían las pérdidas de N reactivo al ambiente (Matson et al., 1998, Ju et al., 2009). En un estudio realizado por Cui (2018), se encontró que la aplicación de N en los sistemas agrícolas con manejo integrado se redujo un 14%, mientras que la producción de los cultivos incrementó de un 18 a un 35%, las pérdidas de N disminuyeron un 35% y las emisiones de gases de efecto invernadero disminuyeron un 29% en comparación con las prácticas agrícolas convencionales.

A pesar de las ventajas que se le atribuyen a la agricultura integrada, hace falta información acerca del efecto de este manejo agrícola en la dinámica del C y N en el suelo, por lo que es necesario hacer más investigación para poder entender mejor los procesos biogeoquímicos en la agricultura y poder hacer una mejor toma de decisiones que afecten en menor medida al suelo.

5. Materiales y métodos

5.1 Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Municipio de Manuel Doblado, Guanajuato, México, cuyas coordenadas geográficas son 20°25'03.0"N y 101°59'50.1"O (Fig. 1). Su clima es semicálido subhúmedo con lluvias en verano, con temperaturas promedio entre 16-20°C y una precipitación anual entre 700-900 mm (INEGI, 2009). El grupo del suelo dominante es Vertisol, el cual ocupa el 71.3% de los suelos que conforman el municipio y el tipo de vegetación dominante es el Pastizal (INEGI, 2009). El municipio de Manuel Doblado se caracteriza por tener una alta producción agrícola a nivel nacional, el 57% del uso de suelo está destinado a la producción agrícola, del cual el 53% corresponde a la agricultura convencional continua, el 20% es para la agricultura manual estacional, el 15% para la agricultura con tracción animal estacional y el 11% no es apta para la agricultura (INEGI, 2009). Manuel Doblado cuenta con una superficie sembrada de cultivos de 18, 363 ha (SIAP, 2015). Los cultivos que dominan en el municipio de Manuel Doblado son maíz, sorgo y trigo (INEGI, VII Censo Agrícola-Ganadero, 1991).

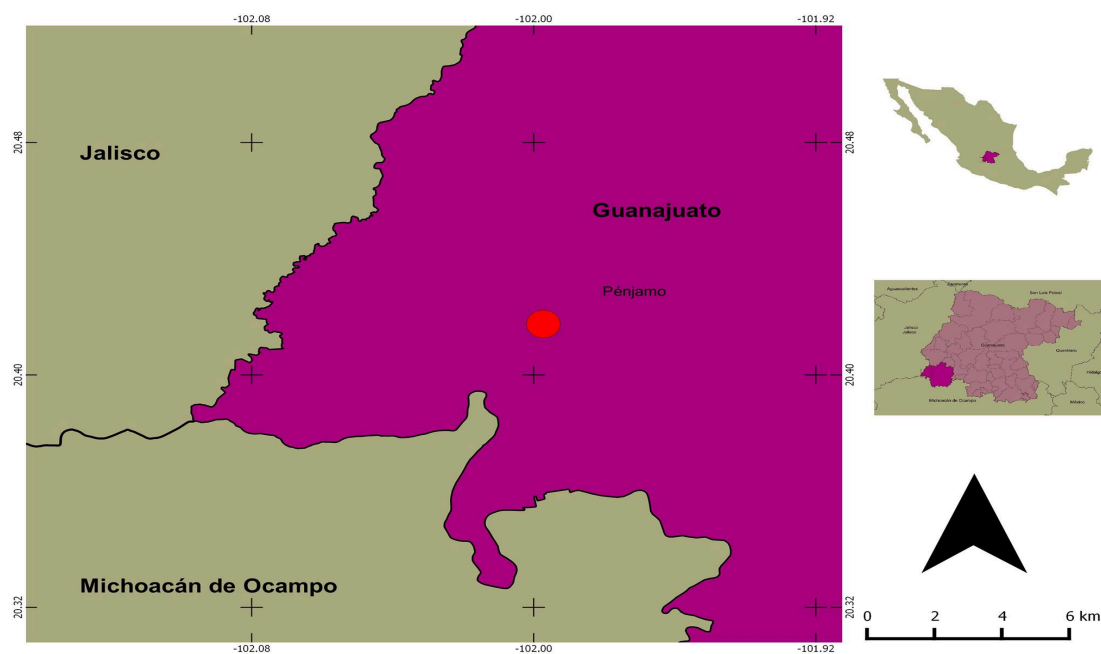


Figura 1. Ubicación de Manuel Doblado, Guanajuato, México. El círculo rojo representa el área de muestreo donde se colectaron las muestras de suelo de la parcela abandonada, la parcela con manejo agrícola convencional y la parcela con manejo agrícola integrado.

5.2 Diseño de muestreo

Se escogieron tres parcelas con diferente manejo agrícola: i) una parcela con producción de maíz (*Zea mays* L. variedad Pioneer) con manejo convencional continuo, con fertilización inorgánica en donde se utilizan fertilizantes como sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, nitrato de amonio (NH_4NO_3) y cloruro de potasio (KCl); ii) una parcela con producción de maíz (*Zea mays* L. variedad Pioneer) con manejo agrícola integrado, la cual anteriormente aplicaban manejo convencional intensivo y cultivaban maíz. En la parcela con manejo integrado, se aplican hongos (micorrizas) y bacterias (*Azospirillum*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Azotobacter*), entre otros; así como algunos fertilizantes sintéticos como $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 y KCl. iii) una parcela con abandono de aproximadamente 3 años, donde anteriormente también aplicaban el mismo manejo convencional intensivo que en la parcela con manejo integrado, pero actualmente está cubierta por pastos.

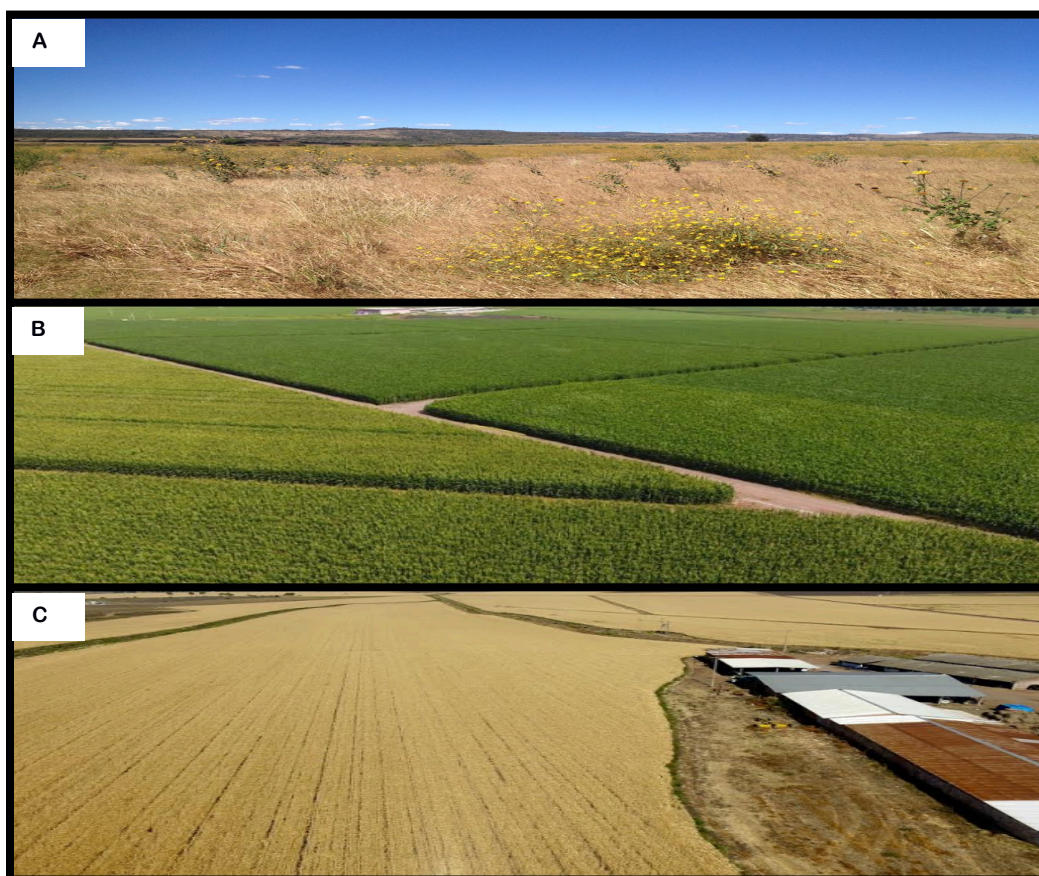


Figura 2. Parcelas muestreadas ubicadas en Manuel doblado, Guanajuato, México. (A) Parcela abandonada, (B) parcela agrícola con manejo integrado, (C) parcela agrícola con manejo convencional intensivo. Fotografía: Valdespino, 2018.

Para realizar el muestreo, en cada una de las parcelas se trazaron cuadros de 90 m × 90 m (8,100 m²). El muestreo consistió en un diseño aleatorio sistemático estratificado, donde se dividió cada parcela en seis partes iguales de 15 m y dentro de cada área se escogió al azar el transecto sobre el cual se colectaron sistemáticamente seis submuestras cada 15 m (Fig. 3). Las muestras de suelo fueron obtenidas de los primeros 15 cm de profundidad con un de 5 cm de diámetro y se mezclaron para tener una muestra compuesta por transecto, por lo cual se tuvieron seis muestras por parcela. Para las muestras vegetales, se colectó aleatoriamente un individuo de maíz, tanto la parte aérea, como radical, es decir, se obtuvieron seis individuos de maíz en cada una de las parcelas agrícolas. En el caso de la parcela abandonada, para la biomasa aérea y radical se obtuvo una muestra compuesta de pastos por punto muestreado en cada transecto. En total se obtuvieron seis muestras compuestas de pasto (aérea y radical). Debido a que la raíz del pasto era pequeña, al final se obtuvo una submuestra compuesta para los análisis biogeoquímicos. Las muestras de suelo se almacenaron en bolsas negras herméticas y se refrigeraron a una temperatura de 4°C para posteriormente realizar los análisis de laboratorio. Mientras que las muestras vegetales se almacenaron en bolsas negras a temperatura ambiente.

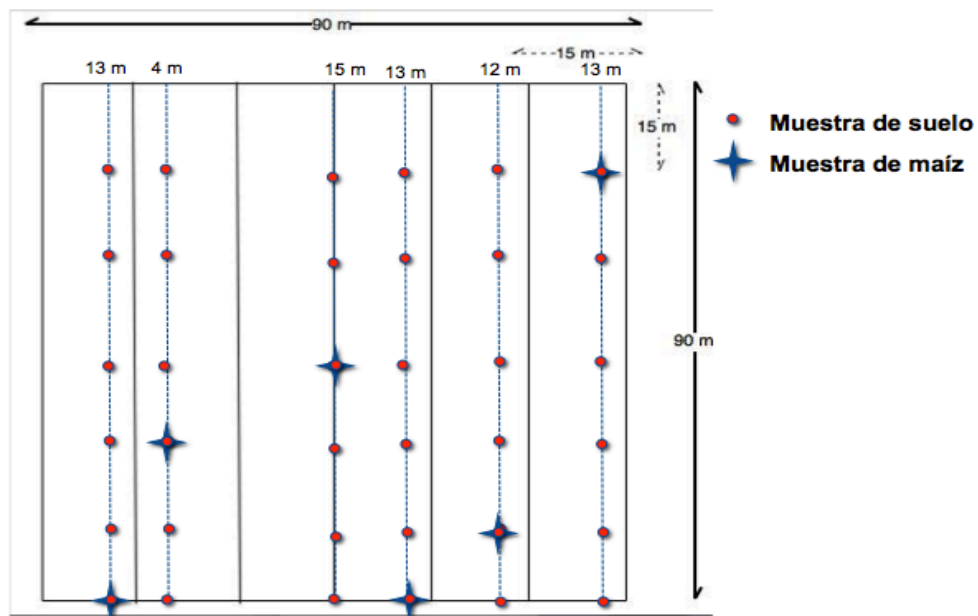


Figura 3. Representación del diseño de muestreo aleatorio sistemático realizado en las tres parcelas muestreadas en Manuel Doblado: Parcela abandonada, parcela agrícola con manejo convencional y parcela agrícola con manejo integrado.

Cuadro 1. Cuadro comparativo de las dos parcelas muestreadas con diferentes manejos agrícolas: convencional intensivo e integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México.

	Parcela Convencional	Manejo Integral
Uso de maquinaria	Tractores, rastra	Se usa maquinaria únicamente para siembra y fertilización hasta que es imposible por el tamaño de la planta. Posteriormente se utiliza una avioneta o un dron para fertilizar.
Preparación de suelo	Técnica de rastreo utilizan 2 o tres rastreos previos a la cosecha.	Labranza de conservación: Aplican labranza de la conservación, donde solo utilizan los residuos vegetales de lo que siembran como MO y aplican la microbiología para que los residuos vegetales se descompongan rápidamente.
Tipo de siembra	Maíz y trigo	Maíz
Tipo de fertilizante y dosificación (Siembra)	Nitrato de amonio (NH_4NO_3): 500 -550 kg/ha, Sulfato de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$): 500-600 kg/ha	Fosfato diamónico ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$): 50 kg/ha Sulfato de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$): 100 kg/ha Cloruro de potasio (KCl):150 kg/ha

	Micronutrientes: 400-500 kg/ha	Calcio (Ca): 42 kg/ha Magnesio (Mg): 42 kg/ha Azufre (S): 68 kg/ha
Tipo de fertilizante y dosificación (2da fertilización)	Urea (CH ₄ N ₂ O): 450-500 kg/ha Fosfato diamónico ((NH ₄) ₂ HPO ₄): 100-150 kg/ha	Urea (CH ₄ N ₂ O): 200 kg/ha Sulfato de amonio ((NH ₄) ₂ SO ₄): 200 kg/ha Fosfato diamónico ((NH ₄) ₂ HPO ₄): 50 kg/ha
Herbicidas	Aplicación de Herbicida Everest (Para el control de avena silvestre y alpistillo)	No se aplican herbicidas
Plaguicidas	Aplicación de polvo cipermetrina (Para el control de pulgón). Solo cuando aparecen los síntomas, no se realizan monitoreos ni técnicas preventivas para manejo de plagas y enfermedades.	Aplicación de controles biológicos (extractos vegetales, trampeos, microbiología entomopatogena) y resistencia vegetal (ácidos orgánicos) para reducir el riesgo de plagas y enfermedades.
Tiempo de manejo	aproximadamente 40 años continuos	Metodología de manejo integrado 2 años
Otros		
Quema de restrojo	Si	No
Aplicación de enmiendas	No	Lixiviados de lombriz

Rendimiento por ciclo	Maíz: 9 ½ ton/ha Trigo: 6 ton/ha	Maíz :14 ton/ha
Tipo de riego	Riego de emergencia: cuando hay abastecimiento de agua en forma intermitente y que no se encuentra debidamente cuantificada	Temporal con riego auxiliar: cuando se retrasan las lluvias se aplica riego para evitar el estrés

5.3 Análisis de laboratorio

Previo a los análisis del laboratorio, las muestras vegetales se secaron en un horno a 80° C por 78 h y posteriormente se molieron por separado la parte radical, la parte aérea (tallos y hojas) y el fruto (grano y olote). Mientras que las muestras de suelo fresco se tamizaron en una malla No. 10 (apertura de 2.0 mm). Los análisis de laboratorio consistieron en análisis biogeoquímicos y enzimáticos del suelo, así como en la medición de la concentración de nutrientes totales del maíz y del pasto en el caso de la parcela abandonada. Los análisis biogeoquímicos se realizaron en el laboratorio de Biogeoquímica de Suelos del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, UNAM. Los análisis enzimáticos se realizaron en el laboratorio de Microbiómica de la ENES Unidad Morelia, UNAM.

5.3.1. Humedad y pH del suelo

Se determinó el porcentaje de humedad del suelo mediante el método gravimétrico, el cual consistió en pesar 10 g de suelo fresco de cada muestra. Posteriormente, las muestras se secaron en un horno a 80 °C, por 48 h. El pH del suelo se midió mediante una solución con una relación suelo: agua desionizada 1:10 (p/v) y se determinó con un potenciómetro digital (Thermo Scientific, modelo Orion 3star Plus) previamente calibrado.

5.3.2. Nutrientes en el suelo

A las muestras de suelo se les determinaron la concentración de diferentes formas de carbono (C) y nitrógeno (N). Todas las formas de carbono determinaron en un Analizador de Carbono Total (UIC Mod. CM5012; Chicago, E.U.A.), mientras que las formas de N se determinaron por colorimetría usando un Auto - Analizador (Bran-Lubbe, modelo AA3; Norderstedt, Alemania).

5.3.3. Nutrientes totales

Las submuestras de suelo y de material vegetal, se secaron en un horno a 80 ° C por 24 h. Posteriormente las muestras de suelo se molieron en un mortero de ágata, mientras que las muestras de maíz se molieron con un molino (Thomas Scientific Willey). A continuación, se determinó el carbono total (CT) por evolución de CO₂ mediante combustión a 950°C y detección coulométrica (Huffman, 1977). El carbono inorgánico total (CiT) se determinó a través de la liberación de CO₂ de las formas inorgánicas de C (bicarbonatos y carbonatos) en un módulo de acidificación CM5130 con H₂SO₄ 2N. La cuantificación de nitrógeno total (NT), se realizó con el método de macro-Kjeldahl, después de una digestión ácida y se midió por colorimetría (Bremmer, 1996).

5.3.3. Nutrientes disponibles

Para la extracción de las formas inorgánicas disponibles de N (NH₄⁺ y NO₃⁻) se usaron 10 g de suelo fresco y se hizo una extracción con 50 ml de KCl 2N; posteriormente, los extractos se filtraron en papel filtro Whatman No. 1. La determinación se hizo mediante el método colorimétrico del hipoclorito – fenol (Robertson et al., 1999) y fue cuantificado por colorimetría.

5.3.4. Nutrientes disueltos

Para la extracción de los nutrientes disueltos, se pesaron 20 g de cada muestra de suelo

fresco, se adicionaron 80 ml de agua desionizada y se agitaron por 45 min. Después las muestras se filtraron a través del papel filtro Whatman No. 42 y posteriormente se filtraron a vacío con membranas de millipore de 0.45 μm (Jones y Willett, 2006).

Del extracto obtenido se determinó el carbono inorgánico disuelto (CID) y el carbono total disuelto (CTD). El CID se cuantificó en el módulo de acidificación CM5130 con H_2SO_4 2N, mientras que el CTD fue determinado por el módulo para líquidos (UIC-COULOMETRICS) por coulometría (Huffman, 1977). Para el N total disuelto (NTD), el extracto fue digerido en H_2SO_4 y H_2O_2 , posteriormente se neutralizó y filtró con el papel filtro Whatman No. 1. Finalmente, se leyó como NH_4^+ en el autoanalizador. El carbono orgánico disuelto (COD) y el nitrógeno orgánico disuelto (NOD) se calcularon mediante la diferencia entre las formas disueltas totales y las inorgánicas (Ci para COD y NH_4^+ disuelto para el NOD, respectivamente).

5.3.5. C y N microbiano

La concentración de C y N en la biomasa microbiana del suelo se determinaron por el método de extracción-fumigación con cloroformo (Vance et al., 1987). Para este método se pesaron 20 g de suelo fresco por duplicado, de las cuales una submuestra fue fumigada con 80 ml de cloroformo, dentro de un desecador con un sistema de vacío. Posteriormente, las muestras fumigadas y las muestras sin fumigar se incubaron a 25°C durante 24 horas a humedad constante. El C microbiano fue extraído de ambas muestras (fumigadas y sin fumigar) con 80 ml de K_2SO_4 0.5 M. Las soluciones se agitaron por 30 min y se filtraron con papel filtro Whatman No. 42 (Brookes et al., 1985).

El C orgánico microbiano se determinó mediante el método coulométrico (Huffman, 1977) y se calculó restando el C extraído de las muestras no fumigadas menos el C extraído de las muestras fumigadas se corrigió por el factor de extracción $K_{\text{EC}} = 0.45$ (Joergensen et al., 1996).

Para el N microbiano se realizó el mismo procedimiento usado para C microbiano, pero el extracto se filtró a través de papel filtro Whatman No. 1. El filtrado se digirió en H_2SO_4 a $300^\circ C$. Se determinó el N total de las muestras fumigadas y sin fumigar por el método colorimétrico en un auto analizador Gran-Luebbe III (marca Gran Lubbe, modelo AA3; Nordestedl, Alemania). El N orgánico microbiano se calculó restando el N extraído de las muestras no fumigadas menos el N extraído de las muestras fumigadas y se corrigió por el factor de extracción $K_{EN} = 0.54$ (Joergensen y Mueller, 1996).

5.3.6. Análisis de Actividad enzimática

Se realizó el análisis de la actividad de las enzimas β -glucosidasa (BG) y N-acetilglucosaminidasa (NAG). La actividad enzimática la cual es una medida de la cantidad de enzima activa presente en el suelo, y se efectuó mediante mediciones colorimétricas de p-nitrofenol (pNP) liberado por gramo de suelo por unidad de tiempo, después de la extracción de las muestras de suelo incubadas con el sustrato.

Para este método, se pesó una submuestra de 2 g de suelo fresco y se le adicionaron 30 ml de Modified Universal Buffer (MUB), ajustando el pH al registrado en el suelo de cada sitio (pH= 5.5 y 7.3), y se agitó por 30 min. A continuación, se tomaron 670 μ l del homogeneizado y se colocaron en tubos eppendorf de 1.5 ml, en donde se agregaron 670 μ l de sustrato unido a p-Nitrofenol y se agitaron con un vortex. Después se pusieron en incubación con agitación a $40^\circ C$ durante 2 h para la enzima BG y $40^\circ C$ y 3 h para la enzima NAG. Todos los ensayos y controles se prepararon por triplicado. Para cada ensayo se usó un control sustrato y un control muestra. Para el control muestra se agregaron 670 μ l de homogeneizado a tubos eppendorf y 670 μ l de MUB con pH de 5.5 o 7.3 dependiendo de la muestra. Mientras que para el sustrato control se tomaron 670 μ l de sustrato y 670 μ l de MUB. Después de finalizado el tiempo de incubación, se centrifugaron las muestras a 10,000 rpm por 2 minutos. Posteriormente, se tomaron 750 μ l del sobrenadante y se adicionaron 75 μ l de NaOH 1N y 2 ml de agua, y se agitó la mezcla.

Por último, se determinó la absorbancia con un espectrofotómetro (Thermo Scientific, modelo Evolution 201) a una longitud de onda (λ) de 410 nm.

La actividad enzimática específica (AEE) se calculó mediante la actividad enzimática entre la concentración C en la biomasa microbiana, en el caso de la BG se dividió entre el C microbiano, así mismo para el caso de la NAG (Chávez-Vergara et al., 2016):

$$AEE = AE / (\text{nutriente microbiano})$$

5.3.7. Experimento con incubaciones aeróbicas de suelo

Se realizó un experimento de incubaciones de suelo en condiciones controladas, con el fin de analizar el efecto de la fertilización de formas orgánicas e inorgánicas sobre las transformaciones de N en el suelo.

El diseño experimental fue factorial balanceado, cuyos factores principales fueron parcelas agrícolas (con dos niveles: manejo convencional y manejo integrado) y tipo de fertilización (con tres niveles: control, fertilizante inorgánico aplicando NH_4NO_3 y fertilizante orgánico aplicando la planta completa de maíz molida y secada al horno). Para ello, se utilizaron 50 g de suelo fresco con cinco réplicas por tratamiento, sumando un total de 30 muestras y dos blancos sin suelo (Cuadro 2). El suelo fresco homogenizado se colocó en tubos PVC con una malla poliéster en el extremo inferior. Cada tubo se metió en un frasco de vidrio con trampas de NaOH (1N para el suelo con el fertilizante y el suelo control y 2N para el suelo con el maíz) para medir el CO_2 liberado por la actividad microbiana. Cada muestra de suelo se mantuvo a capacidad de campo con agua desionizada. A continuación, los frascos se metieron a una incubadora a 25°C durante 15 días. Para medir la marcha de CO_2 durante la incubación, se tituló la trampa de NaOH con HCl 1 N, utilizando fenolftaleína como indicador (Coleman et al., 1978). A las muestras de suelo, después del experimento de incubación, se les determinó nutrientes disponibles (NH_4^+ y NO_3^-) mediante la técnica previamente descrita. Las diferencias entre los valores antes y después de la incubación de las formas disponibles, se usaron para calcular la mineralización neta de N y la nitrificación

neta.

Para calcular la amonificación neta, la nitrificación neta y la tasa neta de mineralización de N se usaron las diferencias entre los valores antes y después de las incubaciones como se muestra en las siguientes ecuaciones:

Amonificación neta

$$NH_{4después} - NH_{4antes}$$

Nitrificación neta

$$NO_{3después} - NO_{3antes}$$

Tasa neta de mineralización de N

$$(Amonificación) + (Nitrificación)$$

Cuadro 2. Diseño del experimento de incubaciones del suelo de tres parcelas agrícolas ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México: parcela abandonada, parcela con manejo agrícola convencional y parcela con manejo integrado.

		Parcelas		
		Integrado (I)	Convencional (C)	Total muestras
Sustrato	Control	5	5	10
	Fertilizante (NH ₄ NO ₃)	5	5	10
	Maíz molido	5	5	10
	blanco			2
	Total de muestras			32

Ct: tratamiento control, F: tratamiento con NH₄NO₃, M: tratamiento con la planta de maíz molida, I: Suelo de la parcela con manejo integrado, C: suelo de la parcela con manejo convencional.

5.4 Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos de los valores biogeoquímicos de las muestras provenientes del campo se realizaron en el programa estadístico JMP. Para los resultados de la biogeoquímica del suelo, se realizó un ANOVA de una vía con un nivel de significancia de 0.05. Se analizó que se cumplieran los supuestos de este modelo (distribución normal y homogeneidad de varianza). De igual forma, se hicieron los análisis estadísticos para la concentración y los contenidos de C y N en la biomasa aérea y radical. Si las diferencias fueron significativas, se compararon las medias utilizando la prueba de Tukey. Así mismo, se realizó una correlación de Pearson para analizar las relaciones entre las variables del suelo. Además, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para evaluar si el manejo agrícola explicó la varianza que hay en las formas más dinámicas de los nutrientes del suelo. El ACP se realizó doble centrado y estandarizado en el programa Statistica 7 software. Para analizar si los valores del primer componente fueron diferentes entre las parcelas, se realizó un ANOVA y posteriormente se compararon las medias con la prueba de Tukey. Por su parte, los resultados de la concentración de nutrientes en la parte aérea, en los granos y el olote del maíz, se realizó con una prueba t-Student. También se realizaron regresiones lineales de N del suelo (NH_4^+ , NO_3^- , $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ y N_{mic}) y N de la biomasa vegetal, con el objetivo de ver cómo las diferentes formas de N del suelo influyen sobre las formas de N en la biomasa vegetal. En todos los casos el nivel de significativa fue $p < 0.05$. Los datos del experimento de incubación se analizaron con un ANOVA factorial de dos vías, para evaluar el efecto de la aplicación de formas orgánicas e inorgánicas en el suelo, así como para analizar si el manejo tenía un efecto significativo sobre la mineralización del suelo. Posteriormente se realizó una comparación de medias con la prueba Tukey. Además, se realizaron correlaciones de Pearson entre las variables evaluadas para cada uno de los tratamientos.

6. Resultados

6.1. Fase I: Dinámica del C y N en el suelo

La parcela abandonada y la parcela con manejo integrado, presentaron mayores concentraciones de CT y NT en el suelo que la parcela convencional con fertilización inorgánica intensiva ($p < 0.001$; Cuadro 3), pero el cociente C/N no mostró diferencia estadística significativa entre las tres parcelas. La concentración de nutrientes orgánicos disueltos de C y N (COD y NOD) fueron mayores en la parcela abandonada que en las dos parcelas cultivadas ($p < 0.01$; Cuadro 3). En contraste, la concentración de NH_4^+ no presentó diferencias estadísticas entre las parcelas, mientras que la concentración de NO_3^- en la parcela convencional con fertilización inorgánica intensiva fue al menos dos veces mayor que en las otras dos parcelas ($p = 0.002$; Cuadro 3). La parcela abandonada presentó un cociente $\text{NH}_4:\text{NO}_3$ mayor que las otras dos parcelas, lo cual sugiere que hay mayor concentración NH_4^+ que NO_3^- en el suelo ($p = 0.002$; Cuadro 3).

La parcela abandonada presentó mayores concentraciones de C_{mic} y N_{mic} que las dos parcelas agrícolas ($p = 0.005$), pero no hubo diferencias en el cociente $C_{\text{mic}}:N_{\text{mic}}$ entre las tres parcelas ($p = 0.55$; Cuadro 3). Sin embargo, la parcela con manejo convencional presentó mayor actividad enzimática de BG que las otras dos parcelas ($p = 0.02$), pero no hubo diferencia de la actividad de la NAG entre las tres parcelas ($p = 0.19$; Cuadro 3). Cuando se estandarizó la actividad enzimática entre el nutriente correspondiente en la biomasa microbiana (actividad específica), la parcela con manejo intensivo presentó otra vez la mayor actividad específica para ambas enzimas (BG y NAG; Cuadro 3).

Cuadro 3. Medias (y error estándar) de las concentraciones del C y N total, disueltos, disponibles, microbianos y actividad enzimática en el suelo de las tres parcelas agrícolas estudiadas, ubicados en Manuel doblado, Guanajuato, México. A: parcela abandonada, I: parcela con manejo integrado y C: parcela con manejo convencional intensivo. Se presentan los valores de F y P del ANOVA de una vía.

		Parcelas			F	P
		A	I	C		
Totales (mg/g)	CT	25 (1.3) ^a	24 (0.6) ^a	17 (1.1) ^b	17.9	0.0001
	NT	1.7 (0.05) ^a	1.6 (0.03) ^a	1.4 (0.09) ^b	8.5	0.003
	C:N	14 (0.6)	15 (0.4)	13 (1.3)	2.0	0.17
Disueltos (µg/g)	COD	121 (18) ^a	42 (8) ^b	27 (10) ^b	14.5	0.0003
	NOD	10 (1.2) ^a	6 (1.3) ^b	5 (0.8) ^b	6.4	0.009
Disponibles (µg/g)	NH ₄ ⁺	3.3 (0.9)	1.0 (0.1)	5.9 (3.2)	1.6	0.23
	NO ₃ ⁻	1.5 (0.2) ^c	6.6 (1.6) ^b	12.0 (1.6) ^a	15.7	0.0002
	NH ₄ ⁺ /NO ₃ ⁻	2.9 (1.14) ^a	0.18 (0.03) ^b	0.47 (0.20) ^b	4.9	0.002
Microbianos (µg/g)	C _{mic}	554 (102) ^a	345 (65) ^{ab}	159 (18) ^b	<0.1	0.005
	N _{mic}	35 (5) ^a	15 (1) ^b	15 (4) ^b	8.2	0.004
	C _{mic} :N _{mic}	17 (3)	23 (6)	17 (5)	0.6	0.55
Enzimas (µmolpNP/g*h)	BG	0.02 (0.004) ^b	0.02 (0.002) ^{ab}	0.04 (0.007) ^a	4.9	0.02
	NAG	0.01 (0.004)	0.01 (0.001)	0.017 (0.005)	1.8	0.19
Actividad específica (µmol·pNP/mg·C _{mic} *h)	BG/C _{mic}	0.04 (0.007) ^b	0.08 (0.024) ^b	0.29 (0.069) ^a	10.1	0.001
	NAG/C _{mic}	0.31 (0.3) ^b	0.61 (0.6) ^b	1.83 (0.018) ^a	5.4	0.001

Letras distintas indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) Tukey; $n=6$. CT: carbono total, NT: nitrógeno total, COD: carbono orgánico disuelto, NOD: nitrógeno orgánico disuelto, C_{mic}: carbono microbiano, N_{mic}: nitrógeno microbiano, BG: β-glucosidasa, N-acetilglucosamina NAG.

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de los análisis de correlación de las diferentes formas de C y N en el suelo. El COD correlacionó negativamente con el NO₃⁻ y positivamente con el N_{mic}; mientras que el NOD correlacionó positivamente con el C_{mic}. En contraste, el NO₃⁻ correlacionó negativamente con el C_{mic} y N_{mic}. Por otro lado, la enzima BG correlacionó positivamente con la enzima NAG.

Cuadro 4. Coeficientes de correlación de Pearson entre las siguientes variables: C y N disponible, disueltos, biomasa microbiana y actividad enzimática del suelo de tres parcelas analizadas: Parcela abandonada, parcela con manejo agrícola convencional y parcela con manejo agrícola integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México.

	COD	NOD	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	C _{mic}	N _{mic}	BG	NAG
COD	1	0.45	-0.16	-0.73	0.43	0.5	-0.34	0.04
NOD		1	0.09	-0.33	0.57	0.42	-0.11	-0.09
NH ₄ ⁺			1	0.33	-0.19	0.32	0.4	0.12
NO ₃ ⁻				1	-0.54	-0.47	0.45	0.17
C _{mic}					1	0.35	-0.26	-0.19
N _{mic}						1	-0.3	-0.31
BG							1	0.53
NAG								1

Coeficientes en negrita indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). $n=18$

6.1.1. Análisis de componentes principales

En el cuadro 5 se muestra el análisis de componentes principales, entre el primero y segundo componentes explicaron el 41% y el 19% de la varianza, respectivamente. Las variables que explicaron al primer componente fueron el COD y el NO₃⁻ (-0.78 y 0.84, respectivamente; cuadro 5), mientras que para el segundo componente fue el NH₄⁺ (-0.79, Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de la varianza explicada por los dos primeros componentes (Eigenvalor) y el peso de las variables analizadas, en dichos componentes, de las muestras provenientes de las tres parcelas estudiadas: Parcela Parcela abandonada, parcela con manejo agrícola convencional y parcela con manejo agrícola integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México.

Variable	CP1	CP2
Eigenvalor	3.28	1.55
Porcentaje (%)	40.95	19.32
Variables por componente		
COD	-0.78	-0.17
NOD	-0.62	-0.46
NH ₄ ⁺	0.25	-0.79
NO ₃ ⁻	0.84	-0.09
C _{mic}	-0.73	-0.10
N _{mic}	-0.67	-0.42
β-GLUCOSIDASA	0.62	-0.57
NAG	0.38	-0.41

Valores en negrita representan las variables que explican cada componente

La figura 4, muestra la ordenación de las muestras de suelo de las tres parcelas analizadas (parcela abandonada, parcela con manejo integrado y parcela con manejo convencional) en los primeros dos componentes. El ANOVA de una vía del primer componente entre parcelas fue significativamente diferente ($F= 37.99$ y $p<0.001$), generando un arreglo con la parcela abandonada y la parcela convencional con fertilización inorgánica en los extremos y en medio la parcela con manejo integrado.

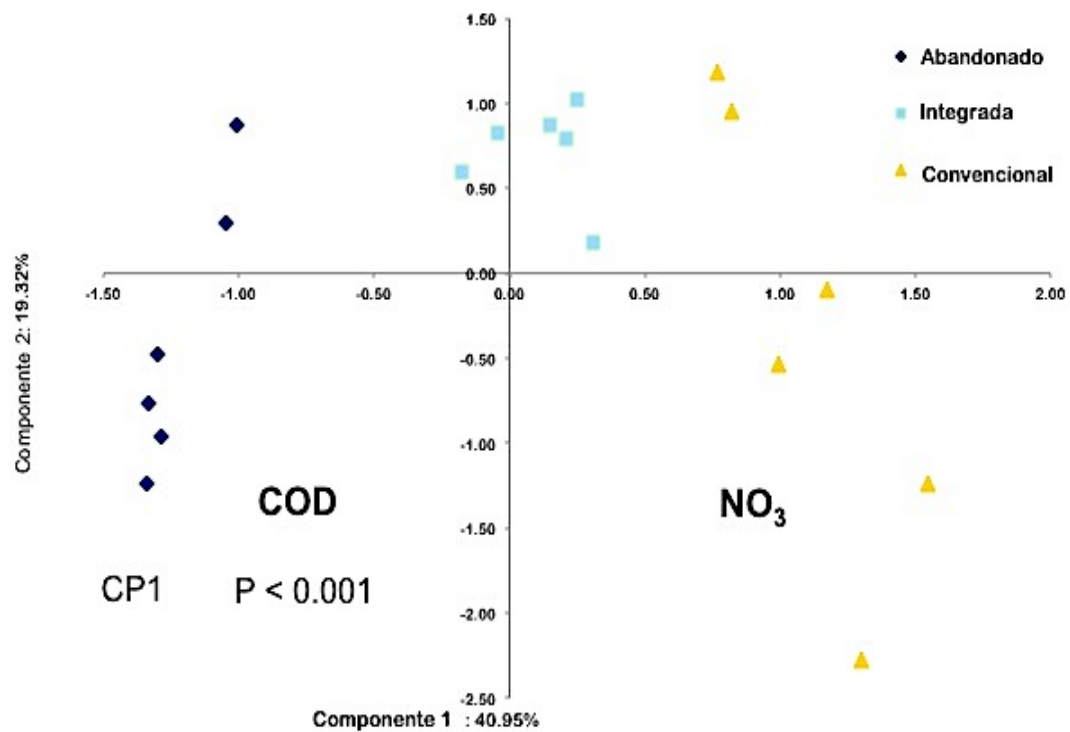


Figura 4. Ordenación de las muestras de suelo provenientes de las tres parcelas agrícolas estudiadas, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. A: parcela abandonada, I: parcela con manejo agrícola integrado y C: parcela agrícola con manejo convencional.

6.1.2. Nutrientes en la biomasa vegetal

En el cuadro 6 se muestra la concentración de C y N en la biomasa vegetal en las tres parcelas muestreadas. En la biomasa aérea, el maíz de la parcela convencional presentó mayor concentración de C y N que en la biomasa aérea del pasto de la parcela abandonada ($p= 0.004$ y $p= 0.0001$, respectivamente), pero los pastos de la parcela abandonada presentaron un cociente C:N mayor que las dos parcelas agrícolas con manejo ($p= 0.02$). En contraste, en la biomasa radical no hubo diferencia significativa en la concentración de C y N, así como en su cociente (Cuadro 6).

La concentración de C en el grano, no fue diferente entre las dos parcelas agrícolas, pero el grano del maíz en la parcela agrícola con manejo convencional presentó mayor concentración de nitrógeno que el grano de la parcela agrícola con manejo integrado ($p= 0.001$), por lo cual el cociente C:N fue menor en el grano del maíz de la parcela agrícola con manejo convencional ($p= 0.002$). La concentración de C y N en el olote, así como su cociente no presentó diferencia entre las dos parcelas agrícolas (Cuadro 6).

Cuadro 6. Medias y error estándar de las concentraciones de C y N totales de la parte aérea y radical del pasto y maíz, y del grano y olote del maíz de las tres parcelas agrícolas estudiadas: Parcela abandonada (A), parcela integrada (I) y parcela con manejo convencional (C), ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México.

		Parcelas			F	P
		A	I	C		
Aéreo (mg/g)	CT	367 (11) ^b	390 (5) ^{ab}	414 (5) ^a	8.2	0.004
	NT	5.1 (0.5) ^b	5.5 (0.4) ^b	8.8 (0.5) ^a	19.6	0.0001
	CT/NT	75 (5) ^a	72 (6) ^{ab}	48 (3) ^b	4.8	0.02
Radical (mg/g)	CT	336*	412 (5) ^a	398 (10) ^a	-1.2	0.26
	NT	3.1*	6.1(0.5) ^a	7.8 (0.9) ^a	1.5	0.15
	CT/NT	106*	69 (5) ^a	55 (7) ^a	-1.6	0.13
Grano (mg/g)	CT	-	406 (11) ^a	424 (4) ^a	1.6	0.14
	NT	-	6.2 (0.4) ^b	8.4 (0.3) ^a	4.3	0.001
	CT/NT	-	66 (3) ^a	51 (2) ^b	-4.2	0.002
Olote (mg/g)	CT	-	430 (5) ^a	425 (5) ^a	-0.6	0.53
	NT	-	3.8 (0.4) ^a	3.1 (0.3) ^a	-1.4	0.19
	CT/NT	-	119 (13) ^a	144 (16) ^a	1.2	0.26

Letras distintas indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) con la prueba de t-Student. CT: carbono total, NT: nitrógeno total

* muestra compuesta

6.1.3. Relación entre nutrientes en la biomasa del maíz y nutrientes disponibles del suelo

En la figura 5 se presentan las regresiones entre el nitrógeno total del maíz (concentración y contenido) en diferentes tejidos con el NO_3^- y el N_{mic} . Se observó que el NO_3^- correlacionó positivamente con la concentración de NT de la parte aérea del maíz ($p=0.0009$, $r^2=0.6$; Cuadro 7) y con el NT del grano ($p=0.002$, $r^2=0.6$; Cuadro 7). Así mismo, el NO_3^- se relacionó positivamente con el contenido de NT aéreo ($p=0.0001$, $r^2=0.59$; Cuadro 7), pero correlacionó negativamente con el N_{mic} ($p=0.049$, $r^2=0.17$; Cuadro 7). Por otro lado, el N_{mic} se relacionó negativamente con el NT radical.

Cuadro 7. Probabilidad de significancia estadística y coeficiente de correlación (r^2) de las concentraciones y contenido de N total de diferentes tejidos de maíz (parte aérea y radical, grano y olote) provenientes de las tres parcelas estudiadas: parcela abandonada, parcela con manejo convencional y parcela integrada, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México.

	Concentración			Contenidos		N _{mic}
	NT _{aéreo}	NT _{radical}	N _{grano}	NT _{aéreo}	NT _{radical}	
NH ₄ ⁺	0.24	0.52	0.37	0.46	0.78	0.19
NO ₃ ⁻	0.0009 (0.6)	0.73	0.002 (0.6)	0.0001 (0.59)	0.69	0.049 (0.17)
NH ₄ ⁺ +NO ₃ ⁻	0.002	0.55	0.04	0.007	0.7	0.66
N _{mic}	0.01	0.33	0.84	0.005	0.04 (0.29)	

Correlaciones estadísticamente significativas se representan con números en negrita y los valores en paréntesis indican el valor del coeficiente de correlación.

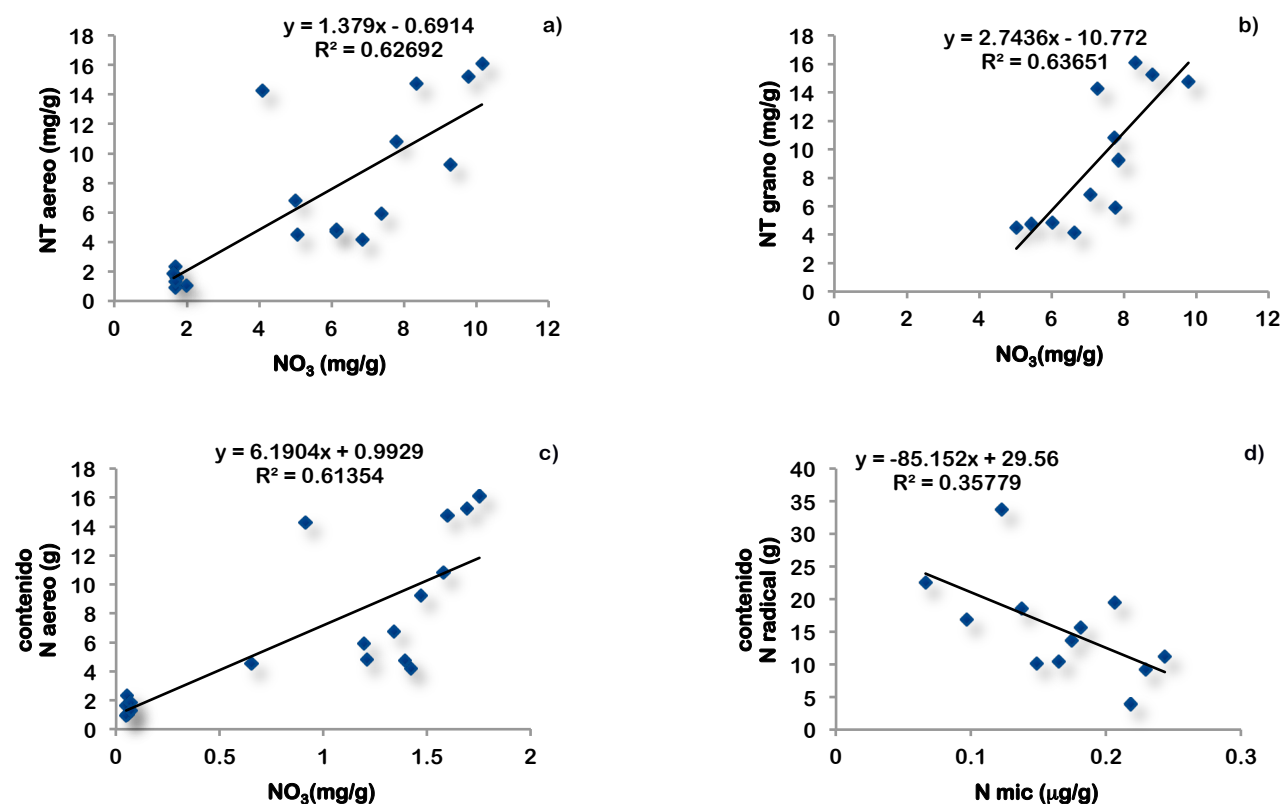


Figura 5. Regresiones entre el N total del maíz en diferentes tejidos (parte aérea y radical, grano y olote) y el NO₃ y el N_{mic} del suelo de tres parcelas con diferente manejo agrícola: Parcela abandonada, parcela con manejo convencional y parcela integrada ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. a) Nitrógeno total aéreo y nitrato, p=0.0009, b) nitrógeno total del grano y nitrato, p= 0.002, c) contenido de nitrógeno aéreo y nitrato, p=0.0001, d) contenido de nitrógeno radical y nitrógeno microbiano, p=0.05

De los resultados anteriores, se puede concluir que, la parcela abandonada es el sitio menos perturbado, ya que presenta mayor concentración de C y N total, así como mayor concentración de nutrientes orgánicos (COD y NOD) y mayor concentración de NH_4^+ . Mientras que en el sistema convencional, la nitrificación se ve favorecida, ya que hay menor entrada de COD, por lo tanto la probabilidad de pérdida de N del suelo es mayor.

6.2. Fase II: Experimento de Incubación

La interacción entre los tratamientos y el tipo de manejo (parcelas) fue significativa en la tasa potencial de mineralización de C, después de 15 días de incubación (Cuadro 8). En la Figura 6 se presenta la tasa potencial de mineralización de C. El tratamiento con incorporación de maíz molido presentó valores mayores que el control y que el tratamiento con fertilización, independientemente del manejo. Por otro lado, el suelo de la parcela con manejo convencional presentó mayor tasa de mineralización que el suelo de la parcela con manejo integrado, mientras que en el tratamiento con fertilización inorgánica, la parcela con manejo convencional presentó menor mineralización de C que la parcela con manejo integrado (Fig. 6). Así mismo, la concentración de amonio después de la incubación también fue afectada por la interacción entre los dos factores del experimento (Cuadro 8). El tratamiento con fertilización inorgánica presentó mayores concentraciones independiente del manejo, mientras que, dentro de ese mismo tratamiento, el manejo integrado tuvo mayores concentraciones de amonio que el manejo convencional (Fig. 7a). En contraste, en las concentraciones de nitrato el tipo manejo agrícola no tuvo efecto significativo en los tratamientos, solo fue afectado por el tipo de fertilizante aplicado en el experimento independientemente del manejo, siendo mayor el nitrato en el tratamiento con fertilización inorgánica y menor en el tratamiento con adición de maíz molido (Fig. 7b).

Las tasas de transformación de nitrógeno respondieron a diferentes factores. La interacción entre los factores del experimento fue significativa en la tasa neta de amonificación, mientras que el tratamiento fue significativo en la tasa neta de nitrificación y la tasa neta de mineralización de nitrógeno (Cuadro 8). La tasa de amonificación fue mayor en el tratamiento de fertilización inorgánica, mientras que en este tratamiento la parcela con manejo integrado tuvo mayor amonificación que la parcela con manejo convencional (Fig.

7c). En contraste, la nitrificación y la tasa neta de mineralización fueron mayores en el tratamiento de fertilización inorgánica, independientemente de la parcela (Fig. 7d y 7e)

Cuadro 8. Análisis de Varianza Factorial del experimento de incubación del suelo de la parcela con manejo convencional y la parcela con manejo integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. Se presentan los valores de F y P entre paréntesis. Así mismo, se presenta este análisis factorial sin el tratamiento de fertilización inorgánica. a Tasa potencial de mineralización de CO₂-C, b Amonio, c Nitrito, d Tasa neta de mineralización de nitrógeno.

	Parcela	Tratamiento	Interacción
CO₂^a	161(<0.0001)	334 (<0.0001)	193 (<0.0001)
NH₄^{+b}	3 (0.08)	97 (<0.0001)	3 (0.05)
NO₃^{-c}	0.98 (0.33)	122 (<0.0001)	1.2 (0.33)
Amonificación	3.5 (0.07)	97 (<0.0001)	3.3 (0.05)
Nitrificación	1.1 (0.3)	122 (<0.0001)	1.2 (0.32)
TNMN^d	2.5 (0.12)	108 (<0.0001)	2.4 (0.11)
Sin el Tratamiento de Fertilización Inorgánica			
Nitrificación	0.7 (0.4)	354 (<0000.1)	1.2 (0.3)
TNMN	4.5 (0.04)	129 (<0.0001)	1.1 (0.31)

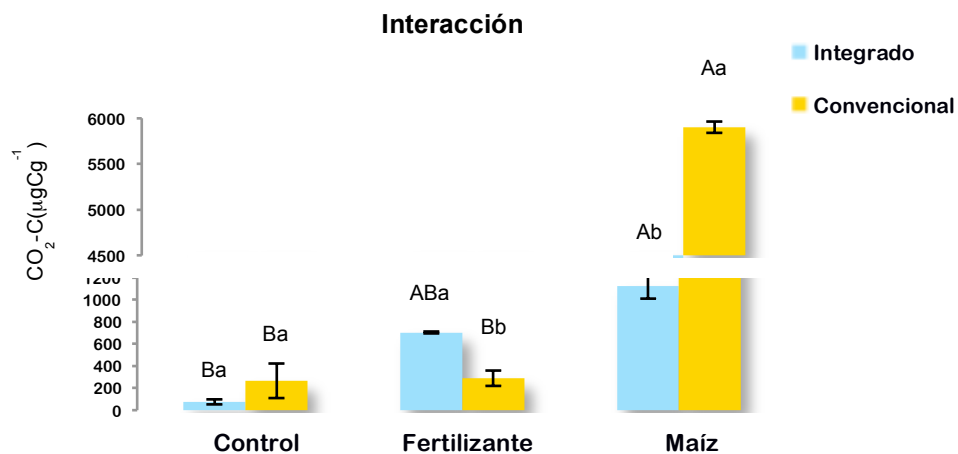


Figura 6. Mineralización potencial de C (CO₂-C) después de 15 días de incubación del suelo de la parcela con manejo integrado y la parcela con manejo convencional con fertilización inorgánica. Las barras representan el tratamiento control, tratamiento fertilizado con NH₄NO₃, tratamiento con la planta de maíz molida. Letras mayúsculas distintas indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre tratamientos al interior de cada parcela. Letras minúsculas distintas indican diferencia estadística significativa (P<0.05) entre la parcela con manejo convencional y manejo integrado al interior de cada tratamiento

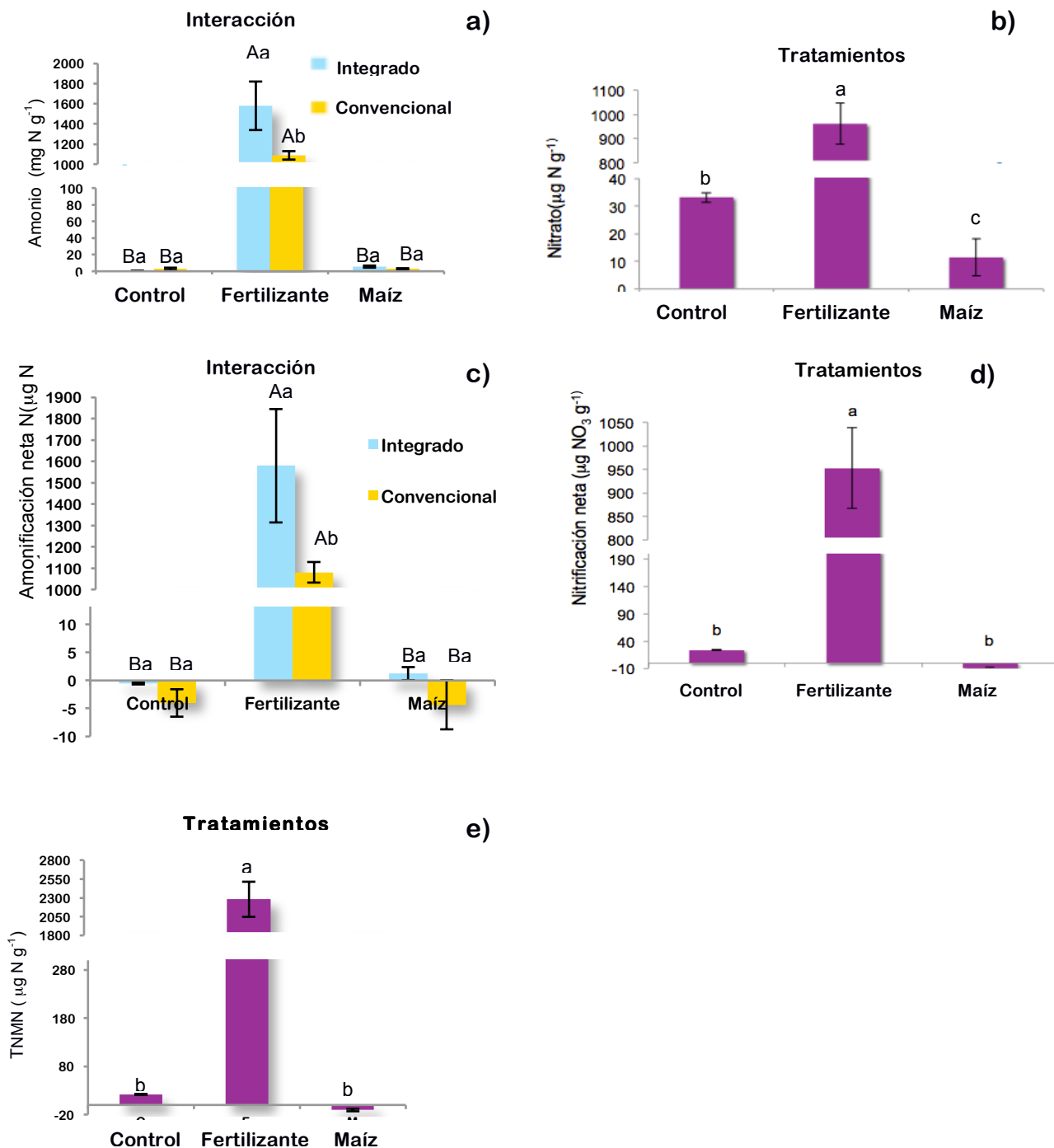


Figura 7. (a) Amonio, (b) nitrato, (c) Amonificación neta de nitrógeno, (d) nitrificación neta y tasa neta de mineralización de nitrógeno (TNMN) después de 15 días de incubación del suelo de la parcela con manejo convencional y la parcela con manejo integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. Las barras representan el tratamiento control, tratamiento fertilizado con NH_4NO_3 , tratamiento con la planta de maíz molida. Letras mayúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre tratamientos al interior de cada parcela. Letras minúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre parcelas al interior de cada tratamiento.

Debido a que la magnitud del tratamiento de fertilización inorgánica generó un artefacto por la aplicación del fertilizante nitrogenado, se hizo un análisis solamente con el control y la fertilización con maíz. En el Cuadro 8 se presentan los resultados del ANOVA factorial en donde la adición de maíz molido en relación con el control fue significativa para la tasa neta nitrificación y la tasa neta de mineralización del nitrógeno (Cuadro 8). En ambos casos, el control presentó mayor tasa neta de mineralización de N y mayor nitrificación que el tratamiento con adición de maíz (Fig. 8a y 8b).

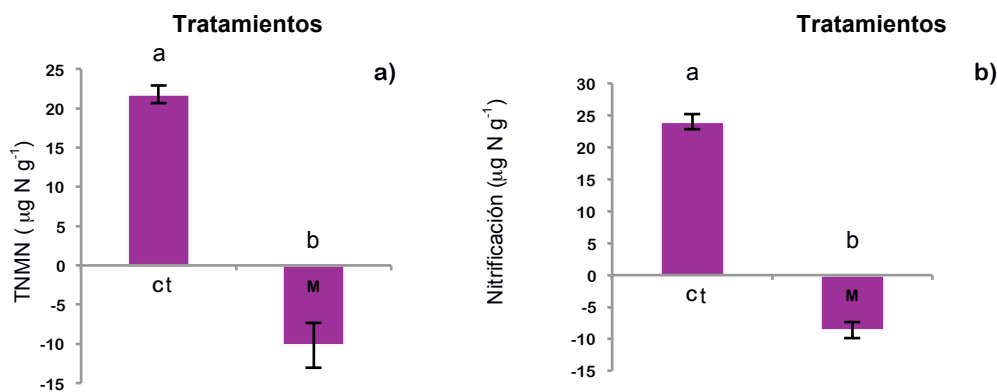


Figura 8. (a) Tasa neta de mineralización de nitrógeno y (b) nitrificación neta después de 15 días de incubación del suelo de la parcela con manejo convencional y la parcela con manejo integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. Sin el tratamiento de fertilización inorgánica. Letras distintas indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$).

En los cuadros 9, 10 y 11 se presentan el coeficiente de correlación de Pearson para las variables analizadas por cada uno de los tratamientos de fertilización. En el caso del control, el COD correlacionó positivamente con la TNMN, así mismo sucedió con la respiración en el suelo $\text{CO}_2\text{-C}$ y con la enzima BG. Mientras que el N_{mic} se correlacionó negativamente con la amonificación (Cuadro 9). En el tratamiento con fertilización inorgánica, la TNMN tuvo una correlación positiva con la amonificación y la nitrificación, así como también con el COD. Así mismo, el C_{mic} también presentó una correlación positiva con la tasa potencial de mineralización de C y con el NOD. Adicionalmente, la enzima BG también correlacionó positivamente con la NAG (Cuadro 10). En el tratamiento

con maíz, la TNMN correlacionó positivamente con la amonificación y con el COD; mientras que el C_{mic} correlacionó negativamente con la tasa potencial de mineralización de C. Igualmente al tratamiento de fertilización inorgánica, la actividad enzimática de la BG se correlacionó positivamente con la actividad enzimática de la NAG (Cuadro 11).

Cuadro 9. Coeficientes de correlación de Pearson del control entre las variables de CO_2 , transformaciones de N, nutrientes disueltos, biomasa microbiana y actividad enzimática del suelo de la parcela con manejo convencional y la parcela con manejo integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México.

	CO_2	Amonificación	Nitrificación	TNMN	COD	NOD	C_{mic}	N_{mic}	BG	NAG
CO_2	1	0.04	0.17	0.23	0.55	-0.13	-0.14	-0.44	0.64	0.52
Amonificación		1	-0.61	0.52	0.31	-0.02	0.49	-0.65	-0.50	-0.23
Nitrificación			1	0.36	0.38	0.09	-0.41	0.53	0.31	0.06
TNMN				1	0.77	0.07	0.14	-0.19	-0.25	-0.21
COD					1	0.14	0.12	-0.29	0.35	0.22
NOD						1	0.45	-0.09	-0.04	-0.08
C_{mic}							1	-0.33	0.37	-0.31
N_{mic}								1	0.05	-0.43
BG									1	0.79
NAG										1

Coeficientes en negrita indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

Cuadro 10. Coeficientes de correlación de Pearson del tratamiento con fertilizante (NH_4NO_3) entre las variables de CO_2 , transformaciones de N, nutrientes disueltos, biomasa microbiana y actividad enzimática del del suelo de la parcela con manejo convencional y la parcela con manejo integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México.

	CO_2	Amonificación	Nitrificación	TNMN	COD	NOD	C_{mic}	N_{mic}	BG	NAG
CO_2	1	0.66	0.045	0.51	0.27	0.66	0.79	-0.03	-0.30	-0.37
Amonificación		1	0.70	0.98	0.22	0.40	0.23	0.51	-0.53	-0.61
Nitrificación			1	0.84	-0.20	-0.13	-0.30	0.68	-0.50	-0.38
TNMN				1	0.11	0.27	0.08	0.60	-0.56	-0.58
COD					1	0.18	-0.05	-0.07	0.48	0.22
NOD						1	0.76	-0.14	-0.08	-0.17
C_{mic}							1	-0.21	-0.30	-0.26
N_{mic}								1	-0.45	-0.55
BG									1	0.87
NAG										1

Coeficientes en negrita indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

Cuadro 11. Coeficientes de correlación de Pearson del tratamiento del maíz molido entre las variables de CO₂, transformaciones de N, nutrientes disueltos, biomasa microbiana y actividad enzimática del suelo de la parcela con manejo convencional y la parcela con manejo integrado, ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México.

	CO ₂	Amonificación	Nitrificación	TNMN	COD	NOD	C _{mic}	N _{mic}	BG	NAG
CO ₂	1	-0.40	-0.40	-0.49	-0.24	-0.56	-0.65	0.12	0.55	0.53
Amonificación		1	0.21	0.91	0.34	-0.14	0.51	-0.60	-0.34	-0.18
Nitrificación			1	0.61	0.63	-0.16	-0.14	-0.15	-0.07	-0.11
TNMN				1	0.55	-0.18	0.36	-0.56	-0.31	-0.19
COD					1	0.14	0.12	-0.30	0.35	0.22
NOD						1	0.45	-0.09	-0.04	-0.08
C _{mic}							1	-0.34	-0.37	-0.31
N _{mic}								1	-0.05	-0.43
BG									1	0.79
NAG										1

Coeficientes en negrita indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

De lo anterior, se puede concluir que la aplicación de compuestos orgánicos al suelo favoreció la disponibilidad de COD y por lo tanto, esto promueve un ciclo de nitrógeno más cerrado, mientras que la aplicación de fertilizantes nitrogenados favorece las pérdidas cuando se incrementa la nitrificación.

7. Discusión

7.1. Fase I: Caracterización de la dinámica del C y N en la parcela agrícola con manejo convencional y la parcela agrícola con manejo integrado

7.1.1. Dinámica de nutrientes en el suelo

En la figura 9 se presentan los modelos conceptuales de la dinámica del C y N en el suelo en las tres parcelas estudiadas (agricultura convencional, agricultura integrada y parcela abandonada). En la parcela con manejo agrícola convencional (fig. 9a) se puede observar que hubo menor concentración de orgánicos disueltos, debido a que en esta parcela no hay retorno de residuos orgánicos por la extracción total de cobertura vegetal, por lo tanto, hubo menor acceso a fuentes lábiles de C para los microorganismos heterótrofos. Como consecuencia, estos tienen que sintetizar mayor cantidad de enzima para poder despolimerizar fuentes de C más recalcitrantes, provenientes de la última fase de descomposición de estructuras químicas complejas como los compuestos lignocelulósicos, para la adquisición de energía más que para su crecimiento en biomasa, por lo que se observa una mayor actividad enzimática de la enzima BG, así como una mayor actividad enzimática específica de BG y NAG. Se ha observado que a mayores concentraciones de COD, se presenta una mayor biomasa microbiana y mayores tasas de mineralización de N en comparación a sitios con bajas concentraciones de COD (Cleveland et al., 2007; Montaña et al., 2007). Además, se han reportado estudios en donde la comunidad microbiana disminuye su tasa de crecimiento, cuando hay poca disponibilidad de C lábil, pero pueden producir enzimas con la capacidad de despolimerizar moléculas más complejas de C (Moorhead y Sinsabaugh, 2006).

La mayor concentración de NO_3^- en la parcela con agricultura convencional, sugiere que, debido a la deficiencia de C lábil, los microorganismos heterótrofos reducen su actividad metabólica, por lo tanto, empieza una competencia entre dos grupos funcionales de microorganismos, los quimioautótrofos que empiezan a competir más fácilmente contra los heterótrofos por el NH_4^+ que entra por la fertilización química, oxidándolo y promoviendo la nitrificación en este manejo (Verhagen y Laanbroek, 1991; Montaña y Sánchez-Yañez,

2014). Por lo tanto, se sugiere que en esta parcela el ciclo del N, es un ciclo más abierto en donde puede haber más pérdidas de N debidas a la nitrificación, lo cual podría hacer más vulnerable al N a pérdidas por lixiviación y desnitrificación (Cameron y Di, 2000). Además, se puede observar que el pH también disminuyó en la parcela con manejo convencional debido a la nitrificación, afectando el balance químico de la solución del suelo (Fig. 9c).

Por otro lado, la parcela que presentó mayor concentración de formas orgánicas disueltas, así como de NH_4^+ fue la parcela abandonada (Fig. 9b), lo que sugiere que, en esta parcela se observa la influencia de la mayor entrada de materia orgánica. Gracias a que no hay perturbación física y extracción de cobertura vegetal, se incorpora al suelo una mayor cantidad de materia orgánica fresca y de esta manera mayor acceso a moléculas lábiles con menor costo energético para los microorganismos heterótrofos del suelo (Neff y Asner, 2001). Además, la actividad enzimática específica, indica tanto en este manejo como en el integrada, que los microorganismos están sintetizando más eficientemente las enzimas BG y NAG, para incorporar el C y el N dentro de su biomasa microbiana. Como consecuencia de una mayor disponibilidad de C, el N puede ser inmovilizado y posteriormente mineralizado, de modo que en esta parcela se observa que hubo más NH_4^+ por unidad de NO_3^- . Esto indica que en la parcela abandonada se ve favorecida la mineralización de N y su inmovilización en la biomasa microbiana, más que la nitrificación cuando hay suficiente disponibilidad de C soluble.

En cuanto a la parcela con agricultura integrada (Fig. 9c) se puede observar que hubo procesos intermedios entre la parcela abandonada y la parcela con agricultura convencional, como la producción de la enzima BG y de NO_3^- . Esto es debido a que, a pesar de que se permite la acumulación de residuos vegetales que enriquecen el almacén de materia orgánica del suelo, al no remover completamente la biomasa, ni alterar la estructura del suelo como consecuencia de la aplicación de la labranza de conservación, aún hay extracción de nutrientes y de C en biomasa por la cosecha. La remoción de nutrientes debida a la cosecha puede llegar a ser de un 30% o más, dependiendo de las condiciones del crecimiento del cultivo, la variedad del cultivo y de su producción (Potash y Phosphate

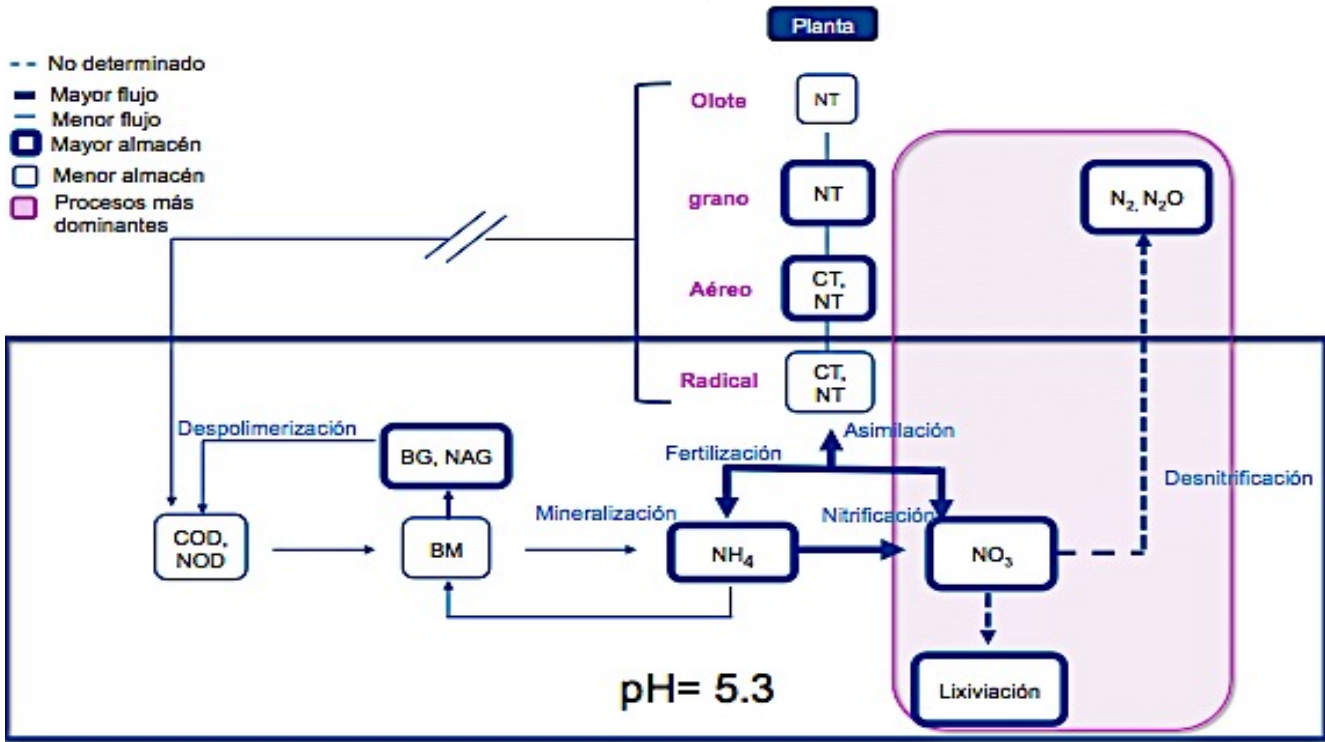
Institute, 2001). Además, cabe mencionar que antes de ser una parcela con manejo integrado, esta parcela se manejaba convencionalmente, por lo que su restablecimiento al cambiar a manejo integrado puede verse reflejado en estos resultados.

Estos resultados también son apoyados por las correlaciones de Pearson (Cuadro 4), ya que el NO_3^- presentó correlaciones negativas con el COD, el C_{mic} y el N_{mic} . Estos resultados sugieren que cuando dominan la nitrificación, las comunidades microbianas heterótrofas disminuyen, ya que los microorganismos heterótrofos asimilan fuentes de N distintas al NO_3^- , prefiriendo los orgánicos disueltos, que incorporan a su metabolismo y lo inmovilizan en su biomasa. Esta hipótesis está apoyada por las correlaciones positivas entre el NOD y el C_{mic} y entre el COD y el N_{mic} .

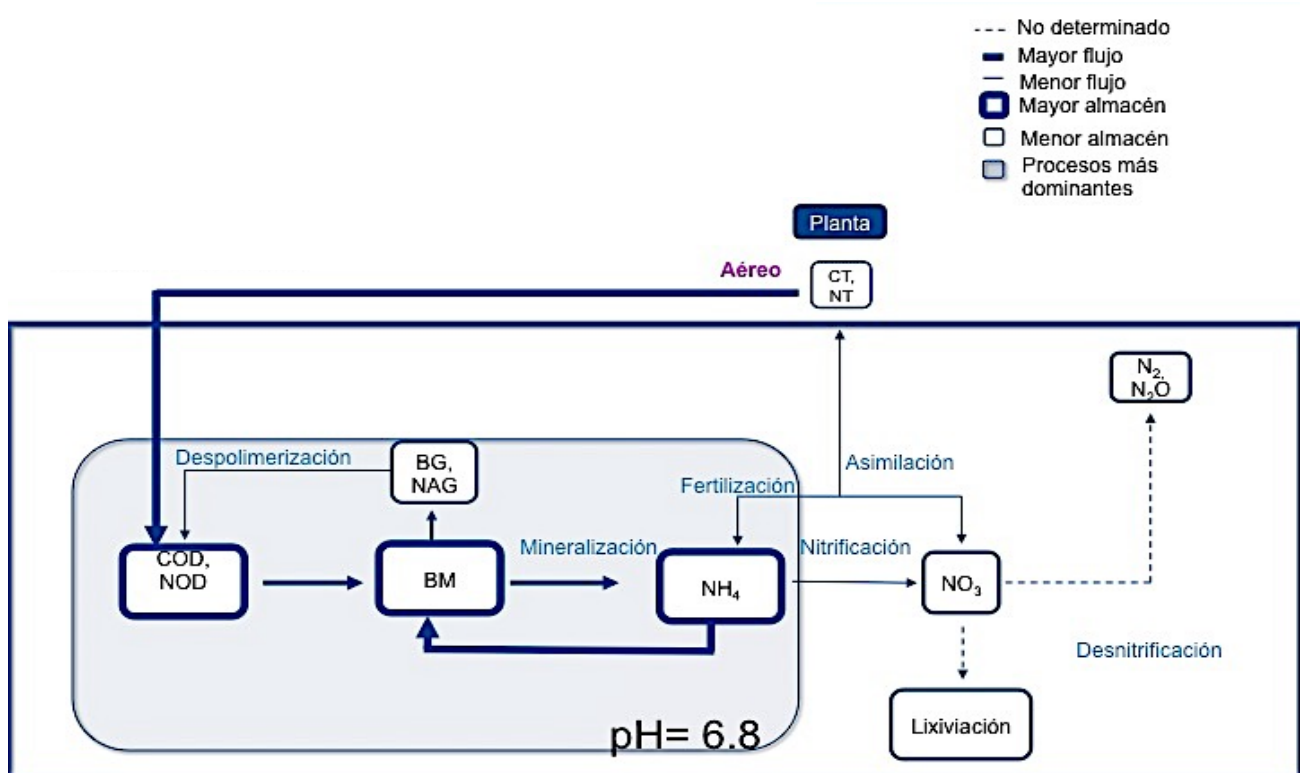
Así mismo, el análisis de componentes principales apoya los modelos conceptuales presentados en la Figura 9, ya que en el primer componente las dos variables que tienen mayor peso en la varianza fueron el COD y el NO_3^- . Por lo tanto, en la ordenación de las muestras se observó una clara separación entre la parcela abandonada del lado izquierdo, y la parcela convencional del lado derecho, quedando en medio las muestras de la parcela de agricultura integrada.

Estos resultados sugieren que la parcela con manejo convencional tiene un ciclo de N más abierto debido a que hay menores entradas de C orgánico al suelo, lo cual influye en las transformaciones de N y, por lo tanto, promueve pérdidas que a su vez generan problemas de disponibilidad de este elemento a mediano y largo plazo. Sin embargo, se puede observar que con un manejo en donde hay entradas de C orgánico al suelo y un suministro racionalizado de fertilizantes, la dinámica del C y N se ve menos afectada que en el sistema convencional, además de sugerir un restablecimiento similar a la parcela abandonada donde la dinámica del N es más cerrada, reduciendo la pérdida del N del suelo.

a) Parcela con manejo convencional



b) Parcela abandonada



c) Parea con manejo integrado

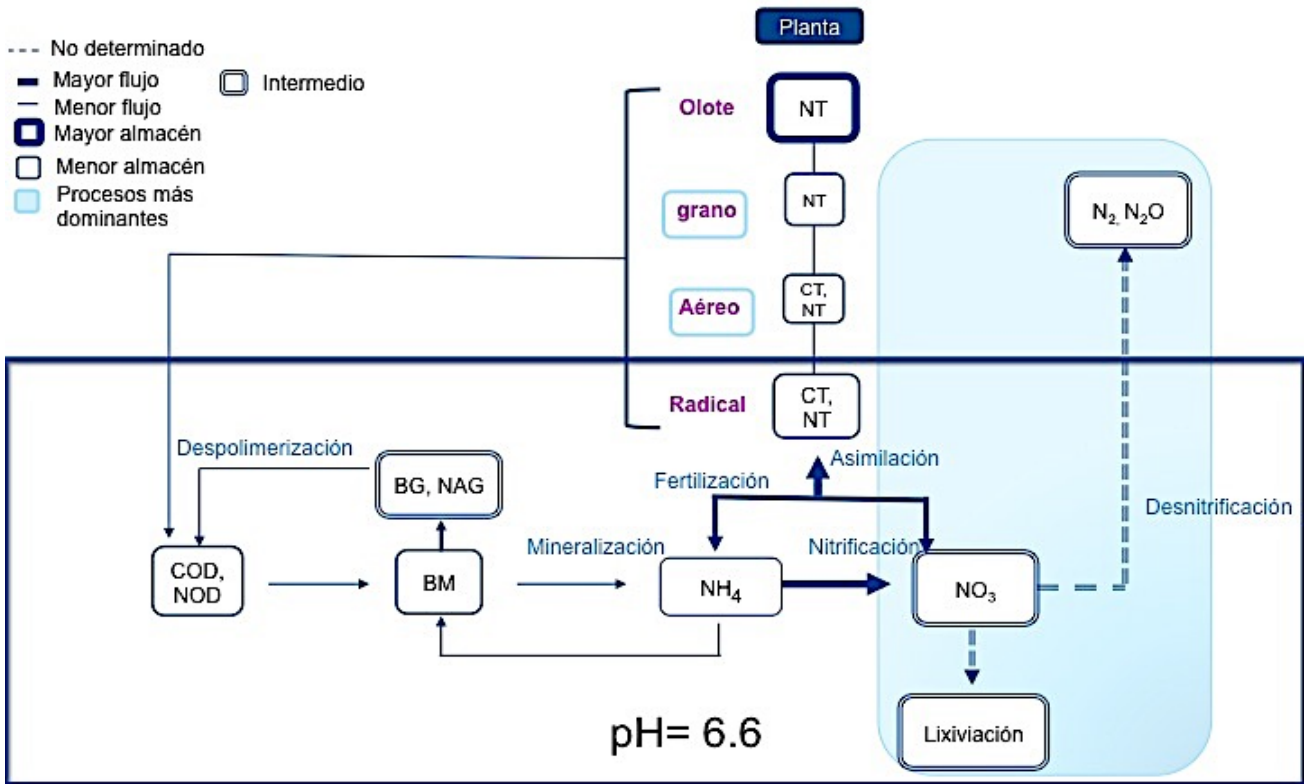


Figura 9. Modelo de la dinámica de nutrientes en las tres parcelas analizadas: Parcela abandonada, parcela con manejo convencional y parcela integrada ubicadas en Manuel Doblado, Guanajuato, México. Las cajas más gruesas, representan un mayor almacén, así como también las líneas más gruesas un mayor flujo. Las líneas punteadas representan procesos no determinados y los cuadros sombreados los procesos que fueron dominantes en cada parcela.

7.1.2. Nutrientes en la biomasa vegetal

El CT del maíz de la parcela convencional y de la parcela integrada no presentaron diferencias estadística, pero sí con el pasto de la parcela abandonada, mientras que el NT fue mayor en el maíz de la parcela convencional que en el maíz de la parcela integrada y el pasto de la parcela abandonada, mientras que la relación C:N fue mayor en el pastizal de la parcela abandonada, posiblemente debido al efecto de la aplicación de fertilizantes nitrogenados en las otras dos parcelas.

En cuanto a las regresiones lineales que fueron positivas y significativas (Fig. 5) indican que la planta probablemente está absorbiendo preferentemente al NO_3^- . Algunos estudios sugieren que las plantas prefieren absorber principalmente NH_4^+ que NO_3^- (Bloom et al., 1992); sin embargo, si la nitrificación es un proceso dominante en condiciones de fertilización inorgánica, las plantas toman preferentemente el NO_3^- que se encuentra en el suelo (Mikkelsen y Hartz, 2008); mientras que el NH_4^+ está muy demandado por los microorganismos, tanto heterótrofos, como quimotróficos cuando los suelos tiene una reducida disponibilidad de COD como ocurrió en este estudio. Esta conclusión está apoyada por la regresión lineal negativa entre el C_{mic} y el contenido de N radical de la planta, sugiriendo que podría existir competencia por el NH_4^+ entre la comunidad microorganismos del suelo y la planta. Con base a todo el anterior, se puede concluir que los microorganismos están obteniendo el N preferentemente en forma de NH_4^+ y moléculas orgánicas con N; mientras que las plantas lo obtienen preferentemente en forma de NO_3^- debido a la menor disponibilidad del NH_4^+ por su competencia con los microorganismos del suelo. Por lo tanto, la producción agrícola en la parcela con manejo convencional podría depender del proceso de nitrificación en el suelo, confirmando que este tipo de manejo promueve la pérdida del N del suelo.

7. 2. Fase II: Experimento de fertilización orgánica e inorgánica

El tratamiento que presentó mayor mineralización de C fue en donde se aplicó el maíz molido. La entrada de residuos vegetales aportó al suelo C de fácil acceso para los microorganismos y éstos lo metabolizaron para la obtención de energía y para su crecimiento. Estos resultados sugieren que el retorno de residuos vegetales al suelo aporta formas de C de fácil despolimerización (Fanin et al., 2016), consecuentemente la fracción activa de C en el suelo también incrementa (Liu et al., 2014), promoviendo la actividad de la comunidad microbiana del suelo. En contraste, el tratamiento donde se aplicó la fertilización inorgánica de N tuvo menor mineralización de C que el tratamiento con adición de maíz. Lo que sugiere que los sistemas agrícolas que reciben entradas continuas de materia orgánica, al tener entradas de C lábil, tienen mayor actividad metabólica y, a largo plazo, un mayor suministro de N del suelo comparados a los sistemas que sólo reciben fertilizante inorgánico (Kramer et al., 2003)

Sin embargo, los tratamientos de fertilización también fueron afectados por la historia de manejo agrícola de ambas parcelas. Por ejemplo, la parcela con manejo agrícola convencional fue la que presentó más mineralización de C, sugiriendo que la comunidad microbiana del suelo de esta parcela está limitada por C disponible, ya que la energía la tiene que obtener a partir de la despolimerización de moléculas más recalcitrantes de C, lo que afecta su eficiencia metabólica (Fontaine et al., 2007). Sin embargo, la comunidad microbiana requiere invertir más energía para despolimerizar las moléculas más complejas. Por ejemplo, Blagodaskaya (2016) reportó que se necesitan 109-210 kJ mol⁻¹ para la oxidación de celulosa, que es una molécula más compleja, mientras que para la oxidación de la glucosa se requiere de 50 kJ mol⁻¹. Por lo tanto, la actividad metabólica de la comunidad microbiana depende del suministro continuo de C nuevo y lábil (Fontaine et al., 2005). Por lo tanto, el uso continuo de fertilizantes inorgánicos puede generar cambios en la composición de la comunidad microbiana del suelo, dominando aquellos grupos con menor eficiencia metabólica. Así mismo, varios autores han reportado que los niveles altos de fertilización nitrogenada pueden dificultar la descomposición de compuestos de C más recalcitrantes, debido a que se reduce la eficiencia metabólica de los microorganismos heterótrofos del suelo (Berg, 2014; Chen, 2014).

Las correlaciones de Pearson muestran que la concentración de COD es muy importante en las tres parcelas estudiadas, ya que el COD correlacionó positivamente con la tasa neta de mineralización de nitrógeno (TNMN). En el control (sin incorporación de maíz y fertilizantes inorgánicos), esta correlación fue positiva y correspondió a la correlación más alta, seguida del tratamiento con maíz. Sin embargo, en el tratamiento con fertilización inorgánica el coeficiente de correlación fue menor. Esto indica que tanto en el control, como en el tratamiento con maíz, la comunidad microbiana prefirió las fuentes orgánicas de N, posiblemente porque adquiere mayor energía de ellas y, consecuentemente, pueden mineralizar más N.

Por consiguiente, se puede decir que la aplicación de fertilizante nitrogenado inorgánico tuvo un menor impacto en la mineralización de la MOS, así como en promover y acelerar la nitrificación en el suelo. En cambio, la aplicación de materia orgánica fresca al suelo favoreció la actividad de la comunidad microbiana heterótrofa y ayudó a la mineralización de la MOS, además de que puede llevar a generar un ciclo de N más cerrado por la disponibilidad de C. Los resultados de este experimento coinciden con los encontrados en la descripción de la dinámica del C y N del suelo en las parcelas, ya que la fertilización inorgánica del N aumenta la vulnerabilidad de estos suelos a las pérdidas de N a la vez que reduce la capacidad metabólica las comunidades microbianas del suelo, las cuales pueden conducir a un manejo más sustentable.

8. Perspectivas

Como ya se vio en la agricultura con manejo agrícola convencional, el ciclo del N es más abierto, por lo tanto, las emisiones de gases de efecto invernadero se están incrementando con este manejo. Sin embargo, es necesario medir dichos flujos atmosféricos para poder entender el impacto del manejo agrícola sobre estas emisiones. Además, en este trabajo se vio como se ven afectadas las fuentes de C lábil y recalcitrante en el suelo dependiendo del manejo y cómo pueden afectar las transformaciones del N. Sin embargo hay pocos trabajos que midan esas fracciones en diferentes manejos agrícolas, por lo tanto sería interesante medirlas para poder conocer más acerca de estas fracciones y su relación con la comunidad microbiana del suelo. Por lo anterior, además sería interesante medir la estructura y composición de la comunidad microbiana en el suelo con diferentes manejos agrícola.

9. Conclusiones

La dinámica del N y C en el suelo se ve afectada por el tipo de manejo agrícola, ya que en parcelas donde hay un retorno de compuestos orgánicos continuos, se ve favorecida la disponibilidad de COD del suelo, por lo tanto, el N está más protegido dado que existe una tendencia a haber un ciclo de N más cerrado. En cambio, en parcelas agrícolas donde la aplicación de fertilizante inorgánico es de manera excesiva y el retorno de compuestos orgánicos al suelo no es continuo, se promueve el proceso de nitrificación, lo que hace más susceptible al N a perderse por lixiviación y desnitrificación.

Literatura citada

Acquaah, G. (2002). Agricultural Production Systems, 283-317 en “Principles of Crop Production: Theory, Techniques, and Technology”. Pearson Education, Inc., Upper Saddle River, New Jersey Agra CEAS Consulting.

Allison, S.D., Gartner, T., Holland, K., Weintraub, M. y Sinsabaugh, R.L. (2007). Soil enzymes: linking proteomics and ecological process. In: Manual of Environmental Microbiology. ASM Press, 3rd Edition, Washington D. C., 58, 704–711.

Ahmed, A., Nasim, F.U., Batool, K. y Bibi, A. (2017). Microbial β -Glucosidase: Sources, Production and Applications. *Applied and Environmental Microbiology*, 5, 31–46.

Bai, H., Wang, H., Sun, J., Irfan, M., Han, M y Huang, Y. (2013). Production, purification and characterization of Novel beta glucosidase from newly isolated *Penicillium simplicissimum* h-11 in submerged fermentation. *Experimental and Clinical Sciences*, 12, 528-540.

Barraclough, D. (1997). The direct or MIT route for nitrogen immobilization: a 15 N mirror image study with leucine and glycine. *Soil Biology and Biochemistry*, 29, 101–108

Battin, T.J., Luysaert, S., Kaplan, L.A., Aufdenkampe, A.K., Richter, A., y Tranvik, L.J. (2009). The boundless carbon cycle. *Nature Geoscience*, 2, 598-600.

Badalíková, B. (2010). Influence of Soil Tillage on Soil Compaction. Chapter in book In: Soil Engineering, Soil Biology, Amity University Uttar Pradesh, Noida, UP, India, 230(20), 19–30.

Berg, B. (2014). Decomposition patterns for foliar litter – A theory for influencing factors. *Soil Biology and Biochemistry*, 78, 222–232.

Blagodatskaya, E., Blagodatsky, S., Khomyakov, N., Myachina, O., y Kuzyakov, Y. (2016). Temperature sensitivity and enzymatic mechanisms of soil organic matter decomposition along an altitudinal gradient on Mount Kilimanjaro. *Scientific Reports*, 6(1), 1-11

Bloom, A.J., Sukrapanna, S.S. y Warner, R.L. (1992). Root Respiration Associated with Ammonium and Nitrate Absorption and Assimilation by Barley. *Plant Physiology*, 99(4), 1294-1301

Brookes, P., Landman, A., Pruden, G. y Jenkinson, D. (1985). Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 17:837-842

Brummer, E.C. (1998). Diversity, stability and sustainable American agriculture. *Agronomy Journal*, 90,1–2.

Caldwell, B. (2005). Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiologia*, 49, 637–644.

Cameron, K.C. y Di, H.J. (2000). Calculating nitrogen leaching losses and critical nitrogen application rates in dairy pasture systems using a semi-empirical model. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 43(1), 139-147.

Cassman, K.G., Dobermann, A. y Walters, D.T. (2002). Agroecosystems, nitrogen use efficiency, and nitrogen management. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 31, 132–140.

Chen, R., Senbayram, M., Blagodatsky, S., Myachina, O., Dittert, K., Lin, X., Blagodatskaya, E. y Kuzyakov Y., *et al.* (2014). Microbial N mining and stoichiometric decomposition theories. *Global Change Biology*, 20, 2356–2367.

Chien, S.H., Geahart, M., y Collamer, D.J. (2008). The effect of different ammoniacal nitrogen sources on soil acidification. *Soil Science*, 173, 544-551.

Cleveland, C. C. y Liptzin, D. (2007). C:N:P stoichiometry in soil: is there a “Redfield ratio” for the microbial biomass? *Biogeochemistry*, 83(3), 235-252

Cui, Z.L., Zhang, H.Y., Chen, X.P., Zhang, C.C., Ma, W.Q. Huang, C., Zhang, W., Mi, G., Miao, Y., Li, X., Gao, Q., Yang, J., Wang, Z., Ye, Y., Guo, S., Lu, J., Huang, J., Lv, S., Sun, Y., Liu, Y., Peng, X., Ren, J., Li, S., Deng, X., Shi, X., Zhang, Q., Yang, Z., Tang, L., Wei, C., Jia, L., Zhang, J., He, M., Tong, Y., Tang, Q., Zhong, X., Liu, Z., Cao, N., Kou, C., Ying, H., Yin, Y., Jiao, X., Zhang, Q., Fan, M., Jiang, R., Zhang, F. y Dou, Z. (2018). Pursuing sustainable productivity in millions of smallholder farmers. *Nature*, 555, 363-366.

Dannenmann, M., Simon, J., Gasche, R., Holst, J., Naumann, P. S., Koegel-Knabner, I., y Pape, H. (2009). Tree girdling provides insight on the role of labile carbon in nitrogen partitioning between soil microorganisms and adult European beech. *Soil Biology & Biochemistry*, 41, 1622–1631.

Doran J.W. (1980), Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. *Soil Science Society of America Journal*, 44(4), 765-771

FAO, (2009). Food and Agriculture Organization of the UN, High-level expert forum on ‘How to feed the world in 2050’, 12-13 de Octubre de 2009, Roma, Italia.

Fanin, N., Hättenschwiler, S. y Fromin, N. (2014). Litter fingerprint on microbial biomass, activity, and community structure in the underlying soil. *Plant and Soil*, 379(1-2), 79–91

Fanin, N. y Bertrand, I. (2016). Aboveground litter quality is a better predictor than belowground microbial communities when estimating carbon mineralization along a land-use gradient. *Soil Biology Biochemistry*, 94, 48–60.

Farrell, M., M. Prendergast-Miller, D. L. Jones, P. W. Hill, y L. M. Condron (2014). Soil microbial organic nitrogen uptake is regulated by carbon availability, *Soil Biology & Biochemistry*, 77, 261–267.

Fontaine, S. y Barot, S. (2005). Size and functional diversity of microbe populations control plant persistence and long-term soil carbon accumulation. *Ecology Letters*, 7, 1075–1087.

Fontaine, S., Barot, S., Barré, P., Bdioui, N., Mary, B., y Rumpel, C. (2007). Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature*, 450(7167), 277–280.

Galloway, J.N., Cowling, E.B., Seitzinger, S.J. y Socolow, R. (2002). Reactive nitrogen: Too much of a good thing? *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 31(2), 60–63

Galloway, J.N., Aber, J. D., Erisman, J. W., Seitzinger, S. P., Horwath, R. W., Cowling, E. B., y Cosby, B.J. (2003). The nitrogen cascade. *Bioscience*, 53, 341–356.

Galloway, J.N. (2004). Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry*, 70(2), 153–226.

Gohel, V., Singh, A., Vimal M., Ashwini P. y Chhatpar H.S. (2006) Bioprospecting and antifungal potential of chitinolytic microorganisms. *African Journal of Biotechnology*, 5(2), 54–72.

Griffiths, B.S. y Philippot, L. (2012). Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(2), 112-29.

Harrison, K.A., Bol, R. y Bardett, R.D. (2007). Preferences for different nitrogen forms by coexisting plant species and soil microbes. *Ecology*, 88: 989-99.

Hendrickson, J.R., Hanson, J.D., Tanaka, D.L. y Sassenrath, G.F. (2008). Principles of integrated agricultural systems: introduction to processes and definition. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 23, 265–271.

Huang, J., Pray, C., y Rozelle, S. (2002). Enhancing the drops to feed the poor. *Nature* 418, 678-684.

Huang, Y. y Sun, W.J. (2006). Changes in topsoil organic carbon of croplands in mainland China over the last two decades. *Chinese Science Bulletin*, 51(15), 1785–1803

Huffman, E.N. (1977). Performance of a new automatic carbon dioxide coulometer. *Microchemical Journal*, 22(4), 567-573.

Joergensen, R.G. (1996). The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the K_{EC} value. *Soil Biology & Biochemistry*, 28: 25-31

Joergensen, R.G., Mueller, T. (1996). The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of de K_{EN} value. *Soil Biology & Biochemistry*, 28: 33-37

Jones, D.L., y Willett, V.B. (2006). Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 991-999

Kindler, R., Siemens, J., Kaiser, K., Walmsley, D.C., Bernhofer, C., Buchmann, N., ... Kaupenjohann, M. (2011). Dissolved carbon leaching from soil is a crucial component of the net ecosystem carbon balance. *Global Change Biology*, 17(2), 1167–1185.

Krall, J.M. y Schuman, G.E. (1996). Integrated dryland crop and livestock production systems on the Great Plains: extent and outlook. *Journal of Production Agriculture*, 9,187–191.

Kramer, A.W., Doane, T.A., Horwath, W.R. y van Kessel, C. (2002). Combining fertilizer and organic inputs to synchronize N supply in alternative cropping systems in California. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 34, 43–50.

Kushwaha, C.P., Tripathi, S.K. y Singh, K.P. (2000) Variations in soil microbial biomass and N availability due to residue and tillage management in a dryland rice agroecosystem. *Soil and Tillage Research*, 56(3-4), 153–166.

Kuzyakov, Y., y Xu, X. (2013) Competition between roots and microorganisms for nitrogen: Mechanismos and ecological relevance. *New Phytologists*, 198, 656-669.

Lal, R. (1997). Long-term tillage and maize monoculture effects on a tropical alfisol in western Nigeria. I. Crop yield and soil physical properties. *Soil and Tillage Research*, 42,145–160

Lal, R. (2004a). Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma*, 123, 1–22.

Leininger, S., Urich, T., Schloter, M., Schwark, L., Qi, J., Nicol, G. W., Prosser J.I., Schuster S.C., Schleper, C. (2006). Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature*, 442(7104), 806–809.

- Liu, X., Herbert, S.J., Hashemi, A.M., y Zhang, X. (2006). Effects of agricultural management on soil organic matter and carbon transformation - a review. *Plant soil environ*, 52, 12, 531–543
- Liu, C., Lu, M., Cui, J., Li, B., & Fang, C. (2014). Effects of straw carbon input on carbon dynamics in agricultural soils: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 20(5), 1366–1381.
- Martín, F., y Carrasco, I. (2003). La fertilización mineral en agricultura ecológica. National Research Council. 1984. *Alternative Agriculture*. National Academy Press, Washington, D.C.
- Matson, P., Naylor, R., Ortiz-Monasterio, J. (1998). Integration of environmental, agronomic, and economic aspects of fertilizer management. *Science*, 280, 112–115.
- Neff, J.C., Asner, G.P. (2001). Dissolved organic carbon in terrestrial ecosystems: synthesis and model. *Ecosystems*, 4(1), 29-48.
- Neff, J.C., Holland, E.A., Dentener, F.J., McDowell, W.H. y Russell, K.M. (2002). The origin, composition and rates of organic nitrogen deposition. *Biogeochemistry*, 57(58), 99–136.
- Mikkelsen, R., Hartz, T.K. (2008). Nitrogen sources for organic crop production. *Better Crops*, 92(4), 16-19.
- Moir, J.W.B. (editor) (2011). *Nitrogen Cycling in Bacteria: Molecular Analysis*. Caister Academic Press: Norfolk.
- Montaño, N.M., Garcia-Oliva, F. y Jaramillo, V.J. (2007) Dissolved organic carbon affects soil microbial activity and nitrogen dynamics in a Mexican tropical deciduous forest. *Plant and Soil*, 295(1-2), 265–277.
- Montaño, N.M. y Sánchez-Yañez, J.M. (2014). Nitrificación en suelos tropicales, asunto de competencia microbiana: Un modelo basado en la teoría de Lotka-Volterra. *Ecosistemas*, 23, 98-104.
- Moorhead, D.L. y Sinsabaugh, R.L. (2006). A theoretical model of litter decay and microbial interaction. *Ecological Monographs*, 76(2), 151–174.
- Mooshammer, M., Wanek, W., Hämmerle, I., Fuchslueger, L., Hofhansl, F., Knoltsch, A., Schneckner, J., Takriti, M., Watzka M., Wild, B., Keiblinger, K., Zechmeister-Boltenstern, S., Richter, A. (2014). Adjustment of microbial nitrogen use efficiency to carbon: Nitrogen imbalances regulates soil nitrogen cycling. *Nature Communications*, 5, 1–7
- Morris, C., y Winter M. (1999). “Integrated farming systems: the third way for European Agriculture?”. *Land Use Policy*, 16, 193-205.

Neff, J.C., y Asner G.P. (2001). Dissolved organic carbon in terrestrial ecosystems: Synthesis and a model, *Ecosystems*, 4, 29–48.

Onica, B.M., Vidican R., Sandor V., Brand T., y Sandor, M. (2017). Priming Effect Induced by the Use of Different Fertilizers on Soil Functional Diversity, 74(2), 108-115

Paul, E.A. (2007). Soil microbiology, ecology and biochemistry (3° ed.). Academic Press.

Post, W.M., Izaurralde, R.C., Mann, L.K., y Bliss, N. (2001). Monitoring and verifying changes of organic carbon in soil. *Climatic Change*, 51, 73–99.

Postgate, J.R. (1982). Biology Nitrogen Fixation: Fundamentals. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. *Series B, Biological Sciences*, 296(1082), 375-385

Postgate, J.R. (1982). The Fundamentals of Nitrogen Fixation. New York, NY: Cambridge University Press, 1982.

Potash and Phosphate Institute. (2001). Nutrients Removed in the Harvested Portion of a Crop. *Potash and Phosphate Institute*, Norcross, GA.

Prather, M., Derwent, R., Ehhalt, D., Fraser, P., Sahueza, E. y Zhou. X. (1995). Other trace gases and atmospheric chemistry. Pages 77–126 In: J. T. Houghton, L. G. Meira Filho, J.

Bruce, J., Lee, H., Callander, B.A., Haites, E., Harris, N. y K. Maskell, editors. Climate change 1994: radiative forcing of climate change. *Cambridge University Press, Cambridge, England*.

Robertson, G.P., Gross, K.L., Hamilton, S.K., Landis, D.A., Schmidt, T.M., Snapp, S.S. y Swinton, S.M. (2014). Farming for ecosystem services: an ecological approach to production agricultura. *Bioscience*, 64, 404-415

Robertson, G.P., Coleman, D.C., Bledsoe, C.S. y Sollins, P. (1999). Standard soil methods for long-term ecological research (LTER). University Press, Oxford, New York, 104(1-2), 258-271.

Satchell. (1974). Litter-interface of animate/inanimate matter. Biology of Plant Litter Decomposition. Vol.1. Londres: Dickinson. C.H. y G.J.F. Pugh (Eds.). Academic Press. London.

Schimel, J.P., Bennett, J. (2004). Nitrogen mineralization: challenges of changing paradigm. *Ecology*, 85, 591-602.

Sinsabaugh, R.L., Gallo, M.E., Lauber, C., Waldrop, M. y Zak, D.R. (2005). Extracellular

enzyme activities and soil carbon dynamics for northern hardwood forests receiving simulated nitrogen deposition. *Biogeochemistry*, 75, 201–215.

Sinsabaugh, R.L., Lauber, C.L., Weintraub, M.N., Ahmed, B., Allison, S.D., Crenshaw, C., y Zeglin, L.H. (2008). Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology Letters*, 11(11), 1252–1264.

Smith, B., Richards, R.L. y Newton, W.E. (2004). Catalysts for nitrogen fixation: nitrogenases, relevant chemical models and commercial processes. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht; Boston.

Stevenson, F.J. (1982). Nitrogen - Organic forms. Methods of soil analysis, Part 2, Chemical and microbiological properties. *Agronomy*, 9, 625-641.

Strauss E.A. y Lamberti G.A. (2000) Regulation of nitrification in aquatic sediments by organic carbon. *Limnology and Oceanography*, 45, 1854-1859

Swiontek Brzezinska, M., Jankiewicz, U., Burkowska, A., y Walczak, M. (2013). Chitinolytic Microorganisms and Their Possible Application in Environmental Protection. *Current Microbiology*, 68(1), 71–81.

Thurman, E. M. (1985). Organic Geochemistry of Natural Waters. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht.

Tian, L., Dell, E., y Shi, W. (2010b). Chemical composition of dissolved organic matter in agroecosystems: correlations with soil enzyme activity and carbon and nitrogen mineralization. *Applied Soil Ecology*, 46, 426–435.

Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R., & Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418(6898), 671–677.

Van Bruggen A. H. C. y Semenov, A.M. (2000). In search of biological indicator for soil health and disease? suppression. *Applied Soil Ecology*. 15: 13-24.

Vance, E.D., Brookes A.C. y Jenkinson D.S. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19, 703-707

Verhagen, F.J., Duyts, H. y Laanbroek, H.J. (1992). Competition for Ammonium between Nitrifying and Heterotrophic Bacteria in Continuously Percolated Soil Columns. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(10), 3303-11.

Vitousek, P.M., Aber, J., Horwath, R.W., Likens, G.E., Matson, P.A., Schindler, D.W., Schlesinger, W.H. y Tilman, D. (1997). Human alterations of the global nitrogen cycle: causes and consequences. *Issues Ecology*, 1, 1–16.

Vitousek, P.M., Matson, P.A., y Turner, D.R. (1988). Elevational and age gradients in hawaiian montane rainforest: foliar and soil nutrients. *Oecologia*, 77(4), 565–570.

Wagg, C., Bender, S.F., Widmer, F. y Van Der Heijden, M.G.A. (2014). Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(14), 5266–5270.

Wang, Z.H., Zong, Z.Q., Li, S.X. y Chen, B.M. (2002). Nitrate accumulation in vegetables and its residual in vegetable fields. *Chinese Journal of Environmental Science*, 23(3), 9-83.

Wang, Q., Wang, S. y Deng, S. (2005). Comparative study on active soil organic matter in Chinese fir plantation and native broad-leaved forest in subtropical China. *Journal of Forestry Research*, 16(1), 23–26.

Wu, X., Wu, L., Liu, Y., Zhang, P., Li, Q., Zhou, J. y Chakraborty, R. (2018). Microbial Interactions With Dissolved Organic Matter Drive Carbon Dynamics and Community Succession. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-11

Yao, H., He, Z. y Wilson, M.J. (2000). Campbell C.D. Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use. *Microbial Ecology*, 40(3), 223-237

Zhan, F., Cuiz, Z., Fan, M., Zhang, W., Chen, X., y Jiang, R. (2011). Integrated Soil–Crop System Management: Reducing Environmental Risk while Increasing Crop Productivity and Improving Nutrient Use Efficiency in China. *Journal of Environmental Quality*, 40(4), 1051-1057.

Bibliografía consultada en internet

INEGI. 2009 Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Manuel Doblado, Guanajuato.
http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/11/11008.pdf.
Consultado ultima vez en junio del 2009

SIAP. 2015 Anuario Estadístico de la Producción Agrícola.
http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/11/11008.pdf.
Consultado última vez en junio del 2009

