



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA

**EFFECTO DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES Y DE LA
COMPOSICIÓN DE PROCARIONTES DEL SUELO EN EL
POTENCIAL DE FIJACIÓN DE NITRÓGENO EN DOS ZONAS
ÁRIDAS DE MÉXICO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:
ALBERTO BARRÓN SANDOVAL

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. ANA ELENA ESCALANTE HERNÁNDEZ
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM
COMITÉ TUTOR: DRA. VALERIA SOUZA SALDÍVAR
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM
DRA. SILVIA PAJARES MORENO
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, CD. MX. MAYO, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA

**EFFECTO DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES Y DE LA
COMPOSICIÓN DE PROCARIONTES DEL SUELO EN EL
POTENCIAL DE FIJACIÓN DE NITRÓGENO EN DOS ZONAS
ÁRIDAS DE MÉXICO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:
ALBERTO BARRÓN SANDOVAL

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. ANA ELENA ESCALANTE HERNÁNDEZ

INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. VALERIA SOUZA SALDÍVAR

INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

DRA. SILVIA PAJARES MORENO

INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, CD. MX. MAYO, 2020

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD INSTITUTO DE ECOLOGÍA
OFICIO CPCB/371/2020
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Ecología y Biología Evolutiva, del Posgrado en Ciencias Biológicas en su sesión ordinaria del día 24 de febrero de 2020, aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de Ecología, del estudiante **BARRÓN SANDOVAL ALBERTO** con número de cuenta: **409025550**, con la tesis titulada **“Efecto de las condiciones ambientales y de la composición de procariontes del suelo en el potencial de fijación de N en dos zonas áridas de México”**, bajo la dirección de la **DRA. ANA ELENA ESCALANTE HERNÁNDEZ**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. FELIPE GARCÍA OLIVA
Vocal: DRA. ITZEL BECERRA ABSALÓN
Secretario: DRA. SILVIA PAJARES MORENO
Suplente: DRA. ERIA ALAIDE REBOLLAR CAUDILLO
Suplente: DRA. YUNUEN TAPIA TORRES

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 04 de mayo de 2020

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



Agradecimientos institucionales

Se reconoce con agradecimientos a los siguientes programas y proyectos que permitieron llevar a cabo este trabajo.

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por aceptarme en el programa.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme la beca de maestría.

Al proyecto PAPIIT IN207619 “La relevancia funcional de la diversidad microbiana en suelos, suelos forestales y áridos como modelos de estudio” que financió esta tesis.

Al proyecto UC-MEXUS-CONACYT (2018) “La relevancia funcional de la diversidad microbiana en suelos áridos: costras biológicas y fijación de Nitrógeno como modelo de estudio” otorgando a las doctoras Ana E. Escalante y Jennifer Martiny, el cual financió los procedimientos de secuenciación.

Beca Lóreal-UNESCO-AMC 2012 otorgada a la Dra. Ana E. Escalante por el proyecto: Diversidad y funcionalidad en suelos áridos de México, de los genes a la función ecosistémica”.

También se reconoce y agradece a las siguientes investigadoras integrantes del comité tutor: Dra. Silvia Pajares Moreno, Dra. Valeria Souza Saldívar cuyas aportaciones fueron indispensables para llevar a cabo este trabajo y especialmente a la Dra. Ana Elena Escalante Hernández por su dedicación, paciencia, consejos, acompañamiento y por todos los años que tenemos de conocernos.

Agradecimientos personales

Quiero empezar agradeciendo nuevamente a la Dra. Ana E. Escalante ya que ella ha influido muchísimo en las ideas vertidas y también en las ambiciones que emanan de esta tesis. También porque me ha enseñado mucho más con las pláticas que hemos tenido y también con su ejemplo. Es indudable que sin las cosas que me ha enseñado no estaría en el camino en el que me encuentro.

A la Dra. Morena Avitia Cao Romero cuyo apoyo y asistencia en la organización y trabajo en el laboratorio fue indispensable para terminar este trabajo.

A las integrantes del jurado de esta tesis, a las Dras. Silvia Pajares Moreno, Ería A. Rebollar Caudillo, Yunuen Tapia Torres e Itzel Becerra Absalón por sus valiosos comentarios y sugerencias, y su tiempo para revisar y mejorar esta tesis.

A la Dra. Jennifer Martiny y la M en C. Claudia Weihe y su laboratorio por su hospitalidad e invaluable ayuda durante la estancia en UC-Irvine, donde se realizó el trabajo de secuenciación.

Al Dr. Alfonso Leija Salas del Instituto de Ciencias Genómicas por su apoyo imprescindible en la realización de la técnica de Cromatografía de gases, por sus consejos y ayuda en el procesamiento de los resultados y por el enorme apoyo y amistad que siempre me brindo. A la Dra. Georgina Hernández Delgado por brindarnos las instalaciones necesarias para realizar la cromatografía de gases en el instituto de Ciencias Genómicas.

Al Dr. Felipe García Oliva por acceder a formar parte del jurado de esta tesis. De igual forma se extiende el agradecimiento al M. en C. Rodrigo Velázquez Durán por los análisis de C, N y P de muestras de suelo y al Laboratorio de Biogeoquímica de Suelos, IIES, UNAM, donde se realizaron estos análisis.

Al Ing. Rodrigo García Herrera y a la oficina de computo de Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad (LANCIS), Instituto de Ecología, UNAM por la administración y mantenimiento del cluster donde se realizó el análisis de datos de esta tesis.

A mis padres, Blanca y Alberto, que sin su guía no sería la persona que soy hoy. Por su incondicional apoyo en mi formación académica, por sus incansables ejemplos y por que he aprendido de ustedes muchas mas cosas de las de las que me han enseñado y que aún sigo aprendiendo.

A las integrantes del laboratorio, Karla, Morena, Karen, Gloria, Ale, Valeria, Mafer, Juan y Marcelo, ya que sin su compañía y buenos (y malos) ratos que hemos pasado no habría aprendido muchas otras cosas que son igualmente necesarias en la vida.

A Paola, Andrés, "Hoper", Lalo, Jaramillo, Daniel, Olmo, "Skate", Ayla, Valeria, Axel, Matiss, Marie, Omar, Lucía, Sofi y Tania, y a los integrantes del "Hoyo Funky", por todos estos años en los que nos hemos acompañado y por todo lo que hemos vivido juntos.

A Cynthia, Kendra, Sarahi, Nick, Claudia y Jennifer por haber hecho mi estancia en Irvine sumamente agradable, por las nuevas amistades hechas y por los nuevos caminos creados. Estos agradecimientos también son para Jessica Pratt y su familia por la increíble hospitalidad que me brindaron en su casa.

A Tere, por la impecable y rigurosa asistencia en el laboratorio, lo cuál hace de todos nuestros proyectos y el trabajo en el laboratorio mas ordenado, eficiente y agradable.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
LA RELEVANCIA FUNCIONAL DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA.....	3
SISTEMA DE ESTUDIO: SUELOS ÁRIDOS Y COSTRAS BIOLÓGICAS DE SUELO.....	6
APROXIMACIÓN DE ESTUDIO.....	11
HIPÓTESIS.....	11
OBJETIVOS.....	12
MATERIALES Y MÉTODO	13
RESULTADOS	20
VARIABLES FÍSICOQUÍMICAS DEL SUELO.....	20
COMPOSICIÓN Y DIVERSIDAD DE LAS COMUNIDADES PROCARIONTES DE LAS CBS.....	23
EFECTO DE LA COMPOSICIÓN Y CONDICIONES AMBIENTALES EN EL POTENCIAL DE FIJACIÓN DE NITRÓGENO.....	32
DISCUSIÓN	34
CONCLUSIONES	42
REFERENCIAS	44
MATERIAL SUPLEMENTARIO	54
APÉNDICE 1: ENSAYO DE REDUCCIÓN DE ACETILENO.....	56
APÉNDICE 2: PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE ADN.....	57

Resumen

El estudio de las comunidades microbianas es complejo dada la inmensa diversidad y abundancia de microorganismos en ambientes naturales. El desarrollo de tecnologías de secuenciación masiva ha permitido una caracterización más amplia de las comunidades microbianas. No obstante, aún no es clara la relación entre la diversidad de las comunidades microbianas con las funciones que realizan. En ese sentido, este trabajo evaluó el efecto de la composición de la comunidad procarionte y las condiciones ambientales en el potencial de fijación de nitrógeno con un experimento de trasplantes recíprocos. Se trasplantaron muestras de costras biológicas del suelo provenientes de dos ecosistemas áridos con condiciones de temperatura y precipitación contrastantes (desiertos fríos y calientes). La composición y estructura de la comunidad fueron evaluadas mediante secuenciación del gen 16S rRNA y el potencial de fijación de nitrógeno fue evaluado mediante el ensayo de reducción de acetileno. La composición de la comunidad procarionte y el potencial de fijación de nitrógeno fueron evaluados antes y después del trasplante. Los resultados muestran un efecto del trasplante en la composición de la comunidad y el potencial de fijación de nitrógeno. La composición de la comunidad cambia después de los trasplantes, pero las comunidades conservan mayor similitud entre comunidades del mismo sitio que entre sitios. Los resultados del ensayo de reducción de acetileno sugieren que hay una interacción entre el origen de las costras biológicas (composición) y el sitio al que estuvieron expuestas (ambiente) la cual influye en el potencial de fijación de nitrógeno. De tal forma que las costras biológicas de suelo se desempeñan mejor en la fijación de nitrógeno en su sitio de origen. Los resultados de este estudio sugieren que tanto la composición microbiana y las condiciones ambientales afectan directamente la tasa de fijación de nitrógeno en costras biológicas.

Abstract

The study of microbial communities is complex given to the immense diversity and abundance of microorganisms in natural environments. The development of high-throughput sequencing technologies has allowed a wider characterization of microbial communities. However, the relationship between microbial community composition and functioning remains unclear. In this study, the effect of different prokaryotic community composition and environmental conditions on nitrogen fixation was tested with a reciprocal transplant experiment. Biological soil crusts samples from two arid ecosystems with contrasting temperature-precipitation regimes (hot and cold deserts) were transplanted between these two deserts. Community structure was determined through culture-independent analysis of the 16S rRNA gene and nitrogenase activity was measured with the acetylene reduction assay. Microbial composition and nitrogenase activity were measured before and after the transplant. We found significant differences between communities in composition and functional measures after the transplant. Although community composition changed after the transplants, communities retained more similitude between samples of the same origin. Results from the functional assay suggest an interaction between crust origin (a proxy for composition) and site of transplant (environment) that influences potential nitrogen fixation. Therefore, biological soil crusts perform better in their site of origin. These results suggest that microbial composition and the environmental conditions directly affect the rate of nitrogen fixation in biological soil crusts.

Introducción

La relevancia funcional de la diversidad microbiana

Los microorganismos son indispensables para sostener la vida en la Tierra dado que muchas reacciones de los ciclos biogeoquímicos son parte del metabolismo microbiano (Cavicchioli et al. 2019; Falkowski et al. 2008). En ambientes marinos, la producción primaria microbiana contribuye sustancialmente a la captura de dióxido de carbono; de igual forma las comunidades microbianas marinas reciclan nutrientes y los hacen disponibles para la cadena trófica (Behrenfeld, 2014). En ambientes terrestres, los microorganismos del suelo regulan la cantidad de carbono que se almacena o se libera a la atmósfera, e influyen directamente en la cantidad de carbono que se almacena en las plantas a través de la provisión de macronutrientes que regulan la productividad primaria (nitrógeno y fósforo) (Bardgett & van der Putten, 2014). Por lo tanto, las comunidades microbianas están intrínsecamente ligadas al funcionamiento ecosistémico en todo tipo de ambientes. A pesar de su papel fundamental en el ciclaje de nutrientes, aún no entendemos completamente cómo responden las comunidades microbianas a los cambios ambientales debido, en parte, a la vasta diversidad y abundancia de microorganismos y a la variedad de factores que interactúan con estos y que inciden en la composición de sus comunidades (Curtis et al., 2002; Hanson et al. 2012; Torsvik et al. 2002). Una consecuencia de la estrecha relación entre la diversidad de microorganismos y los procesos de relevancia ecosistémica es el hecho de que cambios en la composición y abundancia de especies en las comunidades microbianas pueden repercutir en dichos procesos y, a su vez, puede tener repercusiones en las comunidades de macroorganismos que se desarrollan sobre el suelo (Bier et al., 2015; Van Der Heijden et al., 2008; Wardle et al., 2004).

Los modelos propuestos para el ciclaje biogeoquímico consideran a las comunidades microbianas como una "caja negra", lo cual ignora tanto la biomasa como la diversidad de dichas comunidades y las relega simplemente a ser el

medio a través del cual ocurren dichos procesos (Bradford & Fierer, 2012; Treseder et al. 2012). El modelo de “caja negra” asume que comunidades microbianas distintas funcionarán de la misma manera si las condiciones ambientales permanecen iguales (Bradford & Fierer, 2012). Dada la inmensa diversidad de los microorganismos, la flexibilidad metabólica y la capacidad para adaptarse a distintas condiciones ambientales, estos supuestos resultan plausibles (Allison & Martiny, 2008; Strickland et al. 2009).

Algunos trabajos experimentales recientes han encontrado evidencia de la relación entre la composición de las comunidades microbianas y sus funciones con relevancia ecosistémica como la descomposición de materia orgánica del suelo (Allison et al., 2013; Chávez-Vergara et al., 2018; Glassman et al., 2018; Martiny et al., 2017; Strickland et al., 2009), flujos de carbono en sedimentos (Reed & Martiny, 2013) y multifuncionalidad ecosistémica (Wag et al. 2014). No obstante, también hay estudios en los que las comunidades microbianas y los procesos que llevan a cabo parecieran estar desacoplados. Por ejemplo, la liberación de compuestos lábiles de carbono al suelo se ve limitada por la absorción de estos compuestos por las partículas de arcilla del suelo; en este caso, es poco probable que la comunidad microbiana influya de manera significativa en la tasa a la que estos materiales son procesados (Schimel & Schaeffer, 2012). Por lo tanto, este desacoplamiento entre composición microbiana y respuesta funcional puede ocurrir cuando el factor limitante de tales procesos es abiótico, como la temperatura u otras variables climáticas y/o ambientales (Bier et al., 2015). Para discernir entre los efectos de factores abióticos y bióticos (p. ej. la composición de la comunidad) en las funciones ecosistémicas, se cuentan con diseños experimentales como los trasplantes recíprocos *in situ*, que ponen a prueba simultáneamente el efecto de la composición de la comunidad y el efecto de las condiciones ambientales en las funciones ecosistémicas. La prueba simultánea del efecto del ambiente y las condiciones ambientales en las funciones de relevancia ecosistémica es posible al exponer a cada una de las comunidades a los distintos ambientes de las cuales son originarias (Reed & Martiny, 2007). Hay tres posibles resultados de este

experimento. (1) Cuando el parámetro funcional depende sólo de la composición de la comunidad, entonces comunidades distintas realizarán el proceso evaluado de forma diferente independientemente del ambiente en el que se encuentren (Fig. 1(a)). (2) En contraste, si el ambiente, pero no la composición de la comunidad, influye en el parámetro funcional evaluado, entonces las comunidades se desempeñarán de forma similar dentro del mismo ambiente. Si las comunidades son expuestas a otro ambiente, estas se desempeñarán diferente con respecto al ambiente previo, pero de forma similar dentro de este nuevo ambiente (Fig. 1(b)). (3) Cuando hay un efecto interactivo o simultáneo de la composición y el ambiente en el parámetro funcional evaluado, entonces las comunidades funcionarán de forma diferente y como difieran dependerá del ambiente que estén experimentando (Fig. 1(c)). Cuando ocurre una interacción entre el ambiente y la composición también es posible evaluar si los efectos de la composición son más importantes en ciertos ambientes que en otros. Por ejemplo, cuando las comunidades realizan una función de manera más eficiente en ambientes más similares a su ambiente de origen, o si hay ambientes específicos en los que comunidades distintas se desempeñen mejor, independientemente de la similitud con su ambiente de origen (Glassman et al., 2018).

La información derivada de este tipo de experimentos permite establecer relaciones cuantitativas entre la diversidad microbiana, las condiciones ambientales y el desempeño funcional con relevancia ecosistémica. De igual forma, los resultados de estos estudios en principio pueden informar y mejorar los modelos predictivos de funciones a escala ecosistémica, como la fijación de carbono, al incorporar variables sobre diversidad y abundancia de microorganismos (Graham et al., 2016, 2014). La integración de la información sobre diversidad y composición de comunidades microbianas en modelos predictivos funcionales es fundamental para escalar de la escala micrométrica, a la cual operan los mecanismos que controlan la diversidad, a la escala del paisaje, donde las implicaciones de estos procesos resultan relevantes para los ecosistemas (Bradford & Fierer, 2012; Cavicchioli et al., 2019; Prosser et al., 2007). Dada la velocidad e intensidad de los cambios ambientales como

consecuencia del cambio climático, entender como los microorganismos responden a estos cambios es una pregunta importante para la ecología microbiana (Cavicchioli et al., 2019; De Vries & Shade, 2013).

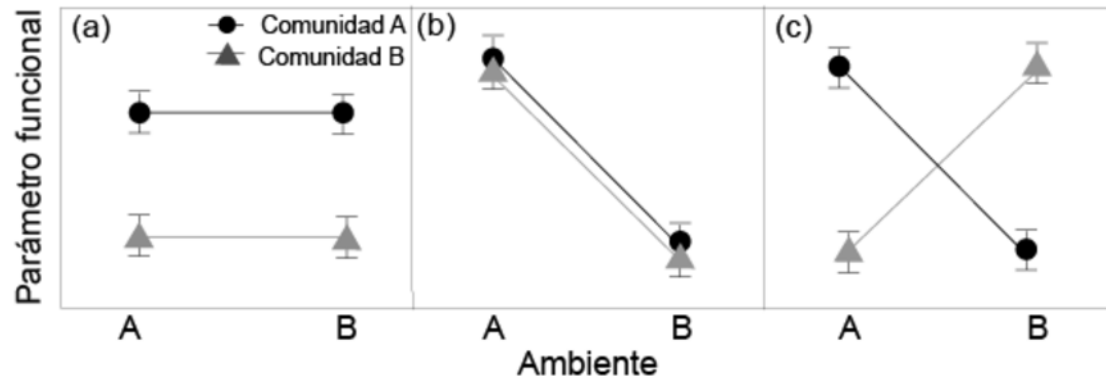


Fig. 1. Tres posibles resultados de un experimento de trasplantes recíprocos con dos comunidades provenientes de dos ambientes distintos. (a) Efecto sólo de la composición de la comunidad, (b) efecto sólo del ambiente, (c) efecto interactivo o simultáneo de la composición de la comunidad y el ambiente. Modificada de Reed y Martiny (2007).

Sistema de estudio: suelos áridos y costras biológicas de suelo

Los ecosistemas áridos y semiáridos junto con su microbiota asociada, representada principalmente por las costras biológicas del suelo (CBS), resultan un sistema conveniente para implementar experimentos que permitan establecer relaciones cuantitativas entre la diversidad y composición de comunidades microbianas y las funciones que llevan a cabo (Bowker et al., 2014; Bowke et al., 2010).

Los ecosistemas áridos y semiáridos comprenden alrededor del 45% de la superficie terrestre y se espera que esta superficie se extienda como consecuencia del cambio climático (Schimel, 2010; Zeng & Yoon, 2009). Debido a que distintos factores pueden actuar en conjunto para generar una región árida, los distintos desiertos alrededor del mundo están sujetos a distintos regímenes climáticos (Peel, Finlayson, & McMahon, 2007), y aunque la característica que define a los desiertos es el déficit hídrico (Thomas, 2011), otras variables climáticas, como la temperatura media anual (TMA) y la estacionalidad de lluvias, son utilizadas para clasificar a los desiertos en fríos ($TMA < 18^{\circ}\text{C}$) o calientes

(TMA>18°C) (Peel et al., 2007). Esta clasificación también refleja el régimen de lluvias en distintos desiertos, por lo que la estacionalidad de lluvias en los desiertos calientes se da principalmente en los meses más cálidos de año (verano), mientras que en los desiertos fríos la estacionalidad de lluvias ocurre en los meses más fríos del año (invierno). (Ezcurra, Mellink, & Martínez-Berdeja, 2014). Debido a estas características, los desiertos fríos y calientes representan un escenario con condiciones climáticas contrastantes que permiten poner a prueba la influencia de variables climáticas como estacionalidad de lluvias y TMA en funciones de relevancia ecosistémica en las que están involucrados los microorganismos.

La diversidad microbiana en ecosistemas áridos está principalmente representada por las CBS (costras biológicas del suelo). Las CBS se forman a través de una íntima asociación entre las partículas del suelo con cianobacterias, algas, hongos microscópicos, líquenes y briófitas (algunos de estos organismos pueden estar presentes en diferentes proporciones o incluso ausentes) que se desarrollan en la superficie y en los primeros centímetros del suelo (Belnap y Gardner 1993) (Fig. 1.2B). Pueden llegar a cubrir hasta un 70% del suelo en regiones hiperáridas, áridas, semiáridas, subhúmedas, alpinas y polares (Belnap y Lange 2003) (Fig. 2A).

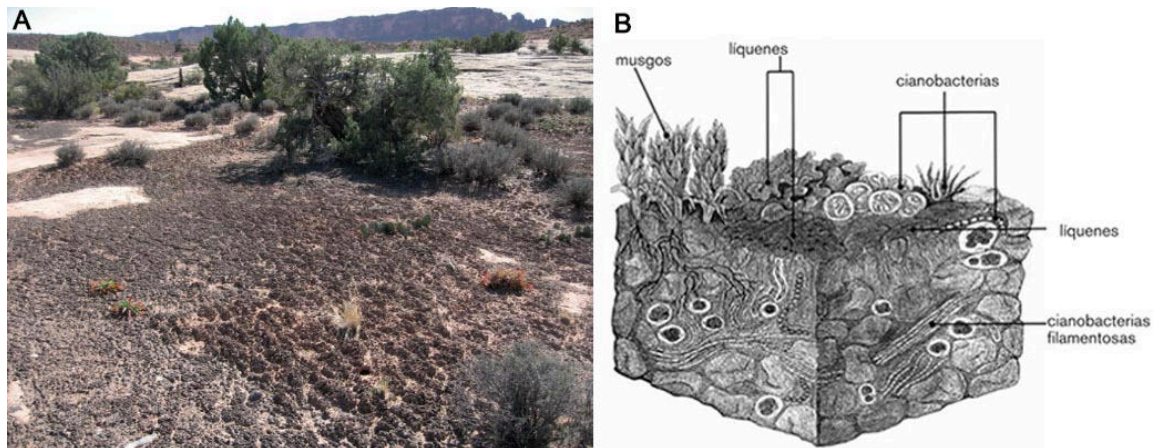


Fig. 2. Costras biológicas del suelo. A) Fotografía que muestra el aspecto y cobertura del suelo dominado por costras biológicas. Imagen tomada de Pointing y Belnap (2012). B) Diagrama en el que se muestran los principales taxa de las costras biológicas. Imagen modificada de Belnap y Lange (2003).

Los factores que influyen en la distribución de los organismos de las CBS son diversos, desde la elevación, tipo de suelo y topografía, hasta la estructura de las comunidades vegetales y la temporada de lluvias son factores que determinan la composición de estas comunidades (Belnap et al. 2003). En términos generales, se ha demostrado que la distribución de los microorganismos está dictada tanto por factores ambientales contemporáneos como por procesos que han ocurrido en el pasado geológico y que han influido en la composición de las comunidades microbianas (Martiny et al. 2006; Hanson et al. 2012). En este sentido, algunos estudios enfocados en cianobacterias, que son el componente principal de las comunidades de CBS, han encontrado una distribución diferencial entre desiertos fríos y calientes. En particular, Bahl et al. (2011) observaron que variantes del género *Chroococcidiopsis* se agrupan filogenéticamente dependiendo del tipo de desierto de origen (frío o caliente), independientemente de la distancia geográfica entre los sitios de muestreo. Por otra parte, García-Pichel et al. (2013) encontraron que la comunidad fotótrofa de las CBS del suroeste de Estados Unidos están dominadas por dos especies de cianobacterias: *Microcoleus vaginatus* y *Microcoleus steenstrupii*. Sin embargo, aunque ambas especies fueron detectadas en todas las muestras tomadas en el estudio, la dominancia de una u otra variaba en un gradiente latitudinal dependiendo principalmente de la temperatura media anual, siendo *M. vaginatus* más abundante en localidades con temperaturas frías (<15°C) mientras que *M. steenstrupii* dominaba en localidades con temperaturas más cálidas (>15°C). Además de la distribución diferencial por tipo de desierto, una serie de pruebas fisiológicas revelaron que *M. vaginatus* es un taxón psicrófilo mientras que *M. steenstrupii* representa un taxón termotolerante (García-Pichel et al., 2013). Estos hallazgos sugieren que, al menos, la comunidad procarionte fotótrofa de las CBS está influenciada por variables ambientales relacionadas con la temperatura, y además podrían estar indicando que estos taxa muestran adaptaciones a los distintos regímenes ambientales a los que están sujetas las zonas áridas del planeta.

En las CBS se pueden identificar dos niveles tróficos principales: (1) el componente autotrófico, compuesto por musgos, líquenes, hepáticas,

cianobacterias, algas clorofitas, diatomeas u otras algas eucariontes; y (2) el componente heterotrófico compuesto por hongos microscópicos, protozoarios, bacterias y arqueas (Lalley et al. 2006, Darby et al. 2007). Debido a su composición específica y la estructura física que se forma al desarrollarse estas comunidades, las CBS juegan papeles diferentes en una amplia gama de funciones ecosistémicas (Fig. 3), lo cual permite emprender investigaciones en cuanto a la relación diversidad-función. Estas funciones comprenden:

- 1) Fijación de carbono: realizada por cianobacterias, algas eucariontes, briófitas y líquenes. Son todos productores primarios que proveen una vía de entrada de carbono al suelo (Lange et al. 1992).
- 2) Fijación de nitrógeno: llevada a cabo por líquenes con fotobiontes cianobacterianos, cianobacterias heterocísticas y bacterias heterótrofas (Belnap 2002).
- 3) Resistencia a la erosión: realizada por organismos con estructuras filamentosas (cianobacterias, hongos y musgos), los que producen exudados extracelulares orgánicos (cianobacterias) y los que sellan físicamente el suelo de las fuerzas erosivas (briofitas y líquenes), todos los cuales reducen la cantidad de sedimento que se pierde por el efecto de la erosión (Bowker et al. 2008).
- 4) Funciones hidrológicas: realizada por organismos que reducen el espacio de los poros en una escala microscópica, los que incrementan la rugosidad en una escala macroscópica y los que disminuyen la esorrentía (Maestre et al. 2002).
- 5) Descomposición de materia orgánica: llevada a cabo por organismos consumidores y contribuidores del reservorio de nutrientes los cuales alteran el estatus químico o hídrico en el suelo, y pueden alterar la disponibilidad de nutrientes y la tasa de ciclaje de los mismos (Harper & Belnap, 2001). Los hongos, bacterias, arqueas y microfauna son responsables de la descomposición de la materia orgánica de la costra biológica.

- 6) Efectos indirectos a través de la interacción entre especies: realizada por organismos de las CBS que interactúan con otros, como las plantas vasculares y sus simbiontes fúngicos. Las CBS mejoran la germinación de semillas y aporte de macronutrientes (Rivera-Aguilar et al. 2005, Escudero et al. 2007, Green et al. 2008).

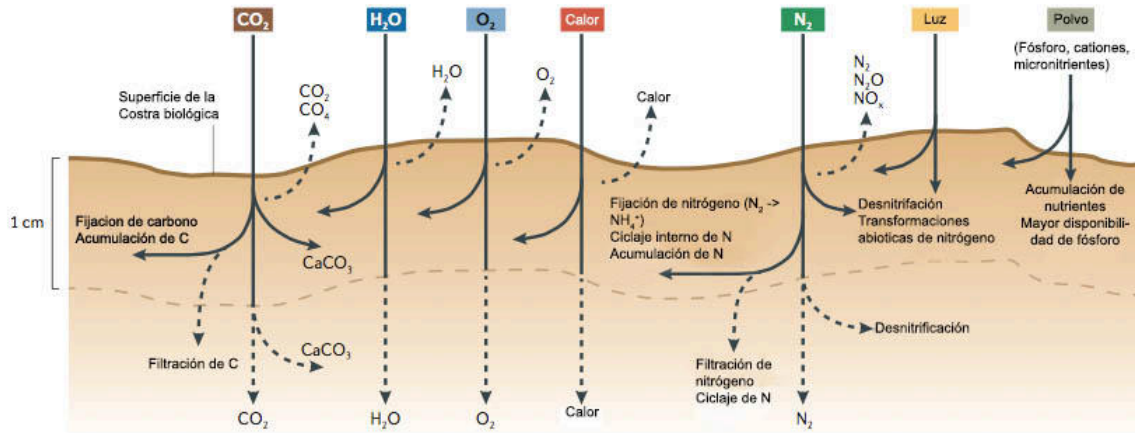


Fig. 3. Diagrama que muestra las diferentes funciones que llevan a cabo las costras biológicas. Es en los primeros centímetros de las costras biológicas donde las funciones más importantes se llevan a cabo. Modificado de Pointing y Belnap (2012).

A pesar de que se tienen bien documentadas las funciones de relevancia ecosistémica en las que las CBS están involucradas, algunos aspectos funcionales aún no han sido estudiados con suficiente detalle. Particularmente, la fijación de nitrógeno ha sido descrita y reconocida como una de las principales funciones que llevan a cabo las CBS (Belnap 2002, Billings et al. 2003, Housman et al. 2006, Veluci et al. 2006, Zhao et al. 2010, Elbert et al. 2012, Barger et al. 2013). Sin embargo, la caracterización de la comunidad procarionte responsable de este proceso no ha sido tan extensamente estudiada y ha sido principalmente descrita en desiertos de Norteamérica (Yeager et al. 2004, 2007, 2012, Zhang et al. 2014). La fijación de nitrógeno mediada por las CBS es sumamente importante para los ecosistemas áridos, ya que se ha estimado que globalmente pueden llegar a fijar aproximadamente 33 Tg (33×10^{12} g) de nitrógeno al año, lo que representa aproximadamente el 30% del nitrógeno fijado biológicamente a nivel global (Elbert et al. 2012). Esto revela la gran importancia de las costras biológicas

del suelo, sobre todo considerando que el nitrógeno es el segundo recurso limitante para la producción primaria de los ecosistemas áridos, sólo después del agua (Fisher et al. 1988, Vitousek y Howarth 1991). Dada la influencia de las condiciones ambientales en los patrones de distribución de los organismos que componen las CBS, la facilidad para su manipulación y experimentación y su importancia en la entrada de nitrógeno al suelo a través de estas comunidades; las CBS resultan un sistema modelo adecuado y relevante para estudiar la relación que existe entre la diversidad, ambiente y funciones, particularmente la fijación de nitrógeno.

Aproximación de estudio

Mediante un diseño experimental de trasplantes recíprocos, este trabajo busca analizar la contribución relativa de la composición de la comunidad procarionte y las condiciones ambientales en el potencial de fijación de nitrógeno de comunidades procariontes de las CBS de dos ecosistemas áridos de México con condiciones de temperatura y estacionalidad de lluvia contrastantes. La obtención de datos de diversidad será mediante herramientas independientes de cultivo y la medida funcional será el potencial de fijación de nitrógeno mediante el ensayo de reducción de acetileno.

Hipótesis

La pregunta de investigación es si la composición de las comunidades microbianas de las CBS tiene efecto en funciones de relevancia ecosistémica. Para responder esta pregunta, el experimento planteado en este proyecto pondrá a prueba las siguientes hipótesis:

H₁ El potencial de fijación de nitrógeno en CBS se explica por la composición de las comunidades bacterianas, entonces comunidades con distinta composición mostrarán distintos valores en el potencial de fijación de nitrógeno.

H₂ - La composición y estructura taxonómica original de las comunidades procariontes de las CBS limita su respuesta taxonómica y funcional (potencial de fijación de nitrógeno), de tal forma que ante un cambio ambiental se seleccionan comunidades distintas y estas comunidades no son funcionalmente equivalentes.

Objetivos

General. Identificar el papel que juega la diversidad microbiana en las CBS en la función ecosistémica, evaluada mediante el potencial de fijación de nitrógeno y como responden las comunidades a cambios ambientales.

Particulares.

1. Caracterizar la composición taxonómica de comunidades procariontes del suelo de dos ecosistemas áridos de México con condiciones ambientales contrastantes, utilizando técnicas de secuenciación masiva del gen 16S rRNA.
2. Caracterizar el potencial funcional (fijación de N₂) de comunidades procariontes del suelo de dos ecosistemas áridos de México con condiciones ambientales contrastantes, mediante el ensayo de reducción de acetileno.
3. Determinar cambios en la diversidad taxonómica (gen 16S rRNA) y el potencial funcional (potencial de fijación de N₂) de las comunidades procariontes de CBS de los dos ecosistemas muestreados, transcurrido el efecto del trasplante recíproco.
4. Integrar la información taxonómica y funcional en análisis multivariados que identifiquen la contribución de: la composición, el azar (réplicas) y condiciones ambientales en las diferencias de composición y funcionalidad.

Materiales y método

Sitios de estudio. - Se eligieron comunidades microbianas de CBS en dos ecosistemas áridos contrastantes de México, que pertenecen a distintas regiones biogeográficas y difieren en patrones de precipitación y temperaturas (Franco-Vizcaíno & Sosa-Ramirez, 1997; León-Arizmendi, 2012; López-Lozano et al., 2012). El primer sitio está localizado en Cuatro Ciénegas (CC), Coahuila (Churince, 26. 50° N, 102.08° O), definido como "desierto caliente" debido a que es un clima seco con estacionalidad de lluvias en verano con una temperatura media anual de 21.8°C. El segundo sitio se localiza en el Valle de Guadalupe (VG), Baja California (Rancho El Mogor, 32.04° N, 116.60° O), definido como "desierto frío" debido a que es un clima seco con estacionalidad de lluvias en invierno con una temperatura media anual es de 17.3°C.

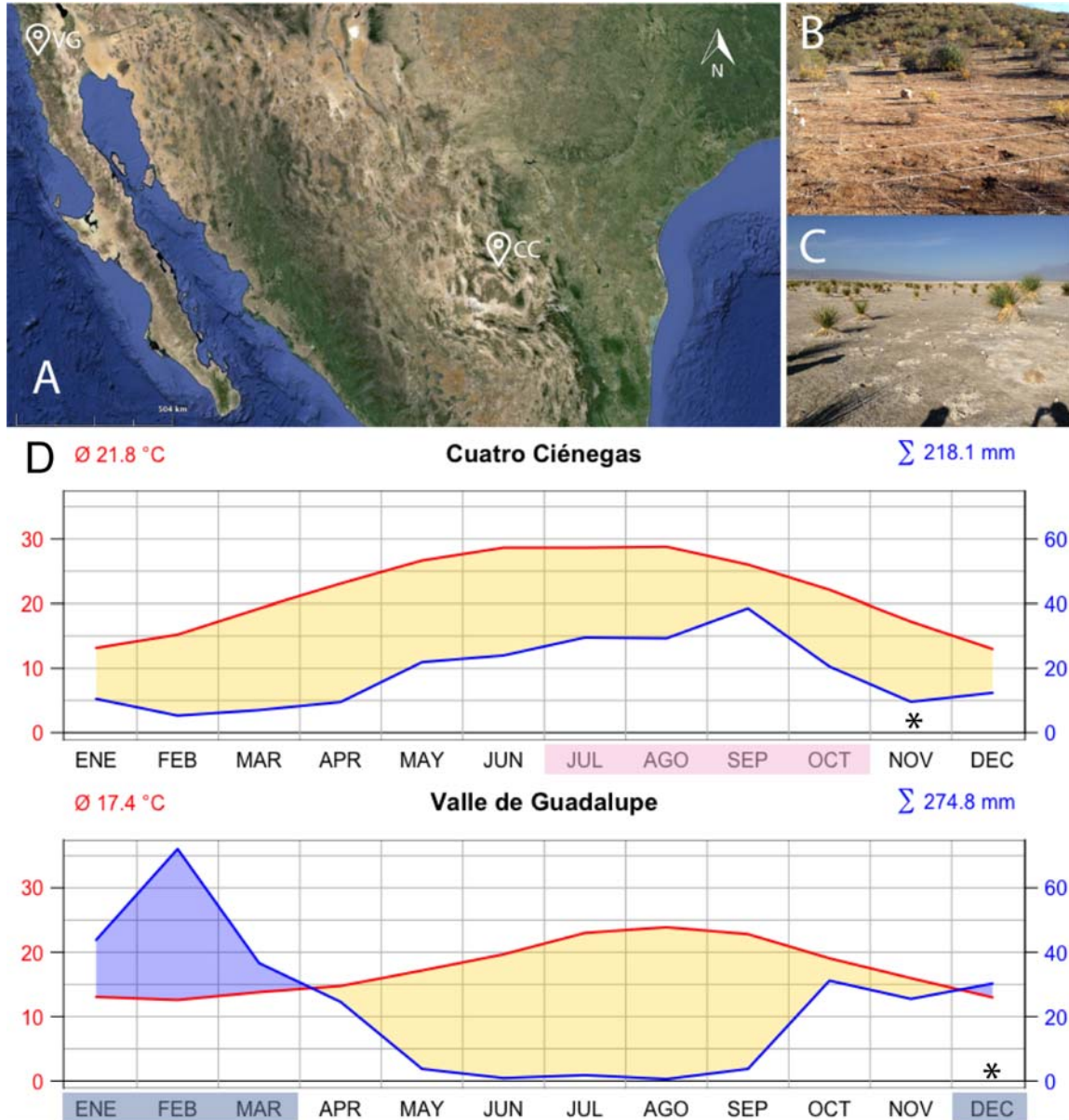


Fig. 4. Ubicación geográfica, fotografías y diagrama ombrotérmico de los sitios de muestreo. A) Ubicación geográfica de los sitios de estudio. B) Sitio en Valle de Guadalupe (VG), Baja California, Rancho el Mogor (32.04° N, 116.60° O), diciembre de 2012. C) Sitio en Cuatro Ciénegas (CC), Coahuila, Churince (26.50° N, 102.08° O), noviembre de 2012. D) Diagrama ombrotérmico de cada sitio mostrando la temperatura promedio mensual (línea roja, eje derecho) y la precipitación total mensual (línea azul, eje izquierdo). Los asteriscos indican el mes en el que se tomaron las muestras. Los meses sombreados representan el periodo en el cual ocurrieron los trasplantes en cada sitio (Datos: SMN). Fotografía: Alberto Barrón.

Toma de muestras. - En cada sitio se llevó a cabo un muestreo de cuadros anidados descrito por Noguez *et al.*, (2005). Brevemente, se trazó un cuadro de

64 m² (8 x 8 m), dentro del cual se trazaron cuadros de 1 m². Se muestreó siguiendo un patrón de tablero de ajedrez. Las muestras fueron colectadas en cilindros de PVC de 11 cm de diámetro por 5 cm de profundidad, entre noviembre y diciembre del 2012. Se tomaron 20 muestras por sitio en un esquema aleatorio. De igual forma se realizaron cuatro "auto-trasplantes", considerados como controles. Estos "auto-trasplantes" consisten en muestras que fueron tomadas y procesadas de la misma manera que todas las muestras, pero fueron colocadas de nuevo en su sitio de origen y no en el sitio recíproco. En campo, cada núcleo de suelo superficial de 15 cm se submuestreó (d=1 cm) para análisis moleculares de diversidad en el laboratorio. El resto de la muestra se colocó en bolsas negras de plástico para su posterior transporte al sitio de campo recíproco. Todas las muestras tomadas por sitio (n=20) fueron colocadas en bolsas de nitrocelulosa (las cuales permiten el flujo de agua y iones, pero no de células) y selladas para la implantación en el sitio recíproco. La movilización de muestras de un sitio a otro se realizó en un plazo no mayor a dos semanas y las muestras se mantuvieron en un contenedor hermético a temperatura ambiente. Es importante mencionar que se también se tomaron muestras de suelo para análisis moleculares justo antes de colocar el trasplante en el sitio recíproco. Esto con la finalidad de evaluar posibles efectos de la manipulación y transporte de las muestras en la diversidad y composición de las comunidades. Dado que no se observaron cambios significativos (Figs. S1 y S2), estos resultados se muestran como material suplementario como referencia. Finalmente, el trasplante de las comunidades se mantuvo por cuatro meses durante la temporada de lluvias en cada sitio (CC: verano, VG: invierno, Fig. 4D) antes de ser recuperado para su caracterización final.

Determinación de los parámetros fisicoquímicos del suelo. - El pH del suelo fue medido con un potenciómetro digital (Corning), usando agua desionizada (1:2 p/v). Previo a la determinación de nutrientes, una alícuota de 100 g de suelo fue secada en una estufa a 75 °C hasta obtener un peso constante. El carbono orgánico total fue determinado por combustión en seco y determinación coulométrica (Huffman, 1977) usando un Total Carbon Analyzer (UIC Mod. CM5012; Chicago,

Estados Unidos). El nitrógeno y fósforo total en el suelo fueron extraídos mediante digestión ácida con H_2SO_4 , H_2O_2 , K_2SO_4 y CuSO_4 a 360°C . La concentración de nitrógeno total fue determinada usando un método modificado de Kjeldahl (Bremner, 1996) y la concentración de fósforo fue determinada por colorimetría, usando el método de ácido molibdato-ascórbico (Murphy & Riley, 1962). Ambos fueron cuantificados con un Bran-Luebbe Auto Analyzer III (Nordestedt, Germany). Las formas inorgánicas del nitrógeno (NH_4^+ y NO_3^-) fueron extraídas con 2M KCl (Robertson et al., 1999) y determinadas colorimétricamente mediante el método de fenol-hipoclorito.

La determinación de estas variables fue realizada con muestras de suelo adyacente al lugar donde fue tomada la muestra con el cilindro de PVC para las muestras antes del trasplante. De esta forma se determinaron las condiciones iniciales de ambos sitios. Las medidas después del trasplante fueron realizadas con muestra de suelo proveniente de la bolsa de nitrocelulosa una vez recuperadas las muestras.

Medición de la función ecosistémica (potencial de fijación de nitrógeno, PFN). -

Esta función se estimó mediante el ensayo de reducción de acetileno (ARA, por siglas en inglés). Después del periodo de trasplante en cada sitio, las muestras fueron recuperadas y transportadas de regreso al laboratorio donde se realizó el ensayo de reducción de acetileno en condiciones de laboratorio. En este ensayo, se sometió a cada muestra a una concentración conocida de acetileno (C_2H_2 , molécula con triple enlace) y, tras incubación de la muestra con este gas, se cuantificó por medio de cromatografía de gases la reducción de acetileno a etileno (C_2H_4) (Hardy et al., 1973) y a etano (C_2H_6) (Dilworth et al., 1988). Dichas mediciones permiten estimar de manera indirecta la actividad catalítica de la nitrogenasa, ya que la nitrogenasa también reduce el acetileno a etileno y, por lo tanto, se mide indirectamente la actividad catalítica de esta enzima (Hardy et al., 1973). Para esto, las muestras colectadas en campo y colocadas en platos de PVC fueron sometidas a este ensayo para estimar el potencial de fijación de nitrógeno. Los detalles técnicos de este procedimiento se encuentran en el Apéndice 1.

Extracción de DNA y secuenciación. - De cada muestra tomada para análisis moleculares se extrajo el DNA mediante un protocolo que combina una lisis con soluciones de fosfatos y fenol con columnas de purificación de un kit comercial (Apéndice 2). 1 μ L de DNA de cada extracción fue añadido a una mezcla que contenía: 12.5 μ L de AccuStart II PCR ToughMix (QuantaBio, concentración 2x, concentración final 1x), 0.2 μ M del primer forward y 0.2 μ M del primer reverse, y H₂O para llegar a un volumen final de 25 μ L. Se usó el primer forward 515 (GTGYCAGCMGCCGCGGTAA) y el primer reverse 926 (CCGYCAATTYMTTTRAGTTT) diseñados por Caporaso *et al.* (2012) y modificados por Apprill *et al.* (2015), que amplifican la región V4-V5 del gen 16S rRNA. Las reacciones de amplificación se realizaron con el siguiente programa: desnaturalización inicial a 94°C por 3 min, seguido de 30 ciclos de, 94°C por 45s, 55°C por 30s, 72°C por 60s y un paso de extensión final del 72°C por 10 min. Todas las muestras amplificadas fueron mezcladas en un tubo Eppendorf de baja afinidad basándose en imágenes de geles de electroforesis, con 1, 2, o 3 μ L añadidos para bandas intensas, moderadas o tenues, respectivamente. Después de mezclar los productos de PCR, éstos fueron limpiados utilizando el kit de purificación Agencourt AMPure XP PCR Purification Kit (Beckman Coulter Inc., Indianapolis IN, EUA), siguiendo las instrucciones del fabricante. La calidad de los productos de PCR fue evaluada con un ensayo de alta sensibilidad de DNA en un Bioanalyzer Agilent en el Genome High-throughput Facility de la Universidad de California, Irvine (EUA). Los productos de PCR fueron secuenciados en esta misma unidad con la plataforma Illumina MiSeq 250 paired-end.

Análisis bioinformáticos. - Los datos de secuencias obtenidos fueron procesados con la herramienta QIIME2 (versión 2019.1, Bolyen *et al.*, 2019). Después de separar las secuencias por muestra en archivos independientes, las secuencias empalmadas fueron procesadas con DADA2 (Callahan *et al.*, 2016) para el filtrado de calidad y desreplicación. Las unidades taxonómicas operacionales (OTUs, por sus siglas en inglés) fueron agrupadas bajo una similitud del 97% entre secuencias, utilizando el algoritmo VSEARCH (Rognes, Flouri, Nichols, Quince, & Mahé, 2016). La identidad taxonómica fue asignada con la base de datos de

SILVA (132 release) (Quast et al., 2013) como base de datos de referencia utilizando el plugin de QIIME2 q2-feature-classifier (Bokulich et al., 2018) y aquellos OTUs identificados como cloroplastos o mitocondrias fueron descartados. Las secuencias representativas fueron alineadas utilizando el algoritmo MAFFT (Kato & Standley, 2013), y un árbol filogenético de máxima verosimilitud fue calculado con FastTree 2 v1.11 (Price, Dehal, & Arkin, 2010).

Análisis de diversidad y estadísticos. - Todos los análisis de diversidad fueron realizados utilizando una tabla rarificada a una profundidad de 1303 secuencias por muestra. La rarefacción y los cálculos de diversidad alfa y beta fueron realizados con los paquetes 'phyloseq' (McMurdie & Holmes, 2013) y 'vegan' (Oksanen et al., 2018). Todos los análisis estadísticos se realizaron con el lenguaje de programación R v. 3.6.1 (R Core Team, 2017).

- Diversidad alfa: Se calcularon los estimadores de diversidad alfa Chao1 y Shannon, y se realizó una ANOVA de dos vías para evaluar el efecto del sitio de origen (como proxy de composición) y el ambiente en el que estuvieron trasplantadas en los valores de diversidad alfa. Las curvas de rarefacción fueron calculadas con el paquete iNext (Hsieh et al. 2016).
- Diversidad beta: Las diferencias en la composición de la comunidad bacteriana entre sitios y fase del experimento (antes y después del trasplante) fueron analizadas con un escalamiento multidimensional no-métrico (NMDS por sus siglas en inglés) usando una matriz de disimilitud creada con las distancias de UniFrac ponderadas (Lozupone & Knight, 2005). Se realizaron pruebas de PERMANOVA para evaluar estadísticamente las diferencias en cuanto a la composición filogenética de la comunidad entre ambos sitios y las fases del experimento, utilizando la función "adonis" del paquete "vegan".
- Mapa de calor: Para comparar la similitud en la composición y abundancia de OTUs entre cada una de las muestras se construyó una matriz de distancia con el índice de disimilitud de Bray-Curtis (Bray y Curtis 1957) utilizando el paquete "vegan". Con esta matriz de distancia se realizó un análisis de UPGMA con el método de promedio. Finalmente, con el

agrupamiento de las muestras se graficó la abundancia de los 400 OTUs mas abundantes.

- Identificación de taxa con abundancias diferenciales: Mediante un análisis linear discriminante (LDA) y tamaño de efecto (LEfSe) (Segata et al., 2011) se identificaron taxa del phylum Cyanobacteria característicos de cada sitio y fase del experimento. Este análisis se realizó con la herramienta en línea “MicrobiomeAnalyst” (Dhariwal et al., 2017).

Comparación estadística de las variables fisicoquímicas del suelo. – Se realizaron pruebas de Shapiro a cada una de las variables medidas para determinar la distribución de los datos. Posteriormente, dependiendo de la distribución de cada variable, se realizaron pruebas de *t* de student o pruebas de Mann-Whitney para evaluar si los valores obtenidos son diferentes entre el origen de las muestras y antes y después del trasplante.

Efecto de la composición de la comunidad y las condiciones ambientales en el potencial de fijación de nitrógeno. - Se utilizaron pruebas de Mann-Whitney para evaluar el efecto del origen (composición de la comunidad) y el sitio (condiciones ambientales) en la actividad potencial de la nitrogenasa (evaluada con el ensayo de reducción de acetileno).

Resultados

Variables fisicoquímicas del suelo

Es importante mencionar que, debido a la cantidad de muestra de suelo recuperada después de los trasplantes, no se pudieron medir todas las variables que se midieron antes del trasplante. Se realizaron las comparaciones posibles en consideración de lo anterior. Los análisis estadísticos realizados para comparar las propiedades antes del trasplante entre ambos sitios muestran diferencias significativas para el pH, COT, NH_4^+ y NO_3^- , mientras que para el fósforo disponible no. Se observa que en CC el pH es mayor, mientras que en VG el COT, NH_4^+ y NO_3^- son mayores (Fig. 5A, tabla 1). Al comparar las muestras después del trasplante observamos las mismas diferencias en el pH y COT, pero no el fósforo disponible (Fig. 5B, tabla 1). Al realizar las comparaciones entre antes y después del trasplante para las muestras de cada sitio, solo observamos diferencias significativas para el fósforo disponible en CC (Tabla 1). No obstante, es importante notar que hay una reducción importante de fósforo disponible después del trasplante para ambos sitios (Fig5A y B, tabla 1), aunque las diferencias solo sean significativas para las muestras de CC. De manera general se observan diferentes valores para ambos sitios en casi todas las características medidas evaluadas antes del trasplante, lo que sugiere que además de las diferencias climáticas de los sitios también el microambiente del suelo es distinto en ambos sitios. Eso puede implicar que las diferencias en composición y funcionamiento podrían también verse influenciadas por las características del suelo dentro de cada muestra trasplantada.

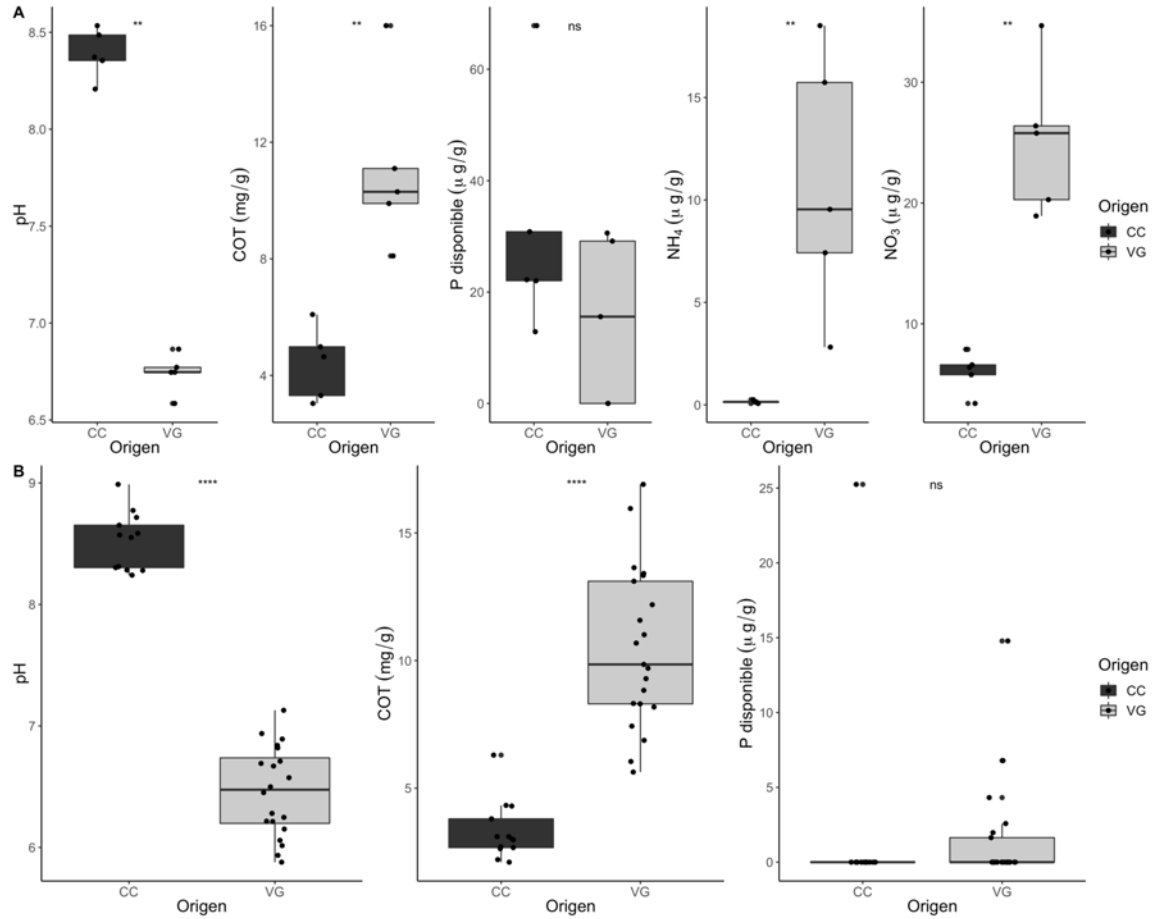


Tabla 1. Características fisicoquímicas del suelo de los sitios Cuatro Ciénegas (CC) y Valle de Guadalupe (VG).

	CC		VG		t(g.l)/W	P
	Valores antes del trasplante					
	Promedio	D.S	Promedio	D.S		
pH*	8.39	0.06	6.74	0.05	25	<0.05
NH ₄ * (µg/g)	0.15	0.03	10.80	2.83	0	<0.05
NO ₃ (µg/g)	6.01	0.74	25.21	2.79	-6.66 (4)	0.001
P.Disp (µg/g)	31.16	9.60	15.07	6.69	1.37 (7)	0.21
COT (mg/g)	4.41	0.56	11.08	1.32	-4.63 (5)	<0.05
	Valores después del trasplante					
pH*	8.51	0.24	6.46	0.37	260	<0.05
P.Disp* (µg/g)	1.94	7.00	1.53	3.52	111	0.21
COT* (mg/g)	3.32	1.13	10.49	3.12	2	<0.05
	Comparaciones entre antes y después del trasplante					
	W	P	W	P		
pH*	41	0.44	26	0.11		
P.Disp*	3	<0.05	27	0.05		
COT*	13	0.06	46	0.70		

Se realizaron pruebas de *t* de student con varianzas desiguales y pruebas de Mann-Whitney (W) para variables con distribución no normal. D.S = desviación estandar. * denota a las variables con distribución no normal. Los valores en negritas señalan los valores significativos ($p < 0.05$)

Composición y diversidad de las comunidades procariontes de las CBS

Diversidad Alfa: Después del análisis de rarefacción, se identificaron 3,216 OTUs en el total de las muestras del experimento. En la figura 6 se observan las abundancias relativas de los Phyla procariontes más abundantes (abundancia relativa > 1%) en cada fase del experimento, es decir las comunidades originales (cada comunidad en su sitio de origen, previo al trasplante) y las comunidades post-trasplante (las comunidades de cada sitio después de estar expuestas al sitio recíproco). En las comunidades provenientes de cada uno de los sitios se observa un cambio en la composición de la comunidad, antes y después del trasplante, dado por los cambios en las abundancias de los distintos Phyla (Fig. 6). En ambos casos el cambio más notorio es un aumento en el Phylum Firmicutes. También se observa una drástica reducción en la abundancia de los phyla Acidobacteria y Planctomycetes en las comunidades de CC después del trasplante. Por otra parte, la reducción en la abundancia del Phylum Cyanobacteria es mayor para las muestras de VG. De manera general se observan cambios más drásticos en las comunidades de CC que en las de VG, los cuales se analizan con más detalle a continuación.

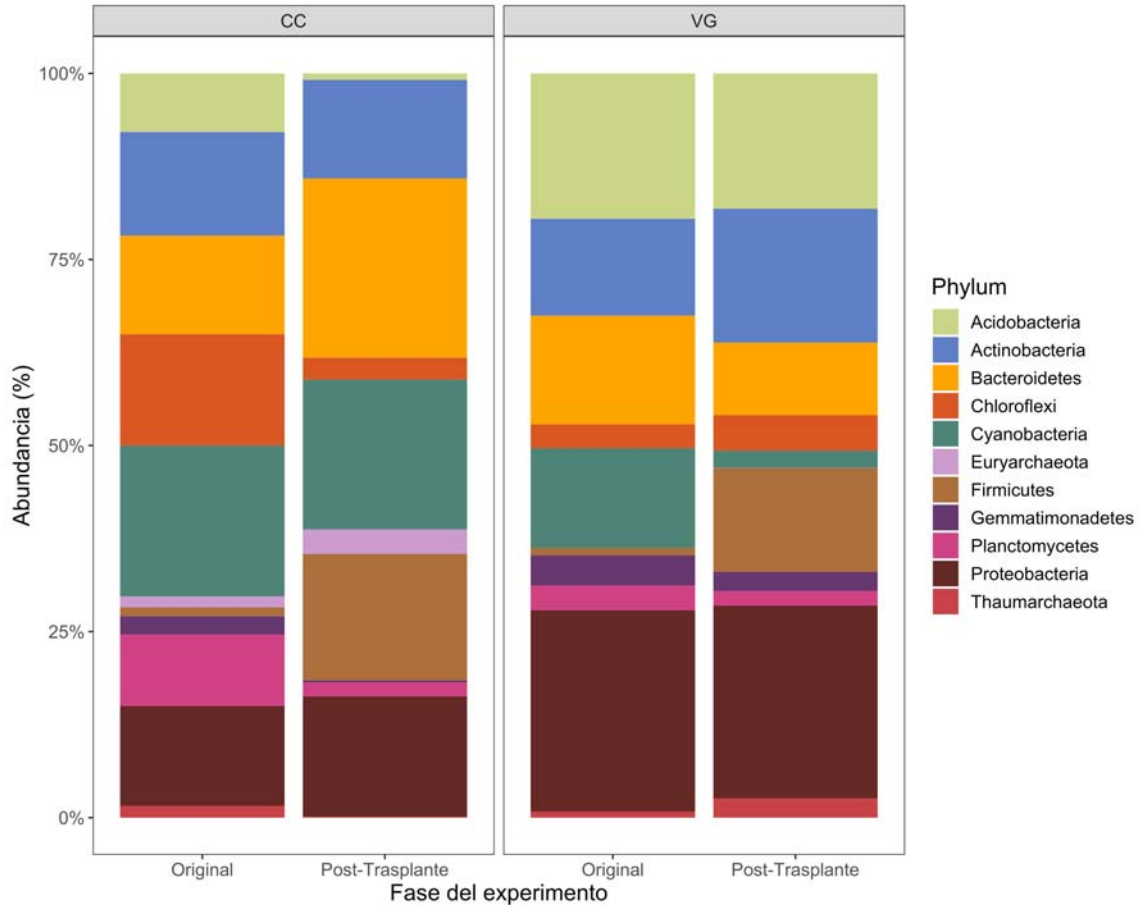


Fig. 6. Abundancias relativas de los Phyla más abundantes (abundancia relativa > 1%) en cada fase del experimento y provenientes de ambos sitios de estudio. CC: Cuatro Ciénegas, VG: Valle de Guadalupe. (Original: comunidades en su sitio de origen previo al trasplante, Post-trasplante: comunidades después de estar expuestas al sitio recíproco).

Las curvas de rarefacción nos muestran que a pesar de la variación en el número de secuencias obtenidas por muestra, todas las muestras alcanzan la asíntota (Fig. 7). Esto indica que a pesar de las diferencias en la profundidad de secuenciación entre las muestras, en todas las muestras se ha realizado un muestreo representativo de la comunidad y, por lo tanto, es posible realizar comparaciones en cuanto a la diversidad entre las muestras (Hughes & Hellmann, 2005).

sitio de origen y al ser expuesta al otro sitio, y por lo tanto a las condiciones ambientales de este, la diversidad se reduce. Es decir, que al cambiar las condiciones ambientales solo un subconjunto de la comunidad puede persistir en estas nuevas condiciones. De igual forma, es importante notar que este efecto se observa para las comunidades provenientes de ambos sitios. Estos resultados sugieren posibles adaptaciones de los organismos de cada comunidad a las condiciones ambientales de su sitio de origen.

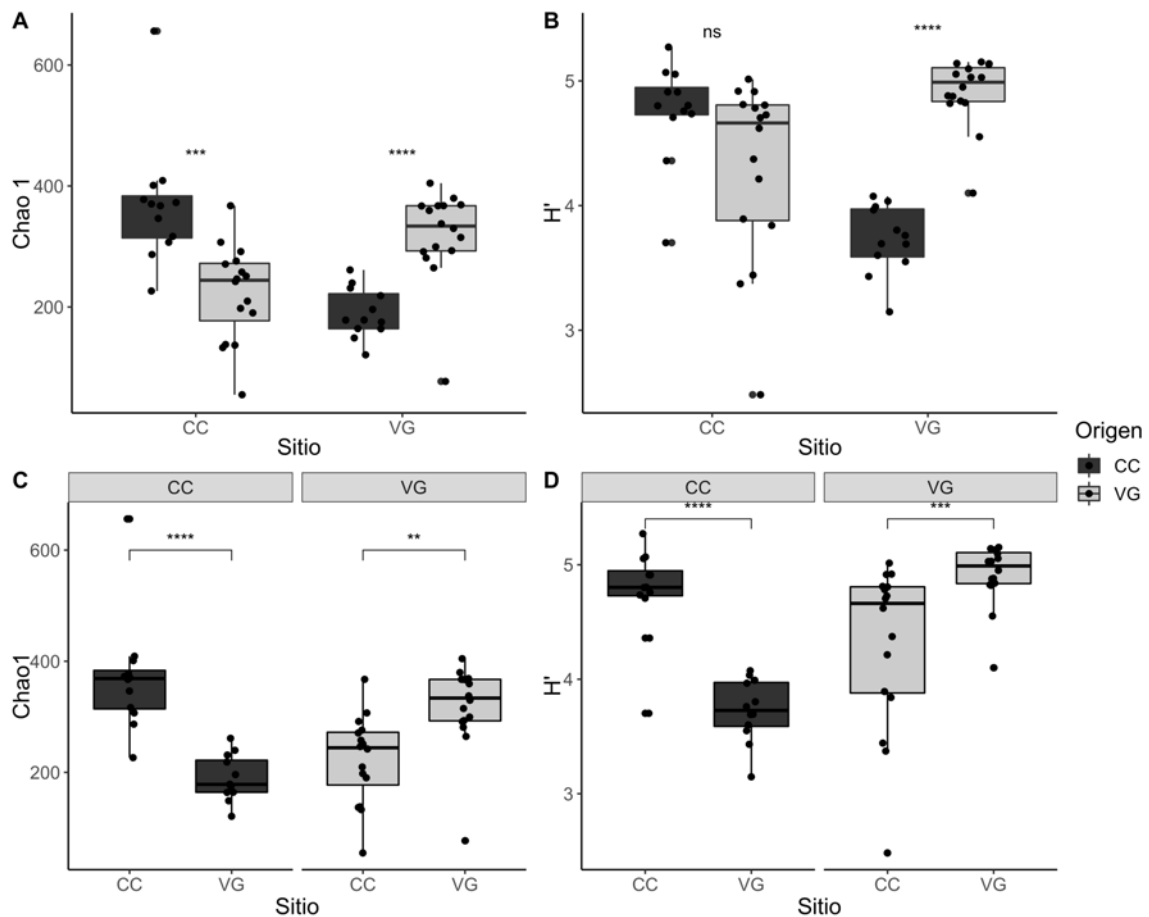


Fig. 8. Valores de diversidad alfa evaluados mediante el estimador Chao 1 y Shannon (H') para las muestras provenientes de cada sitio y ordenadas con respecto al sitio al cual fueron trasplantadas (A y B) y separadas por su origen (C y D). CC: Cuatro Ciénegas, VG: Valle de Guadalupe. Los símbolos “*” y “ns” denotan cuales comparaciones son significativamente diferentes (*) o no (ns). Se realizaron pruebas de *t* de student para el estimador de Chao1 (A y C) y Wilcoxon para el índice de Shannon (B y D).

Tabla 2. ANOVAS de dos vías para probar el efecto del Origen (composición), Sitio (ambiente) y Fase del Experimento en los valores de riqueza Chao 1

Factor	F_1	p
Origen	24.06	<0.001
Sitio	31.75	<0.001
Origen × Sitio	42.6	<0.001

Los valores significativos (< 0.05) se muestran en negritas.

Diversidad beta: La comunidad procarionte fue diferente entre las comunidades provenientes de CC y de VG (Fig. 9 y Tabla 3), tanto antes como después del trasplante. De igual manera, el análisis de PERMANOVA para evaluar diferencias en la composición de las comunidades con respecto a su origen y el ambiente al que estuvieron expuestas (sitio) indica cambios significativos en la composición de las comunidades antes del trasplante y después de este (Tabla 3). Es decir, si tomamos en su conjunto a las comunidades de ambos sitios, estas tienen una composición distinta antes y después del trasplante y también entre ambos sitios. Esto indica y corrobora que la exposición a condiciones climáticas distintas tiene un efecto particular en la estructura de cada comunidad. Para las muestras provenientes de CC es más claro el cambio en composición y estructura de la comunidad dado que se forman dos grupos de muestras, un grupo para las muestras antes del trasplante y otro grupo para las muestras después del trasplante (Fig. 9). Con respecto a las muestras provenientes del VG se observan un grupo de muestras en el que no se diferencian claramente entre antes y después del trasplante. No obstante, las pruebas estadísticas realizadas para evaluar diferencias significativas entre la composición de las comunidades revelan que hay una interacción entre el origen de las comunidades y el ambiente (Tabla 3). Esto indica que, por lo menos, las comunidades de al menos uno de los sitios son distintas antes y después del trasplante, y diferente con respecto a las

comunidades del otro sitio. Estos datos sugieren que las comunidades procariontes de las CBS responden de manera particular a los cambios ambientales, dependiendo de su composición original.

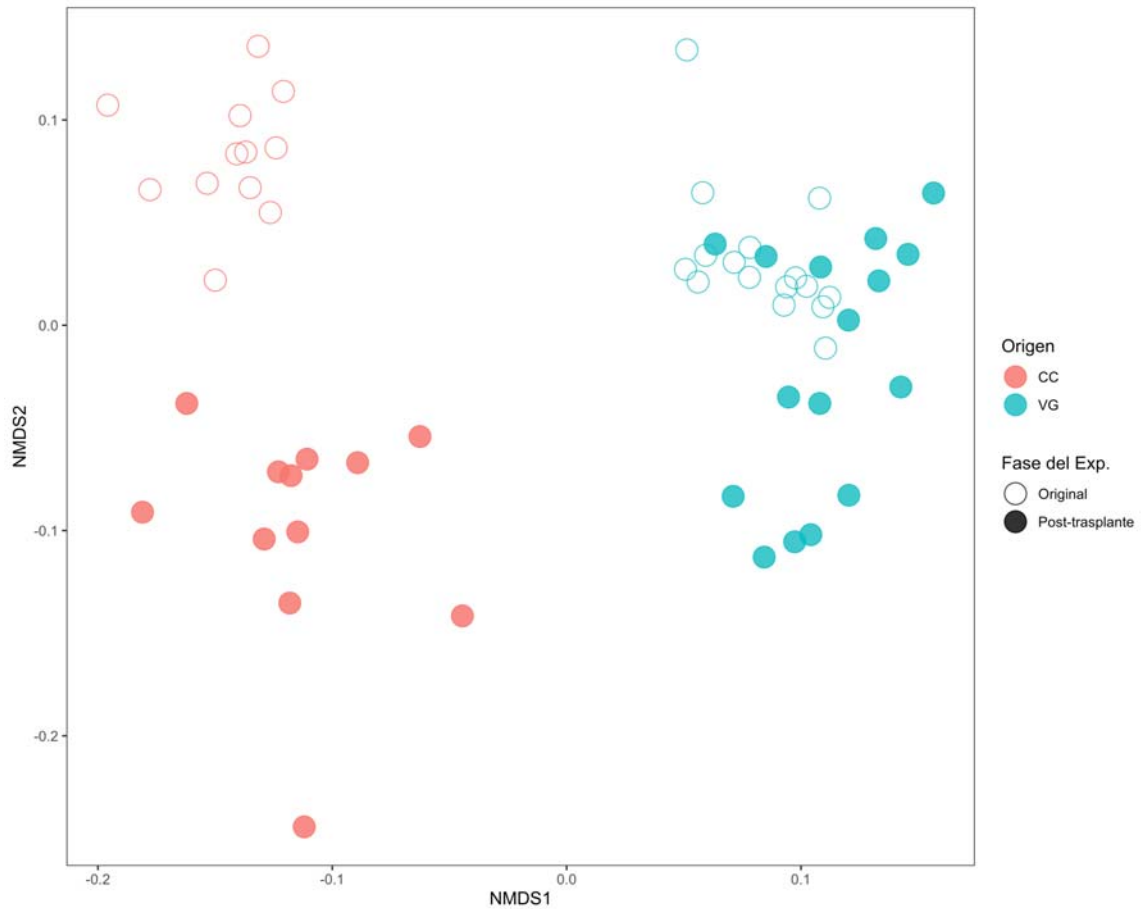


Fig. 9. Ordenamiento No métrico Multidimensional (NMDS por sus siglas en inglés) realizado con una matriz de distancias UniFrac. Original: comunidades en su sitio de origen previo al trasplante, Post-trasplante: comunidades después de estar expuestas al sitio recíproco.

Tabla 3. Resultados de PERMANOVA realizado con distancias de UniFrac usando datos de abundancia de la comunidad bacteriana con relación al origen de las muestras y fase del experimento.

Factores	Suma de		Pseudo-F	R ²	P
	GL	cuadrados			
Origen	1	0.71	50.03	0.39	<0.001
Sitio	1	0.15	10.84	0.08	<0.001
Origen x Sitio	1	0.2	14.57	0.11	<0.001

GL - grados de libertad. Los valores de *P*, están basados en 1000 permutaciones

Por otra parte, mediante un análisis de agrupamiento (UPGMA), realizado sobre una matriz de distancias de Bray-Curtis, podemos observar que para las comunidades provenientes de CC se forman dos grupos, uno antes del trasplante y otro después (Fig. 10A). Este patrón no se observa entre muestras antes y después del trasplante para las comunidades de VG. De manera general, se observa que la mayoría de los OTUs encontrados sólo están presentes en uno u otro sitio, pero no en ambos, compartiendo muy pocos OTUs entre ambos sitios (Fig. 10B). Los análisis de diversidad beta que se realizaron para comparar la similitud en estructura y composición de OTUs de las muestras indican una mayor similitud de la comunidad procarionte entre las muestras originarias de cada sitio que entre ambos sitios, incluso después de estar expuestas a las condiciones climáticas del sitio con el que se busca comparar.

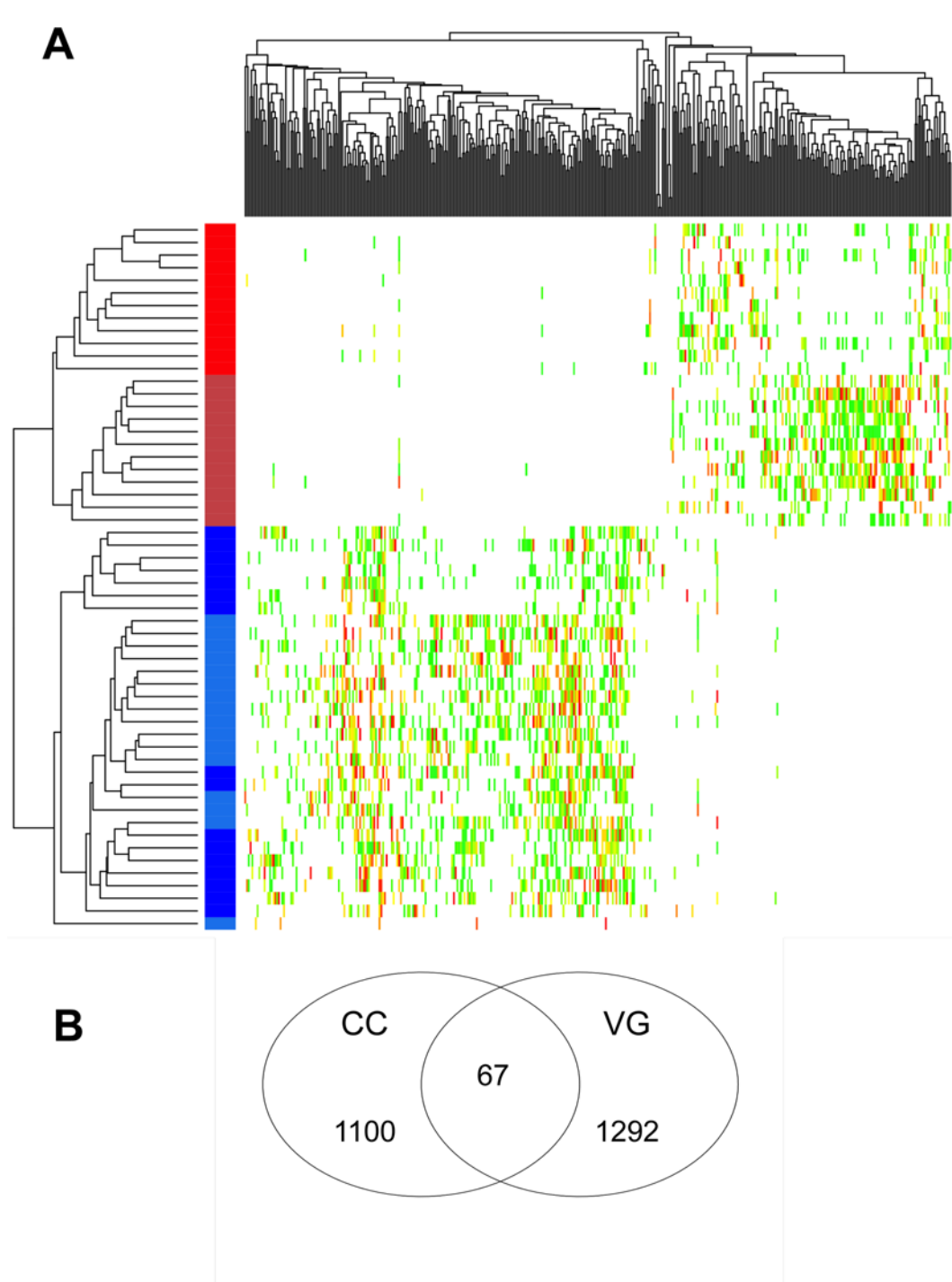


Fig. 10. A) Mapa de calor donde se muestra la abundancia y distribución de los OTUs en las muestras provenientes de ambos sitios de estudio y B) Diagrama de Venn donde se muestra el número de OTUs únicos y compartidos entre ambos sitios. A) El agrupamiento en las columnas corresponde a la similitud en la presencia de cada OTU en las distintas muestras. El agrupamiento en los renglones corresponde a la similitud en composición y abundancia de los distintos OTUs entre las muestras. Ambos análisis de agrupamiento (UPGMA) se realizaron con una matriz de distancias Bray-Curtis. Se muestran los 400 OTUs más abundantes cuando se ordenan de mayor a menor abundancia. En azul claro se muestran las muestras de VG antes del

trasplante y en azul fuerte las mismas muestras después del trasplante. En rojo pálido se muestran las de muestras de CC antes del trasplante y en rojo después del trasplante.

El análisis de LEfSe permitió la identificación de géneros de cianobacterias diferencialmente abundantes entre cada uno de los sitios y fases del experimento (Fig. 11). El enfoque particular en este phylum se debe a que las cianobacterias están predominantemente involucradas en la fijación de nitrógeno y pueden ser susceptibles a los cambios de temperatura. De manera general, los resultados muestran que la comunidad de cada sitio esta caracterizada por una composición particular de géneros, de tal forma que los géneros que son abundantes en CC no lo son en VG y viceversa (Fig. 11). Para las comunidades de CC observamos que hay un cambio en la dominancia de algunos géneros después del trasplante. Para las comunidades de VG es muy notoria la disminución en la abundancia de todos los géneros característicos de estas comunidades. Estos resultados corroboran los resultados de la figura 6 y 10B, donde se observa una drástica disminución de la abundancia relativa del phylum Cyanobacteria en las comunidades de VG después del trasplante y que hay muy pocas taxa compartidos entre ambos sitios.

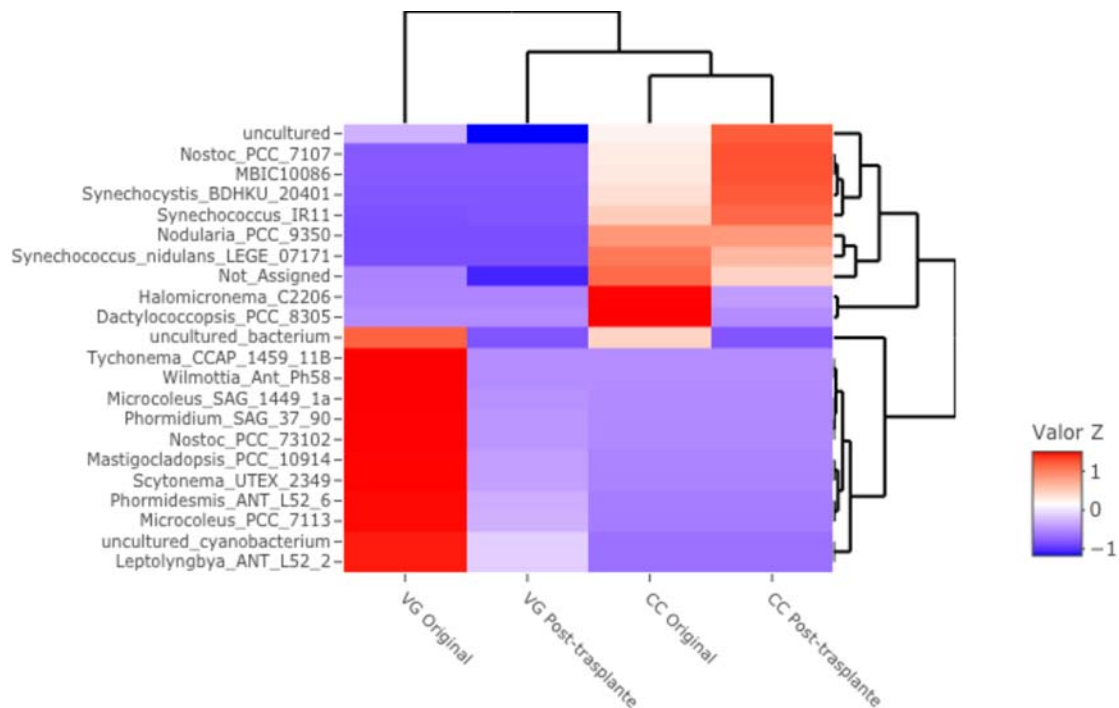


Fig. 11 Mapa de calor de los géneros diferencialmente abundantes entre cada sitio y fase del experimento. La escala de temperatura corresponde a los valores Z de la abundancia de cada

género. Se muestran aquellos géneros que tienen un valor de LDA > 1 y $p < 0.05$ en el análisis de LEfSe.

Efecto de la composición y condiciones ambientales en el potencial de fijación de nitrógeno.

Es importante mencionar que, dada la implementación de un experimento en condiciones de campo, es difícil prever y controlar todas las posibles circunstancias que puedan interferir en el diseño y ejecución del experimento. En este sentido, durante el lapso que transcurrieron las muestras trasplantadas en CC, tres de los cuatro controles (autotrasplantes) se perdieron. Por ello, no se pudo realizar ANOVAS de dos vías (grupos con el mismo número de muestras) para probar la interacción simultánea del efecto de la composición de las comunidades y las condiciones ambientales en el potencial de fijación de nitrógeno. No obstante, se pudieron realizar pruebas no paramétricas para evaluar estos efectos por separado.

Para probar el efecto de las diferencias en composición en el funcionamiento de las CBS después del trasplante, se realizó el ensayo de reducción de acetileno como una aproximación al potencial de fijación de nitrógeno. Se realizaron pruebas de Mann-Whitney para evaluar el efecto del origen (composición de la comunidad) y del sitio (ambiente) en el potencial de fijación de nitrógeno. Los resultados muestran el efecto tanto del origen de las muestras ($W = 436$, $P < 0.001$) como del sitio donde fueron trasplantadas ($W = 1511$, $P < 0.001$) en el potencial de fijación de nitrógeno (Fig. 12, tabla 4).

Dada la pérdida de las muestras, solo se pudo evaluar de forma independiente el efecto del sitio (ambiente) para las muestras provenientes de VG, y el efecto del origen (composición) sólo en el sitio de VG. Las diferencias sólo son significativas en el sitio VG (VG: $W = 28$, $P < 0.05$). Esto significa que en este sitio en particular las comunidades se desempeñan de forma diferente dependiendo de su origen. Los resultados nos indican que comunidades con distinta composición también difieren en el potencial de fijación de nitrógeno.

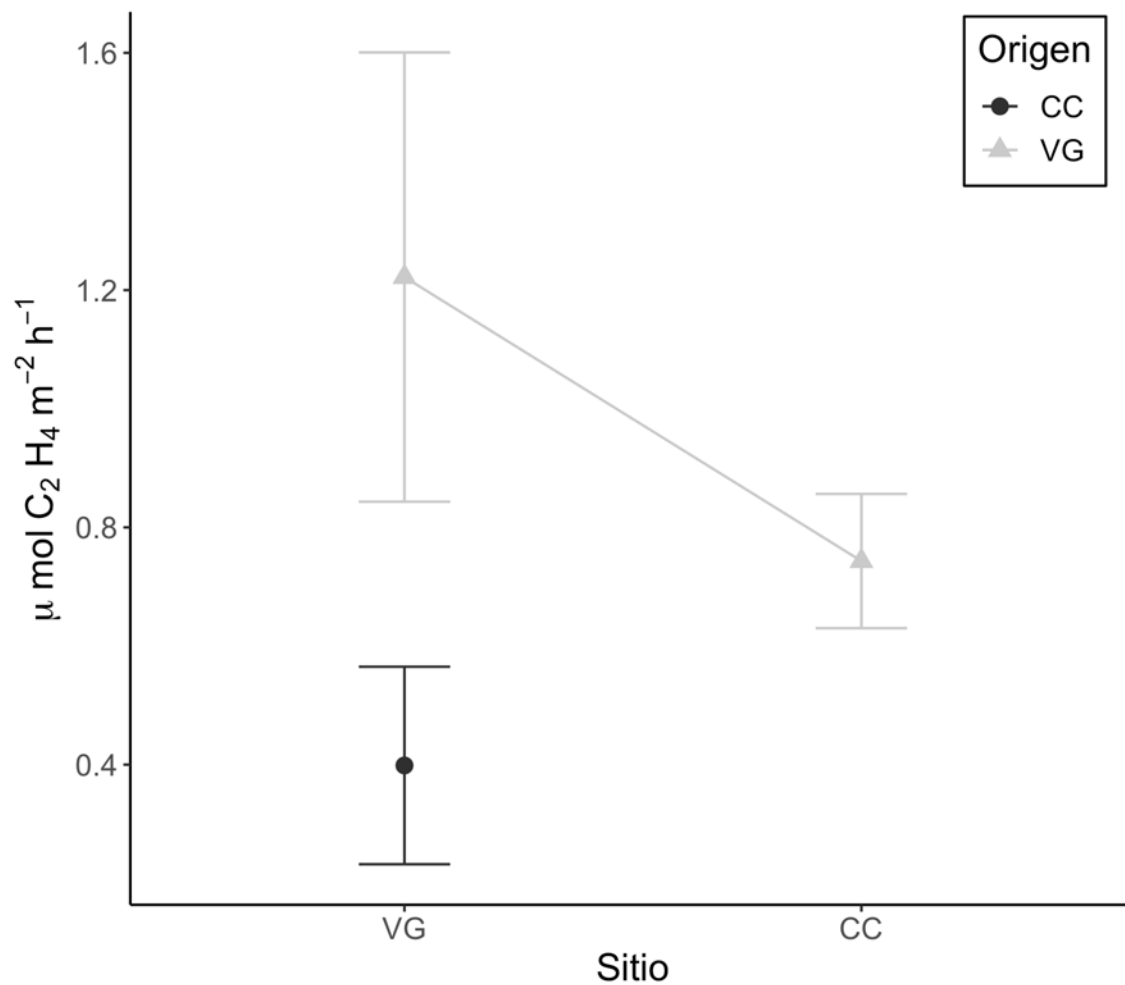


Fig. 12. Promedio y desviación estándar de la producción de etileno estandarizado por unidades de área y tiempo de las muestras evaluadas. Las líneas negras y círculos corresponden a las muestras provenientes de CC: Cuatro Ciénegas y las líneas grises y triángulos a las muestras provenientes de VG: Valle de Guadalupe.

Tabla 4. Valores de producción de acetileno (µmol C₂H₄ m⁻²h⁻¹)

Origen	Sitio	Media	E.E
CC	CC	2.88	2.28
CC	VG	0.40	0.17
VG	CC	0.74	0.11
VG	VG	1.22	0.38

Discusión

Los resultados de este estudio soportan la hipótesis de la relevancia funcional de la composición de las comunidades microbianas de las CBS. Adicionalmente, también se demuestra la influencia de las condiciones ambientales (temperatura/precipitación) en la diversidad, sobre todo de ciertos grupos clave en las CBS, como lo son las cianobacterias, y las consecuencias de estos cambios en la respuesta funcional.

Debido a la historia biogeográfica de los sitios de muestreo, se esperaba que las comunidades de las CBS fueran distintas en composición y estructura, y que estas diferencias se reflejaran en su respuesta funcional, incluso después de los trasplantes recíprocos. Esta suposición se comprobó mediante dos líneas de evidencia, la primera sobre diversidad y composición de las CBS y la segunda sobre las medidas del parámetro funcional de interés (potencial de fijación de N o tasa de reducción de acetileno).

Diversidad y composición de las CBS

Los análisis de diversidad (alfa y beta) muestran que las comunidades provenientes de cada uno de los sitios de estudio son distintas respecto a la estructura y composición entre muestras (diversidad beta), pero no en los niveles de diversidad inicial de cada muestra (diversidad alfa). Cuando las muestras son expuestas a las condiciones ambientales del sitio recíproco, la estructura de la comunidad cambia y las comunidades también pierden diversidad. Es importante notar la interacción que existe entre el origen de las muestras y el sitio del trasplante en el efecto que tiene sobre la composición de las comunidades. Aunque el trasplante modifica la diversidad y estructura de las comunidades, éstas no tienen una mayor similitud con las comunidades originarias del sitio al que fueron trasplantadas. También en ambas comunidades se observan cambios después del trasplante, pero estos cambios en composición son más notorios en las comunidades de CC que en VG, lo que podría sugerir que las comunidades de VG son más resilientes a los cambios ambientales. Es decir, que muestran una

mayor capacidad para regresar a su composición original después de una perturbación (Allison & Martiny, 2008).

Las diferencias en composición de las CBS antes y después del trasplante podrían ser explicadas por diferencias en las variables fisicoquímicas del suelo. Sin embargo, aunque observamos diferencias iniciales tanto en las características fisicoquímicas del suelo y en composición de la comunidad procarionte, los estimadores de diversidad alfa muestran que no hay diferencias entre la diversidad de las comunidades antes de los trasplantes. También observamos que de las variables del suelo que pudieron ser comparadas antes y después del trasplante, solo se observan cambios en el fósforo disponible, el cual disminuye significativamente. Esto último puede deberse a la actividad metabólica relacionada a la fijación de nitrógeno, lo cual se discute más adelante. Si bien el pH puede ser un factor determinante en la diversidad de las comunidades microbianas del suelo (Fierer & Jackson, 2006), en este estudio no se observaron diferencias iniciales en diversidad alfa entre las muestras de ambos sitios a pesar de que el pH es significativamente más alcalino en CC que en VG. También se podría llegar a la misma conjetura con las otras variables del suelo evaluadas que son significativamente distintas entre ambos sitios. Debido a esto, se puede argumentar que los cambios en la composición y diversidad de las comunidades de ambos sitios después del trasplante no se deben a cambios en el microambiente del suelo. Ya que las diferencias en las variables fisicoquímicas del suelo entre ambos sitios se mantienen después del trasplante y no cambian al interior de las muestras de cada sitio antes y después del trasplante. De igual forma, el hecho de que las comunidades compartan muy pocos OTUs entre sitios, tanto antes como después del trasplante, sugiere que las bolsas en las cuales fueron colocadas cada una de las muestras previenen eficientemente la migración de células. De tal forma que los cambios observados en las comunidades pueden deberse a la exposición a nuevas condiciones climáticas, que se ven reflejadas en la temperatura y precipitación en estaciones del año distintas.

Por otra parte, las diferencias iniciales en la estructura y composición de las CBS pueden explicarse debido a que ambos sitios se encuentran en distintas

regiones biogeográficas (Challenger & Soberón, 2008; Riddle et al., 2000; Rzedowski, 2006). Muchos trabajos han mostrado como la composición de una comunidad microbiana puede explicarse tanto por las condiciones ambientales contemporáneas como por procesos históricos y biogeográficos, eventos de colonización en el pasado y limitaciones a la dispersión (Hanson et al., 2012; Martiny et al., 2011; Martiny et al., 2006). Entonces, el hecho de que existan pocos OTUs compartidos puede deberse a limitantes a la dispersión, lo que estaría determinando las diferencias en composición de las comunidades de ambos sitios. De acuerdo con esto, en un trabajo previo reportamos que en las comunidades diazotróficas de las CBS de los mismos sitios de estudio, los OTUs más abundantes son compartidos entre estas dos comunidades; no obstante, estos OTUs difieren en abundancia en ambos sitios y hay muchos OTUs únicos para cada sitio (Barrón-Sandoval, 2015).

Respecto a la influencia de las condiciones ambientales contemporáneas en la composición de las comunidades, distintos estudios han reportado la influencia de las variables climáticas en la composición y distribución de los distintos grupos tróficos y taxonómicos que componen las CBS (Bowker et al., 2016). En el presente trabajo, observamos la disminución del phylum Cyanobacteria cuando las comunidades del desierto frío son trasplantadas al desierto caliente, pero no en el caso contrario. Varios estudios demuestran la susceptibilidad a la temperatura de las cianobacterias y que ésta es mayor cuando las condiciones climáticas cambian de templadas a condiciones más cálidas. Particularmente, Garcia-Pichel et al. (2013) y Muñoz-Martín et al. (2019) analizan la variación en la composición y dominancia de cianobacterias en un gradiente de TMA y precipitación. Los autores de estos estudios encuentran un reemplazo de la especie cosmopolita *M. vaginatus* en CBS, que se ha asociado a desiertos fríos con lluvias en invierno, por otras especies del género *Microcoleus* y *Scytonema*, las cuales llegan a ser dominantes en desiertos calientes con eventos de lluvia en el verano. Pruebas fisiológicas realizadas a especies de cianobacterias aisladas de estas CBS revelaron que *M. vaginatus* es un taxón que se desempeña mejor

en condiciones templadas, mientras que las especies que dominan en desiertos calientes presentan características de termotolerancia.

Blay et al. (2017) analizan, en un gradiente de altitud, temperatura y precipitación, los cambios en la composición y estructura de las comunidades procariontes de las CBS, observando que los phylum Cyanobacteria y Firmicutes disminuyen en el sitio con mayor elevación y precipitación, y menor temperatura con respecto al sitio de menor elevación y precipitación, y mayor temperatura. También se observa que el phylum Actinobacteria es dominante en todos los sitios. En este trabajo, observamos que el phylum Actinobacteria, aunque es abundante, no es el dominante en los sitios de estudio y tampoco se observan cambios drásticos en su abundancia por el efecto del trasplante. Este resultado es consistente con otros estudios donde se observan que el phylum Actinobacteria es uno de los principales taxa que habitan las CBS (Kutovaya et al., 2015; Moreira-Grez et al., 2019).

Por otra parte, cambios en los patrones y estacionalidad de lluvias tienen un efecto considerable en la composición de cianobacterias de las CBS. Un estudio realizado sobre un gradiente de precipitación en el noreste de Israel encontró que cianobacterias de los géneros *Chroococcidiopsis*, *Leptolyngbya* y *Nostoc* incrementaban su abundancia en sitios de mayor aridez y menor precipitación media anual, mientras que especies del género *Scytonema* declinaban (Hagemann et al., 2015). Un experimento realizado para probar el efecto de cambios en los patrones de lluvia encontró que alteraciones en la cantidad y estacionalidad de lluvias reducían drásticamente la biomasa de cianobacterias con respecto a los controles y a las condiciones iniciales del experimento. Esta reducción en biomasa fue mayor cuando las costras eran maduras. En costras no tan desarrolladas el efecto era mayor en cuanto a la reducción de diversidad, pero no de biomasa. Al analizar las especies que eran mayormente afectadas se observó que *Microcoleus steenstrupii* y *Scytonema* spp. fueron las más sensibles. Por otra parte, *M. vaginatus*, que es más sensible a temperaturas más cálidas, no se vio tan afectada por los tratamientos del experimento. Igualmente, se observó que la reducción en biomasa

cianobacteriana era acompañada de un aumento en diversidad y riqueza de especies no pertenecientes a las cianobacterias (Fernandes et al., 2018). Los autores discuten que la pérdida de biomasa puede deberse a la reducción en la abundancia de la fijadora de nitrógeno *Scytonema*, lo que pudo haber exacerbado el efecto de la sequía con baja disponibilidad de nitrógeno. Dados los resultados obtenidos y los trabajos mencionados, se puede sugerir que los cambios observados en composición y estructura de las comunidades de CBS trasplantadas en este experimento son explicados por una interacción entre la composición de la comunidad original y la influencia de las condiciones climáticas a las que las comunidades estuvieron expuestas durante los meses que ocurrieron los trasplantes.

Respuesta funcional (potencial de fijación de Nitrógeno, PFN)

Los resultados del ensayo de reducción de acetileno indican que el potencial de fijación de nitrógeno entre ambas comunidades es distinto en el sitio VG. Es decir, las muestras de VG muestran mayor PFN que las muestras de CC. El efecto del origen en el sitio CC no fue posible evaluarlo. El efecto del sitio solo pudo ser evaluado para las muestras de VG, en el cual, aunque se observa una disminución en el promedio PFN este cambio no es significativo. Se debe notar que son las muestras provenientes de VG las que sufren menos cambios en su composición después del trasplante. No obstante, se debe notar también que la abundancia y diversidad de taxa del phylum Cyanobacteria se reduce drásticamente después del trasplante. Esto es importante ya que las cianobacterias son uno de los grupos principalmente responsables de la fijación de nitrógeno en CBS (Yeager et al., 2004, 2007, 2012). Es posible que otros taxa distintos a las cianobacterias pudieran haber estado realizando esta función incluso antes de los trasplantes. Esto puede explicarse por qué tampoco hay un cambio significativo en el PFN en las muestras trasplantadas de VG a CC.

Es importante considerar que después de la exposición a las condiciones climáticas de los sitios recíprocos se observan cambios significativos en la composición de las comunidades. Y después de que estos cambios en

composición se han dado, se evalúa el potencial de fijación de nitrógeno bajo las mismas condiciones de laboratorio para todas muestras. Entonces lo que observamos es el desempeño de comunidades distintas en un ambiente común. Por lo tanto, podemos asumir que las diferencias observadas son debidas a las diferencias en composición y observando que la composición de la comunidad cambia como consecuencia de distintas condiciones climáticas; entonces podemos especular que hay un efecto tanto en la composición de la comunidad como en las condiciones ambientales en el potencial de fijación de nitrógeno. De forma que al cambiar la comunidad puede cambiar su desempeño.

Dadas las consideraciones pertinentes por la pérdida del diseño experimental original en campo, estos resultados son consistentes con la hipótesis de que la composición de la comunidad microbiana es más probable que influya en procesos “restringidos” mas que en aquellos procesos “generales” (Schimel, 1995). Los procesos restringidos son definidos como aquellos realizados por un grupo de microorganismos filogenéticamente restringido. Los taxa dentro de estos grupos restringidos pueden responder de forma similar a un ambiente y, por lo tanto, conforme su abundancia cambia, probablemente también cambiarán los procesos que llevan a cabo. Por el contrario, los procesos generales, como la respiración, son llevados a cabo por muchos taxa dentro de diversos grupos filogenéticos y, por lo tanto, incluso cuando hay cambios drásticos en la composición las tasas de respiración se pueden mantener sin cambios. En este sentido, Reed y Martiny (2013) observaron en un experimento de trasplantes recíprocos en sedimentos de estuarios que la composición de la comunidad afectaba procesos como nitrificación y flujos de metano, pero no la producción de CO₂. Considerando esto, la fijación de nitrógeno puede ser considerada como un proceso restringido. Aunque la fijación de nitrógeno esta presente en una amplia variedad de taxa filogenéticamente y fisiológicamente distintos que ocupan diferentes nichos ecológicos, sólo un limitado número de especies procariontes puede fijar nitrógeno. Debido a esto, los ensamblajes de diazótrofos suelen ser muy

particulares para los distintos tipos de ambientes en los que se presentan (Bottomley & Myrold, 2007; Zehr et al., 2003).

Es bien reconocido que la comunidad diazótropa en CBS está dominada por cianobacterias en costras desarrolladas (Yeager et al., 2004, 2007, 2012) y por proteobacterias en costras incipientes (Pepe-Rannek et al., 2016). Además, como se mencionó anteriormente, las cianobacterias son particularmente sensibles a los cambios en temperatura o patrones de lluvia. No obstante, en las comunidades trasplantadas de VG a CC se observa una reducción drástica en la abundancia del phylum Cyanobacteria, y los taxa de este phylum característicos de este sitio. En ese sentido, un estudio reciente somete a CBS de dos estados de desarrollo distintos, provenientes de un desierto frío y otro caliente, a distintas temperaturas (en un rango de 5°C a 40°C) en condiciones de laboratorio, y realiza el ensayo de reducción de acetileno y pruebas de oxidación de amonio (Zhou et al., 2016). Los autores observan que independientemente de la temperatura de incubación de las comunidades, el PFN responde de manera similar al aumento de temperatura entre los dos estados de maduración de las CBS provenientes del mismo desierto. Es decir, las comunidades con composición y estructura distinta, pero provenientes del mismo sitio, aumentan proporcionalmente su tasa de fijación de nitrógeno con el aumento de la temperatura. Por otra parte, sí se encuentran diferencias al comparar las tasas del potencial de fijación de nitrógeno entre ambos sitios, siendo que las CBS provenientes del desierto frío muestran valores mayores que las CBS del desierto caliente. Ambas comunidades muestran un rango óptimo del potencial de fijación de nitrógeno entre los 15°C y 25°C, con una disminución en las tasas después de los 30°C. De forma similar, otros estudios también han encontrado un óptimo de temperatura para la fijación de nitrógeno entre los 20-30°C (Barger et al., 2013; Su et al., 2011).

En este mismo estudio, la disminución en las tasas de PFN es más drástica en las CBS provenientes del desierto frío, siendo que a los 40 °C ya no se registra actividad catalítica en la producción de etileno (Zhou et al., 2016). Este último resultado es concordante con distintos trabajos que sugieren que las CBS provenientes de desiertos fríos son más sensibles al aumento de la temperatura

que aquellas provenientes de un desierto caliente. Los resultados obtenidos en nuestro trabajo son similares a los del trabajo mencionando previamente. Primero, no se observan diferencias estadísticamente significativas en el potencial de fijación de nitrógeno antes y después del experimento cuando se evalúan las muestras de VG. Segundo, existen diferencias entre el origen de las comunidades cuando se comparan solo las muestras que experimentaron las condiciones del desierto frío (VG). Las condiciones de incubación en las que se realizó el ensayo de reducción de acetileno fueron de 27 °C, por lo que podemos asumir que las comunidades de las CBS experimentaron una temperatura que está en su rango óptimo para la fijación de nitrógeno. De tal forma que comunidades distintas, provenientes de desiertos con condiciones climáticas distintas, se desempeñan de forma diferente en condiciones de laboratorio, con una temperatura controlada que está dentro del rango óptimo para la fijación de nitrógeno. De esta forma se puede explicar parcialmente los resultados obtenidos del ensayo de reducción de acetileno y las pruebas estadísticas realizadas.

Conclusiones

Este trabajo muestra la influencia de las condiciones ambientales de dos desiertos con condiciones climáticas contrastantes en la composición de las comunidades procariontes de las CBS. Además, los resultados muestran que cambios en la composición de la comunidad procarionte afectan al PFN de nitrógeno en condiciones de laboratorio. Por lo tanto, el ambiente afecta tanto a la composición de la comunidad como a los procesos que llevan a cabo. Trabajos previos han demostrado que el aumento en la temperatura puede alterar las entradas y salidas de nitrógeno en estos ecosistemas, de tal forma que al disminuir la entrada a través de la fijación y aumentar las pérdidas por la oxidación de amonio resultaría en un empobrecimiento del nitrógeno disponible en estos ecosistemas (Zhou et al., 2016). Dado que los ecosistemas áridos cubren alrededor del 40% de la superficie terrestre, estos cambios en las dinámicas de ciclaje biogeoquímico pueden tener repercusiones importantes a nivel global (Poulter et al., 2014). Esto destaca la importancia de entender cómo las comunidades microbianas median y responden a estos cambios, y en qué casos es importante estudiar a las comunidades microbianas (Allison & Martiny, 2008; De Vries & Shade, 2013; Graham et al., 2016).

Un paradigma prevaleciente en el modelaje de procesos ecosistémicos consideraba que la dinámica de estos procesos era determinada por las condiciones ambientales, lo que asume implícitamente que las comunidades microbianas son tan plásticas fisiológicamente que cualquier cambio en la composición es irrelevante (Bradford & Fierer, 2012). No obstante, este trabajo concuerda con otros que muestran una influencia tanto de las condiciones ambientales como de la composición de las comunidades en los procesos que llevan a cabo. También es importante considerar que en el caso de las CBS hay suficiente evidencia que indica que distintos taxa no muestran tal plasticidad fisiológica, viéndose severamente afectados por cambios en el ambiente. Con el desarrollo de nuevas herramientas metodológicas y analíticas (Pepe-Ranney et al., 2016; Steven, Belnap, & Kuske, 2018) es posible estudiar más detalladamente

las posibles adaptaciones de los microorganismos a las condiciones locales donde habitan. De igual forma, futuros experimentos deben considerar evaluar más detalladamente la dinámica temporal en la composición microbiana y el funcionamiento a lo largo del tiempo, y en un gradiente ambiental, de tal forma que se puedan evaluar los efectos de distintas intensidades de perturbación. Tales diseños pueden probar si la composición de la comunidad influye en la resiliencia del ecosistema en condiciones de campo.

Referencias

- Allison, S. D., Lu, Y., Weihe, C., Goulden, M. L., Martiny, A. C., Treseder, K. K., & Martiny, J. B. H. (2013). Microbial abundance and composition influence litter decomposition response to environmental change. *Ecology*, *94*(3), 714–725. <https://doi.org/10.1890/12-1243.1>
- Allison, S., & Martiny, J. (2008). Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(1), 11512–11519. Retrieved from <http://www.pnas.org/content/105/suppl.1/11512.short>
- Apprill, A., McNally, S., Parsons, R., & Weber, L. (2015). Minor revision to V4 region SSU rRNA 806R gene primer greatly increases detection of SAR11 bacterioplankton. *Aquatic Microbial Ecology*, *75*(2), 129–137. <https://doi.org/10.3354/ame01753>
- Bahl, J., Lau, M. C. Y., Smith, G. J. D., Vijaykrishna, D., Cary, S. C., Lacap, D. C., ... Pointing, S. B. (2011). Ancient origins determine global biogeography of hot and cold desert cyanobacteria. *Nature Communications*, *2*(1), 163. <https://doi.org/10.1038/ncomms1167>
- Bardgett, R. D., & van der Putten, W. H. (2014). Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, *515*(7528), 505–511. <https://doi.org/10.1038/nature13855>
- Barger, N. N., Castle, S. C., & Dean, G. N. (2013). Denitrification from nitrogen-fixing biologically crusted soils in a cool desert environment, southeast Utah, USA. *Ecological Processes*, *2*, 16. <https://doi.org/10.1186/2192-1709-2-16>
- Barrón-Sandoval, A. (2015). *Diversidad y funcionalidad de las comunidades diazotróficas de las costras biológicas en dos ecosistemas áridos: Cuatrociénegas, Coahuila y el Valle de Guadalupe, Baja California*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Behrenfeld, M. J. (2014). Climate-mediated dance of the plankton. *Nature Climate Change*, *4*(10), 880–887. <https://doi.org/10.1038/nclimate2349>
- Belnap, J., Büdel, B., & Lange, O. L. (2003). Biological Soil Crusts: Characteristics and Distribution. In Jayne Belnap & O. L. Lange (Eds.), *Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management* (pp. 3–30). https://doi.org/10.1007/978-3-642-56475-8_1
- Belnap, Jayne. (2002). Nitrogen fixation in biological soil crusts from southeast Utah, USA. *Biology and Fertility of Soils*, *35*(2), 128–135. <https://doi.org/10.1007/s00374-002-0452-x>
- Belnap, Jayne, & Gardner, J. (1993). Soil microstructure in soils of the Colorado Plateau: the role of the cyanobacterium *Microcoleus vaginatus*. *Western North American Naturalist*, *53*(1), 40–47. Retrieved from <https://ojs.lib.byu.edu/ojs/index.php/wnan/article/viewArticle/366>
- Belnap, Jayne, & Lange, O. L. (2003). *Biological Soil Crusts: Structure, Function and Management* (1st ed.; Jayne Belnap & O. L. Lange, Eds.). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-56475-8>
- Bier, R. L., Bernhardt, E. S., Boot, C. M., Graham, E. B., Hall, E. K., Lennon, J. T., ... Wallenstein, M. D. (2015). Linking microbial community structure and microbial processes: An empirical and conceptual overview. *FEMS Microbiology Ecology*, Vol. 91, pp. 1–11.

<https://doi.org/10.1093/femsec/fiv113>

- Billings, S. a., Schaeffer, S. M., & Evans, R. D. (2003). Nitrogen fixation by biological soil crusts and heterotrophic bacteria in an intact Mojave Desert ecosystem with elevated CO₂ and added soil carbon. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 643–649. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00011-7](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00011-7)
- Blay, E. S., Schwabedissen, S. G., Magnuson, T. S., Aho, K. A., Sheridan, P. P., & Lohse, K. A. (2017). Variation in Biological Soil Crust Bacterial Abundance and Diversity as a Function of Climate in Cold Steppe Ecosystems in the Intermountain West, USA. *Microbial Ecology*, 74(3), 691–700. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-0981-3>
- Bokulich, N. A., Kaehler, B. D., Rideout, J. R., Dillon, M., Bolyen, E., Knight, R., ... Gregory Caporaso, J. (2018). Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin. *Microbiome*, 6(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0470-z>
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., ... Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, 37(8), 852–857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
- Bottomley, P. J., & Myrold, D. D. (2007). Biological N Inputs. In E. A. Paul (Ed.), *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry* (3rd ed., pp. 365–387). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-047514-1.50018-4>
- Bowker, M. a., Belnap, J., Bala Chaudhary, V., & Johnson, N. C. (2008). Revisiting classic water erosion models in drylands: The strong impact of biological soil crusts. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9), 2309–2316. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.05.008>
- Bowker, M. A., Belnap, J., Büdel, B., Sannier, C., Pietrasiak, N., Eldridge, D. J., & Rivera-Aguilar, V. (2016). Controls on Distribution Patterns of Biological Soil Crusts at Micro- to Global Scales. In B. Weber, B. Büdel, & J. Belnap (Eds.), *Biological Soil Crusts: An Organizing Principle in Drylands* (pp. 173–197). https://doi.org/10.1007/978-3-319-30214-0_10
- Bowker, M. A., Maestre, F. T., Eldridge, D., Belnap, J., Castillo-Monroy, A., Escobar, C., & Soliveres, S. (2014). Biological soil crusts (biocrusts) as a model system in community, landscape and ecosystem ecology. *Biodiversity and Conservation*, 23(7), 1619–1637. <https://doi.org/10.1007/s10531-014-0658-x>
- Bowker, M. a., Maestre, F. T., & Escobar, C. (2010). Biological crusts as a model system for examining the biodiversity–ecosystem function relationship in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(3), 405–417. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.025>
- Bradford, M., & Fierer, N. (2012). The Biogeography of Microbial Communities and Ecosystem Processes: Implications for Soil and Ecosystem Models. In D. H. Wall (Ed.), *Soil Ecology and Ecosystem Services* (1st ed., pp. 189–200). Retrieved from

- http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=w_o0obAFdLQC&oi=fnd&pg=PA189&dq=The+Biogeography+of+Microbial+Communities+and+Ecosystem+Processes+:++Implications+for+Soil+and+Ecosystem+Models&ots=Z7jfJzcZFT&sig=SA3H-clhW65k5m50MVKzNtrbqAl
- Bray, J., & Curtis, J. (1957). An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monographs*, 27(4), 325–349. Retrieved from <http://www.esajournals.org/doi/abs/10.2307/1942268>
- Bremner, J. (1996). Nitrogen-total. In D. L. Sparks, P. A. Helmke, A. . Page, M. Summer, & M. Tabatabai (Eds.), *Methods of Soil Analyses Part 3: Chemical Analyses* (pp. 1085–1121). Fitchburg, WI: Soil Science Society of America.
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., ... Knight, R. (2012). Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME Journal*, 6(8), 1621–1624. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.8>
- Cavicchioli, R., Ripple, W. J., Timmis, K. N., Azam, F., Bakken, L. R., Baylis, M., ... Webster, N. S. (2019). Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change. *Nature Reviews Microbiology*. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0222-5>
- Challenger, A., & Soberón, J. (2008). Los ecosistemas terrestres. In *Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad: Vol. I* (pp. 87–108).
- Chávez-Vergara, B., Merino, A., González-Rodríguez, A., Oyama, K., & García-Oliva, F. (2018). Direct and legacy effects of plant traits control litter decomposition in a deciduous oak forest in Mexico. *PeerJ*, 2018(6), 1–27. <https://doi.org/10.7717/peerj.5095>
- Curtis, T. P., Sloan, W. T., & Scannell, J. W. (2002). Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(16), 10494–10499. <https://doi.org/10.1073/pnas.142680199>
- Darby, B. J., Neher, D. a., & Belnap, J. (2007). Soil nematode communities are ecologically more mature beneath late- than early-successional stage biological soil crusts. *Applied Soil Ecology*, 35, 203–212. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.04.006>
- De Vries, F. T., & Shade, A. (2013). Controls on soil microbial community stability under climate change. *Frontiers in Microbiology*, 4(SEP), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00265>
- Dhariwal, A., Chong, J., Habib, S., King, I. L., Agellon, L. B., & Xia, J. (2017). MicrobiomeAnalyst: A web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data. *Nucleic Acids Research*, 45(W1), W180–W188. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx295>
- Dilworth, M. J., Eady, R. R., & Eldridge, M. E. (1988). The vanadium nitrogenase of *Azotobacter chroococcum*. Reduction of acetylene and ethylene to ethane. *The Biochemical Journal*, 249(3), 745–751. Retrieved from

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1148769&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

- Elbert, W., Weber, B., Burrows, S., Steinkamp, J., Büdel, B., Andreae, M. O., & Pöschl, U. (2012). Contribution of cryptogamic covers to the global cycles of carbon and nitrogen. *Nature Geoscience*, 5(7), 459–462. <https://doi.org/10.1038/ngeo1486>
- Escudero, a., Martínez, I., de la Cruz, a., Otálora, M. a G., & Maestre, F. T. (2007). Soil lichens have species-specific effects on the seedling emergence of three gypsophile plant species. *Journal of Arid Environments*, 70, 18–28. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.12.019>
- Ezcurra, E., Mellink, E., & Martínez-Berdeja, A. (2014). Hot Deserts. In *eLS*. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0003178.pub2>
- Falkowski, P. G., Fenchel, T., & Delong, E. F. (2008). The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science (New York, N.Y.)*, 320(5879), 1034–1039. <https://doi.org/10.1126/science.1153213>
- Fernandes, V. M. C., Machado de Lima, N. M., Roush, D., Rudgers, J., Collins, S. L., & Garcia-Pichel, F. (2018). Exposure to predicted precipitation patterns decreases population size and alters community structure of cyanobacteria in biological soil crusts from the Chihuahuan Desert. *Environmental Microbiology*, 20(1), 259–269. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13983>
- Fierer, N., & Jackson, R. B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(3), 626–631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>
- Fisher, F., Zak, J., Cunningham, G., & Whitford, W. (1988). Water and nitrogen effects on growth and allocation patterns of creosotebush in the northern Chihuahuan Desert. *Journal of Range Management*, 41(September), 387–391. <https://doi.org/10.2307/3899572>
- Franco-Vizcaíno, E., & Sosa-Ramirez, J. (1997). Soil properties and nutrient relations in burned and unburned Mediterranean-climate shrublands of Baja California, Mexico. *Acta Oecologica*, 18(4), 503–517. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1146609X97800379>
- Garcia-Pichel, F., Loza, V., Marusenko, Y., Mateo, P., & Potrafka, R. M. (2013). Temperature drives the continental-scale distribution of key microbes in topsoil communities. *Science (New York, N.Y.)*, 340(6140), 1574–1577. <https://doi.org/10.1126/science.1236404>
- Glassman, S. I., Weihe, C., Li, J., Albright, M. B. N., Looby, C. I., & Martiny, A. C. (2018). *Decomposition responses to climate depend on microbial community composition*. 1–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1811269115>
- Graham, E. B., Knelman, J. E., Schindlbacher, A., Siciliano, S., Breulmann, M., Yannarell, A., ... Nemergut, D. R. (2016). Microbes as engines of ecosystem function: When does community structure enhance predictions of ecosystem processes? *Frontiers in Microbiology*, 7(FEB), 1–

10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00214>
- Graham, E. B., Wieder, W. R., Leff, J. W., Weintraub, S. R., Townsend, A. R., Cleveland, C. C., ... Nemergut, D. R. (2014). Do we need to understand microbial communities to predict ecosystem function? A comparison of statistical models of nitrogen cycling processes. *Soil Biology and Biochemistry*, *68*, 279–282. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.08.023>
- Green, L. E., Porrás-Alfaro, A., & Sinsabaugh, R. L. (2008). Translocation of nitrogen and carbon integrates biotic crust and grass production in desert grassland. *Journal of Ecology*, *96*, 1076–1085. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01388.x>
- Hagemann, M., Henneberg, M., Felde, V. J. M. N. L., Drahorad, S. L., Berkowicz, S. M., Felix-Henningsen, P., & Kaplan, A. (2015). Cyanobacterial Diversity in Biological Soil Crusts along a Precipitation Gradient, Northwest Negev Desert, Israel. *Microbial Ecology*, *70*(1), 219–230. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0533-z>
- Hanson, C. a, Fuhrman, J. a, Horner-Devine, M. C., & Martiny, J. B. H. (2012). Beyond biogeographic patterns: processes shaping the microbial landscape. *Nature Reviews. Microbiology*, *10*(7), 497–506. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2795>
- Hardy, R., Burns, R., & Holsten, R. (1973). Applications of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil Biology and Biochemistry*, *5*, 47–81. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003807177390093X>
- Harper, K. T., & Belnap, J. (2001). The influence of biological soil crusts on mineral uptake by associated vascular plants. *Journal of Arid Environments*, *47*, 347–357. <https://doi.org/10.1006/jare.2000.0713>
- Housman, D. C., Powers, H. H., Collins, a. D., & Belnap, J. (2006). Carbon and nitrogen fixation differ between successional stages of biological soil crusts in the Colorado Plateau and Chihuahuan Desert. *Journal of Arid Environments*, *66*, 620–634. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2005.11.014>
- Hsieh, T. C., Ma, K. H., & Chao, A. (2016). iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). *Methods in Ecology and Evolution*, *7*(12), 1451–1456. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12613>
- Huffman, E. W. D. (1977). Performance of a new automatic carbon dioxide coulometer. *Microchemical Journal*, *22*(4), 567–573. [https://doi.org/10.1016/0026-265X\(77\)90128-X](https://doi.org/10.1016/0026-265X(77)90128-X)
- Hughes, J. B., & Hellmann, J. J. (2005). The application of rarefaction techniques to molecular inventories of microbial diversity. *Methods in Enzymology*, *397*(1995), 292–308. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)97017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)97017-1)
- Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, *30*(4), 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
- Kutovaya, O. V., Lebedeva, M. P., Tkhakakhova, A. K., Ivanova, E. A., & Andronov, E. E. (2015).

- Metagenomic characterization of biodiversity in the extremely arid desert soils of Kazakhstan. *Eurasian Soil Science*, 48(5), 493–500. <https://doi.org/10.1134/S106422931505004X>
- Lalley, J. S., Viles, H. a., Henschel, J. R., & Lalley, V. (2006). Lichen-dominated soil crusts as arthropod habitat in warm deserts. *Journal of Arid Environments*, 67, 579–593. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.03.017>
- Lange, O. L., Kidron, G. J., Budel, B., Meyer, A., Kilian, E., & Abeliovich, A. (1992). Taxonomic Composition and Photosynthetic Characteristics of the `Biological Soil Crusts' Covering Sand Dunes in the Western Negev Desert. *Functional Ecology*, 6(5), 519–527. <https://doi.org/10.2307/2390048>
- León-Arizmendi, E. (2012). *Heterogeneidad espacial de la dinámica y controles de la respiración del suelo en un ecosistema mediterráneo*. 55.
- López-Lozano, N. E., Eguiarte, L. E., Bonilla-Rosso, G., García-Oliva, F., Martínez-Piedragil, C., Rooks, C., & Souza, V. (2012). Bacterial Communities and the Nitrogen Cycle in the Gypsum Soils of Cuatro Ciénegas Basin, Coahuila: A Mars Analogue. *Astrobiology*, 12(7), 699–709. <https://doi.org/10.1089/ast.2012.0840>
- Lozupone, C., & Knight, R. (2005). UniFrac: a New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities UniFrac: a New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12), 8228–8235. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8228>
- Maestre, F. T., Huesca, M., Zaady, E., Bautista, S., & Cortina, J. (2002). Infiltration, penetration resistance and microphytic crust composition in contrasted microsities within a Mediterranean semi-arid steppe. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 895–898. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00021-4](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00021-4)
- Martiny, Jennifer B.H., Martiny, A. C., Weihe, C., Lu, Y., Berlemont, R., Brodie, E. L., ... Allison, S. D. (2017). Microbial legacies alter decomposition in response to simulated global change. *ISME Journal*, 11(2), 490–499. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.122>
- Martiny, Jennifer B H, Eisen, J. a, Penn, K., Allison, S. D., & Horner-Devine, M. C. (2011). Drivers of bacterial beta-diversity depend on spatial scale. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(19), 7850–7854. <https://doi.org/10.1073/pnas.1016308108>
- Martiny, Jennifer B Hughes, Bohannan, B. J. M., Brown, J. H., Colwell, R. K., Fuhrman, J. a, Green, J. L., ... Staley, J. T. (2006). Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Reviews. Microbiology*, 4(2), 102–112. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1341>
- McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE*, 8(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Moreira-Grez, B., Tam, K., Cross, A. T., Yong, J. W. H., Kumaresan, D., Nevill, P., ... Whiteley, A.

- S. (2019). The Bacterial Microbiome Associated With Arid Biocrusts and the Biogeochemical Influence of Biocrusts Upon the Underlying Soil. *Frontiers in Microbiology*, 10(September), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02143>
- Muñoz-Martín, M. Á., Becerra-Absalón, I., Perona, E., Fernández-Valbuena, L., Garcia-Pichel, F., & Mateo, P. (2019). Cyanobacterial biocrust diversity in Mediterranean ecosystems along a latitudinal and climatic gradient. *New Phytologist*, 221(1), 123–141. <https://doi.org/10.1111/nph.15355>
- Murphy, J., & Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27(C), 31–36. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5)
- Noguez, A., Arita, H., Escalante, A., Forney, L., García-Oliva, F., & Souza, V. (2005). Microbial macroecology: highly structured prokaryotic soil assemblages in a tropical deciduous forest. *Global Ecology and Biogeography*, 14, 241–248. <https://doi.org/10.1111/j.1466-822x.2005.00156.x>
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., ... Wagner, H. (2018). vegan: Community Ecology Package. *R Package Version 2.4-6*. Retrieved from <http://cran.r-project.org/package=vegan>
- Peel, M. C., Finlayson, B. L., & McMahon, T. A. (2007). Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences*, 11, 1633–1644. Retrieved from <http://www.hydrol-earth-syst-sci-discuss.net/4/439/2007/>
- Pepe-Ranney, C., Koechli, C., Potrafka, R., Andam, C., Eggleston, E., Garcia-Pichel, F., & Buckley, D. H. (2016). Non-cyanobacterial diazotrophs mediate dinitrogen fixation in biological soil crusts during early crust formation. *The ISME Journal*, 10(2), 287–298. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.106>
- Pointing, S. B., & Belnap, J. (2012). Microbial colonization and controls in dryland systems. *Nature Reviews Microbiology*, 10(8), 551–562. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2831>
- Poulter, B., Frank, D., Ciais, P., Myneni, R. B., Andela, N., Bi, J., ... Van Der Werf, G. R. (2014). Contribution of semi-arid ecosystems to interannual variability of the global carbon cycle. *Nature*, 509(7502), 600–603. <https://doi.org/10.1038/nature13376>
- Price, M. N., Dehal, P. S., & Arkin, A. P. (2010). FastTree 2 - Approximately maximum-likelihood trees for large alignments. *PLoS ONE*, 5(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009490>
- Prosser, J. I., Bohannan, B. J. M., Curtis, T. P., Ellis, R. J., Firestone, M. K., Freckleton, R. P., ... Young, J. P. W. (2007). The role of ecological theory in microbial ecology. *Nature Reviews Microbiology*, 5, 384–392.
- Purdy, K. J. (2005). Nucleic acid recovery from complex environmental samples. *Methods in Enzymology*, 397(05), 271–292. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)97016-X](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)97016-X)
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., ... Glöckner, F. O. (2013).

- The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), 590–596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- R Core Team. (2017). R: A Language and Environment for Statistical Computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria*, Vol. 0, p. {ISBN} 3-900051-07-0. <https://doi.org/http://www.R-project.org/>
- Reed, H. E., & Martiny, J. B. H. (2007). Testing the functional significance of microbial composition in natural communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 62(2), 161–170. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00386.x>
- Reed, H. E., & Martiny, J. B. H. (2013). Microbial composition affects the functioning of estuarine sediments. *The ISME Journal*, 7(4), 868–879. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.154>
- Riddle, B. R., Hafner, D. J., Alexander, L. F., & Jaeger, J. R. (2000). Cryptic vicariance in the historical assembly of a Baja California peninsular desert biota. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(26), 14438–14443. <https://doi.org/10.1073/pnas.250413397>
- Rivera-Aguilar, V., Godínez-Alvarez, H., Manuell-Cacheux, I., & Rodríguez-Zaragoza, S. (2005). Physical effects of biological soil crusts on seed germination of two desert plants under laboratory conditions. *Journal of Arid Environments*, 63(1), 344–352. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2005.03.012>
- Robertson, P. G., Coleman, D. C., Bledsoe, C. S., & Sollins, P. (1999). *Standard Soil Methods for Long-term Ecological Research (LTER)*. New York: University Press, Oxford.
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., & Mahé, F. (2016). VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
- Rzedowski, J. (2006). *Vegetación de México* (1ra ed.). Ciudad de México, México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Schimel, D. S. (2010). Drylands in the Earth System. *Science*, 327(5964), 418–419. <https://doi.org/10.1126/science.1184946>
- Schimel, J. (1995). *Ecosystem Consequences of Microbial Diversity and Community Structure*. https://doi.org/10.1007/978-3-642-78966-3_17
- Schimel, J. P., & Schaeffer, S. M. (2012). Microbial control over carbon cycling in soil. *Frontiers in Microbiology*, 3(SEP), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00348>
- Segata, N., Izard, J., Waldron, L., Gevers, D., Miropolsky, L., Garrett, W. S., & Huttenhower, C. (2011). Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology*, 12(6). <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-6-r60>
- Steven, B., Belnap, J., & Kuske, C. R. (2018). Chronic physical disturbance substantially alters the response of biological soil crusts to a wetting pulse, as characterized by metatranscriptomic sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 9(OCT), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02382>

- Strickland, M. S., Lauber, C., Fierer, N., & Bradford, M. a. (2009). Testing the functional significance of microbial community composition. *Ecology*, *90*(2), 441–451. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19323228>
- Su, Y. gui, Zhao, X., Li, A. xia, Li, X. rong, & Huang, G. (2011). Nitrogen fixation in biological soil crusts from the Tengger desert, northern China. *European Journal of Soil Biology*, *47*(3), 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2011.04.001>
- Thomas, D. S. G. (2011). Arid Zone Geomorphology. In D. S. G. Thomas (Ed.), *Arid Zone Geomorphology: Process, Form and Change in Drylands: Third Edition*. <https://doi.org/10.1002/9780470710777>
- Torsvik, V., Øvreås, L., & Thingstad, T. F. (2002). Prokaryotic diversity--magnitude, dynamics, and controlling factors. *Science (New York, N.Y.)*, *296*(5570), 1064–1066. <https://doi.org/10.1126/science.1071698>
- Treseder, K. K., Balsler, T. C., Bradford, M. A., Brodie, E. L., Dubinsky, E. A., Eviner, V. T., ... Waldrop, M. P. (2012). Integrating microbial ecology into ecosystem models: Challenges and priorities. *Biogeochemistry*, *109*(1–3), 7–18. <https://doi.org/10.1007/s10533-011-9636-5>
- Van Der Heijden, M. G. A., Bardgett, R. D., & Van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, *11*(3), 296–310. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>
- Veluci, R. M., Neher, D. a., & Weicht, T. R. (2006). Nitrogen fixation and leaching of biological soil crust communities in mesic temperate soils. *Microbial Ecology*, *51*, 189–196. <https://doi.org/10.1007/s00248-005-0121-3>
- Vitousek, P. M., & Howarth, R. W. (1991). Nitrogen Limitation on Land and in the Sea : How Can It Occur ? Nitrogen limitation on land and in the sea : How can it occur ? *Biogeochemistry*, *13*(2), 87–115.
- Wagg, C., Bender, S. F., Widmer, F., & 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320054111>
- Wardle, D., Bardgett, R., & Klironomos, J. (2004). Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, *304*(June), 1629–1633. Retrieved from <http://www.sciencemag.org/content/304/5677/1629.short>
- Yeager, C. M., Kornosky, J. L., Housman, D. C., Grote, E. E., Belnap, J., & Kuske, C. R. (2004). Diazotrophic Community Structure and Function in Two Successional Stages of Biological Soil Crusts from the Colorado Plateau and Chihuahuan Desert. *Applied and Environmental Microbiology*, *70*(2), 973–983. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.2.973-983.2004>
- Yeager, C. M., Kornosky, J. L., Morgan, R. E., Cain, E. C., Garcia-Pichel, F., Housman, D. C., ... Kuske, C. R. (2007). Three distinct clades of cultured heterocystous cyanobacteria constitute the dominant N₂-fixing members of biological soil crusts of the Colorado Plateau, USA. *FEMS*

- Microbiology Ecology*, 60, 85–97. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00265.x>
- Yeager, C. M., Kuske, C. R., Carney, T. D., Johnson, S. L., Ticknor, L. O., & Belnap, J. (2012). Response of Biological Soil Crust Diazotrophs to Season, Altered Summer Precipitation, and Year-Round Increased Temperature in an Arid Grassland of the Colorado Plateau, USA. *Frontiers in Microbiology*, 3(October). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00358>
- Zehr, J. P., Jenkins, B. D., Short, S. M., & Steward, G. F. (2003). Nitrogenase gene diversity and microbial community structure : a cross-system comparison. *Environmental Microbiology*, 5(7), 539–554.
- Zeng, N., & Yoon, J. (2009). Expansion of the world's deserts due to vegetation-albedo feedback under global warming. *Geophysical Research Letters*, 36(17), 1–5. <https://doi.org/10.1029/2009GL039699>
- Zhang, Y., Cao, C., Peng, M., Xu, X., Zhang, P., Yu, Q., & Sun, T. (2014). Diversity of nitrogen-fixing, ammonia-oxidizing, and denitrifying bacteria in biological soil crusts of a revegetation area in Horqin Sandy Land, Northeast China. *Ecological Engineering*, 71, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.07.032>
- Zhao, Y., Xu, M., & Belnap, J. (2010). Potential nitrogen fixation activity of different aged biological soil crusts from rehabilitated grasslands of the hilly Loess Plateau, China. *Journal of Arid Environments*, 74, 1186–1191. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2010.04.006>
- Zhou, X., Smith, H., Giraldo Silva, A., Belnap, J., & Garcia-Pichel, F. (2016). Differential Responses of Dinitrogen Fixation, Diazotrophic Cyanobacteria and Ammonia Oxidation Reveal a Potential Warming-Induced Imbalance of the N-Cycle in Biological Soil Crusts. *PLOS ONE*, 11(10), e0164932. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164932>

Material Suplementario

Resultados

Diversidad alfa y beta de las distintas fases del experimento

En la figura S1 se observa la diversidad alfa de las muestras de cada sitio y ordenada por las fases del experimento. Solo se observan cambios en los valores diversidad después del trasplante.

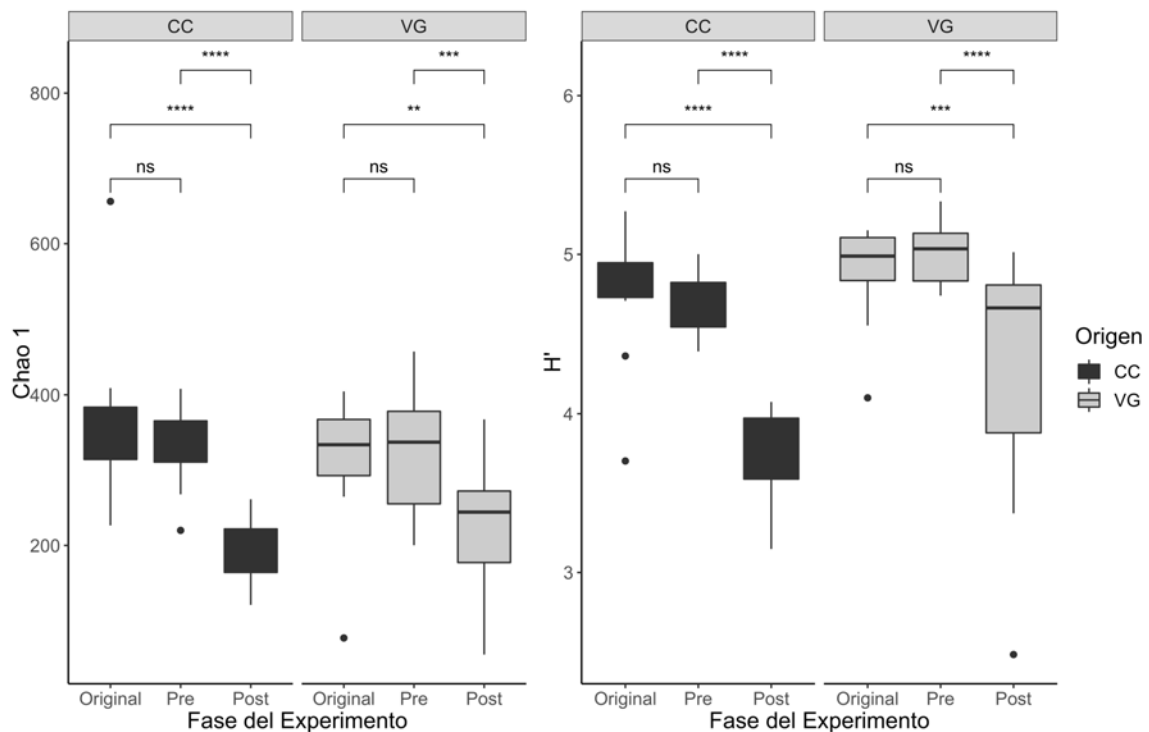


Fig. S1. Valores de diversidad alfa evaluados mediante el estimador Chao 1 y Shannon (H') para las muestras provenientes de cada sitio y ordenadas por la fase del experimento CC: Cuatro Ciénegas, VG: Valle de Guadalupe. Los símbolos “*” y “ns” denotan cuales comparaciones son significativamente diferentes (*) o no (ns). Se realizaron pruebas de *t* de student para el estimador de Chao1 y Wilcoxon para el índice de Shannon. Original: comunidades en su sitio de origen previo al trasplante, Pre: Comunidades después de ser transportadas al sitio recíproco, pero antes de colocar el trasplante. Post: comunidades después de estar expuestas al sitio recíproco.

En la figura S2 podemos se observa la similitud en composición de las distintas muestras en las fases del experimento. Se observan e la composición de ambas comunidades es distinta. También se puede notar que no es clara la diferencia entre las muestras Originales y previas al trasplante (pre-trasplante) para ninguna

de las muestras provenientes de ambos sitios. El grupo de muestras después del trasplante es mas claro para las muestras de CC que de VG.

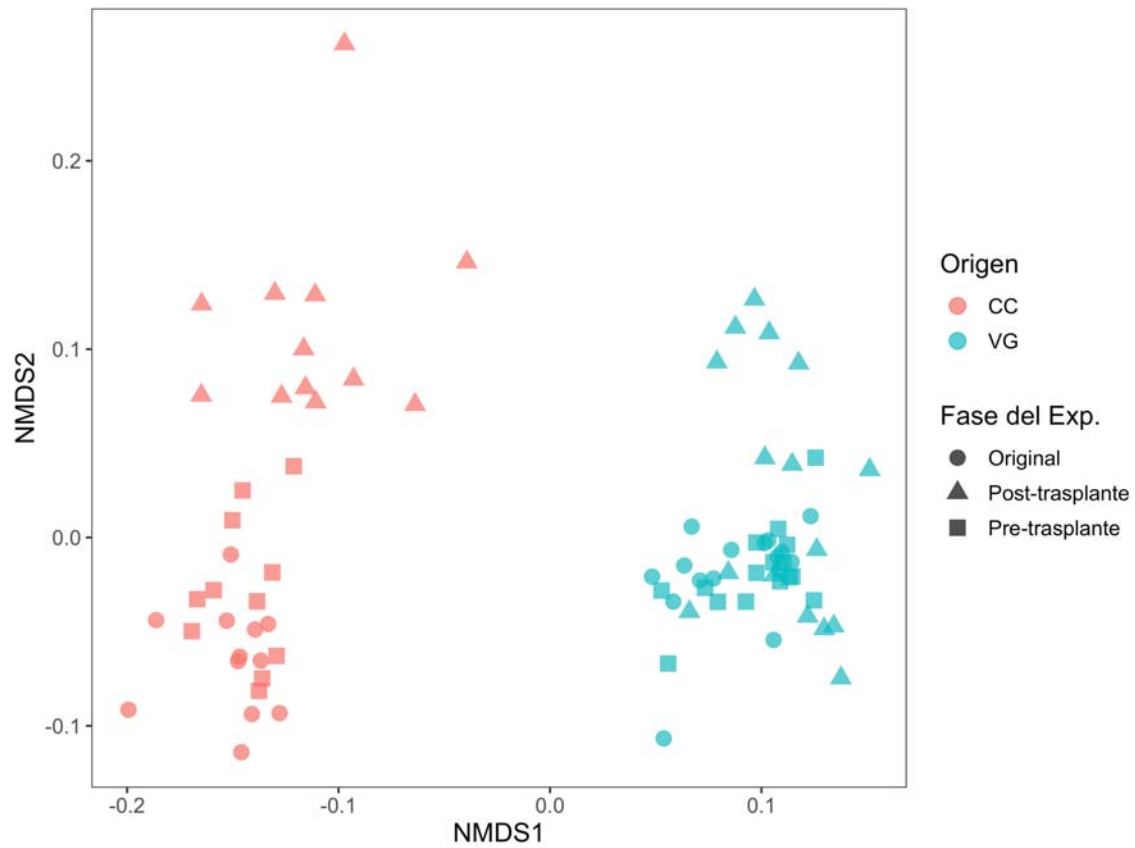


Fig. S2. Ordenamiento No métrico Multidimensional (NMDS por sus siglas en inglés) realizado con una matriz de distancias UniFrac. Original: comunidades en su sitio de origen previo al trasplante, Post-trasplante: comunidades después de estar expuestas al sitio recíproco, Pre-trasplante: Comunidades después de ser transportadas al sitio recíproco, pero antes de colocar el trasplante.

Apéndice 1: Ensayo de reducción de acetileno

Cada una de las muestras colectadas para cada sitio fue sellada herméticamente, cubriendo el plato de colecta con una lámina de acrílico a la cual se le instaló una válvula de goma para la toma de muestras de gas en la cabeza de aire. El acrílico se adhirió al borde superior del plato utilizando masilla de fontanero para asegurar el sello hermético. Se reemplazó el 10% de la cabeza de aire con acetileno utilizando jeringas para sustraer el aire e inyectar el acetileno. Para calcular el volumen de la cabeza de aire se utilizó la fórmula del volumen de un cilindro. La cual se describe de la siguiente manera:

$$V = \pi \cdot r^2 \cdot h$$

donde r es el radio de la circunferencia del plato y h es la distancia que hay entre la muestra y el borde superior del plato (Fig. S3).

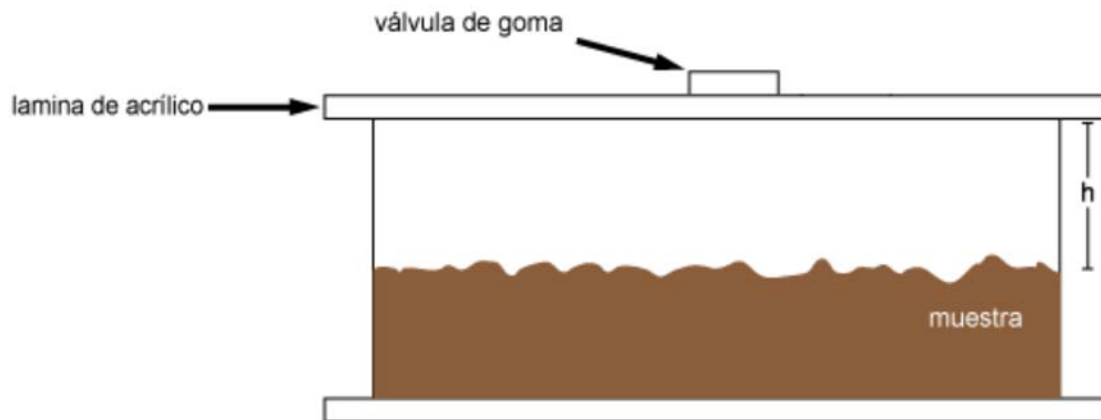


Fig. S3. Diagrama de un corte transversal de la cámara de incubación (plato de PVC) para el ensayo de reducción de acetileno. En el interior de la cámara se encuentra contenida la muestra.

Después de la inyección se incubaron las muestras durante 24 h en un régimen de 16 h de luz y 8 h de oscuridad, la iluminación fue de 2000 luxes y la temperatura de incubación fue de 27°C. Transcurrida la incubación, con una jeringa de insulina se tomó una muestra de 1 mL de la cabeza de aire que fue inyectada directamente en un cromatógrafo de gases para ser analizada [Varian 3300, columna

empacadora: Poropak mallas 2 m x 1/8 de pulgada, detector de ionización de flama; nitrógeno como gas acarreador (80 Psi), aire (60 Psi) e hidrógeno (40 Psi)]. Los parámetros de lectura del gas inyectado fueron: atenuación, 0.2; velocidad del papel, 0.5 con tiempos de retención para etileno de 1.33, etano de 1.515 y acetileno de 1.823 (unidades arbitrarias).

Para realizar el cálculo de la concentración de los gases en la cabeza de aire se realizó una curva estándar inyectando volúmenes desde 0.2 hasta 1 mL del gas en cuestión al 100% y anotando las unidades de área que reporta el cromatógrafo de dicho gas para cada volumen inyectado. Siguiendo el volumen molar de un gas (22.4 L = 1 mol) en un mL hay 44.6 μ moles, con lo cual se obtuvo la pendiente de la curva estándar (etileno: $m=0.0003703$) que fue utilizada como el factor de conversión de unidades de área del cromatógrafo a μ moles de gas.

Para calcular la producción de μ moles de gas por hora y por metro cuadrado se utilizó la siguiente formula:

$$\mu\text{moles h}^{-1}\text{m}^{-2} = ((A \times m) \times V)/T) \times (10000/83.31)$$

donde A son las unidades de área reportadas por el cromatógrafo, m es la pendiente obtenida con la curva estándar, V es el volumen de la cabeza de aire, T es el tiempo de incubación en horas.

Apéndice 2: Protocolo de extracción de ADN

Este protocolo de extracción de ADN combina el método de lisis propuesto por Purdy (2005) y la purificación utilizando las columnas y protocolo del kit PowerSoil DNA Isolation Kit™ (MoBio Laboratories, Solana Beach CA, USA), el cual se describe a continuación.

Materiales

- Tubos de lisis de 2 mL
- Cuentas de vidrio (glass beads)

Reactivos

- Fosfato de sodio 120 mM (Na_2HPO_4) pH 8.0 + 1% (p/v) PVPP
- Fenol equilibrado con Tris pH 8.0 + 1% (p/v) de 8-hidroxiquinelona
- SDS al 20%
- Fosfato de sodio 120 mM (Na_2HPO_4) pH 8.0

Procedimiento

1. Agregar aprox. 0.5 mL de cuentas de vidrio para lisis en un tubo de lisis de 2 mL y agregar aproximadamente el mismo volumen de muestra. Procurar mantener la muestra en hielo.

2. Agregar las soluciones de lisis :

600 μL de fosfato de sodio 120 mM pH 8, 1 % (p/v) PVPP

400 μL Tris-fenol equilibrado pH 8.0 + 1% (p/v) de 8-hidroxiquinelona

40 μL SDS (20%) pH 8

3. Agitar los tubos en un "bead beater" durante 30 s a máxima velocidad y colocar rápidamente en hielo por 30 s (repetir el paso 3 veces).
4. Centrifugar a 13,000 rpm por 1 min.
5. Se observaran tres fases: botón (pellet), fenol y fase líquida. Cuidadosamente coleccionar la fase líquida (máximo 0.7 mL) y depositarla en un nuevo tubo de 2 mL manteniendolo en hielo.
6. Agregar 600 μL de fosfato de sodio 120 mM pH 8 al tubo de lisis y agitar en vórtex hasta desprender el botón.
7. Agitar los tubos en el "bead beater" durante 30 s a máxima velocidad e inmediatamente colocar en hielo por 30s (una sola vez).
8. Centrifugar a 13,000 rpm por 1 min.
9. Coleccionar la fase acuosa como en el paso 5 y depositarla en un nuevo tubo de 2 mL maneniendolo en hielo.

A partir de este punto se sigue el protocolo de extracción del kit PowerSoil DNA Isolation Kit™ (MoBio Laboratories, Solana Beach CA, USA) a partir del paso 14 según las instrucciones del fabricante.

10. A cada uno de los tubos con el sobrenadante obtenido durante la lisis añadir 1200 μL de la solución C4 y vortexear por 5 segundos.

11. Cargar aproximadamente 650 μL en una columna de purificación y centrifugar a 10,000 x g por un minuto. Descartar el eluyente y añadir otros 650 μL y volver a centrifugar. Se necesita un mínimo de 3 cargas por cada uno de los tubos con el sobrenadante y la solución C4.
12. Añadir 500 μL de la solución C5 y centrifugar a temperatura ambiente por 30 segundos a 10,000 x g.
13. Descartar el eluyente.
14. Centrifugar de nuevo a temperatura ambiente por 1 minuto a 10,000 x g.
15. Cuidadosamente colocar la columna de purificación en un tubo de 2 mL (provisto por el fabricante). Evitar salpicar la solución C5 en la columna.
16. Añadir 30 μL de agua grado molecular en el centro de la columna. Incubar la columna a temperatura ambiente por 2 minutos para hidratar bien el filtro.
17. Centrifugar a temperatura ambiente por 30 segundos a 10,000 x g.
18. Deshechar la columna.

Para cada muestra se realizan 3 extracciones independientes, estas se juntan y se realiza una purificación con el kit Quiagen DNA purification kit siguiendo las instrucciones del fabricante.