



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Centro de Investigaciones en Ecosistemas

EFFECTO DEL TIPO DE VEGETACIÓN EN LA DINÁMICA
DE NUTRIENTES Y EN LA ESTRUCTURA DE LAS
COMUNIDADES BACTERIANAS DEL SUELO EN EL
VALLE DE CUATRO CIÉNEGAS, COAHUILA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

(BIOLOGÍA AMBIENTAL)

P R E S E N T A

YUNUEN TAPIA TORRES

DIRECTOR DE TESIS: Dr. FELIPE FRANCISCO GARCÍA OLIVA

MORELIA, MICHOACÁN

ENERO, 2010



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.

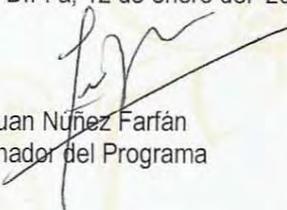
Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 26 de octubre del 2009, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Ambiental) de la alumna **Tapia Torres Yunuen** con número de cuenta **508010851** con la tesis titulada: **"Efecto del tipo de vegetación en la dinámica de nutrientes y en la estructura de las comunidades bacterianas del suelo en el Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila"** bajo la dirección de la **Dr. Felipe F. García Oliva**.

Presidente:	Dr. Alberto Ken Oyama Nakagawa
Vocal:	Dra. Luisa Isaura Falcón Alvarez
Secretario:	Dr. Felipe F. García Oliva
Suplente:	Dr. Gerardo Vázquez Marrufo
Suplente:	Dra. Valeria Souza Saldivar

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a, 12 de enero del 2010


Dr. Juan Núñez Farfán
Coordinador del Programa

AGRADECIMIENTOS

A las personas que aportaron su conocimiento y experiencia

Al Dr. Felipe García-Oliva, por todo su tiempo dedicado en las infinitas asesorías. Por todas las enseñanzas, convivencias y sobre todo por la confianza depositada en mí. Gracias por ser un verdadero maestro.

A la Dra. Valeria Souza y a la Dra. Luisa Falcón, por todas sus ideas aportadas a este trabajo y por su entusiasmo a lo largo de estos dos años. Gracias por el apoyo que me brindaron en mi estancia en el laboratorio de evolución molecular y experimental.

Al Dr. Antonio González. Gracias por la disposición de compartir tus conocimientos en todo momento, por tus valiosas contribuciones.

A Esmeralda López, por compartirme parte de sus conocimientos, por enseñarme a hacer las librerías de clonas. Tu ayuda fue fundamental para este trabajo Esme.

A Celeste Martínez por toda su ayuda en el laboratorio de biogeoquímica. Gracias Cel por enseñarme las técnicas del laboratorio.

A Maribel Nava-Mendoza y Rodrigo Velázquez Duran, por el apoyo técnico en los análisis biogeoquímicos.

A Heberto Ferreira y Alberto Valencia, por su apoyo en los análisis de datos.

A los miembros del jurado, que ayudaron a mejorar el manuscrito. Dr. Ken Oyama, Dr. Gerardo Vázquez, Dr. Felipe García-Oliva, Dra. Luisa Falcón, Dra. Valeria Souza.

Al señor Enrique Tapia, por apoyarnos tanto en el laboratorio. Sin él todo es una locura.

A los que apoyaron en el trabajo de campo, Yareni por enseñarnos como hacer el trabajo, Rodrigo que haríamos sin ti? Celeste y Felipe. Gracias.

A Juan Manuel, por su ayuda en el análisis de secuencias (eso va para el artículo Coach.)

A mis compañeros de laboratorio, Celeste, Cristina, Bruno por las discusiones que tenemos en el cubículo (de ahí saqué varias ideas).

A las instituciones que apoyaron este trabajo

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al laboratorio de Evolución Molecular y Experimental del Instituto de Ecología, y al laboratorio de Biogeoquímica de suelos del Centro de Investigaciones en Ecosistemas. Por brindarme la infraestructura necesaria para los análisis de laboratorio.

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

A la Dirección de Estudios de Posgrado de la UNAM por la beca de fomento a la graduación que me brindaron.

La presente Tesis fue financiada por el proyecto “Mecanismos de disponibilidad de N y P del suelo en un desierto del norte de México”, PAPIT-DGAPA-UNAM (IN215007)

También se agradece el apoyo recibido del proyecto de SEMARNAT-CONACYT 2006-C01-23459

A mis amigos

A Nuria, por estar siempre a mi lado y compartir todos los momentos conmigo. Por estos 10 años de bonita amistad.

A mis amigos, Casael, Jony, Itza, Juan Manuel, Ana Luisa, Lore, Hermilo, Alina, Nancy, Luis, Lucho, Pablo. A Yuris por nuestra amistad. Por las buenas fiestas y los viajes a la playa.

A mi familia

A mis papás que siempre han sido mi ejemplo, mi guía y mi motivación. Gracias por quererme tanto y por darme todo lo que he necesitado. Por ustedes he llegado hasta aquí.

A mis hermanas: Alis, por apoyarme y consentirme en todo. Gracias por ser tan buena diseñadora y siempre hacerme todo lo que quiero. A Caro, por todo su amor, por el semestre tan padre que sufrimos y disfrutamos juntas. A ustedes dos por ser mis mejores amigas y cómplices en todo. Gracias por su ayuda técnica. Las quiero mucho “niñas”. Acuérdense de mi cuando sean famosas.

A mi hermano: Jaime, por siempre estar al pendiente de nosotras. Por el gran equipo de defensa personal que formamos para darte gusto. Gracias por tu apoyo y cariño.

A mi tía Eréndira y mi tío Sergio, gracias por el cariño que siempre me han demostrado. Siempre han confiado en mí y me han apoyado.

A Toño, nadie lo vivió tan de cerca como tú. Gracias por tu gran paciencia y dulzura. Por el enorme corazón que tienes. Te amo.

A la familia González Japia

Por un futuro juntos y lleno de amor

*Nuestro universo sería una cosa muy limitada
Si no ofreciera a cada época algo que investigar....
La naturaleza no revela sus misterios de una vez para siempre.*

SÉNECA, Cuestiones naturales,

libro 7

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	vi
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	11
HIPÓTESIS.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
Área de estudio.....	13
Análisis biogeoquímico de suelo	16
Humedad del suelo y pH	16
Nutrientes totales.....	16
Nutrientes disponibles.....	16
Nutrientes disueltos	17
Carbono y Nitrógeno microbiano.....	17
Incubaciones.....	18
Análisis estadístico.....	19
Librería de clonas	20
Extracción del DNA total.....	20
Amplificación por PCR.....	21
Librería de clonas y secuenciación.....	22
Comparación de secuencias	22

RESULTADOS 24

 Datos de campo 24

 Humedad, pH y formas totales de C, N y P..... 24

 Formas disponibles, disueltas y microbianas..... 26

 Análisis de componentes principales..... 28

 Datos de incubaciones..... 30

 Incubaciones del suelo en el laboratorio..... 30

 Datos moleculares..... 38

DISCUSIÓN..... 42

CONCLUSIONES..... 52

PERSPECTIVAS..... 53

REFERENCIAS..... 54

RESUMEN

En esta tesis se analizaron los procesos biogeoquímicos relacionados con la disponibilidad de Nitrógeno (N), Fósforo (P) y Carbono (C) y su relación con la composición de la comunidad de bacterias en el suelo de los dos tipos principales de vegetación (matorral y pastizal) dentro del Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila. La colecta de suelo se hizo en dos estaciones contrastantes: verano e invierno (verano-07 e invierno-08). Nuestra hipótesis principal fue que los mecanismos de disponibilidad de N y P en el suelo dependen de la actividad de los microorganismos, la cual a su vez está determinada por el carbono orgánico del suelo (COS) aportado principalmente por las plantas. Se realizaron análisis biogeoquímicos del suelo para cada sitio y fecha. Para determinar la composición de la comunidad bacteriana se construyó una librería de clones del gen que codifica para la subunidad 16S ARNr para cada tipo de vegetación. Los resultados mostraron que el pastizal es el sitio con mayor humedad, menor pH, mayores concentraciones de formas orgánicas tanto de carbono orgánico disuelto (COD), nitrógeno orgánico disuelto (NOD) y fósforo orgánico disuelto (POD), así como amonio. En cambio, el matorral presentó menor porcentaje de humedad, mayor pH, mayores concentraciones de fósforo total (PT) y formas inorgánicas, como nitrato disponible y fósforo inorgánico (Pi). Así mismo, se observaron diferencias en la composición bacteriana entre las coberturas vegetales. El pastizal mostró 28 clases de bacterias, en comparación con 20 clases encontradas en el matorral. Estos resultados pueden ser explicados debido a que el pastizal tuvo mayor cantidad de Carbono orgánico y humedad, lo que favoreció la actividad de los

microorganismos heterótrofos. Esto último a su vez promueve la inmovilización de N en la biomasa microbiana y por tanto, la permanencia del N en el sistema. En cambio, en los matorrales existe menor energía disponible para los heterótrofos, permitiendo una mayor nitrificación e incrementando la pérdida del N en el suelo. Por tanto, si la vegetación aumenta la disponibilidad del carbono orgánico en el suelo, puede incrementar al número de grupos taxonómicos de bacterias y la protección del N en el ecosistema.

ABSTRACT

This study analyzed the biogeochemical processes associated with the availability of nitrogen (N), phosphorous (P), and carbon (C) and their relation with the bacterial community composition in the soil under two vegetation types (grassland and scrubland) in the Cuatro Ciénegas basin, Coahuila. Soil was collected in two contrasting seasons: summer and winter (august-2007 and february-2008). The main hypothesis was that the soil availability of N and P are strongly affected by microorganism's activity, which in turn is determined by the soil organic carbon (SOC) input contributed mainly by plants. The soil biogeochemical analyses were performed for each site and sampling date. For determine the bacterial community composition 16S rRNA clone libraries were constructed for each vegetation type. The results showed that the grassland, which is the moist site with lower pH, presented greater concentration of organic forms, like dissolved organic carbon (DOC), dissolved organic nitrogen (DON), and dissolved organic phosphorus (DOP), as well as available ammonium. In contrast, the scrubland with lower moisture and higher pH, presented greater concentrations of total phosphorus concentration (PT), nitrate, and inorganic phosphorus (Pi). Additionally, the composition of bacterial communities was different between both sites. The grassland had 28 classes of bacteria, while scrubland had 20 classes. These results suggest that this difference may be caused by a higher organic matter inputs by plants in the grassland, promoting a higher activity of heterotrophic microorganisms. This enhances the N immobilization within microbial biomass, favoring its permanence in the system. Instead, the nitrifying microorganisms may

have increased activity due to lower available energy for heterotrophic microorganisms in the scrubland. Thus, the N is more susceptible to being lost from this site. As a conclusion, the increment of soil organic carbon availability by vegetation could be result in a higher bacterial taxonomic groups and N protection capacity within ecosystem.

INTRODUCCIÓN

Existe un acuerdo general en que el cambio climático global tendrá un impacto profundo, tanto en la sociedad humana, como en los ecosistemas naturales. Este fenómeno de hecho ya se ha iniciado, pues los datos existentes muestran claramente que ha habido un incremento en la temperatura media global de 0.6 °C desde inicios del siglo XX (Easterling *et al.*, 2000) y se espera que la temperatura media global se incremente en 1.5-5.8 °C durante el siglo XXI (IPCC, 2001). Se ha reportado que este y otros cambios climáticos observados han sido consecuencia del incremento de las emisiones de los gases de efecto invernadero debido a las actividades antropogénicas, siendo las más importantes el cambio de uso de suelo, la deforestación, la quema de biomasa y de combustibles fósiles, entre otros (Lal, 2008).

Una de las principales consecuencias del incremento en la temperatura conllevará al aumento de la aridez de los ecosistemas y de esta manera a un aumento de la desertificación. Por lo tanto, es posible que se incremente el porcentaje de zonas áridas en la superficie del planeta de una manera proporcional al aumento de su temperatura global. Esto a su vez, provocará cambios importantes en los ciclos biogeoquímicos mundiales (Schlesinger *et al.*, 1990). Emmanuel *et al.* (1985), predicen un incremento del 17% en el área de las zonas desérticas en el mundo debido al cambio global. Cualquier cambio direccional que se de hacia una mayor proporción de zonas áridas potencialmente representa una pérdida permanente de la capacidad productiva de la biosfera, de la cual depende la vida (Vitousek *et al.*, 1986).

Los ecosistemas desérticos forman, junto con los bosques tropicales, uno de los mayores componentes de los biomas de la Tierra. Las zonas desérticas cubren aproximadamente el 30-40% de la superficie terrestre (Dregne, 1991), que representa cerca de 5,200 millones de hectáreas (Reynolds *et al.*, 2005). De esta manera, las zonas áridas constituyen el lugar donde se desarrolla la vida de unos dos mil millones de personas. Por lo tanto, estas zonas son claves para la economía, cultura y clima de los diferentes continentes, por lo que su estudio y conservación son prioritarios.

En México, las zonas desérticas ocupan la mitad del territorio (Challenger, 1998) y en este tipo de ecosistemas se desarrollan una gran diversidad de especies de plantas y animales, muchos de los cuales son endémicos (Rzedowski, 1983).

Actualmente, los desiertos de México cubren la mayor parte del Altiplano Mexicano y de la Planicie Costera de los estados de Baja California y Sonora. Existe una fuerte controversia acerca de la antigüedad de los desiertos de México. La gran diversidad de formas de vida y el elevado número de elementos endémicos de la flora vascular y, en menor grado, de vertebrados en las zonas áridas de México, apoyan el concepto de que los desiertos Mexicanos son de origen muy antiguo (Briones, 1994). Sin embargo, las evidencias fósiles muestran que las comunidades vegetales contemporáneas de los desiertos Chihuahuense y Sonorense son de origen mucho más reciente. Se ha propuesto que estos desiertos se desarrollaron en la presente era interglacial, especialmente después de la glaciación Wisconsiniana, aproximadamente hace 10,000 años (Briones, 1994).

En estos ecosistemas, la productividad de las plantas es muy variable, tanto en las dimensiones temporales como espaciales, y está muy limitada por la escasa precipitación y su marcado patrón de distribución estacional (Núñez *et al.*, 2001). Por lo tanto, la mayoría de los estudios se han centrado en entender el funcionamiento de los ecosistemas desérticos tomando a la humedad como el principal factor limitante de la productividad de las plantas, lo cual ha desviado el interés de estudiar la influencia de otros factores tales como la disponibilidad y dinámica de nutrientes esenciales, entre ellos el nitrógeno (N) y el fósforo (P) (Schlesinger *et al.*, 1990).

Uno de los ecosistemas áridos más importantes de México es el desierto Chihuahuense. Este desierto representa en la actualidad un sitio importante de estudio, pues no es solamente el desierto más diverso del Hemisferio Oeste y una de las regiones áridas más biodiversas del mundo, si no que es una región que sobresale por su alto grado de endemismos, especialmente de plantas y reptiles (Rzedowski, 1983; Challenger, 1998).

Dentro del desierto Chihuahuense se encuentra localizado el “Valle de Cuatro Ciénegas”, que pertenece al Área de Protección de Flora y Fauna, creada en 1994 (Espinosa *et al.*, 2006). Dentro de Cuatro Ciénegas, la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), ha reportado la existencia de cerca de 300 pozas, en las que se ha encontrado un gran número de especies endémicas. Además, en muchas de ellas se ha observado la presencia de estromatolitos vivos, que son comunidades microbianas complejas consideradas como un ejemplo de la vida en la Tierra hace casi 3 mil millones de años (Madigan *et al.*, 2004).

El patrón de cambio hacia una mayor aridez que está ocurriendo en el valle de Cuatro Ciénegas es parecido a las predicciones de algunos modelos del cambio climático global, los cuales proponen que extensas áreas van a experimentar una reducción de la humedad del suelo lo cual, aunado a la destrucción de biomasa vegetal, producirá condiciones de mayor aridez (Schlesinger, 2000; Christensen *et al.*, 2007).

Relación: Planta-Nutrientes-Microorganismos

Las distintas especies de plantas difieren en la manera en que pueden influenciar muchos aspectos de la estructura y funcionamiento de los ecosistemas, incluyendo las características del suelo, del relieve, de la dinámica de nutrientes, el clima regional, y la actividad y distribución de otros organismos (Eviner y Chapin III, 2003).

La productividad de prácticamente todos los ecosistemas naturales, incluyendo a los ecosistemas áridos, responde a la adición de uno o más nutrientes, indicando la importancia de que un nutriente esté de manera disponible en el suelo. Algunos nutrientes como el P y el Fe son muy reactivos y se unen fuertemente a las partículas del suelo, por lo que su disponibilidad es generalmente baja, sobre todo en suelos calcáreos. Por ejemplo, los suelos de los ecosistemas áridos frecuentemente presentan acumulación de sales (como el carbonato de calcio), lo que mantiene el pH del suelo en un intervalo de 7-8, lo cual reduce la cantidad de formas disponibles de P. Esta reducción se traduce como una limitante para la actividad de los microorganismos y de las plantas (Martínez-Piedragil, 2008).

Las plantas juegan un papel muy activo en mediar propiedades químicas del suelo como el pH, la salinidad, la capacidad de intercambio catiónico y la capacidad de retención de agua (Schlesinger, 2000; Eviner y Chapin III, 2003). El pH del suelo puede ser modificado debido a que las plantas pueden acidificar su rizósfera hasta en varias unidades. Esto se atribuye principalmente a la liberación de ácidos orgánicos como exudados, así como a la liberación de iones H^+ por las raíces durante la absorción de cationes del suelo (Schlesinger, 2000; Eviner y Chapin III, 2003). Así mismo, los cationes como el Ca^{+2} y Mg^{+2} son claves en la capacidad de amortiguación del pH en el suelo. De esta manera, el pH del suelo puede incrementarse por la presencia de especies de plantas con altas concentraciones de Ca^{+2} en su mantillo (Eviner y Chapin III, 2003).

La cantidad de C que es fijado por las plantas a través de la fotosíntesis provee la energía con la que se llevan a cabo otros procesos bióticos en el suelo. Aún así, las especies de plantas que crecen en el mismo sitio pueden diferir en su productividad primaria neta (PPN; Eviner y Chapin III, 2003).

La materia orgánica del suelo (MOS) consiste en una fracción lábil que está compuesta de materiales vegetales frescos que contienen moléculas estructural y químicamente sencillas (carbohidratos, proteínas simples y aminoácidos), las cuales son sometidas a descomposición rápida; y en una fracción recalcitrante formada por materiales húmicos, a menudo formando complejos con arcillas y metales (Schlesinger, 2000; Montaña, 2008). Lo que quiere decir que los mecanismos llevados a cabo en el suelo bajo coberturas vegetales diferentes, tales como la capacidad de retención de agua en el suelo y la capacidad de intercambio catiónico, estarán influenciados de una manera directa por la cantidad

y calidad de materia orgánica que las plantas proporcionan al suelo (Jackson y Caldweel, 1993; Schlesinger *et al.*, 1996).

La MOS, también tiene un efecto sobre la actividad de los microorganismos del suelo. Aproximadamente tres cuartas partes del carbono orgánico contenido en los ecosistemas terrestres y la mayoría del nitrógeno orgánico se encuentran en los residuos de las plantas y en la MOS (Schlesinger, 2000; Lal, 2008). Tanto el carbono orgánico, como los macro-nutrientes (N, P, S) son mineralizados a formas inorgánicas por la actividad de las comunidades microbianas, proporcionando la gran mayoría de los nutrientes inorgánicos necesarios para el crecimiento de las plantas (Manzoni y Porporato, 2009).

La materia orgánica representa la principal fuente de energía para los microorganismos heterótrofos del suelo. Cuando el suelo tiene humedad suficiente para la actividad microbiana, el C disponible puede afectar la disponibilidad de N y P, debido a que el C promueve la inmovilización de nutrientes por los microorganismos heterótrofos, así como su mineralización (Kuske *et al.*, 2002). Por otra parte, las bacterias del suelo son las encargadas de casi toda la fijación de N₂ atmosférico, representando una entrada importante de N al ecosistema. Los microorganismos pueden mediar las transformaciones de los nutrientes a través de la producción de enzimas específicas, las cuales están codificadas en sus genes funcionales (Zak *et al.*, 2006).

La relación entre diversidad de la comunidad microbiana del suelo y la disponibilidad de los recursos energéticos aún no es muy clara. Algunos estudios indican que el tamaño y la composición de las comunidades microbianas se incrementan de acuerdo a la disponibilidad de los recursos (Carney *et al.*, 2004;

Balser y Firestone, 2005; Carney y Matson, 2005). Sin embargo, otros estudios muestran que los microorganismos del suelo son ubicuos (Finlay y Clark, 1999; Finlay, 2002), lo que sugiere que la disponibilidad de recursos tiene poco efecto sobre la diversidad y función microbiana (Montaño *et al.*, 2009). A pesar de esto, se ha reportado que existe una estrecha relación entre ciertas especies de plantas con especies de bacterias y hongos del suelo (Westover *et al.*, 1997), lo cual sugiere que al incremento de la diversidad de plantas, corresponde un incremento en la heterogeneidad de recursos para los microorganismos, incrementando así la diversidad microbiana (Lynch *et al.*, 2004).

A pesar de esta fuerte interdependencia, existen pocos trabajos que evalúan la relación que existe entre la cobertura vegetal, los recursos del suelo y la estructura bacteriana. Uno de estos trabajos es el de Rajaniemi (2009), que evaluó cómo la composición microbiana puede cambiar a lo largo de un transecto en dunas costeras y cómo estos cambios pueden estar regulados por los recursos del suelo. En dicho estudio se encontró que la biomasa microbiana está fuertemente correlacionada con el C del suelo y de esta manera con la vegetación. Además, la composición microbiana varía con el estrés abiótico, principalmente con la salinidad del suelo. Lo anterior demuestra que la biomasa y la composición de la comunidad están influenciadas por diferentes variables ambientales y que la vegetación puede estar jugando un papel fundamental.

Se estima que la biomasa de microorganismos terrestres en la superficie de nuestro planeta es igual a la de todas las plantas marinas y terrestres, y tal vez sea el constituyente principal de la biomasa de nuestro planeta (Pedersen 2000; Whitman *et al.*, 1998). Sin embargo, los métodos tradicionales de cultivo han

mostrado limitaciones para el entendimiento de la ecología y evolución de los microorganismos, pues se ha estimado que el porcentaje de la diversidad de microorganismos que puede recuperarse en cultivo no alcanza el 5% (Escalante, 2008). A pesar de esto, gracias a la implementación hace ya más de una década de herramientas moleculares independientes del cultivo, la información sobre diversidad, distribución e interacciones de microorganismos ha comenzado a acumularse (Hughes *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2008), lo que ha ayudado a abrir poco a poco la caja negra del mundo microbiano edáfico (Nogales, 2005).

De entre todas las moléculas probadas hasta ahora, los ácidos nucleicos (ADN y ARN) han demostrado ser las moléculas más útiles para el entendimiento de la estructura de las comunidades bacterianas. La principal ventaja al usar los ácidos nucleicos como método molecular, es que puede analizarse a la comunidad microbiana en su totalidad, incluyendo a aquellos organismos que no han podido ser cultivados en el laboratorio (Pickup, 2004; Holben y Harris, 1995). Por esa razón, estos métodos se han vuelto cada vez más importantes en el estudio de la ecología microbiana.

Desde hace más de 10 años, un marcador molecular basado en ácidos nucleicos que se utiliza de manera extensiva en los estudios con microorganismos es el gen que codifica para la subunidad 16S del ARN ribosomal (rARN) (Cerritos, 2007). Sus principales características: son estructuras (los ARNr o sus genes) homólogas que tienen un mismo origen evolutivo (ortólogos), por lo que son útiles para realizar análisis filogenético en cualquier jerarquía taxonómica. Es un poliribonucleótido de aproximadamente 1.500 nt, es una molécula muy antigua y está presente en todas las bacterias, además su función y estructura han

permanecido constantes durante un tiempo prolongado, por lo que las alteraciones en la secuencia reflejan probablemente cambios aleatorios, los cuales ocurren de manera suficientemente lenta como para aportar información acerca de todos los procariotas. Además, contienen suficiente variabilidad para diferenciar no sólo a los organismos más alejados, sino también a los más próximos. Dado que resulta relativamente fácil secuenciar los genes que codifican para la subunidad 16S (ADNr) existen bases de datos amplias, en continuo crecimiento (Rodicio y Mendoza, 2004).

A pesar de que existen estas herramientas moleculares, poco se sabe sobre la composición de las comunidades bacterianas en el suelo, sobre todo de los ecosistemas áridos, y su relación con la disponibilidad de nutrientes, la cobertura vegetal, y la respuesta de estas comunidades bacterianas a cambios en las condiciones ambientales y las repercusiones que esto pudiera tener a nivel ecosistémico.

Es por esta razón que nuestro trabajo se centra principalmente en evaluar los efectos de la cobertura vegetal sobre la disponibilidad de nutrientes y cómo se ve afectada la composición de las comunidades bacterianas en el suelo de un ecosistema árido de México. Con lo cual se aporta información novedosa acerca del funcionamiento de los ecosistemas desérticos en México. Aunado a lo anterior, el estudio de la estructura bacteriana en este tipo de ecosistemas genera una plataforma para estudios posteriores que se centren en el entendimiento de la presencia, abundancia y expresión de genes particulares, así como la identidad de los organismos en los que se encuentran estos genes, lo cual puede revelar la

manera y magnitud en la que los mecanismos moleculares pueden regular las dinámicas biogeoquímicas.

Antecedentes

Los estudios previamente llevados a cabo en la zona del Valle de Cuatro Ciénegas se han enfocado principalmente al análisis de los sistemas acuáticos. Algunos de estos han tenido como objetivo estudiar la diversidad y variación espacial de procariontes acuáticos a diferentes escalas espaciales y jerárquicas (Escalante, 2008), mientras que otros se han enfocado en el estudio descriptivo de grupos microbianos específicos (Beltrán, 2007) y en varios casos se ha explorado la distribución de la diversidad microbiana (Souza *et al.*, 2006; Falcón *et al.*, 2007; Domínguez, 2008).

Sin embargo, pocos son los estudios realizados en el Valle de Cuatro Ciénegas que tengan como objetivo el estudio de la biogeoquímica del suelo. Por ejemplo, Martínez-Piedragil (2008), comparó dos sitios con pastizales que presentaban diferente disponibilidad de agua y encontró que los sitios con mayor disponibilidad están asociados a una mayor cobertura vegetal y a su vez presentan mayores entradas de formas orgánicas disponibles de C y N. Esto sugiere que una mayor cantidad de materia orgánica del suelo favorece los mecanismos de protección de nutrientes asociados a la comunidad de bacterias heterótrofas del suelo. Por su parte, Perroni *et al.* (en revisión) compararon dos sitios con cobertura vegetal distinta (pastizal y matorral) con el objetivo de determinar la importancia de la riqueza y la identidad de especies vegetales sobre la disponibilidad de P inorgánico (Pi). Encontraron que en el matorral, donde existe mayor diversidad de plantas pero menor densidad, la disponibilidad de Pi total es mayor y diferente al pastizal que presenta menos especies de plantas pero mayor

densidad. Esto sugiere un efecto positivo de la riqueza de especies en el funcionamiento de los ecosistemas.

OBJETIVO

Analizar los procesos biogeoquímicos relacionados con la disponibilidad de Nitrógeno (N), Fósforo (P) y Carbono (C) y su relación con la composición de la comunidad de bacterias en el suelo de los dos tipos principales de vegetación (matorral y pastizal) en el sistema Churince dentro del valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila.

Objetivos particulares:

- Determinar la dinámica de N, P y C en el suelo para los dos tipos principales de vegetación.
- Determinar los procesos de mineralización de N y P y la nitrificación en los suelos de los dos tipos principales de vegetación.
- Determinar la composición de las comunidades bacterianas en los suelos de ambos tipos de vegetación.
- Establecer la relación entre los procesos de disponibilidad de nutrientes y la composición de las comunidades bacterianas en los suelos de los dos tipos de vegetación.

HIPÓTESIS

Los mecanismos de disponibilidad de N y P en el suelo dependen de la actividad de los microorganismos, la cual a su vez está determinada por el Carbono Orgánico del Suelo (COS) aportado principalmente por las plantas.

Predicciones específicas:

- *La dinámica de N, P y C, será diferente en ambos sitios debido a que estará influenciada por la cobertura vegetal presente.* En particular, se espera que el pastizal tenga una mayor disponibilidad de N y P debido a que existe mayor incorporación de COS disponible, lo cual promueve la mineralización de las formas orgánicas de ambos nutrientes.
- Se espera mayor riqueza de microorganismos en el sitio con mayor disponibilidad de nutrientes (pastizal), permitiendo la presencia de más nichos, con lo que se incrementa la especialización y se crean oportunidades para que se establezcan más especies.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Este estudio se llevó a cabo en el valle de Cuatro Ciénegas de Carranza localizado en el estado de Coahuila. Su ubicación geográfica es 26°49' N y 102°15' O (Figura 1). El valle presenta una extensión de aproximadamente 200 kilómetros cuadrados y se sitúa dentro del desierto Chihuahuense (Figura 1). Geológicamente, el valle de Cuatro Ciénegas está localizado dentro de la zona marginal del plegamiento en el flanco occidental de la Sierra Madre Oriental (Johanneson *et al.*, 2004). Las rocas principales son calizas y yesos del Jurásico (Mckee *et al.*, 1990).

La altitud promedio del Valle es de 740 m.s.n.m, pero está rodeado por sierras (sierra La Madera al norte, al sureste por la sierra de San Marcos y al oeste por la sierra de La Fragua) formadas principalmente por rocas calizas (Conagua, 2004; Minckley y Gerald, 1967). Su clima es muy seco, semi-cálido con pocas lluvias en verano y ocasionalmente algunas en invierno (Souza *et al.*, 2006). Tiene una temperatura anual promedio de 22 °C y una precipitación media anual de 219 mm (Conagua, 2004). De acuerdo con la clasificación de la WRB 2007, el suelo presente en el valle es Gipsisol y Leptosol. El tipo de vegetación que predomina es el pastizal halófilo y el matorral xerófilo (Challenger, 1998).

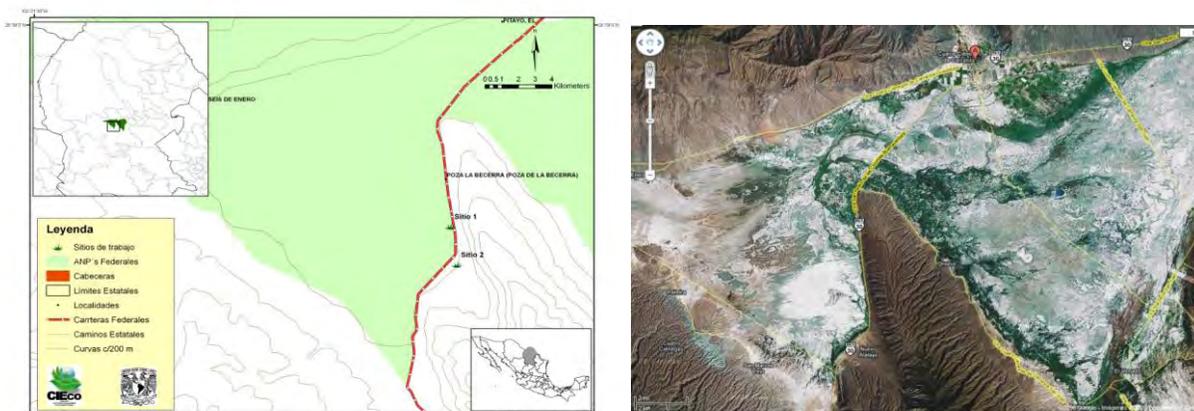


Figura 1. Ubicación del sitio de estudio en el valle de Cuatro Ciénegas de Carranza, Coahuila México.

El estudio se realizó en dos sitios que presentan una distinta cobertura vegetal: pastizal localizado sobre suelos gipsisoles y matorral sobre leptisoles, los cuales se encuentran separados entre sí por una distancia de aproximadamente 1.5 km y están localizados en la parte occidental del Valle donde el tipo de roca predominante es el yeso (CaSO₄).

En el sitio con pastizal se encontraron 5 especies vegetales: *Sporobolus airoides* (Torrey) Torrey, *Muhlenbergia asperifolia* (Nees and Mey) Parodi, *Salicornia cf. utahensis* Tidestr. (Humb and Bonpl. Ex Willd.) M.C Johnston, y *Prosopis laevigata* (Humb. et Bonpl. ex Willd) M.C. Johnston. Siendo las dos primeras las más abundantes de este sitio. En contraste, en el sitio con matorral se encontraron 22 especies vegetales, siendo *Cylindropuntia leptocaulis* (George Engelmann) Frederic Knuth, *Larrea tridentata* (DC.) Cov. y *Jatropha dioica* (Cerv. Var. *graminea* Mc Vaugh), las más dominantes. La biomasa total fue mayor en el pastizal que en el matorral ($931 \pm 163 \text{ g m}^2$ y $618 \pm 74 \text{ g m}^2$, respectivamente) debido principalmente a la biomasa subterránea ($488 \pm 168 \text{ g m}^2$ y $224 \pm 77 \text{ g m}^2$, respectivamente; Velázquez-Duran, en preparación).

Para probar el efecto del tipo de vegetación sobre la dinámica de nutrientes, la composición y la actividad de las comunidades microbianas, en cada uno de los dos sitios se estableció un cuadro de 100 m x 50 m. Estos cuadros se dividieron en 10 transectos separados entre sí por 10 m. Estos transectos fueron trazados perpendicular a la pendiente principal del terreno.

En cada uno de los transectos, se estableció un cuadro de muestreo al azar de 2 x 2 m (4 m²). Estos cuadros son considerados como la unidad experimental y

representan las réplicas de cada tipo de vegetación (10 réplicas por tipo de vegetación y por fecha; Figura 2). El muestreo del suelo se realizó utilizando un nucleador de 5 cm de diámetro y de los primeros 15 cm de profundidad, con el que se tomaron 5 muestras (en las cuatro esquinas y en el centro) dentro de cada unidad experimental, las cuales se mezclaron para formar una muestra compuesta por cuadro. Este muestreo de suelo se llevó a cabo en dos fechas: verano (agosto-2007) e invierno (febrero-2008).

De las muestras compuestas se tomó una alícuota de aproximadamente 100 g de suelo, las cuales se almacenaron en nitrógeno líquido para ser utilizadas en el estudio de las comunidades microbianas con análisis moleculares. El resto de las muestras fueron guardadas en bolsas negras y almacenadas en el laboratorio a 4 °C antes de los análisis biogeoquímicos.

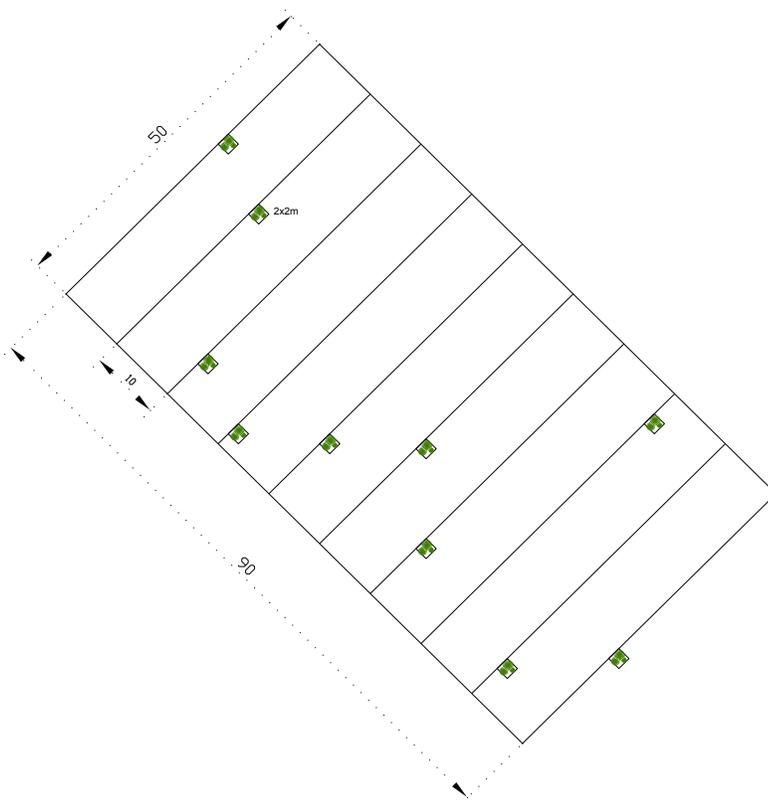


Figura 2. Representación esquemática del diseño de muestreo de suelo en los sitios de matorral y pastizal. Los cuadros verdes representan cada una de las unidades de muestreo de 2 x 2 m².

ANÁLISIS BIOGEOQUÍMICO DE SUELO

Humedad del suelo y pH

Para determinar el porcentaje de humedad del suelo, se utilizó el método gravimétrico, El pH activo del suelo se midió utilizando una solución de 1:10 p/v de suelo en agua desionizada con ayuda de un potenciómetro de vidrio (Corning) previamente calibrado.

Todas las formas de carbono (C), se determinaron utilizando un Analizador de Carbono Total (UIC Mod. CM5012; Chicago, E.U.A.), mientras que todas las formas de nitrógeno (N) y fósforo (P) se determinaron por colorimetría usando un Auto - Analizador Bran – Luebbe III (Norderstedt, Alemania).

Nutrientes totales

Cada sub-muestra de suelo seco fue molido en mortero de ágata para su posterior análisis. El C total se determinó por medio del método coulométrico. El N total fue determinado después de una digestión ácida por el método macro-Kjendahl (Bremmer, 1996). El P total fue medido por el método colorimétrico de molibdato después de una digestión ácida y posterior por reducción con ácido ascórbico (Murphy y Riley, 1962).

Nutrientes disponibles

Las formas inorgánicas de N (NH_4^+ y NO_3^-) fueron extraídas con KCl 2N, de muestras frescas y los extractos se filtraron a través de papel Whatman No. 1. La determinación se realizó mediante el método colorimétrico del hipoclorito – fenol (Robertson *et al.*, 1999). Las formas inorgánicas de P (PO_4^{+}) se obtuvieron con el método de fraccionamiento de Heldey *et al.*, (1982), usando un extractante de bicarbonato de sodio 0.2 N ajustado a un pH de 8.5.

Nutrientes disueltos

Para la extracción de formas disueltas, se pesó una sub muestra de 20 g y se agitó durante 45 min con agua desionizada, posteriormente se filtró a través de membranas Whatman 0.42 μm (Jones y Willett, 2006). Para el N y P total disuelto, el extracto fue digerido en H_2SO_4 y ambos nutrientes fueron determinados por colorimetría. Previo a la digestión ácida, una alícuota del filtrado se utilizó para determinar las formas inorgánicas de N y P (NH_4^+ y PO_4^{+3}). Para el C total disuelto se utilizó un auto – analizador de C (UIC CM5012), módulo para líquidos (UIC - COULOMETRICS). El análisis de C inorgánico disuelto se realizó en un módulo de acidificación CM5130. Las formas orgánicas tanto de C (COD), N (NOD) y P (POD) se determinaron por la diferencia entre el total disuelto y el inorgánico disuelto.

C y N microbiano

Las concentraciones de C y N microbiano del suelo, se determinaron por el método de extracción-fumigación con cloroformo (Vance *et al.*, 1987). El cual consiste en pesar 20 g de suelo fresco por duplicado para tener muestras fumigadas y no fumigadas. Las muestras se fumigaron con 80 ml de cloroformo. Posteriormente las muestras fumigadas y las muestras sin fumigar se incubaron a 25°C durante 24 horas y a una humedad constante. El C microbiano fue extraído de ambas muestras (fumigadas y sin fumigar) con 80 ml de K_2SO_4 0.5 M y se filtraron en Whatman # 42 (Brookes *et al.*, 1985). Se determino el C orgánico microbiano por el método coulométrico y se calculó restando el C extraído de las muestras no fumigadas del C extraído de las muestras fumigadas y dividiéndolo

entre un valor de K_{EC} de 0.45 (Joergensen *et al.*, 1996). El N microbiano se extrajo con el mismo procedimiento usado para C microbiano, pero fue filtrado a través de Whatman # 1. El filtrado se digirió en H_2SO_4 y se determinó como N total por el método de macro-Kjeldahl (Brookes *et al.*, 1985). El N orgánico microbiano se calculó de una manera similar al C microbiano, pero se dividió entre un valor K_{EN} de 0.54 (Joergensen y Mueller, 1996). Los valores fueron expresados en base al peso seco del suelo.

Incubaciones

Las incubaciones de las muestras colectadas en cada fecha se llevaron a cabo en el laboratorio durante 7 y 14 días. De cada muestra se pesaron 100 g por duplicado para tener dos sub-muestras de suelo fresco, el cual se colocó en tubos de PVC con un extremo cerrado con malla de diámetro de poro de 0.05 mm. Siguiendo a Robertson *et al.* (1999), cada muestra se humedeció a capacidad de campo con agua desionizada por medio de capilaridad. Posteriormente, cada muestra se colocó en un frasco de vidrio con capacidad aproximada de 1 l. Una trampa de NaOH 0.2 N fue colocada dentro de cada frasco y finalmente fueron cerrados. Durante el periodo de 7 y 14 días de incubación, la trampa de NaOH fue reemplazada periódicamente para evitar su saturación, además de que en cada reemplazo se determinó la cantidad de CO_2 atrapado, esto se hizo por medio de una titulación con HCl 0.2 N utilizando fenoftaleína como indicador. Al término de cada periodo de incubación, se determinó la concentración de amonio y nitrato disponibles, además de la concentración de nutrientes disueltos (COD, NOD y POD), mediante los métodos antes descritos. Las diferencias entre los valores pre

y post-incubación de las formas disponibles y disueltas fueron usados para calcular la mineralización neta de N, la nitrificación neta, ΔCOD , ΔNOD y ΔPOD .

Finalmente los valores fueron corregidos por el contenido de humedad y se reportan en masa de suelo seco.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el programa STATISTICA 7 (StatSoft) para realizar todos los análisis estadísticos. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza de medidas repetidas (RMANOVA; Von Ende, 1993), en donde la vegetación correspondiente a matorral y pastizal fue considerada como factor entre sujetos y la fecha de muestreo (verano e invierno) y la interacción se consideraron como factores dentro de sujetos.

Los supuestos establecidos para los análisis de medidas repetidas (RMANOVA) fueron revisados y cuando éstos no se cumplieron, los datos fueron transformados a logaritmo base 10 (Sokal y Rohlf, 1995). Cuando el RMANOVA indicó efectos significativos de los factores, se realizó una comparación de medias por medio de un análisis de comparación múltiple de Tukey (Von Ende, 1993). Con el propósito de explorar las relaciones entre los parámetros del suelo, se hizo una correlación de Pearson.

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con el objetivo de analizar si la cobertura vegetal explica parte de la varianza conjunta de las formas de nutrientes más dinámicas del suelo. Para ello se generó una matriz de 9 variables (pH, formas disponibles, formas orgánicas disueltas y formas microbianas) con las 40 muestras analizadas (dos coberturas y dos fechas de

muestreo). El ACP se realizó doble centrado y estandarizado en el programa Statistica 7 software (StatSoft). Para probar la hipótesis de si las dos coberturas afectaron las medias asociadas a cada una de las coberturas (pastizal y matorral) de los dos principales componentes, se aplicó una prueba de t-Student. Se realizó un análisis de regresión múltiple por pasos, para examinar las variables que controlaron la mineralización potencial de C (C-CO₂) que fueron medidas en las incubaciones de laboratorio. En todos los casos, las diferencias se consideraron significativas a una $p < 0.05$.

Las frecuencias de los grupos bacterianos obtenidas a partir de las secuencias derivadas de las librerías de clonas se compararon entre el matorral y el pastizal mediante una prueba de χ^2 .

LIBRERÍA DE CLONAS

Extracción del DNA total

De las 40 sub-muestras que se almacenaron en nitrógeno líquido, se hizo una muestra compuesta por sitio y por fecha, de tal manera que los análisis moleculares se procesaron a partir de 4 muestras compuestas (pastizal verano, matorral verano, pastizal invierno, matorral invierno).

Estas muestras se sometieron a un lavado previo a la extracción para eliminar las partículas más grandes de suelo, utilizando el método propuesto por Holben (1988). Posteriormente, se hizo la extracción y purificación del DNA genómico usando el kit Soil Master Ultra Clean (EPICENTRE Biotechnology) siguiendo el protocolo de los fabricantes. El tamaño y calidad del DNA genómico se verificó con una electroforesis en gel de agarosa.

Amplificación por PCR

El gen de la subunidad 16S rRNA de cada muestra, fue amplificado por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) usando primers universales marcados con fluorescencia. El primer directo utilizado fue el 27 F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'), y el reverso fue el 1492R (5'TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3').

Se realizaron 3 ensayos de PCR independientes por muestra, con el propósito de tener la cantidad de producto necesario para todos los análisis. A cada reacción se le agregó 4 µl de DNA, 1 µl de buffer 1 x PCR, 0.5 mM MgCl₂, 0.2 mM de mezcla de dNTP, 0.2 mM de cada primer, 1 U de Taq DNA polimerasa platinum de alta fidelidad (Invitrogen), 5% DMSO y 0.05 mg de BSA. Todas las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador de la marca MJ Research (Watertown, Ma) con el siguiente programa: 10 min a 95 °C, 30 ciclos de 1 min a 95°C, 52°C por 2 min, 72°C por 3 min y completando con 72 °C por 10 min.

Los productos de las tres réplicas de las reacciones de PCR se combinaron en uno sólo, se limpiaron y concentraron utilizando el Clean-up Kit (Millipore). Posteriormente, los productos de PCR se verificaron en un gel de agarosa al 2 % del cual fueron purificados utilizando el kit de extracción (Gel extraction kit Qiagen, Inc.) con el propósito de eliminar los productos no específicos. Posterior a la purificación se corrió un gel de agarosa para observar la calidad del DNA limpio y libre de residuos de agarosa.

Librería de clonas y secuenciación

Los fragmentos de ADN contenidos en los productos de PCR purificados se clonaron con la ayuda de vectores de clonación. El producto de PCR fue ligado dentro del plásmido utilizando el vector de clonación PCR®2.1-TOPO® y el kit de clonación (TOPO TA cloning) de la marca Invitrogen. Seguido de una transformación en células competentes de *E.coli* por medio de un shock térmico siguiendo el protocolo de los fabricantes. Las células transformantes se sembraron en placas de agar con medio LB y antibiótico (ampicilina). Las células de *E. coli* ya transformadas se incubaron durante 12 horas a 37 °C. Solamente las células que contenían el vector con el inserto fueron competentes a crecer en medio con ampicilina. Por lo que las colonias de estas células fueron seleccionadas. Posteriormente, de estas células se extrajeron y purificaron los plásmidos que se utilizaron para la secuenciación, utilizando el kit Montage Plasmid Miniprep (Millipore) y usando el vector base 27 F. Los plásmidos ya purificados se secuenciaron de acuerdo al procedimiento de secuenciación enzimática de Sanger utilizando como vector base el primer 27F.

Comparación de secuencias

Todas las secuencias obtenidas para el gen 16S rRNA fueron exportadas al Ribosomal Database Project (RDP, Michigan State University) (<http://rdp.cme.msu.edu/>), en donde se eliminó la secuencia correspondiente al vector y al primer, y de esta manera se dedujo la secuencia original de DNA. Este análisis también permitió detectar posibles quimeras, en donde se eliminaron las partes inconsistentes de las comparaciones de las secuencias. Posteriormente, las

secuencias ya libres de primer y del vector, fueron alineadas y comparadas con la base de datos para el gen 16S rRNA del GREENGENES (www.greengenes.lbl.gov). El greengenes ofrece una comparación con 3 bases de datos distintas: Hugenholtz, RDP y NCBI. Con esta comparación se obtuvo una clasificación final de los posibles microorganismos presentes en el suelo.

RESULTADOS

Datos de campo

Humedad, pH y formas totales de C, N y P

El porcentaje de humedad en el suelo mostró diferencias entre coberturas siendo el suelo de pastizal el que presentó mayor humedad en ambas fechas (Tabla 1 y 2). Respecto a la estación, no se observaron diferencias en el matorral, mientras que en el pastizal las muestras de verano tuvieron mayor humedad (Tabla 1). En contraste, las muestras colectadas en el suelo de matorral presentaron un pH mayor (9.5) que las muestras del pastizal (8.6), sin importar la fecha (Tabla 1 y 2).

Tabla 1. Medias (\pm error estándar) de porcentaje de humedad del suelo, pH, carbono orgánico total (COT), nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT) para suelo con cobertura vegetal distinta y para dos fechas de colecta dentro del Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila.

PARAMETROS	PASTIZAL		MATORRAL	
	VERANO	INVIERNO	VERANO	INVIERNO
Humedad (%)	36.71 (2.031) ^{Aa}	20.75 (0.947) ^{Ab}	3.05 (0.311) ^{Ba}	1.10 (0.02) ^{Ba}
pH (suelo:agua 1:2)	8.62 (0.063)	8.59 (0.039)	9.57 (0.092)	9.42 (0.055)
COT (mg C g ⁻¹)	13.42 (1.821)	12.24 (2.001)	13.46 (3.826)	6.4 (0.888)
NT (mg N g ⁻¹)	0.90 (0.166) ^{Aa}	0.77 (0.101) ^{Aa}	0.33 (0.018) ^{Bb}	0.64 (0.051) ^{Aa}
PT (mg P g ⁻¹)	0.09 (0.011)	0.07 (0.017)	0.22 (0.018)	0.17 (0.17)

Cuando la interacción fue significativa, las letras minúsculas significan que las medias son significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre las fechas al interior de cada cobertura, mientras que las letras mayúsculas significan que las medias son significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre los sitios al interior de cada fecha. (n=10)

La concentración de carbono orgánico total (COT) presentó diferencias entre coberturas, siendo el suelo de pastizal el de mayor concentración (12.8 mg g⁻¹) que el suelo de matorral (9.9 mg g⁻¹; Tabla 1 y 2). Lo contrario se observó para el fósforo total (PT), ya que el suelo de matorral tuvo mayor concentración

que el pastizal (0.193 y 0.077 mg g⁻¹, respectivamente). Así mismo, el PT también presentó diferencias entre fechas, teniendo verano (0.150 mg g⁻¹) mayor concentración que invierno (0.120 mg g⁻¹; Tabla 1 y 2). En contraste, para el nitrógeno total (NT), el efecto de cobertura dependió de la fecha: el pastizal tuvo mayor NT que el matorral en verano, pero estas diferencias no se encontraron en invierno (Tabla 1 y 2).

Tabla 2. Análisis de varianza de medidas repetidas (RMANOVA) para las variables de suelos colectados en pastizal y matorral dentro del Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila México. Se presentan valores de F y p.

PARAMETROS	Fuente de variación		
	Entre sujetos	Dentro de sujetos	
	COBERTURA	FECHA	FECHA X COBERTURA
Humedad del suelo	381 (< 0.001)	114 (< 0.001)	70 (< 0.001)
pH	188 (< 0.001)	2 (0.2) ^{ns}	0.80 (0.4) ^{ns}
TOTALES			
Carbono Orgánico	6.3 (0.02)	1.7 (0.2) ^{ns}	0.6 (0.5) ^{ns}
Nitrógeno	14 (0.001)	5.5 (0.03)	8.6 (0.01)
Fósforo	36 (< 0.001)	4.5 (0.05)	0.105 (0.8) ^{ns}
DISPONIBLES			
NH ₄ ⁺	10.21 (0.005)	13.42 (0.002)	4 (0.06) ^{ns}
NO ₃ ⁻	16 (0.0008)	2 (0.19) ^{ns}	6 (0.2) ^{ns}
P Inorgánico	217 (< 0.001)	0.02 (0.9) ^{ns}	0.23 (0.6) ^{ns}
DISUELTOS			
COD ^a	2 (0.14) ^{ns}	44 (< 0.001)	3 (0.11) ^{ns}
NOD ^b	7 (0.01)	34 (< 0.001)	0.1(0.76) ^{ns}
POD ^c	70 (< 0.001)	461 (< 0.001)	15 (0.001)
MICROBIANOS			
Carbono	0.01 (0.92) ^{ns}	8 (0.01)	2 (0.17) ^{ns}
Nitrógeno	0.16 (0.68) ^{ns}	1 (0.32) ^{ns}	3 (0.8) ^{ns}

^a Carbono orgánico disuelto; ^b Nitrógeno orgánico disuelto; ^c Fósforo orgánico disuelto ns= no significativo

Formas disponibles, disueltas y microbianas

El suelo de pastizal presentó mayor concentración de amonio (NH_4^+) que el matorral (6.5 y 1.14 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente; Tabla 2). Así mismo, las muestras de verano fueron 10 veces mayor que las de invierno (6.9 y 0.7 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente; Tabla 2). En contraste, la concentración del nitrato (NO_3^-) fue mayor en el suelo de matorral sólo en las muestras de invierno, ya que no hubo diferencias entre sitios en las muestras de verano (Tabla 3). Sin embargo, no hubo diferencias entre fechas al interior de cada cobertura (Tabla 3).

Respecto al carbono orgánico disuelto (COD), solamente la fecha fue significativa, siendo mayor en invierno que en verano (1129 $\mu\text{g g}^{-1}$ y 400 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente; Tabla 2). El nitrógeno orgánico disuelto (NOD) sí presentó diferencias entre coberturas, siendo mayor en el pastizal que en el matorral (150 $\mu\text{g g}^{-1}$ y 72 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente; Tabla 2). Así también, las muestras de verano tuvieron mayor concentración (194 $\mu\text{g g}^{-1}$) que las muestras de invierno (20 $\mu\text{g g}^{-1}$) (Tabla 2 y 3).

Para la concentración de fósforo orgánico disuelto (POD), en las muestras de ambas fechas, el pastizal tuvo mayor POD que el matorral (Tabla 2 y 3). De igual manera, las muestras de verano tuvieron mayor concentración que las muestras de invierno en ambos sitios (Tabla 3).

El carbono microbiano (C_{mic}) presentó diferencias sólo entre fechas, ya que las muestras de verano fueron mayores que las de invierno (768 y 604 $\mu\text{g g}^{-1}$; respectivamente). En contraste, el nitrógeno microbiano (N_{mic}) no presentó ninguna diferencia significativa en las fechas analizadas (Tabla 2).

Tabla 3. Medias (\pm error estándar) de las formas disponibles, disueltas y microbianas para suelo con cobertura vegetal distinta y para dos fechas de colecta dentro del Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila.

PARAMETROS	PASTIZAL		MATORRAL	
	VERANO	INVIERNO	VERANO	INVIERNO
DISPONIBLES				
NH ₄ ⁺ ($\mu\text{g NH}_4 \text{ g}^{-1}$)	11 (3.26)	0.88 (0.11)	1.72 (0.83)	0.47 (0.06)
NO ₃ ⁻ ($\mu\text{g NO}_3 \text{ g}^{-1}$)	0.27 (0.14) ^{Aa}	0 (0.09) ^{Ba}	0.5 (0.20) ^{Aa}	1.35 (0.35) ^{Aa}
Pi ($\mu\text{g P g}^{-1}$)	2.05 (0.38)	1.82 (0.35)	26.14 (1.96)	26.6 (1.6)
DISUELTOS				
COD ($\mu\text{g C g}^{-1}$)	590 (101)	1138 (153)	211 (123)	1121 (93)
NOD ($\mu\text{g N g}^{-1}$)	264 (62)	37 (7.8)	124 (18)	19.7 (3)
POD ($\mu\text{g P g}^{-1}$)	12.8 (0.64) ^{Aa}	2.36 (0.34) ^{Ab}	8.23 (0.2) ^{Ba}	0.98 (0.14) ^{Bb}
MICROBIANOS				
C ($\mu\text{g C g}^{-1}$)	814 (98)	566 (59)	723 (42)	642 (40)
N ($\mu\text{g N g}^{-1}$)	14 (2.1)	26 (3.8)	22.8 (5)	19 (3.5)

Cuando la interacción fue significativa, las letras minúsculas significan que las medias son significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre las fechas al interior de cada cobertura, mientras que las letras mayúsculas significan que las medias son significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre los sitios al interior de cada fecha. (n=10)

En la Tabla 4 se presentan los resultados de los análisis de correlación de las formas activas de los nutrientes. La humedad del suelo está correlacionada negativamente con el pH, fósforo inorgánico (Pi) y nitrato (NO₃⁻); mientras que la humedad tuvo una relación positiva con el POD, NH₄⁺ y el NOD. En contraste, el pH tuvo una relación negativa solamente con el NH₄⁺ y positiva con el NO₃⁻ y con el Pi.

Así mismo, el Pi tuvo diferentes correlaciones con las dos formas disponibles del nitrógeno: positiva para el NO₃⁻ y negativa para el NH₄⁺. En las formas disueltas, el COD se relacionó negativamente con NOD y POD, mientras que estas últimas tuvieron una correlación positiva. Por último, el Cmic tuvo una correlación positiva importante con el POD, mientras que el Nmic tuvo relaciones no significativas con la mayoría de las variables.

Tabla 4. Coeficientes de correlación de Pearson para humedad, pH, formas disueltas de N y P, formas disponibles de C, N y P y para C y N microbiano en suelos del Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila México.

	Humedad	pH	^a NH ₄	^b NO ₃	^c Pi	^d COD	^e NOD	^f POD	Cmic	Nmic
Humedad	1.0									
pH	-0.81*	1.0								
NH ₄ ⁺	0.65*	-0.36*	1.0							
NO ₃ ⁻	-0.38*	0.52*	-0.19	1.0						
P _i	-0.85*	0.86*	-0.35*	0.53*	1.0					
COD	0.07	-0.28	-0.18	0.14	-0.21	1.0				
NOD	0.46*	-0.14	0.43*	-0.21	-0.26	-0.39*	1.0			
POD	0.62*	-0.19	0.65*	-0.24	-0.28	-0.49*	0.62*	1.0		
Cmic	0.26	-0.02	0.19	-0.10	-0.03	-0.09	0.26	0.41*	1.0	
Nmic	-0.12	0	-0.16	0	0.16	0.13	-0.12	-0.21	0.18	1.0

^a Amonio, ^b Nitrato, ^c Fósforo inorgánico, ^d Carbono orgánico disuelto, ^e Nitrógeno orgánico disuelto, ^f Fósforo orgánico disuelto.

n=40; los coeficientes seguidos por un * son significativos a P < 0.05.

Análisis de componentes principales

Se realizó un análisis de componentes principales en donde los primeros dos componentes explicaron el 58% de la varianza total, correspondiéndole el 36% al primer componente y el 25% al segundo (Tabla 5). Las variables que tuvieron más peso en el primer componente fueron el Pi y el POD (0.70 y -0.81, respectivamente; Tabla 5); mientras que en el segundo componente fueron pH y el COD (0.69 y -0.71 respectivamente; Tabla 5).

Tabla 5. Porcentaje de la varianza explicada por los dos primeros componentes (Eigenvalor) y el peso de las variables analizadas en los dos primeros componentes (Eigenvector).

	CP 1	CP 2
<i>Eigenvalor</i>	3.2	1.96
Porcentaje (%)	36	22
Porcentaje acumulado (%)	36	58
	<i>Eigenvector de las variables</i>	
pH	0.64	0.69
NH ₄ ⁺	-0.72	0.14
NO ₃ ⁻	0.61	0.36
Pi	0.70	0.62
COD	0.34	-0.71
NOD	-0.69	0.36
POD	-0.81	0.44
C microbiano	-0.40	0.27
N microbiano	0.18	-0.17

Las variables con las más altas relaciones en cada componente están indicadas en negritas.

En la Figura 3 se presenta la ordenación de las muestras de pastizal y de matorral en los dos primeros componentes. Con respecto al primer componente (eje de las x's) fue claro que las muestras asociadas al pastizal (valores negativos) se separaron de las muestras del matorral (valores positivos). Esta diferencia fue estadísticamente significativa con la prueba de t-Student ($t = -5.7$ y $p < 0.001$). Así mismo, la diferencia entre las dos coberturas también se presentó en el segundo componente ($t = 4.98$ y $p < 0.001$; Figura 3). De lo anterior, podemos concluir que el efecto de la cobertura explica el 58% de la varianza total de las formas activas de nutrientes en el suelo, independientemente de la fecha de muestreo, donde el POD y el Pi son las variables con mayor peso en el primer componente y el pH y el COD son las variables con mayor peso en el segundo componente.

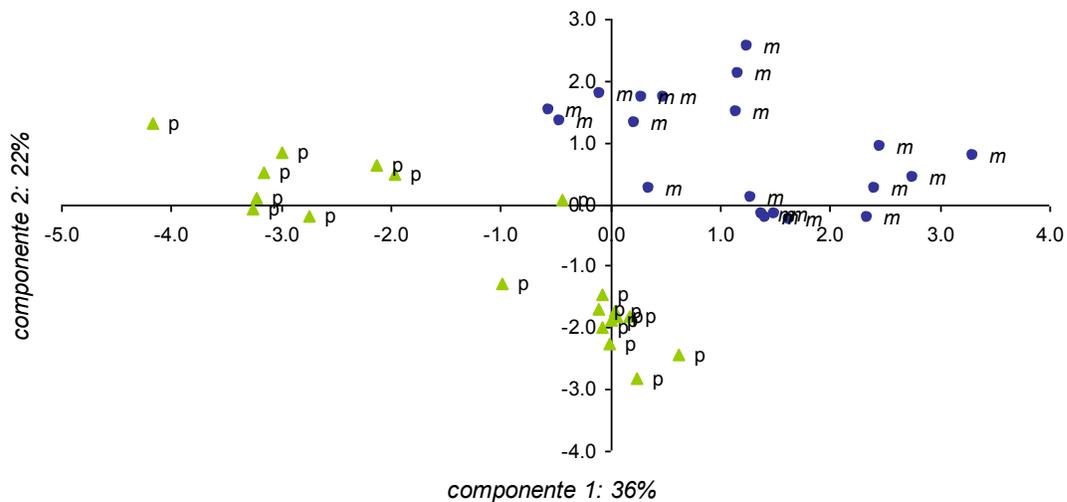


Figura 3. Ordenación de las muestras de suelo de pastizal y matorral en los dos primeros componentes. p= pastizal; m= matorral

Datos de incubaciones

Incubaciones del suelo en laboratorio

La mineralización potencial de C en las muestras incubadas a los 7 días, no mostró diferencias significativas en ninguno de los factores analizados. Pero a los 13 días se observaron diferencias significativas entre coberturas, siendo mayor en el suelo de pastizal ($165 \mu\text{g C g}^{-1}$) que en el suelo de matorral ($128 \mu\text{g C g}^{-1}$) (Tabla 6, Figura 4). En verano, la mineralización potencial de C fue mayor en el suelo del pastizal que en el de matorral y esto fue consistente a lo largo de toda la incubación finalizando en un valor similar. Sin embargo, no se presentaron diferencias significativas en las muestras incubadas de invierno, por lo que la mineralización potencial de C en ambos sitios siguió un patrón similar (Figura 4).

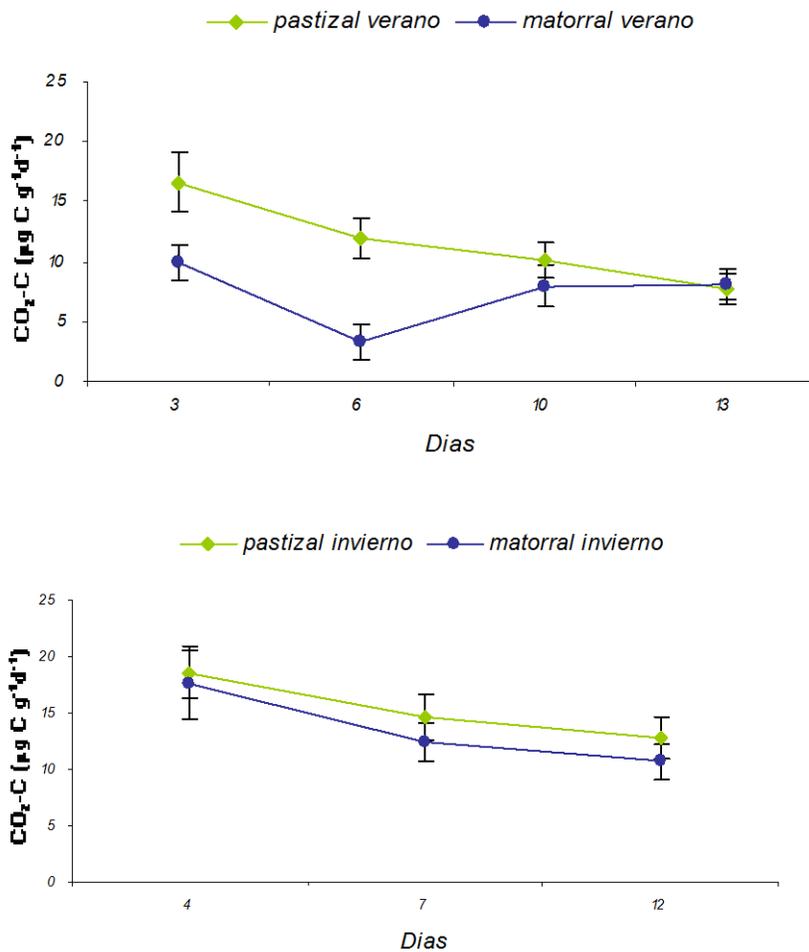


Figura 4. Variación estacional de la mineralización potencial de C (CO₂-C) después de 13 días de incubación de suelos con pastizal y matorral del Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila.

Tanto a los 7 como a los 13 días de incubación, el Δ COD mostró diferencias sólo entre fechas, presentándose una mayor reducción en las muestras colectadas en invierno (-744 y -694; respectivamente) que en las de verano (-277 y -328, respectivamente; Tabla 6. Figura 5).

Tabla 6. Análisis de varianza de medidas repetidas (RMANOVA) para las variables medidas de las incubaciones de 7 y 13 días de suelos colectados en pastizal y matorral para dos fechas contrastantes dentro del Valle de Cuatro Ciéngas, Coahuila México. Se presentan valores de F y p.

PARAMETROS	Fuente de variación		
	Entre sujetos	Dentro de sujetos	
	COBERTURA	FECHA	FECHA X COBERTURA
7 DIAS			
CO ₂ -C	2.05 (0.17) ^{ns}	3.8 (0.06) ^{ns}	0.31 (0.6) ^{ns}
Amonificación	2 (0.15) ^{ns}	7 (0.02)	4 (0.07) ^{ns}
Nitrificación	19 (0.0003)	3 (0.12) ^{ns}	5 (0.03)
Mineralización	8 (0.01)	5 (0.04)	5 (0.03)
Δ ^a COD ^b	2 (0.17) ^{ns}	17 (0.0005)	0.18 (0.67) ^{ns}
ΔNOD ^c	1 (0.33) ^{ns}	12 (0.007)	0.52 (0.48) ^{ns}
ΔPOD ^d	80 (<0.0001)	645(<0.0001)	11 (0.004)
ΔPiD ^e	2 (0.17) ^{ns}	90 (<0.0001)	0.1 (0.79) ^{ns}
13 DIAS			
CO ₂ -C	4.55 (0.05)	3.62 (0.07) ^{ns}	0.39 (0.54) ^{ns}
Amonificación	7 (0.02)	12 (0.002)	6 (0.02)
Nitrificación	34 (<0.0001)	23 (0.0001)	6 (0.02)
Mineralización	18 (0.0004)	19 (0.0003)	4 (0.06) ^{ns}
ΔCOD	2 (0.13) ^{ns}	8.3 (0.009)	1.6 (0.22) ^{ns}
ΔNOD	4.57 (0.051) ^{ns}	30 (0.0001)	1 (0.24) ^{ns}
ΔPOD	58 (<0.0001)	513 (<0.0001)	16 (0.0008)
ΔPiD	2 (0.12) ^{ns}	81 (<0.0001)	0.9 (0.33) ^{ns}

^a Variación en los cambios (Δ), ^b Carbono orgánico disuelto, ^c Nitrógeno orgánico disuelto, ^d Fósforo orgánico disuelto, ^e Fósforo inorgánico disuelto.

El mismo patrón se presentó para el ΔNOD, en donde también sólo se observaron diferencias entre fechas tanto a los 7 como a los 13 días de incubación, presentándose una menor reducción de NOD en las muestras colectadas en invierno (-22 y -25; respectivamente) que en verano (-196 y -158, respectivamente; Tabla 6, Fig.5). Con respecto al ΔPOD, a los 7 días de incubación se encontró que el suelo incubado de matorral tuvo menor pérdida de POD que el pastizal en ambas fechas. A los 13 días de incubación, las muestras de verano siguieron el mismo patrón, mostrando el matorral menores pérdidas de POD, pero estas diferencias no se encontraron en el suelo incubado de invierno (Tabla 6. Fig. 6).

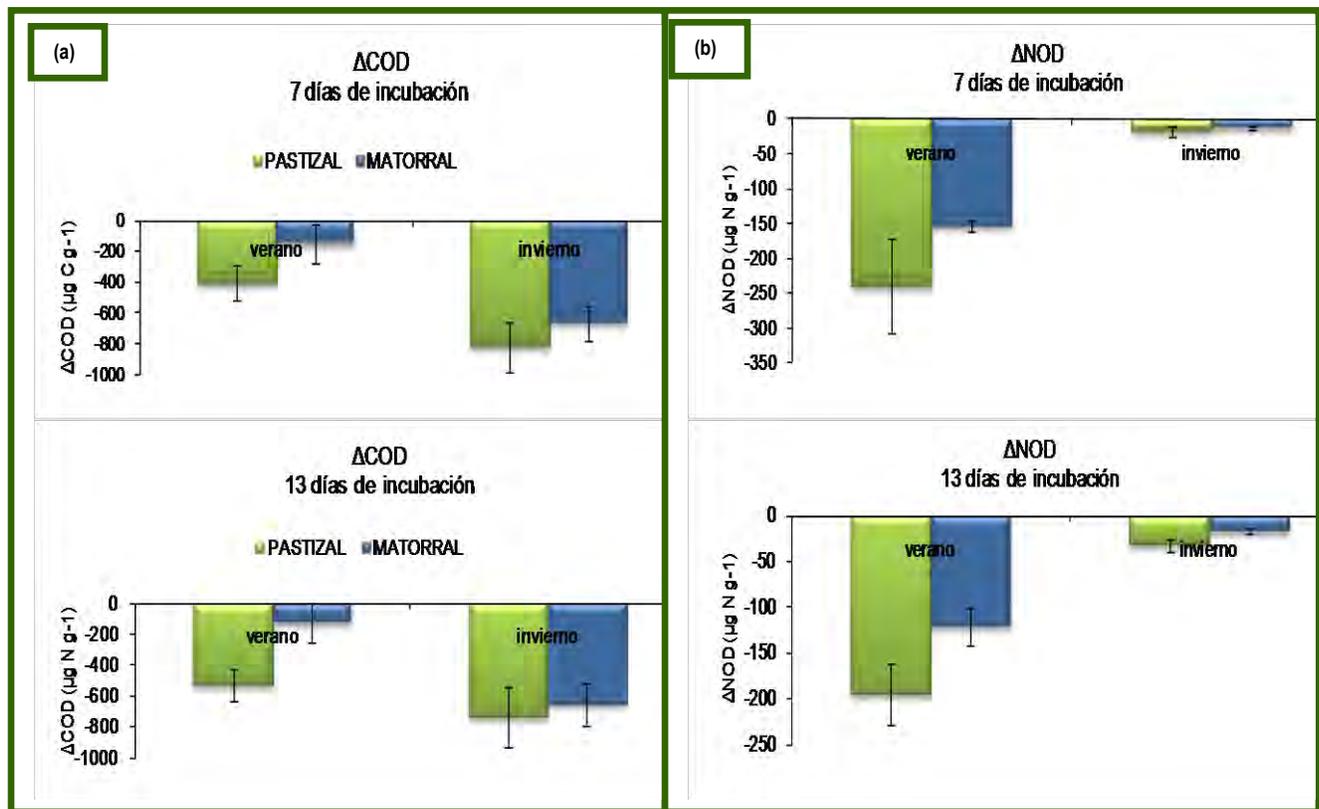


Figura 5. Variación estacional en los cambios (Δ) de (a) Carbono orgánico disuelto (COD) y (b) Nitrógeno orgánico disuelto (NOD) después de 7 y 13 días de incubación de suelos con pastizal y matorral del Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila.

En contraste, los cambios del Fósforo inorgánico disuelto (ΔPiD) sólo fueron significativos entre las fechas para 7 y 13 días de incubación (Tabla 6). En ambos tiempos de incubación, en el invierno se presentaron ganancias (0.03 y 0.19; respectivamente) y en verano hubo pérdidas (-0.19 y -0.194; respectivamente).

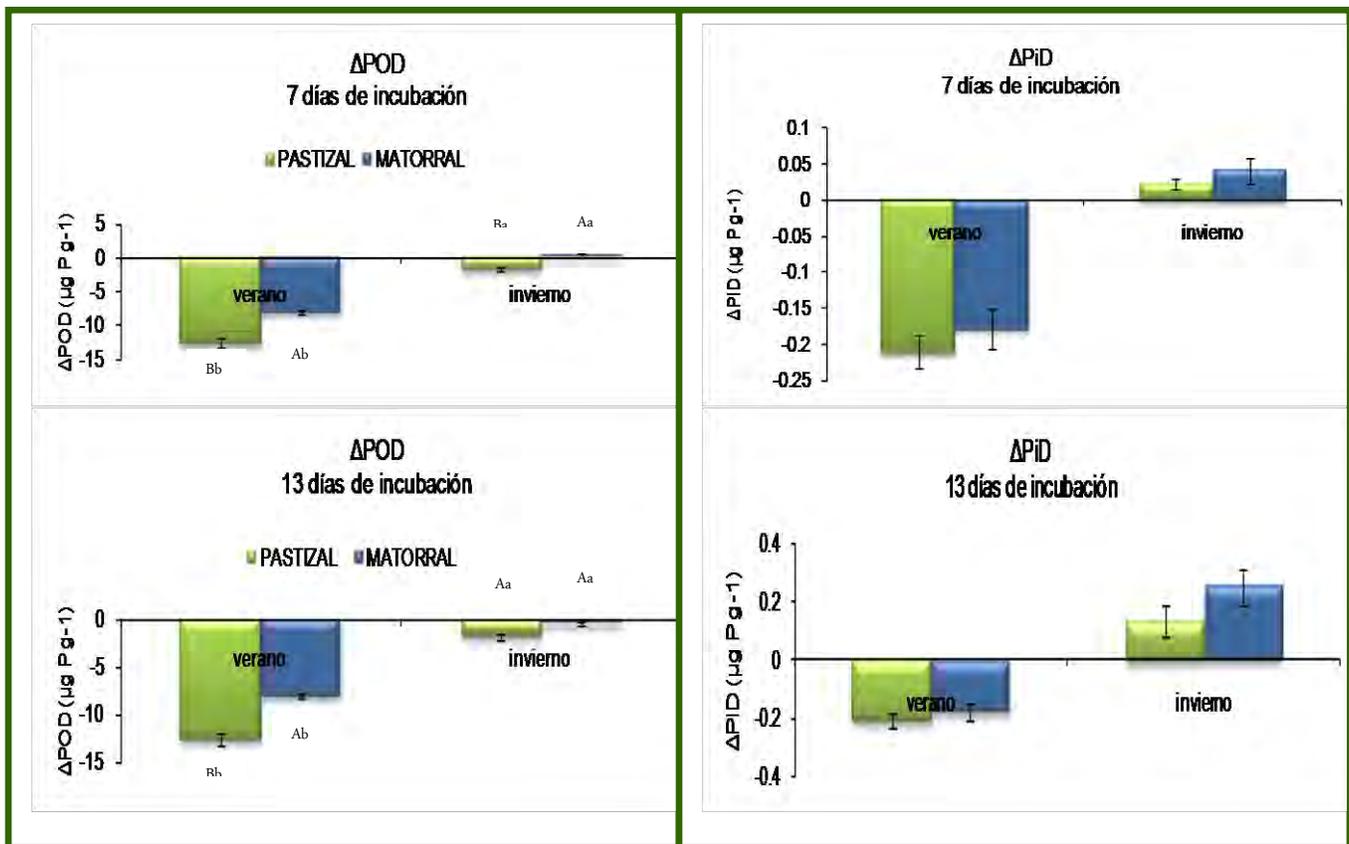


Figura 6. Variación estacional en los cambios (Δ) de (a) Fósforo orgánico disuelto (POD) y (b) Fósforo inorgánico disuelto (PiD) después de 7 y 13 días de incubación de suelos con pastizal y matorral del Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila. Cuando la interacción fue significativa, las letras minúsculas significan que las medias son significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre las fechas al interior de cada cobertura, mientras que las letras mayúsculas significan que las medias son significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre los sitios al interior de cada fecha. ($n=10$)

En la amonificación neta, a los 7 días de incubación sólo se observaron diferencias significativas entre fechas (Tabla 6). Presentándose ganancias en invierno y pérdidas en verano (0.12 y -4.59, respectivamente). En cambio, a los 13 días hubo diferencias en la interacción (Tabla 6). En las muestras de verano el matorral tuvo menos pérdidas que el pastizal, mientras que estas diferencias se perdieron en las muestras de invierno (Figura 7).

A los 7 días de incubación, el efecto de cobertura sobre la nitrificación neta difirió entre fechas (Tabla 6). En las muestras de verano, el matorral presentó mayor mineralización que el pastizal, pero estas diferencias se perdieron en invierno (Figura 7). En cambio, a los 13 días de incubación, el matorral tuvo mayor mineralización neta que el pastizal (2.35 y -4.95, respectivamente) y las muestras de invierno tuvieron valores mayores que el verano (2.31 y -4.9, respectivamente).

Por último, la interacción entre la cobertura y la fecha fue significativa tanto a los 7 como a los 13 días de incubación en la nitrificación neta (Tabla 6). Para las dos fechas de incubación, el matorral tuvo mayor nitrificación neta que el pastizal tanto en verano como en invierno (Figura 7). Sólo en el matorral se presentaron diferencias entre las fechas, siendo mayor en verano (Figura 7). En contraste, a los 13 días de incubación, las muestras de invierno tuvieron mayor nitrificación neta que las de verano, sólo en el matorral (Figura 7).

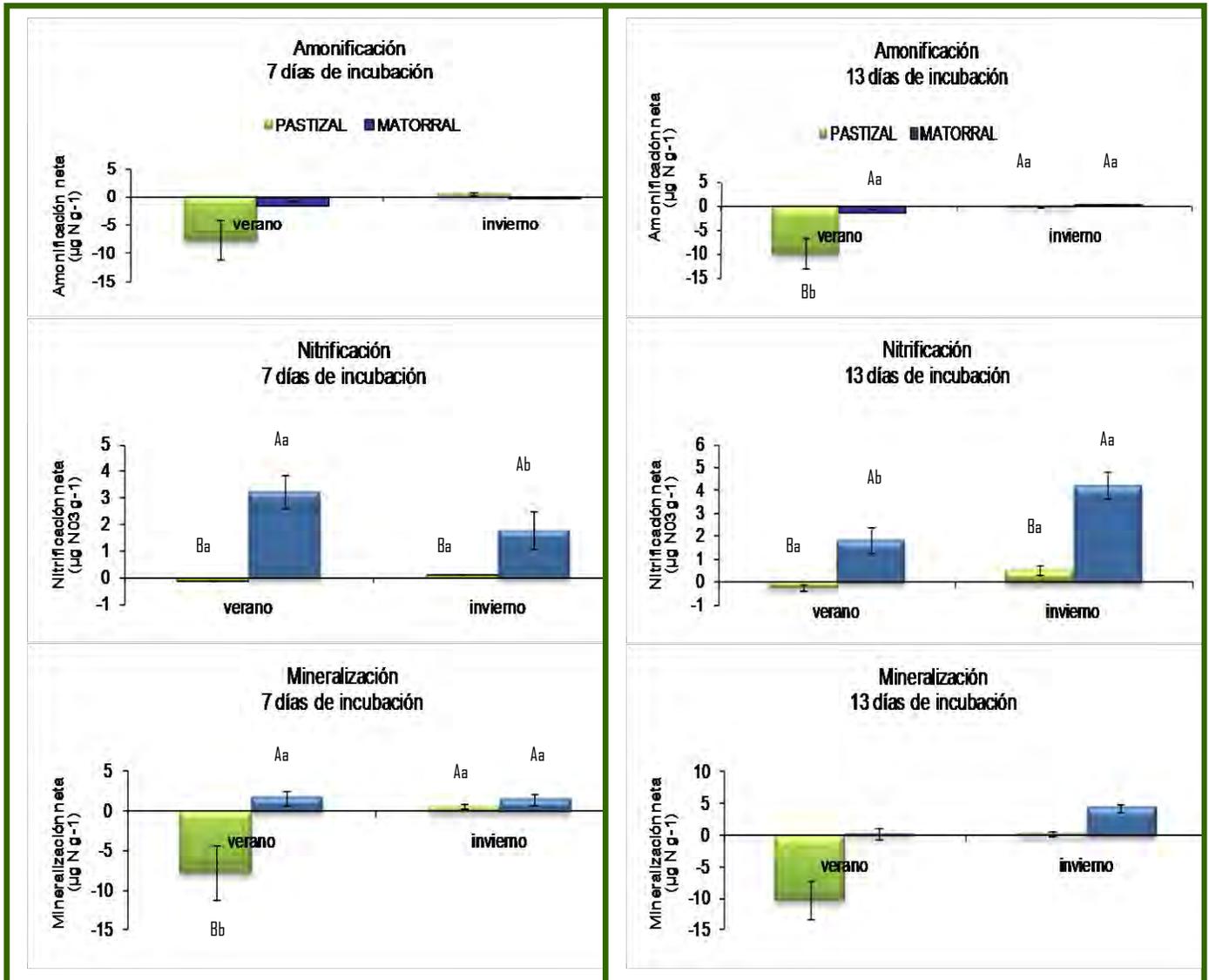


Figura 7. Variación estacional en los cambios (Δ) de Amonificación, Nitrificación y Mineralización neta de N después de (a) 7 y (b) 13 días de incubación de suelos con pastizal y matorral del Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila. Cuando la interacción fue significativa, las letras minúsculas significan que las medias son significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre las fechas al interior de cada cobertura, mientras que las letras mayúsculas significan que las medias son significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre los sitios al interior de cada fecha. ($n=10$)

Las tasas potenciales de respiración del suelo con pastizal y matorral, fueron analizadas mediante una regresión múltiple por pasos, observándose que la mayor parte de la varianza del modelo está explicada por el Nmic y el COD para ambas incubaciones con diferente tiempo de incubación (Tabla 7). Sin embargo, en la incubación de 13 días, el Cmic también fue incorporado al modelo.

Tabla 7. Análisis de regresión múltiple por pasos (Stepwise) del proceso de respiración en el suelo CO₂-C medido en las incubaciones de laboratorio. Los suelos fueron colectados en pastizal y matorral para dos fechas contrastantes dentro del Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila México.

Variable dependiente	Todos los factores incluidos	Factores significativos en el modelo	p	R ²
7 DIAS				
CO ₂ -C	COD, NOD, POD	Total	< 0.001	0.47
	NH ₄ , NO ₃	N microbiano	< 0.001	
	Cmic, N mic	COD	0.009	
13 DIAS				
CO ₂ -C	COD, NOD, POD	Total	< 0.001	0.59
	NH ₄ , NO ₃	N microbiano	0.0002	
		COD	0.0001	
	Cmic, N mic	C microbiano	0.01	

RESULTADOS MOLECULARES

Para el muestreo de verano se obtuvo una librería de clonas con 94 secuencias correspondientes al suelo de pastizal, las cuales se distribuyeron en 13 phyla y 28 clases, siendo el sitio y la fecha con mayor riqueza. El phylum que presentó el porcentaje más alto de número de secuencias fue *Actinobacteria* (33%) de las clases *Acidimicrobidae* (14%) y *Rubrobacteridae* (13%). Seguido del phylum *Proteobacteria* (21%) de la clase α -*proteobacteria* (13%), así como por el phylum *Gemmatimonadetes* (19%) del grupo *Gemm-3* (6%). En menor número de secuencias se encontraron los phyla *Chloroflexi* (7%), el cual estuvo representado por 3 clases. *Bacteroidetes* (6%), *Acidobacteria* (4%) y *Firmicutes* (2%) representados por 2 clases. Finalmente, *Planctomycetes* (3%) y *Cyanobacteria* (1%) estuvieron representados por 1 clase. (Figura 8).

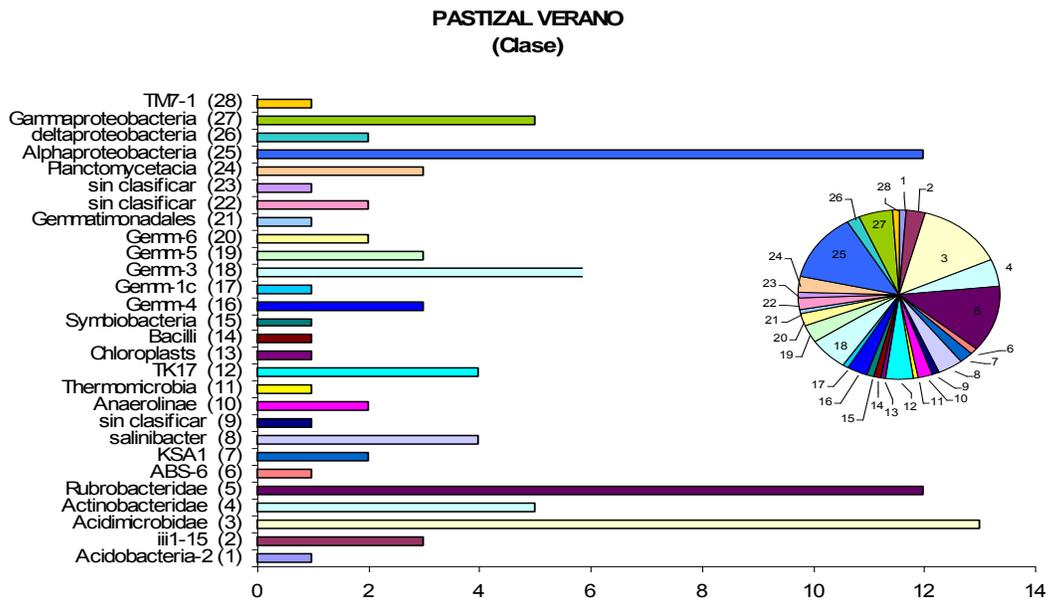


Figura 8. Frecuencia absoluta de secuencias correspondientes a cada una de las clases bacterianas encontradas en la muestra de pastizal en verano.

Para el suelo de matorral, se obtuvo una librería de clonas con 103 secuencias distribuidas en 8 phyla y 21 clases. En donde al igual que en el suelo de pastizal pero en mayor proporción, el phylum con mayor número de secuencias fue *Actinobacteria* (61%) y las tres clases representativas de éste fueron *Actinobacteridae* (21%), *Rubrobacteridae* (18%) y *Acidimicrobidae* (16%). El siguiente phylum fue *Gemmatimonadetes* (17%) de la clase *Gemmatimonadales* (10%). En menor número de secuencias se encontraron *Proteobacterias* (8%), *Chloroflexi* (6%), *Bacteroidetes* (3%), *Acidobacteria* (3%) y finalmente *Firmicutes* (1%). (Figura 9)

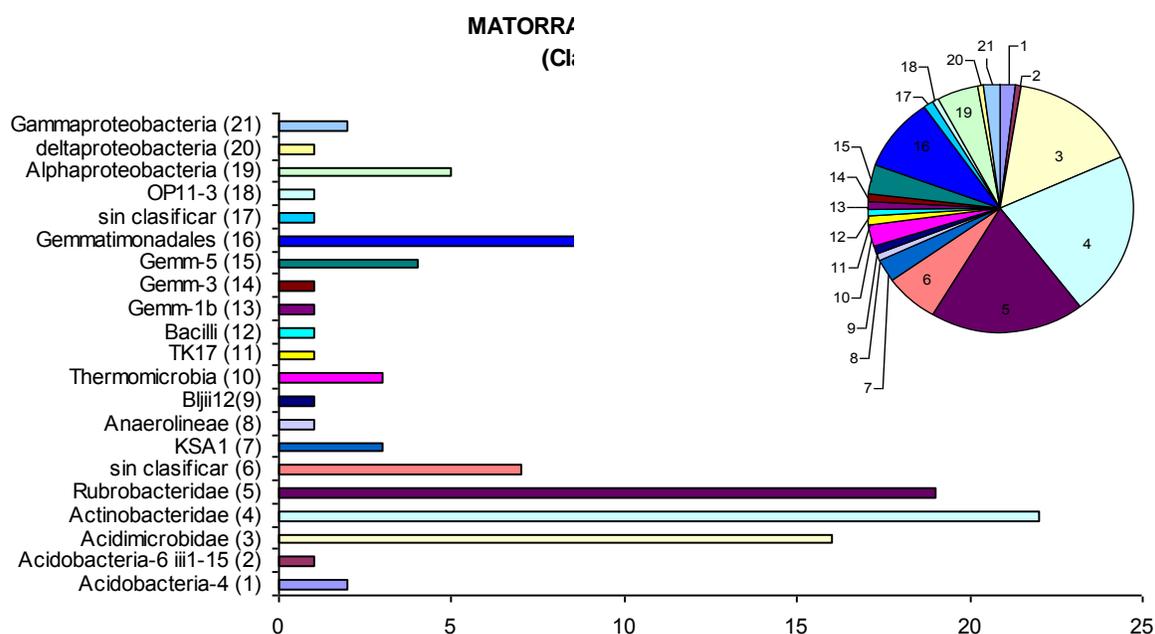


Figura 9. Frecuencia absoluta de secuencias correspondientes a cada una de las clases bacterianas encontradas en la muestra de matorral en verano.

En invierno, para el suelo de pastizal se obtuvo una librería de clonas con 92 secuencias distribuidas en 12 phyla y 20 clases. En donde el phylum con mayor número de secuencias fue *Proteobacteria* (47%) de la clase α -*proteobacteria* (21%) y γ -*proteobacteria* (17%). Seguido por *Actinobacteria* (29%) de la clase *Actinobacteridae* (25%). En igual porcentaje se encontraron *Firmicutes* (7%) y *Thermoanaerobacteria* (7%) representados por 3 y 2 clases respectivamente. Con el mismo número de secuencias (1%), se encontraron 6 phyla: *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Deferribacteres*, *Gemmatimonadetes* y *Aquificae*. Finalmente el phylum *Thermovenabulae* (2%) está representado por 1 clase. (Figura 10).

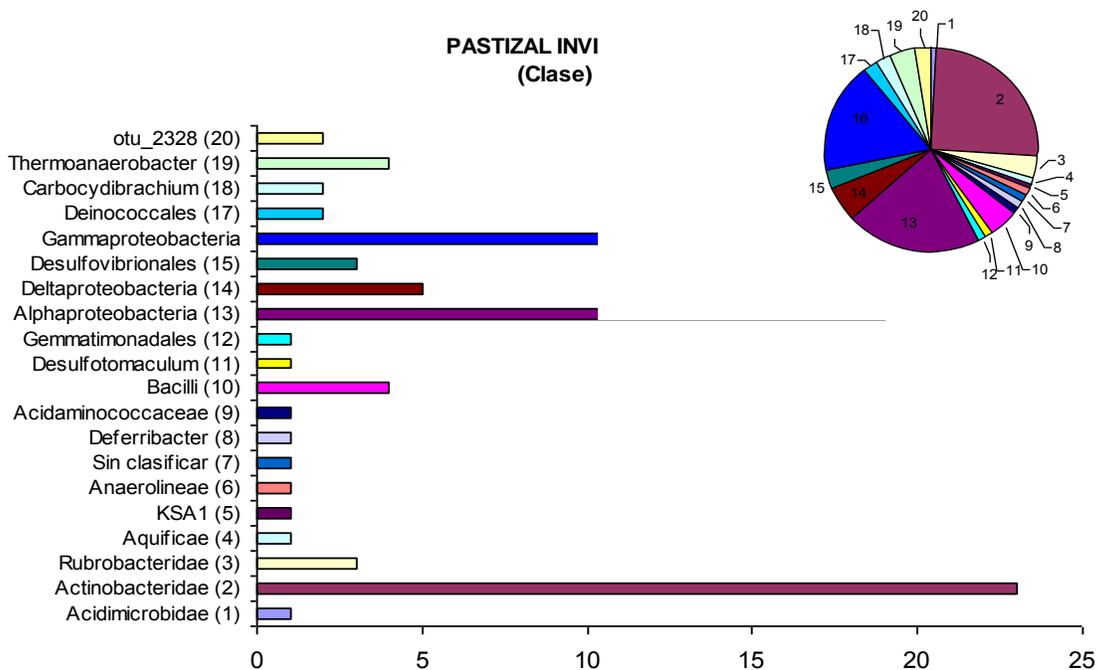


Figura 10. Frecuencia absoluta de secuencias correspondientes a cada una de las clases bacterianas encontradas en la muestra de pastizal en invierno.

Respecto al suelo de matorral en invierno, se obtuvo una librería de clonas con 98 secuencias distribuidas en 14 phyla y 23 clases. El phylum con mayor número de secuencias fue *Actinobacteria* (69%) de la clase *Rubrobacteridae* (31%) seguido de la clase *Actinobacteridae* (28%). Los siguientes Phyla fueron *Proteobacteria* (9%) de la clase α -*proteobacteria* (5%), *Firmicutes* (7%) de la clase *Bacilli* (4%), *Sulfobacilli* (3%) de la clase *Thermaenobacter* (3%), *Planctomycetes* (2%) de la clase *Planctomycetace* (2%) y *Chloroflexi* (2%) de la clase *Thermomicrobia* (2%). (Figura 11).

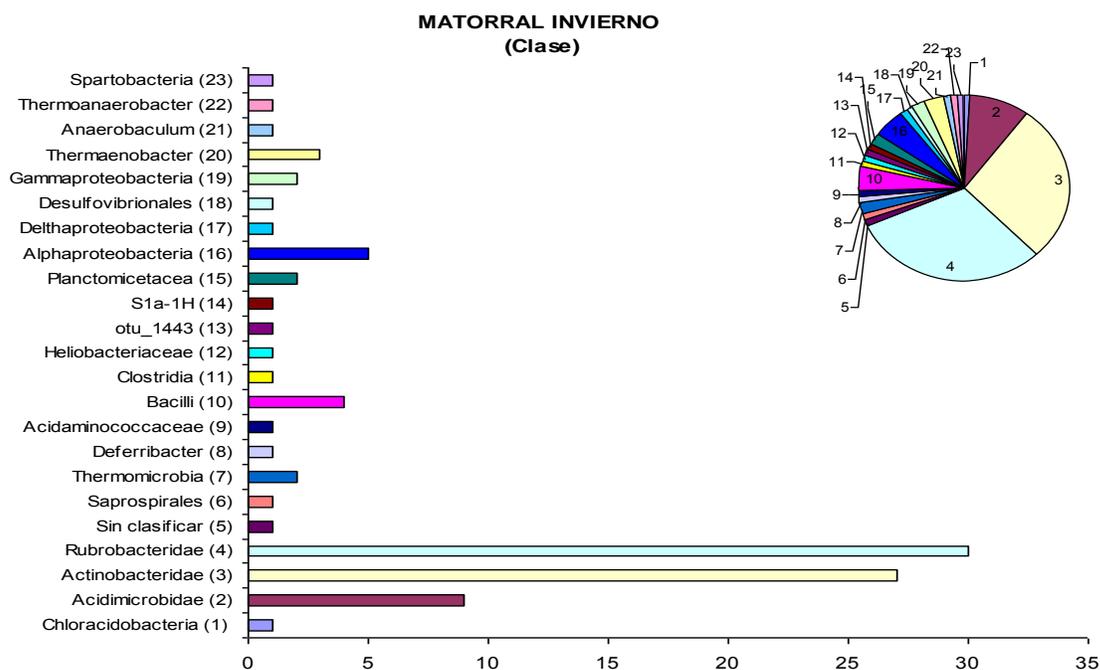


Figura 11. Frecuencia absoluta de secuencias correspondientes a cada una de las clases bacterianas encontradas en la muestra de matorral en invierno.

DISCUSIÓN

Los resultados del análisis de componentes principales nos sugieren que el 58% de la varianza total de las formas activas de los nutrientes del suelo está explicada por la cobertura vegetal (Fig. 3). Entre los principales factores de la cobertura vegetal que afectan la dinámica de nutrientes en el suelo son la cantidad y calidad de la materia orgánica que retornan al suelo (Schlesinger *et al.*, 1996; Schlesinger, 2000). La biomasa total encontrada en el pastizal fue mayor que en el matorral (931 y 618 g m⁻², respectivamente) debido principalmente a una mayor biomasa radical (488 y 224 g m⁻², respectivamente). Esto sugiere que en el pastizal puede haber una mayor incorporación de COS disponible, y por tanto promover una mayor mineralización de las formas orgánicas de N y P en el suelo.

A continuación se discute por separado la dinámica de nutrientes en el suelo bajo cada tipo de vegetación.

Pastizal halófilo

La biomasa total encontrada en el pastizal fue de 931 ± 163 g m⁻² (Velázquez-Durán, en preparación), la cual pudo aportar mayores entradas de CO al suelo en comparación con el matorral.

El COD, el cual comprende formas lábiles de C en la solución del suelo que son de rápida asimilación por los microorganismos heterótrofos (Jones *et al.*, 2005; Montaña, 2008), está condicionado por la cantidad de materia orgánica presente. Esto posiblemente explica que la concentración del COD en el pastizal fue el doble que la concentración en el matorral. El C disponible en el suelo, puede controlar la dinámica del N y P debido a que representa la principal fuente de

energía para que se lleve a cabo la mineralización heterotrófica de estos nutrientes (Neff y Asner, 2001).

Las principales entradas del N al suelo se producen a través de la fijación biológica. En el pastizal, una importante entrada de N podría deberse a la acción de los consorcios microbianos presentes en el suelo, posiblemente asociado a los grupos de las proteobacterias y las cianobacterias. En un estudio previo realizado en este sitio de estudio, López *et al.* (sometido), reportaron la presencia del gen que codifica para la fijación de N (*nifH*) en 25 OTUS, los cuales correspondieron al phyla de las cianobacterias, delta-proteobacterias y alpha-proteobacterias. Este mecanismo de fijación de N, así como la subsecuente despolimerización, requiere de disponibilidad de energía (Madigan *et al.*, 2004), condición que se encontró en estos suelos. Esto último explica la mayor concentración de NOD que se encontró en el pastizal durante la estación activa (estación húmeda). Estos resultados sugieren que en el pastizal existe una producción importante de formas orgánicas de nitrógeno fácilmente mineralizables, lo cual puede favorecer la disponibilidad del N (Madigan *et al.*, 2004).

La disponibilidad del COD y de agua, en el pastizal, estimula la actividad microbiana de los heterótrofos y de esta manera la mineralización del N. Esto puede explicar una mayor concentración de NH_4^+ en el suelo de pastizal. Los microorganismos heterótrofos utilizan al COD como fuente de energía para mineralizar el NOD a NH_4^+ e inmovilizarlo principalmente en la biomasa microbiana. Los resultados de las incubaciones controladas en laboratorio apoyan lo antes mencionado. La tasa de mineralización de C más alta se encontró en el suelo de pastizal en la época más húmeda. Lo que sugiere mayor actividad de los

microorganismos heterótrofos, lo cual también se ve reflejado en una mayor demanda de COD y de NOD. Esto se observa con valores más negativos de ambos nutrientes, durante el periodo de incubación. Así mismo, se observó una mayor amonificación neta y valores muy pequeños de nitrificación neta. Esta baja tasa de nitrificación favorece la inmovilización de NH_4^+ en biomasa microbiana, lo que permite que exista una mayor protección del N en el suelo, debido a que este es principalmente acumulado en la biomasa microbiana (Hart *et al.*, 1994; Barret y Burke, 2000; Bernhardt y Likens, 2002). De esta manera, se espera que en este sitio el N esté siendo protegido por las comunidades bacterianas del suelo.

Por otro lado, las formas orgánicas son la principal fuente de P disponible en el suelo, las cuales tienen que ser mineralizadas a P_i para ser asimiladas por las plantas y los microorganismos (Paul y Clark, 1989). Esta mineralización se lleva a cabo de una manera extracelular y se necesitan exoenzimas (fosfatasas) que son producidas por microorganismos heterótrofos, plantas y micorrizas (Schimel y Bennett, 2004). El costo energético que implica la producción microbiana de la fosfatasa es muy alto, por lo que la producción de la fosfatasa aumenta cuando hay mayor cantidad de C disponible, debido a que la energía estimula la producción microbiana de estas enzimas (Allison y Vitousek, 2005).

En la época de lluvias, el pastizal presentó menores concentraciones de PT y una mayor concentración de POD. Sin embargo, presentó la menor concentración de P_i disponible. Esto puede deberse a que la mayor actividad de los microorganismos en este suelo permite la mineralización del P_o , debido a que no se ven limitados ni por energía ni por agua, como ya se ha mencionado. Ya que en suelos deficientes de P, como es el suelo de Cuatro Ciénegas, existe una

rápida utilización del Pi por parte de los microorganismos y de las plantas, por lo que puede quedar inmovilizado en biomasa microbiana, reduciendo el secuestro geoquímico del P en el suelo. Lo anterior puede ser sustentado con los resultados obtenidos de las incubaciones en laboratorio, en las cuales se observó una mayor demanda tanto de POD como de PID, en el pastizal en la época de lluvias. Esto sugiere una mayor mineralización de P en el suelo con mayores contenidos de materia orgánica.

Así mismo, nuestros análisis de correlación apoyan lo antes mencionado. La humedad correlacionó positivamente con el POD, el NOD y el NH_4^+ , sugiriendo que en los sitios con mayor disponibilidad de agua se puede encontrar una mayor disponibilidad de estos nutrientes. Se propone que a mayores concentraciones de C disponible, se promueve un mayor ciclaje de N y P por parte de las comunidades microbianas del suelo.

Matorral xerófilo

En contraste con lo encontrado para pastizal halófito, la biomasa total encontrada en el matorral fue de $618 \pm 74 \text{ g m}^{-2}$ (Velázquez-Durán, en preparación). La concentración de COD encontrada en el matorral representa la mitad de la concentración encontrada en el pastizal, posiblemente por una menor incorporación al suelo debido a una menor productividad de la vegetación.

Se propone que en el matorral las mayores entradas de N sean mediante la fijación de N_2 simbiótica asociada a las especies de plantas presentes. Esto se debe a que existen varias especies vegetales con potencial de fijación, tales como las pertenecientes a las leguminosas como *Prosopis laevigata* (Perroni-Ventura,

en revisión). En condiciones de menor disponibilidad de COD, se reduce la energía para despolimerizar las formas orgánicas de N y, por tanto, puede explicar una menor concentración de NOD en estos suelos durante la época húmeda.

Cuando la disponibilidad del COD y del agua es baja, la falta de energía metabólica disponible inhibe la actividad microbiana de los heterótrofos y activa otras vías autotróficas como la nitrificación, causando altas concentraciones de NO_3^- (Vitousek y Matson, 1988) y reduciendo las concentraciones de NH_4^+ . Esto se debe a que los organismos nitrificadores obtienen energía de la oxidación del NH_4^+ (Jones *et al.*, 2004) y no del C orgánico como lo hacen los heterótrofos (Verhagen y Laanbroek, 1991). Esto puede explicar la presencia de bajas concentraciones de NH_4^+ y altas de NO_3^- en el suelo del matorral.

Lo anterior lo sustentan los datos de las incubaciones donde la mineralización potencial de C es menor que en el pastizal, debido a una menor actividad de los microorganismos, posiblemente asociada a una menor incorporación de materia orgánica y a una menor disponibilidad de agua.

Esto también se ve reflejado en una menor demanda de COD y de NOD en el suelo de matorral en la época de lluvias, así como en una baja amonificación neta y una mayor nitrificación neta. Lo anterior sugiere que la mayor parte del N orgánico que es mineralizado es nitrificado, el cual tiene una mayor probabilidad de pérdida del suelo (Chen y Stark, 2000; Strauss y Lamberti, 2002).

Las principales especies dominantes en el suelo de matorral fueron *Cylindropuntia leptocaulis* y *Jatropha dioica* (Perroni-Ventura, en revisión). Se sabe que estas especies tienen asociaciones con micorrizas (Maheshwari, 2008), las cuales pueden incrementar la toma de P, reduciendo la disponibilidad de P en

el suelo (Perroni-Ventura, en revisión). Lo que sugiere que a pesar de que existe menos disponibilidad de energía para los microorganismos, existen otros mecanismos asociados a la vegetación que están permitiendo la mineralización de las formas orgánicas del P. Parece ser que la utilización más eficiente de nutrientes por parte de las especies vegetales dominantes en el matorral resulta en un mayor reciclado de las formas orgánicas del P, lo cual se considera como un mecanismo de protección de nutrientes. Esto se puede observar en los datos de las incubaciones donde los microorganismos demandan menores cantidades de POD en comparación con el pastizal, pero la cantidad de PID es la misma, sugiriendo una tasa de mineralización de P similar. Esto es especialmente importante en suelos donde la incorporación de P_i por intemperismo es mínima y la principal fuente de P disponible es por la mineralización de compuestos orgánicos.

La época menos activa en el suelo de ambos tipos de vegetación es la época de invierno, que representa la época seca y fría. En esta se observó una acumulación de COD atribuida a: a) una menor demanda por parte de los microorganismos, porque su actividad se ve limitada por las bajas temperaturas y la poca disponibilidad de agua; b) a las entradas de materia orgánica a través de la muerte de raíces. Los microorganismos funcionan como un almacén y fuente de nutrientes que se acumulan de forma biológicamente activa en esta estación. De esta manera, se reduce la pérdida de nutrientes del suelo, además de que a inicios de la época de lluvias, cuando la temperatura y la humedad no son limitantes para la actividad microbiana, los nutrientes acumulados se liberan rápidamente y quedan disponibles para la vegetación. Lo anterior sugiere que los

procesos llevados a cabo en el suelo bajo las dos coberturas vegetales analizadas son diferentes.

En la Figura 12 se presenta a manera de hipótesis las principales rutas de transformación de nutrientes en cada una de las coberturas. En esta figura se ve que la diferente incorporación de COD entre las coberturas afecta principalmente las transformaciones de N. En el pastizal existe una mayor producción de formas disueltas orgánicas, lo cual favorece la actividad microbiana incrementando la disponibilidad de N y P, así como su inmovilización en su biomasa. Esto conlleva a que el N esté mejor protegido en este sitio, ya que en el matorral se favorece la nitrificación y posiblemente su pérdida del suelo por lixiviación y desnitrificación.

Las transformaciones que se llevan a cabo en estos procesos, son de origen biológico y son mediadas principalmente por bacterias las cuales están influenciadas por diferentes factores explicados a lo largo de este trabajo. Entre los factores más importantes analizados, la disponibilidad de nutrientes que es afectada por la cobertura vegetal y la disponibilidad de agua, pueden influenciar la composición y diversidad de la comunidad microbiana.

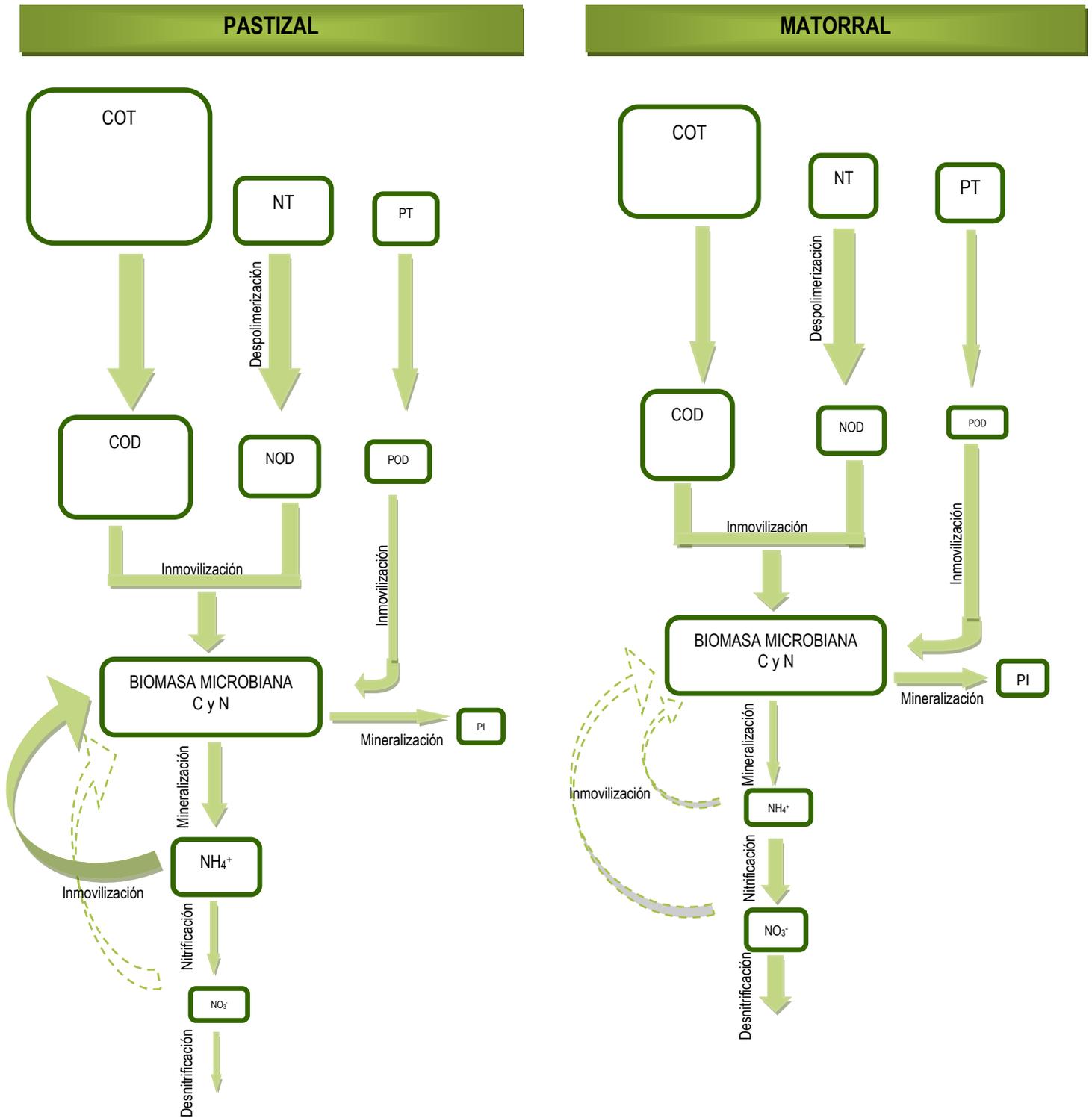


Figura 12. Diagrama hipotético de las principales rutas cuantificadas de C, N y P en cada una de las coberturas estudiadas (pastizal y matorral). El tamaño de las cajas representa la magnitud de los almacenes mientras que el tamaño de las flechas representa la magnitud de los flujos.

En este trabajo, las técnicas utilizadas nos permitieron ver las diferencias existentes en la composición bacteriana del suelo de los dos tipos de vegetación.

El sitio con mayor número de grupos bacterianos fue el sitio con mayor disponibilidad de nutrientes y de agua, que corresponde al pastizal con una mayor incorporación de materia orgánica pero con menor número de especies de plantas. Esta alta riqueza de microorganismos puede estar asociada a una mayor abundancia de recursos, lo cual promueve un incremento de nichos que pueden ser ocupados por más especies bacterianas (Begon *et al.*, 1986), como ya ha sido reportado en otros ecosistemas (Balser y Firestone, 2005; Cookson *et al.*, 2007).

En el pastizal, donde el N parece estar más protegido, está la presencia del phylum Planctomycetes. Representantes de este phyla llevan a cabo la parte de anamox del ciclo del N en ambientes anóxicos (Jetten *et al.*, 2002). También se encontraron algunos grupos de fotótrofos como Chloroflexi, que es una bacteria verde no del azufre que lleva a cabo la fotosíntesis anoxigénica así como las cianobacterias, que son organismos fotosintéticos oxigénicos fijadores de N.

Parece ser que en el suelo del pastizal se llevan a cabo procesos que entran dentro de un ciclo más cerrado, en donde los microorganismos protegen y mantienen al N y P dentro de este, evitando grandes pérdidas. Entonces se espera que el mayor reservorio de N en el suelo se encuentre en los microorganismos.

Por otro lado, creemos que en el suelo del matorral los procesos forman parte de un ciclo más abierto donde no existe protección del N por parte de los microorganismos, sin embargo, tienden a cuidar al P secuestrándolo en biomasa microbiana. Perroni-Ventura (comunicación personal), en un trabajo previo

realizado en el suelo bajo las mismas coberturas vegetales, encontró mayor P microbiano en el suelo de matorral que en pastizal. Además de los microorganismos asociados al P, en el matorral existen las micorrizas que pueden ayudar a incrementar la toma de este nutriente.

Particularmente fue interesante encontrar la presencia del phylum Gemmatimonadetes en el suelo de ambos tipos de vegetación, ya que representantes de este phyla tienen estrategias adaptativas contra la escasez de P, secuestrándolo y acumulándolo en forma de polifosfatos (Zhang, 2003). Así como de Acidobacteria presente sólo en el suelo de pastizal, que son bacterias acidófilas que permiten la liberación de P desde los complejos de fosfato y esto lo hacen por medio de una digestión ácida. En un ambiente oligotrófico con deficiencias de P, estos grupos microbianos pueden estar representando la vía en la que el P es mantenido en el sistema evitando el secuestro geoquímico.

CONCLUSIONES

Este trabajo, es el primer estudio que relaciona el efecto de la vegetación sobre la dinámica de nutrientes esenciales como el N, C y P y los cambios en la composición de la comunidad bacteriana en un suelo árido del Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila.

Los resultados obtenidos en esta tesis demuestran que en un sitio con mayor disponibilidad de COD:

- Aumenta la actividad de los microorganismos heterótrofos, modificando la composición de la comunidad de bacterias.
- Promueve la presencia de una comunidad bacteriana posiblemente más competitiva por el amonio.
- Aumenta la inmovilización microbiana de amonio, lo cual promueve una permanencia del nitrógeno en el sistema.

En contraste, en el sitio con menor disponibilidad de carbono orgánico disuelto:

- Se favorece la nitrificación, aumentando la actividad de las bacterias quimioautótrofas. Con lo cual el nitrógeno es más susceptible a pérdidas del sistema vía lixiviación o por emisión de óxidos de nitrógeno a la atmósfera.
- Así mismo, modifica la composición de la comunidad de bacterias del suelo.

PERSPECTIVAS

En este estudio llevado a cabo en un ecosistema desértico de México, resulta fundamental analizar la composición bacteriana en ambos tipos de suelo a nivel de especie, para verificar si se encuentran representantes de los grupos funcionales arriba mencionados.

Es claro que aún se tiene la necesidad de entender mejor las condiciones que están controlando la abundancia y la actividad de los microorganismos específicos de cada sitio y cómo esto puede modificar las tasas y magnitudes a las que se llevan a cabo los procesos biogeoquímicos en el ecosistema. Se necesitan también estudios posteriores con datos experimentales de la expresión de genes bajo diferentes condiciones de disponibilidad de nutrientes los cuales se centren en el entendimiento de la presencia, abundancia y expresión de algunos genes particulares, así como la identidad de los organismos en los que se encuentran estos genes. Dichos análisis pueden revelar la manera y magnitud en la que los mecanismos moleculares pueden regular las dinámicas biogeoquímicas en un ecosistema árido.

REFERENCIAS

- Allison S.D., Vitousek P.M. 2005** Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biol Biochem* 37:937-944
- Balser T.C., Kinzig A.P., Firestone M.K. 2001** Linking soil microbial communities an ecosystem functioning. In: Kinzing A.P., Pacala S.W., Tilman D. (eds.) *The functional consequences of biodiversity: Empirical progress and theoretical extensions*. Princenton University press, pp 265-2965
- Balser T.C., Firestone M.K. 2005** Linking microbial community composition and soil processes in a California annual grassland and mixed-conifer forest. *Biogeochemistry* 73: 395-415
- Barret J.E., Burke I.C. 2000** Potential nitrogen immobilization in grassland soils across a soil organic matter gradient. *Soil Biol Biochem* 32:1707-1716
- Begon M., Harper J., Townsend C. 1986** *Ecology. Individuals, populations and communities*. Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts. pp 876
- Beltrán Y.Y. 2007** Composición y genealogía de picocianobacterias en las localidades oligotróficas de Cuatro Ciénegas, Coahuila y del Canal de Yucatán. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.
- Bernhardt E.S., Likens G. 2002** Dissolved organic carbon enrichment alters nitrogen dynamics in a forest stream. *Ecology* 83:1689-1700
- Bremmer J.M. 1996** Nitrogen-Total. In: Spark D.L., A.L. Page, M.E. Summer, M.A. Tabatabai, P.A. Helmke. (Eds). *Methods of Soil Analyses Part 3: Chemical Analyses*. Soil Science Society of America, Madison, WI pp: 1085-1121
- Briones O.L. 1994** El origen de los desiertos mexicanos. *Ciencia* 45:263-279
- Brookes P., Landman A., Pruden G., Jenkinson D. 1985** Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol Biochem* 17:837-842
- Carney K.M., Matson P.A. 2005** Plant communities, soil microorganisms, and soil carbon cycling: does altering the worlds belowground matter to ecosystem functioning? *Ecosystems* 8: 928-940
- Carney K.M., Matson P.A., Bohannan B.J. 2004** Diversity and composition of tropical soil nitrifiers across a plant diversity gradient and among land-use types. *Ecology Letters* 7: 648-694
- Cerritos R. 1998** Análisis jerárquico en la estructura genética de *Escherichia coli* asociada a murciélagos de la República Mexicana. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. México D.F.

Challenger A. 1998 Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México, Pasado, Presente y Futuro. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México D.F.

Chen J., Stark J.M. 2000 Plant species effects and carbon and nitrogen cycling in a sagebrush-crested wheatgrass soil. *Soil Biol Biochem* 32:47-57

Christensen J.H., Hewiston B., Busuioac A., Chen A., Gao X., Held I., Jones R., Kolli R.K., Kwon W.T., Laprise R., Magaña Rueda V., Means L., Menéndez C.G., Räisänen J., Rinke A., Sarr A., Whetton P. 2007. Regional Climate Projections. In Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt KB, Tignor M, Miller HL (eds) **Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, pp 847-940.**

Cookson W.R., Osman M., Marschner P., Abaye D.A., Clark I., Murphy D.V., Stockdale E.A., Watson C.A. 2007 Controls on soil nitrogen cycling and microbial community composition across land use and incubation temperature. *Soil Biol Biochem.* 39:744-756

Domínguez J. 2008 Estudios evolutivos y morfológicos de cianobacterias relacionadas a *Calothrix*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.

Dregne HE. 1991. Global status of desertification. *Anal of Arid Zone* 30: 179–185.

Emanuel W.R., Shugart H. H., Stevenson M. P. 1985 Climatic change and the broad-scale distribution of terrestrial ecosystem complexes. *Clim. Change* 7:29

Escalante A. 2008 Ecología evolutiva de procariontes en Cuatro Ciénegas Coahuila México. Tesis de doctorado. Instituto de Ecología, UNAM. México D.F

Espinosa L., Escalante A., Eguiarte L., Souza V. 2006 El mar en el desierto y su importancia para la conservación. Departamento de Ecología Evolutiva. CONABIO. *Biodiversitas* 58: 7-11

Easterling D.V., Meehl G.A., Parmesan C., Changnon A.S., Karl T.R., Mearns L.O.

2000 Climate extremes: observations, modeling, and impacts. *Science* 289: 2068-2074

Estudio hidrogeológico de los acuíferos el Hundido y Cuatro Ciénegas, Coah.

2004 CONAGUA

Eviner V.T., Chapin III F.S. 2003 Functional matrix: A conceptual framework for predicting multiple plant effects on ecosystem processes. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst* 34:455-485

Falcon L., Cerritos R., Eguiarte L., Souza V. 2007 Nitrogen fixation in microbial mat and stromatolite consortia from Cuatro Ciénegas, México. *Microbial Ecology* 54:363-73

Finlay B.J., Clark J. 1999 Ubiquitous dispersal of microbial species. *Nature* 400:828

- Finlay B.J. 2002** Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science* 296:1061-1063
- Hart S., Nason G.E., Myrold D., Perry D.A. 1994** Dynamics of gross nitrogen transformation in an old-growth forest: the carbon connection. *Ecology* 75:880-891
- Hedley M.J., Stewart J.W.B., Chauhan B.S. 1982** Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46:970-976.
- Holben W.E., Jansson J.K., Chelm B.K., Tiedje J.M. 1988** DNA Probe 521 method for the detection of specific microorganisms in the soil bacterial 522 community. *Appl Environ Microbiol* 54:703-711.
- Holben W.E., Harris D. 1995** DNA-based monitoring of total bacterial community structure in environmental samples. *Molecular Ecology* 4:627-631
- Hughes J.B., Bohannon B.J.M., Brown J.H., Coldwell R.K., Fuhrman J.A., Green J.L., Jorner-Devine M.C., Kane M., Krumis J.A., Kuske C.R., Morin P.J., Naeem S., Ovreas L., Reysenbach A-L., Smith V.H., Stanley J.T. 2006** Microbial biogeography: putting microorganism on the map. *Nature Reviews Microbiology* 4:102-112
- IUSS Working Group WRB 2007.** World Reference Base for Soil Resources 2006, first update 2007. *World Soil Resources Reports No. 103.* FAO, Rome
- Jackson R.B., Caldwell M.M. 1993** The scale of nutrient heterogeneity around individual plants and its quantification with geostatistics. *Ecology* 74:612-614
- Jetten M.S.M et al. 2002** improved nitrogen removal by application of new nitrogen cycle bacteria. *Rev Environ Sci Biotech* 1:51-63
- Joergensen R.G. 1996** The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the K_{EC} value. *Soil Biol Biochem* 28:25-31
- Joergensen R.G., Mueller T. 1996** The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the K_{EN} value. *Soil Biol Biochem* 28:33-37
- Johannesson K., Cortés A., Kilroy K. 2004** Reconnaissance isotopic and hydrochemical study of Cuatro Ciénegas groundwater, Coahuila, México. *Journal of South American Earth Sciences* 17: 171-180
- Jones D.L., Shannon D., Murphy D.V., Farrar J. 2004** Role of dissolved organic nitrogen (DON) in soil N cycling in grassland soils. *Soil Biol Biochem.* 36:749-756
- Jones D.L., Healey J.R., Willet V.B., Farra J.F., Hodge A. 2005** Dissolved organic nitrogen uptake by plants an important N uptake pathway? *Soil Biol Biochem* 37:413-423
- Jones D.L., Willett V.B. (2006)** Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biol Biochem* 38: 991-999

- Kuske C.R., Ticknov L.O., Miller M.E., Dunbar J.M., Davis J.A., Barns S.M., Belnap J. 2002** Comparison of soil bacterial communities in rhizospheres of three plant species and the interspaces in arid grassland. *Appl Environ Microbiol* 4:1854-1863
- Lal R. 2008** Carbon sequestration. *Phil. Trans. R. Soc. B* 363:815–830
- Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. 2004** Brock. *Biología de los microorganismos*. Décima edición. Pearson Educación.
- Maheshwari, R. 2008** Small molecule natural product from a fungus induces 391 thermotolerance in plants. *Current Science* 94:10
- Manzoni S. y Porporato A. 2009** Soil carbon and nitrogen mineralization: Theory and models across scales. *Soil Biol. Biochem.* 41: 1355-1379
- Martínez-Piedragil C. 2008** Dinámica de nutrientes en dos suelos con diferentes humedades en el valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico de Morelia.
- McKee, J.W., Jones, N.W., Long, L.E., 1990** Stratigraphy and provenance of strata along the SanMarcos fault, central Coahuila, Mexico. *Geological Society of America* 102:593–614.
- Montaño N.M. 2008** Efecto del carbono orgánico sobre la disponibilidad de fósforo y nitrógeno en el suelo de un ecosistema tropical estacional mexicano. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.
- Montaño N.M., Sandoval-Pérez A.L., García-Oliva F., Larsen J., Gavito M.E. 2009** Microbial activity in contrasting conditions of soil C and N availability in a tropical dry forest. *Journal of Tropical Ecology* 25:1-13
- Murphy J., Riley J. P. 1962** A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal Chim. Acta*, 27:31-36.
- Nogales B. 2005.** La microbiología del suelo en la era de la biología molecular: descubriendo la punta del iceberg. *Ecosistemas* 14:41-51
- Núñez S., Martínez-Yrizar A., Búrquez A., García-Oliva F. 2001** Carbon mineralization in the Sonoran desert. *Acta Oecologica* 22:269-276
- Paul E.A., Clark F.E. 1989** Soil microbiology and biochemistry. Academic Press, San Diego, Calif, p 273
- Pedersen K. 2000** Exploration of deep intraterrestrial life: current perspectives. *FEMS Microbiology. Letter* 185:9-16
- Perroni-Ventura Y., García-Oliva F., Souza V., Nava-Mendoza M. (en revisión)** Plant species richness and identity as factors of soil inorganic P availability in a P-deficient oligotrophicregion of the Chihuahuan Desert
- Pickup R.W. 1991** Development of molecular methods for the detection of specific bacteria in the environment. *Journal of General Microbiology* 137:1009-1019

- Rajaniemi T.K., Allison V.J. 2009** Abiotic conditions and plant cover differentially affect microbial biomass and community composition on dune gradients. *Soil Biol Biochem* 41:102-109
- Reynolds J.F., Maestre F.T., Huber-Sannwald E., Herrick J., Kemp P.R. 2005** Aspectos socioeconómicos y biofísicos de la desertificación. *Ecosistemas* 14: 3-21
- Robertson P.G., Coleman D.C., Bledsoe C.S., Sollins P. 1999** Standard soil methods for long-term ecological research (LTER). University Press, Oxford, New York, pp 258-271
- Rodicio M., Mendoza M. 2004** Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 22: 238-245
- Rzedowski J. 1983** Vegetación de México. Limusa. México, D.F. pp 432
- Schimel J.P., Bennet J. 2004** Nitrogen mineralization: challenges of a changing paradigm. *Ecology* 85:591-602
- Schlesinger W.H., Reynolds J.F., Cunningham G.L., Huenneke L.F., Jarrell W.M., Virginia R.A. and Whitford W.G. 1990** Biological feedbacks in global desertification. *Science* 247:1043-1048
- Schlesinger W.H., Reynolds J.F., Cunningham G.L., Huenneke L.F., Jarrell W.M., Schlesinger W.H., Rainkers A.J., Hartley A.E., Cross A.F. 1996** On the spatial pattern of soil nutrients in desert ecosystems *Ecology* 2:364-374
- Schlesinger WH. 2000** Biogeoquímica. Un análisis al cambio global. Editorial Ariel.
- Sokal R.R., Rohlf F.J. 1995** Biometry. Freeman and company, San Francisco, Calif, p 832
- Souza V., Espinoza-Asuar L., Escalante A., Eguiarte L., Farmer J., Forney L., Lloret L., Rodríguez-Martínez J., Soberon X., Dirzo R., Elser J. 2006** An endangered oasis of aquatic microbial biodiversity in the Chihuahuan desert. *PNAS* 17:6565-6570
- Strauss E.A., Lamberti G. 2002** Effect of dissolved organic carbon quality on microbial decomposition and nitrification rates in stream sediments. *Freshwater Biology* 47:65-74
- Vance E.D., Brookes A.C., Jenkinson D.S. 1987** An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol Biochem* 19: 703-707
- Velázquez-Duran R., Perroni-Ventura Y., Tapia-Torres Y., García-Oliva F.** Biomasa aérea radicular y almacén de nutrientes en dos comunidades vegetales (matorral y pastizal) del valle de Cuatro Ciénegas (en preparación).
- Verhagen F.J., Laanbroek H.J. 1991** Competition for ammonium between nitrifying and heterotrophic bacteria in dual energy-limited chemostats. *App Environ Microbiol* 57:3255-3263

Vitousek P. M., Ehrlich P. R., Ehrlich A. H., Matson P. A., 1986 Human appropriation of the products of photosynthesis. *Bioscience* 36:368

Vitousek P. M., Matson P. A., 1988 Nitrogen transformation in a range of tropical forest soils. *Soil Biol Biochem.* 20:361-367

Von Ende C.N. 1993 Repeated measures analysis: growth and other time-dependent measures. In: Scheiner S.M., Gurevitch J. (eds) *Design and analysis of ecological experiments*. Chapman and Hall, New York, USA, pp 113-137

Westover, K.M., Kennedy, A.C., Kelley, S.E. 1997 Patterns of rhizosphere microbial community structure associated with co-occurring plant species. *Journal of Ecology* 85: 863–873

Whitman W.B., Coleman D.C., Wiebe W.J. 1998 Prokaryotes: the unseen majority. *Proceedings of the Natural Academic of Science* 95:6578-6583

Zak D.R., Blackwood C.B., Waldrop M.P. 2006. A molecular dawn for biogeochemistry. *Trends in Ecology and Evolution* 21:288-295.

Zhang H., Sekiguchi Y., Hanada S., Hugenholtz P., Kim H., Kamagata Y., Nakamura K. 2003 *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a Gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating micro-organism, the first cultured representative of the new bacterial phylum *Gemmatimonadetes* phyl. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 53:1155-1163

Zhou Z., Sun O.J., Luo Z., Jin H., Chen Q., Han X. 2008 Variation in small-scale spatial heterogeneity of soil properties and vegetation with different land use in semiarid grassland ecosystem. *Plant Soil* 310:103-112