



Programa de Estudios de Posgrado

ESTRUCTURA, DIVERSIDAD Y PERFIL FISIOLÓGICO
DE LA COMUNIDAD BACTERIANA DEL SUELO EN
LAS ISLAS DE RECURSOS DEL MEZQUITE AMARGO
(*Prosopis articulata* S. Watson) EN RELACIÓN CON LA
DIVERSIDAD DE PLANTAS

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales

(Orientación Ecología de Zonas Áridas)

Presenta

DIANA EDISA GARCÍA HERNÁNDEZ

La Paz, Baja California Sur, Febrero de 2015

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 12:00 horas del día 02 del Mes de _Febrero del 2015, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

“Estructura, diversidad y perfil fisiológico de la comunidad bacteriana del suelo en las islas de recursos del mezquite amargo (*Prosopis articulata* S. Watson) en relación con la diversidad de plantas”

Presentada por el alumno:

DIANA EDISA GARCÍA HERNÁNDEZ

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN **Ecología de zonas áridas**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA



Dr. YOAV BASHAN
DIRECTOR DE TESIS



Dra. LUZ GONZÁLEZ DE BASHAN
CO-TUTOR



Dra. ANN HIRSCH
CO-TUTOR



DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA,
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

CONFORMACIÓN DE COMITES

COMITÉ TUTORIAL

Dr. Yoav Bashan

Director Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)

Dra. Luz Estela González de-Bashan

Co-tutora Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)

Dra. Ann Hirsch

Co-tutora Universidad de California, Los Angeles (UCLA)

COMITÉ REVISOR DE TESIS

Dr. Yoav Bashan

CIBNOR

Dra. Luz Estela González de-Bashan

CIBNOR

Dra. Ann Hirsch

UCLA

JURADO DE EXAMEN DE GRADO

Dr. Yoav Bashan

CIBNOR

Dra. Luz Estela González de-Bashan

CIBNOR

Dra. Ann Hirsch

UCLA

Dr. Macario Bacilio Jiménez (Suplente)

CIBNO

RESUMEN

El mezquite es una planta nativa del desierto con adaptaciones que la colocan en un lugar preponderante en ambientes donde pocas plantas pueden sobrevivir de manera independiente. Su papel en ecosistemas áridos es vital para la concentración de nutrientes en parches (o islas de recursos) ya que bajo su dosel se crean condiciones de fertilidad favorables para gran cantidad de plantas. Es por esto que se ha propuesto como una planta clave para la reforestación de zonas erosionadas y se han tenido buenos resultados de manera experimental. Por otro lado, existe escasa información sobre la diversidad de bacterias asociadas a la formación y mantenimiento de las islas de recursos y el papel potencial que estas tengan en la regulación de las condiciones del suelo para la optimización de obtención de nutrientes por las plantas.

Con el fin de relacionar la diversidad de plantas y la estructura y perfil fisiológico de la comunidad bacteriana del suelo en una zona árida, se seleccionaron 18 islas de fertilidad formadas bajo el dosel del mezquite con diferente diversidad de plantas y un suelo sin planta como control. Se analizaron las características del suelo, el perfil estructural, diversidad y fisiológico de la comunidad bacteriana por la utilización de fuentes de carbono.

La diversidad y estructura de la comunidad bacteriana no cultivable del suelo no mostraron correlación en el gradiente de diversidad de plantas, sin embargo la capacidad metabólica de degradar diversas fuentes de carbono se incrementa con la diversidad y riqueza de plantas, y se relaciona también con la materia orgánica, conductividad eléctrica y textura del suelo.

Palabras clave: Islas de recursos, Comunidad bacteriana del suelo, mezquite

ABSTRACT

Structure, diversity and physiological profile of soil bacterial community in the mesquite (*Prosopis articulata* S. Watson) resource islands in relation to plant diversity

The Mesquite is a native desert plant with adaptations that allow it to grow in environments where few plants can survive independently. Its role in arid ecosystems is vital for nutrient concentration in patches (resources islands) because it adds favorable fertility conditions under its canopy. It is proposed as a key plant for reforestation of eroded areas and has been successful in experiments.

Yet there is little information about diversity of associate soil bacteria in forming and maintaining the resource islands and the bacteria's role in regulating soil conditions to optimize nutrient uptake by plants. To integrate plant diversity and structure and diversity and physiological profiles of soil bacterial community in an arid area, 18 fertility islands formed under mesquite canopies with different plant diversity and a bare soil as a control were selected. Soil characteristics, structural profile, diversity, and physiological profile of the bacterial community were analyzed.

Diversity and structure of non-cultivable soil bacterial communities showed no correlation with the degree of plant diversity; however, the metabolic capacity to degrade various carbon sources increases with the diversity and richness of plants and is also related to organic matter, electrical conductivity, and soil texture.

Key words: Resource island, Soil bacterial community, Mesquite

DEDICATORIA

A Blanquita

Por su pasión y gusto a la investigación

Y por su gran calidad humana

merece mi más grande admiración

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste por la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado.

Al CONACyT por la beca otorgada (convenio no.484425).

Al Proyecto UC-MEXUS "Searching for bacteria living in the rhizosphere of native desert plants in the Sonoran Desert that restore soil fertility to degraded land in Baja California" 104C, por la financiación de la tesis.

A mis asesores Dr. Yoav Bashan y Dra. Luz González de-Bashan por permitirme integrar a su grupo de investigación, han sido para mí un gran ejemplo como investigadores en búsqueda de mejorar la situación científica actual en México.

A Dra. Blanca Romero López por todas tus enseñanzas tanto en el laboratorio, en la redacción de manuscritos y en presentaciones. Agradezco infinitamente tu disposición por ayudarme en cualquier momento, tu esfuerzo y paciencia por escuchar cada una de mis preguntas.

A la Dra. Ann Hirsch por sus acertadas observaciones como co-tutora.

A M. en C. Manuel Moreno Legorreta por su asistencia en campo y consejos técnicos.

A M. en C. Juan Pablo Hernández por su asistencia en el laboratorio.

A Dra. Esmeralda López por sus enseñanzas y ayuda en la realización de experimentos y en campo.

A mis amigos de laboratorio que siempre se mostraron disposición en auxiliarme y brindar consejos.

A Dr. Alfonso Medel por su apoyo en campo, en la identificación de plantas, préstamo de equipo, software, libros y la resolución de dudas. Agradezco mucho tu amabilidad e interés.

A Dr. Macario Bacilio por sus observaciones durante las presentaciones y préstamo de libros.

A M. en D. Manuel Trasviña Castro y a la IBQ. Myriam Hernández de Haro del Laboratorio de Edafología del CIBNOR por la realización de parámetros fisicoquímicos y permitirme participar en algunos de ellos.

A Dr. Ángel Carrillo por préstamo de reactivos y enseñanza.

A mis buenos profesores de cursos por ser responsables y enseñarme ciencia.

A mis padres Mauricio y Fanny por apoyarme en todas las decisiones que he tomado aunque esas impliquen estar lejos, motivarme, estar presentes y ser unas personas admirables.

A mis hermanas Judith y Karen y a mis hermanos postizos Jorge y Marc por su apoyo incondicional, estar al pendiente de mis andares y echarme porras.

A mi familia extendida porque son una motivación hecha y derecha.

A mis amigos de generación de maestría y del CIB, en especial a Daniel Romo (Toping) por ser el gnomo más peculiar que pueda existir, todos los recuerdos que tenemos bailan catalá en mi corazón. A Cristinita Hernández, por tu valiosa amistad y ayuda durante todo este tiempo que compartimos, eres una gran persona que tendré presente durante toda mi vida. A José Angel (Peps) por brindarme su forma característica de amistad. A Cris Galaviz porque siempre pude contar con ella en el laboratorio y como amiga.

A Miguel Robles simplemente por ser como es. Por llegar como una ola de felicidad que empapo toda mi vida. Tu disposición y ayuda sirvieron para el término de esta tesis. Te quiero como el rojo a la cereza.

A mis grandes amigos infalibles: Chío, Alexei (Moni), Cone y Jona que me vinieron a visitar. A Lucho y otros amigos que sobrevivieron a pesar de la distancia. Les agradezco su oído en los que deposité mis alegrías y penurias. Son una motivación para seguir andando.

A la Sra. Ramona Jassan por ser mi casera y amiga, de la cual he aprendido muchas cosas.

CONTENIDO

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTOS	IV
CONTENIDO.....	VI
LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE TABLAS	IX
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Ecosistemas áridos	2
2.1.1 Parámetros del suelo	2
2.1.2 Islas de fertilidad	4
2.1.1.1 Islas de fertilidad de mezquite	5
2.2 Comunidades bacterianas en suelos áridos.....	8
2.2.1 Metabolismo de las bacterias del suelo	10
2.2.2 Relación entre diversidad microbiana del suelo y diversidad vegetal	12
3. JUSTIFICACIÓN	14
4. OBJETIVOS.....	15
5. HIPÓTESIS.....	15
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
6.1 Muestreo	16
6.2 Análisis fisicoquímicos del suelo	18
6.3 Extracción de ADN	19
6.4 Reacción en cadena de la polimerasa	20
6.5 Electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante (DGGE)	22
6.6 Perfil fisiológico de las comunidades bacterianas	22
7. RESULTADOS.....	27
7.1 Muestreo	27
7.2 Características fisicoquímicas del suelo.....	31
7.3 Estructura y diversidad bacteriana	33
7.4 Perfil fisiológico de la comunidad bacteriana del suelo	35
8. DISCUSIÓN	41

9. CONCLUSIONES	51
10. PERSPECTIVAS	51
11. BIBLIOGRAFÍA.....	52
12. ANEXOS.....	59
12.1 ANEXO I.....	59
12.2 ANEXO II.....	60

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Ejemplo de isla de recurso donde el mezquite alberga bajo su dosel diversas plantas. 5
- Figura 2.** Representación de los procesos que ocurren en una isla de recursos. 8
- Figura 3.** Representación de la toma de medidas del mezquite..... 17
- Figura 4.** Localización geográfica de las islas de recursos 27
- Figura 5.** Ordenación por Componentes Principales de las islas de recursos respecto a las variables fisicoquímicas del suelo. 32
- Figura 6.** Comparación de la estructura de la comunidad del suelo de diferentes islas de recursos. A. DGGE de las islas de recursos y el suelo sin plantas, en los extremos la escalera de referencia. B. Dendograma UPGMA de agrupación por coeficiente Dice. C. Configuración 3D NMDS de las bandas. La nomenclatura de las islas es numerada ascendientemente a la diversidad de plantas de las islas de recursos..... 34
- Figura 7.** Análisis de componentes principales de la utilización de las fuentes de carbono agrupadas por naturaleza de las islas de recursos y suelo sin planta. 37
- Figura 8.** Relación filogenética de los grupos bacterianos representativos (identificados con la letra S) después del uso de ecoplacas BIOLOG usando el método de Neighbor-Joining. Se muestra el árbol óptimo con la suma de la longitud de ramas 0.44. El porcentaje de árboles replicados en los cuales los taxa son agrupados juntos en la prueba bootstrap (1000 replicados) está mostrado junto a las ramas. El análisis involucro 20 secuencias de nucleótidos. Los análisis fueron conducidos en MEGA 6. Se analizó la ausencia de quimeras usando el programa DECIPHER..... 39

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Concentración de reactivos para la reacción de PCR.....	21
Tabla II. Programa utilizado para la reacción en cadena de la polimerasa.....	21
Tabla III. Área total de la isla de recurso y diámetro del tronco.	28
Tabla IV. Frecuencia absoluta de las plantas registradas en las islas de recursos.....	29
Tabla V. Riqueza y diversidad de plantas de las islas de recursos.	30
Tabla VI. Correlaciones de Pearson de las riquezas y diversidades bacterianas y de plantas.	35
Tabla VII. Correlación de la actividad metabólica con las características del suelo.....	38
Tabla VIII. Relación entre los grupos bacterianos recuperados de acuerdo a la clasificación de los suelos.	39

1. INTRODUCCIÓN

La distribución de nutrientes y microorganismos en los suelos en ecosistemas de zonas áridas es muy heterogénea: hay gran concentración de ambos bajo las plantas, mientras que en el suelo desnudo, sin cobertura vegetal, hay muy poco de ambos (Herman *et al.*, 1995). El microhábitat que se crea bajo los doseles de matorrales y árboles se denomina Islas de Recursos. En éstas, las condiciones son más favorables en cuanto a propiedades de suelo, microclima y abundancia microorganismos por lo que son aprovechados por otras plantas para establecerse. Es por eso que también se les denomina islas de fertilidad (Bashan y de-Bashan, 2010).

En la actualidad es necesario hacer estudios de la ecología microbiana perteneciente a la biota que interactúa con las plantas no cultivadas para la restauración de ecosistemas naturales con la finalidad de conservar la biodiversidad.

Este estudio se realizó en el Comitán BCS, ubicado al extremo sur de la porción peninsular del Desierto Sonorense. En esta zona anteriormente se determinó que las islas de recursos del mezquite maduro son las que presentan mayor cantidad de plantas debajo del dosel y que hay una mayor cantidad de bacterias cultivables debajo de estas que en el suelo desnudo (Carrillo-García *et al.*, 1999). La interacción entre los participantes de las islas de recursos (planta-microorganismos del suelo) en este desierto es el motivo de este estudio, ya que se desconoce si existe algún patrón en la diversidad y estructura bacteriana relacionado con las plantas presentes. Para lo cual se relacionaron la diversidad de plantas de 18 islas de recursos de mezquite amargo (*Prosopis articulata*) con la estructura y diversidad bacteriana no cultivable por la técnica de electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante y el perfil fisiológico de la comunidad bacteriana por el uso de placas BIOLOG, con el fin de relacionar si la diversidad de plantas que crecen bajo el dosel del mezquite influyen en la diversidad, estructura o actividad metabólica de la comunidad bacteriana y cómo estos se relacionan con las condiciones fisicoquímicas del suelo.

2. ANTECEDENTES

2.1 Ecosistemas áridos

Los desiertos son ecosistemas más complejos de lo que parecen. Son ambientes estresantes para la flora y fauna, donde la pérdida de agua anual por evapotranspiración puede exceder lo ganado por precipitación. La lluvia de los desiertos es muy impredecible y esporádica. Para considerar como desértico a un ecosistema, la media de precipitación anual debe ser de 250 mm. Además los desiertos con temperaturas altas pueden llegar a los 40-50°C. (Polis G, 1991). Un ecosistema árido comprende los desiertos extremos (lluvia menor a 70 mm por año) y los desiertos verdaderos (lluvia menor a 120 mm por año) (Schmida, 1985).

La disponibilidad de agua en los ecosistemas áridos afecta la productividad y la distribución de muchas especies. Los suelos desérticos varían en la composición mineral, reservas de nutrientes, contenido orgánico y la capacidad de retención de agua. Estas diferencias están dadas por la erosión y patrones de drenaje, composición del sustrato, viento e influencias biológicas. Por estas razones, en el desierto los nutrientes están en parches, principalmente debajo de los arbustos y en la capa superior del suelo (Polis, 1991).

Particularmente, el área de este estudio presenta un ecosistema árido, ésta se encuentra ubicada en la Estación Biológica Laura Arriaga en el Comitán a 12 km. de la ciudad de la Paz BCS., es una costa aluvial plana formada por la deposición de granito derivado de la erosión de las montañas de la Sierra de la Laguna. Presenta una media anual de precipitación de 180 mm. Las temperaturas medias varían de la más fría en enero (18°C) a la más cálida en agosto (30°C), durante 7 meses las temperaturas se mantienen entre 30-45°C y en el suelo pueden llegar hasta 50°C (Maya y Guzmán, 1998; Carrillo-García *et al.*, 1999).

2.1.1 Parámetros del suelo

Los parámetros edáficos que influyen en el crecimiento de las plantas son varios. Entre los más importantes y que fueron cuantificados en este estudio están:

- Textura: es la proporción de los tamaños de partículas de la parte sólida del suelo. Esta propiedad indica en dos niveles el volumen disponible de la fase gaseosa (aeración) y la parte acuosa. Un suelo ideal tiene una proporción tripartita de la arena (0.05-2 mm), limo (0.2-50 μm) y arcilla (0.05-2 μm). Las características de una textura bien balanceada es un suelo franco conteniendo arcilla 10-25%, limo entre 28-50% y arena entre 30-55%. En las zonas áridas, por lo general sólo la parte superficial del suelo está humedecida, la profundidad de penetración de la humedad depende de la textura y la capacidad de campo del suelo. Los suelos arcillosos tienen baja infiltración, mientras en los arenosos la infiltración es intermedia (Buscot y Varma, 2010).

- Salinidad: las sales, en particular el sodio, dificultan la penetración del agua y el movimiento de la misma en el perfil, en la zona donde se estudiaron las islas está a un costado del mar, por lo que la concentración de sal es un factor importante para la sobrevivencia de las plantas (González Medrano, 2012). El método para medir la cantidad de sales de la solución del suelo es la conductividad eléctrica. Un suelo es salino cuando se presenta 4 dS/m según la NOM-021-SEMARNAT-2000.

- Materia orgánica: La materia orgánica se evalúa a través del contenido de carbono orgánico. La materia orgánica es el material orgánico que ha sufrido un proceso de descomposición y está en cantidades estables en el suelo (Buscot y Varma, 2010).

Nitrógeno: las plantas, así como todos los seres vivos, están hechas de biomoléculas que a su vez se componen de elementos. Un elemento esencial para la conformación de proteínas, ácidos nucleicos, clorofila, vitaminas etc. es el nitrógeno. La fuente de obtención del Nitrógeno por las plantas es del suelo, lo absorben por las raíces en forma de amonio (NH_4^+) o nitrato (NO_3^-). El amonio disponible en el suelo puede venir de dos fuentes principales: una es como producto por la fijación de N_2 atmosférico por algunas Cianobacterias, Proteobacterias de vida libre, Archaeas o Bacterias simbióticas noduladoras. Y también puede ser el producto de la degradación de compuestos con nitrógeno orgánico en un proceso llamado amonificación o mineralización también llevado

a cabo por microorganismos en el suelo. Una forma de transformación del amonio del suelo es la nitrificación de dos pasos para la conversión a nitrato. Esta forma es más móvil por lo que se puede perder por lixiviación. El nitrato puede regresar a la atmósfera como nitrógeno molecular en un proceso de 4 pasos que en su conjunto se llama desnitrificación (Philippot y Germon, 2005).

Fósforo: similar al nitrógeno, el fósforo es otro nutriente limitante para el crecimiento de las plantas. El fósforo se encuentra en cantidades micromolares ya que es muy reactivo con calcio, fierro y aluminio. En suelos alcalinos se presenta principalmente como hidroxiapatita y fluoroapatita por la unión a calcio, en cambio en suelos ácidos se une preferentemente a aluminio y fierro. Pero estas formas no son disponibles para las plantas, deben de ser convertidas a formas solubles (Buscot y Varma, 2010). Los criterios para determinar la calidad de un suelo es cuanto a su contenido de fósforo están en la NOM-021-RECNAT-2000 donde clasifica como bajo (<5.5 mg/kg), medio (5.5-11 mg/kg) y alto (>11 mg/kg).

2.1.2 Islas de fertilidad

Desde inicios del siglo XX se han reportado estudios de patrones de la facilitación espacial en la estructura y diversidad entre plantas sobre todo en ecosistemas áridos donde las condiciones son más adversas para el establecimiento y crecimiento de plantas (Callaway, 1995).

En éstos ecosistemas, los doseles de los árboles y arbustos tienen una influencia positiva en la textura y disponibilidad de nutrientes en el suelo, por lo que crean islas de fertilidad donde la materia orgánica y los nutrientes son mayores en relación con el exterior del dosel (Bashan y de-Bashan, 2010).

Las islas de fertilidad o también llamadas islas de recursos benefician a otras especies de plantas con el resultado del aumento la riqueza de plantas alrededor de la planta nodriza. Un claro ejemplo es la asociación planta nodriza de leguminosas y arbustos con plantas suculentas del desierto (Figura 1) (Rodriguez *et al.*, 2006).



Figura 1. Ejemplo de isla de recurso donde el mezquite alberga bajo su dosel diversas plantas.

Las islas de fertilidad se forman como montículos de suelo causa de la deposición y subsecuente estabilización de las partículas provenientes del viento bajo el dosel de la planta (Armbrust y Bilbro, 1997).

En estas islas las características fisicoquímicas del suelo cambian ya que aumentan la capacidad de retención de agua, hay menor densidad de suelo grueso, hay mejor aireación, la textura es más fina y hay una estructura estable de agregados en adición a un mayor nivel de nutrientes que en las áreas circundantes (Burn y Davies, 1986). Por eso se llaman islas de fertilidad, definiendo fertilidad como la cualidad que permite a un suelo proporcionar los compuestos apropiados, en las cantidades debidas y en el balance adecuado para el crecimiento de plantas específicas cuando otros factores, tales como la luz, temperatura y condiciones físicas del suelo, son favorables (NOM-021-SEMARNAT-2000).

2.1.1.1 Islas de fertilidad de mezquite

En Baja California Sur, la vegetación se encuentra agrupada en cuatro comunidades vegetales: matorral sarcocaula, selva baja caducifolia, bosque de pino-encino y vegetación costera. En el área de estudio la vegetación corresponde al matorral sarcocaula (León de la Luz *et al.*, 2014). Este tipo de vegetación se caracteriza por plantas de formas arbóreas y arbustivas, armadas y no armadas, principalmente de la familia de las leguminosas, y

particularmente por la abundancia de formas suculentas (Agaváceas, Cactáceas) y semisuculentas (Burseráceas, Euforbiáceas) con ramaje tortuoso y a veces corteza exfoliante (León de la Luz *et al.*, 2000). A estas se agregan especies vegetales dominantes del matorral principalmente *Jatropha cuneata*, *J. cinerea*, *Stenocereus gummosus*, *Bursera microphylla*, entre otras. Estas especies de plantas están adaptadas a la temperatura promedio anual cálida de 23-24°C, precipitación anual promedio de 101-200 mm y la cercanía con la playa (León de la Luz *et al.*, 2014.). Durante el verano la temperatura de la superficie del suelo puede llegar a los 40°C. El suelo del Comitán es del tipo Cambisoles Eutricos Háplicos que son del tipo arenoso, profundos, de colores claros, bien drenados y con pH de neutros a moderadamente alcalinos (FAO-ISRIC-ISSS, 2006) (Maya-Delgado *et al.*, 2013).

El mezquite (*Prosopis* spp.) se ha identificado como una planta particularmente efectiva como planta nodriza en zonas áridas (Callaway, 1995). El mezquite es una planta adaptada a climas áridos. Sus raíces pueden extenderse hasta 15 m y son plantas perennes de enraizamiento profundo que dependen de la humedad de los mantos freáticos, se han encontrado enraizamientos profundos de *Prosopis* de hasta 53 m. En otros géneros de mezquite (*P. juliflora* var. *velutina*) se ha estimado la viabilidad de semillas hasta 20 años enterrada en el suelo en condiciones ambientales (González Medrano, 2012). Además se ha reportado el cambio de sensibilidad estomatal cuando se presenta un déficit de presión de vapor y ajuste osmótico para mantener el potencial de turgencia durante sequías severas (Nilsen *et al.*, 1983).

Algunas generalidades morfológicas de esta planta es que los arboles pueden ser 6-10 m de alto, con espinas nodales, hojas bipinnadas, caducas. La flor es pequeña, blanco verdosa, arreglada en densas espigas, que se presentan entre el periodo de marzo a mayo; el fruto es una vaina alargada, caracterizada por puntos de resina (León de la Luz *et al.*, 2014). Aunque es una planta siempre verde, el patrón de mayor desprendimiento de hojas se realiza principalmente después de las lluvias. En un estudio de dos años se observó que se depreden máximo 11 g/m³ de hojarasca entre partes reproductivas, hojas y maderas del mezquite mensual. El mezquite es la planta que más

hojarasca desprende en el área de estudio (30% de 6 especies de plantas estudiadas). Las hojas las produce antes de las lluvias de verano y las conserva hasta después de las lluvias de invierno (Maya-Delgado y Arriaga, 1996).

Las semillas del mezquite constituyen un importante alimento para la fauna nativa. Los usos de esta planta son para forrajeo y para combustible, ya sea como leña, para postes o carbón. Su madera es muy fuerte pero se dice que es un recurso forestal poco valorado (León de la Luz *et al.*, 2014). Por si esto fuera poco, el mezquite al tener la capacidad de asociación con bacterias fijadoras de nitrógeno contribuye de manera importante al bono de nitrógeno en ecosistemas de pastizal y por lo tanto a nivel global (Johnson y Mayeux, 1990).

El mezquite amargo (*Prosopis articulata*) maduro y el palo fiero (*Olneya tesota*) comparados contra otros árboles y matorrales arborescentes en el área, son los árboles con el mayor número de plantas debajo del dosel (León de la Luz *et al.*, 1999). Se ha visto que el mezquite provee sombra y nutrientes (P y N) que determinan la sobrevivencia y crecimiento del cardón gigante *Pachycereus pringlei* en diferentes suelos (Carrillo-García *et al.*, 2000). Entre los beneficios que provee a las plántulas adyacentes como mejorar el contenido de N del suelo, moderar la temperatura de la superficie del suelo y aumentar los niveles de humedad (Callaway, 1995). Una representación esquemática se muestra en Figura 2.

En otros estudios hechos con respecto a las islas de fertilidad de mezquites, se ha reportado que en el Desierto Sonorense el mezquite *P. velutina* aumenta significativamente la textura de suelo y el contenido de N. En un gradiente del desierto a la zona ribereña, el mezquite tuvo una influencia positiva en humedad y N del suelo en comparación con zonas sin vegetación. Los doseles tuvieron mayor biomasa de vegetación (Schade *et al.*, 2003). La mineralización de N y la nitrificación neta así como la biomasa C y N microbiana también se incrementan. La variabilidad de la posición del mezquite a la proximidad del agua subterránea conduce a cambios en procesos biológicos e interacciones de especies (Schade y Hobbie, 2005).

El mezquite esta propuesto como planta para reforestación de zonas áridas, con base en estudios donde se encontró que la isla de fertilidad de un mezquite (*P. laevigata*) contiene mayor cantidad de N total así como N acumulado en los microorganismos del suelo en comparación con otra planta desértica, *Parkinsonia praecox* (Perroni-Ventura *et al.*, 2009). Y ha sido efectiva en suelos con severas condiciones de aridez (Bashan *et al.*, 2012).

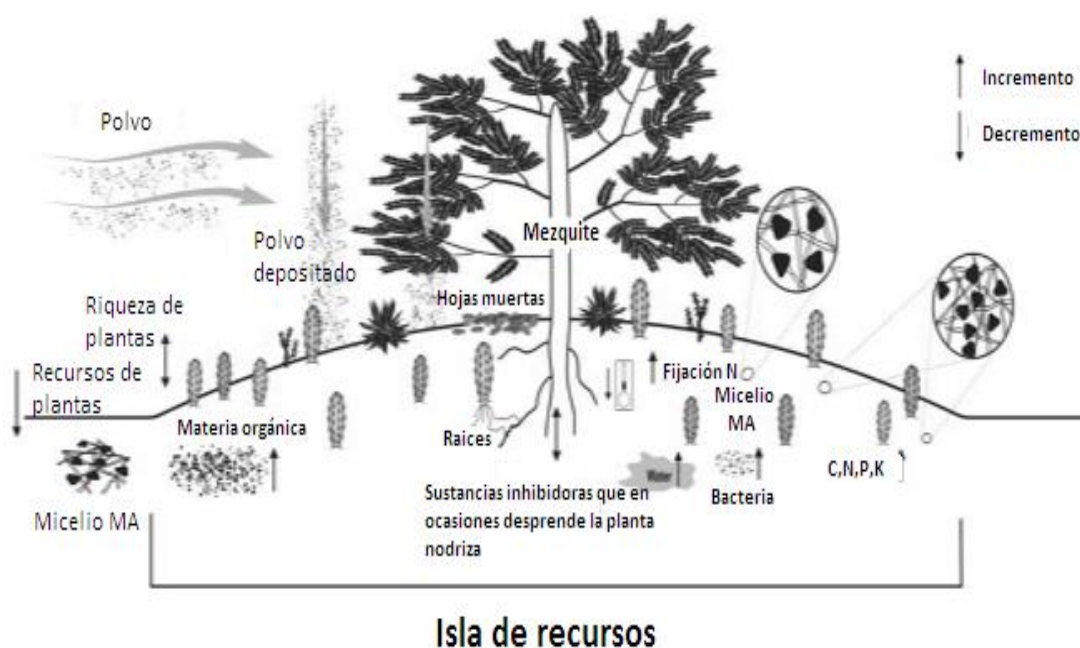


Figura 2. Representación de los procesos que ocurren en una isla de recursos. Tomado de Bashan y de-Bashan, 2010.

2.2 Comunidades bacterianas en suelos áridos

Aunque las bacterias son microorganismos ubicuos en suelo, tanto su distribución como diversidad varían enormemente dependiendo de factores bióticos y ambientales (Fierer y Lennon, 2011). Particularmente los patrones en las comunidades bacterianas del suelo y los factores que las determinan han sido poco explorados en ambientes áridos y semiáridos (Kaplan *et al.*, 2013).

En términos microbiológicos, la diversidad describe el número de diferentes tipos (especies) y su relativa abundancia en una comunidad dada en cierto hábitat. En términos prácticos, esta puede ser definida como el número y distribución de tipos de secuencias detectables diferentes presentes en el DNA

de la comunidad extraída de un hábitat. Con respecto a la diversidad microbiana, el número de los tipos presentes y la homogeneidad de su distribución es importante; un hábitat con mayor especies es más diverso, así como donde una comunidad igualmente distribuida es más diversa que una no homogéneamente distribuida con el mismo número de especies (Hedrick *et al.*, 2000).

Para el estudio de las comunidades microbianas del suelo se han desarrollado técnicas que contemplan tanto bacterias cultivables como no cultivables. Las técnicas moleculares de “huella digital” tales como electroforesis en gradiente desnaturizante (DGGE, siglas en inglés) o gradiente de temperatura (TGGE, siglas en inglés), polimorfismo de conformación de sola cadena (SSCP), heterogeneidad de longitud de PCR (LH-PCR), polimorfismo de longitud de fragmento de restricción-terminal (tRFLP) y librerías de clonación de 16rRNA han permitido conocer la diversidad de comunidades microbianas y la respuesta a cambios ambientales (Marzorati *et al.*, 2008).

Particularmente, la técnica de DGGE más usual se basa en el principio de que fragmentos de la misma longitud pero diferente secuencia pueden ser separados por el grado de desnaturización en un gradiente de sustancias desnaturizantes de ADN (formamida-urea), lo que da por resultado un gel con bandas a diferentes posiciones dependiendo del grado de GC del fragmento. Además se le adiciona una secuencia corta de GC (30-50 nucleótidos) para que no se desnaturalicen en dos hebras sencillas (Muyzer y Smalla, 1998). El patrón de bandas generado es considerado una “imagen” de la comunidad bacteriana en su totalidad. Una banda individual refiere a una única “secuencia tipo” o filotipo (Muyzer *et al.*, 1995). Sin embargo, se han reportado casos donde fragmentos de rDNA de bacterias cercanamente relacionadas no se separan, donde se forman dos bandas de una misma secuencia, casos donde secuencias no relacionadas co-migran en una posición idéntica; estas aberraciones suceden especialmente cuando se trabaja con comunidades complejas como el suelo. Con el patrón de bandas también se ha dado la interpretación de que la intensidad de la banda es directamente correspondiente a los filotipos bacterianos dentro de la muestra, esta premisa

implica que no haya un sesgo durante la extracción y la amplificación de los fragmentos, con lo que se puede ocupar un índice de diversidad de la comunidad. El patrón de bandas es caracterizado con programas computacionales y con un subsecuente análisis estadístico (Fromin *et al.*, 2007).

Por otro lado se encuentran las técnicas de secuenciación masiva como la pirosecuenciación (secuenciación de un gen de toda una comunidad) y metagenómica (secuenciación de genomas de todo un ensamblaje de microorganismos) (Riesenfeld *et al.*, 2004).

Las bacterias están presentes en todos los tipos de suelo, pero su población decrece a medida que la profundidad incrementa, así que la mayoría de los microorganismos se concentran en el horizonte A, que es la capa superficial del suelo con mayor materia orgánica (Subba R. 1997).

Hay pocos estudios de microbiomas en desiertos o zonas. En un estudio en el desierto de Negev (ecosistemas áridos y semi árido), se encontró que las poblaciones microbianas de α -Proteobacterias son más abundantes bajo el dosel del matorral, mientras que en los suelos desnudos son caracterizados por una mayor abundancia de Actinobacterias (Kaplan *et al.*, 2013). Sin embargo, en las comunidades en los suelos de clima mediterráneo (600 mm de precipitación anual) las poblaciones microbianas son similares dentro y fuera de la isla de recurso (Bachar *et al.*, 2012).

En el desierto de Chile, las bacterias y hongos fueron más abundantes en la primavera que a finales de otoño. La abundancia de microorganismos fue correlacionado positivamente con los niveles de nitrógeno y humedad del suelo (Aguilera *et al.*, 1999).

2.2.1 Metabolismo de las bacterias del suelo

La disponibilidad de recursos modela la composición de las comunidades bióticas. En el caso de las comunidades microbianas del suelo el recurso limitante es la materia orgánica (Buscot y Varma, 2010).

La materia orgánica del suelo se refiere al carbono orgánico total que contienen las sustancias en suelo. El origen de este carbono es de plantas, microorganismos y animales. La naturaleza de estas fuentes de carbono es muy diversa, de la descomposición de los desechos de plantas que son la fuente principal, incluyen nitrógeno, celulosa, hemicelulosa, lignina y taninos, otros polisacáridos, proteínas, lípidos, clorofilas y pigmentos. Fuentes de carbono provenientes de microorganismo comprenden glicolípidos, peptidoglicanos, proteoglicanos y glicoproteínas (Gleixer *et al.*, 2001).

Es importante resaltar que, además de la materia orgánica de la que están hechas las plantas y son transformadas en el suelo, los pelos radicales liberan sustancias químicas, células en suspensión y callos al medio circundante que son llamado exudados (Cai *et al.*, 2012). Los exudados son de naturaleza amplia. Se ha calculado que del 5-21% de la fijación de carbono de la fotosíntesis es liberado por los exudados (Walker *et al.*, 2003). Los exudados incluyen moléculas como agua, enzimas, mucilago y componentes de bajo peso molecular como aminoácidos, ácidos orgánicos, azúcares, fenoles. Así como componentes de alto peso molecular como polisacáridos y proteínas La función de los exudados incluyen la actividad y recambio de microorganismos, la disponibilidad de nutrientes y la inhibición del crecimiento de plantas competentes (Cai *et al.*, 2012).

La diversidad metabólica que se ha visto en la comunidad bacteriana del suelo es muy amplia, comprendiendo bacterias quimilitótrofas, fotoheterótrofas y quimiolitoheterótrofas (Buscot y Varma, 2010).

Por otro lado, el método de perfil fisiológico a nivel comunidad bacteriana cultivable (CLPP, siglas en inglés) provee la oportunidad de sobrepasar las dificultades del consumo de tiempo en los análisis basados en cultivo y pruebas bioquímicas. Sin embargo, ser la mayor desventaja de esta aproximación es que la respuesta metabólica del crecimiento involucra los efectos de la cooperación así como la competitividad en las placas BIOLOG (Haywood, CA, USA) (Garland 1996, 1997).

2.2.2 Relación entre diversidad microbiana del suelo y diversidad vegetal

Entre las preguntas científicas actuales sobre el funcionamiento de los ecosistemas se ha hecho recurrente la pregunta de si existe una relación positiva entre la diversidad bacteriana de suelos con la diversidad de plantas, dado que la disposición y la disponibilidad de recursos en condiciones limitadas moldean la composición de comunidades de microorganismos. De esta manera, se ha planteado la hipótesis de que si la composición bioquímica de las hojas y raíces, así como su productividad, son características correspondientes a cada especie de planta, los cambios en la diversidad de plantas podría alterar la producción así como el rango de componentes en los detritus vegetales que limitan y por lo tanto controlar la composición y función de las comunidades heterotróficas microbianas del suelo. Aunque se han tenido avances importantes en el campo, aun no existe un consenso de esta relación en todos los ecosistemas, sin embargo, se ha visto más claramente en ambientes pobres de nutrientes (Zak *et al.*, 2003; van der Heijden *et al.*, 2008; Prober *et al.*, 2015).

La pregunta de qué tanto afecta la comunidad bacteriana del suelo en la composición de una comunidad vegetal nace de observaciones sobre la dificultad de algunas especies de plantas de crecer en suelos donde haya microorganismos patógenos específicos a ciertas plantas y a otras no, por el hecho de tener respuestas químicas o “inmuno-específicas”, entre otras influencias negativas (Bever *et al.*, 2012). Además, el impacto positivo de los microorganismos en la productividad de plantas, ya sea por asociación directa (por ejemplo, bacterias noduladoras fijadoras de nitrógeno) o indirecto (por ejemplo, bacterias de vida libre que liberen fitohormonas) que podrían beneficiar a un tipo de planta específicamente y a otros no dentro de una comunidad (van der Heijden *et al.*, 2008).

Entonces, si existe una selección por parte de las plantas para regular las poblaciones microbianas del suelo principalmente en la rizósfera (por la exudación de compuestos nutritivos y/o tóxicos) (Trabelsi y Mhamdi, 2013) y por contraparte, una influencia selectiva por parte de los microorganismos que determinen una regulación de crecimiento de plantas (van der Heijden *et al.*,

2008), esto lleva a preguntas como las siguientes: ¿Se puede tener un patrón en la relación de diversidades vegetal y microbiano? ¿Este patrón se presenta en todos los ecosistemas? ¿Qué otros factores ambientales están involucrados?

Según Fierer y Jackson, (2006) la diversidad bacteriana entre los diferentes ecosistemas a escala global no se ha visto relacionada con la temperatura del sitio, ni con la latitud ni con otras variables que típicamente predicen la diversidad de plantas y animales, y la composición de la comunidad fue independiente a la distancia geográfica. Un factor que sí puede explicar a esta escala la diversidad es el pH del suelo y el tipo de ecosistema, lo que indica una relación muy importante con variables edáficas.

En pastizales de todo el mundo, secuenciaciones masivas han permitido detectar que los patrones de diversidad alfa de plantas (número de taxa y su abundancia dentro de las comunidades o hábitats) están poco relacionados con la diversidad bacteriana o con algún tipo de grupo microbiano del suelo; sin embargo, si hay correlación entre la diversidad beta vegetal (disimilitud en la composición entre sitios) con comunidades bacterianas y de hongos (Prober *et al.*, 2015).

3. JUSTIFICACIÓN

La pérdida de la biodiversidad natural por las perturbaciones y alteraciones a las comunidades bióticas naturales está aumentando en todo el mundo conforme se incrementa la población humana y la urbanización se extiende. Una pérdida de vegetación conduce a una degradación de suelos. En México, casi el 45% de los suelos muestran algún tipo de degradación.

Por otro lado, la forma más común de distribución de la vegetación en desiertos es en forma de parches. En estos, una planta resistente a las condiciones ambientales adversas en donde crece, modifica las propiedades del suelo y climáticas locales creando islas de recursos alrededor de esta que pueden beneficiar el establecimiento y crecimiento de otras plantas. Una planta leguminosa con estas características es el mezquite amargo *Prosopis articulata*. Debajo del dosel del mezquite, la acumulación de recursos también concentra a los microorganismos.

Sin embargo, el conocimiento de la relación entre las plantas desérticas y los microorganismos del suelo en las islas de recursos es muy limitado. Se desconoce por ejemplo, si la riqueza o diversidad ecológicas muestran un patrón característico que puede ser clave al momento de restaurar la vegetación en suelos degradados y por otro lado, este conocimiento sirve para monitorear el estado antes y después de modificaciones al sistema.

4. OBJETIVOS

Objetivo general:

- Determinar la diversidad, estructura y perfil fisiológico de la comunidad bacteriana del suelo en las islas de recursos del mezquite amargo (*Prosopis articulata*) en relación a la diversidad de plantas y composición del suelo.

Objetivos particulares:

1. Determinar características físicas y químicas del suelo perteneciente a las islas de recurso con diferente diversidad vegetal.
2. Determinar la estructura y diversidad de la comunidad bacteriana del suelo mediante técnica cultivo independiente.
3. Determinar el perfil de fisiológico de la comunidad bacteriana heterótrofa del suelo.

5. HIPÓTESIS

Si la riqueza y la diversidad de plantas incrementa la fertilidad del suelo en las islas de recursos del mezquite amargo *Prosopis articulata*, entonces hay mayor cantidad y diversidad de especies bacterianas así como un incremento en las capacidades metabólicas para degradar diversas fuentes de carbono.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Muestreo

Las muestras se recolectaron en el predio del Comitán (N 24° 07', W 110° 25'), cerca de La Paz BCS perteneciente al Desierto Sonorense. Las islas de recursos se definieron como las áreas debajo del dosel de un mezquite. Se eligieron al azar 18 islas de recursos con diferente cantidad y composición de plantas que estuvieran evidentemente bajo la influencia del mezquite, es decir, creciendo en suelo con residuos de mezquite, que le diera sombra del dosel y el suelo se observó de diferente color. En un estudio anterior, se hizo una diferenciación entre mezquites maduros y mezquites jóvenes, porque los mezquites maduros son los que sirven de plantas nodrizas cuando tienen 20 cm de diámetro de tronco (Carrillo-Garcia *et al.*, 1999), por lo que se buscaron árboles de este tamaño. Las muestras de suelo se tomaron a partir de cuatro puntos en forma de cruz a 1 m de distancia del tronco del mezquite. La profundidad de suelo fue de alrededor de 10 cm. Además se tomaron 3 muestras de suelos alejado de cualquier planta por lo menos 2 metros a la redonda al cual se denominada suelo sin plantas.

El total de muestras de suelo con un peso alrededor de 600 g. se mezclaron en bolsas plásticas para colocarlas en refrigeración para los análisis fisicoquímicos posteriores. De esta mezcla, con un tubo estéril se tomaron 10 g. y se guardaron a -80°C para los análisis de comunidades bacterianas no cultivables.

Además, se anotaron el número de plantas y la especie a que pertenecían en cada isla de recursos; en caso de desconocerla se tomaron fotografías y muestras para su identificación en el Herbario del CIBNOR. Se tomaron los diámetros de la extensión de la isla y se calculó el área utilizando como aproximación la fórmula para calcular el área de una elipse, donde:

$$\text{Area} = \pi \times r \times s$$

r= radio mayor

s= radio menor

Por último, se midió el perímetro del tronco en la base y a 50 cm del suelo como se muestra en la Figura 3.

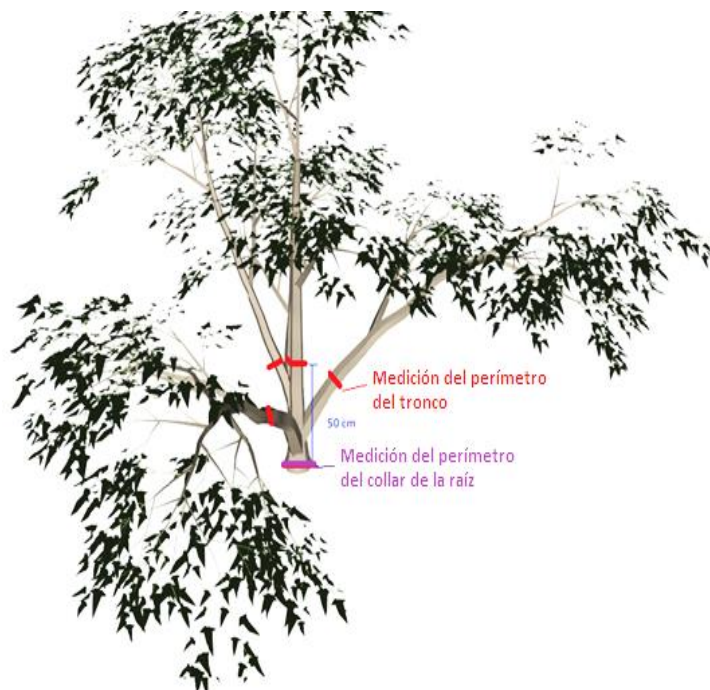


Figura 3. Representación de la toma de medidas del mezquite.

Con los datos de abundancia las especies de plantas se calculó el índice de diversidad Shannon (Shannon y Weaver, 1949). Dicho índice refleja la heterogeneidad de una comunidad sobre la base de dos factores: el número de especies presentes y su abundancia relativa. Esto implica que si una comunidad de S especies es muy homogénea, por ejemplo es porque existe una especie claramente dominante y las restantes $S-1$ especies, apenas presentes, el grado de incertidumbre será más bajo si todas las S especies fueran igualmente abundantes (Pla, 2006). La fórmula utilizada fue:

$$H' = -\sum p_i \ln(p_i)$$

Donde: H' = índice de diversidad

$p_i = n_i/N$, donde n_i es el número de individuos en especies i y N es el número total de individuos en una comunidad.

Las ventajas de este índice es que no está fuertemente afectado por el tamaño de muestra; este captura mucha información en una expresión; es relativamente fácil de calcular y es sensible a cambios en especies raras (Jorgesen y Fath, 2008).

Como suelo de referencia sin vegetación se tomaron 3 muestras a 10 cm de profundidad y ubicadas por lo menos a 2 m de distancia de alguna planta. Al ver que las muestras se obtenían similares patrones en los posteriores análisis, únicamente se conservó una muestra.

Para el manejo de los datos de la correlación entre medidas de la isla y el mezquite se usó el paquete estadístico Statistica StatSoft © (Tulsa OK, USA).

La relación de las familias de plantas y variables ambientales fue obtenida con un Análisis de Correspondencia Canónica. Este análisis multivariado de gradiente directo se calcula usando la forma de promedio recíproco del análisis de correspondencia, pero ha sido modificado para la incorporación de los datos ambientales. Así que en cada ciclo del proceso de promedio, se realiza una regresión múltiple con la puntuación de las muestras en las variables ambientales. Las puntuaciones en el nuevo sitio son calculadas basadas en esta regresión, y así el proceso se repite hasta que las puntuaciones se estabilizan. El resultado es que los ejes al final de la ordenación son restringidos a ser combinaciones lineales de las variables ambientales y los datos de especies. De esta manera estos dos conjuntos de datos son relacionados directamente (Ter Braak, 1986). Este análisis fue realizado con el programa MVSP *versión 3.22* y corroborado con el programa Past® (Anexo I).

6.2 Análisis fisicoquímicos del suelo

Los parámetros fisicoquímicos que se midieron fueron textura pH, conductividad eléctrica, materia orgánica, nitrógeno en amonio y en nitratos y fósforo soluble. Estos se realizaron en el laboratorio acreditado de Edafología del CIBNOR.

Para la medición de pH se utilizó el método AS-02 de la NOM-021-SEMARNAT- 2000 "Que establece las especificaciones de fertilidad, Salinidad

y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis”. La conductividad eléctrica por el método descrito por Jackson *et al.*, 1982. La materia orgánica se cuantificó por el método AS-07 de la NOM antes mencionada (Walkley y Black, 1934). El fósforo soluble por el método de Jackson, 1976. El nitrógeno en nitratos y nitritos por el método de Strickland y Parsons, 1972. El nitrógeno en amonio por el método de Solórzano, 1969.

La textura se determinó con un Autoanalizador Laser Horiba LA-950V2 para el análisis de distribución de tamaños de partículas.

6.3 Extracción de ADN

De la muestra compuesta que se obtuvo de cuatro puntos a 1 m. del tronco, se tomaron 10 g y se colocaron en tubos estériles, fueron transportados en un periodo menor de una hora a congelación a -80°C .

Se pesaron alrededor de 0.5 g de suelo y se siguió el protocolo del kit *Fast DNA SPIN for soils* (MP Biomedicals, Santa Ana, Ca) con algunas modificaciones que se explican más adelante (Lopez *et al.*, 2013).

Todos los tubos y las soluciones del Kit, excepto el buffer de lisis MT, fueron irradiados en UV durante 10 minutos antes del análisis. El protocolo utilizado fue:

1. Adicionar 978 μl de solución de fosfatos de sodio en el tubo con la matriz de perlas que contiene el suelo.
2. Poner el tubo en el adaptador del vórtex durante 15 min.
3. Centrifugar 10 min a 14000 rpm.
4. Tomar el sobrenadante y transferir a tubo de 2 ml con cuidado de no llevarse el pellet ($\sim 800 \mu\text{l}$).
5. Adicionar 250 μl de PPS y mezclar por inversión 10 veces.
6. Centrifugar por 5 min. a 14 000 g.
7. Tomar sobrenadante y transferir a un tubo de 15 ml o de 2 ml.
8. Adicionar 1ml de matriz de unión (fijarse que este bien mezclada la solución) y mezclar por inversión 2 min.
9. Dejar reposar por 30 min o centrifugar 5 s. Remover el sobrenadante.

10. Adicionar 200µl de GTC y 800µl de agua MQ estéril. Mezclar para resuspender.
11. Centrifugar por 5 s.
12. Adicionar 500 µl de SWES a la matriz de unión y mezclar.
13. Transferir a los tubos con filtro.
14. Centrifugar por 1 min.
15. Sacar el filtro, decantar el líquido y poner el filtro de nuevo.
16. Centrifugar por dos min. con tubo de captura vacío.
17. Transferir el filtro a un tubo nuevo, dejar abierto 10 min para que se seque.
18. Adicionar 100 µl de amortiguador TE (pH 8.0) y mezclar.
19. Centrifugar 5 min. a 14000 g.
20. Realizar alícuotas en tubos estériles y almacenar a -80°C.

Se cuantificó el ADN con el uso de un NanoDrop 2000c/2000 UV-Vis Spectrophotometers (Thermo Fisher Scientific Inc.).

La integridad y cantidad ADN fue visualizado en geles de agarosa al 1% en amortiguador TBE 1X, la corrida de 70 minutos a 100V. El ADN fue teñido con SyBrGold para la visualización bajo luz UV.

6.4 Reacción en cadena de la polimerasa

Los iniciadores utilizados fueron el F984GC en combinación con R1378 que amplifican los fragmentos del 16S rDNA en las posiciones 969 al 1401bp con unión de una cola de GC para los análisis de DGGE (Heuer *et al.*, 1997).

La cantidad de ADN iniciador o templado fue de 15 ng para todas las reacciones de amplificación debido a que fue la cantidad estándar en que todas las muestras amplificaron. Esta cantidad de ADN templado utilizado en otras condiciones, presenta un alto rendimiento de amplificación (Lyautey *et al.*, 2005)

La cantidad de cada reactivo para cada reacción de amplificación se enlista en la Tabla I.

Tabla I. Concentración de reactivos para la reacción de PCR.

REACTIVO	CONCENTRACIÓN	VOLUMEN (μL)
Amortiguador de reacción		10
Go PROMEGA		
Desoxinucleótidos (dNTP)	10 mM	1
Oligonucleótido F984GC	5 μM	2
Oligonucleótido R1378	5 μM	2
Polimerasa Go taq	10 U	0.3
ADN templado	15 ng	1
Agua MQ		33.7

Se completó con agua grado miliQ estéril a volumen total de 50 μl.

El programa de temperaturas utilizado se muestra en Tabla II.

Tabla II. Programa utilizado para la reacción en cadena de la polimerasa.

TEMPERATURA	TIEMPO	ETAPA
95°C	5 min.	Desnaturalización inicial
94°C	1 min.	
55°C	1 min.	30 ciclos
72°C	30 seg.	
72°C	7 min.	Alargamiento final

Las reacciones de PCR se realizaron en el termociclador Eppendorf Master Cycler.

Los productos fueron visualizados en geles de agarosa al 1.5% en corridas de 70 minutos a 100 v. La tinción del ADN fue con SyBr Gold y visualización bajo luz UV.

6.5 Electroforesis en gel con gradiente desnaturizante (DGGE)

Se realizaron geles de poliacrilamida al 6% con un gradiente desnaturizante formado por los compuestos formamida y urea de 45% en la parte superior y se incrementa a 65% en la parte inferior del gel. Los geles polimerizaron 2 horas. Se colocaron peines de 25 pozos, en los cuales se depositaron 7-10 µl de muestra más 10 µl de amortiguador de carga conformado por una mezcla de azul de bromofenol y glicerol.

Los geles fueron teñidos durante 40 minutos en 200 ml Tris-Acetato-Bórico (TBE) 1X con 10 µl de colorante de ácidos nucleicos SYBR Green (molecular Probes, PoortGebouw, The Netherlands) y fotografiado en un transiluminador bajo luz UV (Gel Doc XR). Se realizaron 4 réplicas del gel.

Los perfiles de bandas obtenidos de los geles fueron analizados para la similitud usando el coeficiente DICE. Se realizó un dendograma UPGMA para relacionar la estructura de la comunidad bacteriana de las diferentes islas. Adicionalmente, las similitudes entre los perfiles de DGGE fueron analizadas usando un escalamiento no-métrico multidimensional (NMDS) usando el software Statistica 8.0 (StatSoft, Tulsa, OK).

La riqueza bacteriana considera cada banda como una unidad taxonómica operacional (OTU, en inglés) (Kisand y Wikner, 2003). La información de la banda es obtenida del Reporte del Tipo de Banda del software de imagen del Quantity One 4.6.7 (Bio-Rad Laboratories) que provee el número de bandas detectadas en los geles. La diversidad bacteriana se calculó analizando la intensidad relativa de cada pico de banda con el índice de diversidad Shannon (H'), calculado usando la fórmula $H' = -\sum P_i \log_{10} P_i$, donde $P = n_i/N$, donde n_i es la intensidad de un pico y N es la suma de las intensidades de todos los picos de las bandas de ese carril (Iwamoto *et al.*, 2000). Este cálculo se hizo en Excel 2013.

6.6 Perfil fisiológico de las comunidades bacterianas

Para obtener los perfiles fisiológicos de las diferentes islas de recursos de mezquite se utilizaron las ecomicroplacas BIOLOG Ecoplate™ (Haywood, CA, USA). Los sustratos de las microplacas ECO son seleccionados especialmente

para investigación ecológica. Las placas contienen 31 sustratos (un pozo como control sin sustrato) en 3 réplicas. De los 31 sustratos, nueve son conocidos como componentes de exudados de las raíces de las plantas. El fundamento de la reacción es que cuando se inocula con bacterias se lleva a cabo la producción de NADH por la respiración y se reduce el tetrazolio a formazán, resultando en un cambio de coloración que puede ser detectado fotométricamente (Weber y Legge, 2010).

Se recolectaron muestras compuestas de alrededor de 100 g de suelo tomadas de 4 sitios a 1 metro del tronco. La temperatura del suelo fue de 35°C al momento de la muestra. Al llegar al laboratorio se pesaron 3 g de suelo y agregaron 7 ml de solución salina estéril (Kaplan *et al.*, 2013). Las muestras se colocaron en tubos Corning de 50 ml estériles y se dejaron en agitación a 230 rpm durante 1 hora. Después se dejaron reposar durante 1 hora (Hitzl, et al. 1997). Se tomaron 2 ml de sobrenadante y se transfirieron a un tubo con 18 ml de solución salina (0.85% NaCl) estéril. De esta dilución se tomaron 100 µl, que se sembraron por dispersión en una placa de Agar Soya Trypticaseína (TSA) y se incubaron a 35 °C durante 24h. Transcurrido este tiempo se hizo la cuenta viable de microorganismos y se calculó la dilución necesaria para tener alrededor de 1×10^3 UFC/ml. Se realizó el mismo procedimiento de obtención de suspensión de suelo para depositar en una placa en cada pozo 150 µl de la suspensión en la ecoplaca de 96 pozos BIOLOG excepto en el control negativo que se utilizó suspensión de suelo estéril. El suelo estéril se obtuvo de series de esterilización por autoclave y calor seco a 120°C e incubaciones a 35°C en 4 repeticiones de ciclo. El rango de concentración de inóculo fue de 3.0×10^3 - 5.7×10^4 UFC/ml. Se tomó la lectura espectrofotométrica usando el lector de placas a $\lambda=590$ nm (Weber y Legge, 2010). Se incubaron a 35°C. Se tomaron las lecturas de absorbancia a cada 24 horas durante 5 días. Debido a que la tapa de la microplaca se llena de agua de condensación, se colocaron en la campana de flujo laminar antes de tomar la lectura para que se enfriaran.

Los datos fueron normalizados y posteriormente analizados utilizando el análisis multivariado de componentes principales (PCA, en inglés) con el programa MVSP versión 3.22. (Weber y Legge, 2010; Hitzl, et al. 1997)

Se seleccionó un tiempo específico relacionado con un valor de referencia promedio del desarrollo del color del pozo (AWCD) específico. $AWCD = 0.25 - 1.0$. Este AWCD se calcula:

$$AWCD = \Sigma(C-r)/n$$

Donde:

C= la producción del color de cada pozo (medida de la densidad óptica)

r= es el valor de absorbancia del control de la placa

n= es el número de sustratos (31)

En esta investigación, se quiso conocer adicionalmente la naturaleza de las bacterias son las que se recuperan de los pozos de las placas BIOLOG, ya que en un estudio del suelo rizosférico en el desierto de Negev se encontró recuperación de únicamente un género bacteriano (Kaplan *et al.*, 2013). Con esa finalidad se eligieron tres islas R1, R8 y R18 que representan baja, media y alta diversidad de plantas en las islas de recursos. De las cuales se realizó la extracción de ADN del cultivo resultante de las tres réplicas de pozos que contienen las fuentes de carbono C3, C16, C17, C22 y C23 el procedimiento que se siguió fue el siguiente:

1. Colocar el volumen de los tres pozos de la misma fuente de carbono en un tubo de 1.5 ml (aprox. 450 μ l)
2. Centrifugar a 14000 g por 2 minutos para empaquetar las células. Remover el sobrenadante.
3. Resuspender las células con 480 μ l de EDTA 50mM.
4. Añadir 120 μ l de lisozima y mezclar gentilmente.
5. Se incubó la muestra a 37°C por 30 min.
6. Centrifugar por 2 min. A 14000 g y remover el sobrenadante.
7. Añadir 600 μ l de *Nuclei Lysis Solution*. Pipetear gentilmente hasta que las células estén resuspendidas.
8. Incubar a 80°C por 5 min. Para lisar las células. Después enfriar a temperatura ambiente.

9. Añadir 3 µl de solución de RNAsa al lisado celular. Invertir el tubo 2-5 veces para mezclar.
10. Incubar a 37°C por 30 min. Enfriar la muestra a temperatura ambiente.
11. Añadir 200 µl de *Protein Precipitation Solution* al lisado tratado con RNAsa. Usar vórtex vigorosamente por 20 segundos para mezclar las soluciones. Incubar la muestra en hielo o en el refrigerador 15 min.
12. Centrifugar a 14000 g por 3 minutos.
13. Transferir el sobrenadante conteniendo el ADN a un tubo limpio conteniendo 600 µl de isopropanol a temperatura ambiente.
14. Mezclar gentilmente por inversión hasta que las hebras de ADN se hagan masa visible.
15. Centrifugar 14 000 g por 2 minutos.
16. Decantar sobrenadante y drenar el tubo en papel absorbente. Adición de etanol 70% TA invertir el tubo varias veces para lavar el pellet.
17. Centrifugar a 14000 g por 2 minutos. Cuidadosamente retirar el etanol.
18. Drenar el tubo en un papel absorbente y dejar secar el pellet en la campana por 10-15 minutos.
19. Añadir 100 µl de solución rehidratante de ADN y poner en incubación a 65°C por 1 hora.
20. Mantener el ADN 2-8°C.

Se cuantificó el ADN con el uso del Nanodrop 2000c/2000 UV-Vis Spectrophotometers (Thermo Fisher Scientific Inc.).

La amplificación del fragmento 16S se realizó como lo especificado en la sección 6.3 y la electroforesis de gradiente desnaturizante como en la sección 6.4.

A partir de las bandas resultantes se seleccionaron algunas bandas representativas, es decir aquellas que se presentaban en todas las fuentes de carbono de los tres tipos de islas o que su presencia se limitaba a un tipo de

isla. El corte de bandas a partir del gel DGGE se realizó utilizando una navaja estéril bajo la luz UV. Las bandas cortadas fueron eluidas en 40 µl de agua miliQ y se conservaron a 4°C durante mínimo 8 horas. Pasado este tiempo, se colocaron los tubos de elución a 37°C por 15 minutos. Se centrifugaron 30 s a 3000 g para separar residuos de gel. A partir del sobrenadante se tomaron 2 µl y se usaron como DNA templado para la reacción de PCR como lo especificado en la sección 6.3 y se corrió un gel DGGE como lo descrito en la sección 6.4. Dependiendo de si las bandas estaban puras y si al compararlas con una escalera comercial correspondían al frente de banda se prosiguió a realizar una re-amplificación de producto de PCR únicamente modificando el iniciador 984F sin la cola de GC y las mismas condiciones de PCR inicial. El producto fue purificado utilizando el kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega) y fue sometido a secuenciación de las dos hebras resultantes (Genewiz, South Plainfield, NJ) usando los mismos iniciadores.

Las secuencias fueron revisadas y analizadas en el programa BioEdit y la base de datos Gen Bank para la asignación de identidad. Se construyó un árbol filogenético con el algoritmo Neighbor-Joining con el programa MEGA6.

7. RESULTADOS

7.1 Muestreo

Se muestrearon aleatoriamente un total de 18 suelos de islas de recursos (IR) formadas bajo el dosel del mezquite amargo *Prosopis articulata* en el área del Comitán en el mes de noviembre 2013. Ese año se presentaron lluvias intensas esporádicas de julio-noviembre en todo el estado, con un total de precipitación anual de 229 mm. (CONAGUA, 2014).

El área de estudio se encuentra en la Estación Biológica del CIBNOR, cerca de la Ensenada de la Paz como se muestra en la Figura 4.

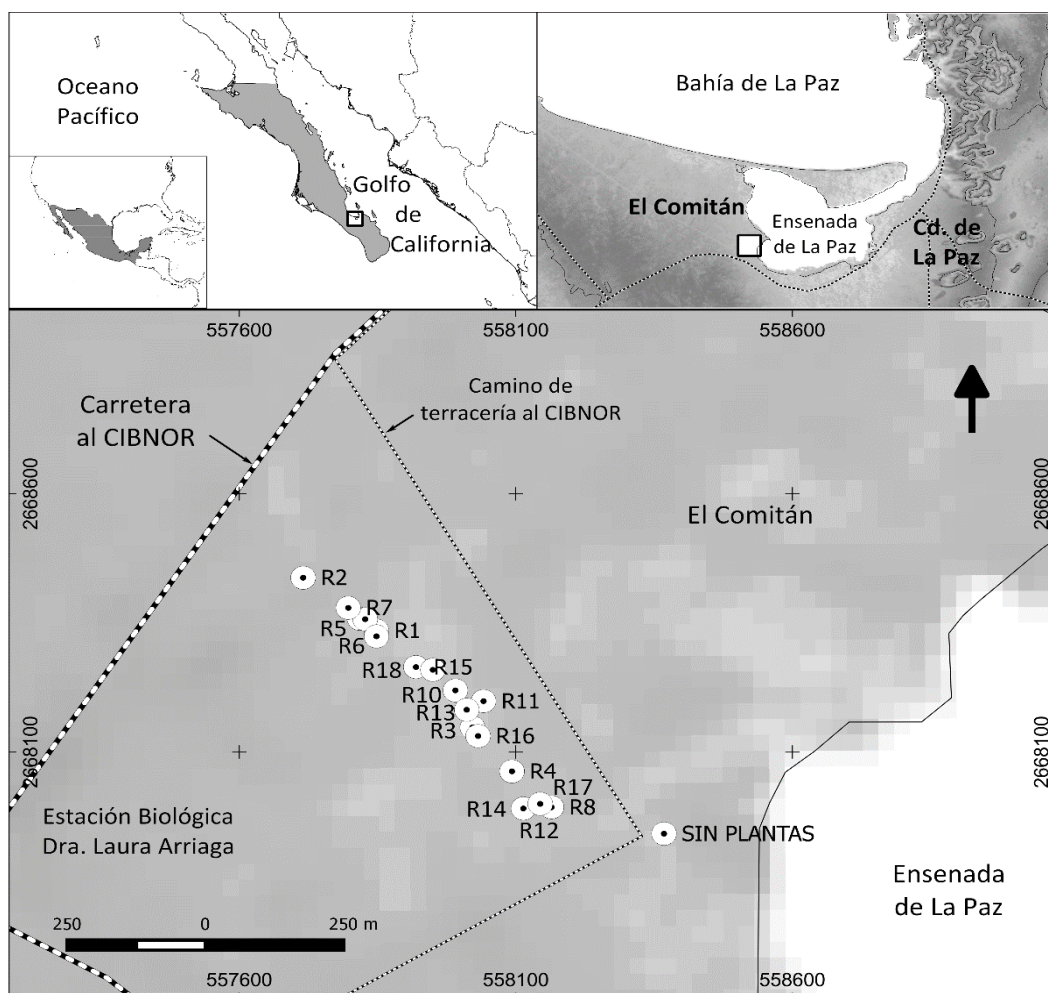


Figura 4. Localización geográfica de las islas de recursos en el Comitán, La Paz BCS.

El tamaño de los mezquites muestreados fue heterogéneo. A todos los mezquites se les midió su diámetro en la base de tronco y a 50 cm. como se muestra en la Tabla III. Teniendo como antecedente que los árboles maduros de mezquite que pueden formar islas de recursos tienen un diámetro mayor a 20 cm. (Carrillo-Garcia *et al.*, 1999), se obtuvieron que todos los arboles muestreados fueron maduros formadores de isla de recursos excepto el correspondiente a R1 que coincidió ser la IR con menor diversidad de plantas dependientes de nodricismo.

Tabla III. Área total de la isla de recurso y diámetro del tronco.

Sitio	Área de la isla de recursos (m²)	Diámetro de la base del tronco (collar de raíz) (cm)	Diámetro del tronco a 50 cm del suelo (cm)
R1	10.41	16.87	16.87
R2	15.90	19.10	31.19
R3	9.30	23.87	23.87
R4	18.09	39.79	32.47
R5	7.07	38.52	22.28
R6	5.18	22.28	13.37
R7	8.95	21.65	11.46
R8	29.47	35.01	38.20
R9	17.28	34.38	15.92
R10	40.31	77.35	53.48
R11	5.28	21.65	14.96
R12	21.65	28.97	35.01
R13	23.17	56.02	40.43
R14	27.89	49.34	34.38
R15	27.33	87.54	63.66
R16	7.70	22.28	25.46
R17	29.81	36.29	39.79
R18	17.34	58.25	60.48

La correlación entre el diámetro del tronco del mezquite y la isla de recursos es significativa, con una correlación de Pearson con $r = 0.71$ ($p = 0.001$, $N = 18$).

También se correlacionó la riqueza vegetal con área de la isla ($r = 0.5143$, $p = 0.029$, $N = 18$) la cual fue significativa pero no así con la diversidad de plantas ($r = 0.3195$, $p = 0.196$, $N = 18$).

Para la diversidad vegetal se utilizó el índice de Shannon, en el cual refleja la heterogeneidad de una comunidad sobre la base de dos factores: el número de especies presentes y su abundancia relativa. Las IR se enumeraron de acuerdo a este índice como se muestra en la Tabla V. También se presenta la riqueza de especies de plantas.

Tabla V. Riqueza y diversidad de plantas en las islas de recursos.

Isla de recurso	Índice de diversidad Shannon-Wiener (H')	Riqueza de plantas
R1	0.6931	2
R2	0.965	4
R3	1.014	5
R4	1.055	4
R5	1.055	3
R6	1.099	3
R7	1.099	3
R8	1.169	4
R9	1.169	3
R10	1.187	5
R11	1.311	4
R12	1.311	4
R13	1.336	7
R14	1.463	7
R15	1.638	8
R16	1.677	5
R17	2	9
R18	2.046	9

También se correlacionó la riqueza vegetal con área de la isla ($r = 0.5143$, $p = 0.029$, $N = 18$) la cual fue significativa pero no así con la diversidad de plantas ($r = 0.3195$, $p = 0.196$, $N = 18$).

7.2 Características fisicoquímicas del suelo

Los valores obtenidos de los parámetros fisicoquímicos se encuentran en la tabla Anexo I se encuentran estos valores. La distribución de las islas de recursos con respecto a estas variables se pueden observar en un análisis de Componentes Principales (Figura 5), la numeración de las islas de recursos está en número ascendente de acuerdo a la diversidad vegetal. El orden de los factores según su contribución a la varianza del Componente Principal 1 son: conductividad eléctrica (0.49), materia orgánica (0.47), porcentaje de arena (-0.44), nitrógeno en nitratos (0.37), nitrógeno en amonio (0.31), porcentaje de arcilla (0.30) y fósforo soluble (0.10). Se puede observar que el suelo sin planta se encuentra más alejado de las variables relacionadas con la presencia de plantas y más cercano a la variable de textura arena. Hay una ligera tendencia de las islas de menor diversidad (R6, R7, R1, R4) a estar más relacionadas con un suelo arenoso y alejarse de las variables de nutrientes. Hay tres islas que se alejan de manera evidente del centro de la gráfica, una es la R17 que está relacionada más con el amonio y materia orgánica. Las islas R10 y R8 se relacionaron positivamente con los nitratos. Lo que tienen en común estas tres islas es que las áreas de superficie de la isla de recursos son valores altos R17 (29.8 m²), R10 (40.31 m²) y R8 (29.47 m²).

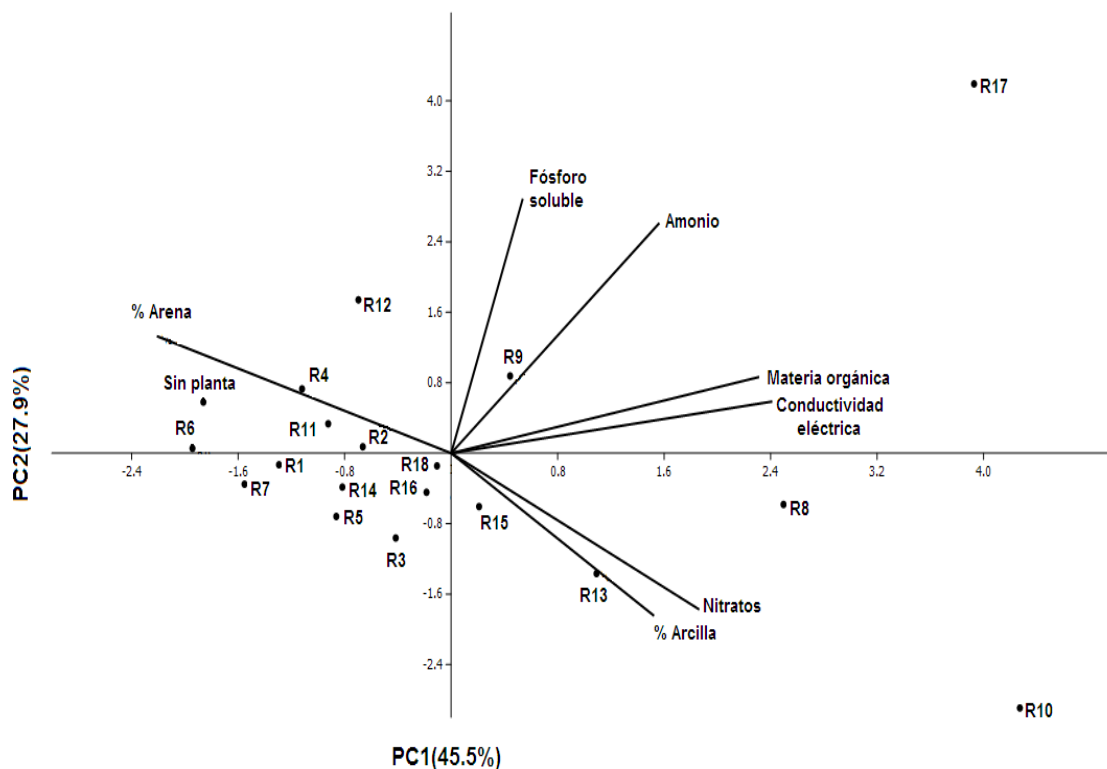


Figura 5. Ordenación por Componentes Principales de las islas de recursos respecto a las variables fisicoquímicas del suelo.

Se realizó una correlación de Pearson entre la diversidad y la riqueza de plantas con respecto a los parámetros fisicoquímicos medidos y con la riqueza de especies. Las variables que resultaron significativamente correlacionadas fueron con respecto a la riqueza de plantas, la conductividad eléctrica ($p=0.035$) y materia orgánica ($p=0.012$), y con la diversidad fue únicamente pero altamente correlacionada la materia orgánica ($p=0.004$).

Existe una correlación significativa entre el área de las IR y todas las variables fisicoquímicas excepto el fósforo soluble. Con respecto al diámetro del tronco a nivel de la raíz se correlacionaron únicamente con la riqueza vegetal y el porcentaje de arcilla.

7.3 Estructura y diversidad bacteriana

Como se muestra en la Figura 6, la estructura y diversidad bacteriana fueron obtenidas mediante una técnica de gel en gradiente desnaturalizante.

Las islas de recursos muestran un patrón similar entre ellas al analizar la presencia/ausencia de bandas que corresponden a las Unidades Taxonómicas Operacionales (OTU, siglas en inglés) como se puede observar el gel muestra (figura 6A) donde el suelo sin planta muestra un patrón diferente con bandas menos intensas en la mitad del gradiente.

Los cambios aparentes en el patrón de bandas entre los grupos de islas fueron evidenciados en el análisis de similitud usando el coeficiente Dice. En el dendograma resultante (Figura 6B), el patrón de bandas entre los distintos geles (4 réplicas) indica que las comunidades bacterianas son similares en un 85% y el suelo sin plantas forma otra rama diferente. La única isla que difiere en 3% entre el grupo de IR es la R17. En el escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) (Figura 6C), también se observa la agrupación de las IR y la separación del suelo desnudo.

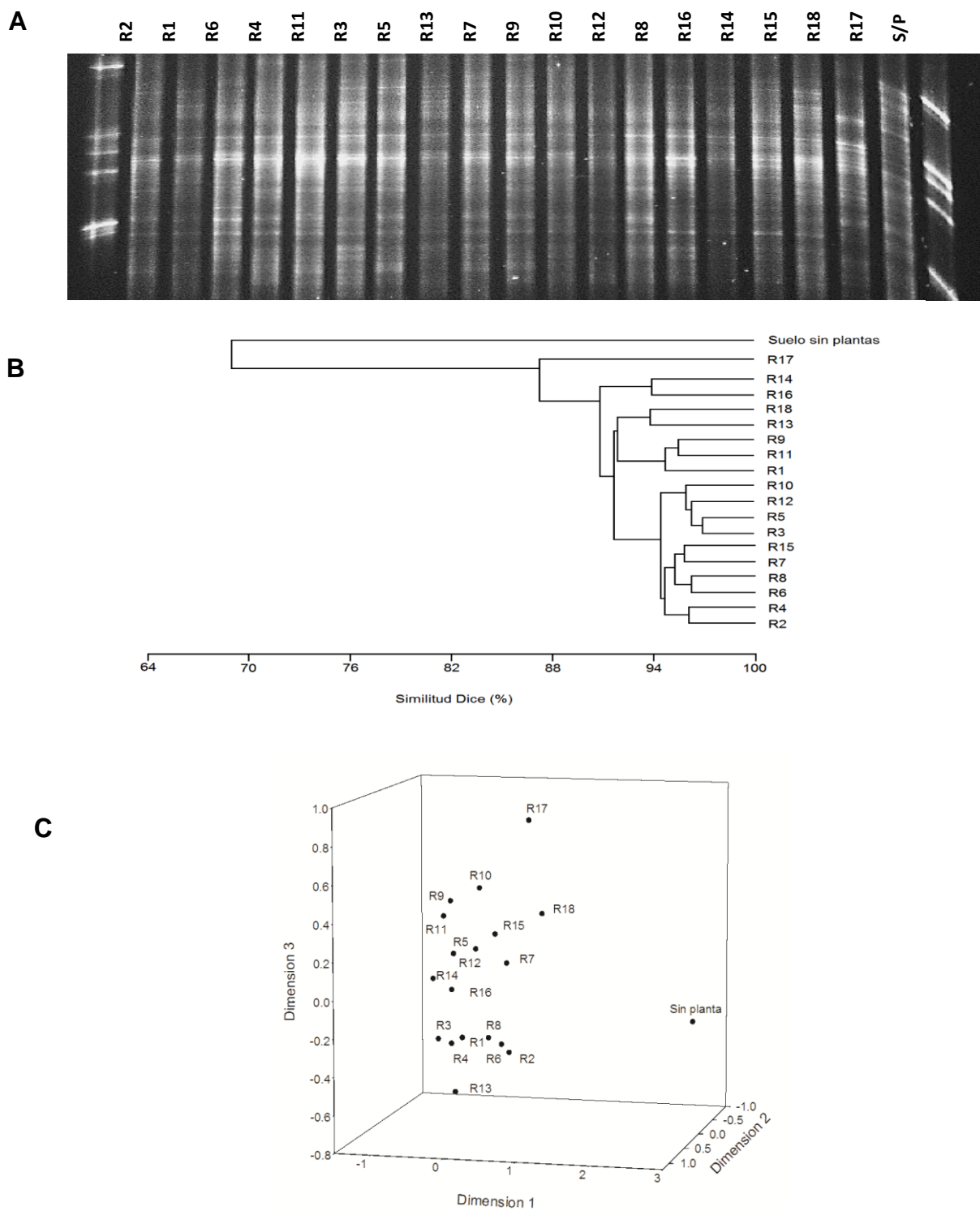


Figura 6. Comparación de la estructura de la comunidad del suelo de diferentes islas de recursos. A. DGGE de las islas de recursos y el suelo sin plantas, en los extremos la escalera de referencia. B. Dendrograma UPGMA de agrupación por coeficiente Dice. C. Configuración 3D NMDS de las bandas. La nomenclatura de las islas es numerada ascendentemente a la diversidad de plantas de las islas de recursos.

La correlación entre la diversidad de los OTUs (=diversidad bacteriana) y la diversidad y la riqueza de plantas no fue significativa. Es de notar que la diversidad bacteriana del suelo sin planta presenta un índice mayor de diversidad ($H' = 1.02$) que el promedio de diversidad de las IR (H' media = 0.92) por la carente dominancia de algún OTU a comparación de las islas, por lo que al calcular el índice de Shannon la homogeneidad de los OTUs da mayor valor a este suelo.

Se determinó también la correlación entre la riqueza de OTUs tanto con la diversidad de plantas, como con la riqueza de plantas; en ningún caso se obtuvo una correlación significativa. En la Tabla VI se muestran en resumen las correlaciones realizadas.

Tabla VI. Correlaciones de Pearson de las riquezas y diversidades bacterianas y de plantas. (N=19).

	Riqueza bacteriana (No. de OTUs)	Diversidad bacteriana (Índice de Shannon H')
Riqueza Vegetal (no. de especies)	0.056	0.126
Diversidad vegetal (Índice de Shannon H')	0.126	0.217

Con respecto a los factores fisicoquímicos, también se realizaron análisis de correlación con todas las variables contra la riqueza y diversidad bacteriana y no se encontró ninguna correlación significativa.

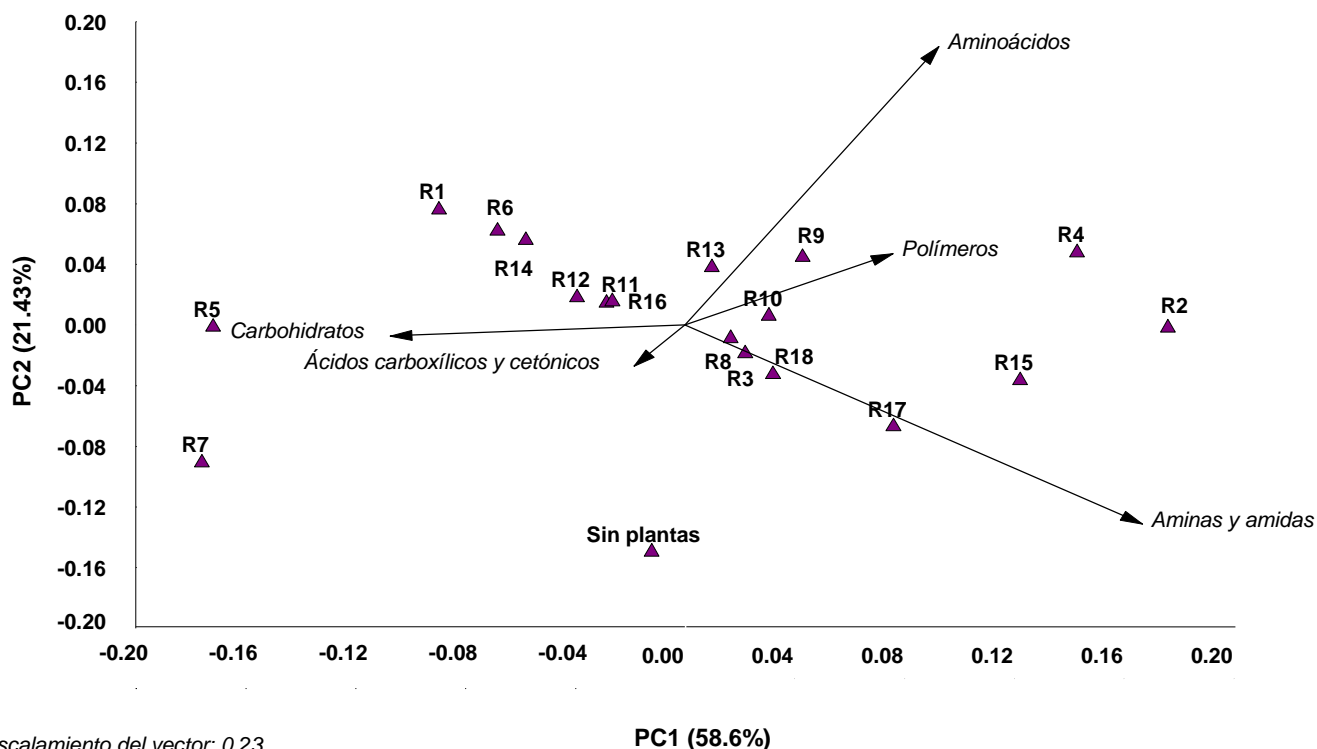
7.4 Perfil fisiológico de la comunidad bacteriana del suelo

Las lecturas absorbancia de las ecoplacas BIOLOG fueron tomadas cada 24 hasta un tiempo total de 116 horas que fue en tiempo donde se presentaban valores de absorbancia mayores a 2. Con estos datos de absorbancia se calculó el promedio de desarrollo de color (AWCD, siglas en inglés) y se determinó que a las 116 horas se presentaba la mayor cantidad de muestras en el rango de 0.25-1 recomendado para ser posteriormente analizadas

(Garland, 1996). Posteriormente los datos fueron normalizados para evitar variaciones por cantidad de inóculo (Garland, 1997).

La proporción relativa de fuentes de carbono en las que se registró crecimiento bacteriano (medido por el desarrollo de color) fue correlacionado significativamente con la diversidad de plantas ($r= 0.608$, $N=19$, $p= 0.008$) y con la riqueza de plantas ($r=0.658$, $N=19$, $p=0.002$). En general, se observa una tendencia a que las islas de recursos con mayor diversidad de plantas a utilizar mayor porcentaje de las 31 fuentes de carbono.

Con respecto a la naturaleza de las fuentes de carbono, se realizó un análisis multivariado (Figura 7) para determinar si hay alguna tendencia en la utilización de las fuentes de carbono agrupadas por su naturaleza en 1) **carbohidratos** (D-celobiosa, α -D-lactosa, β -metil-D-glucósido, D-xilosa, L-Eritriol, D-manitol, N-acetil-D-glucosamina, glucosa-1-fosfato, D,L- α - glicerol fosfato, metil-ester-ácido pirúvico). 2) **amidas y aminos** (feniletíl-amina y putrescina). 3) **ácidos carboxílicos y cetónicos** (ácido glucosamínico, Ácido galactónico γ -lactona, Acido D-galacturonico, Ácido 2-hidroxibenzoico, ácido γ -hidroxibutirico, ácido itaconico, ácido α -cetobutirico, ácido málico). 4) **polímeros** (Tween 40, Tween 80, α -ciclodextrina, glicógeno). 5) **aminoácidos** (L-arginina, L-asparagina, L-fenilalanina, L-serina, L-treonina, ácido glicil-L-glutámico) (Figura 7). Se puede observar que en el centro se agrupan las islas, cuya comunidad bacteriana cultivable no tiene preferencia por cierto tipo de fuente de carbono, es decir, que utilizan equitativamente. Las islas de recursos R6, R5, R7, R14 y R1 coinciden en ser las islas con menor materia orgánica (0.46-1.4%) y son las que se dispersan del centro hacia la variable carbohidratos. R4, R2 y R15 son islas con cantidad de materia orgánica intermedia (1.48-2.18%) y se dispersan hacia el lado de las aminos y amidas. El suelo sin planta se separó de todas las IR.



Escalamiento del vector: 0.23

Figura 7. Análisis de componentes principales de la utilización de las fuentes de carbono agrupadas por naturaleza de las islas de recursos y suelo sin planta.

El promedio de desarrollo de color a las 116 horas que se tomó de cada placa nos indica que tan metabólicamente activa es una comunidad bacteriana para degradar las fuentes de carbono. Cuando se correlacionó con la diversidad de plantas tuvo una alta significancia de ($r= 0.675$, $N=19$, $p=0.002$), al igual que la correlación con la riqueza de plantas ($r= 0.706$, $N=19$, $p=0.001$).

La diversidad de sustratos (H') también se pudo calcular con los valores de pozos con crecimiento y la intensidad de color. Al correlacionarlos con la diversidad de plantas es una correlación positiva ($r=0.557$, $N=19$, $p= 0.013$), al igual con la riqueza de especies de plantas ($r= 0.576$, $N=19$, $p=0.010$). Con estos datos se puede afirmar que no sólo hay una mayor actividad metabólica de la comunidad de bacterias heterótrofas sino que también que utilizaron mayor diversidad de fuentes de carbono mientras se incrementaba el número de especies y la diversidad de plantas.

Los datos fisicoquímicos se correlacionaron con el AWCD a las 116hrs, resultando la Tabla VII. Las variables altamente correlacionadas son materia orgánica y conductividad eléctrica que también fueron las que se relacionan con diversidad de plantas.

Tabla VII. Correlación de la actividad metabólica con las características del suelo (N=19).

Parámetro fisicoquímico	r	Valor p
Conductividad eléctrica	0.5745	0.010
Materia orgánica	0.8054	0.001
Fósforo soluble	0.1978	0.417
Nitrógeno en nitratos	0.2966	0.218
Nitrógeno en amonio	0.4318	0.065
% arcilla	0.4045	0.086
% arena	-0.5265	0.021
% limo	0.5222	0.022

Al correlacionar la diversidad fisiológica contra los parámetros fisicoquímicos, el único que presenta correlación significativa es materia orgánica ($p=0.025$), lo que indica que entre mayor materia orgánica hay en el suelo, los microorganismos degradan mayor diversidad de fuentes de carbono.

Por último se seleccionaron las placas representativas de las islas R1 (baja diversidad vegetal), R8 (diversidad media de plantas) y R18 (diversidad alta de plantas) y de estas se tomaron el cultivo de los pozos de 5 diferentes fuentes de carbono que fueran de crecimiento variable entre las islas y con importancia en el metabolismo bacteriano, estos fueron arginina (aminoácido), N-acetil glucosamina (Carbohidrato), ácido glutámico (aminoácido), ácido itacónico (ácido carboxílico), ciclodextrina (polímero). La identidad de las bacterias recuperadas se ilustra en la Figura 8. Cabe recalcar, que las identidades de las cepas son similares a las cepas reportadas con el GenBank con las que se construyó el árbol, pero para estas cepas se requiere una identificación taxonómica que conlleva más estudios.

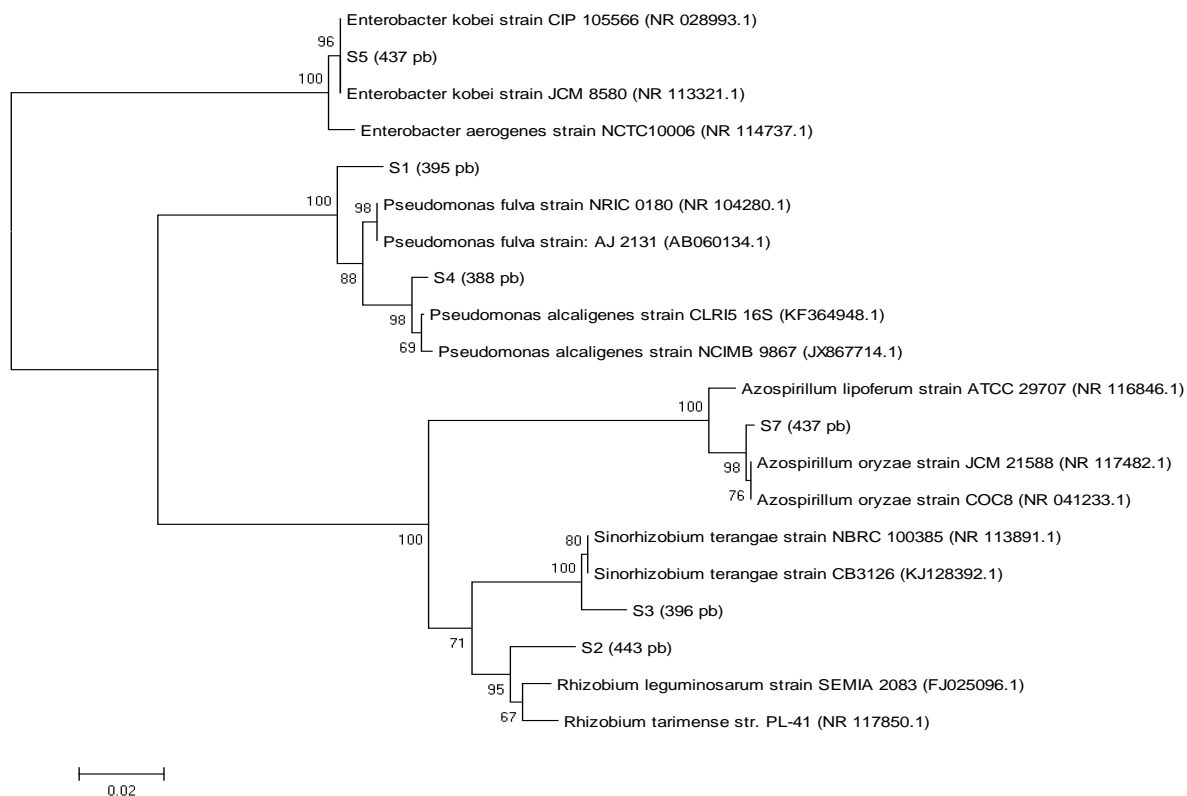


Figura 8. Relación filogenética de los grupos bacterianos representativos (identificados con la letra S) después del uso de ecoplacas BIOLOG usando el método de Neighbor-Joining. Se muestra el árbol óptimo con la suma de la longitud de ramas 0.44. El porcentaje de árboles replicados en los cuales los taxa son agrupados juntos en la prueba bootstrap (1000 replicados) esta mostrado junto a las ramas. El análisis involucro 20 secuencias de nucleótidos. Los análisis fueron conducidos en MEGA 6. Se analizó la ausencia de quimeras usando el programa DECIPHER.

Las bacterias recuperadas se encontraron en diferente proporción en cada isla. En la tabla VIII se muestra el número de pozos en diferentes fuentes de carbono donde se obtuvo la bacteria. En general todas las bacterias se encontraron en los tres tipos de IR, excepto *Azospirillum* y *Enterobacter* que se encontró en diversidad vegetal media (M) y diversidad vegetal alta (A). Lo que sugiere es que la comunidad bacteriana tiene una estructura similar de bacterias cultivables heterótrofas y que aun teniendo la presencia de una bacteria, ésta no se ve representada en todas las fuentes de carbono.

Tabla VIII. Relación entre los grupos bacterianos recuperados y la clasificación de los suelos de las islas de los que fueron obtenidos. B = R1 (baja diversidad), M= Media diversidad, A= alta diversidad.

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género	B	M	A
Proteobacteria	α-Proteobacteria	Rhizobiales	Rhizobaceae	<i>Rhizobium</i>	4	5	2
				<i>Sinorhizobium</i>	4	1	1
		Rhodospirales	Rhodospirillaceae	<i>Azospirillum</i>	0	2	1
	γ-Proteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	3	5	8
		Enterobacteriales	Enterobacteraceae	<i>Enterobacter</i>	0	1	5

8. DISCUSIÓN

Las islas de fertilidad bajo el dosel de mezquite amargo (*Prosopis articulata*) son dominantes en el matorral sarcocaulé del Comitán, BCS., junto con islas de otras plantas como palo fierro (*Olneya tesota*). Con respecto a la frecuencia de familias en las islas de fertilidad de la zona estudiada, las cactáceas son la familia mejor representada, como plantas que viven en los montículos de recursos y bajo el dosel del mezquite (Carrillo-García *et al.*, 1999; Velderrain-Algara *et al.*, 2010).

Unas de las medidas que se tomaron en campo fue el área de la isla, el diámetro en la base del tronco y a nivel de 50 cm de suelo, donde se observa que solo R1 tiene un diámetro menor a 20 cm así que se considera como este el único mezquite joven formador de isla de recurso (Tabla III) (Carrillo-García *et al.*, 1999).

El área de la isla estuvo correlacionado con la riqueza vegetal que crece sobre el suelo con influencia del mezquite, pero no así con la diversidad de plantas. Esto puede deberse a que el índice de Shannon (H') incorpora en un solo valor a la riqueza específica y a la equitatividad, en algunos casos un valor dado de un índice de diversidad puede obtenerse de una comunidad con baja riqueza y alta equitatividad como de una comunidad con alta riqueza y baja equitatividad (Pla L., 2006). Por esta razón, ya que el índice de Shannon refleja el estado de heterogeneidad de la comunidad por lo que puede encubrir a la abundancia de plantas, y con la riqueza es una medida más directa de la composición vegetal. Por lo que en las correlaciones se tomaron en cuenta diversidad y riqueza de especies.

En los parámetros fisicoquímicos, el porcentaje de variación acumulado en los Componentes Principales 1 y 2 fue de 73.5% (Figura 5). Las variables que mayor explican la varianza del Componente Principal 1 son la conductividad eléctrica y materia orgánica.

La textura, que aunque no resultó ser un parámetro significativamente relacionado con el incremento en diversidad o riqueza de plantas, muestra una relación con respecto a la localización de las islas en el PCA (Figura 5), donde

se ve que si las islas tienen más porcentaje de arena se alejan de ejes de los nutrientes. La alta proporción de arena (59-90%) es similar a lo anteriormente reportado en suelos cercanos de esta zona árida, pero difiere en la proporción de arcilla con lo anteriormente reportado como suelo debajo del dosel de un mezquite maduro donde una proporción de 22.5% de arcilla, 14.4% de limo y 63.1% arena. En el caso del área desnuda sin plantas los valores son muy similares a los ya reportados. En el caso del área sin plantas es muy similar arcilla 7.7%, limo 8.0% y arena 84.3% (Carrillo-García *et al.*, 1999). Los suelos arenosos tienen un alto nivel de volumen disponible de aireación y de agua pero también tienen una infiltración y evaporación de agua, resultando en cambios rápidos de humedad de suelo y suelo aireado (Buscot y Varma, 2010) y esto se relaciona a que estos suelos no presentaron humedad ya que la precipitación pluvial es muy escasa y poca retención.

Se ha propuesto que las plantas subordinadas o que viven en las islas de recursos de la zona de estudio están de forma aleatoria u oportunista de los nutrientes facilitados por la planta nodriza (Velderrain-Algara *et al.*, 2010). En la figura del Anexo II se hizo una ordenación de Correspondencia Canónica para determinar si existe alguna relación entre la composición vegetal de las IR (Islas de Recurso) con las características fisicoquímicas del suelo. Por no ser parte esencial de algún objetivo del presente trabajo no se profundizó en ésta, lo más relevante de este análisis es que algunas familias de plantas pueden explicar algunas características de las islas, pero en general no hay una relación.

La única especie representante de la Familia Acanthaceae es el chamizo cenizo (*Ruellia californica* subsp. *peninsularis*). Este es un arbusto que se presenta después de las lluvias de verano o invernales, su arborescencia es útil para la retención de suelo (León de la Luz *et al.*, 2014). Al parecer, estos arbustos se agrupan ya que fueron abundantes en algunas islas (R10, R15, R18) y el desprendimiento de las hojas de este arbusto probablemente contribuyó al contenido de materia orgánica ya que tuvieron valores altos a comparación de las otras islas

Aunque ningún suelo resultó ser salino según los parámetros de la NOM-021--2000, una familia de plantas que estuvo relacionada con el eje de la conductividad eléctrica es Chenopodiaceae cuyo representante es el “chamizo” *Atriplex canescens*. Este es un arbusto perenne que es usual encontrarlo en planicies áridas, lechos de arroyos y colinas con suelos salinos y alcalinos (León de la Luz, 2014). Su capacidad de la acumulación de iones como Na y K en condiciones de baja humedad y alta salinidad es posible que sea un factor de que se haya encontrado en mayor cantidad en las islas R8 y R14 que se ubicaron en la zona de inicio de arroyo y presentaron menor densidad de plantas, por lo que probablemente el suelo tenía mayor cantidad de estos elementos y solo plantas de este tipo lo toleran con mayor eficiencia, además de que también presentaron un suelo ligeramente alcalino ambas islas (Glenn *et al.*, 1996). Aunado a esto, estas dos islas, sobretodo R8, no se encuentran tan alejadas de la variable de materia orgánica, por lo que se puede suponer que las múltiples hojas desprendidas de este arbusto aportan nutrientes al suelo.

Con respecto al fósforo, las formas solubles fueron variables en las islas de recursos, no presentando una correlación con la diversidad vegetal, ni con la diversidad bacteriana ni metabólica. Las islas de recursos se localizaron preferentemente del lado opuesto a la presencia de fósforo soluble en la Figura 5, pero según la Norma NOM-021-RECNAT-2000 estos suelos están entre valores medios (5.5-11 mg/kg) a altos (>11 mg/kg) por lo que no es un factor limitante del crecimiento vegetal en esta zona aparentemente.

La materia orgánica que resultó ser la única variable correlacionada con la diversidad de plantas en las islas de recursos y por otro lado, la conductividad eléctrica y la materia orgánica estuvieron relacionadas con la riqueza vegetal. Los valores de referencia para este suelo no volcánico están entre bajo y medio según la normatividad mexicana y es similar a otros suelos desérticos o áridos (Bachar, 2012; Schade y Hobbie, 2003). El origen de la materia orgánica en la mayoría de los suelos proviene primariamente de los desechos de plantas (Buscot y Varma, 2010), entonces en las IR con mayor diversidad y riqueza de planta presentan mayor probabilidad de que se tengan plantas con hojas

caducifolias que tengan un aporte vegetal considerable al suelo. Además que las raíces también por los exudados aportan compuestos orgánicos al suelo.

Una sugerencia para la reforestación de suelos áridos es sembrar mezquites y colocar bajo el dosel arbustos como *Atriplex canescens* que, además de ser resistente a salinidad, aporta más materia orgánica a la isla mejorando las condiciones de fertilidad.

La conductividad eléctrica que es la medida indirecta del contenido de sales solubles, además de la materia orgánica, fue la variable que está significativamente correlacionada con la riqueza de plantas, esto puede ser resultado de la degradación de hojarasca acumulada (Rostagno *et al.*, 1991).

De esta manera, se puede concluir que la composición de plantas modifica el suelo de manera positiva principalmente aportando materia orgánica.

La estructura y diversidad bacteriana fue obtenida por los patrones de bandas resultantes de la técnica DGGE. Las ventajas de esta técnica de “huella digital” es que nos permitió comparar la estructura y diversidad de la comunidad de las poblaciones dominantes de las bacterias cultivables y no cultivables presentes en el suelo de las islas de recursos y el suelo sin planta, de una manera rápida y relativamente económica, además de que es un buen indicador *a priori* de una pirosecuenciación, para la exploración de la variación composicional entre las muestras y se obtienen resultados correspondientes (Cleary *et al.*, 2012).

En la estructura de la comunidad bacteriana se observa una clara diferencia entre el suelo influido por el mezquite y plantas subordinadas y el suelo desnudo. Eso hace suponer que se cumple con la hipótesis de la isla de fertilidad que predice que los recursos del suelo como el nitrógeno, fósforo y agua en las zonas áridas están distribuidos de manera enfocada alrededor de plantas y que el número de microorganismos estará concentrado en donde la abundancia de recursos es mayor (Herman *et al.*, 1995). En el caso particular del estudio, todas las islas de recursos tienen mayor materia orgánica que el suelo sin planta, y está correlacionada significativamente al incrementar la riqueza y diversidad de plantas. También concuerda con el gradiente de

materia orgánica reportado para *P. laevigata* y *Pachycereus hollianus* con respecto a estar dentro o fuera de la IR (Ruiz *et al.*, 2008).

La diferencia de diversidad entre el suelo sin plantas puede deberse a que los microorganismos se concentran donde hay una mayor concentración de nutrientes (Schlesinger y Pilmanis, 1998). En esta zona árida que esta entre el suelo sin plantas puede soportar una costra criptobiótica de algas, hongos o bacterias del suelo que fijen nitrógeno (West, 1990). En este caso, el suelo tomado como control sin plantas no presentó características de costra biológica, lo que hace suponer que los microorganismos detectados son están en proporción similar a los encontrados en suelo del Desierto Sonorense usando iniciadores parecidos a los del estudio que amplifican las regiones V6-V8. Los phyla encontrados fueron Actinobacterias, Proteobacterias, Planctomycetes, Chloroflexi, Acidobacteria, Bacteroidetes En este estudio por ejemplo, al comparar suelo sin plantas y suelo de rizósfera de cactus en ambos casos hubo una dominancia de *Crenarchaeota* clase *Thermoprotei*, y adicionalmente, los dos suelos compartían muchos grupos bacterianos, solo se diferenciaban en la proporción de estos (Andrew *et al.*, 2012).

A pesar de la gran diversidad de microorganismos en el suelo y la variabilidad de estos en diferentes condiciones, las islas de recursos presentaron una estructura patrón similar entre ellas y las diferencias existentes entre los microorganismos presentes no pudieron ser identificadas en la resolución del DGGE. Sin embargo, se observan claramente bandas correspondientes a OTUs de mayor intensidad que otros, lo que supone una mayor representatividad en la comunidad de ciertos grupos bacterianos que se pudo reflejar en las variaciones valores de diversidad aunque no fueron significativos.

Es escasa la información de la comunidad bacteriana en las islas de fertilidad comparadas con el suelo interplanta. Lo que se ha reportado es que en suelos del Desierto Chihuahuense, las bacterias heterotróficas mostraron un ligero incremento significativo entre suelo planta (matorrales y cerca de un mezquite) e interplanta midiendo la abundancia de microorganismos por Número Más Probable (NMP) (Herman *et al.*, 1995).

En el desierto de Negev (ecosistema árido y semi árido), las poblaciones microbianas de α -Proteobacterias son más abundantes bajo el dosel del matorral, mientras que en los suelos desnudos son caracterizados por una mayor abundancia de Actinobacterias. Sin embargo, en las comunidades en los suelos de clima Mediterráneo (600 mm de precipitación anual) las poblaciones microbianas son similares dentro y fuera de la isla de recurso (Bachar *et al.*, 2012). En este estudio no se observó una diferencia significativa entre las diversidades de comunidades bacterianas bajo y fuera de la isla de recursos pero se observó diferencia entre los parches de diferentes plantas perennes, lo que se relaciona a los resultados obtenidos en esta tesis, donde las islas del mezquite comparten una estructura y diversidad de comunidad. En este estudio también se encontró una mayor diversidad en los suelos sin plantas comparados con las comunidades detectadas bajo una planta perenne dominante. Las mayores diferencias fueron detectadas al analizar los phyla con librerías de clonación donde se encontraron diferencias significativas ya mencionadas.

Tanto en el dendograma como en el NMDS se ve una diferencia importante entre el suelo de las IR y la R17. Particularmente esta isla presento altos niveles en materia orgánica, amonio, conductividad eléctrica, nitritos, y porcentaje de limo. Se puede afirmar que es la isla con el suelo más fértil por lo que pudo haber causado esa diferencia en la estructura de la comunidad bacteriana.

La caracterización de las comunidades microbianas heterotróficas se basó en los patrones de la utilización de fuentes de carbono. Se utilizaron placas con 31 fuentes de carbono con un indicador redox. La medida que se utilizó para el análisis es el promedio de desarrollo de color estandarizado que se ha visto como una buena indicadora de la habilidad oxidativa de los microorganismos desarrollados en el BIOLOG, y esta puede ser usada como indicador de la actividad microbiana (Garland y Mills, 1991)

Se encontró una correlación significativa entre la proporción relativa de las fuentes de carbono con la diversidad de plantas y la riqueza de plantas, es

decir que mientras más especies diferentes de plantas y en mayor abundancia, la comunidad heterótrofa de bacterias del suelo metabolizo mayor número de fuentes de carbono. Se correlacionó significativamente la materia orgánica con el AWCD a las 116 hrs y también fue la variable fisicoquímica que estuvo en correlación con la diversidad y riqueza de plantas, por lo que se puede asumir que al haber una mayor deposición de material vegetal, la composición de la materia orgánica es más diversa (Kogel-Knaber, 2002), y la comunidad bacteriana tiene mayor actividad metabólica.

En general, niveles semejantes de actividad metabólica pueden indicar que la comunidad bacteriana tiene una estructura diferente con bacterias capaces de metabolizar mayor cantidad de sustratos o que tenga una estructura de comunidad similar pero con mayor habilidad de responder a los sustratos (Yao *et al.*, 2003). Estos resultados se pueden relacionar solo parcialmente con el objetivo 2, en donde se encontró una estructura de comunidad bacteriana similar en todas las IR, ya que el análisis BIOLOG selecciona solo a una parte minoritaria de la comunidad microbiana cultivable y para utilizar la técnica es necesario extraer a los microorganismos del suelo en una fase líquida quedando algunos adheridos partículas del suelo (Liu *et al.*, 2009; Kaplan *et al.*, 2013).

Además durante la estandarización de la técnica, se observó en el microscopio de contraste de fase a los inóculos de suelo antes de colocarlos en las placas BIOLOG. Se observó fueron partículas de arcilla de tamaño de micras similar al bacteriano, por lo que al tomar el inóculo si el suelo presenta mayor cantidad de arcilla es probable que contenga esos agregados y mayor número de bacterias adheridas, que un suelo arenoso que al momento del reposo no se resuspenda en la fase líquida. Esto se puede relacionar con el hecho de que en la correlación con porcentaje de arena el valor sea negativo valor pero significativo.

Con respecto a la naturaleza de sustratos utilizados, lo que se puede observar es que entre mayor cantidad de materia orgánica hay en el suelo, la utilización

de fuentes de carbono es más equitativa, al utilizar los 5 tipos de naturaleza química.

En las IR con menor cantidad de materia orgánica los sustratos utilizados fueron principalmente carbohidratos, porque son sustratos que son primeramente utilizados como fuentes de energía por los microorganismos, ya que entran a rutas de transformación a glucosa para después ingresar a ciclo de Krebs y a la cadena respiratoria donde es la producción de NADH que es el agente redox que causa el viraje de color (Dilly, 2010). Lo anterior hace suponer que la capacidad de los microorganismos presentes de utilizar otro tipo de fuentes de carbono es más reducida por la carencia de materia orgánica más diversa o compleja disponible.

Con respecto al suelo sin plantas, en general tuvo menor actividad metabólica que todas las IR, y se ubicó con un patrón distinto.

El vector que tiene mayor peso en el componente principal 1 y 2 corresponde a las amidas y aminas. De esta clasificación sólo son dos fuentes de carbono fenilnietilamina y putrescina.

La fenilnietilamina (PEA, siglas en inglés) es un compuesto producto de la descarboxilación de la fenilalanina. La enzima que cataliza esta reacción está presente en diferentes especies de bacteria entre las principales *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* y *Enterobacteriaceae*. Es interesante que este compuesto es producido por plantas de la familia de las leguminosas. El metabolismo de este compuesto fue muy variable entre las IR. Probablemente porque no son compuestos de utilización amplia.

En un estudio del suelo bajo el dosel de *Zigophyllum dumosum* del desierto de Negev, se caracterizó a los cultivos de tres pozos de lecturas de densidad óptica baja, media o alta, se encontró solo se identificaron 6 cepas relacionadas a *Pseudomonas* (*P. putida*, *P. plecoglossicida*, *P. mosselii*, *P. gessardii*, *P. libanensis*, *P. geniculata*). (Kaplan *et al.*, 2013). Con este antecedente, se comparó si se presentaba el mismo sesgo a solo un grupo bacteriano, así que se realizó la recuperación de ADN del cultivo de placas

correspondientes a 3 IR representado a baja, media y alta diversidad de plantas y 5 fuentes de carbono diferentes. La diferenciación de OTUs se realizó por DGGE y de este se purificaron 6 bandas representativas y se secuenciaron. El resultado se muestra en la figura 8. En este árbol se observan 4 grupos de órdenes diferenciados: Rhizobiales con dos géneros (*Rhizobium* y *Sinorhizobium*), Rhodospirales (*Azospirillum*), Pseudomonadales y Enterobacteriales.

El hallazgo de *Azospirillum* es interesante ya que es una bacteria considerada Bacteria Promotora de Crecimiento Vegetal principalmente por la habilidad de la fijación de nitrógeno, producción de fitohormonas (por ejemplo auxinas, citocinas y giberelinas), incremento de la toma de nutrientes, incrementa la resistencia a estrés, producción de vitaminas, sideróforos y biocontrol y algunos de ellos solubilizan fósforo (Massena et al, 2011). Lo cual indica la importancia de bacterias del suelo para el crecimiento de las plantas en las IR y este género no se había reportado para suelos desérticos.

Dos de las 6 secuencias obtenidas corresponden a *Pseudomonas* relacionadas con *P. fulva* y *P. alcaligenes* que son diferentes a las reportadas por Kaplan et al., 2013, este género bacteriano es ubicuo en el suelo, agua y superficies de plantas. Muchas pseudomonas viven en una relación comensal con plantas, sin embargo pueden tener efectos profundos en las plantas por la supresión de pestes, incremento en el acceso de nutrientes clave, alterando procesos fisiológicos o degradando contaminantes (Paulsen et al., 2005).

En la rama correspondiente a Rhizobiales se encontraron dos secuencias correspondientes a dos géneros, *Rhizobium* y *Sinorhizobium*. Estos géneros son conocidos por su capacidad de simbiosis con leguminosas al formar nódulos en raíces y tallos. Esta asociación simbiótica, la bacteria confiere nitrógeno fijado y otras moléculas a la planta y obteniendo a cambio nutrientes. La simbiosis está dada por la presencia de plásmidos con genes *nod* que son necesarios para formar nódulos, sin embargo existen rhizobias no simbióticas naturalmente y pueden ser más numerosas que sus contrapartes simbióticas (Segovia et al., 1991; Long, 2001). Entre las bacterias cultivables reportadas

comparadas con los resultados se tiene que *Rhizobium* está presente en las IR de recursos de *Prosopis laevigata* y *Pachycereus hollianus* (Ruiz *et al.*, 2008).

El género *Enterobacter* se encuentran en ambientes naturales en agua, aguas residuales, vegetales y suelo. Se han estudiado propiedades quitinolíticas en contra de hongos patógenos y características de bacteria promotora de crecimiento (Chernin *et al.*, 1995).

9. CONCLUSIONES

1. La riqueza y diversidad vegetal debajo del dosel de la isla de recurso modifica las características del suelo principalmente la materia orgánica.
2. La estructura y diversidad bacteriana no cultivable del suelo perteneciente a las islas de recursos del mezquite es similar aun incrementando la riqueza y diversidad de plantas.
3. La actividad metabólica y diversidad fisiológica de la comunidad bacteriana de las islas de recursos está en función de la cantidad de materia orgánica de los suelos.
4. Las bacterias obtenidas a partir de las EcoPlacas BIOLOG pertenecen a diferentes familias.

10. PERSPECTIVAS

- Realizar un estudio de pirosecuenciación de 16S para dilucidar cambios entre poblaciones bacterianas.
- Realizar una comparación entre comunidades bacterianas de suelos pertenecientes a islas de recursos de diferentes árboles nodrizas.
- Determinar la participación de las plantas subordinadas y nodriza en la acumulación de materia orgánica en el suelo de las islas de recursos.
- Aislar y caracterizar las bacterias con potencial de promoción de crecimiento vegetal para tener un cepario de bacterias adaptadas al Desierto Sonorense y con posible aplicación de inoculante.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Andrew D.R., R. Fitak, A. Munguía-Vega, A. Racolta, V.G. Martinson y K. Dontsova. 2012. Abiotic factors shape microbial diversity in Sonoran desert soil. *Applied Environmental Microbiology*. 78: 7527-7537.
- Ansley R., P. Jacoby y G.J. Cuomo. 1990. Water relations of honey mesquite following severing of lateral roots: influence of location and amount of subsurface water. *Journal Range Management* 43(5): 436-442.
- Armbrust D.V. y J.D. Bilbro. 1997. Relating plant canopy characteristics to soil transport capacity by wind. *Agronomy Journal*. 89:157-162.
- Bashan Y. y L.E. de-Bashan. 2010. Microbial Populations of Arid Lands and their Potential for Restoration of Deserts. En: Dion P. (eds.) *Soil Biology and Agriculture in the Tropics*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. 109–138p.
- Bashan Y., M.E. Puente, M.N. Rodriguez-Mendoza, G. Toledo, G. Holguin, R. Ferrera-Cerrato, y S. Pedrin. 1995. Survival of *Azospirillum brasilense* in the Bulk Soil and Rhizosphere of 23 Soil Types. *Applied Environmental Microbiology*. 61(5):1938–1945.
- Bashan Y., B. Salazar y M.E. Puente. 2009. Responses of native legume desert trees used for reforestation in the Sonoran Desert to plant growth-promoting microorganisms in screen house. *Biology and Fertility of Soils*. 45:655–662.
- Bashan Y., B.G. Salazar, M. Moreno, B.R. Lopez y R.G. Linderman 2012. Restoration of eroded soil in the Sonoran Desert with native leguminous trees using plant growth-promoting microorganisms and limited amounts of compost and water. *Journal of Environmental Management*. 102:26–36.
- Bever J.D., T.G. Platt y E.R. Morton. 2012. Microbial population and community dynamics on plant roots and their feedbacks on plant communities. *Annual Review of Microbiology*. 66:265–83.
- Ter Braak C.J.F. 1986. Canonical Correspondence Analysis: A New Eigenvector Technique for Multivariate Direct Gradient Analysis. *Ecology*. 67-:1167–1179.
- Burns R. G. y J. A. Davies. 1986. The microbiology of soil structure. *Biological Agriculture and Horticulture* 3: 95-113.
- Buscot F. y A. Varma. 2010. *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions*. Springer. Alemania. 419 p.
- Cai Z., A. Kastell, D. Knorr, y I. Smetanska 2012. Exudation: an expanding technique for continuous production and release of secondary metabolites

- from plant cell suspension and hairy root cultures. *Plant Cell Reports*. 31:461–77.
- Callaway R.M. 1995. Positive Interactions among Plants. *The Botanical Review*. 61:306–349.
- Carrillo-Garcia A., Y. Bashan, y G.J. Bethlenfalvay. 2000. Resource-island soils and the survival of the giant cactus cardon of Baja California Sur. *J. Plant and Soil* 207–214.
- Carrillo-Garcia A., J.L. Leon de la Luz, Y. Bashan, y G.J. Bethlenfalvay. 1999. Nurse plants, mycorrhizae, and plant establishment in a disturbed area of the Sonoran Desert. *Restoration Ecology*. 7:321–335.
- Cleary D.F.R., K. Smalla, L.C.S. Mendonça-Hagler, y N.C.M. Gomes. 2012. Assessment of variation in bacterial composition among microhabitats in a mangrove environment using DGGE fingerprints and barcoded pyrosequencing. *PloS One*. 7(1):e29380.
- CONAGUA (México), Base de datos [en línea]: fecha de consulta: 05 de enero 2015. Disponible desde: <smn.cna.gob.mx>.
- de-Bashan L.E., J.P. Hernandez, y Y. Bashan. 2012. The potential contribution of plant growth-promoting bacteria to reduce environmental degradation – A comprehensive evaluation. *Applied Soil Ecology*. 61:171–189.
- Dilly O. 2010. Microbial energetics in soils. En: Buscot F. y A. Varma. *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions*. Springer. Alemania. 419 p.
- Fierer N. y R.B. Jackson. 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *103(3):439-448*
- Fierer N. y J.T. Lennon 2011. The generation and maintenance of diversity in microbial communities. *American Journal of Botany*. 98:439–48.
- Fromin N., J. Hamelin, S. Tarnawski, D. Roesti, N. Forestier, F. Gillet, M. Aragno, y P. Rossi. 2007. Minireview Statistical analysis of denaturing gel electrophoresis (DGE) fingerprinting patterns. *Environmental Microbiology* 4:634–643.
- Garland J.L. y A.L. Mills. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community level sole carbon source utilization. *Applied Environmental Microbiology*. 57: 2351-2359.

- Garland J.L. 1996. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization. *Soil Biology and Biochemistry*. 28:213-221.
- Garland J.L. 1997. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology*. 24:289-300.
- Glenn E., R. Pfister, J. Brown, T. Lewis y J. O'Leary. 1996. Na y K accumulation and salt tolerance of *Atriplex canescens* (Chenopodiaceae) genotypes. *American Journal of Botany*. 83: 997-1005.
- Gleixer G., C. Czimzick, C. Kramer, B.M. Luhker, M.W. Schmidt. 2001. Plant compounds and their turnover and stability as soil organic matter. In: Schulze (eds) *Global biogeochemical cycles in the climate system*. Academic Press, San Diego, pp 201-216
- González Medrano F. 2012. *Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación*. México. 194p.
- Hedrick D.B., A. Peacock, J.R. Stephen, S.J. Macnaughton, J. Brüggemann, y D.C. White. 2000. Measuring soil microbial community diversity using polar lipid fatty acid and denaturing gradient gel electrophoresis data. *Journal of Microbiological Methods*. 41.:235-48.
- Van der Heijden, R.D. Bardgett, y N.M. van Straalen. 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*. 11:296-310.
- Herman R.P., K.R. Provencio, J. Herrera-Matos, y R.J. Torrez. 1995. Resource islands predict the distribution of heterotrophic bacteria in chihuahuan desert soils. *Applied and Environmental Microbiology*. 61:1816-21.
- Heuer H., M. Krsek, P. Baker, K. Smalla y E. Wellington. 1997. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. *Applied Environmental Microbiology* 63:3233-3241.
- Hitzl W., A. Rangger, S. Sharma, y H. Insam. 1997. Separation power of the 95 substrates of the BIOLOG system determined in various soils. *FEMS Microbiology Ecology*. 22:167-174.
- Iwamoto T., K. Tani, K. Nakamura, y Y. Suzuki 2000. Monitoring impact of in situ biostimulation treatment on groundwater bacterial community by DGGE. *FEMS Microbiology Ecology* 32:129-141.
- Jackson M.L. 1982. *Análisis químico de suelos*. Cuarta edición. Ediciones Omega. Barcelona, 662p.

- Johnson H.B. y H.S. Mayeux. 1990. *Prosopis glandulosa* and the nitrogen balance of range-lands: extent and occurrence of nodulation. *Oecologia*, 84:176-185.
- Jorgensen S.E. y Fath B. 2008. *Encyclopedia of Ecology*. Elsevier. Quinta edición. E.U.A. 3120 p.
- Kaplan D.M., Maymon, C.M. Agapakis, A. Lee, A. Wang, B. Prigge, M. Volkogon, y A.M. Hirsch 2013. A survey of the microbial community in the rhizosphere of two dominant shrubs of the Negev Desert highlands, *Zygophyllum dumosum* (Zygophyllaceae) and *Atriplex halimus* (Amaranthaceae), using cultivation-dependent and cultivation-independent methods. *American Journal of Botany*. 100:1713–25.
- Kisand V. y J. Wikner 2003. Limited resolution of 16S rDNA DGGE caused by melting properties and closely related DNA sequences. *Journal of Microbiological Methods*. 54:183–191.
- Kogel-Knabel. 2002. Analytical approaches for characterizing soil organic matter. *OrgGeochem* 31:609-625.
- León de la Luz J.L., R. Domínguez, M. Domínguez y R. Coria. 2014. Flora iconográfica de Baja California Sur 2. CIBNOR. Primera edición. México, BCS. 278p.
- Liu F., G. Ying, L. Yang y Q. Zhou. 2009. Terrestrial ecotoxicological effects of the antimicrobial agent triclosan. *Ecotoxicological and Environmental Safety* 72:86-92.
- Lopez B.R., Y. Bashan, A. Trejo, y L.E. de-Bashan. 2013. Amendment of degraded desert soil with wastewater debris containing immobilized *Chlorella sorokiniana* and *Azospirillum brasilense* significantly modifies soil bacterial community structure, diversity, and richness. *Biology and Fertility of Soils*. 49-:1053–1063.
- Lyautey E., B. Lacoste, L. Ten-Hage, J. L. Rols, y F. Garabetian. 2005. Analysis of bacterial diversity in river biofilms using 16S rDNA PCR-DGGE: methodological settings and fingerprints interpretation. *Water Research*. 39-:380–8.
- Maya-Delgado Y. y L. Arriaga. 1996. Litterfall and phenological patterns of the dominant overstorey species of a desert scrub community in north-western Mexico. *Journal of Arid Environments*. 34:23–35.
- Maya Y. y J. Guzmán. 1998. Recursos terrestres y suelo. Cap. 5 In: Diagnóstico ambiental de Baja California Sur. Fundación Mexicana para la Educación Ambiental - Sociedad de Historia Natural Niparajá, A.C. Universidad Autónoma de Baja California Sur, México. Pp. 165–242.

- Maya-Delgado Y., E. Fuentes-Romero, N.E. García-Calderón y S. Solís-Valdés. 2013. Influencia de las costras biológicas de suelo sobre la calidad de las sustancias húmicas en suelos de zonas áridas. Resumen de Congreso de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, La Paz, BCS.
- Muyzer G. y K. Smalla 1998. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie van Leeuwenhoek* 73: 27–141.
- Muyzer G., A. Teske, C.O. Wirsen y H.W. Jannasch. 1995. Phylogenetic relationships of Thiomicrospira species and their identification in deep-sea hydrothermal vent samples by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNA fragments. *Archives of Microbiology* 164: 165-172.
- Nilse E.T., Sharifi M.R., Rundel P.W., Jarrell W.M y Virginia R.A. 1983. Diurnal and seasonal water relations of the desert phreatophyte *Prosopis grandulosa* (Honey Mesquite) in the Sonoran Desert of California. *Ecology*, 64:1381-1393.
- Nobel P. S. 2003. Environmental Biology of agaves and Cacti. Cambridge University Press. Primera edición. Reino Unido . 275 p.
- Perroni-Ventura Y., C. Montaña y F. García-Oliva. 2009. Carbon-nitrogen interactions in fertility island soil from tropical semi-arid ecosystem. *Functional Ecology*. 24:233-242.
- Philippot L. y J.C. Germon. 2005. Contribution of Bacteria to Initial Input and Cycling of Nitrogen in Soils. En: Buscot y Varma A. *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions*. Springer. Alemania, 159-176
- Philippot L., J.M. Raaijmakers, P. Lemanceau, y W.H. van der Putten 2013. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*. Mac Millan Publishers:1–11.
- Polis G. A. 1991. Desert Communities: An overview of patterns and processes. En: *The Ecology of Desert Communities*, University of Arizona Press. EUA. 456p.
- Pla L. 2006. Biodiversidad: inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza. *Interciencia* (en línea): [Fecha de consulta: 30 de enero de 2014]. Disponible en : www.redalyc.org/articulo.oa?id=33911906 ISSN 0378-1844.
- Prober S.M. 2015. Plant diversity predicts beta but not alpha diversity of soil microbes across grasslands worldwide. *Ecology Letters*. 18:85–95.
- Riesenfeld C.S., P.D. Schloss y J. Handelsman. 2004. Metagenomics: genomic analysis of microbial communities. *Annual Review of Genetics*. 38:525-52.
- Rodríguez H., A. Mendoza, M.A. Cruz, G. Holguin, B.R. Glick, y Y. Bashan 2006. Pleiotropic physiological effects in the plant growth-promoting

- bacterium *Azospirillum brasilense* following chromosomal labeling in the *clpX* gene. *FEMS Microbiology Ecology*. 57:217–25.
- Rostagno C. M., H. F. del Valle y L. Videla. 1991. The influence of shrubs on some chemical and physical properties of an aridic soil in northeastern Patagonia, Argentina. *Journal of Arid Environments* 20:179–188
- Ruiz T.G., S.R. Zaragoza y R.F. Cerrato 2008. Fertility islands around *Prosopis laevigata* and *Pachycereus hollianus* in the drylands of Zapotitlán Salinas, México. *Journal of Arid Environments*. 72:1202–1212.
- Rundel P.W., E.T. Nilsen, M.R. Sharifi, R.A. Virginia, W.M. Jarrell, D.H. Kohl, y G.B. Shearer. 1982. Seasonal dynamics of nitrogen cycling for *Prosopis* woodland in the Sonoran Desert. *Plant and Soil*. 67:343–353.
- Schade J.D. y S.E. Hobbie. 2005. Spatial and temporal variation in islands of fertility in the Sonoran Desert. *Biogeochemistry*. 73:541–553.
- Schade, J.D., R. Sponseller, S.L. Collins, y A. Stiles 2003. The influence of *Prosopis* canopies on understory vegetation : Effects of landscape position. *Journal of Vegetation Science*. 14:743–750.
- Schmida H. 1985. Biogeography of desert floras of the world. En: Hot deserts. Evenari, M. I. Noymeir y DW. Goodall *Ecosystems of the World Hot deserts and arid shrublands*. Elsevier. Amsterdam. pp 23-77.
- Solórzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural water by the phenylhypochlorite method. *Limnology and Oceanography*.14: 799-801.
- Strickland J.D.H. y Parsons T.R. 1972. *A Practical Handbook of Seawater Analysis*, Editorial Fisheries Research Board of Canada. Ottawa, Canada.
- Subba N.S. 1997. *Soil Microbiology*. IBH Publ. Oxford. 120p.
- Trabelsi D. y R. Mhamdi. 2013. Microbial inoculants and their impact on soil microbial communities: a review. *BioMed Research International*. 2013:863240.
- Velderrain-Algara, L., J.L. Leon de la Luz, y Y. Maya-Delgado 2010. Estructura de la vegetación en montículos de la bahía de la Paz, BCS, México. *Polibotanica*. 29:67–90.
- Virginia, R. A, W.M. Jerrell y F.E. Franco-Vizcaíno. 1982. Direct measurement of denitrification in a *Prosopis* (mesquite) dominated Sonoran Desert ecosystem. *Oecologia*. 53:120-122.
- Walkley A. y Black I.A., 1934 . An examination of Degtjaraff methods for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil science*. 37: 29 – 38.

Weber K.P. y R.L. Legge 2010. Community-Level Physiological Profiling. 599:263–281.

Zak D.R., W.E. Holmes, D.C. White, A.D. Peacock, S. Ecology y N. Aug. 2003. Plant Diversity , Soil Microbial Communities and Ecosystem Function : Are There Any Links ?. Ecology 84:2042–2050.

12. ANEXOS

12.1 ANEXO I

Características fisicoquímicas de los suelos en las islas de recursos.

	pH	Conduc- tividad eléctrica (mS/cm)	Materia orgáni- ca (%)	Fósforo soluble (mg/kg)	Nitrógeno en nitratos (mg/kg)	Nitrógeno en amonio (mg/kg)	Nitrógeno en nitritos (mg/kg)	% Arcilla	% Arena	% Limo
Suelo sin planta	6.9	68.9	0.27	26.2	0.6	0.1	0.1	0.48	92.62	6.91
R1	7.61	261.0	1.41	5.8	1.1	0.8	0.4	0.13	92.75	7.13
R2	6.92	116.7	1.48	23.2	1.3	0.1	0.1	1.01	88.52	10.48
R3	7.14	177.7	1.21	8.3	0.3	0.1	0.1	0.82	74.69	24.49
R4	6.77	147.4	1.61	24.2	0.7	0.4	0.1	0.55	93.84	5.61
R5	7.04	93.8	0.67	16.2	1.1	0.4	0.4	1.33	85.65	13.03
R6	7.36	96.0	0.47	13.2	0.3	0.6	0.1	0.26	91.48	8.27
R7	7.14	134.0	0.74	10.2	0.3	0.2	0.1	0.60	89.94	9.46
R8	7.61	969.0	2.75	13.0	7.1	2.5	2.5	0.64	81.72	17.64
R9	6.95	173.3	2.82	35.6	1.6	0.4	0.4	1.15	86.12	12.74
R10	7.67	613.0	3.43	9.8	9.0	0.6	1.1	2.18	59.01	38.80
R11	7.03	303.0	1.81	15.0	0.9	0.2	0.1	0.44	94.54	5.46
R12	6.65	225.0	2.48	28.6	0.2	3.1	1.2	0.12	93.76	6.12
R13	7.76	499.0	1.61	11.0	0.8	1.4	1.4	2.25	77.90	19.86
R14	7.14	277.0	1.01	12.3	0.2	0.4	1.1	0.89	86.09	13.03
R15	7.49	444.0	2.28	7.9	1.4	0.4	0.6	1.11	88.29	10.60
R16	7.08	179.4	2.15	11.0	0.7	0.1	0.1	0.57	78.09	21.35
R17	6.12	994.0	3.89	41.5	0.2	27.8	7.1	0.78	75.69	23.54
R18	7.38	216.0	2.75	14.2	0.3	0.3	0.3	1.30	90.68	8.02

12.2 ANEXO II

Análisis de correspondencia canónica de las familias de plantas con variables fisicoquímicas del suelo y las islas de recursos.

