

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA

**“Cambios en la estructura de las comunidades bacterianas en un suelo salino-alkalino
extremo ante cambios ambientales”**

TESIS

Que presenta

ARIT SELENY DE LEÓN LOREZANA

Para obtener el grado de

DOCTORA EN CIENCIAS

EN LA ESPECIALIDAD DE BIOTECNOLOGÍA

Director de Tesis:

LUC DENDOOVEN

Ciudad de México

Julio de 2018

CRÉDITOS INSTITUCIONALES

Esta tesis fue elaborada en el departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, bajo la dirección del Dr. Luc Dendooven (CINESTAV-IPN) y la asesoría de los Doctores Yendi E. Navarro-Noya (CÁTEDRAS CONACYT, Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala), María Soledad Vásquez-Murrieta (ENCB-IPN), Rodolfo Marsch Moreno y Frédéric Thalasso (CINESTAV-IPN). Durante la realización de este trabajo la autora recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-489528).

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
JUSTIFICACIÓN	5
OBJETIVOS	5
OBJETIVO GENERAL	5
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
MUESTREO DEL SUELO	6
EXPERIMENTO DE REMOCIÓN DE SALES	6
CULTIVO DE PLANTAS DE MAÍZ Y OBTENCIÓN DE FIBRA DE DETERGENTE NEUTRO.....	7
INCUBACIÓN AEROBIA	8
CARACTERIZACIÓN DEL SUELO.....	9
EXTRACCIÓN DEL DNA Y AMPLIFICACIÓN DEL 16S rRNA.....	9
ANÁLISIS DE LAS SECUENCIAS	10
RESULTADOS	11
CARACTERÍSTICAS DEL SUELO.....	11
ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DE ARQUEAS	13
ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DE BACTERIAS	15
DIVERSIDAD ALFA	19
ESTRUCTURA DE LA POBLACIÓN BACTERIANA EN EL SUELO CONTROL LAVADO E INCUBADO EN CONDICIONES AEROBIAS.....	19
MINERALIZACIÓN DEL C	22
POBLACIÓN BACTERIANA EN LOS SUELOS ADICIONADOS CON RESIDUOS DE MAÍZ Y FDN.....	23
DEGRADADORES DE LA MATERIA ORGÁNICA APLICADA	29
DISCUSIÓN	32
CARACTERÍSTICAS DEL SUELO.....	32
COMUNIDAD DE ARQUEA.....	33

COMUNIDAD BACTERIANA EN EL SUELO CONTROL.....	35
LAVAR EL SUELO Y SU EFECTO EN LA COMUNIDAD BACTERIANA	37
MINERALIZACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA.....	39
ADICIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA, LAVADO DEL SUELO Y SU EFECTO EN LA ESTRCUTURA DE LA COMUNIDAD BACTERIANA.....	40
CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS	46
BIBLIOGRAFÍA.....	48
ARTÍCULOS PUBLICADOS.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. EL EXPERIMENTO DE LAVADO DEL SUELO	7
FIGURA 2. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES DE LOS GRUPOS DE ARQUEAS.....	14
FIGURA 3. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA CON LAS CARACTERÍSTICAS DEL SUELO Y LOS GRUPOS DE ARQUEAS	16
FIGURA 4. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES CON DIFERENTE PHYLA MICROBIANOS	17
FIGURA 5. ANÁLISIS DE CORRELACION CANÓNICA CON GRUPOS BACTERIANOS.....	18
FIGURA 6. HEATMAP DE LAS RELACIONES ENTRE LAS ABUNDANCIAS RELATIVAS DE DIFERENTES PHYLA BACTERIANOS DURANTE LOS LAVADOS	20
FIGURA 7. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES DE DIFERENTES PHYLA BACTERIANOS DURANTE EL LAVADO.....	21
FIGURA 8. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA CON LOS DIFERENTES PHYLA BACTERIANOS DURANTE EL LAVADO Y LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS.....	22
FIGURA 9. EMISIÓN DE CO2 DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS.....	23
FIGURA 10. HEATMAP DE LAS RELACIONES ENTRE EL CONTROL Y EL SUELO ADICIONADO CON MATERIAL ORGÁNICO DURANTE EL LAVADO.....	24
FIGURA 11. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES DE DIFERENTES PHYLA BACTERIANOS DEL SUELO CON RASTROJO DE MAIZ DURANTE EL LAVADO	27
FIGURA 12. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES DE DIFERENTES PHYLA BACTERIANOS DEL SUELO CON FDN DURANTE EL LAVADO	28
FIGURA 13. PATRONES DE LAS RELACIONES DE ABUNDANCIAS RELATIVAS DE BACTERIAS TRAS LA ADICIÓN DE MATERIAL ORGÁNICO Y LAVADO DEL SUELO	30

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DEL MATERIAL ORGÁNICO ADICIONADO EN LA INCUBACIÓN AEROBIA.....	8
TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DEL SUELO DEL EX LAGO DE TEXCOCO SIN LAVAR Y LAVADO MENSUALMENTE	12
TABLA 3. ANOSIM Y PERMANOVA DE LOS TRATAMIENTOS DURANTE EL LAVADO	26

RESUMEN

Se sabe que los valores extremos de salinidad y alcalinidad en suelos inhiben la descomposición de la material orgánica y afectan la estructura de las comunidades bacterianas involucradas en su mineralización. El lavado regular del suelo para reducir su salinidad cambiará las características del suelo, pero también la estructura de la comunidad microbiana y su capacidad para mineralizar material orgánico. El suelo del exlago de Texcoco fue lavado mensualmente en el laboratorio bajo condiciones controladas por diez meses, mientras que las características del suelo fueron determinadas y la estructura de las comunidades bacterianas y de arqueas analizada por pirosecuenciación 454 del gen 16S rRNA. Adicionalmente, el suelo lavado fue adicionado con rastrojo de maíz o su fracción fibrosa, mientras la mineralización del C y la estructura de la comunidad bacteriana se monitoreó en una incubación aerobia con el suelo obtenido después de cada lavado. La CE (conductividad electrolítica) del suelo disminuyó de 157.8 a 1.7 dS m⁻¹, pero el pH (10.3) no cambió significativamente con el tiempo, por un lado la abundancia relativa de algunos grupos bacterianos siempre disminuyó con la adición de rastrojo de maíz o FDN (Fibra de Detergente Neutro), independientemente de las características del suelo, y por el otro lado los cambios en la abundancia relativa de diferentes grupos bacterianos se relacionó con los cambios en las características del suelo. La aplicación de FDN tuvo un efecto similar en la estructura de la comunidad bacteriana que el rastrojo de maíz.

ABSTRACT

Extreme salinity and alkalinity in soil is known to inhibit organic material decomposition and affect the bacterial community structure involved in its mineralization. Regular flooding of the soil to reduce salinity will change soil characteristics, but also the microbial community structure and its capacity to mineralize organic material. Soil of the former lake Texcoco was flooded monthly in the laboratory under controlled conditions for ten months while soil characteristics were determined, and the archaeal and bacterial community structure determined by means of 454 pyrosequencing of the 16S rRNA gene. Additionally, flooded soil was amended with maize plant residue or its neutral detergent fiber, while C mineralization and the bacterial community structure was monitored in an aerobic incubation experiment with soil obtained after each flooding. The EC (electrolytic conductivity) of the soil dropped from 157.8 to 1.7 dS m⁻¹, but the pH (10.3) did not change significantly over time, on the one hand, the relative abundance of some bacterial groups always increased when maize plants or NDF (Neutral Detergent Fiber fraction) were applied to soil, independent of the soil characteristics, and on the other hand, the changes in the relative abundance of different bacterial groups was related to changes in soil characteristics. Application of NDF had a similar effect on the bacterial community structure as when maize was applied.

INTRODUCCIÓN

Las características bióticas y abióticas del suelo definen la estructura de las comunidades microbianas, qué grupos y qué rasgos tienen en un sitio determinado. (Dequiedt et al., 2011; Andrew et al., 2012). Las características del suelo definen la variación espacial de las comunidades microbianas (Lozupone y Knight, 2007; Fierer y Lennon, 2011). Las medidas de la composición y diversidad, por lo general, se utilizan para suponer las respuestas de las comunidades bacterianas a cambios ambientales. Estos índices de comunidades representan una gran evidencia acerca de qué especies prevalecen bajo determinadas características del suelo.

Se ha estudiado la concentración de sales en el suelo como un factor de estrés para los microorganismos, y se ha encontrado una disminución en la evolución del CO₂, la actividad enzimática, o la biomasa bacteriana (Sarig y Steinberger, 1994; Rietz y Haynes, 2003; Mamilov et al., 2004). Aumentar la salinidad tiene un efecto adverso en los procesos del suelo que son biológicamente mediados, como la mineralización del C y N (Pathak y Rao, 1998). En suelos salinos y bajo sequía, los microorganismos sufren de estrés osmótico, lo que resulta en el secado y la lisis celular (Oren, 2008), lo que reduce la cantidad de biomasa del suelo.

Los microorganismos del suelo tienen la habilidad de adaptarse o tolerar el estrés osmótico causado por la sequía o la salinidad (Sardinha et al., 2003), sin embargo, tienen que enfrentar los cambios en la presión osmótica y en respuesta, deben cambiar su fisiología y morfología (Killham, 1994; Zahran, 1997). Killham (1994) describe dos principales estrategias de adaptación de los microorganismos al estrés osmótico (como la salinidad, sequía o congelamiento), ambos resultan en la acumulación de solutos en la célula para contrarrestar el aumento de la presión osmótica. Una estrategia es excluir de la célula selectivamente el soluto incorporado (e.g., Na⁺, Cl⁻) y en su lugar, acumular otros iones necesarios para su metabolismo (e.g. NH₄⁺). El otro mecanismo de adaptación de la célula es producir compuestos orgánicos, que combatirán el gradiente de concentración entre la solución del

suelo y el citoplasma de la célula. Algunos iones como Na^+ y Cl^- son transportados a través de la membrana celular y otros compuestos son elaborados por la célula (betaina y ácido málico), ambos son procesos que consumen energía, sin embargo, estas estrategias fueron descubiertas y han sido estudiadas en un solo microorganismo (Oren, 2002) , pero pocas veces han sido estudiadas a un nivel de comunidad (Wichern et al., 2006).

Los efectos adversos de las altas concentraciones de sales en el suelo incluyen la dispersión y floculación de las partículas del suelo que afectan la solubilidad de la materia orgánica y su disponibilidad, afectando así la estructura de la comunidad microbiana (Wong et al., 2008, 2009, 2010; Baumann y Marschner, 2013; Setia y Marschner, 2013). Se sabe poco acerca de cómo la salinidad afecta las comunidades de microorganismos del suelo y sus capacidades metabólicas (Chowdhury et al., 2011; Rath y Rousk, 2015). Se ha reportado que la salinidad reduce la biomasa bacteriana (Tripathi et al., 2006) y cambia la composición de las comunidades (Wichern et al., 2006; Gennari et al., 2007; Chowdhury et al., 2011). La mayoría de los estudios consisten en experimentos donde las sales son añadidas al suelo (Rath y Rousk, 2015).

El suelo del exlago de Texcoco se caracteriza por alta salinidad y alcalinidad. Ha sido inundado desde los años 70 y así disminuir el contenido de sales para cubrirlo de vegetación y prevenir la erosión y contaminación de la Ciudad de México por polvo (Luna-Guido et al., 2000). Lavar el suelo rápidamente disminuyó el contenido de sales y alteró la población de bacterias y arqueas, como lo determinó la secuenciación por Sanger del 16S rRNA (Valenzuela-Encinas et al., 2008, 2009). Además, dio información importante en cómo al reducir la salinidad y el pH alteró los ciclos biogeoquímicos y la estructura de la comunidad microbiana. Sin embargo, no sólo el contenido de sales y pH se vieron afectados cuando el suelo fue inundado y drenado, sino que otras características como la vegetación, el contenido de materia orgánica y la distribución de las partículas fueron diferentes en los sitios muestreados.

Rath y Rousk (2015) afirmaron que no existe información actual de los efectos de la salinidad en las comunidades de suelos salinos naturales utilizando las técnicas actuales, ni describiendo que pasaría si el estrés fuera removido.

JUSTIFICACIÓN

Aunque se conoce el efecto que la salinidad tiene sobre organismos particulares como bacterias y arqueas, se desconoce el efecto de disminuir las altas concentraciones de sales sobre la composición y estructura de las comunidades naturales del suelo, y lo que pasaría al remover este estrés de ambientes salinos naturales, como el suelo del exlago de Texcoco, además de cómo se verían afectados los procesos que se llevan a cabo en el suelo principalmente la degradación de la materia orgánica.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar los cambios en la estructura de la comunidad microbiana del suelo del exlago de Texcoco al modificar las condiciones naturales del suelo, es decir, las altas concentraciones de sales.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Conocer el efecto de la remoción de sales sobre las características físicas y químicas del suelo del exlago de Texcoco.
2. Conocer el efecto de la remoción de sales del suelo salino alcalino natural del exlago de Texcoco en las poblaciones microbianas, mientras otras características del suelo permanecen constantes.
3. Conocer los cambios en la capacidad de mineralización de la materia orgánica en el suelo del exlago de Texcoco al disminuir el contenido de sales.
4. Conocer cómo la disminución de sales del suelo del exlago de Texcoco afecta a las comunidades bacterianas posiblemente involucradas en la degradación de la materia orgánica.

5. Conocer el efecto de la composición de la materia orgánica en la estructura de la comunidad bacteriana al disminuir el contenido de sales de un suelo salino natural.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo del suelo

El suelo del exlago de Texcoco se localiza en el Valle de México a un altitud de 2240 msnm, con un temperatura promedio anual de 16 ° C y una precipitación anual de 705 mm. El suelo fue muestreado al azar con un nucleador de 7 cm de diámetro en la capa superior del suelo 0-15 cm, en tres parcelas diferentes cubriendo un tamaño aproximado de 400 m². De tal forma que aproximadamente 30 kg fueron recolectados de cada parcela. En cada parcela se tomaron 30 muestras y éstas fueron mezcladas, de manera que una sola muestra de suelo se obtuviera de cada parcela de muestreo.

El experimento de remoción de sales

El suelo de cada punto (n=3) fue tamizado (5 mm), ajustado al 40% de su capacidad de retención de agua (CRA) y preincubado por separado en recipientes de 70 l a temperatura ambiente por siete días. Cada recipiente de 70 l contuvo 10 kg de suelo, un recipiente con agua destilada para mantener la humedad y otro recipiente con NaOH 1 M para capturar el CO₂. Los recipientes se abrieron cada día para evitar anaerobiosis, sin embargo, sabemos que las condiciones anaeróbicas de los micrositios del suelo no se pueden evitar aun aireando el suelo todos los días. Normalmente los suelos se (pre)incuban para que las comunidades microbianas se puedan adaptar a las nuevas condiciones, como los cambios en el contenido de agua.

Después de siete días, ocho submuestras de 1.5 kg de cada sitio se utilizaron para empacar columnas de PVC con un diámetro de 10.5 cm y 30 cm de largo, las bases de las

columnas tenían orificios bien distribuidos, un filtro de polietileno y una capa de arena tratada con ácido para prevenir la pérdida de suelo durante el lavado.

El diseño del experimento se encuentra en la **Figura 1**. Una columna de cada sitio se seleccionó al azar, el suelo se removió, caracterizó y se extrajo el DNA. Este suelo nunca lavado fue considerado como el “suelo no lavado”. Las columnas remanentes fueron lavadas con 3 l de agua destilada y se permitió su libre drenado hasta aproximadamente el 50% de la CRA, que se mantuvo por un mes.

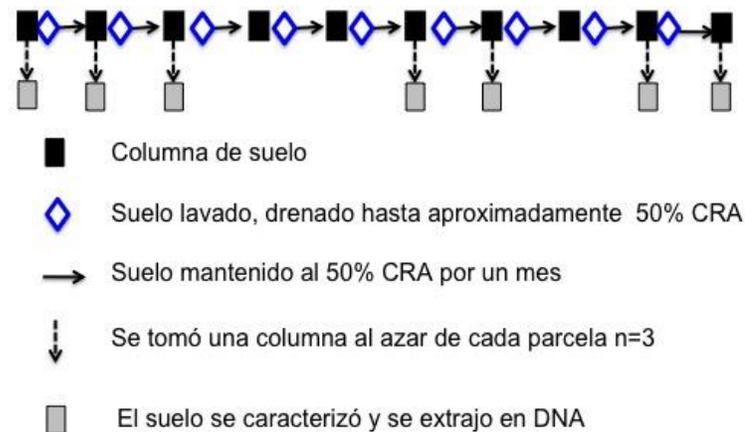


Figura 1. El experimento de lavado del suelo

Después de ese tiempo se determinó la CRA del suelo, se removió el suelo de la columna y se extrajo el DNA. Las columnas remanentes fueron lavadas de nuevo con 3 l de agua destilada y se permitió su drenado hasta aproximadamente el 50% de la CRA.

El proceso de lavar el suelo, permitir su drenado hasta el 50% CRA, cubrir las columnas y acondicionar el suelo por un mes, se repitió mensualmente hasta que el suelo fue lavado diez veces. En un experimento previo se encontró que inundar el suelo mensualmente ocho veces era suficiente para disminuir la conductividad electrolítica (CE) hasta $< 5 \text{ dSm}^{-1}$ (Dendooven et al., 2015). Después de dos, tres, seis, siete, nueve y diez meses, se seleccionó una columna de cada parcela al azar ($n=3$), se removió el suelo, se caracterizó, se determinó la CRA y se extrajo el DNA.

Cultivo de plantas de maíz y obtención de Fibra de Detergente Neutro

Se utilizaron las mismas plantas de maíz en este experimento que en el experimento realizado por Ramírez-Villanueva et al. (2015). Las semillas de maíz fueron sanitizadas y germinadas en placas con agar-agua. Las plántulas de maíz con raíces de 2 cm se colocaron en vermiculita estéril en una cámara de crecimiento (105 l, 35 x 50 y 60 cm de alto), y se humedecieron frecuentemente con solución de macro y micro nutrientes (Solución Steiner, 1961). Después de 25 días se cosecharon las plantas de maíz, se secaron y caracterizaron.

Las plantas de maíz fueron fraccionadas para obtener la Fibra de Detergente Neutro (FDN) (Van Soest, 1963; Van Soest y Wine, 1967). En breve, la extracción con una solución neutral de detergentes se utilizó para remover la parte “soluble” del residuo de maíz, dejando la fracción que contiene la mayoría de los constituyentes de la pared celular, es decir, (hemi)celulosa y algo de lignina **Tabla 1**.

Tabla 1. Características del material orgánico adicionado en la incubación aerobia (Ramírez-Villanueva et al., 2015)

	Fracción soluble	Contenido de Lignina	(Hemi) celulosa	Polifenoles	Cenizas	N total	C total
	(g kg ⁻¹)						
Maíz	599	25	311	2	62	34	422
FDN *	0	63	776	6	155	19	405

*Fibra de Detergente Neutro

Incubación aerobia

El suelo lavado una, dos, tres, seis, siete, nueve y diez veces se utilizó en una incubación aerobia. Se aplicaron tres diferentes tratamientos al suelo sin lavar (suelo no lavado) y al suelo lavado.

Doce submuestras de 30 g de cada parcela (n=3) y del suelo no lavado, lavado una, dos, tres, seis, siete, nueve y diez veces (n=8) se añadieron por separado a frascos de vidrio de 120 ml. Cuatro submuestras de suelo fueron adicionadas con residuos de maíz a una concentración de 2 g C kg de suelo⁻¹. Las cuatro submuestras de suelo remanentes sirvieron como control.

Se escogió al azar un frasco adicionado con residuos de maíz, uno adicionado con FDN y un frasco del control (del suelo no lavado). El suelo se removió de los frascos y se conservó a -70°C para su posterior extracción de DNA.

Los frascos restantes se colocaron en recipientes de vidrio de 945 ml conteniendo un vial con 10 ml de agua destilada y uno con 20 ml de NaOH 1 M. Los recipientes de vidrio se colocaron en la oscuridad por 28 días. Adicionalmente se colocaron 15 jarras (recipientes de vidrio de 945 ml) conteniendo sólo el vial de agua y el vial de NaOH 1 M y sirvieron como control para capturar el CO₂ atrapado en la atmósfera del microcosmos. Después de 7, 14 y 28 días, un recipiente de vidrio fue seleccionado al azar con el suelo con rastrojo de maíz o suelo con FND o sólo suelo, esos frascos se abrieron, se removió el vial que contenía NaOH. Se determinó el CO₂ atrapado en el NaOH 1 M en una alícuota de 5 ml (Jenkinson y Powelson, 1976). La muestra de suelo se removió del frasco de vidrio más pequeño y se almacenó a -70°C para después extraer el DNA. Todos los frascos restantes se abrieron, airearon por 10 min para evitar anaerobiosis, se resellaron y se siguieron incubando.

Caracterización del suelo

El pH se determinó en una solución suelo-agua 1:2.5 utilizando un pH/mV metro (Denver Instruments, NY, USA) con un electrodo de vidrio (#3007181 pH/ATC). La CE se midió con un microprocesador HI 933300 (HANNA Instruments, Woonsocket, Rhode Island, USA). La CRA se midió en el extracto de suelo saturado en un embudo, cubierto para evitar la evaporación del agua que se dejó drenar por 24 h, la CRA se calculó como las diferencias entre el peso inicial y final. La distribución del tamaño de partícula se determinó con un hidrómetro según lo descrito por Gee y Bauder (1986).

Extracción de DNA y amplificación del 16S rRNA

Submuestras de 0.5 g de suelo se lavaron con pirofosfato de sodio 0.15 M y buffer de fosfato pH 8 para remover los ácidos húmicos (Ceja-Navarro et al., 2010). El DNA metagenómico se extrajo con tres métodos diferentes (Hoffman & Winston, 1987; Sambrook y Russell, 2001; Valenzuela-Encinas et al., 2008). Cada técnica se utilizó para extraer DNA de 0.5 g, el DNA de las tres técnicas se mezcló de tal manera que el DNA se extrajo de 1.5 g de suelo.

El DNA metagenómico sirvió de molde para amplificar la región V1-V3 del gen que codifica para el 16S rRNA de bacterias y arqueas de acuerdo a Dojka et al., 1998 y Barker et al., 2003. Los iniciadores tenían una etiqueta de 10 b y los adaptadores Lib-L para pirosecuenciación 454. El protocolo de amplificación se realizó según lo establecido por Navarro-Noya et al. 2015

Análisis de las secuencias

El análisis de calidad, asignación de las secuencias a cada muestra y eliminación del ruido de las secuencias se realizó en el programa QIIME versión 1.9 (Caporaso et al., 2010). Brevemente, se descartaron las secuencias menores a 250 pb, con baja calidad Phred (*Q score*) o que contenían errores en los adaptadores e iniciadores.

La eliminación del ruido de las secuencias fue hecha con el script *denoise_wrapper.py* utilizando las secuencias e identificando las secuencias de cada muestra y los archivos SFF (*standard flowgram format*) (Reeder y Knight, 2010). Las secuencias se almacenaron en el SRA (*Sequence Read Archive*) bajo los números de acceso SRP041362, SRP068519, SRR4298851-SRR4298883.

Las secuencias que pasaron los filtros de calidad se utilizaron para determinar las unidades taxonómicas operacionales (OTUs) a un umbral del 97% con el script *pick_de_novo_otus.py*. El programa eligió una secuencia representativa de cada OTU, y las secuencias identificadas como quimeras fueron eliminadas del conjunto de datos.

La asignación taxonómica con la base de datos del RDP (*Ribosomal Data Base Project*) a un umbral del 80%. La tabla de OTUs obtenida se rarificó a una profundidad de 1,270 secuencias por muestra, para evitar errores en los análisis posteriores, los análisis de diversidad e indicadores de riqueza de especies se calcularon utilizando este conjunto de datos rarificados dentro del programa QIIME con el script *alpha_diversity.py*.

La secuencia representativa de datos se alineó a un porcentaje mínimo de identidad 75% utilizando Pynast (Caporaso et al., 2010). Las secuencias que no se pudieron alinear fueron removidas. La información filogenética fue utilizada para calcular matrices de distancias UniFrac dentro de QIIME. El análisis de varianza (ANOVA) para determinar el efecto del lavado en la abundancia relativa en los grupos de bacterias y arqueas (phylum, clase, orden, familia y genero).

La abundancia de diferentes niveles taxonómicos de bacterias y arqueas fue explorada por separado con un análisis de componentes principales (PCA) utilizando el software SAS (SAS Institute, 1989). Se utilizó un análisis de correlación canónica para estudiar el grado de relación entre la abundancia de los diferentes grupos bacterianos, y las características del suelo. El coeficiente de correlación Spearman (r) para correlacionar comunidades bacterianas del suelo, es decir OTUs (OTU97) y propiedades fisicoquímicas, es decir, pH, CE, CRA, y contenido de limo, arcilla, y arena, fue calculado en R (<http://www.inside-r.org/packages/cran/vegan/docs/bioenv>; Clarke y Ainsworth, 1993).

RESULTADOS

Características del suelo

La CE del suelo disminuyó drásticamente de 157.8 dS m^{-1} en el suelo que nunca fue lavado (suelo no lavado) a 47.3 dS m^{-1} después del primer lavado y a 1.7 dS m^{-1} después de lavarlo 10 veces ($p < 0.0001$; **Tabla 2**). Lavar el suelo también afectó la distribución del tamaño de partícula. El contenido de arcilla disminuyó gradualmente de 430 a 270 g kg de suelo⁻¹ y el contenido de arena aumentó gradualmente de 260 a 500 g Kg de suelo⁻¹ ($p < 0.01$). El pH no cambió a lo largo del tiempo mientras que la CRA fluctuó con cada lavado, pero no mostró un patrón claro.

Tabla 2. Características del suelo del exlago de Texcoco sin lavar y lavado mensualmente.

Número de	CE ^a	CRA ^b	Distribución de partículas		
			Arcilla	Limo	Arena

lavado	(dS m ⁻¹)	pH	(g kg de suelo ⁻¹)			
0	157.8 ^c A ^d	10.3 A	770 B	430 A	310 A	260 B
1	47.3 B	10.3 A	880 AB	400 AB	350 A	250 B
2	14.1 C	10.4 A	1150 AB	380 AB	250 A	370 AB
3	8.3 C	10.4 A	1280 A	360 AB	250 A	390 AB
6	5.0 C	10.4 A	850 AB	330 AB	190 A	480 AB
7	3.3 C	10.3 A	1010 AB	320 AB	170 A	510 A
9	2.3 C	10.2 A	870 AB	300 AB	200 A	490 AB
10	1.7 C	10.2 A	840 AB	270 B	220 A	500 A
MSD ^e	25.2	0.2	450	130	200	240
F	109.60	4.56	3.68	4.81	1.73	4.78
P	<0.0001	0.0146	0.0146	0.0044	0.1725	0.0046

^a CE: Conductividad Electrolítica, ^b CRA: Capacidad de retención de agua, ^c Promedio de tres parcelas ($n = 3$), ^d Valores con la misma letra son similares en los lavados, i.e., dentro de las columnas, ^e MSD: Diferencia mínima significativa al 5 % (SAS Institute, 1989).

Estructura de la comunidad de arqueas

Se obtuvieron 144,702 secuencias de buena calidad que fueron agrupadas *de novo* en 1,517 OTUs diferentes. El número de OTUs de arqueas obtenido después de cada lavado fue similar, por lo que aumentar la cantidad de secuencias obtenidas del suelo no aumentaría significativamente la cantidad de OTUs.

El número de especies de arqueas, los índices Shannon, Simpson y Phylogenetic Diversity (PD) aumentaron significativamente después del primer lavado comparado con el suelo lavado más de una vez ($p < 0.01$). La diversidad y riqueza de especies de Arqueas (Shannon, Simpson e índice PD, especies observadas y Chao 1) tendió a aumentar con los lavados, pero no significativamente.

Se detectaron tres phyla de Arquea en el suelo, i.e., Crenarchaeota con una abundancia relativa media de 0.007 %, Thaumarchaeota con 0.50 % y Euryarchaeota con 91.8 %. Las arqueas restantes no tuvieron una asignación taxonómica. A niveles taxonómicos más bajos se encontraron seis clases, ocho ordenes, doce familias, y sólo veintiséis géneros.

La familia Halobacteriaceae fue la familia con mayor abundancia relativa que varió de 79.2 a 96.9%, con *Natronococcus* como el género más dominante con una abundancia relativa que varió de 12.1 a 21.8%. Más de la mitad de los filotipos no pudieron ser asignados a ningún género. Lavar el suelo sólo tuvo un efecto limitado en la población de arqueas. Sólo la abundancia relativa de filotipos pertenecientes a *Haloferax* fueron significativamente más altas en el suelo lavado diez veces (0.16 %) que en otros suelos (<0.03 %). Consecuentemente, el PCoA o PCA no separaron la estructura de la comunidad de arqueas en ningún nivel taxonómico, i.e., phylum, clase, orden, familia, género u OTUs (Figura 2).

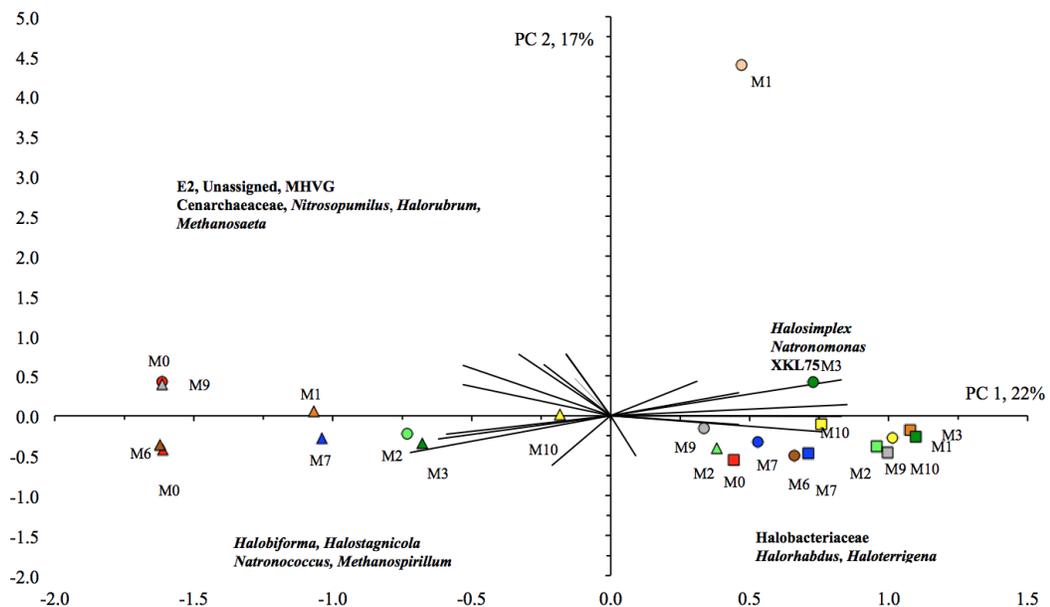


Figura 2. Análisis de componentes principales de los grupos de arqueas del sitio 1 de muestreo del suelo de Texcoco no lavado (■), lavado una vez (□), dos veces (▣), tres veces (▤), seis veces (▥), siete veces (▦), nueve veces (▧) o diez veces (▨), del sitio 2 no lavado (●), lavado una vez (○), dos veces (◐), tres veces (◑), seis veces (◒), siete veces (◓), nueve veces (◔) o diez veces (◕), y del sitio 3 no lavado (▲), lavado una vez (△), dos veces (▴), tres veces (▾), seis veces (▹), siete veces (▸), nueve veces (▹) o diez veces (▸).

La estructura de la comunidad de arqueas estuvo mejor definida por el sitio de muestreo, ya que el PCA separó los sitios de muestreo. El sitio de muestreo 3 se caracterizó por un componente principal (CP) 1 negativo, e.g., abundancia relativa más alta de *Halobiforma*, *Halostagnicola*, *Methanospirillum* y *Natronococcus*, y el sitio de muestreo 1 por un CP1 positivo, e.g., una abundancia relativa alta de *Halorhabdus*, *Natronomonas*, y otros Halobacteriaceae. El coeficiente de correlación Spearman (r) entre las comunidades de

arqueas del suelo, i.e., OTUs con un umbral de similitud al 97% (OTU₉₇), y las propiedades fisicoquímicas del suelo (pH, CE, CRA, y contenido de arcilla y arena) fue bajo. La variable ambiental que más se correlacionó con la comunidad de arqueas fue la CE con un valor de r negativo de -0.0008.

El análisis de correlación canónica (CCA), sin embargo, mostró un efecto del lavado en la estructura de la comunidad de arqueas (**Figura 3**). El suelo no lavado se caracterizó por un componente de correlación (CC) 1 negativo, i.e., un alto valor de CE y una alta abundancia relativa de *Halobiforma*, *Haloterrigena*, Halobacteriaceae, *Methanoculleus* y *Natronococcus*, y separados claramente del suelo lavado caracterizado por un CC2 positivo, i.e., una abundancia relativa de *Halorabdus*, *Halostagnicola* y *Natronomonas*. El suelo lavado nueve y diez veces se caracterizó por un CC2 negativo, i.e., abundancia relativa más alta de pGrfC26, *Candidatus Nitrososphaera*, *Haloferax*, MSP41 y otros Methanomicrobiaceae, también se separaron del suelo lavado una, dos, tres, seis y siete veces caracterizado sobre todo por un CC2 positivo, i.e., valores altos de pH y CRA, y una abundancia relativa alta de secuencias sin asignar, *Halorubrum*, *Methanolobus*, MHVG, *Halosimplex*, Cenarchaeaceae, *Methanosaeta*, *Nitrosopumilus* y XKL75.

Estructura de la comunidad de bacterias

Se recuperaron 254,000 secuencias pertenecientes a 6,403 OTUs diferentes. El número de OTUs bacterianas obtenidas del número de secuencias de cada lavado fue similar, de manera que una comparación adecuada fue posible. Aumentar el número de secuencias obtenidas del suelo no aumentaría en gran medida el número de OTUs.

El número de especies bacterianas, los índices Chao1, Shannon, Simpson y PD no cambiaron después del primera lavado o en los siguientes lavados ($p < 0.01$). No se obtuvo ningún patrón claro en el número de especies bacterianas, e índices de diversidad alfa con el aumento de los lavados.

Se detectaron 29 phyla bacterianos en el suelo, siendo Proteobacteria el más abundante (83.4%). Lavar el suelo tuvo un efecto fuerte en la estructura de la comunidad bacteriana. Lavar el suelo una vez redujo la abundancia relativa de Acidobacteria, Chlorobi y Proteobacteria. La abundancia relativa del phylum más abundante mostró la reducción más

grande de 83.4% en el suelo no lavado a 40% después del primer lavado ($p < 0.0001$). Esta disminución se debió principalmente a la reducción en abundancia relativa de Gammaproteobacteria ya que la abundancia relativa de Halomonadaceae (Oceanospirillales) se redujo de 23.9% en el suelo sin lavar a 3% en el suelo lavado una vez, Pseudomonadaceae de 5.4 a 0.9% y Xanthomonadaceae de 4.8 a 0.5%. La abundancia relativa de Rhizobiales (Alphaproteobacteria) también se redujo de 11.4 % en el suelo no lavado a 2.7 % en el suelo lavado, sin embargo, la abundancia de Rhodobacterales (también Alphaproteobacteria) aumentó drásticamente de 0.5 a 6.3 %.

La abundancia relativa de la mayoría de los phyla bacterianos, i.e., Actinobacteria, Bacteroidetes, Gemmatimonadetes, Planctomyecetes, TM7, Verrucomicrobia, y [Thermi], y los filotipos sin asignación mostraron un patrón opuesto y aumentaron después del primer lavado. Por ejemplo, la abundancia relativa de Actinobacteria (principalmente Nitriliruptorales) aumentó significativamente de 3.6% en el suelo sin lavar a 11% en el suelo lavado una vez y los Bacteroidetes (principalmente Rhodothermales y Cytophagales) de 0.7 a 8.4 %.

Por lo tanto, el PCA y PCoA separaron el suelo sin lavar claramente del suelo lavado (**Figura 4**). El suelo sin lavar se caracterizó por un componente principal 1 negativo, e.g., alta abundancia relativa de Proteobacteria, y un componente principal 2 pequeño o negativo, e.g., abundancia relativa más alta de Fibrobacteres y Firmicutes. El PCA no separó los suelos de cada lavado. Contrariamente, el CCA sí lo hizo (**Figura 5**).

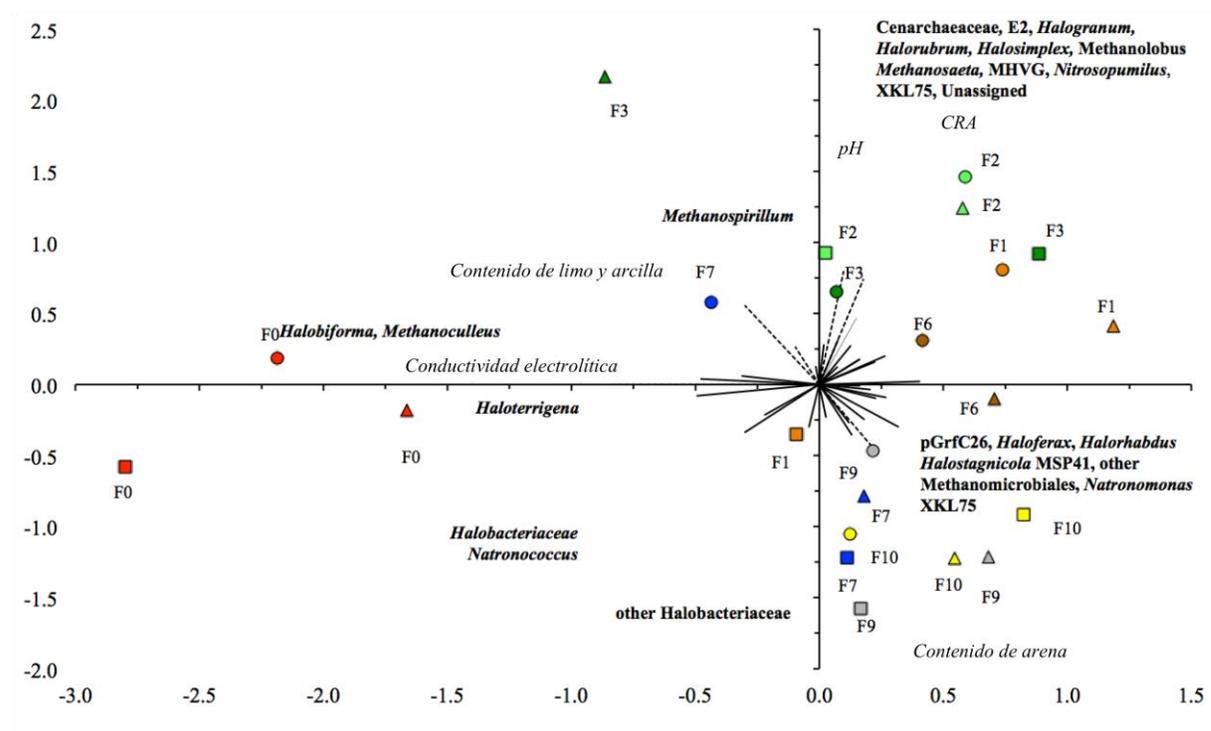


Figura 3. Análisis de correlación canónica con características del suelo diferente y los grupos de arqueas del sitio 1 de muestreo del suelo de Texcoco no lavado (■), lavado una vez (▣), dos veces (▢), tres veces (▧), seis veces (▥), siete veces (▩), nueve veces (▨) o diez veces (▪), del sitio 2 no lavado (●), lavado una vez (○), dos veces (◐), tres veces (◑), seis veces (◒), siete veces (◓), nueve veces (◔) o diez veces (◕), y del sitio 3 no lavado (▲), lavado una vez (△), dos veces (▴), tres veces (▵), seis veces (▹), siete veces (▸), nueve veces (▾) o diez veces (►).

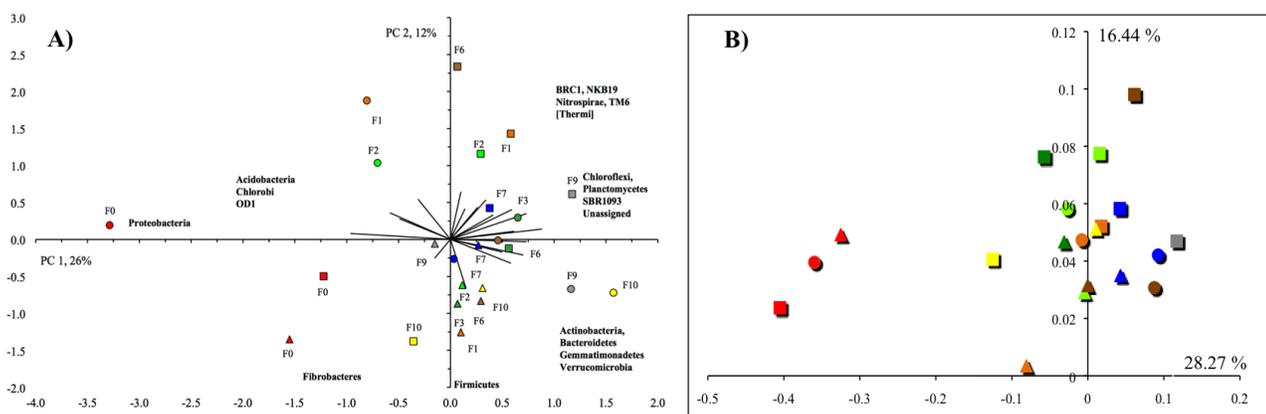


Figura 4. A) Análisis de componentes principales con diferentes phyla microbianos. El primer componente (PC1) explica 26% de la variación y el PC2 12%. Análisis de componentes principales con grupos de Arquea diferentes del primer sitio de Texcoco no lavado (■), lavado una vez (▣), lavado dos veces (▢), tres veces (▧), seis veces (▥), siete veces (▩), nueve veces (▨) o diez veces (▪), del sitio 2 no lavado (●), lavado una vez (○), dos veces (◐), tres veces (◑), seis veces (◒), siete veces (◓), nueve veces (◔) o diez veces (◕), y sitio 3 no lavado (▲), lavado una vez (△), dos veces (▴), tres veces (▵), seis veces (▹), siete veces (▸), nueve veces (▾) o diez veces (►). El primer componente (PC1) explicó 22% de la variación y el PC2 17%. B) Análisis de coordenadas principales de las distancias UniFrac de las OTUs bacterianas agrupadas al 97% de similitud. Las leyendas de la Figura son iguales que A).

El suelo sin lavar se encontró en el cuadrante inferior derecho, el suelo lavado una o dos veces en el cuadrante inferior izquierdo y el suelo lavado ≥ 6 veces en el cuadrante superior izquierdo o derecho. El suelo sin lavar con mayores valores de CE, contenido de limo y arcilla, tuvo mayor abundancia de Chlorobi, Cianobacteria y Proteobacteria que los suelos lavados una o dos veces y estuvieron caracterizados por una gran abundancia relativa de BRC1 Fibrobacteres. Los suelos lavados por lo menos seis veces con un alto contenido de arena se caracterizaron por una gran abundancia relativa de otros phyla bacterianos como Actinobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes, Gemmatimonadetes, y Verrucomicrobia.

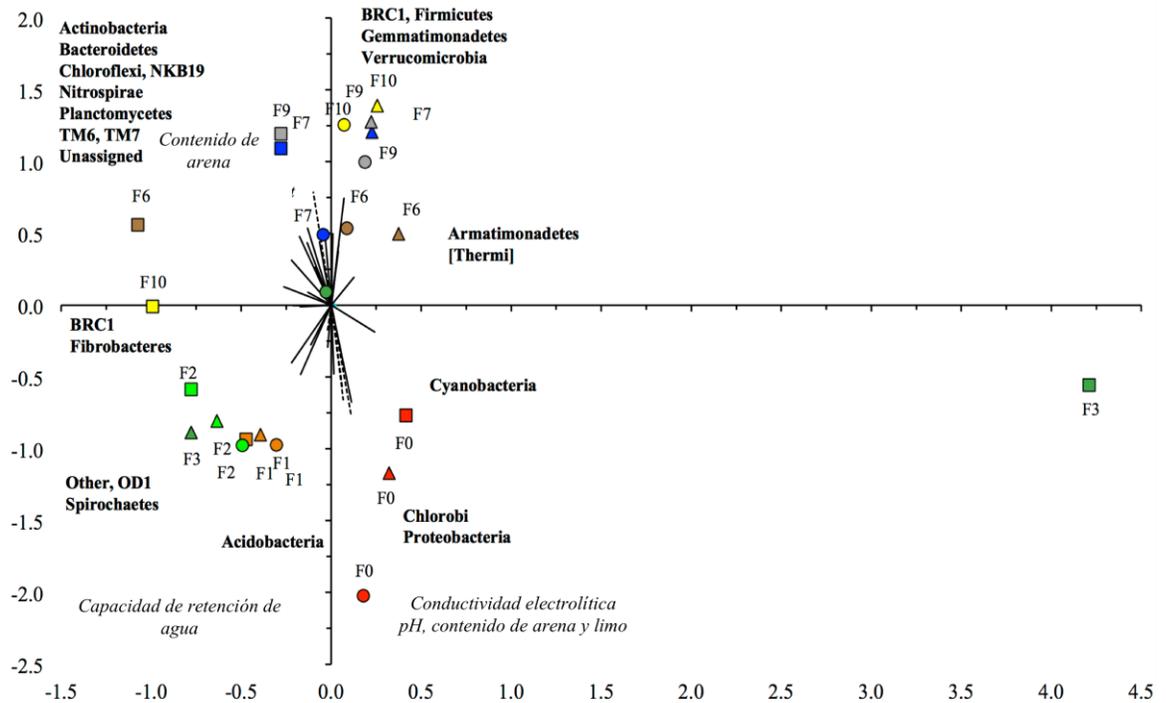


Figura 5. Análisis de correlación canónica con grupos bacterianos del primer sitio de muestreo del suelo de Texcoco no lavado (■), lavado una vez (■), lavado dos veces (■), tres veces (■), seis veces (■), siete veces (■), nueve veces (■) o diez veces (■), del sitio 2 no lavado (●), lavado una vez (●), dos veces (●), tres veces (●), seis veces (●), siete veces (●), nueve veces (●) o diez veces (●), y sitio 3 no lavado (▲), lavado una vez (▲), dos veces (▲), tres veces (▲), seis veces (▲), siete veces (▲), nueve veces (▲) o diez veces (▲). El primer componente (PC1) explicó 22% de la variación y el PC2 17%.

El coeficiente de correlación (r) entre las comunidades bacterianas del suelo, i.e., OTUs a una similitud de 97 %, y las propiedades fisicoquímicas del suelo, i.e., pH, CE, CRA, contenido de arena y de arcilla fue más alto que para Arquea. La variable ambiental con la mejor correlación para la comunidad bacteriana fue el contenido de arcilla con un valor de r de 0.438.

Diversidad alfa

De la secuenciación de bacterias del suelo adicionado con residuos de maíz y FDN se obtuvieron 631,155 secuencias no quiméricas, de buena calidad que se agruparon en 8,917 OTUs (OTU₉₇). Lavar el suelo redujo significativamente la riqueza de especies, i.e., el índice Chao1, pero no afectó los índices de diversidad, i.e., Simpson, Shannon, y diversidad filogenética. Se detectaron 29 phyla, 88 clases, 165 órdenes, 309 familia, y 510 géneros.

Estructura de la población bacteriana en el suelo control lavado e incubado en condiciones aerobias

La abundancia relativa de diferentes grupos bacterianos mostró grandes fluctuaciones en el suelo sin lavar incubado por 28 días. Por ejemplo, la abundancia relativa de Proteobacteria, disminuyó de 83.4% en el día 0 a 7.2% en el día 7, mientras que los Firmicutes (principalmente Bacillales) incrementaron de 2.7 a 31.6%. Estas fluctuaciones en abundancia relativa de los diferentes grupos bacterianos durante la incubación aerobia de 28 días disminuyeron con el aumento de lavados. Aproximadamente el 25 % de las secuencias permanecieron sin asignar, independientemente del número de lavados.

Lavar el suelo afectó la abundancia relativa (promediando la incubación de 28 días) de diferentes grupos bacterianos. Por ejemplo, lavar el suelo una vez aumentó la abundancia relativa de Actinobacteria, Gemmatimonadetes, y [Thermi] comparada con el suelo sin lavar, pero los aumentos posteriores fueron pequeños, mientras que Planctomycetes, TM7 y Verrucomicrobia tendieron a aumentar con el aumento en los lavados (**Figura 6**). La abundancia relativa de Acidobacteria, Cianobacteria, Chlorobi, Firmicutes, SBR1093 y Spirochaetes disminuyó en el suelo lavado comparado con el suelo sin lavar.

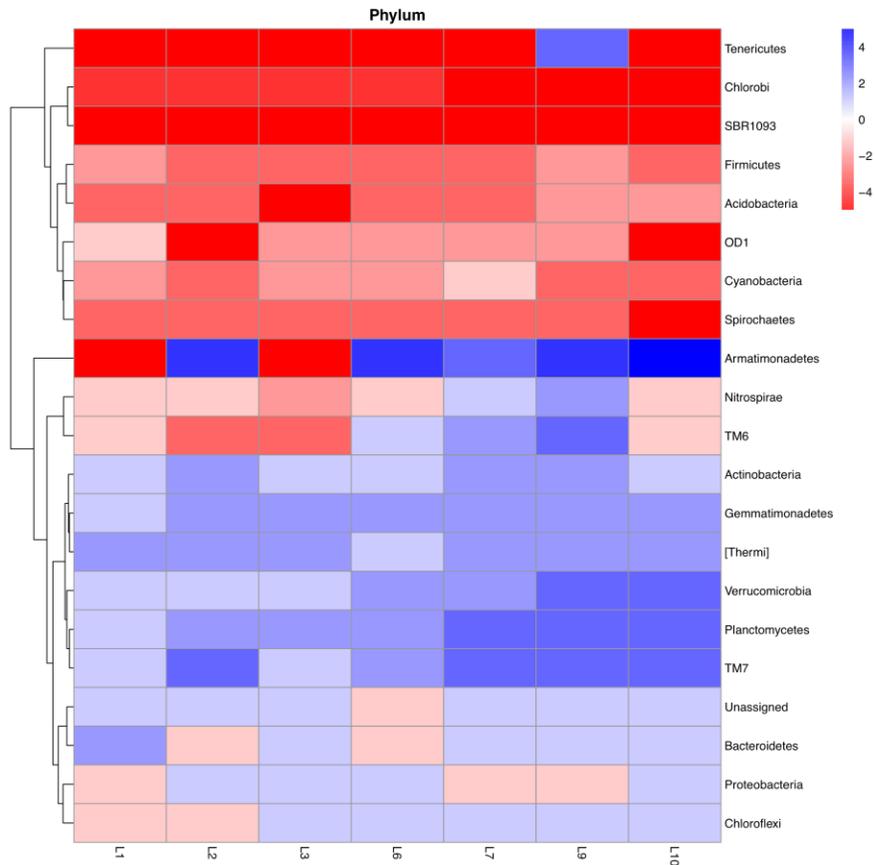


Figura 6. Heatmap de las relaciones entre las abundancias relativas de diferentes phyla bacterianos del suelo lavado una vez (1), dos (2), tres (3), seis (6), siete (7), nueve (9) o diez veces (10). La relación se calculó como: (abundancia relativa del grupo bacteriano del suelo lavado – abundancia relativa del grupo bacteriano en el suelo no lavado) / abundancia relativa del grupo bacteriano en el suelo no lavado. Las relaciones fueron categorizadas de la siguiente manera -5: relación entre el suelo lavado y no lavado ≤ -0.99 , valor -4: relación $> -0.99 \leq -0.96$, valor -3: relación $> -0.96 \leq -0.80$, valor -2: relación $> -0.80 \leq -0.50$, valor -1: relación $> -0.50 > 0$, valor 0: relación = 0, valor 1: ratio $> 0 \text{ y } < 1$, valor 2: relación $\geq 1 \text{ y } < 4$, valor 3: relación $\geq 4 \text{ y } < 24$, valor 4: relación $\geq 24 \text{ y } < 99$, valor 5: relación ≥ 99 .

El PCA visualizó los cambios claramente (**Figura 7**). En principio, la abundancia relativa de los diferentes grupos bacterianos tuvo variaciones grandes en el suelo sin lavar durante los 28 días de incubación. La estructura de la comunidad bacteriana en el suelo sin lavar en los días 7 y 14 fue claramente diferente a la de los días 0 y 28. En segundo lugar, el mayor cambio en la estructura de la comunidad bacteriana fue después del primer lavado, mientras que los lavados siguientes fueron más pequeños. El suelo sin lavar estuvo caracterizado principalmente por un CP1 positivo (gran abundancia relativa de Proteobacteria), mientras le

lavado favoreció a Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Planctomyecetes, [Thermi], TM7 y Verrucomicrobia.

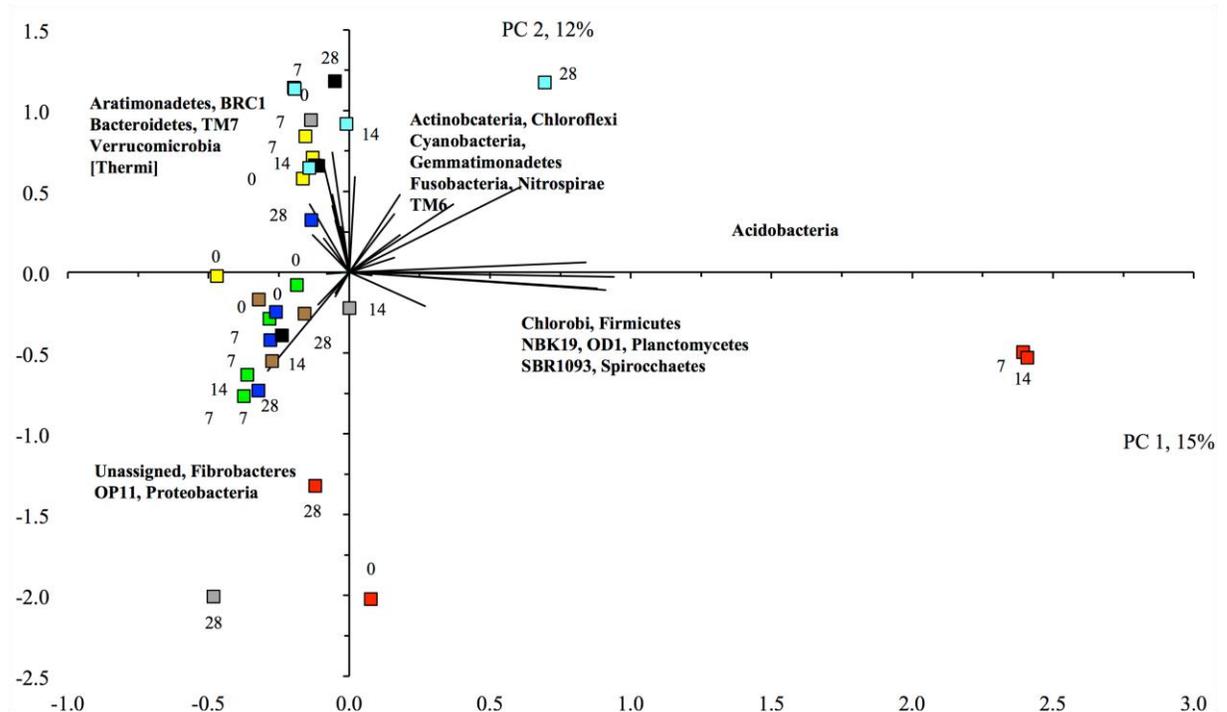


Figura 7. Análisis de componentes principales con diferentes phyla bacterianos recuperados del suelo control sin lavar (■), lavado una vez (■), dos (■), tres (■), seis (■), siete (■), nueve (■) o diez veces (■).

El análisis de correlación canónico indicó que la mayoría de los suelos lavados > 3 veces se agruparon en el cuadrante inferior izquierdo, i.e., mayores contenidos de arena y CRA y abundancias relativas mayores de Actinobacteria, Gemmatimonadetes, y Verrucomicrobia, y la mayoría de los suelos lavados <3 veces principalmente en los cuadrantes superior e inferior izquierdos, i.e., abundancia relativa más alta de Acidobacteria, Bacteroidetes, y Proteobacteria, y altos valores de CE (Figura 8). Sin embargo, la variación entre algunas de las réplicas también fue grande, e.g., el suelo lavado tres, seis y diez veces. El análisis BioEnv mostró que la comunidad bacteriana en el suelo control se correlacionaba positivamente con el contenido de arcilla, con un coeficiente de correlación Spearman de 0.438.

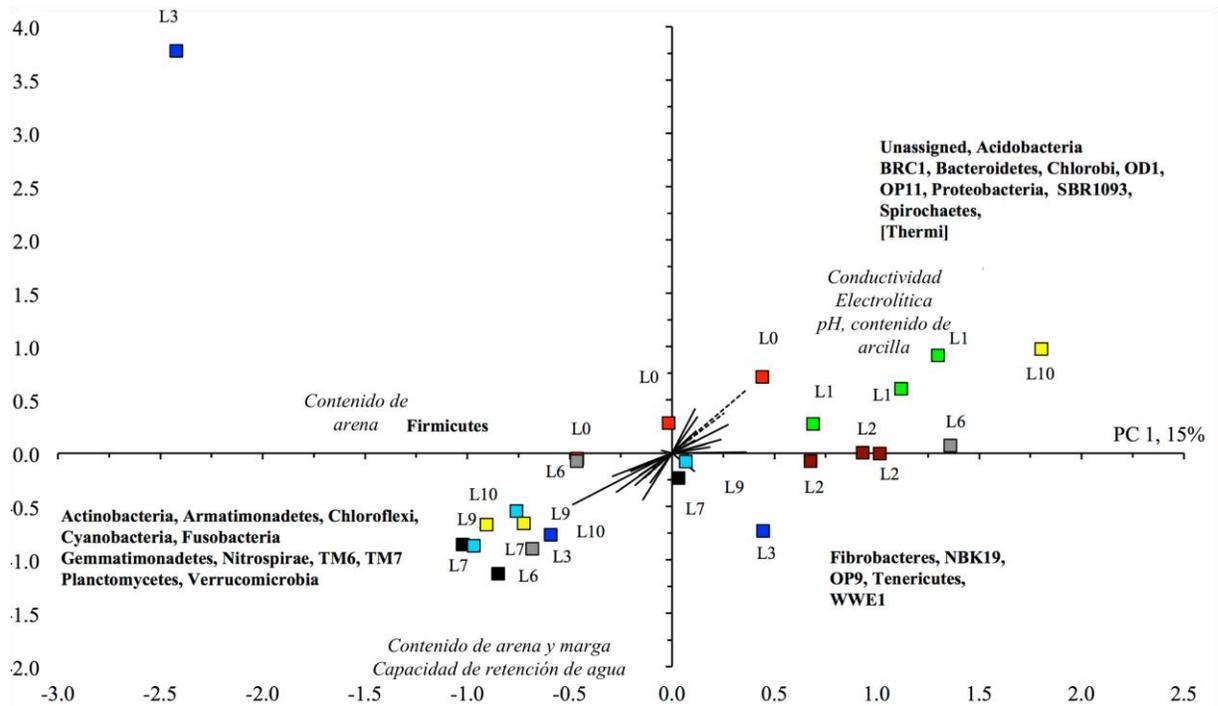


Figura 8. Análisis de correlación canónico con los diferentes phyla bacterianos recuperados del suelo control no lavado (■), lavado una vez (■), dos (■), tres (■), seis (■), siete (■), nueve (■) o diez veces (■), al inicio del experimento y las diferentes características del suelo.

Mineralización del Carbono

Lavar el suelo una vez redujo drásticamente el CO₂ emitido, pero más lavados no tuvieron un efecto claro (Figura9). La aplicación de plantas de maíz y FDN aumentó el CO₂ emitido significativamente, independientemente del número de lavados (P <0.05). La diferencia entre el CO₂ emitido del suelo adicionado con FDN y el suelo control aumentó de 84 mg C Kg de suelo⁻¹ (o 4 % de la materia orgánica añadida) en el suelo no lavado a 499 mg C kg de suelo⁻¹ en el suelo lavado dos veces, y disminuyó a 243 mg C kg de suelo⁻¹ en el suelo lavado seis veces. Y permaneció constante después. Un patrón similar se encontró en el suelo adicionado con plantas de maíz, i.e., la diferencia entre el suelo adicionado con maíz y el suelo control fue 353 mg C kg de suelo⁻¹(o 18% de la materia orgánica añadida) en el suelo no lavado, 836 mg C kg de suelo⁻¹ en el suelo lavado dos veces, 549 mg C kg de suelo⁻¹ lavado seis veces y permaneció constante en los lavados siguientes.

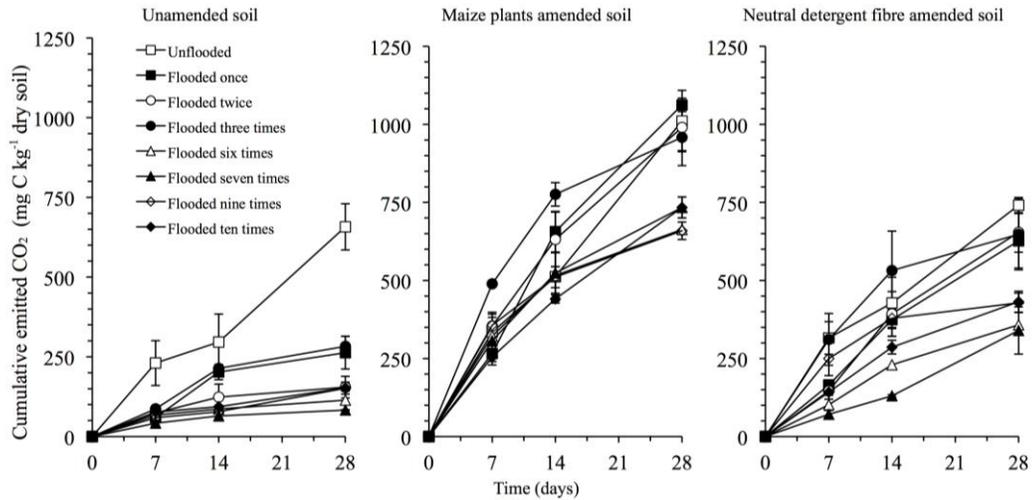


Figura 9. Emisión de CO₂ (mg C kg⁻¹ suelo seco) del suelo control, suelo adicionado con residuos de maíz y su FDN.

Población bacteriana en los suelos adicionados con residuos de maíz y FDN

Adicionar residuos de maíz o FDN cambió la estructura de la comunidad bacteriana y estos cambios en la abundancia relativa de los grupos bacterianos cuando se adicionó la materia orgánica variaron con el número de lavados. Las variaciones en el tiempo en la incubación de 28 días fueron mayores en el suelo no lavado adicionado con residuos de maíz o FDN que en el suelo lavado 10 veces adicionado con material orgánico. La aplicación de plantas de maíz o FDN al suelo no lavado aumentó la abundancia relativa de Firmicutes (Bacillales y Oceanospirillales) y la abundancia relativa de Actinobacteria (Actinomycetales) cuando el suelo fue lavado diez veces.

La abundancia relativa de un conjunto limitado de grupos bacterianos aumentó cuando el maíz o el FDN se aplicó al suelo, en comparación con el suelo control (**Figura 10**). Por ejemplo, tomando en cuenta sólo los phyla, la abundancia relativa de Firmicutes aumentó sobre todo cuando el residuo de maíz y a veces el FDN, se aplicó al suelo lavado. Aunque la abundancia relativa de Actinobacteria disminuyó cuando el FDN y el maíz se aplicaron al suelo no lavado ($P < 0.0001$), esta tendencia se invirtió cuando el suelo se lavó.

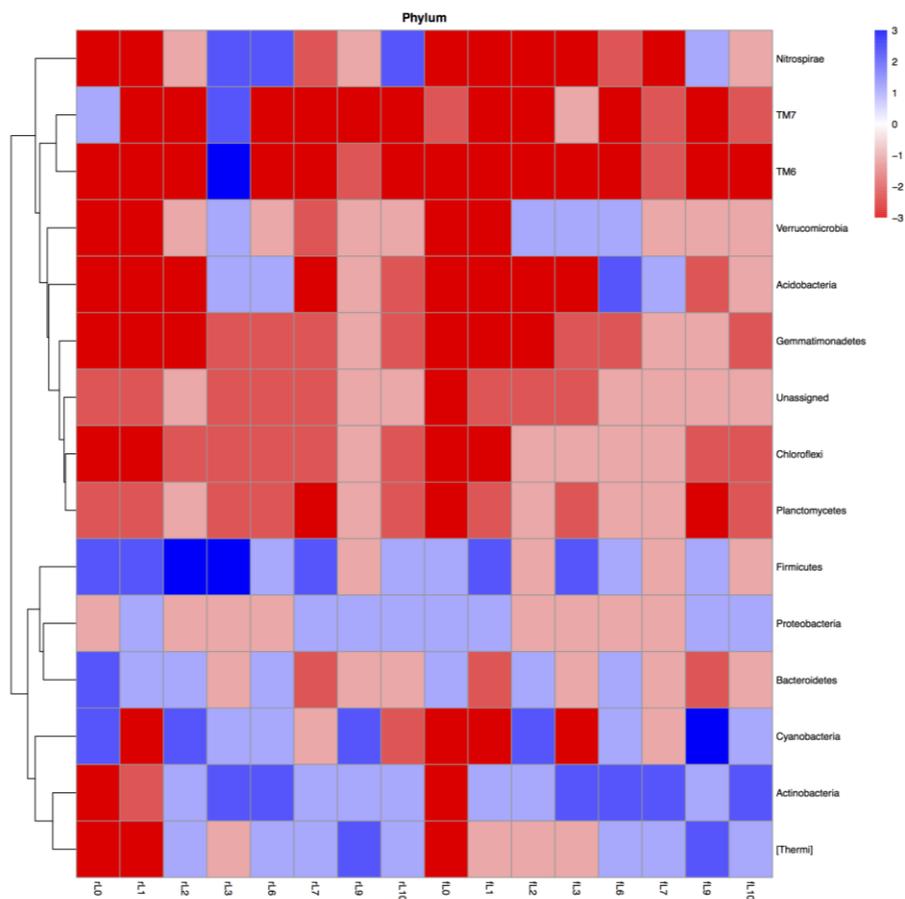


Figura 10. Heatmap de las relaciones entre la abundancia relativa de diferentes phyla bacterianos en el suelo control contra el suelo adicionado con residuos de maíz o su fracción fibrosa (FDN) para suelo no lavado (rL0) lavado una (rL1), dos (rL2), tres (rL3), seis (rL6), siete (rL7), nueve (rL9) o diez veces (rL10). La relación se calculó como: [(abundancia relativa del grupo bacteriano en el suelo adicionado con maíz – abundancia relativa del grupo bacteriano en el suelo control) / abundancia relativa del grupo bacteriano en el suelo control]. Heatmaps con las relaciones se hicieron en R usando pheatmap y gplots. Las relaciones se categorizaron con valor -5: relación ≤ -0.99 , valor -4: relación $> -0.99 \leq -0.96$, valor -3: relación > -0.96 y ≤ -0.80 , valor -2: relación $> -0.80 \leq -0.50$, valor -1: relación $> -0.50 > 0$, valor 0: relación = 0, valor 1: relación > 0 y < 1 , valor 2: relación ≥ 1 y < 4 , valor 3: relación ≥ 4 y < 24 , valor 4: relación ≥ 24 y < 99 , valor 5: relación ≥ 99 .

Aplicar maíz o FDN al suelo lavado disminuyó la abundancia relativa de un gran número de grupos bacterianos (**Figura 10**). La abundancia relativa de Chloroflexi, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, y las secuencias sin asignación casi siempre disminuyeron cuando se añadió maíz o FDN.

Tanto el análisis ANOSIM como el de PERMANOVA, de las poblaciones bacterianas en los tres diferentes tratamientos (suelo control, y suelo adicionado con maíz y FDN), mostraron que las poblaciones bacterianas en el suelo control fueron siempre

significativamente muy diferentes a los tratamientos de suelo adicionado con maíz y FDN. La comunidad bacteriana en el suelo adicionado con maíz fue significativamente diferente al suelo adicionado con FDN con CE 157.8, 47.3, 5 y 3.3 dS m⁻¹. (**Tabla3**)

El PCA mostró un claro efecto del lavado en la estructura de la comunidad bacteriana del suelo adicionado con maíz (**Figura11**). El suelo sin lavar se ubicó en el cuadrante superior izquierdo, i.e., con una abundancia relativa más grande de Bacteroidetes y Firmicutes comparado con otros suelos, y una baja abundancia relativa de Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Planctomycetes y Verrucomicrobia. El suelo lavado una vez también se ubicó en el cuadrante superior izquierdo, pero el valor del componente principal 2 (PC2) fue bajo, i.e., una abundancia relativa baja de Bacteroidetes y Firmicutes, que en el suelo no lavado. Lavar más el suelo aumentó la abundancia relativa de Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, y Verrucomicrobia, i.e., el valor del PC1 aumentó. Consecuentemente, el suelo lavado nueve y diez veces se encontró en el cuadrante inferior derecho, i.e., un CP1 positivo o la abundancia relativa más alta para Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, y Verrucomicrobia.

Tabla 3. ANOSIM y PERMANOVA (*Permutational multivariate analysis of variance*) utilizando las distancias UniFrac, para probar las diferencias en las comunidades bacterianas en los diferentes tratamientos ($n = 999$).

PERMANOVA						
CE ^a	<i>Suelo control vs suelo con maíz</i>		<i>Suelo control vs suelo con NDF</i>		<i>Suelo con maíz vs suelo con FDN</i>	
	Pseudo-F	Valor P	Pseudo-F	Valor P	Pseudo-F	Valor P
(dS m ⁻¹)						
157.8	6.055	0.001	7.691	0.001	2.457	0.001
47.3	5.917	0.001	5.379	0.001	1.801	0.001
14.1	3.329	0.001	2.945	0.001	1.384	0.017
8.3	2.651	0.001	2.651	0.001	1.317	0.071
5.0	2.602	0.001	2.697	0.001	1.850	0.001
3.3	3.871	0.001	2.028	0.001	1.847	0.001
2.3	2.121	0.001	2.719	0.001	1.049	0.322
1.7	2.475	0.001	2.719	0.001	1.162	0.190
ANOSIM						
CE ^a	R	Valor P	R	Valor P	R	Valor P
(dS m ⁻¹)						
157.8	0.953	0.001	0.373	0.003	0.407	0.003
47.3	0.956	0.001	0.882	0.001	0.357	0.001
14.1	0.571	0.001	0.495	0.001	0.217	0.007
8.3	0.481	0.001	0.481	0.001	0.090	0.108
5.0	0.454	0.001	0.448	0.001	0.266	0.001
3.3	0.767	0.001	0.398	0.001	0.380	0.001
2.3	0.284	0.001	0.464	0.001	0.019	0.350
1.7	0.460	0.001	0.441	0.001	0.067	0.177

^a CE: Conductividad Electrolítica.

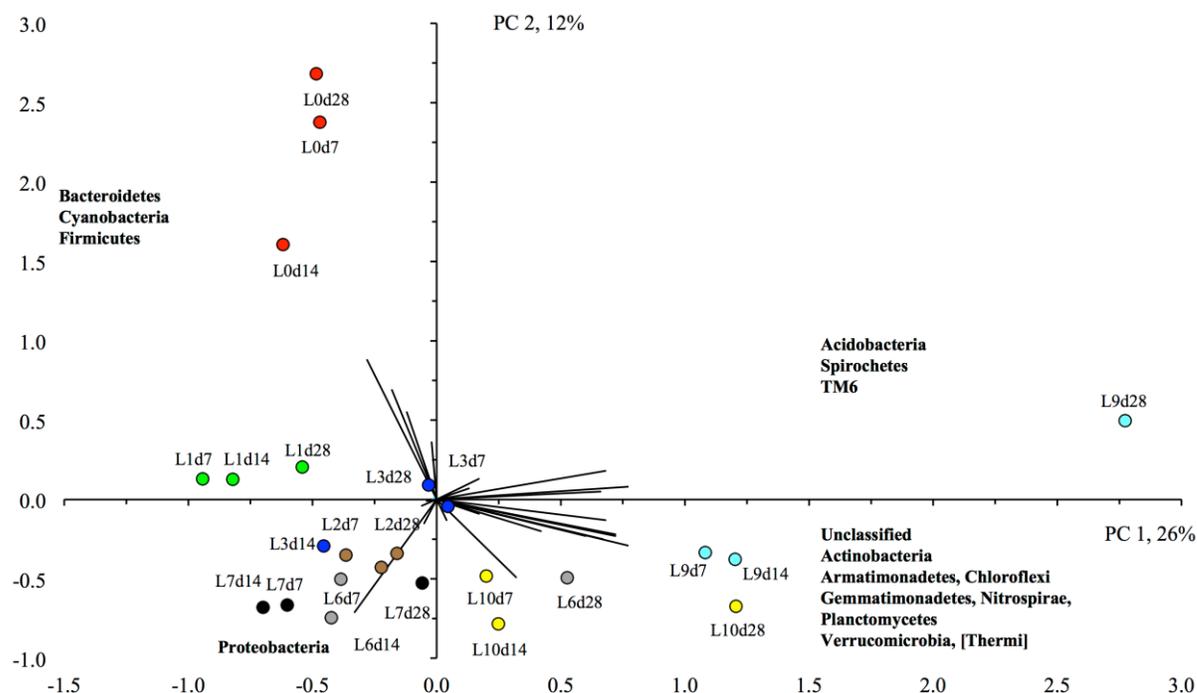


Figura 11. Análisis de componentes principales con diferentes phyla de bacterias obtenidos del suelo lavado adicionado con plantas de maíz (●) o lavado una vez (●), dos (●), tres (●), seis (●), siete (●), nueve (●) o diez veces (●).

El PCA también mostró un claro efecto del lavado en la estructura de la comunidad del suelo añadido con NDF (**Figura 12**). El suelo sin lavar se ubicó en el cuadrante inferior izquierdo, i.e., con la abundancia relativa más alta de Bacteroidetes, Firmicutes, y Proteobacteria, comparado con otros suelos, y una baja abundancia relativa de Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, y Verrucomicrobia. El suelo lavado una y dos veces también se ubicó en el cuadrante inferior izquierdo, pero el valor para el CP1 fue más bajo, i.e., una baja abundancia relativa de Bacteroidetes y Firmicutes, que en el suelo sin lavar. Lavar más el suelo incrementó la abundancia relativa de Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, y Verrucomicrobia, i.e., el valor de CP1 aumentó. Por lo tanto, los suelos lavados nueve y diez veces se encontraron en los cuadrantes superior e

inferior derechos, i.e., tuvieron un valor positivo del componente 1 o la mayor abundancia relativa de Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, y Verrucomicrobia.

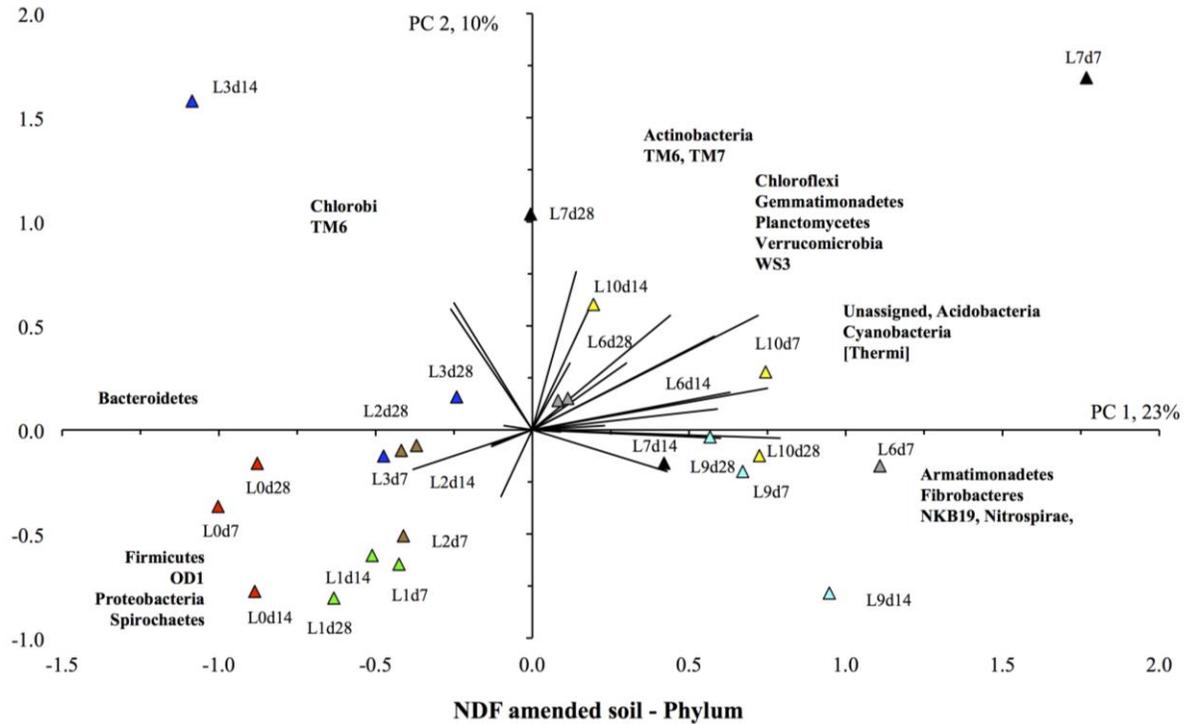


Figura 12. Análisis de componentes principales con los diferentes phyla bacterianos obtenidos del suelo no lavado adicionado con FDN (▲) o lavado una vez (▲), dos veces (▲), tres (▲), seis (▲), siete (▲), nueve (▲) o diez veces (▲).

El coeficiente de correlación Spearman (r) entre las comunidades bacterianas del suelo y las propiedades fisicoquímicas fue alta. El análisis BioEnv mostró que la comunidad en el tratamiento FDN se correlacionó con la CE, contenido de limo y arena, y en el tratamiento con maíz con la CE, con un coeficiente de correlación Spearman de 0.863 y 0.922, respectivamente.

Degradadores de la materia orgánica aplicada

Algunos patrones distintivos explican cómo los grupos bacterianos responden a la aplicación de maíz al suelo con un pH alto cuando el contenido de sales disminuyó debido al lavado.

Primero, algunos grupos bacterianos no estuvieron favorecidos (su abundancia relativa disminuyó) por la aplicación del material orgánico y los cambios en la relación de la abundancia relativa en el suelo control vs el suelo adicionado con maíz fueron pequeños o no mostraron un patrón claro con la disminución del contenido de sales. Estos pueden ser considerados como “indefinidos”. Diferentes grupos bacterianos, como *Bacteroidetes*, *Marinimicrobium* y *Nitriluptor*, no mostraron un patrón claro en el ratio de suelo control vs suelo adicionado con maíz. La relación en la abundancia relativa de suelo acondicionado con maíz vs el suelo control de filotipos pertenecientes a *Proteobacteria*, tampoco tuvieron un patrón definido con la disminución de la CE, aunque a niveles taxonómicos más bajos de este phylum los grupos bacterianos fueron claramente favorecidos por la aplicación de residuos de maíz y su respuesta se relacionó a veces con el contenido de sales del suelo (**Figura 13, A**).

Segundo, algunos grupos bacterianos fueron favorecidos por la aplicación de las plantas de maíz y participaron en su descomposición independientemente del contenido de sales del suelo. Pueden ser considerados “copiótrofos”. La abundancia relativa de filotipos pertenecientes a grupos bacterianos, como *Bacillus*, siempre se incrementan en el suelo adicionado con plantas de maíz comparado con el suelo control (**Figura 13, B**).

Tercero, otros grupos bacterianos fueron favorecidos por la aplicación de plantas de maíz, pero sólo después de que el suelo fuera lavado y la CE disminuyera. Ellos participan en la degradación de plantas de maíz, pero sólo cuando el contenido de sales disminuyó sustancialmente, así que pueden ser considerados “copiótrofos salinos adversos”. La abundancia relativa de filotipos pertenecientes a grupos bacterianos, como *Nocardiopsis*, *Prauseria*, y *Streptomyces*, se incrementó en el suelo adicionado con plantas de maíz

comparado con el suelo control cuando el suelo fue lavado por lo menos una vez (**Figura 13, C**).

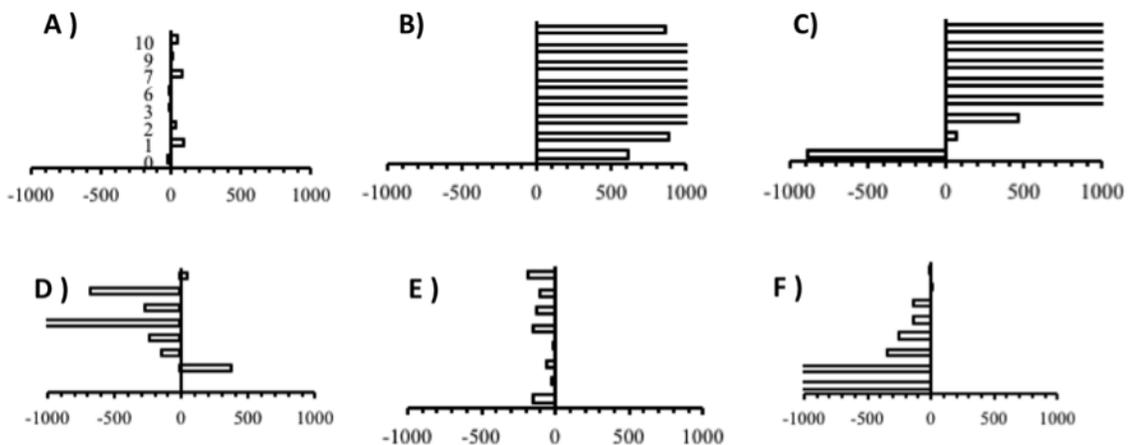


Figura 13. Patrones de las relaciones de abundancias relativas de bacterias tras la adición de material orgánico y lavado del suelo.

Cuarto, la aplicación de plantas de maíz favoreció pocos grupos bacterianos, pero disminuir la CE detuvo esta tendencia. Estos grupos participaron en la degradación de plantas de maíz cuando el contenido de sales era alto, pero no cuando el contenido de sales disminuyó y pueden ser considerados “copiótrofos salinos”. Estos fueron sólo un pequeño grupo y la abundancia relativa de los filotipos pertenecientes a grupos bacterianos, como *Idiomarinaceae* y *Sphingobacteriales*, tuvieron este comportamiento (**Figura 13,D**).

Quinto, la abundancia relativa de algunos grupos bacterianos disminuyó cuando las plantas de maíz se adicionaron independientemente del cambio en el contenido de sales. Pueden ser considerados como “oligótrofos”. La abundancia relativa de filotipos pertenecientes a estos grupos bacterianos, como *Deltaproteobacteria*, *Gemm-5*, y *Planctomycetes*, disminuyó en el suelo adicionado con plantas de maíz comparado con el suelo control, independientemente del contenido de sales del suelo (**Figura 13, E**).

Sexto, la abundancia relativa de estos grupos bacterianos disminuyó drásticamente cuando las plantas de maíz se adicionaron al suelo, pero este efecto disminuyó cuando el contenido de sales del suelo se redujo con los lavados. Estos pueden ser considerados “Oligótrofos salinos”. La abundancia relativa de filotipos pertenecientes a grupos bacterianos, como *Acidimicrobiales*, *Alphaproteobacteria*, *Chloroflexi*, *Euzebya*,

Gemmatimonadetes y Rubricoccus Verrucomicrobia, disminuyó en el suelo adicionado con plantas de maíz comparado con el suelo control independientemente del contenido de sales del suelo (**Figura 13, F**).

La relación entre la abundancia relativa de los grupos bacterianos en el suelo adicionado con FDN y el suelo control con diferente salinidad mostró un patrón similar al observado cuando se añadió plantas de maíz, excepto por filotipos pertenecientes a Pseudomonadales. La abundancia relativa de los Pseudomonadales fue muy diferente en el suelo control, el suelo adicionado con FDN y el suelo adicionado con residuos de maíz, con un decreciente contenido de sales. Los filotipos pertenecientes a los Pseudomonadales participaron en la degradación del FDN en el suelo $\geq 14.1 \text{ dS m}^{-1}$, no participaron en el suelo con CE entre $\leq 8.3 \text{ dS m}^{-1}$ y $\geq 3.3 \text{ dS m}^{-1}$ y participaron de nuevo cuando la CE $\leq 2.3 \text{ dS m}^{-1}$.

Los filotipos pertenecientes a Pseudomonadales no participaron en la degradación de las plantas de maíz en el suelo con CE $\geq 14.1 \text{ dS m}^{-1}$, pero no participaron cuando la CE disminuyó a $\leq 8.3 \text{ dS m}^{-1}$. Interesantemente, diferentes patrones también se encontraron cuando se tomaron en cuenta los grupos bacterianos a un nivel taxonómico más bajo de Pseudomonadales, e.g., Acinetobacter, otros Pseudomonadaceae y *Pseudomonas*. Por ejemplo, la abundancia relativa de *Pseudomonas* aumentó drásticamente en el suelo adicionado con FDN con CE 157.8 dS m^{-1} , pero menos en el suelo adicionado con maíz.

DISCUSIÓN

Características del suelo

En un experimento previo la CE disminuyó de 59.2 a 21.3 dSm⁻¹ al lavar el suelo del exlago de Texcoco dos veces (Dendooven et al., 2015). Lavar el suelo en el campo con efluentes residuales instalando un sistema de drenaje también redujo la CE de 39.9 dSm⁻¹ en el suelo sin lavar a 12.6 dS m⁻¹ después de 8 años (Luna-Guido et al., 2000).

En experimentos previos, el tamaño de distribución de partícula del suelo del exlago de Texcoco fue altamente variable. Por ejemplo, el contenido de arcilla fue 440 g Kg⁻¹ en el suelo no lavado y disminuyó a 240 g kg⁻¹ en el suelo lavado y drenado por 8 años, mientras el contenido de arena aumentó de 400 a 720 g kg⁻¹ (Luna-Guido et al., 2000). Supusimos que esto fue debido a la variación intrínseca del suelo o que lavar el suelo y drenarlo arrastró las partículas de arcilla mientras las partículas de arena permanecieron. En este experimento bajo condiciones controladas se confirmó que lavar el suelo arrastró las partículas de arcilla, ya que el contenido de arcilla disminuyó de 430 a 270 g kg⁻¹, mientras que el contenido de arena aumentó de 260 a 500 g kg⁻¹.

Dado que el suelo es un ambiente complejo, es difícil definir qué factores controlan la estructura de la comunidad bacteriana en un ecosistema, ya que cambios en un factor están acompañados por cambios en otras características del suelo. Por ejemplo, el contenido de arcilla está relacionado con la proporción de absorción de sodio y el pH (Oades; Nelson y Oades, 1998), dispersión de la materia orgánica y sodicidad en suelos (Norrström y Bergstedt, 2001; Rietz y Haynes, 2003; Wong et al., 2008). Se asumió que lavar el suelo del exlago de Texcoco disminuiría el contenido de sales, pero no afectaría otras características, dado que el efecto de la CE en la comunidad bacteriana pudiera ser determinado. Lavar el suelo del exlago de Texcoco mensualmente redujo drásticamente la CE, pero no el pH, un factor conocido por afectar la estructura de las comunidades bacterianas, aun sus pequeños cambios (Fuentes et al., 2006; Nacke et al., 2011; Kurame et al., 2012; Lanzén et al., 2015).

En estudios previos en campo se encontró que el suelo del exlago de Texcoco lavado en el campo por periodos extendidos tendía a tener un contenido de arcilla menor que el

suelo sin lavar. En este estudio el contenido de arcilla también disminuyó gradualmente debido al lavado. Se sabe que la arcilla afecta la estructura de las comunidades bacterianas del suelo (Ling et al., 2014; Wei et al., 2014). Consecuentemente, los cambios a corto plazo en la estructura de la comunidad bacteriana estuvieron controlados por los cambios en la CE, pero la disminución gradual de arcilla también pudo haber afectado la estructura de la comunidad bacteriana.

Comunidades de Arquea

El filotipo de Arquea con mayor abundancia relativa en el suelo del exlago de Texcoco fue Euryarchaeota (91.82 ± 0.09%). Por lo general dominan en el suelo (Schneider et al., 2015), pero también en algunas cuencas marinas, e.g., el noreste del Mar Negro (Stoica y Herndl, 2007). Este phylum también ha sido encontrado en gran abundancia en experimentos previos. Más del 95% de las clonas analizadas por Valenzuela-Encinas et al. (2008) en un suelo con CE 159 dS m⁻¹ y pH 10.5, estaban afiliadas a miembros de la familia Halobacteriaceae pertenecientes al phylum Euryarqueota. Navarro-Noya et al. (2015) también encontraron Euryarqueota con mayor abundancia en el suelo con 157.1 dSm⁻¹ y pH 10.2.

Filotipos pertenecientes a tres diferentes clases de Euryarqueota se detectaron en el suelo de Texcoco: Halobacteria (87.61 ± 0.11%), que sobrevive salinidad extrema, Methanomicrobia (0.06 ± 0.001%), que produce metano y contiene halófilas, y Themoplasmata (4.16 ± 0.04%), termófilos aerobios y anaerobios extremos. La mayoría de los géneros de Arquea de las halobacterias detectadas en el suelo de Texcoco han sido descritas en lagos salinos, e.g., *Natronococcus*, *Natronomonas*, *Halorubrum* y *Halobiforma* (Jones et al., 1998; Grant y Sorokin, 2011), y en aguas ricas en Mg²⁺, e.g., *Natronococcus*, *Halorabdus* y *Natronomonas* (Oren, 2002; Rhodes et al., 2012). *Natronococcus* (18.28 ± 0.08%) fue el género más abundante junto con *Halobiforma* (9.08 ± 0.08%), contrariamente, Najjari et al. (2015), mientras estudiaba Arqueas halófilas (clase Halobacteria) en lagos salinos endorreicos, reportó una abundancia relativa máxima de 1.6% para *Natronococcus*. El género estuvo ausente de las muestras, por lo que lo consideraron como un género raro o poco abundante. En el suelo de Texcoco *Natronococcus* se favoreció por el pH alto más que por la

salinidad. Najjari et al. (2015) consideró *Halobiforma* como un género moderadamente abundante alcanzando una abundancia relativa de 18.8%, similar a la hallada en el suelo no lavado, en una muestra de sedimento con 6.7% de salinidad. Ellos consideraron *Halogramum* y *Halorubrum* como géneros consistentemente abundantes, pero en este estudio sólo se encontró *Halogramum* en una sola muestra (abundancia relativa de 0.026%) y la abundancia relativa de *Halorubrum* permaneció baja ($\leq 0.052\%$). Es posible que *Halobiforma* esté mejor adaptada a alto contenido de sales (21% en el suelo sin lavar), dado que su abundancia relativa disminuyó a la mitad después del primer lavado (8.5%) y permaneció baja después. Algunos filotipos pertenecientes a este género requieren sales para crecer. Por ejemplo, *Halobiforma lacisalsi*, aislada de un lago salado en China, requiere >1.7 M NaCl y crece óptimamente a 2.6 y 4.3 M de NaCl (Xu et al., 2005). *Natronococcus* (29.53% en el suelo no lavado) y *Haloterrigena* (7.9% en el suelo no lavado), también estuvieron mejor adaptados a alta concentración de sales, pero el efecto de una reducción de sales en la última fue más lento y la primera pareció adaptarse a una disminución del contenido de sales mientras su abundancia relativa aumentaba de nuevo después de diez lavados. Cabe señalar que en este estudio, como en la mayoría de su tipo, no se midió la abundancia absoluta, sino la abundancia relativa de filotipos.

La abundancia relativa de Thaumarchaeota fue baja en el suelo del exlago de Texcoco. Este phylum está asociado con organismos oxidadores de amonio que ganan energía por catabolismo quimiolitótrofo y son autótrofos o mixótrofos obligados (Könneke et al., 2005; Qin et al., 2014; Sintet et al., 2016). Son encontrados en suelos, en ambientes marinos, en la superficie de rocas intemperizadas y aguas termales, y son abundantes en sedimentos de manglares tropicales (Stieglmeier et al., 2014; Dong et al., 2015; Loganathachetti et al., 2016), y Thaumarchaeota domina la zona mesopelágica y batipelágica en aguas oceánicas profundas (Zhu et al., 2016). Filotipos pertenecientes a *Nitrosopumilus* y *Candidatus Nitrosphaera* (Thaumarchaeota) fueron detectados en el suelo de Texcoco. *Nitrosopumilus maritimus* es autótrofo y un nitrificador aislado de ambientes marinos (Walker et al., 2010). Existe poca información acerca de *Candidatus Nitrosphaera*, pero fue una de las Arqueas más abundantes en dos suelos de la región Amazónica (Taketani y Tsai, 2010).

Crenarchaeota fue el filogrupo menos abundante en el suelo de Texcoco. Los Crenarchaeota son abundantes en océanos, aunque algunos han sido encontrados en suelo (Ramos-Vera et al., 2011), como en este estudio. Se pensaba que eran extremófilos dependientes de azufre, pero estudios recientes indican que estos organismos pueden ser las Arqueas más abundantes en algunos ambientes marinos, e.g., sedimentos, océano profundo, o subsuperficie (Karner et al., 2001; Kirchman, 2012).

Aunque lavar el suelo disminuyó drásticamente la CE, menos grupos de Arqueas se vieron afectados por los cambios en el contenido de sales que los grupos de bacterias. Existen varias explicaciones para esta observación. Primero, el cambio en la CE fue muy pequeño para alterar la estructura de la comunidad de Arquea. En contraste con la estructura de la comunidad bacteriana que fue alterada con el primer lavado. La comunidad de Arquea fue más resistente a cambios en la CE que la comunidad de bacterias y sólo después de un periodo largo de tiempo la estructura de la comunidad de Arqueas cambió. Segundo, la CE no fue el factor de mayor influencia sobre la comunidad de Arqueas, sino el pH o el contenido de materia orgánica, que no cambiaron durante el lavado. Tripathi et al. (2015) encontraron que el pH se correlaciona con la composición de la comunidad de Arqueas en suelos templados y tropicales, sino también el bioma, mientras Canfora et al. (2015) reportaron que la materia orgánica favorece su diversidad. Navarro-Noya et al. (2015) reportaron que las diferencias en el pH explican mejor la composición de la comunidad de arqueas en los suelos haloalcalinos del exlago de Texcoco. Tercero, no hay que olvidar que el número taxonómico de Arqueas fue más bajo que el de bacterias. Esto también podría explicar por qué menos grupos de Arqueas se vieron afectados por la disminución del contenido de sales que grupos de bacterias.

Comunidad bacteriana en el suelo control

Géneros bacterianos pertenecientes a Alphaproteobacteria, Firmicutes, Gammaproteobacteria, Bacteroidetes, y Cyanobacteria se encuentran en soluciones salinas con valores de salinidad de hasta 250 g l^{-1} (Vavouraski et al., 2016). En el suelo de Texcoco sin lavar, estos grupos bacterianos dominaron, aunque la abundancia relativa de Actinobacteria y Betaproteobacteria también fue alta. Oceanospirillales (Halomonas), Pseudomonadales y

Phyllobacteriaceae (Rhizobiales) fueron los órdenes bacterianos más abundantes. En estudios previos, Valenzuela-Encinas et al. (2009) encontraron que la mayoría de clonas de Proteobacteria se relacionaban a microorganismos previamente encontrados en lagos salinos y en suelos. Microorganismos pertenecientes a los Chromatiales encontrados en ambientes marinos e hipersalinos y haloalcalinos se encontraron en el suelo con 159 dS m⁻¹ y pH 10.2.

Filotipos pertenecientes a *Halomonas* han sido encontrados y predominantes en las poblaciones bacterianas a veces en ambientes extremos. Vavourarki et al. (2006) reportaron que la abundancia relativa de *Halomonas* en un lago salino con salinidad de 170 g l⁻¹ y pH 9.9 fue 2%, pero 71% en un lago salino con salinidad de 400 g l⁻¹ y pH 10.2. *Halomonas* no fue dominante en este estudio dado que su abundancia relativa fue de 23.9%. Ellos también reportaron que la fracción dominante en el lago salino con salinidad 170 g l⁻¹ y pH 9.9 (~59%) se relacionó con un orden desconocido de Gammaproteobacteria. En este estudio, el 25.2% de los Pseudomonadales no se afilió a una familia conocida.

Filotipos desconocidos de *Phyllobacterium* (Phyllobacteriaceae) dominaron en el agua salina del mar rojo (54%; Abdallah et al., 2014), y los Phyllobacteriaceae representaron el 9.1% en este estudio. Filotipos pertenecientes a especies de *Phyllobacterium* participaron en la mineralización de hidrocarburos aromáticos y han sido recuperados de ecosistemas marinos (Shao et al., 2010).

A diferencia de la comunidad de Arquea, lavar el suelo una vez alteró en gran medida a la comunidad bacteriana, i.e., los cambios en la abundancia relativa de algunos grupos bacterianos fueron más grandes en comparación a los grupos de arqueas. Es importante recordar que no se conservó suelo sin lavar durante el experimento, por lo que algunos cambios en la abundancia relativa de algunos grupos bacterianos pudieron deberse al almacenamiento y no al lavado. La disminución en la abundancia relativa fue más marcada para los grupos bacterianos pertenecientes a Alpha y Gammaproteobacteria. La abundancia relativa de los grupos dominantes bacterianos en el suelo lavado una vez se redujeron a más de la mitad, i.e., Oceanospirillales (*Halomonas*), Pseudomonadales (*Pseudomonas*), Rhizobiales (Phyllobacteriaceae), y Xanthomonadales (otros Xanthomonadeceae). Estos fueron reemplazados con filotipos pertenecientes a diferentes phyla bacterianos, e.g., los

Cytophagales y [Rhodotermiales] (Bacteroidetes), Rhodobacteriaceae (Rhodobacterales, Alphaproteobacteria), Nitriliruptoraceae (Nitriliruptorales, Actinobacteria), Deinococcales ([Thermi]), y Gemm-5 (Gemmatimonadetes), como los más importantes. La abundancia relativa de cada uno aumentó más de cinco veces. Es importante resaltar que algunos grupos bacterianos importantes, e.g., copiótrofos conocidos en suelo como Actinomycetales y Bacillales, no fueron afectados por el lavado del suelo.

El lavado mensual del suelo afectó los grupos bacterianos, pero en general, el efecto fue pequeño. La abundancia relativa de algunos grupos tendió a seguir disminuyendo, i.e., Oceanospirillales y Pseudomonadales, mientras que la de otros, i.e., Rhizobiales y Xanthomonadales, tendió a aumentar de nuevo. La abundancia relativa de los grupos bacterianos que incrementaron drásticamente después del primer lavado permaneció similar, e.g., Cytophagales, Deinococcales, Nitriliruptorales, Rhodobacterales, y [Rhodothermales], mientras que la de otros siguió incrementando, e.g., Gemm-5. Aunque la abundancia relativa de Burkholderiales no mostró una reducción drástica, después de diez lavados, ésta había disminuido cuatro veces, i.e., principalmente filotipos pertenecientes a *Delftia* (Comamonadaceae).

Lavar el suelo y su efecto en la comunidad bacteriana

Se conoce que la forma en que las bacterias responden al estrés depende del nivel de estrés, el tipo de estrés y las condiciones ambientales. La salinidad es un factor de estrés y sus efectos en los microorganismos han sido extensamente estudiados en agua dulce (Marine et al., 2013; Telesh et al., 2013; Dupont et al., 2014) y suelos (Canfora et al., 2014; Van Horn et al., 2014; Santini et al., 2015).

Los experimentos usualmente utilizan la aplicación de diferentes concentraciones de sales y determinan cómo la comunidad bacteriana responde a estos cambios. Estos estudios, sin embargo, no toman en cuenta que los microorganismos no tienen tiempo para adaptarse a los cambios en las concentraciones de sales. Chowdhury et al. (2011) encontraron que para diferentes tipos de suelo, de 7 a 10 días eran suficientes para estabilizar la respiración del suelo, así que acondicionar el suelo por un mes entre cada lavado permitiría a las bacterias adaptarse a las condiciones de sales reducidas.

Durante la incubación aerobia la estructura de la comunidad bacteriana del suelo sin lavar mostró grandes variaciones en el tiempo. Estos cambios se pueden atribuir a la variabilidad intrínseca de las muestras del suelo (muestro destructivo), a la manipulación del suelo o a cambios debidos a la incubación aerobia. Cambios en la comunidad bacteriana del suelo lavado diez veces fueron pequeños durante la incubación aerobia. Los cambios en el suelo sin lavar no se debieron a la incubación aerobia sino a las variaciones en las muestras y/o a la manipulación del suelo. Manipular el suelo sin lavar causó más estrés en la población bacteriana que en el suelo lavado diez veces, ya que la salinidad era mayor, así que el efecto de estos cambios en la comunidad bacteriana fue mayor.

Las comunidades bacterianas ha sido estudiadas en gradientes de suelos salinos naturales y grupos similares dominaron en la mayoría de los estudios, i.e., Actinobacteria, Firmicutes, y Proteobacteria (Hollister et al., 2010; Van Horn et al., 2014). Santini et al. (2015) encontraron que la población bacteriana en el residuo de mineral fue similar a la encontrada en lagos salinos y otros desperdicios salino-alcálinos con dominancia de Proteobacteria (40-80%), Firmicutes (2-22%), Actinobacteria (3-26%) y Bacteroidetes (2-10%). Son considerados generalistas y en estos estudios filotipos pertenecientes a Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, y Proteobacteria fueron dominantes en el suelo.

La disminución en el contenido de sales debido al lavado tuvo diferente efectos en diferentes grupos bacterianos. Primero, una disminución en el contenido de sales sólo tuvo un efecto limitado en la abundancia relativa de grupos bacterianos y no surgió ningún patrón claro, e.g., Bacteroidetes, Chloroflexi, Nitrospirae, y Proteobacteria. Barnard et al. (2013) consideraron que Proteobacteria, Firmicutes, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, y Chloroflexi poseían una estrategia de supervivencia más resistente, evidenciada por un contenido ribosomal más estable durante un experimento de secado/humedecido del suelo. Los Chloroflexi y Proteobacteria también fueron resistentes a los cambios en las concentraciones de sales como lo encontrado en este estudio.

Segundo, la disminución en el contenido de sales después del primer lavado aumentó la abundancia relativa de grupos bacterianos pero seguir disminuyendo el contenido de sales sólo tuvo un efecto limitado en la abundancia relativa del grupo bacteriano, e.g.,

Actinobacteria, Armatimonadetes, y [Thermi]. Hollister et al. (2010) encontraron que la abundancia relativa de Actinobacteria aumentó con la disminución del contenido de agua y salinidad.

Tercero, la disminución en el contenido de sales después del primer lavado aumentó la abundancia relativa de los grupos bacterianos y seguir disminuyendo el contenido de sales tendió a aumentar más la abundancia relativa de los grupos bacterianos Gemmatimonadetes, Planctomycetes, TM7 y Verrucomicrobia. Canfora et al. (2014) también encontraron una alta abundancia relativa de Gemmatimonadetes en el suelo con salinidad baja (CE 5.37 dSm⁻¹).

Cuarto, disminuir el contenido de sales disminuyó la abundancia relativa de los grupos bacterianos, como Chlorobi y Firmicutes, que estuvieron bien adaptados a un contenido alto de sales del suelo. Filotipos pertenecientes al género *Bacillus* (Firmicutes) que son formadores de esporas sobreviven fácilmente en condiciones adversas (Teixeira et al., 2010; van Djil y Hecker, 2013). Adicionalmente están involucrados en la descomposición de residuos orgánicos que serían liberados cuando el suelo se manipula y/o los microorganismos mueren debido a condiciones adversas extremas (Cleveland et al., 2007; Hu B. et al., 2015; Hu P. et al., 2015).

Cambios en la estructura de las comunidades bacterianas también pudieron ser debido a la pérdida de partículas de arcilla causada por el lavado del suelo. El contenido de arcilla fue el parámetro que mejor demostró la composición de la comunidad bacteriana OTU-97% en el suelo sin lavar. Sessitsch et al. (2012) encontraron una relación entre la distribución del tamaño de partícula del suelo y la presencia/ausencia de algunos grupos bacterianos, relacionando pequeñas partículas (arcillas) con una mayor diversidad.

Mineralización de la materia orgánica

Ha sido reportado que las comunidades microbianas en suelos salinos son menos eficientes utilizando fuentes de C que aquellas de suelos no salinos (Setia et al., 2010). Los microorganismos del suelo responden de forma diferente a cambios en el potencial osmótico, ya sea acumulando o secretando osmolitos (Empadinhas y da Costa, 2008) u otros metabolitos (Kempf y Bremer, 1998; Oren, 2008), lo que constituye un proceso que requiere

energía. En este estudio, sin embargo, el CO₂ emitido fue más alto en el suelo con el mayor contenido de sales. Podemos suponer que lavar el suelo eliminó el material orgánico de fácil descomposición por lo tanto reduciendo el CO₂ emitido.

Yan y Marschner (2013) encontraron un aumento en la mineralización del C cuando se añadió al suelo rastrojo de chícharo a un suelo salino lavado. En este estudio, la cantidad de CO₂ emitido también aumentó cuando se añadió la planta de maíz o FND al suelo. La diferencia entre el CO₂ emitido del suelo control y el suelo adicionado con materia orgánica, fue el resultado de dos procesos, i.e., la mineralización de los residuos de maíz o su FDN, y un posible efecto *priming*. El incremento en la emisión de CO₂ emitido después de la aplicación de materia orgánica cuando la CE del suelo disminuyó pudo ser debido al aumento en la cantidad de materia orgánica mineralizada o a un efecto *priming*. Sin embargo, no se marcó el C con algún isótopo ¹⁴C o ¹³C, así que no fue posible determinar un posible efecto *priming* ni los cambios en su magnitud debido a los lavados, ni los cambios en la cantidad de materia mineralizada.

Adición de la materia orgánica, lavado del suelo y su efecto en la estructura de la comunidad bacteriana

En este estudio se investigaron tres factores. Primero, el efecto de la aplicación de materia orgánica en la abundancia relativa de diferentes grupos bacterianos; segundo, el efecto de la reducción de sales del suelo mediante lavado en la abundancia de bacterias involucradas en la descomposición de la materia orgánica; y tercero, el efecto de la composición del material orgánico aplicado, i.e., plántulas de maíz vs su FDN, en la estructura de la comunidad bacteriana.

Primero, la aplicación de la materia orgánica, i.e., plántulas de maíz y su fracción FDN, tuvieron un gran efecto en la abundancia relativa de diferentes grupos bacterianos. La descomposición de la materia orgánica está dominada primordialmente por microorganismos que prefieren fuentes de carbono fácilmente asimilables y un alto contenido de nutrientes. Estos microorganismos son conocidos como estrategias-r o copiótrofos, mientras que los estrategias-k u oligótrofos prefieren un ambiente con un contenido bajo de nutrientes y prevalecen cuando los nutrientes se han agotado (Fierer et

al., 2007; Trivedi et al., 2013). Con pocas excepciones, el número de grupos bacterianos cuya abundancia relativa aumentó cuando se adicionó el material orgánico, fue más pequeño que el número de grupos bacterianos cuya abundancia relativa disminuyó. Por lo tanto, sólo un grupo limitado de grupos bacterianos se vieron favorecidos por la aplicación de material orgánico y metabolizaron el rastrojo de maíz y su fracción FDN. También tiene que considerarse que sólo se determinó la abundancia relativa de los grupos bacterianos. La aplicación de material orgánico aumenta la biomasa del suelo, así que puede asumirse que la abundancia absoluta de algunos grupos bacterianos no se vio afectada aunque su abundancia relativa disminuyera. Adicionalmente, los hongos también participan en la degradación del material orgánico aplicado y los cambios en su abundancia relativa no fueron determinados.

Segundo, lavar el suelo, lo que redujo el contenido de sales y arcilla del suelo, afectó la abundancia relativa de grupos bacterianos en suelo adicionado con material orgánico comparado con el suelo control. Los cambios en las características del suelo como resultado del lavado cambiaron la capacidad metabólica de algunos grupos bacterianos, i.e., cambiaron de un comportamiento copiótrofo a oligótrofo o al revés, mientras la capacidad metabólica de otros no se vio afectada. Clasificar estos cambios metabólicos con los lavados permitió definir seis categorías de respuesta bacteriana a la aplicación de plantas de maíz o su FDN. Considerando la gran cantidad de grupos bacterianos obtenidos del suelo, e.g., 521 géneros, sólo los más abundantes se discutirán (**Figura 13**).

La relación de la abundancia relativa para una primera categoría de grupos bacterianos no mostró un patrón claro con los lavados o los cambios en sus relaciones fueron pequeños. Por lo tanto, ellos participaron algunas veces o un número limitado de veces, en la degradación de residuos de plantas de maíz, pueden ser considerados “indefinidos” ya que a veces se comportaron como oligótrofos y otras como copiótrofos sin ningún efecto claro del lavado. Los filotipos pertenecientes a Proteobacteria, el phylum con mayor abundancia, respondieron de esta manera. Sin embargo, los diferentes órdenes pertenecientes a este phylum respondieron claramente, pero de forma diferente a la aplicación del material

orgánico, cuando el suelo de lavó. Por lo tanto, a veces surgieron diferentes patrones dentro de un grupo bacteriano cuando se consideraron diferentes niveles taxonómicos.

La abundancia relativa de una segunda categoría de grupos bacterianos incrementó principalmente cuando al suelo control se le aplicó residuo de maíz. Los filotipos pertenecientes a Firmicutes respondieron de esta forma, se conoce que estos son copiotrófos (Chávez-Romero et al., 2016). Por ejemplo, Van Horn et al. (2014) aplicaron material orgánico al suelo de un gradiente salino natural ($105 \pm 4 - 4,800 \pm 470 \mu\text{S}$) y diferentes contenidos de agua. Ellos encontraron un aumento en la abundancia relativa de Firmicutes en todos los suelos. En un nivel taxonómico más bajo, los miembros de Bacillaceae (*Bacillus*) y Pseudomonadaceae (*Pseudomonas*) participaron en la degradación de plantas de maíz independientemente del número de lavados. Ambas familias han sido descritas como descomponedoras de la materia orgánica del suelo. Cahyani et al. (2003) encontraron Bacillaceae a lo largo del composteo de rastrojo de arroz y los consideraron una bacteria sacarolítica. López-Lozano et al. (2013) encontraron Bacillaceae y Pseudomonadaceae entre otros heterótrofos oportunistas, ellos encontraron estos grupos como los colonizadores iniciales después de esterilizar y reinocular un suelo árido y atribuyeron esto a la capacidad enzimática de miembros de esta familia para iniciar la degradación de compuestos de carbono. Yeasmin et al. (2015) encontraron un aumento en los filotipos pertenecientes a Bacillaceae en un suelo inundado intencionalmente mezclado con excretas de vaca y rastrojo de arroz. Miembros del género *Bacillus* son conocidos copiótrofos y siempre participaron en la degradación de las plantas de maíz independientemente del contenido de sales del suelo. Su capacidad metabólica para participar en la degradación de plantas de maíz no fue obstruida por la amplia variación en el contenido de sales y no fueron desplazados por otros grupos bacterianos. La familia Cyclobacteriaceae también fue favorecida por la adición de plantas de maíz o FDN. Miembros del género *Cyclobacterium* que son halófilos fueron recientemente aislados de una costa en Corea (Irshad et al., 2014). Goldfarb et al. (2011) incubaron suelo en presencia de una variedad de fuentes de C que variaban en recalcitrancia y analizaron el DNA por 16S rRNA PhyloChip. Ellos encontraron que la abundancia relativa de Enterobacteriales aumentó cuando sustratos orgánicos lábiles (i.e., glicina o sacarosa) se

aplicaban al suelo. En este estudio, los filotipos pertenecientes a los Enterobacteriales se comportaron sobre todo como copiótrofos y no fueron afectados por la gran variación del contenido de sales del suelo.

Una tercera categoría de grupos bacterianos, de los que algunos son conocidos por participar en la degradación de plantas de maíz, fueron inhibidos metabólicamente o desplazados por otro grupo bacteriano en el suelo con alto contenido de sales, pero su abundancia relativa aumentó comparado con el suelo control cuando el suelo fue lavado. Pueden ser considerados “copiótrofos adversos salinos”. Por ejemplo, los filotipos pertenecientes a los Actinomycetales, el orden con mayor abundancia relativa, fueron altamente inhibidos cuando las plantas de maíz fueron aplicadas al suelo sin lavar (1.1% en el suelo control y 0.1% en el suelo adicionado con residuos de maíz), pero participaron en la descomposición de productos de maíz y sus productos de degradación cuando el suelo se lavó una vez. Filotipos pertenecientes a *Prauseria*, el género más abundante (Nocardiopsaceae, Actinomycetales), también pueden ser considerados copiótrofos salinos adversos. Su capacidad metabólica para participar en la degradación de plantas de maíz fue impedida por el alto contenido de sales y fueron desplazados por otros grupos (e.g., *Bacillus*). Los filotipos pertenecientes a Halomonadaceae y *Halomonas* también fueron copiótrofos adversos salinos. Miembros de *Halomonas* son halófilos (Meyer et al., 2015), pero no extremadamente halófilos.

La cuarta categoría con un número limitado de grupos bacterianos participó en la degradación de plantas de maíz en el suelo sin lavar, pero no fueron favorecidos con la adición de la materia orgánica cuando el suelo se lavó y pueden ser considerados “copiótrofos salinos”. Los filotipos pertenecientes a Sphingobacteria respondieron de esta forma. La abundancia relativa de un gran número de grupos bacterianos disminuyó cuando las plantas de maíz fueron aplicadas al suelo en comparación con el suelo no lavado. La disminución fue aparentemente independiente del lavado, i.e., una quinta categoría de grupos bacterianos u oligótrofos, o la disminución fue más acentuada en el suelo sin lavar que en el suelo lavado, i.e., una sexta categoría de grupos bacterianos u oligótrofos salinos. Chloroflexi, Deltaproteobacteria, y Planctomycetes pertenecieron a la quinta categoría de

bacteria y su abundancia relativa siempre disminuyó en la misma forma en el suelo adicionado con platas de maíz comparado con el suelo control. La disminución en la abundancia relativa de Acidobacteria, Gemmatimonadetes, y Verrucomicrobia fue más notoria cuando las plantas de maíz fueron aplicadas al suelo sin lavar comparado con el suelo control sin lavar que cuando el suelo fue lavado. La mayoría de estos grupos bacterianos son oligótrofos. Por ejemplo, Carbonetto et al. (2014) consideraron a Chloroflexi y Verrucomicrobia como oligótrofos. Siles et al. (2014) encontraron una disminución en la abundancia relativa de Gemmatimonadaceae después de la adición de residuos secos de olivo al suelo Mediterráneo en un experimento de incubación de 60 días.

De Lourdes Moreno et al. (2013) encontraron que las bacterias halófilas, como *Marinobacter lipolyticus* producían diferentes hidrolasas extracelulares (lipasa, amilasa, proteasa, xylanasa, inulinasa, pectinasa, celulasa, y pululanasa), lo que les da la capacidad de degradar material orgánico en ecosistemas con extrema salinidad. En este estudio, sin embargo, los filotipos pertenecientes a *Marinobacter* participaron en la degradación de residuos de maíz cuando el suelo se lavó una vez, pero no así cuando el suelo no se había lavado. Podría ser que la salinidad era demasiado alta u otras características diferentes a la salinidad inhibieron la capacidad metabólica de *Marinobacter* en el suelo del exlago de Texcoco. Goldfarb et al. (2011) incubaron suelos en la presencia de una amplia variedad de sustratos de C que variaban en recalcitrancia y analizó el 16S rRNA PhyloChip, encontrando que la abundancia relativa de los Burkholderiales aumentó cuando la materia orgánica lábil o químicamente recalcitrante fue aplicada al suelo. Eichroost y Kuske (2012) condujeron un estudio SIP en microcosmos de suelo para identificar bacterias que responden a celulosa (marcada con ^{13}C) en cinco suelos edáficos diferentes. Encontraron miembros de Burkholderiales en los cinco suelos. En este estudio los filotipos pertenecientes a Burkholderiales se comportaron como oligótrofos salinos. Como se mencionó antes puede ser que el contenido de sales del suelo fuera demasiado alto e inhibiera la capacidad metabólica de los Burkholderiales u otro factor del suelo inhibiera su participación en la mineralización de las plantas de maíz, e.g., el pH alto.

Tercero, la aplicación de las plantas de maíz tuvo un efecto similar en los grupos bacterianos como la aplicación del FDN. Sin embargo, un grupo bacteriano, los Pseudomonadales (e.g., *Acinetobacter* y *Pseudomonas*), fue más favorecido por la aplicación de FDN que cuando las plantas de maíz fueron aplicadas al suelo con alta concentración de sales. Los Pseudomonadales son versátiles y filotipos pertenecientes a este grupo bacteriano se conocen por tener actividad celulolítica. Estos metabolizan (hemi)celulosa en los suelos con alto contenido de sales.

Es importante recordar que las abundancias relativas de los grupos bacterianos fueron determinados y no valores de abundancia absoluta. La aplicación de materia orgánica fácilmente asimilable, como plantas de maíz, aumentará la biomasa del suelo, ya que un aumento en la abundancia relativa de los grupos bacterianos significa que los valores absolutos de los grupos bacterianos también aumentaron, pero una disminución en la abundancia relativa no necesariamente significa que la abundancia absoluta de los grupos bacterianos disminuyó. Esto es cierto cuando los cambios en la relación entre la abundancia relativa de los grupos bacterianos en el suelo control y el suelo adicionado con materia orgánica fueron pequeños. Sin embargo, la mayoría de los cambios reportados aquí fueron grandes y el aumento o disminución en la abundancia relativa debido a la aplicación de materia orgánica fue cinco veces más baja o alta que en el suelo control. Además, no se conservó ningún suelo sin lavar por diez meses para determinar cómo la estructura de la comunidad bacteriana pudiera ser alterada en un suelo sin lavar a través del tiempo. La materia orgánica del suelo se mineralizará, de manera que el C disponible del suelo para los microorganismos del suelo disminuye y esto puede alterar la estructura de la comunidad bacteriana, pero se asumió que los cambios serían mínimos.

CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS

Lavar el suelo redujo la CE de 157.8 a 1.7 dSm⁻¹ y el contenido de arcilla de 430 a 270 g Kg⁻¹, pero el pH permaneció igual.

Después del primer lavado la estructura de la comunidad bacteriana cambió, la abundancia relativa de *Halomonas*, *Pseudomonas*, Rhizobiales, y Xanthomonadales, disminuyó, mientras que la de los Cytophagales, [Rhodothermales], Rhodobacteraceae, Nitriluruptoraceae, Deinococcales, y Gemm-5 aumentó. Seguir lavando el suelo cambió la estructura de la comunidad pero en menor grado que el primer lavado. Los cambios en la comunidad de Arquea debido al lavado fueron más pequeños que los cambios en la comunidad de bacterias y se desconoce si esto fue por la resiliencia de las arqueas o a su mayor capacidad metabólica.

El cambio en el contenido de sales fue el factor que afectó la abundancia relativa de las poblaciones bacterianas.

El lavado del suelo favoreció la mineralización de la materia orgánica, sin embargo, no fue posible separar el efecto del lavado del suelo y la adición del material orgánico y el incremento en la disponibilidad de nutrientes debido a la manipulación del suelo.

Disminuir el contenido de sales también altero el comportamiento metabólico de algunos grupos bacterianos, pero no de otros, e.g., *Nitriiliruptor*. Considerando la relación de la abundancia relativa de un grupo bacteriano en el suelo adicionado con material orgánico vs el suelo control, permitió distinguir los diferentes efectos del contenido de sales en la capacidad metabólica de los grupos bacterianos y clasificarlos.

La adición de diferentes tipos de material orgánico (rastrajo de maíz y FDN) no tuvo un efecto diferente en la composición de la comunidad bacteriana del suelo, salvo en el grupo de los Pseudomonadales.

En este estudio descriptivo se encontró cómo las bacterias y arqueas cambian en un suelo salino natural, al remover paulatinamente la presión de selección a la que han estado sometidas, y se encontró una forma de describir cómo las bacterias pueden estar involucradas en la descomposición de la materia orgánica. Sin embargo los estudios de la predicción de funcionalidad a partir de las abundancias relativas obtenidas de la secuenciación del gen 16S rRNA no nos dan información de los microorganismos involucrados en los procesos, y de qué forma estos se relacionan, si bien el suelo es un ambiente complejo valdría la pena plantear el análisis de genes involucrados en procesos específicos y la exploración de cómo los microorganismos presentes y los metabólicamente activos se relacionan, explorando redes booleanas o cualquier tipo de red que explique cómo el cambio en un factor ambiental afecta a la estructura de la comunidad y sus funciones. A pesar de los avances en las tecnologías de secuenciación, es mucho lo que se desconoce en la ecología microbiana, el estudio de las interacciones tróficas y metabólicas entre los microorganismos (de un ambiente específico o involucrados en procesos específicos) representa una gran área de oportunidad.

BIBLIOGRAFÍA

Abdallah, R. Z., Adel, M., Ouf, A., Sayed, A., Ghazy, M. A., and Alam, I. (2014). Aerobic methanotrophic communities at the Red Sea brine-seawater interface. *Front. Microbiol.* 5:487.

Andrew, D. R., Fitak, R. R., Munguia-Vega, A., Racolta, A., Martinson, V. G., and Dontsova, K. (2012). Abiotic factors shape microbial diversity in Sonoran Desert soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 78,: 7527–7537.

Baker, G. C., Smith, J. J., and Cowan, D. A. (2003). Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *J. Microbiol. Meth.* 55: 541–555.

Barnard, R., Osborne, C., and Firestone, M. (2013). Responses of soil bacterial and fungal communities to extreme desiccation and rewetting. *ISME J.* 7: 2229–2241.

Baumann, K., and Marschner, P. (2013). Effects of salinity on microbial tolerance to drying and rewetting. *Biogeochemistry.* 112: 71–80.

Cahyani, V., Matsuya, K., Asakawa, S., and Kimura, M. (2003). Succession and phylogenetic composition of bacterial communities responsible for the composting process of rice straw estimated by PCR-DGGE analysis. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 49: 619–630.

Canfora, L., Lo Papa, G., Antisari, L. V., Bazan, G., Dazzi, C., and Benedetti, A. (2015). Spatial microbial community structure and biodiversity analysis in “extreme” hypersaline soils of a semiarid Mediterranean area. *Appl. Soil Ecol.* 93: 120–129.

Canfora, L., Lo Papa, G., Antisari, L. V., Bazan, G., Dazzi, C., and Benedetti, A. (2015). Spatial microbial community structure and biodiversity analysis in “extreme” hypersaline soils of a semiarid Mediterranean area. *Appl. Soil Ecol.* 93: 120–129.

Caporaso, J. G., Bittinger, K., Bushman, F. D., DeSantis, T. Z., Andersen, G. L., and Knight, R. (2010a). PyNAST: a flexible tool for aligning sequences to a template alignment. *Bioinformatics* 26: 266–267.

Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., et al. (2010b). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat. Methods* 7: 335–336.

Carbonetto, B., Rascovan, N., Álvarez, R., Mentaberry, A., and Vázquez, M. (2014). Structure, composition and metagenomic profile of soil microbiomes associated to agricultural land use and tillage systems in Argentine Pampas. *PLoS ONE* 9:e99949.

Ceja-Navarro, J. A., Rivera-Orduña, F. N., Patiño-Zúñiga, L., Vila-Sanjurjo, A., Crossa, J., Govaerts, B., et al. (2010). Phylogenetic and multivariate analyses to determine the effects of different tillage and residue management practices on soil bacterial communities. *Appl. Environ. Microb.* 76: 3685–3691.

Chávez-Romero, Y., Navarro-Noya, Y., Reynoso-Martínez, S., Sarria-Guzmán, Y., Govaerts, B., Verhulst, N., et al. (2016). 16S metagenomics reveals changes in the soil bacterial community driven by soil organic C, N- fertilizer and tillage-crop residue management. *Soil Tillage Res.* 159: 1–8.

Chowdhury, N., Marschner, P., and Burns, R. (2011). Response of microbial activity and community structure to decreasing soil osmotic and matric potential. *Plant Soil.* 344, 241–254.

Clarke, K. R., and Ainsworth, M. (1993). A method of linking multivariate community structure to environmental variables. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 92: 205–219.

Cleveland, C., Nemergut, D., Schmidt, S., and Townsend, A. (2007). Increases in soil respiration following labile carbon additions linked to rapid shifts in soil microbial community composition. *Biogeochemistry.* 82: 229–240.

de Lourdes Moreno, M., Pérez, D., García, M., and Mellado, E. (2013). Halophilic bacteria as a source of novel hydrolytic enzymes. *Life* 3: 38–51.

Dendooven, L., Ramirez-Fuentes, E., Alcantara-Hernandez, R., Valenzuela- Encinas, C., Sanchez-Lopez, K., Luna-Guido, M., et al. (2015). Dynamics of C-14-labelled glucose and NH₄⁺ in a regularly flooded extremely alkaline saline soil. *Pedosphere*. 25: 230–239.

Dequiedt, S., Saby, N. P. A., Lelievre, M., Jolivet, C., Thioulouse, J., Toutain, B., et al. (2011). Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Glob. Ecol. Biogeo.* 20: 641–652.

Dojka, M. A., Hugenholtz, P., Haack, S. K., and Pace, N. R. (1998). Microbial diversity in a hydrocarbon– and chlorinated–solvent–contaminated aquifer undergoing intrinsic bioremediation. *Appl. Environ. Microb.* 64: 3869–3877

Dong, K., Kim, W. S., and Tripathi, B. M. (2015). Generalized soil Thaumarchaeota community in weathering rock and Saprolite. *Microl. Ecol.* 69: 356–360.

Dupont, C. L., Larsson, J., Yooseph, S., Ininbergs, K., Goll, J., Asplund- Samuelsson, J., et al. (2014). Functional tradeoffs underpin salinity-driven divergence in microbial community composition. *PLoS ONE*. 9:e89549.

Eichorst, S., and Kuske, C. (2012). Identification of cellulose-responsive bacterial and fungal communities in geographically and edaphically different soils by using stable isotope probing. *Appl. Environ. Microbiol.* 78: 2316–2327.

Empadinhas, N., and da Costa, M. (2008). Osmoadaptation mechanisms in prokaryotes: distribution of compatible solutes. *Int. Microbiol.* 11:151–161. environments. *Biol. Fertil. Soils*. 25: 211–223

Fierer, N., Bradford, M., and Jackson, R. (2007). Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88, 1354–1364.

Fierer, N., and Lennon, J. T. (2011). The generation and maintenance of diversity in microbial communities. *Am. J. Bot.* 98:439–448.

Fuentes, J., Bezdicek, D., Flury, M., Albrecht, S., and Smith, J. (2006). Microbial activity affected by lime in a long-term no-till soil. *Soil Tillage Res.* 88: 123–131.

Gee, G. W., and Bauder, J. W. (1986). "Particle size analysis," en *Methods of Soil Analysis, Part 1. Physical and Mineralogical Methods*, ed A. Klute (Madison, WI: American Society of Agronomy-Soil Science Society of America), pp 383–411.

Gennari, M., Abbate, C., La Porta, V., and Baglieri, A. (2007). Microbial response to Na₂SO₄ additions in a volcanic soil. *Arid Land Res. Manag.* 21: 211–227.

Goldfarb, K., Karaoz, U., Hanson, C., Santee, C., Bradford, M., Treseder, K., et al. (2011). Differential growth responses of soil bacterial taxa to carbon substrates of varying chemical recalcitrance. *Front. Microbiol.* 2:94.

Grant, W. D., and Sorokin, D. Y. (2011). "Distribution and diversity of soda lake alkaliphiles," en *Extremophiles Handbook*, ed K. Horikoshi (Tokyo: Springer), 27–54.

Hoffman, C. S., and Winston, F. (1987). A ten-minute DNA preparation from yeast efficiently releases autonomous plasmids for transformation of *Escherichia coli*. *Gene* 57: 267–272.

Hollister, E., Engledow, A., Hammett, A., Provin, T., Wilkinson, H., and Gentry, T. (2010). Shifts in microbial community structure along an ecological gradient of hypersaline soils and sediments. *ISME J.* 4: 829–838.

Hu, B., Yang, Q., Cai, M., Tang, Y., Zhao, G., and Wu, X. (2015). *Negadavirga shengliensis* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family Cyclobacteriaceae isolated from oil-contaminated saline soil. *Antonie Van Leeuwenhoek* 107: 663–673.

Hu, P., Hollister, E., Somenahally, A., Hons, F., and Gentry, T. (2015). Soil bacterial and fungal communities respond differently to various isothiocyanates added for biofumigation. *Front. Microbiol.* 5:729.

Irshad, A., Ahmad, I., and Kim, S. (2014). Culturable diversity of halophilic bacteria in foreshore soils. *Braz. J. Microbiol.* 45: 563–572.

Jenkinson, D., and Powlson, D. (1976). The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.* 8: 209–213.

Jones, B. E., Grant, W. D., Duckworth, A. W., and Owenson, G. G. (1998). Microbial diversity of soda lakes. *Extremophiles.* 2: 191–200.

Karner, M. B., DeLong, E. F., and Karl, D. M. (2001). Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean. *Nature* 409: 507–510.

Kempf, B., and Bremer, E. (1998). Uptake and synthesis of compatible solutes as microbial stress responses to high-osmolality environments. *Arch. Microbiol.* 170: 319–330.

Killham, K. (1994). *Soil Ecology*. Cambridge: Cambridge University Press.

Kirchman, D. L. (ed.). (2012). “Community structure of microbes in natural environments,” en *Processes in Microbial Ecology* (New York, NY: Oxford), 157–176

Könneke, M., Bernhard, A. E., de la Torre, J. R., Walker, C. B., Waterbury, J. B., and Stahl, D. A. (2005). Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature*. 437: 543–546.

Kuramae, E., Yergeau, E., Wong, L., Pijl, A., van Veen, J., and Kowalchuk, G. (2012). Soil characteristics more strongly influence soil bacterial communities than land-use type. *FEMS Microbiol. Ecol.* 79: 12–24.

Lanzén, A., Epelde, L., Garbisu, C., Anza, M., Martín-Sánchez, I., Blanco, F., et al. (2015). The Community structures of prokaryotes and fungi in mountain pasture soils are highly correlated and primarily influenced by pH. *Front. Microbiol.* 6:1321.

Ling, N., Sun, Y., Ma, J., Guo, J., Zhu, P., Peng, C., et al. (2014). Response of the bacterial diversity and soil enzyme activity in particle-size fractions of Mollisol after different fertilization in a long-term experiment. *Biol. Fertil. Soils*. 50: 901–911.

Loganathachetti, D. S., Sadaippan, B., Poosakkannu, A., and Muthuraman, S. (2016). Pyrosequencing-based seasonal observation of prokaryotic diversity in pneumatophore-associated soil of *Avicennia marina*. *Curr. Microbiol.* 72: 68–74.

López-Lozano, N., Heidelberg, K., Nelson, W., García-Oliva, F., Eguiarte, L., and Souza, V. (2013). Microbial secondary succession in soil microcosms of a desert oasis in the Cuatro Ciénegas Basin, Mexico. *PeerJ* 1:e47.

Lozupone, C. A., and Knight, R. (2007). Global patterns in bacterial diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104: 11436–11440

Luna-Guido, M., Beltrán-Hernández, R., Solís-Ceballos, N., Hernández-Chavez, N., Mercado-García, F., Olalde-Portugal, V., et al. (2000). Chemical and biological characteristics of alkaline

saline soils from the former Lake Texcoco as affected by artificial drainage. *Biol. Fertil. Soils*. 32: 102–108.

Mamilov, A., Dilly, O. M., Mamilov, S., and Inubushi, K. (2004). Microbial eco- physiology of degrading aral sea wetlands: consequences for C-cycling. *Soil Sci. Plant Nutr.* 50: 839–842.

Marine, C., Thierry, B., Olivier, P., Emma, R., Corine, B., Martin, A., et al. (2013). Freshwater prokaryote and virus communities can adapt to a controlled increase in salinity through changes in their structure and interactions. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 133: 58–66.

Meyer, J., Dillard, B., Rodgers, J., Ritchie, K., Paul, V., and Teplitski, M. (2015). Draft genome sequence of *Halomonas meridiana* R1t3 isolated from the surface microbiota of the Caribbean Elkhorn coral *Acropora palmata*. *Stand. Genomic Sci.* 10: 75.

Nacke, H., Thürmer, A., Wollherr, A., Will, C., Hodac, L., Herold, N., et al. (2011). Pyrosequencing-based assessment of bacterial community structure along different management types in German forest and grassland soils. *PLoS ONE* 6:e17000.

Najjari, A., Mostafa, S., Ameer, C., and Noha, H. Y. (2015). Patterns and determinants of halophilic *Archaea* (class *Halobacteria*) diversity in Tunisian endorheic salt lakes and sebkhet systems. *Appl. Environ. Microbiol.* 81: 4432–4441.

Navarro-Noya, Y. E., Valenzuela-Encinas, C., Sandoval-Yuriar, A., Jiménez- Bueno, N. G., Marsch, R., and Dendooven, L. (2015). Archaeal communities in a heterogeneous hypersaline-alkaline soil. *Archaea* 2015:646820.

Nelson, P., and Oades, J. (1998). “Organic matter, sodicity and soil structure,” in: *Sodic Soils: Distribution, Properties, Management and Environmental Consequences. Topics in*

Sustainable Agronomy, eds M. E. Sumner and R. Naidu (New York, NY: Oxford University Press), pp 51–75.

Norrström, A., and Bergstedt, E. (2001). The impact of road de-icing salts (NaCl) on colloid dispersion and base cation pools in roadside soils. *Water Air Soil Pollut.* 127: 281–299.

Oades, J. (1988). The retention of organic matter in soils. *Biogeochemistry.* 5: 35–70.

Oren, A. (2002). Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 28: 56–63.

Oren, A. (2008). Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. *Saline Syst.* 4, 1.

Pathak, H., and Rao, D. (1998). Carbon and nitrogen mineralization from added organic matter in saline and alkaline soils. *Soil Biol. Biochem.* 30:695–702.

Qin, W., Amin, S. A., Martens-Habbena, W., Walker, C. B., Urakawa, H., and Devol, A. (2014). Marine ammonia-oxidizing archaeal isolates display obligate mixotrophy and wide ecotypic variation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111: 12504–12509.

Ramírez-Villanueva, D., Bello-López, J., Navarro-Noya, Y., Luna-Guido, M., Verhulst, N., Govaerts, B., et al. (2015). Bacterial community structure in maize residue amended soil with contrasting management practices. *Appl. Soil Ecol.* 90: 49–59.

Ramos-Vera, W. H., Weiss, M., Strittmatter, E., Kockelkorn, D., and Fuchs, G. (2011). Identification of missing genes and enzymes for autotrophic carbon fixation in Crenarchaeota. *J. Bacteriol.* 193: 1201–1211.

Rath, K., and Rousk, J. (2015). Salt effects on the soil microbial decomposer community and their role in organic carbon cycling: a review. *Soil Biol. Biochem.* 81: 108–123.

Reeder, J., and Knight, R. (2010). Rapidly denoising pyrosequencing amplicon reads by exploiting rank-abundance distributions. *Nat. Methods.* 7: 668–669.

Rhodes, M. E., Oren, A., and House, C. H. (2012). Dynamics and persistence of Dead Sea microbial populations as shown by high-throughput sequencing of rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 78: 2489–2492.

Rietz, D., and Haynes, R. (2003). Effects of irrigation-induced salinity and sodicity on soil microbial activity. *Soil Biol. Biochem.* 35: 845–854.

Rietz, D., and Haynes, R. (2003). Effects of irrigation-induced salinity and sodicity on soil microbial activity. *Soil Biol. Biochem.* 35: 845–854.

Sambrook, J., and Russell, D. W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd Edn. New York, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Santini, T., Warren, L., and Kendra, K.,(2015). Microbial diversity in engineered haloalkaline environments shaped by shared geochemical drivers observed in natural analogues. *Appl. Environ. Microbiol.* 81: 5026–5036.

Santini, T., Warren, L., and Kendra, K.,(2015). Microbial diversity in engineered haloalkaline environments shaped by shared geochemical drivers observed in natural analogues. *Appl. Environ. Microbiol.* 81: 5026–5036.

Sardinha, M., Müller, T., Schmeisky, H., and Joergensen, R. (2003). Microbial performance in soils along a salinity gradient under acidic conditions. *Appl. Soil Ecol.* 23: 237–244.

Sarig, S., and Steinberger, Y. (1994). Microbial biomass response to seasonal fluctuations in soil salinity under canopy of desert halophytes. *Soil Biol Biochem*, 26: 1405–1408.

SAS Institute (1989). *Statistic Guide for Personal Computers. Version 6.0*. SAS Institute, Cary.

Schneider, D., Engelhaupt, M., Allen, K., Kurniawan, S., Krashevskaya, V., Heinemann, M., et al. (2015). Impact of lowland rainforest transformation on diversity and composition of soil prokaryotic communities in Sumatra (Indonesia). *Front. Microbiol.* 6:1339.

Sessitsch, A., Reiter, B., Pfeifer, U., and Wilhelm, E. (2002). Cultivation-independent population analysis of bacterial endophytes in three potato varieties based on eubacterial and Actinomycetes-specific PCR of 16S rRNA genes. *FEMS Microbiol. Ecol.* 39: 23–32.

Setia, R., and Marschner, P. (2013). Carbon mineralization in saline soils as affected by residue composition and water potential. *Biol. Fertil. of Soils.* 49, 71–77

Setia, R., Marschner, P., Baldock, J., and Chittleborough, D. (2010). Is CO₂ evolution in saline soils affected by an osmotic effect and calcium carbonate? *Biol. Fertil. Soils* 46: 781–792.

Shao, Z., Cui, Z., Dong, C., Lai, Q., and Chen, L. (2010). Analysis of a PAH-degrading bacterial population in subsurface sediments on the Mid-Atlantic Ridge. *Deep Sea Res. I. Oceanogr. Res. Pap.* 57: 724–730.

Siles, J., Rachid, C., Sampedro, I., García-Romera, I., and Tiedje, J. (2014). Microbial diversity of a Mediterranean soil and its changes after biotransformed dry olive residue amendment. *PLoS ONE* 9:e103035.

Sintes, E., De Corte, D., Haberleitner, E., and Herndl, G. J. (2016). Geographic distribution of archaeal ammonia oxidizing ecotypes in the Atlantic Ocean. *Front. Microbiol.* 7:77.

Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil.* 15: 134–154.

Stieglmeier, M., Alves, R. J. E., and Schleper C. (2014). “The phylum Thaumarchaeota” en *The prokaryotes: Other Major Lineages of Bacteria and the Archaea*, eds E. Rosenberg, E. F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, and F. Thompson (Berlin: Heidelberg Springer-Verlag), 347–362.

Stoica, E., and Herndl, G. J. (2007). Contribution of *Crenarchaeota* and *Euryarchaeota* to the prokaryotic plankton in the coastal northwestern Black Sea. *J. Plankton Res.* 29: 699–706.

Taketani, R. G., and Tsai, S. M. (2010). The influence of different land uses on the structure of archaeal communities in Amazonian Anthrosols based on 16S rRNA and *amoA* genes. *Microb. Ecol.* 59: 734–743.

Teixeira, L., Peixoto, R., Cury, J., Sul, W., Pellizari, V., Tiedje, J., et al. (2010). Bacterial diversity in rhizosphere soil from Antarctic vascular plants of Admiralty Bay, maritime Antarctica. *ISME J.* 4: 989–1001.

Telesh, I., Schubert, H., and Skarlato, S. (2013). Life in the salinity gradient: discovering mechanisms behind a new biodiversity pattern. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 135: 317–327.

Tripathi, S., Kumari, S., Chakraborty, A., Gupta, A., Chakraborty, K., and Bandyopadhyay, B. (2006). Microbial biomass and its activities in salt-affected coastal soils. *Biol. Fertil. Soils.* 42: 273–277.

Trivedi, P., Anderson, I., and Singh, B. (2013). Microbial modulators of soil carbon storage : integrating genomic and metabolic knowledge for global prediction. *Trends Microbiol.* 21:641–651.

Valenzuela-Encinas, C., Neria-González, I., Alcántara-Hernández, R., Enriques- Aragón, J., Hernandez-Rodriguez, C., Dendooven, L., et al. (2008). Phylogenetic analysis of archaeal community in an alkaline-saline soil of the former lake Texcoco (Mexico). *Extremophiles.* 12: 247–254.

Valenzuela-Encinas, C., Neria-González, I., Alcántara-Hernández, R. J., Estrada- Alvarado, I., Zavala-Díaz de la Serna, F. J., Dendooven, L., et al. (2009). Changes in the bacterial populations of the highly alkaline saline soil of the former lake Texcoco (Mexico) following flooding. *Extremophiles.* 13: 609–621.

van Djil, J., and Hecker, M. (2013). *Bacillus subtilis*: from soil bacterium to super- secreting cell factory. *Microb. Cell Fact.* 12:1. doi: 10.1186/1475-2859-12-3

Van Horn, D., Jordan, G., Okie, H. Buelow, N., Michael, N., Gooseff, J., et al. (2014). Soil microbial responses to increased moisture and organic resources along a salinity gradient in a Polar Desert. *Appl. Environ. Microbiol.* 80: 3034–3043.

Van Horn, D., Jordan, G., Okie, H. Buelow, N., Michael, N., Gooseff, J., et al. (2014). Soil microbial responses to increased moisture and organic resources along a salinity gradient in a Polar Desert. *Appl. Environ. Microbiol.* 80: 3034–3043.

Van Soest, P. J. (1963). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. 2. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *J. AOAC Int.* 46: 829–835.

Van Soest, P., and Wine, R. (1967). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 50: 50–55.

Vavourakis, C. D., Ghai, R., Rodriguez-Valera, F., Sorokin, D. Y., Tringe, S. G., Hugenholtz, P., et al. (2016). Metagenomic insights into the uncultured diversity and physiology of microbes in four hypersaline soda lake brines. *Front. Microbiol.* 7:211.

Walker, C. B., de la Torre, J. R., Klotz, M. G., Urakawa, H., Pinel, N., Arp, D. J., et al. (2010). *Nitrosopumilus maritimus* genome reveals unique mechanisms for nitrification and autotrophy in globally distributed marine crenarchaea. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107: 8818–8823.

Wei, X., Shao, M., Gale, W., and Li, L. (2014). Global pattern of soil carbon losses due to the conversion of forests to agricultural land. *Sci. Rep.* 4:40-62.

Wichern, J., Wichern, F., and Joergensen, R. G. (2006). Impact of salinity on soil microbial communities and the decomposition of maize in acidic soils. *Geoderma.* 137: 100–108.

Wichern, J., Wichern, F., and Joergensen, R. G. (2006). Impact of salinity on soil microbial communities and the decomposition of maize in acidic soils. *Geoderma.* 137: 100–108.

Wong, V., Dalal, R., and Greene, R. (2008). Salinity and sodicity effects on respiration and microbial biomass of soil. *Biol. Fertil. Soils.* 44, 943–953.

Wong, V., Dalal, R., and Greene, R. (2009). Carbon dynamics of sodic and saline soils following gypsum and organic material additions: a laboratory incubation. *Appl. Soil Ecol.* 41: 29–40.

Wong, V., Greene, R., Dalal, R., and Murphy, B. (2010). Soil carbon dynamics in saline and sodic soils: a review. *Soil Use Manage.* 26, 2–11.

Xu, X. W., Wu, M., Pei-Jin Zhou, P.-J., and Liu, S.-J. (2005). *Halobiforma lacisalsi* sp. nov., isolated from a salt lake in China. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55, 1949–1952.

Yeasmin, S., Kim, C., Islam, S., and Lee, J. (2015). Population dynamics of cellulolytic bacteria depend on the richness of cellulosic materials in the habitat. *Microbiology*. 84: 278–289.

Zahran, H. (1997). Diversity, adaptation and activity of the bacterial flora in saline

Zhu, C., Wakeham, S. G., Elling, F. J., Basse, A., Mollenhauer, G., Versteegh, G. J. M., et al. (2016). Stratification of archaeal membrane lipids in the ocean and implications for adaptation and chemotaxonomy of planktonic archaea. *Environ. Microbiol.* 18: 4324–4336.



Reducing Salinity by Flooding an Extremely Alkaline and Saline Soil Changes the Bacterial Community but Its Effect on the Archaeal Community Is Limited

OPEN ACCESS

Edited by:

Jesse G. Dillon,
California State University, Long
Beach, USA

Reviewed by:

Ronald Oremland,
United States Geological Survey, USA
Pinaki Sar,
Indian Institute of Technology
Kharagpur, India
Ana Isabel Pelaez,
Universidad de Oviedo Mieres, Spain

***Correspondence:**

Luc Dendooven
dendooven@me.com

† These authors have contributed
equally to this work.

Specialty section:

This article was submitted to
Extreme Microbiology,
a section of the journal
Frontiers in Microbiology

Received: 27 July 2016

Accepted: 07 March 2017

Published: 27 March 2017

Citation:

de León-Lorenzana AS,
Delgado-Balbuena L,
Dominguez-Mendoza C,
Navarro-Noya YE, Luna-Guido M and
Dendooven L (2017) Reducing Salinity
by Flooding an Extremely Alkaline and
Saline Soil Changes the Bacterial
Community but Its Effect on the
Archaeal Community Is Limited.
Front. Microbiol. 8:466.
doi: 10.3389/fmicb.2017.00466

Arit S. de León-Lorenzana^{1†}, Laura Delgado-Balbuena^{1†}, Cristina Domínguez-Mendoza¹,
Yendi E. Navarro-Noya², Marco Luna-Guido¹ and Luc Dendooven^{1*}

¹ Soil Ecology Lab, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, CINVESTAV, Mexico, ² Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Cátedras CONACYT, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico

Regular flooding of the soil to reduce salinity will change soil characteristics, but also the microbial community structure. Soil of the former lake Texcoco with electrolytic conductivity (EC) 157.4 dS m⁻¹ and pH 10.3 was flooded monthly in the laboratory under controlled conditions for 10 months while soil characteristics were determined and the archaeal and bacterial community structure monitored by means of 454 pyrosequencing of the 16S rRNA gene. The EC of the soil dropped from 157.8 to 1.7 dS m⁻¹ and the clay content decreased from 430 to 270 g kg⁻¹ after ten floodings, but the pH (10.3) did not change significantly over time. Flooding the soil had a limited effect on the archaeal community structure and only the relative abundance of Haloferax-like 16S rRNA phylotypes changed significantly. Differences in archaeal population structure were more defined by the initial physicochemical properties of the soil sample than by a reduction in salinity. Flooding, however, had a stronger effect on bacterial community structure than on the archaeal community structure. A wide range of bacterial taxa was affected significantly by changes in the soil characteristics, i.e., four phyla, nine classes, 17 orders, and 28 families. The most marked change occurred after only one flooding characterized by a sharp decrease in the relative abundance of bacterial groups belonging to the Gammaproteobacteria, e.g., Halomonadaceae (Oceanospirillales), Pseudomonadaceae, and Xanthomonadaceae and an increase in that of the [Rhodothermales] (Bacteroidetes), Nitrospirales (Actinobacteria), and unassigned Bacteria. It was found that flooding the soil sharply reduced the EC, but also the soil clay content. Flooding the soil had a limited effect on the archaeal community structure, but altered the bacterial community structure significantly.

Keywords: extreme salinity, alkalinity, soil characteristics, bacterial and archaeal community structure, microbial successions



Soil Salinity Controls Relative Abundance of Specific Bacterial Groups Involved in the Decomposition of Maize Plant Residues

Arit S. De León-Lorenzana¹, Laura Delgado-Balbuena¹, Cristina A. Domínguez-Mendoza¹, Yendi E. Navarro-Noya², Marco Luna-Guido¹ and Luc Dendooven^{1*}

¹ Soil Ecology Lab, Cinvestav, Ciudad de México, Mexico, Mexico, ² Cátedras CONACYT, Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico

OPEN ACCESS

Edited by:

Ludmila Aristilde,
Cornell University, United States

Reviewed by:

Fernando José Cebola Lidon,
Faculdade de Ciências e Tecnologia
da Universidade Nova de Lisboa,
Portugal
Suprasanna Penna,
Bhabha Atomic Research Centre,
India

*Correspondence:

Luc Dendooven
dendooven@me.com

Specialty section:

This article was submitted to
Agroecology and Land Use Systems,
a section of the journal
Frontiers in Ecology and Evolution

Received: 18 April 2017

Accepted: 10 April 2018

Published: 14 May 2018

Citation:

De León-Lorenzana AS,
Delgado-Balbuena L,
Domínguez-Mendoza CA,
Navarro-Noya YE, Luna-Guido M and
Dendooven L (2018) Soil Salinity
Controls Relative Abundance of
Specific Bacterial Groups Involved in
the Decomposition of Maize Plant
Residues. *Front. Ecol. Evol.* 6:51.
doi: 10.3389/fevo.2018.00051

Extreme salinity and alkalinity in soil is known to inhibit organic material decomposition and affect the bacterial community structure involved in its mineralization. Regular flooding of these soils will reduce salinity, which will alter the bacterial community involved in organic material mineralization. Soil of the former lake Texcoco with electrolytic conductivity (EC) 157.4 dS m⁻¹ and pH 10.3 was flooded monthly, amended with maize plant residue or its neutral detergent fiber [NDF; mostly (hemi)cellulose and some lignin], while C mineralization and the bacterial community structure was monitored by means of 454 pyrosequencing of the 16S rRNA gene. The EC of the soil dropped from 157.8 to 1.7 dS m⁻¹, but the pH (10.3) did not change significantly over time. On the one hand, the relative abundance of some bacterial groups, e.g., Bacillus and Gammaproteobacteria, always increased when maize plants or NDF were applied to soil independent of the changes in soil characteristics, i.e., they always participated in the degradation of the organic material applied, while the relative abundance of other groups, e.g., Acidobacteria, Alphaproteobacteria, Chloroflexi, Clostridia, Deltaproteobacteria, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, and Verrucomicrobia, always decreased compared to the unamended soil. On the other hand, the increase or decrease of the relative abundance of other bacterial groups when organic material was applied to soil was influenced by the changes in soil characteristics. For instance, the relative abundance of the Actinomycetales, Halomonas, and Prauseria, did not increase when organic material was applied to soil with a high salt content, but did when the salt content was lowered while that of the Betaproteobacteria and Pirellulales increased when the salt content was high, but not when it was lowered. Application of the NDF generally had a similar effect on the bacterial community structure as when maize plants were applied. It was found that the capacity of some bacterial groups to degrade organic material was not affected by soil salt content, while that of others was stimulated or suppressed.

Keywords: alkalinity, carbon mineralization, regular flooding, soil characteristics, copiotroph, oligotroph

