



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD ZACATENCO

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA

**“Estructura de la comunidad bacteriana en suelos agrícolas con
prácticas contrastantes”**

TESIS

Que presenta

DANIEL ALEJANDRO RAMÍREZ VILLANUEVA

Para obtener el grado de

**DOCTOR EN CIENCIAS
EN LA ESPECIALIDAD DE BIOTECNOLOGÍA**

Director de la Tesis: **LUC DENDOOVEN**

México, Ciudad de México.

DICIEMBRE, 2016

Agradecimiento especial al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico con el CVU: 385188, número de registro de becario: 256182 y número de apoyo 355126, a lo largo del posgrado correspondiente a los estudios de doctorado en Biotecnología y Bioingeniería, impartido por el Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, campus Zacatenco, Ciudad de México, México.

Agradecimientos

Pa, Ma, Timo, como siempre, al apoyo incondicional de mi familia, ustedes son lo mejor de la vida, de mi vida, ¡Gracias con el corazón!

Especialmente al Dr. Luc Dendooven y a la Dra. Soledad Vásquez. Personas a las que admiro como no tienen idea, gran ejemplo. No acabaría de agradecer su inmenso apoyo, consejos y sobre todo, el valioso tiempo que me han prestado, ¡Gracias!

Dr. Manu, Dra. Laura, Dr. Vic, próxima Dra. Elizabeth (–A ver Shirilo, –di di di di di), próximo Dr. Juan Alfredo (Mejor conocido como Fredy, inmensa ayuda, de verdad ¡GRACIAS!), no podría haberlo hecho sin su inmenso apoyo. ¡Gracias!

Dra. Yendi Navarro, Dr. Marco Luna, Dr. Rodolfo Marsch, Dr. Fred Thalasso, Dr. Gerardo Zúñiga, Dra. Olivia Franco, Dr. Bram Govaerts., Dra. Nele Verhulst., Dr. Edgar V., Dr. Alex Ponce, Dra. Chío, agradecimiento muy especial por todo el apoyo, consejos y tiempo que me brindaron.

CIMMYT, Don Beto, Mari, Tocayo, Betty, Jibus, Ariel, a los del norte.

Erick (Sr. Oso), Angelitos (Sra. Oso), Yosef (amigoooo), Caro Cacerola, Gaby S., Richi, Capi, Gabo, Dr. Gurubertano, Adriana, ñoña Mary, muy en especial a Blanch por toooooodo todo el apoyo y ayuda en el lab. A los nuevos, a los viejos, a los de antes y a los de ahora, a todos ustedes, ¡Muchas gracias!

Ira, Brenda, Dalia, Alex, Aria, los mejores minions, les deseo lo mejor y ya saben, Power-Power, muchas gracias.

¡GRACIAS!

No.	Título	Página
	Listado de abreviaciones	9
	Resumen	10
	Abstract	11
1.	Introducción	12
1.1.	Generalidades del suelo, definición y función	12
1.2.	El desarrollo de la agricultura	13
1.3.	Centros de origen de la agricultura	13
1.4.	Degradación de suelos agrícolas	14
1.5.	Factores asociados a la degradación de suelos agrícolas	15
1.5.1.	Rompimiento de la estructura del suelo	15
1.5.2.	Erosión	16
1.5.3.	Degradación de la materia orgánica	16
1.5.4.	Materia orgánica del suelo	16
1.5.5.	Carbono orgánico del suelo	16
1.5.6.	Pérdida de la diversidad microbiana del suelo	17
1.6.	Agricultura de Conservación a nivel mundial	17
1.6.1.	Agricultura de Conservación en México	19
1.6.2.	Siembra en plano y en camas	20
1.7.	Generalidades de la AC	21
1.7.1.	Principios básicos de la AC	22
1.7.2.	Labranza o no labranza	22
1.7.3.	Rotación de cultivos	22
1.7.4.	Retención de residuos	23
1.8.	La microbiología del suelo	23
1.8.1.	Importancia de la microbiología en la Agricultura de Conservación	24
1.8.2.	Exploración de la Microbiología de la Agricultura de Conservación	26
2.	Justificación	28
3.	Hipótesis	29
4.	Objetivo general	29
4.1.	Objetivos específicos	29
5.	Capítulo 1	30
5.1.	Estudio de las comunidades bacterianas en suelos agrícolas con Agricultura de Conservación y Práctica Convencional del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT Int.).	30
5.2.	Antecedentes	30
6.	Materiales y Métodos	36
6.1.	Sitio experimental	36
6.2.	Tratamientos muestreados del sitio experimental	36
6.3.	Muestreo de suelo	38
6.4.	Cultivo de maíz y fraccionamiento del residuo	39
6.5.	Diseño experimental e incubación aerobia	39

6.6.	Extracción de DNA y amplificación del gen 16S rRNA	40
6.7.	Análisis de los datos secuenciados	41
6.8.	Análisis estadístico	42
7.	Resultados	42
7.1.	Características del suelo	42
7.2.	Estructura de la comunidad bacteriana en suelo control	43
7.3.	Aplicación de material orgánica	48
7.4.	Análisis de componentes principales y de correlación canónica	52
8.	Discusión	58
8.1.	Abundancia relativa de grupos bacterianos en suelo sin adición de residuos	58
8.2.	Efecto de la aplicación de residuos en la abundancia relativa de los grupos bacterianos	60
9.	Conclusiones del capítulo 1	63
10.	Capítulo 2	64
10.1.	Estudio de las comunidades bacterianas en suelos agrícolas con Agricultura de Conservación y Práctica Convencional del Centro de Investigación Australiano del Algodón (ACRI).	64
10.2.	Introducción	64
10.3.	Antecedentes	65
11.	Materiales y Métodos	66
11.1.	Sitio experimental	66
11.2.	Tratamientos en campo	66
11.3.	Muestreo de suelos	67
11.4.	Cultivo de maíz y fraccionamiento del residuo	68
11.5.	Diseño experimental e incubación aerobia	68
11.6.	Amplificación del gen 16S rRNA	69
11.7.	Análisis de los datos secuenciados	70
11.8.	Análisis estadístico	70
12.	Resultados	71
12.1.	Características del suelo	71
12.2.	Estructura de la comunidad bacteriana en suelos sin adición de residuos	72
12.3.	Aplicación de la materia orgánica	78
12.4.	Análisis de componentes principales	82
12.5.	Aproximación de la funcionalidad metabólica en los suelos CTCC, MTCC y MTWC	87
13.	Discusión	89
13.1.	Características del suelo	89
13.2.	Mineralización de la materia orgánica	89
13.3.	Abundancia relativa de grupos bacterianos	90
13.4.	Análisis de Componentes Principales a nivel de filo en suelos sin adición de residuos	93
13.5.	Análisis de Componentes Principales a nivel de filo en suelos con adición de residuos	94
13.6.	Exploración <i>in silico</i> mediante PICRUSt	95

14.	Conclusiones del capítulo 2	96
15.	Capítulo 3	97
15.1.	Contribución y Prospectivas del trabajo	97
16.	Referencias	100
17.	Anexo de figuras	119
18.	Anexo de tablas	123
19.	Anexo de determinaciones fisicoquímicas	124
20.	Anexo de artículo	128

Índice de figuras		
Título		Página
Fig. 1 Horizontes de un suelo estándar		12
Fig. 2 Centros de origen de la agricultura		14
Fig. 3 Agregados del suelo		15
Fig. 4 Localización del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, CIMMYT		20
Fig. 5 Parcela en plano, AC		21
Fig. 6 Parcela en camas, camas permanentes		21
Fig. 7 Esquema de parcela en plano		21
Fig. 8 Esquema de parcela en cama		21
Fig. 9 Suelo con Agricultura de Conservación		22
Fig. 10 Diagrama general de trabajo		35
Fig. 11 Localización del sitio de muestreo, CIMMYT		36
Fig. 12 Muestreo de suelos por tratamiento		38
Fig. 13 Abundancia relativa de los diferentes <i>phyla</i> bacterianos en suelos de “El Batán”		46
Fig. 14 Emisión acumulada de CO ₂ (mg C kg ⁻¹ suelo seco) de los suelos incubados aeróbicamente por 14 días.		49
Fig. 15a PCA de Suelos sin adición de residuos a nivel de filo		52
Fig. 15b PCA de Suelos con adición de rastrojo de maíz a nivel de filo		53
Fig. 15c PCA de suelo con adición de FDN a nivel de filo		53
Fig. 16a PCA de suelos sin adición de residuos a nivel de orden		55
Fig. 16b PCA de suelos con adición de rastrojo de maíz a nivel de orden		55
Fig. 16c PCA de suelos con adición de FDN a nivel de orden		56
Fig. 17 Análisis de correlación canónica considerando la abundancia relativa de los diferentes <i>phyla</i>		58
Fig. 18 Sitio experimental ACRI		66
Fig. 19 Esquema de muestreo de un tratamiento de suelos en campo, correspondientes al sitio ACRI, Narrabri, Australia		68
Fig. 20 Abundancia relativa de los <i>phyla</i> encontrados en los suelos de ACRI, Australia, correspondientes a CTCC, suelo sin adición (Ctrl), con residuo de fibra		74

detergente neutro (FDN), rastrojo de maíz y urea.	
Fig. 21 Abundancia relativa de los <i>phyla</i> encontrados en los suelos de ACRI, Australia, correspondientes a MTCC, suelo sin adición (Ctrl), con residuo de fibra detergente neutro (FDN), rastrojo de maíz y urea.	74
Fig. 22 Abundancia relativa de los <i>phyla</i> encontrados en los suelos de ACRI, Australia, correspondientes a MTWC, suelo sin adición (Ctrl), con residuo de fibra detergente neutro (FDN), rastrojo de maíz y urea.	75
Fig. 23 Análisis de componentes principales considerando los diferentes <i>phyla</i> encontrados en suelos CTCC, MTCC y MTWC sin adición de residuos incubados aeróbicamente por 56 días.	83
Fig. 24 Análisis de componentes principales considerando los diferentes <i>phyla</i> encontrados en suelos CTCC, MTCC y MTWC adicionado con residuo de maíz, incubados aeróbicamente por 56 días.	84
Fig. 25 Análisis de componentes principales considerando los diferentes <i>phyla</i> encontrados en suelos CTCC, MTCC y MTWC adicionados con residuo de FDN, incubados aeróbicamente por 56 días	84
Fig. 26 Análisis de componentes principales considerando los diferentes <i>phyla</i> encontrados en suelos CTCC, MTCC y MTWC adicionados con urea, incubados aeróbicamente por 56 días	85
Fig. 27 Principales actividades metabólicas posiblemente involucradas en el suelo CTCC	87
Fig. 28 Principales actividades metabólicas posiblemente involucradas en suelo MTCC	88
Fig. 29 Principales actividades metabólicas posiblemente involucradas en suelo MTWC	88
Fig. Anexo 1. Se muestran los distintos géneros bacterianos que fueron afectados por la adición de distintos sustratos a lo largo de la incubación aerobia por 28 días en suelos con distintas prácticas de manejo agrícola	119
Fig. Anexo 2. Emisión de CO ₂ en suelo CTCC	120
Fig. Anexo 3. Emisión de CO ₂ en suelo MTCC	120
Fig. Anexo 4. Emisión de CO ₂ en suelo MTWC	121
Fig. Anexo 5. PCA a nivel de Clase de suelos CTCC, MTCC y MTWC incubados por 56 días sin adición de residuos	121
Fig. Anexo 6. PCA a nivel de Orden de suelos CTCC, MTCC y MTWC incubados por 56 días sin adición de residuos	122
Fig. Anexo 7. PCA a nivel de familia de suelos CTCC, MTCC y MTWC incubados por 56 días sin adición de residuos	122

Índice de tablas	
Título	Página
Tabla 1. Resumen antecedentes de “El Batán”	34
Tabla 2. Resumen de los tratamientos incluidos pertenecientes a “El Batán”	38
Tabla 3. Condiciones para PCR del gen 16S rRNA	41
Tabla 4. Características de los suelos cultivados en plano y en camas en “El Batán”	43
Tabla 5. Parámetros de la diversidad alfa	44
Tabla 6. Efecto de las prácticas agrícolas	47
Tabla 7. Características del material orgánico (residuo de maíz) utilizado en la incubación aerobia	48
Tabla 8. Efecto de la aplicación de residuo de maíz y de FDN en la abundancia relativa de los grupos bacterianos	50
Tabla 9. Análisis PERMANOVA	57
Tabla 10. Resumen de los tratamientos pertenecientes a los suelos de ACRI, Narrabri, Australia	67
Tabla 11. Condiciones para PCR del gen 16S rRNA	70
Tabla 12. Características fisicoquímicas del suelo cultivado con diferentes prácticas agrícolas del campo experimental ACRI, Narrabri, Australia	72
Tabla 13. Parámetros de la diversidad alfa	73
Tabla 14. Efecto de las prácticas agrícolas	75
Tabla 15. Efecto de la aplicación de residuo de maíz, FDN y urea en la abundancia relativa de los grupos bacterianos	80
Tabla 16. Efecto de la aplicación de residuo de maíz, FDN y urea en la abundancia relativa de los grupos bacterianos	81
Tabla 17. Análisis PERMANOVA	86
Tabla Anexo 1. Emisión de CO ₂ en los suelos CTCC, MTCC y MTWC, sin adición y con adición de residuos de rastrojo de maíz, FDN y urea, incubados aeróbicamente por 56 días	123

Listado de abreviaturas

AC: Agricultura de Conservación

PC: Práctica Convencional

PB: (Permanent Beds, por sus siglas en inglés)

CB: (Conventional Beds, por sus siglas en inglés)

CTCC: (Conventional Tillage, Continuous Cotton, por sus siglas en inglés) Camas convencionales, monocultivo de algodón

MTCC: (Minimum Tillage, Continuous Cotton, por sus siglas en inglés) Camas permanentes, monocultivo de algodón

MTWC: (Minimum Tillage, Wheat-Cotton, por sus siglas en inglés) Camas permanentes, rotación trigo-algodón

SOM: (Soil Organic Matter, por sus siglas en inglés) Materia orgánica del suelo

EC: (Electrolytic Conductivity, por sus siglas en inglés) Conductividad electrolítica

WHC: (Water Holding Capacity, por sus siglas en inglés) Capacidad de retención de agua

CIMMYT: Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo

ACRI: (Australian Cotton Research Institute, por sus siglas en inglés) Centro de Investigación Australiano del Algodón

FDN: Fibra Detergente Neutro

Resumen

Las prácticas agrícolas como la agricultura convencional, en la que se realiza labranza, eliminación de residuos y el monocultivo, son capaces de modificar las características fisicoquímicas del suelo de manera paulatina y sustancial.

Este grado de perturbaciones en los suelos, y sus implicaciones fisicoquímicas, tienen la propiedad de afectar también a las comunidades microbianas que se encuentran involucradas en los procesos biogeoquímicos del suelo.

Para la realización de este proyecto, se utilizaron suelos provenientes de dos centros experimentales;

El primero fue el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, “CIMMYT”, localizado en la comunidad de El Batán, en Texcoco, Estado de México. De este centro experimental se eligieron suelos con actividades contrastantes, entre agricultura de conservación y agricultura convencional, ambos tipos de agricultura utilizados en parcelas en plano o en camas. Al analizar las comunidades bacterianas de estos suelos, se logra distinguir que ciertos grupos están ligados a ciertas prácticas agrícolas. El filo Actinobacteria se relaciona principalmente con prácticas convencionales y con la adición de materia orgánica. Entre algunos de los grupos bacterianos relacionados con la agricultura de conservación, se encuentran principalmente los *phyla* Acidobacteria y Planctomycetes, grupos que son favorecidos por ambientes en los cuales no existen grandes cantidades de nutrientes.

El segundo centro experimental fue el Centro de Investigación Australiano del Algodón, “ACRI”, ubicado en Narrabri, Australia, y comparando prácticas agrícolas de conservación y convencionales en cultivos en cama, se encontró una cantidad limitada de grupos bacterianos asociados con ambos tipos de agricultura. Sin embargo, prevalecieron Actinobacteria para práctica convencional y Acidobacteria en práctica de conservación.

Abstract

The contrasting agricultural practices, like **conventional agriculture**, characterized by tillage, residue elimination and monoculture, are able to modify the physicochemical characteristics of the soil, gradually and substantially.

This degree of disturbance in the soil, and its physical and chemical implications, have the property also affect microbial communities that are involved in biogeochemical soil processes.

For this project, soils from two experimental centers were used;

The first was "CIMMYT", located in the community of El Batan, Texcoco, State of Mexico. This experimental center with contrasting soils were chosen activities, including conservation agriculture and conventional agriculture, both types of farming used in flat plots or beds. In analyzing the bacterial communities in these soils, it is possible to distinguish certain groups are linked to certain farming practices. The Actinobacteria phylum is mainly related to conventional practices and with the addition of organic matter. Some of the bacterial groups related to conservation agriculture, are mainly the Acidobacteria and planctomycetes, groups that are favored by environments in which there are no large amounts of nutrients *phylum*.

The second experimental center from which soils were studied was the Australian Cotton Research Institute, "ACRI" located in Narrabri, Australia, and comparing conservation agriculture practices and conventional crops in bed, a limited number of bacterial groups associated with both types of agriculture are founded. However, in conventional practice prevailed Actinobacteria and Acidobacteria in conservation practice.

1. Introducción

1.1. Generalidades del suelo, definición y función

El suelo es un cuerpo natural con tres dimensiones espaciales y una temporal, constituidas por materia mineral y orgánica, en fases sólida, líquida y/o gaseosa, organizadas estructuralmente de acuerdo a la propia estructura edáfica formando horizontes (Fig. 1), siendo O: el más superficial, constituido principalmente por materia orgánica en descomposición, A: compuesto por materia orgánica mezclada con materia mineral, E: constituido por lixiviados, B: constituido principalmente por arcillas, hierro y aluminio, C: integrado por materia parental o roca madre parcialmente alterada y finalmente el horizonte R: roca madre sin alterar (Arrouays et al., 2014; IUSS, Working Group, 2015).

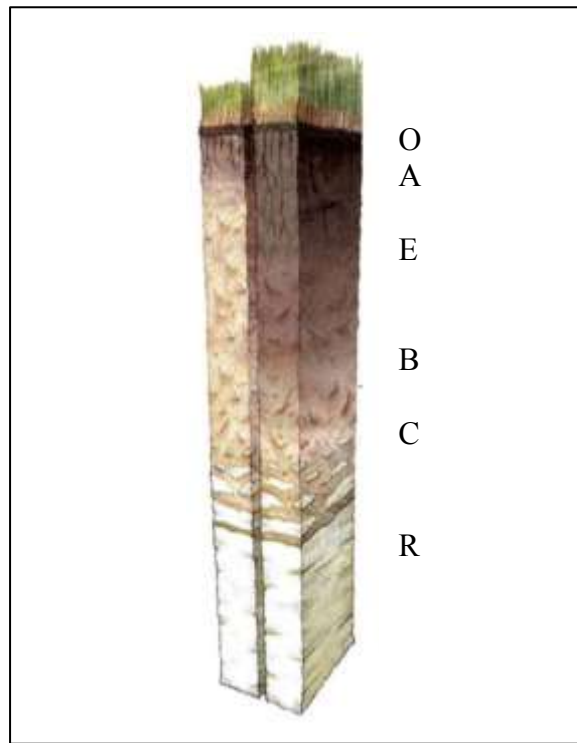


Fig. 2 Horizontes de un suelo estándar. Tomado y modificado de Arrouays et al., 2014.

Es necesario poner a consideración que los suelos nos proporcionan comida y agua limpia, reciclan los nutrientes, descomponen contaminantes, además controlan las fluctuaciones de agua, secuestran cantidades significativas de carbono y proporcionan hábitat a una gran cantidad de especies distintas en distintos ecosistemas terrestres (Brevik et al., 20016).

1.2. El desarrollo de la agricultura

Los suelos han estado sujetos a cambios debido a prácticas agrícolas desde hace milenios. Las causas de los cambios antropogénicos de los suelos han sido complejos y de muy diversos tipos, magnitudes, así como en escalas tanto espaciales como temporales (Homburg y Sandor, 2011). Se especula que después de la última glaciación, el clima se hizo propicio para el surgimiento de la agricultura, hace unos 10,000 ~ 11,000 años atrás, en diversos puntos del planeta (Martin y Sauerborn, 2013).

La innovación e intensificación de la agricultura requirió una buena disponibilidad de agua y una organización social estable para poder localizar recursos ambientales (Egli et al., 2013), por lo que también es muy importante reconocer que la adopción de la agricultura alteró significativamente la evolución y desarrollo de la sociedad humana (Gowdy y Krall, 2013).

1.3. Centros de origen de la agricultura

De acuerdo a diversas investigaciones, 11 regiones a nivel mundial han sido consideradas como Centros de Origen de la Agricultura (Fig. 2). En la zona de América Central, México es considerado como el centro de domesticación del maíz (*Zea mays* L.), además de variedades de calabazas, chiles y frijol, independientemente de las encontradas en América del Sur, al igual que algunas especies de algodón (*Gossypium hirsutum* L.)

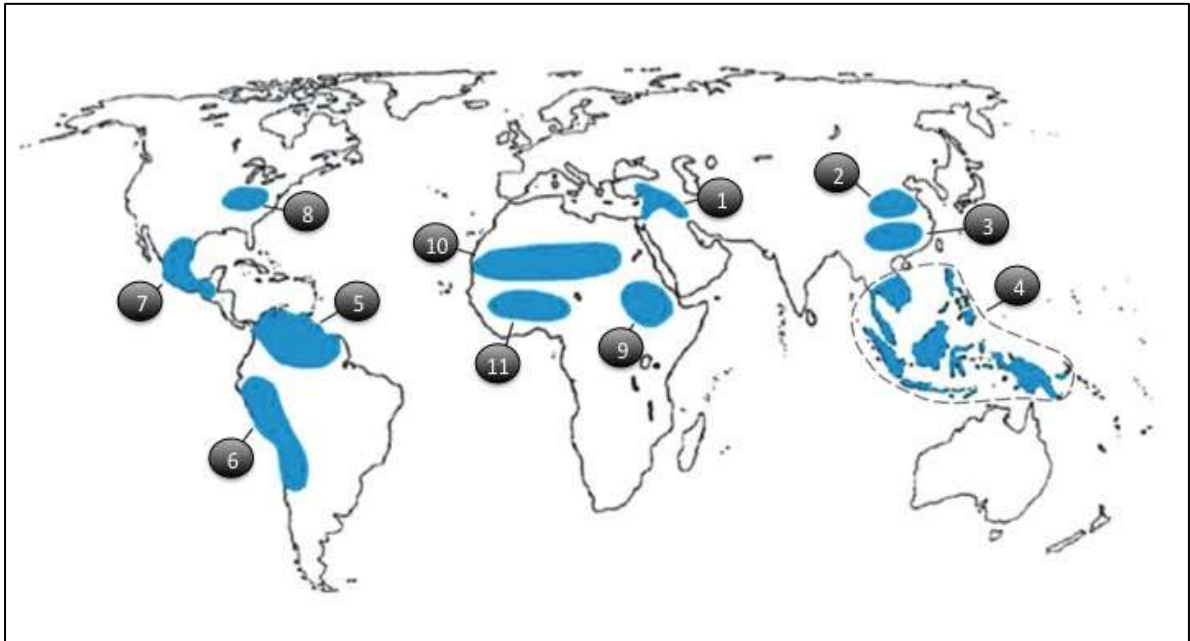


Fig. 2 Centros de origen de la agricultura. 1: Medio Este, 2: Norte de China, 3: Sur de China, 4: Asia del Este, 5 y 6: América del Sur, 7: América Central, 8: América del Norte, 9: África del Este, 10: África del Norte, 11: África del Oeste. Tomado y modificado de Martin y Sauerborn, 2013.

Los agroecosistemas han sido considerados como los ecosistemas terrestres en los cuales se ha aplicado la mayor cantidad de ingeniería de diversa índole (Vandermeer y Perfecto, 2007). Para comprender la dinámica de los agroecosistemas, es necesario conocer como las actividades antropogénicas han tenido impacto en los suelos y determinar como es que se llevan a cabo las diferentes interacciones ecológicas en este tipo de ecosistemas (Bull et al., 2001; Egli et al., 2013).

1.4. Degradación de suelos agrícolas

Debido a los diferentes usos que se le ha dado al suelo, entre ellos la agricultura de manera extensiva, se ha ejercido una presión ambiental sin precedentes (Keesstra et al., 2016), aumento en la demanda de bienes y servicios provenientes de la agricultura a costa de una mayor utilización de superficie terrestre (O'Brien, 1977), y con ello, una mayor cantidad de suelos que se están siendo degradados (European Commission, 2002; Keesstra et al., 2016).

Los sistemas agrícolas intensivos basados en la mecanización y fertilización química, son en esencia dañinos al ambiente (Foley et al., 2005; Renard et al., 2013), sin embargo ha sido difícil establecer un estado de degradación de los suelos agrícolas tomando en cuenta un único factor, ya que generalmente un agroecosistema deteriorado está relacionado con una baja en la producción sin tomar en cuenta otros aspectos como las características fisicoquímicas (Lal, 1997; Squire et al., 2015).

1.5. Factores asociados a la degradación de suelos agrícolas

1.5.1. Rompimiento de la estructura del suelo

Uno de los factores físicos más importantes involucrados en la agricultura tradicional, es la labranza (del latín *laboràre*) (RAE, 2016), utilizada casi de manera ubicua en la mayoría de los agroecosistemas con la finalidad de preparar una cama para las semillas, incorporar fertilizantes o abonos, además de eliminar malezas (Leij et al., 2002; Conant et al., 2007). Se considera que la labranza permite el rompimiento de costras del suelo e incrementa la superficie de contacto de los nutrientes con las semillas o la zona radicular.

La estructura del suelo conformada por macro y microagregados (Fig. 3) son factores para que un suelo tenga una buena producción y fertilidad, los agregados del suelo se ven afectado negativamente cada vez que se realiza el proceso de labranza (Six et al., 2000; Hevia et al., 2007; Tanner et al., 2016).

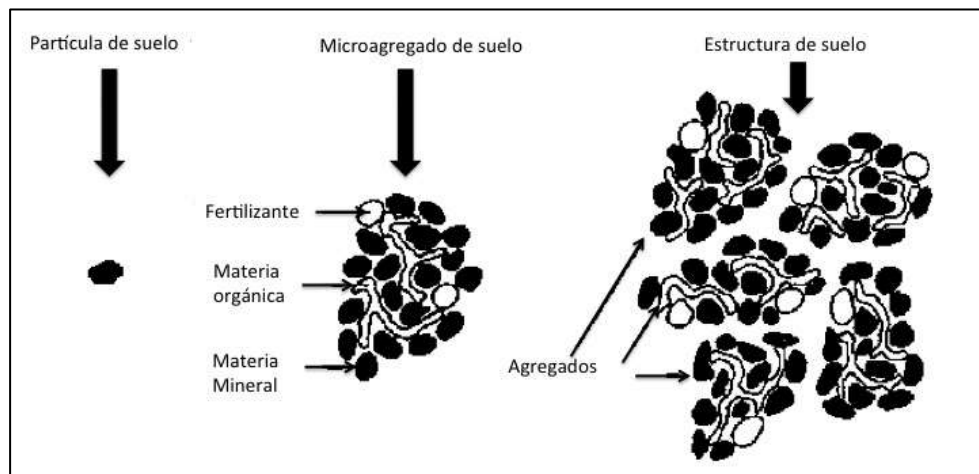


Fig. 3 Agregados del suelo. Tomado de FAO, 1985.

Los agregados del suelo proporcionan una estructura de resistencia actuando como protección física ante la erosión hídrica y eólica, además de proporcionar microambientes propicios para que se lleve a cabo parte de la actividad microbiana, por lo que el proceso de labranza afecta directamente a estos agregados, e indirectamente a los procesos biogeoquímicos en el ambiente del suelo (Young y Ritz, 2000; Helgason 2010a).

1.5.2. Erosión

Un problema muy común en suelos donde se lleva a cabo la agricultura tradicional, es la erosión, la cual puede ser tanto eólica como hídrica, como se mencionó anteriormente (Williams et al., 2009). La aceleración en la erosión de los agroecosistemas es una de las principales causas de la pérdida en la fertilidad del suelo así como en la disminución de la producción (Yan y Cai, 2015). La erosión es un fenómeno multifactorial, ya que está relacionado tanto con la intensa labranza, la compactación del suelo debido a la maquinaria así como por, en algunos casos, la aplicación de herbicidas (Bisantino et al., 2015).

1.5.3. Degradación de la materia orgánica

1.5.4. Materia orgánica del suelo

La mayor degradación del suelo se observa como una disminución en la materia orgánica inherente a la agricultura (Homburg y Sandor, 2011), cuando el suelo es labrado, la materia orgánica del suelo (SOM, por sus siglas en inglés) queda más expuesta y se descompone rápidamente (Lal y Bruce., 1999; Datta et al., 2013), aumentando la tasa de evaporación así como una disminución en los nutrientes (Ogle et al., 2003).

1.5.5. Carbono orgánico del suelo

El carbono orgánico del suelo (SOC, por sus siglas en inglés), está considerado como una pieza clave en la fertilidad del suelo (Reicosky, 1995; Hernanz et al., 2002), diversos reportes indican que los sistemas agrícolas intensivos reducen el SOC (Johnston et al., 2009; Kallenbach et al., 2015), disminuye la porosidad e incrementa la densidad, como consecuencia se reduce la infiltración de agua, baja la aireación, y las interacciones físicas, químicas y biológicas se ven disminuidas (Celik, 2005; Araya et al., 2016).

1.5.6. Pérdida de la diversidad microbiana del suelo

Es común observar que las alteraciones en el suelo se vean reflejadas en los microorganismos, particularmente en bacterias, debido a la sensibilidad que tienen a los cambios ambientales tanto naturales como antropogénicos (Yin et al., 2010). Las alteraciones en la calidad del suelo, están normalmente acopladas con los cambios en la estructura de la comunidad bacteriana (Kennedy y Smith, 1995).

Diversos estudios han demostrado que las prácticas agrícolas donde se disminuye la labranza, retienen mayor cantidad de materia orgánica y mejora la estructura en comparación con sistemas convencionales (Bauer y Black, 1981; Rasmussen y Collins 1991; Paustian et al., 1997; Ozpinar y Cay, 2006; Melero et al., 2011), han sido reconocidas como métodos efectivos para controlar la erosión de los suelos (Lal et al., 2007; Derpsch et al., 2010; Prasuhn, 2012), y han permitido ahorros en costos económicos y energéticos (Grabowski et al., 2014).

1.6. Agricultura de Conservación a nivel mundial

Los antecedentes de la agricultura de conservación (AC), provienen de prácticas como labranza de conservación (CT, Conservation Tillage, por sus siglas en inglés), en las cuales se engloban la no labranza (NT, No Tillage, por sus siglas en inglés) y labranza reducida (RT, Reduced Tillage, por sus siglas en inglés) (CTIC, 1994; Gonzalez-Sanchez et al., 2015).

Este tipo de prácticas surgieron como una respuesta a los efectos en la “Cuenco del Polvo” en 1930, localizada en gran parte de la región americana del norte y centro de los Estados Unidos de América y los estados del Norte de México, regiones en las cuales prevaleció una fuerte erosión de los suelos, creando grandes nubes de polvo arrastradas miles de kilómetros por los fuertes vientos (Lorentz, 1936; Baveye et al., 2011; Gonzalez-Sanchez et al., 2015).

Son consideradas agrociencias emergentes (Hobbs et al., 2008; Lichtfouse et al., 2010; Gonzalez-Sanchez et al., 2015), con el objetivo principal de preservar los suelos en condiciones semi-naturales, minimizando las perturbaciones por los cultivos (Kertez, 2004; Oicha et al., 2010)

En el año de 1935 se implementaron y expandieron rápidamente prácticas de disminución de labranza en distintas zonas de cultivo de los Estados Unidos de América por el servicio de Conservación de Suelos de ese país (Hill et al., 1994). En algunos países del norte de Europa, experimentaron daños por excesiva labranza en suelos húmedos, además de una disminución de la actividad agrícola en zonas rurales, motivo por los cuales comenzaron a implementar la reducción de la labranza, encabezada por Alemania, Holanda y el Reino Unido (Baeumer, 1970, Christian, 1994; Gonzalez-Sanchez et al., 2015).

En distintas regiones de Asia Central, parte de lo que alguna vez fue la Unión Soviética, se han estado implementado prácticas de AC desde hace unos 20 años. Los motivos han sido diversos, entre los que destacan los altos costos de fertilizantes, la degradación de los suelos, escasos métodos de irrigación y lo impredecible que se ha vuelto el clima en esas zonas. La motivación a cambiar a este tipo de agroecosistemas ha sido por la evidencia encontrada en países africanos, en los cuales han encontrado mejoras económicas, ecológicas e incluso sociales (Giller et al., 2009; Kassie and Zikhali, 2009; Kienzler et al., 2012).

En lo que respecta al continente africano, desde el año 1990 aproximadamente, ha existido un incremento sustancial en la adopción de sistemas agrícolas basados en la AC, principalmente en la zona sur del continente Africano. (Stihole et al., 2016). La motivación de adoptar este tipo de agroecosistemas en el continente se basa en el aumento exponencial de la población así como la escasez de agua (United Nations, 2009; Sithole et al., 2016) y en los rendimientos observados tanto en América como en Australia (Kassam et al., 2009; Thierfelder et al., 2013).

Se estima que en Australia, alrededor de un 80% de las zonas agrícolas con irrigación están compuestas por suelos pobres en nutrientes y con alta salinidad, lo que genera suelos de estructura frágil, muy susceptibles a la erosión (Ghosh et al., 2010).

En las regiones áridas y semiáridas del este de Australia, las precipitaciones son inadecuadas para la demanda del cultivo de algodón (*Gossypium hirsutum* L.), por lo que el uso eficiente del agua ha motivado a gran parte de los productores de algodón a la adopción de prácticas agrícolas sostenibles basadas en la AC, así como por la mejora de nutrientes en los suelos (Hulugalle et al., 2004; Tennakoon y Hulugalle, 2006; Hulugalle et al., 2010).

1.6.1. Agricultura de Conservación en México

En gran parte de la zona subtropical del centro de México, se realiza la agricultura tradicional (labranza, monocultivo y remoción de residuos), con maquinaria o tracción animal, que en combinación con los fuertes vientos de la zona y las lluvias irregulares, deja a los suelos propensos a ser degradados (Sayre et al., 2001; Govaerts et al., 2008a)

Desde el año 1991, el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), ha mantenido y desarrollado un ensayo de largo plazo en la localidad de “El Batán, en el estado de México, con la finalidad de evaluar y refinar las prácticas agrícolas sostenibles basadas en la AC (Govaerts et al., 2006; Rivers et al., 2016), mientras que en la zona norte de México también se cuenta con otro centro experimental denominado como Centro Norman E. Borlaug (CENEB) para apoyar en la adopción de prácticas sostenibles en zonas áridas a semi-áridas de México (Verhulst et al., 2010).



Fig. 4 Localización del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, CIMMYT, ubicado en Texcoco de Mora, Estado de México, México. Tomado de Google Maps, 2016.

1.6.2. Siembra en plano y en camas

En condiciones de cultivos por temporal donde se aprovecha el riego natural, los cultivos se siembran generalmente en parcelas que no presentan ninguna elevación en la línea de siembra, denominadas parcelas en plano (Figs. 5 y 7), mientras que los cultivos que presentan una elevación de la línea de siembra con respecto al nivel del suelo se denominan “en camas” (Figs. 7 y 8) (Aquino, 1998).

Los cultivos en camas es común encontrarlos en regiones áridas o semiáridas, y en la actualidad ha sido ampliamente adoptado por una gran cantidad de productores agrícolas en gran parte noroeste de México, ya que este sistema facilita el cultivo mecánico y es una buena alternativa para el aprovechamiento del agua, reduciendo el anegamiento de la zona radicular y la erosión hídrica (Aquino, 1998; Sayre, 2004)

La AC tiene la flexibilidad de poder ser aplicada tanto en cultivos en plano como cultivos en camas (denominadas Camas Permanentes cuando se aplica agricultura de conservación) (Majeed et al., 2015; Ramírez-Villanueva et al., 2015).



Fig. 5 Parcela en plano, AC



Fig. 6 Parcela en camas, camas permanentes



Fig. 7 Esquema de parcela en plano

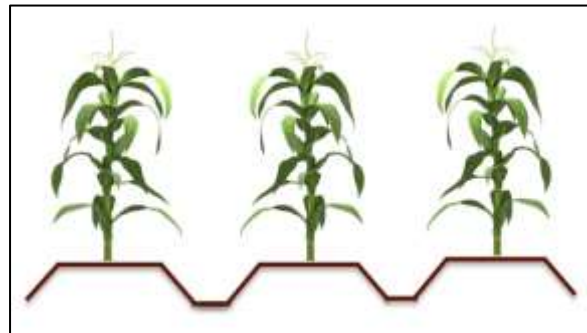


Fig. 8 Esquema de parcela en cama

1.7. Generalidades de la AC

La AC ha sido ampliamente recomendada por los aspectos positivos siguientes; incrementa la producción, reduce la degradación del suelo y disminuye la erosión tanto eólica como hídrica (FAO, 2001; Thierfelder y Wall, 2010; Powlson et al., 2016), permite que los agroecosistemas tengan una producción sostenible (Pretty, 2008; Ling-Ling et al., 2011), reduce los costos de producción (Kienzler et al., 2012), además de promover suelos con buenas cualidades físicas, químicas y biológicas (Dendooven et al., 2012).

1.7.1. Principios básicos de la AC

En los agroecosistemas con AC (Fig. 9), no sólo se hace énfasis en la disminución o eliminación de la labranza, es considerada una práctica aún más completa que involucra tres principios básicos; 1) mínimo movimiento del suelo reduciendo o eliminando la labranza, 2) cobertura racional de la superficie del suelo, 3) rotación de cultivos económicamente viables (Govaerts et al., 2009; Araya et al., 2012).



Fig. 9 Suelo con Agricultura de Conservación. El Batán, Texcoco, Estado de México, México. Sin labranza, rotación trigo-maíz, cobertura.

1.7.2. Labranza o no labranza

En contraste, las prácticas agrícolas que llevan a cabo labranza de conservación (mínima o sin labranza) tienen un efecto en el incremento del carbono orgánico en la capa superficial del suelo (Six et al., 2000). Otro aspecto a considerar en los sistemas donde no se realiza labranza, es la mejora en la capacidad de infiltración de agua en comparación con suelos con prácticas convencionales con labranza (Paltineanu y Starr, 2000).

1.7.3. Rotación de cultivos

Esta práctica ha sido una opción en el control de patógenos originados en los suelos (Kirkegard y Sarward., 1998; Lazarovits, 2010), además de que se ha observado una disminución en las enfermedades que afectan a ciertos cultivos (Bernard et al., 2011). En

otros estudios, la rotación y el intercalado de cultivos comenzó a realizarse para controlar infestaciones por insectos, además de reducir problemas causados por malezas invasoras (Zentner et al., 2002; Plourde et al., 2013).

La rotación de cultivos y la adición de materia orgánica, ha mostrado tener éxito en el control de algunas enfermedades tanto en los suelos como en plantas cultivables, debido a un aumento en la actividad microbiana, lo que origina la competencia por la disponibilidad de nutrientes entre patógenos de las plantas y los microorganismos benéficos, los cuales reducen la disponibilidad de nutrientes y en consecuencia a los patógenos potenciales (Hoitink y Boehm, 1999; Noble y Coventry, 2005; Yao et al., 2006).

1.7.4. Retención de residuos

La retención de residuos en la superficie del suelo como un mantillo puede incrementar la cantidad de SOM, y de manera sinérgica con la mineralización de los fertilizantes se puede aumentar la biomasa de los cultivos, subsecuentemente, la materia orgánica es reincorporada al suelo (Bationo et al., 2007; Paul et al., 2013).

La tasa de descomposición de los residuos varía significativamente dependiendo de la localización, la distribución así como del tamaño de los mismos (Khalid et al., 2000; Alvararado, 2006; Repullo et al., 2012), aunado a lo anterior, algunos estudios sugieren que la retención de residuos reduce el tiempo de labor al minimizar el desarrollo de ciertas malezas (Mashingaidze et al., 2012).

1.8. La microbiología del suelo

Hace varias décadas, los microorganismos recibían poca atención en los textos de biología, eran ignorados por la mayoría de los biólogos y prácticamente desconocidos al público en general. Antes del desarrollo de los métodos de secuenciamiento genómico, era muy difícil conocer las relaciones que conectaban al árbol de la evolución (Pace, 1997).

En gran medida, en un gramo de suelo es posible encontrar cientos de miles de taxas distintos bacterianos, predominando como biodiversidad del suelo. Buena parte de la relación entre la estructura microbiana y las funciones del suelo continúan sin ser del todo conocidas (Torsvik and Øvreås, 2002; De Vries et al., 2013), a pesar de ser un componente crucial del suelo en los ciclos biogeoquímicos, mineralizando la materia orgánica y proporcionando nutrientes para el desarrollo de las plantas (Bardgett et al., 2008; Kaisermann et al., 2013).

Los microorganismos del suelo tienen participación clave en los cambios que ocurren en el carbono del suelo, mineralizando-inmovilizando la materia orgánica existente en el suelo (Breulman et al., 2014). La diversidad y dinámica microbiana determina la salud del suelo, considerada altamente relevante en el desarrollo o supresión de enfermedades en diversos cultivos (Garbeva et al., 2004).

1.8.1. Importancia de la microbiología en la Agricultura de Conservación

La biota del suelo es el mayor componente de los agroecosistemas, teniendo participación clave entre la captura y reciclaje de nutrientes, almacenando SOM controlando la estructura física del suelo, teniendo sinergias con la vegetación y producción de cultivos (Jouquet et al., 2006; Carpenter et al., 2007; Forey et al., 2011; Pongue et al., 2013).

Los microorganismos del suelo y los procesos biogeoquímicos en los que se encuentran involucrados son fundamentales para los agroecosistemas a largo plazo (long-term experiments) (Yeates et al., 1999; Shi et al., 2012). Las comunidades microbianas del suelo, están fuertemente influenciadas por las propiedades fisicoquímicas del suelo, tales como el pH, contenido de carbono y de nutrientes, mientras que en las prácticas agrícolas, las diferentes comunidades de microorganismos pueden verse afectados de manera positiva o negativa dependiendo de las diferentes prácticas de manejo (Seneviratne, 2009; Li et al., 2014).

Se ha documentado que en los agroecosistemas en los cuales no se realiza labranza, se mejoran las relaciones ecológicas entre plantas, suelo y microorganismos en comparación con prácticas agrícolas convencionales (Marinari et al., 2006; Nivelle et al., 2016), sin embargo, los efectos combinados de estos sistemas agroecológicos con la relación fisicoquímica así como biológica han recibido poca atención (Acosta-Martinez et al., 2011), aún cuando agroecosistemas sin labranza muestran aumento en la actividad enzimática así como en la diversidad y abundancia microbiana (Mathew et al., 2012).

Además de la SOM, también debe de considerarse las interacciones microbianas como un componente dinámico y pieza clave de la calidad del suelo (Islam y Weil, 2000; Ding et al., 2011; Aziz et al., 2013). De acuerdo a Kennedy y Papendick, (1995) y Aziz et al., (2013) los suelos de mejor calidad, son más activos biológicamente, además tienen poblaciones microbianas balanceadas, componiéndose principalmente de microorganismos degradadores que puedan mineralizar material orgánico y liberarlo en su entorno.

El sostenimiento de la biomasa microbiana del suelo (SMB, por sus siglas en inglés) es fundamental para el desarrollo de agroecosistemas sostenibles, ya que es un reflejo de la cantidad o almacenamiento de algunos nutrientes como C, N, P y S, además de la SOM (Carter et al., 1999; Sithole et al., 2016). Se ha observado que la SMB contribuye a la salud del suelo, actuando como antagonistas de potenciales patógenos y por lo tanto suprimiendo el riesgo de enfermedades en algunos cultivos (Weller et al., 2002; Sithole et al., 2016).

La descomposición de los residuos agrícolas es llevada a cabo principalmente por microorganismos del suelo, esta descomposición es afectada por diversos factores, entre los que destacan la textura del suelo, la composición de los residuos e inclusive el clima (Chen et al., 2017), esta descomposición de manera general, la comienzan diversas comunidades bacterianas a la que le prosiguen distintos tipos de hongos microscópicos. (Poll et al., 2008; Marschner et al., 2011; Chen et al., 2017)

1.8.2. Exploración de la Microbiología de la Agricultura de Conservación

En algunos casos, las propiedades de los microorganismos del suelo han sido reportadas como indicadores constantes de los cambios generados en la calidad del suelo (Jeffery et al., 2010). Entre algunos de los indicadores que han sido utilizados se encuentra la biomasa microbiana, contenido de ATP, tasa de nitrificación, actividad enzimática y fisiología de las comunidades microbianas (Garbisu et al., 2011).

Una meta de interés en el estudio de la ecología microbiana, es comprender los factores que controlan la variación en la composición y distribución de las comunidades bacterianas (Hanson et al., 2012), que en conjunto con las características funcionales de los diferentes taxa, pueden realizarse proyecciones de los cambios en los gremios bacterianos causados por los agroecosistemas (Ferrier et al., 2007; Landesman et al., 2014).

En la última década, una amplia variedad de herramientas moleculares han extendido el conocimiento de la diversidad y composición de las comunidades microbianas que componen el suelo, herramientas como electroforesis en gel de gradiente desnaturante (DGGE, por sus siglas en inglés), identificación de ácidos grasos y grandes avances significativos han sido posibles mediante análisis de secuenciamiento de DNA, ya sea analizando metagenomas o el secuenciamiento de genes en específico como 16S rRNA (Peixoto et al., 2006; Helgason et al., 2010b; Delmont et al., 2012; Souza et al., 2013).

La aplicación de metodologías moleculares como el etiquetado (metabarcoding), permite la caracterización de OTU's marcando fragmentos específicos de ciertos genes. La estrategia general consiste en, i) Extracción de DNA del suelo, ii) Amplificación de una secuencia específica del DNA de elección, iii) Secuenciamiento del DNA amplificado, iv) Análisis de secuencias utilizando una estrategia bioinformática y v) Asignaciones taxonómicas o identificación de los microorganismos y su asociación con los patrones requeridos. Esto se ha convertido en un procedimiento de análisis rápido de las comunidades microbianas que se encuentran poblando los suelos y explorar las interacciones que se llevan a cabo en los suelos (Roesch et al., 2007; Orgiazzi et al., 2013;

Simon y Daniel, 2011). El etiquetado de DNA en la exploración de comunidades bacterianas del suelo, representa oportunidades sin precedentes para monitorear la biodiversidad en los distintos agroecosistemas (Orgiazzi et al., 2015).

2. Justificación

La agricultura de conservación es una técnica alternativa que a diferencia de las prácticas convencionales, promueve un suelo sano y un desarrollo agrícola sostenible. Sin embargo, es importante conocer los gremios bacterianos presentes en este tipo de suelo, otorgarles un valor prospectivo y asociar la diversidad y la funcionalidad bacteriana de un suelo sostenible en el caso de la agricultura de conservación y de un suelo altamente perturbado en el caso de la agricultura convencional. Además, los suelos agrícolas del altiplano mexicano, comparten características con muchos otros países productores de granos en el mundo, por lo que su estudio, puede ayudar a la comprensión de la microbiología asociada a estas prácticas.

El grupo de trabajo se ha caracterizado por la colaboración con una gran gama de centros de investigación y universidades, una de las instituciones que nos brindó su valioso apoyo para la realización del presente trabajo, fue el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT Int.), localizada en México.

Se pudo contar con muestras de suelos agrícolas con prácticas contrastantes, tanto del altiplano mexicano por parte de CIMMYT, importante zona productora de maíz, así como de suelos de la zona productora de algodón del Este de Australia por parte del Centro de Investigación Australiano del Algodón (ACRI, por sus siglas en inglés). Es así como se logró la realización de dos experimentos para esta tesis, que tienen como base, la agricultura de conservación en distintas modalidades y la práctica convencional.

A continuación, se describe en dos capítulos los experimentos que se realizaron para cumplir con los objetivos del presente trabajo.

3. Hipótesis

Será posible asociar grupos bacterianos con base en su abundancia relativa, a las distintas prácticas de manejo agrícola durante las dinámicas de degradación de residuos, en una incubación aerobia.

4. Objetivo general

Determinar como son afectados los gremios bacterianos presentes en las dinámicas de degradación por la adición de sustratos agrícolas, rastrojo, fibra de maíz y amonio.

4.1. Objetivos específicos

- Identificar y comparar los gremios bacterianos que componen los tratamientos de AC con los presentes en las PC en las dinámicas de degradación de sustratos agrícolas.

- Correlacionar los factores fisicoquímicos con la diversidad microbiana presente en los distintos tratamientos agrícolas.

5. Capítulo 1

5.1. Estudio de las comunidades bacterianas en suelos agrícolas con Agricultura de Conservación y Práctica Convencional del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT Int.).

5.2. Antecedentes

Los antecedentes directos de este capítulo, están relacionados con la evaluación de poblaciones microbianas realizada por **Govaerts y col., en 2008b**, a partir de suelos agrícolas bajo agricultura de conservación y prácticas convencionales de la estación experimental del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, localizada en la comunidad de “El Batán”, Texcoco de Mora, Estado de México. En este ensayo se realizó el cultivo en placa de diversos grupos microbianos; cuenta total bacteriana, *Pseudomonas* fluorescentes, actinomicetos, cuenta total de hongos y *Fusarium* spp., a partir de muestras de suelo bajo **agricultura de conservación** con y sin retención de residuos, así como con monocultivo o rotación trigo-maíz, además de muestras de suelo con **prácticas convencionales** con y sin retención de residuos, así como con monocultivo o rotación trigo-maíz.

El análisis de los resultados mostró que, la retención de residuos incrementa las poblaciones microbianas del suelo que favorecen el desarrollo de cultivos y que tienen el potencial de suprimir microorganismos patógenos. Cuando no se realiza labranza, y se retienen residuos, es posible observar un incremento de las poblaciones microbianas que favorecen el desarrollo de poblaciones benéficas para el cultivo en comparación con suelos bajo prácticas convencionales. La eliminación de la labranza por si sola, no favorece en aumentar la calidad del suelo, pero sí existe un efecto benéfico en combinación con la retención de residuos, además de propiciar el desarrollo de microorganismos antagonistas de patógenos para los cultivos.

En el altiplano mexicano, aplicar una práctica agrícola sustentable, sin labranza, con rotación de cultivos y retención de residuos tiene efectos positivos en comparación con una práctica convencional.

Otro de los antecedentes al presente proyecto, es el realizado por **Ceja-Navarro y col., en 2010**. En este estudio se realizó el análisis filogenético de los efectos que tiene la labranza y manejo de residuos sobre las comunidades bacterianas de suelos bajo agricultura de conservación así como prácticas convencionales con diferentes configuraciones, ya sea reteniendo o removiendo los residuos y realizando monocultivo o rotación entre cultivos de trigo-maíz.

Este proyecto se realizó en los mismos suelos descritos anteriormente por Govaerts y col., en 2008. Para este ensayo se realizó la extracción de DNA total del suelo, posteriormente se amplificó, clonó y secuenció el gen 16S rRNA, finalmente se realizó un análisis filogenético multivariado.

El análisis de resultados mostró que, los suelos donde no se realiza labranza y se retienen los residuos en la superficie del suelo, presentaron los mayores niveles de riqueza y diversidad de especies. Algunos grupos benéficos para los cultivos, específicamente, *Pseudomonas* spp. y *Burkholderiales* son favorecidos por la retención de residuos, y se afectan negativamente por la remoción de éstos.

Prácticas agrícolas donde no se realiza labranza, ya sea removiendo o no los residuos de la superficie del suelo, beneficie específicamente al orden bacteriano de los *Rhizobiales*, entre los que se encuentra *Methylosinus* spp. una bacteria con actividad metanótrofa. La conclusión de este ensayo hace énfasis en que la agricultura de conservación puede mejorar y preservar la diversidad de las comunidades bacterianas de los suelos agrícolas.

Posteriormente en 2013, **Navarro-Noya y col.** realizaron secuenciamiento mediante pirosecuenciación 454 y análisis filogenético del gen 16S rRNA, a partir de muestras de

suelo con prácticas agrícolas contrastantes, entre agricultura de conservación y prácticas convencionales de los suelos descritos anteriormente por Govaerts y col., en 2008b.

Los resultados de esta investigación mostraron que la abundancia relativa de Actinobacteria, Betaproteobacteria y Gammaproteobacteria están influenciadas por la labranza así como por el contenido de carbono y de arcillas en el suelo. El manejo de los residuos tiene un profundo efecto en la estructura de las comunidades bacterianas, principalmente en Bacteroidetes, Betaproteobacteria, Cyanobacteria y Gemmatimonadetes. Cuando no se realiza labranza, las comunidades bacterianas son más afectadas positiva o negativamente dependiendo del manejo de residuos en comparación con la práctica agrícola en la cual se realiza labranza. En este ensayo se determinó que la rotación de cultivos no influye en la estructura de la comunidad bacteriana.

Otro de los antecedentes directos del presente proyecto, es el referente al trabajo realizado por **Jiménez-Bueno y col., en 2016**. En este trabajo se realizó una exploración de las especies de bacterias indicadoras, que pueden encontrarse en suelos que estén bajo régimen de agricultura de conservación y de prácticas convencionales.

En el ensayo de Jiménez-Bueno, se utilizaron suelos agrícolas con agricultura de conservación y agricultura convencional, pero en parcelas en camas, ya que estos suelos proceden del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, Norman E. Borlaug (CENEB), ubicado en Ciudad Obregón, Sonora, México.

Las parcelas en camas tienen tratamientos muy similares a los que se llevan a cabo en parcelas en plano en los suelos de la localidad de “El Batán”, presentan combinaciones de cobertura de residuos, de labranza, de rotación y además de fertilización. Las muestras para la extracción de DNA total procedieron de estos suelos, para posteriormente y de manera similar a Navarro-Noya y col., en 2013, realizar el secuenciamiento por pirosecuenciación 454 y análisis filogenético del gen 16S rRNA. Posteriormente se realizaron análisis de

especies indicadoras, así como explorar la estructura de la comunidad bacteriana que componen estos suelos.

De acuerdo a los resultados obtenidos, a nivel de filo, los distintos tratamientos agrícolas no afectan la estructura de la comunidad bacteriana. Sin embargo, algunos taxones bacterianos involucrados en procesos del ciclo del nitrógeno es posible catalogarlos como especies indicadoras, tal es el caso de *Azorhizobium*, *Nostoc* y *Nitrosomonas*. Además, un gran número de OTU's son indicadores para camas convencionales (práctica convencional) y afectadas de manera significativa por el contenido de carbono orgánico. La labranza realizada en parcelas en camas, afecta principalmente a las bacterias asociadas a la descomposición de materia orgánica, de manera específica a Actinobacterias.

Finalmente, **Chávez-Romero y col., en 2016**, utilizaron suelos agrícolas de parcelas en camas con prácticas contrastantes del centro experimental CENEB, para explorar cómo es que la estructura de las comunidades bacterianas se ve modificada por la adición de residuos agrícolas a nivel laboratorio. Para realizar este trabajo, se tomaron muestras de camas convencionales (práctica convencional) con residuos incorporados en el suelo, y camas permanentes (agricultura de conservación) con los residuos quemados o retenidos en la superficie, además se realizaron combinaciones con distintas tasas de fertilización. Los suelos se colocaron en jarras de incubación a nivel laboratorio y se les adicionó rastrojo de maíz o FDN, hasta por 56 días en condiciones aerobias. A diferentes días se realizó la extracción de DNA total y posteriormente el secuenciamiento por pirosecuenciación 454 y el análisis filogenético de los distintos días.

De acuerdo a los resultados, las distintas tasas de fertilización y el manejo de residuos tienen efecto en ciertos taxones bacterianos como *Nitrosovibrio*. A nivel de género, la labranza y manejo de residuos son los factores que definen las diferencias estadísticas entre grupos degradadores de materia orgánica.

Tabla 1. Resumen de los antecedentes directos

Autor y año	Título	Conclusiones
Govaerts et al., 2008	Long-term consequences of tillage, residue management, and crop rotation on selected soil micro-flora groups in the subtropical highlands.	Al hacer el análisis microbiano mediante cuenta en placa se encuentran grupos bacterianos benéficos, tales como <i>Pseudomonas</i> y <i>Actinomycetes</i> , los cuales tienen asociación como control de patógenos así como productores de metabolitos celulolíticos o ligninolíticos en las prácticas de AC.
Ceja-Navarro et al., 2010	The effect of different tillage and residue management practices on soil bacterial communities: Phylogenetic and multivariate analyses.	Se realiza la reconstrucción filogenética mediante clonación del gen 16S rRNA, encontrándose que en la AC se encuentran grupos bacterianos benéficos para la agricultura, tales como fijadores de nitrógeno y controladores de patógenos.
Navarro-Noya et al., 2013	Relative impacts of tillage, residue management and crop-rotation on soil bacterial communities in a semi-arid agroecosystem.	Mediante pirosecuenciación del gen 16S rRNA de tratamientos agrícolas en plano, se encuentra que la labranza y el manejo de residuos son los principales factores involucrados en los cambios de las comunidades bacterianas.
Chávez-Romero et al., 2016	16S metagenomics reveals changes in the soil bacterial community driven by soil organic C, N-fertilizer and tillage-crop residue management.	Se realizan dinámicas de degradación de sustratos en suelos con AC y PC, y se encuentran grupos distintos en las prácticas agrícolas.
Jiménez-Bueno et al., 2016	Bacterial indicator taxa in soils under different long-term agricultural management.	Mediante pirosecuenciación del gen 16S rRNA de tratamientos agrícolas en camas, se encuentra que la tasa de fertilización es un factor decisivo que dirige la estructura de la comunidad bacteriana en suelos con AC y PC.

Con base en los antecedentes anteriores, se realizaron diversas incubaciones aerobias para explorar la diversidad bacteriana involucrada en la degradación de sustratos agrícolas, rastrojo de maíz, fibra detergente neutro de maíz (FDN), aplicados a suelos agrícolas con prácticas contrastantes, Agricultura de Conservación en plano y camas, y Práctica convencional en plano y camas, con o sin rotación de cultivos (trigo-maíz) y con o sin retención de residuos, en un lapso de 28 días en condiciones aerobias a nivel laboratorio.

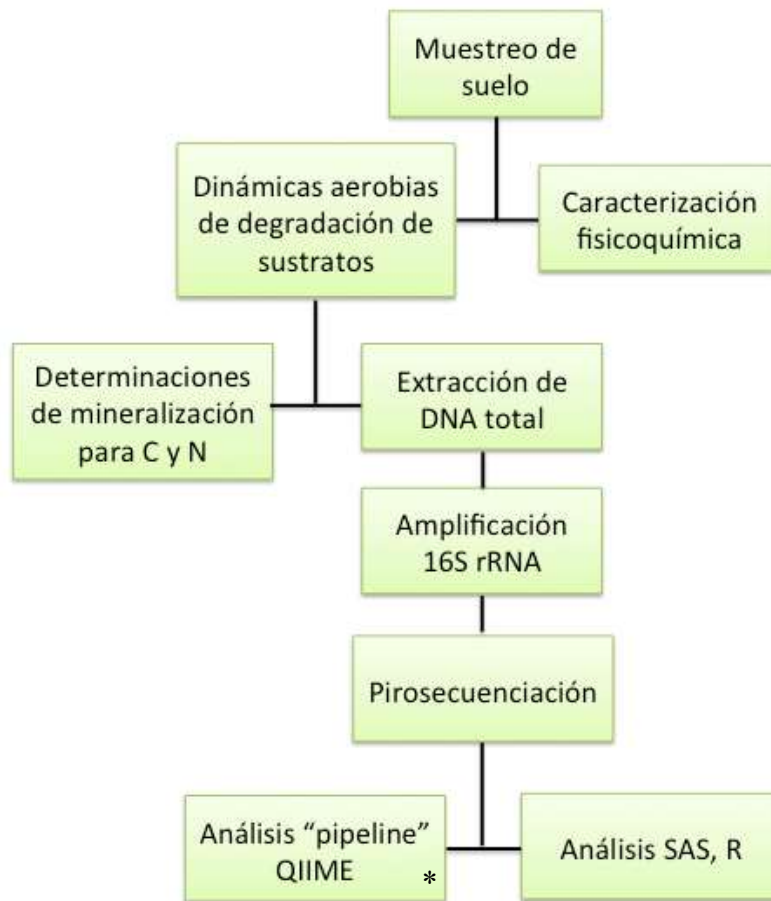


Fig. 10 Diagrama general de trabajo. * Pipeline: Flujo de información o secuencia de información

El diagrama general de trabajo comprende de manera resumida, el muestreo de suelo de distintos puntos formando una muestra compuesta, posteriormente la caracterización fisicoquímica del suelo. Una vez caracterizado el suelo, el desarrollo de las dinámicas de degradación de sustratos en condiciones aerobias, la toma de muestras a los días establecidos y los análisis correspondientes a la mineralización de carbono y nitrógeno, además de la toma de muestra de suelo para la extracción de DNA total y la posterior amplificación de la porción correspondiente al gen 16S rRNA, una vez amplificado, purificado y cuantificado, se constituyeron las librerías correspondientes para su secuenciamiento por la plataforma de pirosecuenciación 454 de Roche® y los análisis correspondientes mediante la plataforma informática de acceso libre QIIME desarrollada por Caporaso y col., en 2010, así como diversos análisis estadísticos mediante el software SAS versión 6.0., (1989).

6. Materiales y Métodos

6.1. Sitio experimental

El sitio experimental se encuentra en la localidad de “El Batán”, en el municipio de Texcoco de Mora, Estado de México, México, en las instalaciones del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, CIMMYT (Fig. 11), en el altiplano central, a una altura promedio sobre el nivel del mar de 2240 m, con localización geográfica 19.31° N, 98.50° O. Con una temperatura máxima promedio de 24° C y una mínima de 6° C, con una precipitación pluvial anual de 625 mm. El suelo se está clasificado como Haplic Phaeozem (Cálico), de acuerdo al sistema de referencia mundial (IUSS Working Group WRB, 2015), o como una mezcla fina, Haplustoll Cumulic térmico de acuerdo al sistema de clasificación de taxonomía de suelos de la USDA (Soil Survey Staff, 2003; Govaerts et al., 2008b).



Fig. 11 Localización del sitio de muestreo, CIMMYT. Tomada de GoogleMaps ® 2016

6.2. Tratamientos muestreados del sitio experimental

Los suelos utilizados para este ensayo se colectaron de dos experimentos en campo de riego por temporal, el resumen de los experimentos se puede encontrar en la Tabla 2. El primero de los experimentos en campo comenzó en 1991. En este experimento, las plantas

son cultivadas en parcelas en plano, y se utilizaron dos tratamientos de este experimento, Práctica Convencional (PC) y Agricultura de Conservación (AC).

El tratamiento de PC está integrado por labranza convencional, monocultivo y remoción de los residuos, mientras que el tratamiento de AC está integrado por rotación de cultivos entre trigo (*Triticum aestivum* L.) y maíz (*Zea mays* L.), retención de residuos en la superficie del suelo y eliminando la labranza (Govaerts et al., 2008b). El suelo estaba siendo cultivado con maíz cuando se realizó el muestreo. Cada parcela tiene una longitud de 22 m y un ancho de 7.5 m.

El segundo experimento que se muestreó para este ensayo comenzó en 1999, donde las plantas son cultivadas en parcelas en cama, cada parcela tiene una dimensión de 20 m × 6.5 m. Se tomaron dos tratamientos de este experimento, Camas Convencionales (CB, por sus siglas en inglés) y Camas Permanentes (PB, por sus siglas en inglés). El tratamiento de CB está compuesto por monocultivo, incorporación de los residuos en el suelo a través de labranza convencional y reformación de camas cada cultivo, mientras que el tratamiento de PB está integrado por la rotación de maíz y trigo, retención de residuos en la superficie y la reformación de camas sólo cuando es necesario (Patiño-Zúñiga et al., 2009). El suelo estaba siendo cultivado con maíz cuando fue realizado el muestreo.

Los suelos son fertilizados con urea de acuerdo a los estándares recomendados, a una tasa de 150 kg N ha⁻¹. La fertilización se realiza antes de la siembra tanto en las parcelas en plano como en cama. Se utilizan herbicidas o pesticidas sólo cuando es necesario. El maíz se siembra a una tasa de 75,000 plantas ha⁻¹, mientras que el trigo es a una tasa de 100 kg de semilla ha⁻¹.

Tabla 2. Resumen de los tratamientos incluidos pertenecientes a “El Batán”

Cultivos en plano			Cultivos en cama	
	Práctica Convencional (PC)	Agricultura de Conservación (AC)	Camas Convencional (CB)	Camas Permanentes (PB)
Inicio	1991	1991	1999	1999
Cultivo	Maíz	Maíz-Trigo (Rotación)	Maíz-Trigo	Maíz-Trigo
Residuo	Removido del suelo	En la superficie del suelo	Incorporado a través de labranza	En la superficie del suelo
Labranza	Labranza convencional, mediante un disco a una profundidad de 30 cm	Sin labranza, el suelo se perturba únicamente en la siembra	Labranza convencional mediante un disco para reformar camas	Sin labranza, las camas se reforman únicamente cuando es necesario

6.3. Muestreo de suelo

El muestreo de suelos se realizó en octubre de 2012, entre las dos primeras líneas de siembra (Fig. 12), en cada parcela ($n = 2$), por cada tratamiento ($n = 4$). Se tomaron 20 muestras de cada parcela, de la capa superficial que va de 0 a 20 cm, mediante una barrena de 2 cm de diámetro, obteniendo una muestra compuesta de cada parcela ($n = 8$). La materia orgánica superficial, se removió antes de realizar el muestreo.

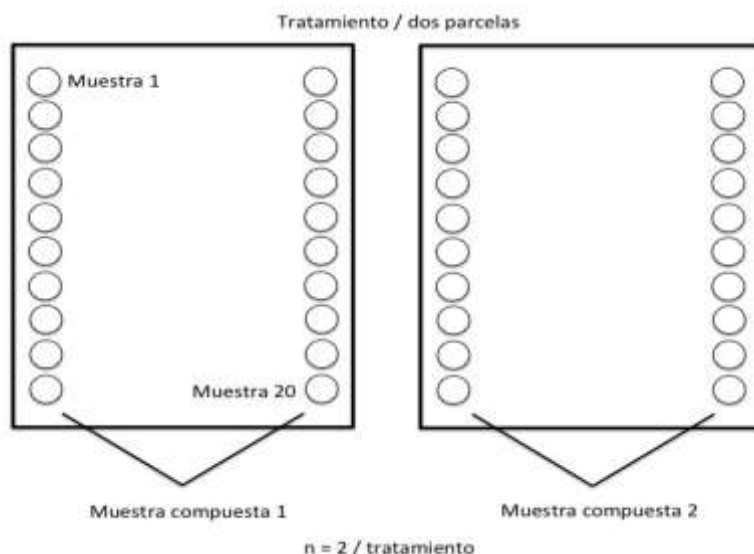


Fig. 12 Muestreo de suelos por tratamiento

6.4. Cultivo de maíz y fraccionamiento del residuo

Se utilizó una cámara de acrílico de 105 l para el cultivo de las plantas de maíz. La superficie de la semilla de maíz se esterilizó con hipoclorito de sodio 1.5% (v/v) por 12 y se lavó posteriormente con agua destilada estéril. se germinaron en placas con agar agua 0.8% y se incubaron en obscuridad a 28 °C para inducir la etiolación. Las semillas con raíz de aproximadamente 2 cm fueron colocadas en la cámara de acrílico con vermiculita estéril libre de carbono y humedecidas con solución nutritiva Steiner (1961). Después de 15 días, las plantas fueron cosechadas, puestas a secar y caracterizadas. El contenido de N total del rastrojo fue de 34 g/kg, mientras que el contenido de C fue de 422 g/kg. El contenido de N de la fracción fibrosa fue de 19 g/kg, y el contenido de C de 405 g/kg.

Para el fraccionamiento de las plantas de maíz se realizó de acuerdo al método de Van Soest (Van Soest, 1963; Van Soest y Wine, 1967). La porción soluble del rastrojo de maíz es removido con una solución caliente de detergente neutro, dejando únicamente la porción fibrosa (FDN) que contiene los constituyentes de la pared celular (hemi)celulosa más lignina.

6.5. Diseño experimental e incubación aerobia

El suelo colectado fue llevado al laboratorio, parte de este fue secado para ser caracterizado, mientras que el resto se ajustó al 40% de la capacidad de retención de agua (WHC., por sus siglas en inglés) con agua destilada y preincubado por siete días. Se colocaron en tambos de 70 l conteniendo una jarra (1-l) con NaOH 1M para capturar el CO₂ emitido, además de una jarra con agua destilada (5-l) para prevenir la desecación en la preincubación. Las muestras de suelo se analizaron para contenido de carbono y nitrógeno, conductividad electrolítica (EC), pH, textura y capacidad de retención de agua (WHC, por sus siglas en inglés) de acuerdo a lo descrito por Aguilar-Chávez et al., (2012). Se incluye una breve descripción del procedimiento para las determinaciones de pH, EC, textura, capacidad de retención de agua y carbono orgánico total en la sección anexa de determinación de características fisicoquímicas de este documento.

Se utilizaron 15 submuestras de cada tratamiento, de 20 g cada una, las cuales se adicionaron a frascos de 120 ml y se les aplicaron 3 tratamientos, i) Tratamiento control, ii) Tratamiento rastrojo y iii) Tratamiento FDN. La cantidad de residuo aplicado, fue tal que se agregaron 2 g C/kg de suelo para los tratamientos FDN y rastrojo de maíz. Cada frasco fue colocado en una jarra (1-l) conteniendo un frasco de 25 ml con 20 ml de NaOH 0.5M para capturar el CO₂ emitido, además de contener 25 ml de agua para evitar la desecación durante la incubación. Después de 0, 1, 3, 7, 14, 28 y 56 días, las jarras fueron abiertas, los frascos con NaOH 0.5M fueron tomados para en análisis de CO₂ (Jenkinson y Powlson, 1976). El suelo fue removido del frasco contenedor y 6 g de este fueron tomados para la extracción de DNA como se describe posteriormente, mientras que el resto fue extraído para el análisis de N mineral (NH₄⁺, NO₂⁻ y NO₃⁻) con 100 ml de K₂SO₄ 0.5M y analizado mediante un analizador automático San Plus System-Skalar (Skalar, Breda, the Netherlands) (Mulvaney, 1996).

6.6. Extracción de DNA y amplificación del gen 16S rRNA

Cada muestra de suelo fue mezclada en vórtex con 10 ml de pirofosfato de sodio 0.15 M, centrifugada a 4000 rpm hasta que el sobrenadante estuviera claro, posteriormente se adicionó 0.15M de buffer de fosfatos, se mezcló en vórtex y se centrifugó a 4000 rpm con la finalidad de retirar la materia orgánica de acuerdo a lo descrito por Ceja-Navarro y col. en 2010. Se utilizaron tres distintas técnicas de extracción a partir del suelo lavado. Cada técnica fue utilizada para extraer DNA cuatro veces de 0.5 g de suelo (2 g en total de suelo) y se combinaron. Se extrajo DNA de un total de 6 g de suelo. El primer método utilizado fue el descrito por Valenzuela-Encinas y col. (2008), que consiste en una lisis química y de shock térmico. El segundo método fue el desarrollado por Sambrook y Rusel (2001), que consiste en una lisis enzimática, mientras que el tercer método utiliza una lisis química por una solución de detergentes, el cual es descrito por Hoffman y Winston (1987).

Se realizó la amplificación de la región V1–V6 de los genes bacterianos 16S rRNA, mediante los iniciadores marcados con etiquetas de 10–pb, 8-F (5'-AGAGTTTGATCI TGGCTCA-3') and 949-R (5'-CCGTCWATTKCTTTGAGTT-3'), los cuales contenían los

adaptadores A y B para la plataforma de secuenciamiento 454 FLX de acuerdo a lo descrito en el grupo de trabajo por Navarro–Noya y col. en 2013. En la Tabla 3 se resumen las condiciones de amplificación del gen correspondiente 16S rRNA.

Tabla 3. Condiciones para PCR del gen 16S rRNA

Volumen de reacción: 25 µl	Ciclo	Temperatura (°C)	Tiempo min.
	Desnaturalización inicial	95	10
	25 Ciclos	Temperatura (°C)	Tiempo seg.
	Desnaturalización	95	45
	Alineación	53	45
	Extensión	72	45
	Extensión final	72	10 mins.

Cada reacción contenía 10 mM de cada uno de los cuatro desoxinucleótidos trifosfato, 10 pM de cada uno de los iniciadores, 0.7 unidades de la polimerasa “Phusion hot start high fidelity” de FINNZYMEZ y 20 ng de DNA metagenómico como templado.

El producto de 5 reacciones de amplificación por cada muestra de DNA metagenómico, fue colectada en una sola muestra para la construcción de las librerías genómicas correspondientes como lo describe Acinas y col. en 2004. Todas las librerías que se mandaron a secuenciamiento, se purificaron previamente utilizando un “kit” de purificación DNA Clean & Concentrator de acuerdo a las recomendaciones del fabricante (Zymo Research, Irvine, CA, USA). La cuantificación de cada librería se realizó mediante un espectrofluorómetro NanoDrop™ 3300 (Thermo Scientific NanoDrop), utilizando PicoGreen® dsDNA assay (Invitrogen, Carlsbad, USA) y una dilución adecuada del DNA de cada librería de acuerdo a la recomendación del fabricante. La secuenciación fue realizada por Macrogen Inc. (DNA Sequencing Service, Seoul, Korea), utilizando un pirosecuenciador Roche 454 GS-FLX Plus (Roche, Mannheim, Germany).

6.7. Análisis de los datos secuenciados

Se utilizó el software QIIME versión 1.9.0 para el análisis de los datos de pirosecuenciación (Caporaso y col., 2010). Las lecturas de con una calidad menor a 25, secuencias con homopolímeros mayores a 6, una longitud menor a 400 nt así como con

errores en los iniciadores o en las etiquetas, se eliminaron del conjunto de datos. Las unidades taxonómicas operacionales (OTU) se determinaron a un nivel de 97% de similitud utilizando el algoritmo UCLUST desarrollado por Edgar en 2010. La eliminación de secuencias quiméricas se realizó mediante el programa Chimera Slayer (Haas y col., 2011). Los alineamientos de secuencias se realizaron mediante la base de datos PyNAST utilizando un límite del 75% (Caporaso y col., 2010). Las asignaciones taxonómicas se realizaron contra la base de datos de Ribosomal Data Project RDP a un nivel de confianza del 80% (Wang et al., 2007).

6.8. Análisis estadístico

Se realizaron análisis PERMANOVA, con la finalidad de determinar el efecto de las prácticas agrícolas, la adición de materia orgánica, los distintos tratamientos en campo, así como el tiempo, en la estructura de las comunidades bacterianas utilizando las distancias generadas en UniFrac. Además, se realizaron pruebas de ANOVA con la finalidad de determinar el efecto del tratamiento y la adición de materia orgánica con respecto a la abundancia relativa de los distintos grupos bacterianos a nivel de filo, clase, orden, familia y género, mediante un análisis GLM (PROC GLM, SAS Institute, 1989).

Se exploró mediante un análisis de componentes principales la abundancia relativa de los diferentes grupos taxonómicos a nivel de filo, orden y género utilizando PROC FACTOR (SAS, Institute, 1989). Finalmente, se realizó un análisis de correlación canónica, utilizando la abundancia de los diferentes *phyla* bacterianos y la relación entre las características fisicoquímicas de los suelos de AC y PC, tanto en camas como cultivos en plano, utilizando el programa PROC CANCORR de SAS (SAS, Institute, 1989).

7. Resultados

7.1. Características del suelo

Al realizar el análisis de las características fisicoquímicas de las muestras de suelo que corresponden a los tratamientos en plano, se determinó que el C orgánico en el suelo de CA significativamente mayor en comparación con el tratamiento de PC ($n = 2$, $P < 0.05$)

(Tabla 4). En cuanto a los tratamientos que corresponden a los cultivos en camas, tanto el contenido de C orgánico así como la capacidad de retención de agua, es significativamente mayor en el tratamiento PB en comparación con el tratamiento de CB ($n = 2, P < 0.05$). El pH fue significativamente mayor en el tratamiento PB en comparación con los tratamientos CA y PC. Las otras características fisicoquímicas del suelo no mostraron diferencias significativas.

Tabla 4. Características de los suelos cultivados en plano y en camas en “El Batán”

Parcela	Tratamiento	pH	CE ^a	N total ^b	C org. ^c	WHC ^d	Arcilla	Arena	Limo	Textura USDA
Plano	PC ^e	6.0 (0.23) ^f	0.59 (0.12)	1.01 (0.13)	29.0 (0.4)	627 (4)	320 (30)	430 (20)	250 (10)	Limoso-arcilloso
	AC ^g	6.1 (0.03)	0.69 (0.05)	0.96 (0.06)	38.4 (4.1)	633 (33)	330 (10)	430 (50)	240 (40)	Limoso-arcilloso
Camas	CB ^h	6.3 (0.01)	0.81 (0.37)	1.12 (0.11)	21.7 (2.4)	518 (4)	315 (50)	445 (60)	240 (10)	Limoso-arcilloso
	PB ⁱ	6.8 (0.15)	0.52 (0.06)	1.16 (0.25)	32.5 (0.5)	603 (25)	310 (30)	440 (30)	250 (10)	Limoso-arcilloso

a CE: Conductividad electrolítica.

b N total: Nitrógeno total (g kg⁻¹ suelo).

c C org.: Carbono orgánico (g kg⁻¹ suelo).

d WHC: Capacidad de retención de agua (g kg⁻¹ suelo).

e PC: Práctica convencional: monocultivo, remoción de residuos y labranza convencional.

f Valor entre paréntesis es la media de dos parcelas ($n = 2$).

g AC: Agricultura de conservación: rotación trigo-maíz, retención de residuos, sin labranza.

h CB: Camas convencionales: incorporación de residuos, rotación trigo-maíz, reformación de camas cada año.

i PB: Camas permanentes: retención de residuos, rotación trigo-maíz, reformación de camas cuando es necesario.

7.2. Estructura de la comunidad bacteriana en suelo control

Se obtuvieron en promedio, 4800 secuencias por muestra de suelo con un intervalo de OTU's observadas entre 356 a 538 (Tabla 5), mientras que la diversidad filogenética se encontró en un intervalo de 19.8 a 40.57, y la riqueza de especies entre 750 y 1302. La diversidad filogenética y la riqueza de especies fue similar entre los distintos tratamientos.

Tabla 5. Parámetros de la diversidad alfa

Residuo aplicado	Tratamiento	Día	Número de secuencias	Diversidad filogenética ^a	Riqueza de especies (Chao1 e) ^a	OTU's ^{ab} observadas
Control	Camas convencionales	0	3137	28.72 (1.3) ^c	876 (35)	424 (29)
		1	12364	33.08 (2.4)	1149 (226)	475 (30)
		3	4158	30.28 (2.1)	972 (138)	439 (30)
		7	5349	32.33 (1.1)	1049 (25)	455 (21)
		14	6177	30.97 (1.1)	1012 (38)	438 (16)
	Camas permanentes	0	3838	31.81 (0.8)	984 (82)	477 (17)
		1	8292	35.91 (3.6)	1057 (154)	482 (49)
		3	6886	35.00 (1.0)	1162 (10)	529 (11)
		7	5681	35.31 (0.4)	1115 (33)	509 (17)
		14	241	ND ^d	ND	ND
	Práctica convencional	0	1471	30.26 (ND)	870 (ND)	422 (ND)
		1	2371	30.48 (0.4)	835 (47)	424 (21)
		3	3654	39.59 (ND)	1226 (ND)	545 (ND)
		7	3442	34.76 (ND)	1080 (ND)	500 (ND)
		14	5477	34.82 (2.3)	1125 (11)	497 (19)
	Agricultura de conservación	0	4640	40.57 (ND)	1233 (ND)	543 (ND)
		1	4394	32.46 (0.2)	1023 (74)	468 (12)
		3	3994	29.91 (0.1)	813 (22)	417 (11)
		7	5349	33.84 (0.2)	1061 (39)	494 (4)
		14	4996	37.11 (0.1)	1059 (52)	508 (12)
	Rastrojo de maíz	Camas convencionales	1	2339	32.18	1001 (ND)
3			3575	29.85 (0.8)	893 (22)	419 (10)
7			2937	24.96 (2.3)	750 (34)	356 (30)
14			3935	25.94 (1.3)	776 (30)	382 (18)
1			4468	19.08 (0.3)	934 (44)	425 (1)
Camas permanentes		3	2833	29.28 (1.5)	956 (3)	424 (10)
		7	9758	31.26 (0.1)	1112 (33)	477 (1)
		14	6652	30.32 (0.6)	1059 (46)	477 (4)
		1	4179	28.06 (1.1)	886 (89)	415 (40)
		3	3061	26.90 (1.8)	750 (46)	380 (22)
Práctica convencional		7	4473	26.15 (1.9)	798 (98)	384 (38)
		14	4469	25.17 (1.2)	814 (30)	379 (5)
		1	2643	28.18 (0.1)	869 (35)	421 (1)
		3	3475	28.50 (3.1)	912 (80)	422 (26)
		7	14129	32.25 (0.1)	1276 (48)	511 (3)
Fibra detergente neutro	Camas convencionales	14	8596	29.49 (2.3)	1106 (200)	461 (34)
		1	2156	29.17 (ND)	764 (ND)	395 (ND)
		3	2972	28.15 (0.1)	810 (35)	388 (13)
		7	3967	29.37 (0.2)	970 (45)	433 (5)
		14	21989	32.95 (1.4)	1256 (269)	483 (24)
	Camas permanentes	1	2146	31.00 (ND)	931 (ND)	455 (ND)
		3	2464	30.23 (0.1)	893 (13)	439 (5)
		7	3269	29.86 (2.3)	937 (94)	447 (50)
		14	3301	31.48 (0.1)	1003 (33)	487 (4)
		1	2792	29.22 (0.2)	909 (18)	422 (17)
	Práctica convencional	3	2827	30.69 (ND)	836 (ND)	411 (ND)
		7	3076	27.09 (2.0)	797 (51)	397 (35)
		14	3821	30.34 (0.8)	1041 (133)	476 (20)

Continúa en la siguiente página

	1	4949	31.17 (1.5)	1017 (133)	487 (32)
Agricultura de	3	2876	28.45 (0.6)	835 (2)	429 (11)
conservación	7	3127	28.89 (0.2)	901 (32)	437 (8)
	14	6431	33.31 (ND)	1302 (ND)	538 (ND)

^a Determinación a 850 secuencias por librería, ^b OUT's a 97% de similitud, ^c Valores entre paréntesis corresponde a la desviación estándar de la media, ^d ND: No determinado.

En total se encontraron 18 *phyla* diferentes (Fig. 13), de los cuales, 9 de éstos contribuyen a <1% de las secuencias. En el suelo de agricultura de conservación tanto en plano como en camas, sin la adición de residuos, la abundancia relativa de los *phyla* pertenecientes a Acidobacteria (17.6%), Planctomycetes (1.7%) y Verrucomicrobia (1.5%) fue significativamente mayor que en las prácticas agrícolas convencionales (PC y CB), con un 11.8%, 0.9% y 0.4% respectivamente ($n = 4$, $P < 0.0001$). El filo Actinobacteria, por el contrario, muestra un comportamiento opuesto, ya que se determinó una diferencia significativa en suelos con agricultura convencional con un 16.2% en comparación de un 11.9% en prácticas agrícolas de conservación ($n = 4$, $P < 0.0001$) (Tabla 6).

La abundancia relativa de 53 géneros diferentes fue afectada de manera significativa debido a la práctica de cultivo ($n = 4$, $P < 0.05$) (en el apartado anexo de figuras, se muestra la Figura Anexo 1 con los géneros afectados por la práctica de cultivo). De estos géneros, dos de ellos fueron significativamente mayores ($P < 0.0001$) en suelos cultivados en AC en comparación con PC, por un lado *Rhodoplanes* (Alfaproteobacteria) (AC 0.11% vs 0.01% en PC), y *Steroidobacter* (Gammaproteobacteria) (AC 2.6% vs 0.4% en PC), mientras que géneros que mostraron un comportamiento contrario, *Arthrobacter* (Actinobacteria) (AC 0.1%, PB 0.2% vs PC 2.2% y CB 2.0%), *Segetibacter* (Bacteroidetes) (AC 0.08% vs PC 0.84%), *Rubellimicrobium* (Alfaproteobacteria) (AC 0.04% vs PC 0.29%), y *Massilia* (Betaproteobacteria) (AC 0.6% vs PC 1.6%) (Tabla 6).

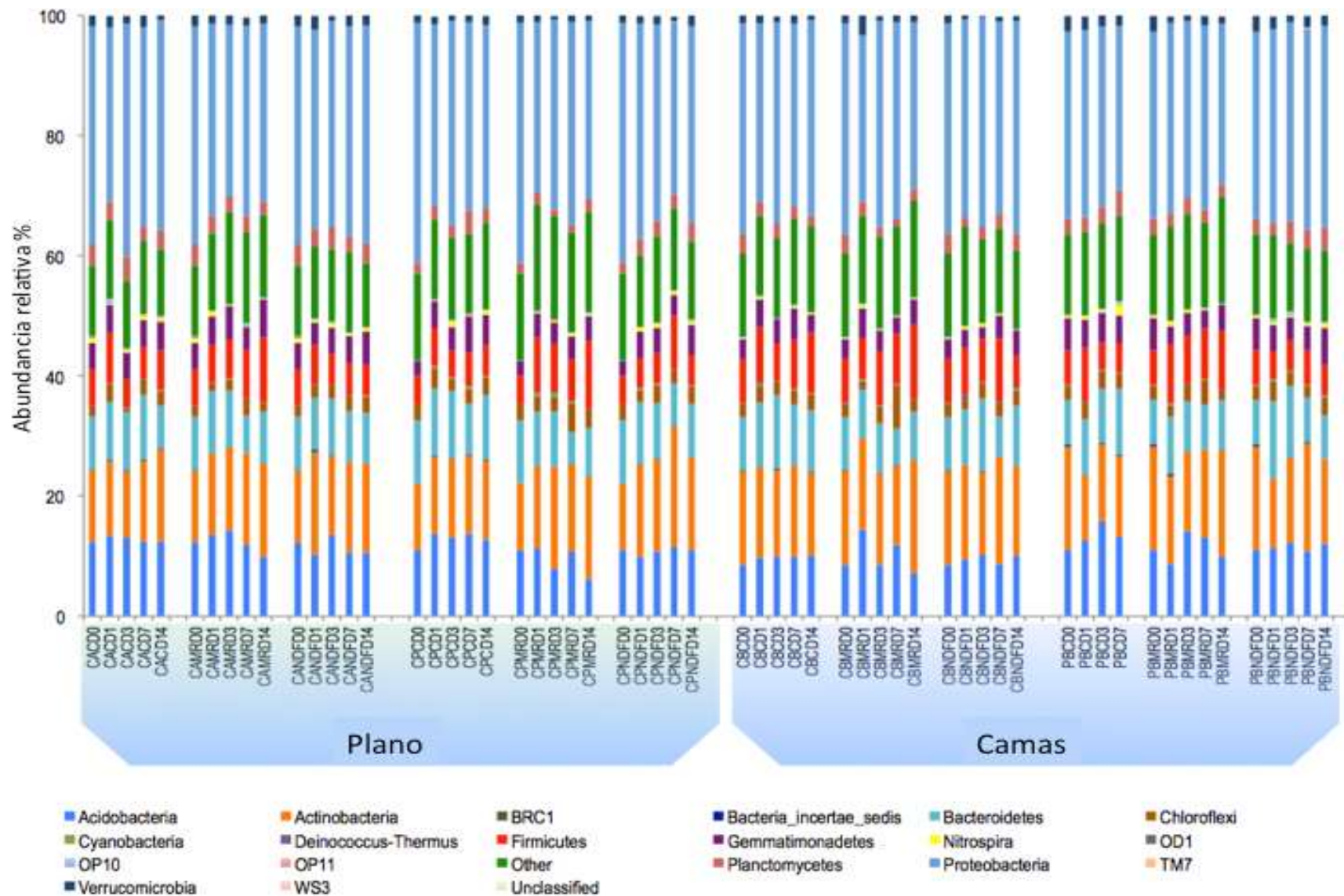


Fig. 13 Abundancia relativa de los diferentes *phyla* bacterianos en suelos de “El Batán” en parcelas en plano con AC y PC o en parcelas en camas PB y CB, sin residuos (C) o con residuos agregados (MR) o fibra detergente neutro (FDN) al inicio del experimento (D0) y en incubación aeróbica a los días 1 (D1), 3 días (D3), 7 días (D7), ó 14 días (D14).

Tabla 6. Efecto de las prácticas agrícolas (Práctica convencional en plano (PC) o en camas (CB) y agricultura de conservación en plano (AC) o en camas (PB) en la abundancia relativa de los diferentes grupos bacterianos en suelo sin adición de residuos incubados aeróbicamente por 14 días.

Filo/Clase	La abundancia relativa de los grupos bacterianos fue mayor en el tratamiento de PB que en el tratamiento CB	La abundancia relativa de los grupos bacterianos fue mayor en los tratamientos de AC que en el tratamiento PC
Acidobacteria	Acidobacteria***, Gp10, Gp18, Gp4**, Gp6***, Gp7***	Acidobacteria*, GP6***
Actinobacteria	Acidimicrobidae_incertae_sedis**	Acidimicrobidae_incertae_sedis
Bacteroidetes	Flavobacteria, Flavobacteriales, <i>Flavobacterium</i> *, <i>Ferruginibacter</i> ***, <i>Niastella</i> *, <i>Terrimonas</i> **	Flavobacteria*, Flavobacteriales***, <i>Flavobacterium</i> *, <i>Ferruginibacter</i> ***, <i>Terrimonas</i> *
Chloroflexi	Caldilineae, Caldilineales	
Nitrospira	Nitrospira, Nitrospirales	
OD1	OD1	
Planctomycetes	Planctomycetes, Planctomycetacia**, Planctomycetales	Planctomycetes**, Planctomycetacia**, Planctomycetales**
α -Proteobacteria	Rhizobiales**, Rhodospirillales*, <i>Bradyrhizobium</i> ***, <i>Rhodoplanes</i> ***, <i>Microvirga</i> *	α -Proteobacteria, Rhizobiales*, Rhodospirillales <i>Prosthecomicrobium</i> **, <i>Rhodoplanes</i> ***, <i>Porphyrobacter</i> *, <i>Methylibium</i> **, <i>Pelomonas</i> *
β -Proteobacteria		
δ -Proteobacteria	δ -Proteobacteria, Myxococcales***	Myxococcales
γ -Proteobacteria	Thiotrichales, <i>Steroidobacter</i> ***	<i>Steroidobacter</i> ***
Verrucomicrobia	Verrucomicrobia, Opiritutae, Opiritutales**, <i>Opiritutus</i> *	Verrucomicrobia***, Opiritutae*, Spartobacteria*, Opiritutales Spartobacteria_genera_incertae_sedis*
Filo /Clase	La abundancia relativa de los grupos bacterianos fue mayor en el tratamiento CB que en el tratamiento PB	La abundancia relativa de los grupos bacterianos fue mayor en el tratamiento PC que en el tratamiento de AC
Acidobacteria		Gp1*
Actinobacteria	Actinobacteria**, Actinomycetales***, <i>Blastococcus</i> **, <i>Frigoribacterium</i> **, <i>Arthrobacter</i> ***, <i>Nocardioides</i> **	Actinobacteria**, Actinomycetales***, <i>Blastococcus</i> **, <i>Arthrobacter</i> ***, <i>Friedmanniella</i> *, <i>Streptomyces</i> *

Continúa en la siguiente página

Bacteroidetes	Sphingobacteria, Sphingobacteriales, <i>Segetibacter</i> **, <i>Pontibacter</i> *	<i>Segetibacter</i> ***, <i>Hymenobacter</i> **
Cyanobacteria		Cyanobacteria***, Chloroplast**, Family IV
Deinococcus- Thermus	Deinococcus-Thermus, Deinococcales	Deinococcus-Thermus*, Deinococcales*, <i>Deinococcus</i> *
Firmicutes OP10	<i>Paenibacillus</i> *	OP10
α -Proteobacteria	Rhodobacterales**, Sphingomonadales***, <i>Paracoccus</i> *, <i>Rubellimicrobium</i> ***, <i>Porphyrobacter</i> ***, <i>Sphingomonas</i> **	Rhodobacterales***, <i>Methylobacterium</i> *, <i>Rubellimicrobium</i> ***
β -Proteobacteria	β -Proteobacteria**, Burkholderiales***, <i>Herbaspirillum</i> **, <i>Massilia</i> ***	β -Proteobacteria***, Burkholderiales, <i>Herbaspirillum</i> ***, <i>Massilia</i> ***
γ -Proteobacteria	γ -Proteobacteria*, Xanthomonadales*, <i>Rhodanobacter</i> ***	<i>Lysobacter</i> *, <i>Rhodanobacter</i> **

* Significancia a $P < 0.01$, ** Significancia a $P < 0.001$, *** Significancia a $P < 0.0001$

7.3. Aplicación de material orgánica

El contenido de lignina en el residuo de maíz aplicado al suelo fue de 25 g kg⁻¹ (Tabla 7). La mayoría del material orgánico soluble (599 g kg⁻¹) contenido en el rastrojo de la planta se extrae con la solución detergente neutra, mientras que el resto está constituido en su mayoría por (hemi) celulosa (311 g kg⁻¹). La emisión de CO₂, se incrementa de manera significativa cuando se adiciona FDN o rastrojo de maíz como residuos al suelo, con la mayor emisión al final de la incubación (Fig. 14).

Tabla 7. Características del material orgánico (residuo de maíz) utilizado en la incubación aerobia

	Fracción soluble (g kg ⁻¹)	Contenido (g de lignina)	(Hemi) Celulosa	Polifenoles	Ceniza	N total	C total
Maíz	599	25	311	2	62	34	422
FDN ^a	0	63	776	6	155	19	405

^a FDN: Fibra detergente neutro.

El mayor incremento en la emisión de CO₂ cuando se adiciona FDN o rastrojo de maíz se realiza en los primeros 7 días después de la aplicación. El tratamiento en campo no tiene efecto significativo en la emisión de CO₂.

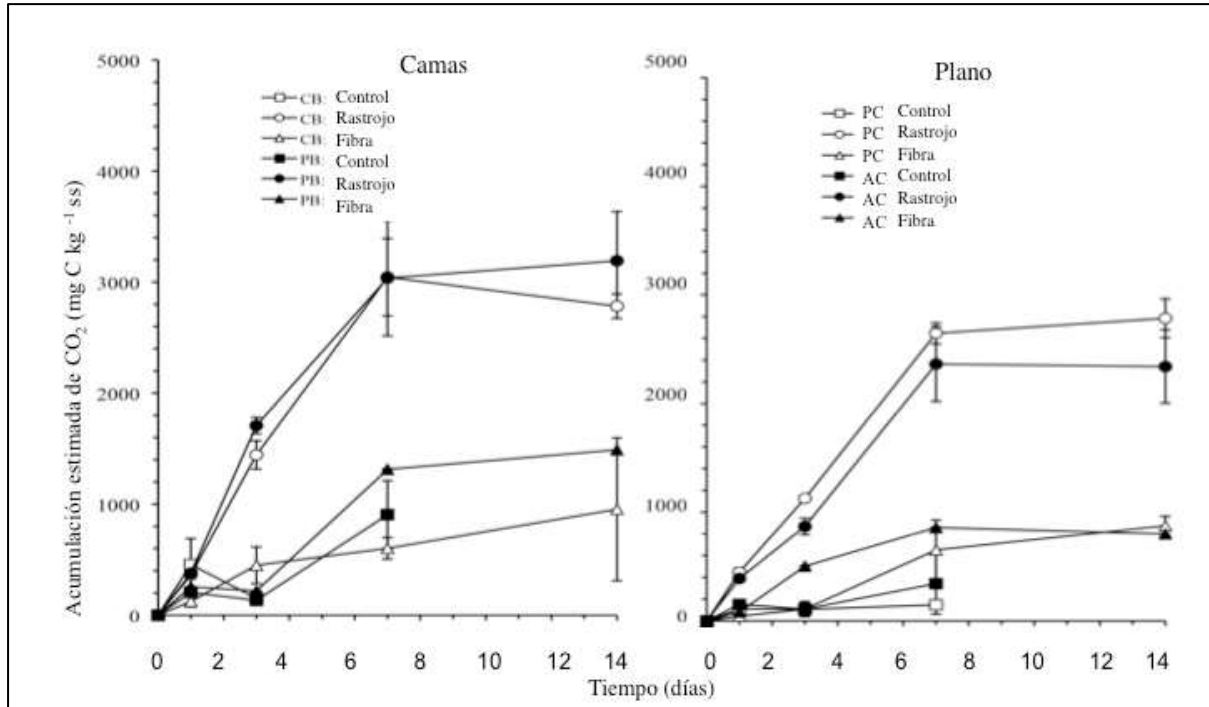


Fig. 14 Emisión acumulada de CO₂ (mg C kg⁻¹ suelo seco) de los suelos incubados aeróbicamente por 14 días.

La aplicación de materia orgánica en el suelo cultivado correspondiente a camas convencionales, tiene un efecto limitado en la abundancia relativa de los grupos bacterianos, pero tiene mayor efecto en los otros tres tratamientos, PB, PC y AC (Tabla 8). La aplicación de residuo de rastrojo de maíz incrementa significativamente la abundancia relativa de Bacillales (Firmicutes) (PB = 14.9%, PC = 16.1% y AC = 12.5%) en comparación con los suelos en los cuales se añadió FDN (PB = 4.4%, PC = 6.1% y AC = 4.4%) así como en el tratamiento control (PB = 5.4%, CP = 6.0% y AC = 7.3%) ($n = 2, P < 0.01$).

La abundancia relativa de *Arthrobacter* (Actinomycetales) fue mayor en el suelo al cual se le adicionó rastrojo de maíz (PB = 1.1%, CP = 6.7% y AC = 1.5%), en comparación con los suelos a los cuales se le adicionó FDN (PB = 0.5%, PC = 3.5% y AC = 0.4%), y a los suelos control (PB = 0.2%, CP = 2.0% y AC = 0.1%) ($P < 0.01$). Por otro lado, la abundancia relativa de Actinomycetales (Actinobacteria) fue significativamente mayor en el suelo al cual se le adicionó rastrojo de maíz (PB = 12.4%, PC = 20.3% y AC = 14.2%) y FDN (PB = 11.4%, PC = 18.5% y AC = 13.7%) en comparación con el suelo al cual no se le adicionó residuo (PB = 7.6%, PC = 13.4% y AC = 8.8%) ($n = 2$, $P < 0.001$). La abundancia relativa de algunos grupos bacterianos fue reducida por la aplicación de materia orgánica en comparación con el suelo control.

En el caso de Acidobacteria su abundancia relativa se reduce significativamente en el suelo control (PB = 20.6%, PC = 16.0% y AC = 15.8%) ($n = 2$ $P < 0.01$), en comparación con suelo adicionado con rastrojo de maíz (PB = 13.6%, CP = 8.8% y AC = 10.8%) y FDN (PB = 15.4%, PC = 9.1% y AC = 12.2%).

Tabla 8. Efecto de la aplicación de residuo de maíz y de FDN en la abundancia relativa de los grupos bacterianos en suelos incubados aeróbicamente por 14 días. Los grupos bacterianos mostrados fueron significativamente afectados por la aplicación de residuos en los suelos con distintas prácticas agrícolas en comparación con el suelo sin adición.

Residuo	Camas Convencionales (CB)	Camas Permanentes (PB)	Práctica Convencional (PC)	Agricultura de Conservación (AC)
La abundancia relativa de los grupos bacterianos es mayor en el suelo adicionado con maíz (M) en comparación con el suelo control (C) y/o suelo adicionado con FDN (F).				
M > C		Rubrobacterales* <i>Arthrobacter</i> *		
M > F				Bacilli*, Bacillales*
M > F = C		Frimicutes*** Bacilli*** Bacillales***	Firmicutes*, Bacilli* Bacillales* <i>Arthrobacter</i> *, <i>Bacillus</i> *	Firmicutes*, <i>Arthrobacter</i> **

Continúa en la siguiente página

La abundancia relativa de los grupos bacterianos es mayor en el suelo adicionado con maíz (M) o FDN (F) en comparación con el suelo control (C).				
M = F > C		Actinobacteria*** Actinomycetales***	Actinobacteria*** Actinomycetales** Solirubrobacterales**	Actinobacteria***, β - Proteobacteria, Actinomycetales** Solirubrobacterales**, Burkholderiales
La abundancia relativa de los grupos bacterianos es mayor en suelos con adición de FDN (F) en comparación con suelos adicionados con maíz (M) y/o sin adición (C).				
F > M	Rhizobiales Myxococcales <i>Orienta</i> *		Thermomicrobia Acidimicrobiales	
F > C		α -Proteobacteria Rhizobiales*		<i>Bradyrhizobium</i> *
Residuo	Camas Convencionales (CB)	Camas Permanentes (PB)	Práctica Convencional (PC)	Agricultura de Conservación (AC)
La abundancia relativa de los grupos bacterianos es mayor en suelos con adición de FDN (F) en comparación con suelos adicionados con maíz (M) y/o sin adición (C).				
F > M=C			Proteobacteria* α -Proteobacteria, Rhizobiales*, <i>Singulisphaera</i> **, <i>Devosia</i> , <i>Achromobacter</i> *	β -Proteobacteria, <i>Achromobacter</i> *
La abundancia relativa de los grupos bacterianos es mayor en el suelo sin adición (C) que en los suelos con adición de FDN (F) o residuo de maíz (M)				
C > F = M	Clostridia* Clostridiales*	Acidobacteria* Verrucomicrobia** Gp18, Gp4* Gp5 Opitutae, Opitutaes Spartobacteria* <i>Gillisia</i> *	Acidobacteria*, Gp1* Gp3***, Gp4 Bacteroidetes Sphingobacteria Sphingobacterales, Flavisolibacter*** Planctomycetes*** Opitutae, Opitutaes Verrucomicrobia*	Acidobacteria**, Bacteroidetes, Flavobacteria, Flavobacteriales*, Planctomycetacia* , Planctomycetales* , Sphingobacteria Opitutae Verrucomicrobia, Gp4, <i>Pirellula</i> *
C > F		Gp3		Verrucomicrobia, Gp4, <i>Pirellula</i> *
C > M	Bacteroidetes, Sphingobacteria	Chloroflexi, Proteobacteria* Flavobacteriales	δ - Lactobacillales	Verrucomicrobia, Gp4, <i>Pirellula</i> *, Planctomycetes*, Gp3
C = F > M	Chloroflexi	Planctomycetacia***	Planctomycetales** <i>Propionibacterium</i> *	
* Significancia a $P < 0.01$, ** significancia a $P < 0.001$, significancia a $P < 0.0001$.				

7.4. Análisis de componentes principales y de correlación canónica

Se realizó un análisis de componentes principales PCA, en el cual se separan las prácticas de agricultura de conservación (tratamientos PB y AC) de las prácticas convencionales (tratamientos CB y PC) (Fig. 15–17 a–c). Las prácticas agrícolas de conservación se caracterizaron por presentar un PC1 positivo, donde se ubica una mayor abundancia relativa de Acidobacteria, Nitrospira, OD1, Planctomycetes y Verrucomicrobia, microorganismos que generalmente son clasificados como oligótrofos, mientras que las prácticas convencionales presentaron un PC1 negativo, donde se agruparon Actinobacteria, Cyanobacteria, Deinococcus-Thermus, Firmicutes y Proteobacteria, que por su parte son microorganismos que generalmente son asociados a ambientes ricos en materia orgánica.

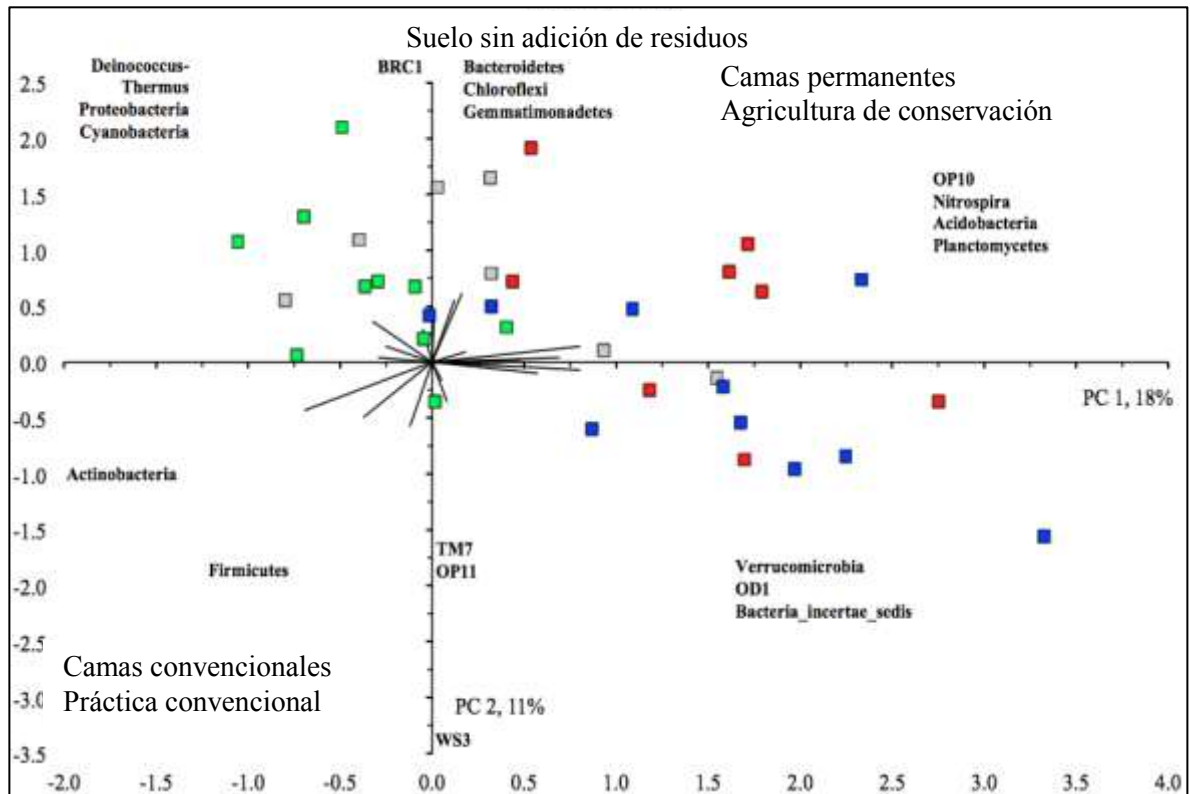


Fig. 15a PCA de Suelos sin adición de residuos a nivel de filo

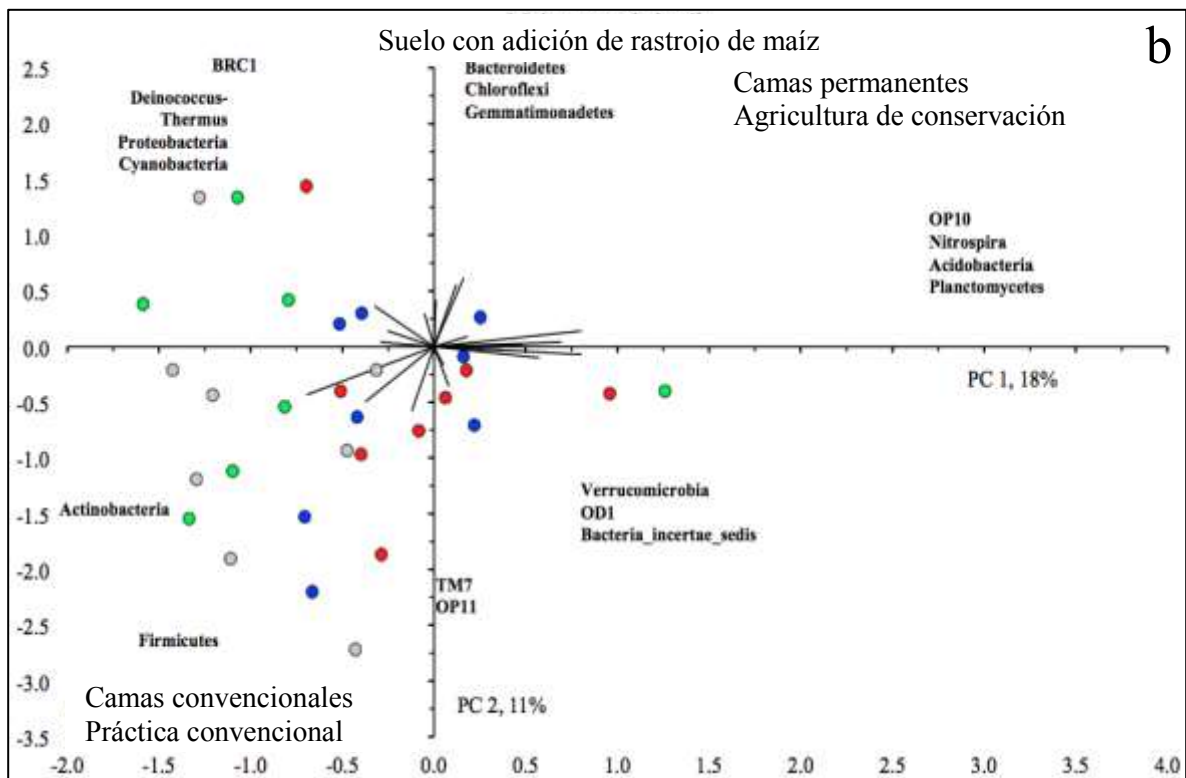


Fig. 15b PCA de Suelos con adición de rastrojo de maíz a nivel de filo

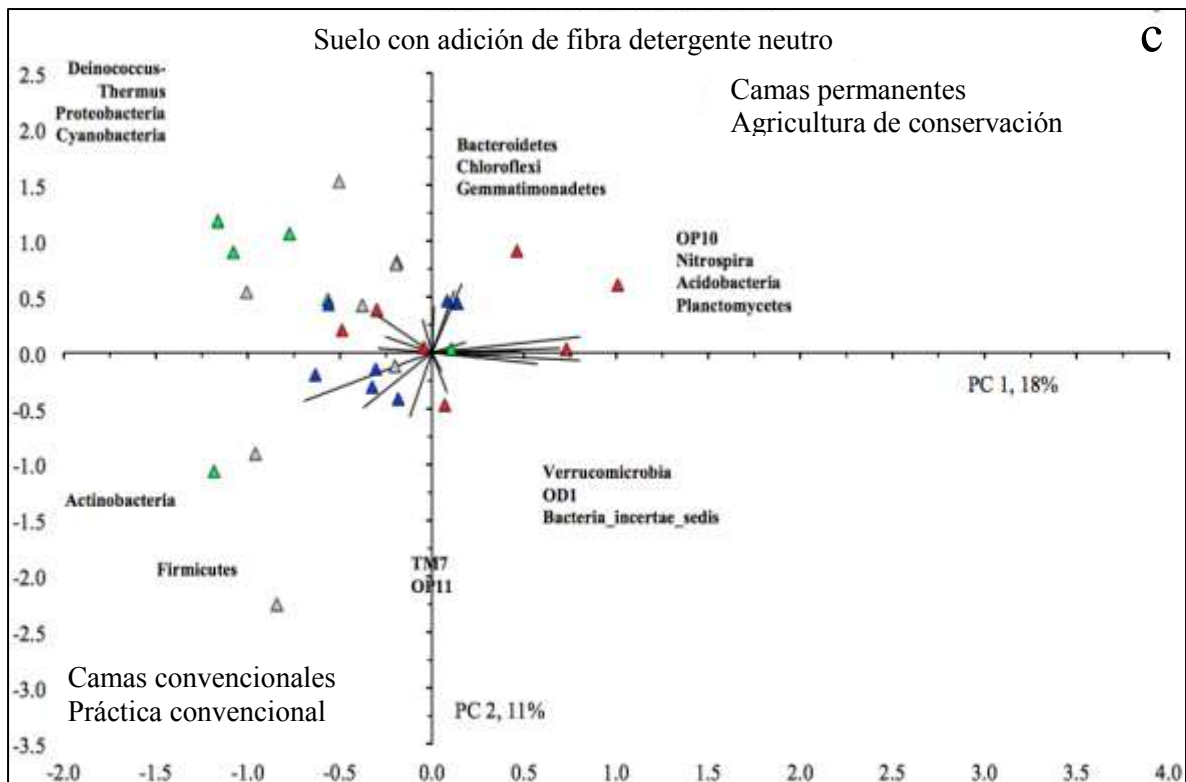


Fig. 15-c Análisis de componentes principales considerando la abundancia relativa de los diferentes *phyla* bacterianos encontrados en (a) suelo sin adición de residuos con agricultura de conservación en camas (camas permanentes) (■), práctica convencional (camas convencionales) (■), agricultura de conservación en plano (agricultura de conservación) (■), práctica convencional (■), (b) suelo con adición de rastrojo de maíz en camas permanentes (●), camas convencionales (●), agricultura de conservación (●) o práctica convencional (●), o (c) suelo con adición de fibra detergente neutro de maíz en camas permanentes (▲), camas convencionales (▲), agricultura de conservación (▲) o práctica convencional (▲). Suelos incubados aeróbicamente a 22 +/- 2 °C por 14 días, con extracciones de DNA a los días 0, 1, 7 y 14. El componente principal PC1 explica el 18% de la variación y el PC2 11%.

Dentro de cada práctica agrícola, la aplicación de materia orgánica generalmente aumenta la abundancia relativa de Actinobacteria, Cyanobacteria, Firmicutes, Proteobacteria, mientras que la de Acidobacteria, Planctomycetes y Verrucomicrobia se ve disminuida, por lo que el valor PC1 disminuye.

Al realizar un PC a nivel de orden, la separación de los diferentes tratamientos se hace más evidente (Fig. 16 a–c), donde suelos bajo agricultura de conservación (tratamientos AC y PB) son caracterizados por un PC1 positivo, donde la abundancia relativa de Gp6, Gp7, Rhizobiales, Opitutales, Myxococcales, Caldilineales es alta.

El tratamiento de AC fue caracterizado principalmente por un PC2 positivo, con una abundancia relativa alta de Gp3 y Planctomycetales, mientras que el tratamiento de PB se caracterizó con un PC2 negativo. Los suelos con prácticas convencionales (tratamiento PC y CB), se caracterizaron por presentar principalmente un PC1 negativo, con alta abundancia relativa de Burkholderiales, Rhodobacterales, Deinococcales, Actinomycetales y Xanthomonadales.

El tratamiento PC presentó un PC2 positivo, con una abundancia relativa alta de Gp1, Gp3 y Sphingomonadales, mientras que el tratamiento PB presentó un PC2 negativo. Dentro de cada práctica agrícola, la aplicación de materia orgánica, de manera general, reduce el valor PC1, esto se observa de manera más acentuada en la agricultura de conservación. Las variables, PC1 y PC2, explican por arriba del 20% de la variación.

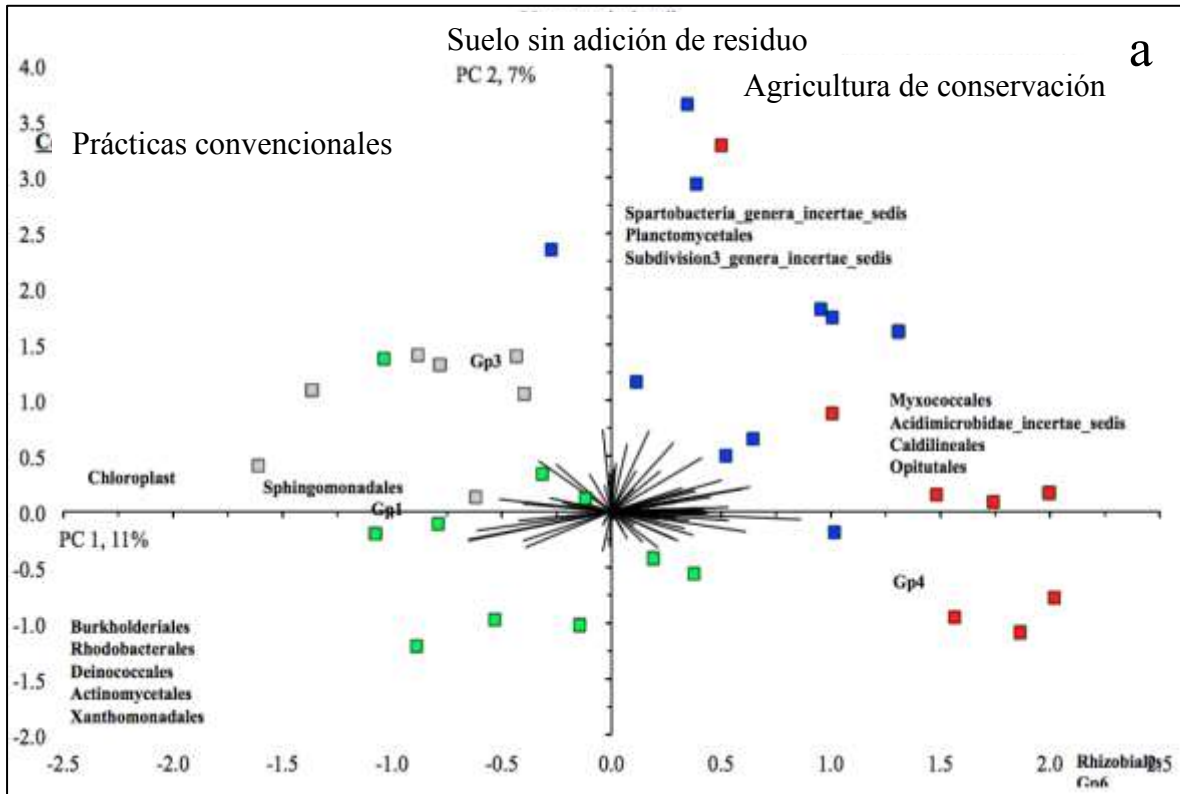


Fig. 16a PCA de suelos sin adición de residuos a nivel de orden

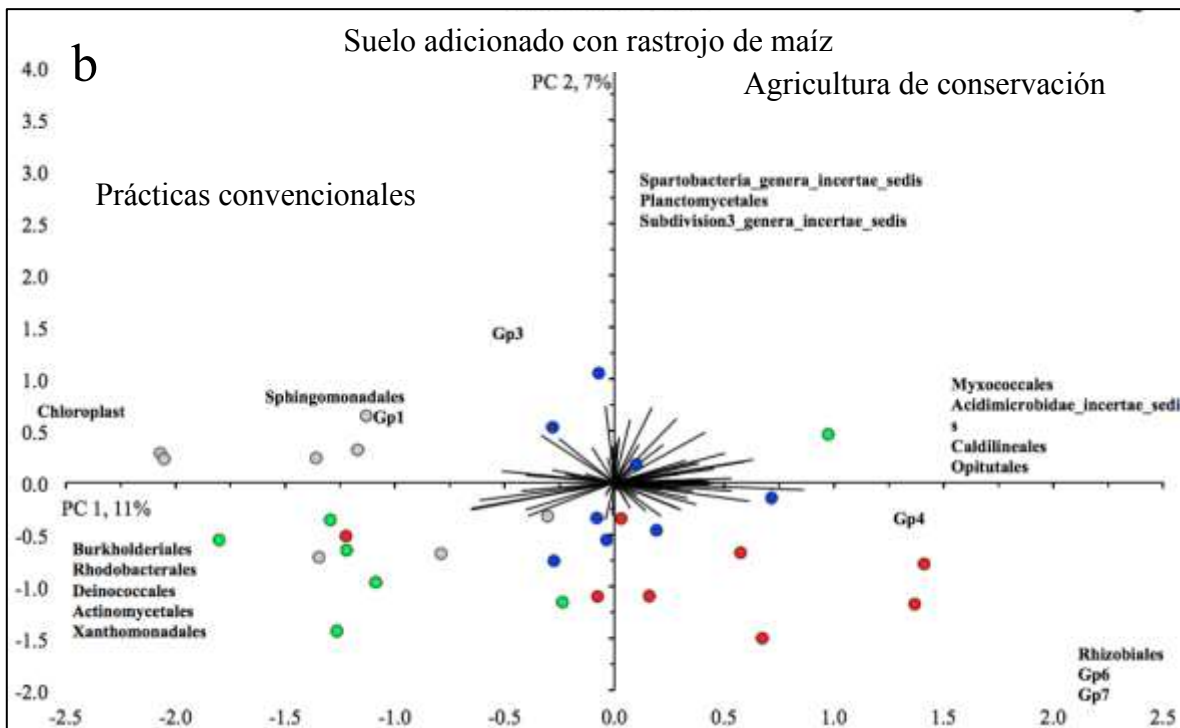


Fig. 16b PCA de suelos con adición de rastrojo de maíz a nivel de orden

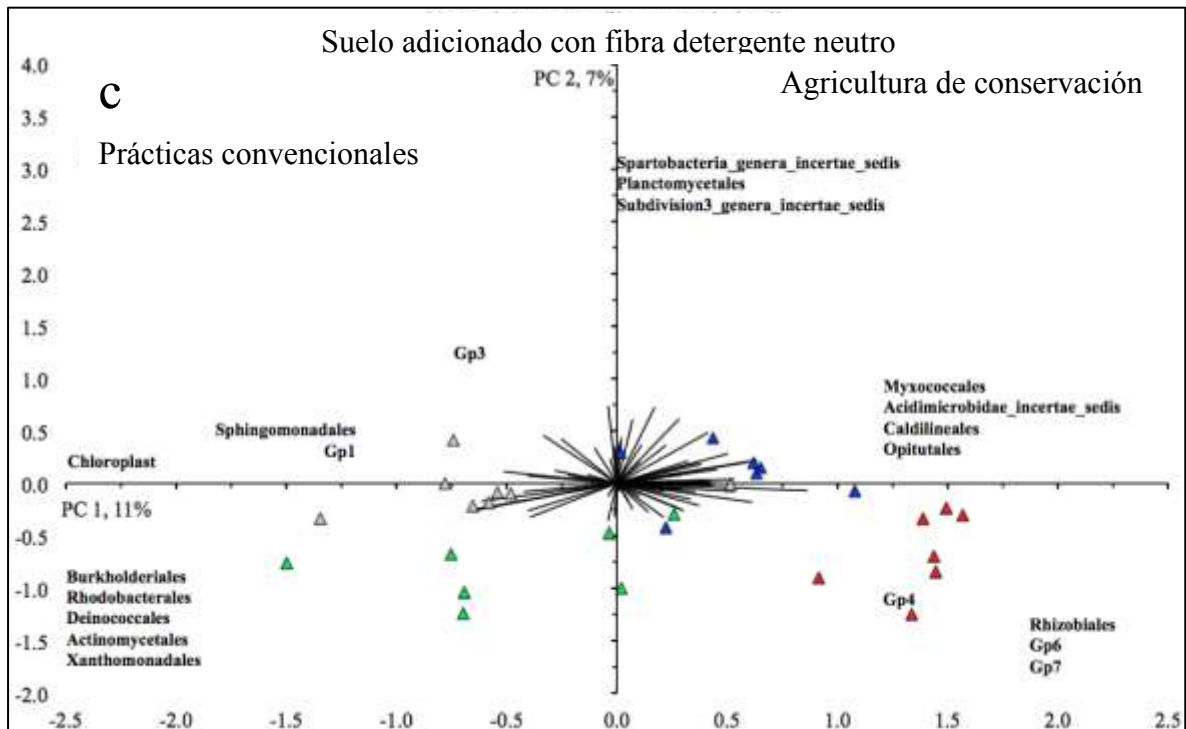


Fig. 16c PCA considerando la abundancia relativa de los diferentes órdenes bacterianos encontrados en (a) suelo sin adición de residuos con agricultura de conservación en camas (camas permanentes) (■), práctica convencional (camas convencionales) (■), agricultura de conservación en plano (agricultura de conservación) (■), práctica convencional (■), (b) suelo con adición de rastrojo de maíz en camas permanentes (●), camas convencionales (●), agricultura de conservación (●) o práctica convencional (●), o (c) suelo con adición de fibra detergente neutro de maíz en camas permanentes (▲), camas convencionales (▲), agricultura de conservación (▲) o práctica convencional (▲).

El análisis PERMANOVA nos permitió confirmar que la estructura de la comunidad bacteriana es afectada de manera significativa por el tipo de cultivo, ya se en plano (AC y PC) en comparación con los cultivos en camas (PB y CB) así como por la aplicación de los residuos agrícolas (Tabla 9). La agricultura de conservación (AC y PB) tienen un efecto en la estructura de la comunidad bacteriana en comparación con las prácticas convencionales (PC y CB).

Tabla 9. Análisis PERMANOVA para probar las diferencias significativas entre los

tratamientos, aplicación de materia orgánica y el tiempo de incubación, con base en las distancias UniFrac.

Comparación	Valor <i>F</i>	Valor <i>P</i>
Cultivo en camas vs plano	3.67	0.001
Aplicación de materia orgánica	6.25	0.001
Tratamiento	1.93	0.001
Agricultura de conservación (AC + PB) vs práctica tradicional (PC + CB)	12.99	0.001
AC vs PC	5.00	0.001
PB vs CB	6.15	0.001
Tiempo de incubación (días)	1.79	0.001

a AC: Agricultura de Conservación
b PB: Camas Permanentes
c PC: Práctica Convencional
d CB: Camas Convencionales

Al realizar el análisis de correlación canónica CCA, utilizando las características de los distintos suelos y la abundancia relativa de los *phyla* bacterianos, es posible observar una clara separación dependiendo de los distintos tratamientos (Fig. 17). El suelo con el tratamiento de PB fue caracterizado por un CC1 positivo, y poco cargado al CC2 negativamente, con una abundancia relativa para Acidobacteria y Nitrospira, así como un alto pH, mientras que el suelo de PC presenta una ligera carga al CC1 negativo y positivo, pero un alto valor positivo a CC2, donde se ubica la abundancia relativa de Cyanobacteria, Deinococcus-Thermus y Gemmatimonadetes.

El suelo del tratamiento CB fue caracterizado por un CC1 negativo y con carga hacia CC2 tanto positiva como negativa, donde se ubica la textura arenosa con alta conductividad electrolítica y una alta abundancia relativa de Actinobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes y Proteobacteria.

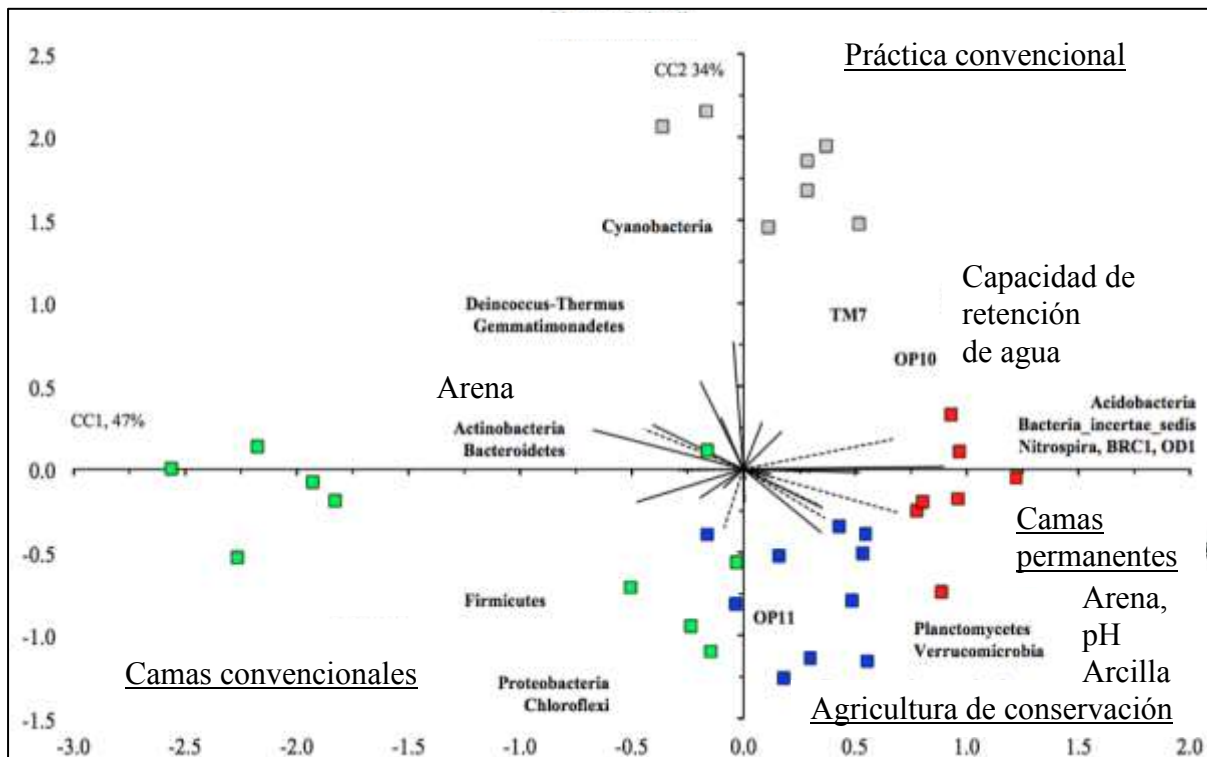


Fig. 17 Análisis de correlación canónica considerando la abundancia relativa de los diferentes *phyla* bacterianos y las características de los suelos. Suelos incubados a 22 +/- 2 °C. Extracciones de DNA a los días 0, 1, 3, 7 y 14.

8. Discusión

8.1. Abundancia relativa de grupos bacterianos en suelo sin adición de residuos

Algunos *phyla* bacterianos se ven favorecidos en ambientes que tienen poca cantidad de nutrientes, entre estos podemos encontrar a Acidobacteria, Planctomycetes y Verrucomicrobia, donde su abundancia relativa es mayor en suelos con agricultura de conservación que en suelos con agricultura convencional.

En el caso de Planctomycetes, se ha visto favorecido en compostas que ya han alcanzado estados avanzados de madurez (de Gannes et al., 2013), mientras que Acidobacteria se le ha relacionado con ambientes con poca cantidad de nutrientes (Fierer et al., 2007).

La abundancia relativa de los grupos bacterianos ligados a los ambientes donde existe alta disponibilidad de nutrientes, considerados como colonizadores, fue mayor en suelos con prácticas convencionales que en suelos con agricultura de conservación. La abundancia relativa de filotipos pertenecientes a Actinobacteria fue mayor en suelos con práctica convencional que en suelos con agricultura de conservación.

Al filo Actinobacteria se le ha considerado como colonizadores del suelo, ya que una gran diversidad de especies pertenecientes a este filo son capaces de producir enzimas extracelulares que les permite la degradación de moléculas como celulosa, quitina y lignina (Suela-Silva et al., 2013). Se ha descrito previamente que algunas especies del género *Arthrobacter*, perteneciente a Actinobacteria han sido dominantes en suelos a los cuales se les ha adicionado rastrojo de soya (España et al., 2011), mientras que en 2012, Semenov y col., los catalogaron como secuestradores primarios en suelos.

En este ensayo es posible confirmar que *Arthrobacter* es un secuestrador primario, donde su abundancia relativa es significativamente mayor en suelos cultivados de manera convencional que en prácticas de agricultura de conservación.

El suelo es perturbado de manera frecuente en las prácticas convencionales a causa de la labranza, algunos grupos bacterianos en este tipo de suelos se les considera estar más adaptados al consumo rápido de nutrientes, ya que la labranza mezcla el suelo y libera la materia orgánica atrapada en los agregados.

Por el contrario, los grupos bacterianos que se encuentran en suelos en los que no se realiza labranza de manera frecuente, no experimentan este tipo de cambios o perturbaciones, siendo menos adaptados a responder inmediatamente al aporte de materia orgánica fresca.

De manera adicional, es considerado que en las prácticas tradicionales, donde se realiza labranza, los microorganismos tienen un contacto muy estrecho mediante la

incorporación de la materia orgánica en los suelos. En la agricultura de conservación, a pesar de que la cantidad de los residuos retenidos en la superficie del suelo es mucho más grande que en la agricultura convencional, muy poca materia orgánica fresca tiene contacto con las bacterias del suelo. La mayor parte de la degradación del material orgánico en el suelo en los sistemas agrícolas de conservación, ocurre principalmente en la superficie, dejando esta actividad a la macrofauna, mientras que los lixiviados se encargan de llevar la materia orgánica a capas más profundas.

La estructura de la comunidad bacteriana en ambos sistemas agrícolas (agricultura de conservación vs prácticas convencionales), estuvo definida principalmente por el manejo de los residuos. Se tiene que tomar en cuenta que la aplicación de las prácticas agrícolas modifican las características del suelo, por ejemplo, el C orgánico en el tratamiento de AC (38.4 g kg^{-1}) fue significativamente mayor que en el tratamiento de PC (29.0 g kg^{-1}), mientras que el C orgánico (32.5 g kg^{-1}) y el pH (6.8) en el tratamiento de PB fue significativamente mayor que en el tratamiento de CB ($21,7 \text{ g kg}^{-1}$, y 6.3 respectivamente). Esto nos puede indicar que aun, pequeños cambios en las características del suelo, pueden modificar la estructura de la comunidad bacteriana.

La combinación de la abundancia relativa de los grupos bacterianos y las características del suelo, permite separar los tratamientos de manera clara. El análisis de correlación canónica en relación con la abundancia relativa de los diferentes *phyla* y las características del suelo permitió determinar como se separaban por tratamientos.

8.2. Efecto de la aplicación de residuos en la abundancia relativa de los grupos bacterianos

En los procesos de compostaje, entre los mayores órdenes bacterianos identificados se encuentra Bacillales (Partanen et al., 2010), se les ve enriquecidos cuando se adiciona celulosa de acuerdo a Eichorst y Kuske (2012). En este estudio, la abundancia relativa de Bacillales se ve incrementada cuando el residuo de maíz se adiciona a los tratamientos de PB, PC y AC. Además se incrementó la abundancia relativa de *Arhtrobacter*, que en la

descripción que realiza Semenov y col. (2012), además de considerarlo un secuestrador primario, se le atribuye actividad celulolítica (Siddikee et al., 2010).

La población del filo Proteobacteria, puede tener fluctuaciones, incluso se le ha considerado presentar una actividad oportunista, respondiendo rápidamente cuando se encuentran con diferentes fuentes de C (Fierer et al., 2007). Los grupos del filo Proteobacteria son muy versátiles, ya que algunos grupos se favorecieron por la aplicación de materia orgánica, mientras que otros fueron afectados negativamente.

La aplicación de fibra detergente neutro incrementó la abundancia relativa de diferentes grupos pertenecientes a Alfaproteobacterias como los Rhizobiales, así como de Betaproteobacteria, a los Burkholderiales, en comparación con los suelos en los cuales no se adicionó algún residuo, apoyando a lo antes descrito, que pueden responder a diferentes fuentes de C. Algunas cepas pertenecientes al grupo de Burkholderiales fueron enriquecidas con celulosa marcada, respondiendo positivamente a este tipo de sustratos en diferentes suelos (Eichorst y Kuske, 2012; Goldfarb et al., 2011).

Al filo Acidobacteria se le asocia a una baja disponibilidad de nutrientes, presentando una correlación negativa con la adición de fuentes de C (Fierer et al., 2007), por lo que la aplicación de FDN o de rastrojo de maíz reducen su abundancia relativa. Chloroflexi, un grupo que ha sido considerado como oligótrofo (Fierer et al., 2007), y que se ha encontrado abundantemente en la fase madura de algunos composteados (de Gannes et al., 2013), al aplicar rastrojo de maíz, su abundancia relativa se ve reducida, mientras que algunos grupos de los Clostridiales han sido encontrados en consorcios degradando lignina (Wang et al., 2013), al aplicar una fuente orgánica de fácil descomposición, se redujo su abundancia relativa.

El análisis PCA considerando la abundancia relativa de los diferentes *phyla* y órdenes, confirmó los resultados mencionados en párrafos anteriores. En este análisis, el suelo control o sin adición de residuos en los tratamientos de PB y AC (prácticas agrícolas de

conservación), se separó del suelo CB y PC (prácticas convencionales). Las prácticas agrícolas de conservación favorecen la abundancia relativa de grupos bacterianos considerados oligótrofos, Acidobacteria, Planctomycetes y Verrucomicrobia, comparados con prácticas agrícolas convencionales (PC y PB), donde la abundancia relativa de bacterias copiotróficas fue mayor (Actinobacteria, Cyanobacteria, Proteobacteria).

La aplicación de materia orgánica dirige los cambios en la abundancia relativa de diferentes *phyla* en el suelo, donde Actinobacteria y Firmicutes se ven favorecidas. El efecto fue más franco y el cambio fue más grande en las prácticas agrícolas de conservación (PC1 principalmente negativo) que en las prácticas agrícolas convencionales. Se encontraron efectos similares cuando se consideró la abundancia relativa de los órdenes. De manera adicional, el PCA con los diferentes órdenes, separa a los tratamientos en plano o en camas, pudiendo hacer esta distinción tan específica.

Las prácticas agrícolas de conservación en plano, favorece a los filotipos perteneciente a grupos bacterianos como Gp7, mientras que Planctomycetales se ve favorecido en tratamientos en camas. Las prácticas agrícolas convencionales en plano, favorecen a los filotipos pertenecientes a Sphingomonadales y Planctomycetes, mientras que Actinomycetales y Burkholderiales se ven favorecidos cuando se realizan cultivos en camas.

Aunque este estudio únicamente se enfocó en bacterias, es muy bien reconocido que los hongos tienen un papel muy importante en la degradación de materia orgánica del suelo. Las bacterias están más relacionadas con etapas tempranas en la degradación de materia orgánica en descomposición (Rousk et al., 2010), mientras que los hongos dominan etapas posteriores, principalmente porque tienen la capacidad de degradar compuestos recalcitrantes (Stemmer et al., 2007).

9. Conclusiones del capítulo 1

La agricultura de conservación favorece bacterias oligotróficas, Acidobacteria, Planctomycetes y Verrucomicrobia. En la agricultura de conservación, los residuos del cultivo permanecen en la superficie del suelo, y es a través de la actividad de la macrofauna y de la lixiviación que la materia orgánica penetra al suelo. De manera consecuente, poca material de fácil descomposición está disponible para los microorganismos del suelo.

En las prácticas agrícolas convencionales, el suelo es mezclado y la materia orgánica es puesta en contacto con los microorganismos del suelo, aquellas bacterias capaces de metabolizar material orgánico de fácil descomposición se ven favorecidos como Actinobacteria.

La aplicación de residuo de maíz o la fracción de FDN, cambia la estructura de la comunidad bacteriana favoreciendo a Actinobacteria y Firmicutes, reduciendo la abundancia relativa de una amplia gama de bacterias, como Acidobacteria, Planctomycetes y Verrucomicrobia.

Habría que hacer notar que el tiempo que llevan los dos experimentos en campo ha sido diferente, el experimento de cultivos en plano comenzó en 1991, mientras que el que se realiza en camas comenzó en 1999, y que esta diferencia en tiempo podría tener un efecto en la estructura de la comunidad bacteriana.

10. Capítulo 2

10.1. Estudio de las comunidades bacterianas en suelos agrícolas con Agricultura de Conservación y Práctica Convencional del Centro de Investigación Australiano del Algodón (ACRI).

10.2. Introducción

En grandes áreas semi-desérticas del Este australiano, que corresponden a suelos catalogados como Alfisoles o Vertisoles, han sido utilizados como zonas para el cultivo de algodón (*Gossypium hirsutum* L.), sin embargo, se ha observado una pobre calidad del suelo relacionada con la agricultura convencional, (labranza profunda y monocultivo de algodón), llevando estos suelos a una degradación continua caracterizada por la disminución en el contenido de materia orgánica, aumento en la salinidad, inundación de los suelos de cultivo de manera frecuente asociada a la compactación del suelo (Hulugalle y Entwistle, 1997; Hulugalle et al., 1997; Hulugalle et al., 1999).

Es común que en Australia, los productores reporten bajas cantidades o disminución en la cantidad de carbono orgánico del suelo (SOC, Soil Organic Carbon, por sus siglas en inglés), bajo prácticas de agricultura convencional, con altas tasas de fertilización y en monocultivos de algodón (Rochester, 2011).

La preparación del suelo en Australia involucra distintas prácticas agrícolas para el cultivo de algodón irrigado, que van desde la producción mediante labranza (convencional) intensiva (disco de labranza, arado de cincel y reconstrucción de camas cada año), hasta aquellas en las que se disminuye la labranza o en las que se utilizan camas permanentes (McKenzie et al., 2003; Hulugalle et al., 2010).

Con el objetivo de frenar las consecuencias de las prácticas agrícolas tradicionales en Australia, se han puesto en marcha distintas prácticas agrícolas, entre las que destacan, la disminución de la labranza o el sistema de camas permanentes, la cobertura de parcelas con los residuos de leguminosas y cereales, así como la rotación del algodón con cultivos

económicamente viables, además de evitar la quema de los residuos (Hulugalle y Scott, 2008; Hulugalle et al., 2009).

Los beneficios de aplicar prácticas agrícolas sostenibles en el Este australiano es principalmente la reducción en la erosión, menor degradación en diversos aspectos, tanto química, física y biológica del suelo, mejoramiento en la utilización de recursos energéticos y menor tiempo de labor en campo, además de algo muy importante para el campo australiano que es la conservación del agua en distintas modalidades (Hulme et al., 1996; Hulugalle et al., 2010).

10.3. Antecedentes

Durante las últimas dos décadas, diversos experimentos se han realizado en el Centro de Investigación Australiano del Algodón (ACRI), cerca de Narrabri, New South Wales, Australia, con la finalidad de evaluar los efectos de los distintos métodos de labranza, rotación de los cultivos entre verano e invierno, calidad del suelo, hidrología, sostenibilidad así como rendimiento e incluso la calidad del algodón (Hulugalle y Etwistle, 1997, Hulugalle et al., 2010; Hulugalle et al., 2015).

Se han realizado una gran cantidad de ensayos en los suelos agrícolas pertenecientes al centro de investigación mencionado en el párrafo anterior, en lo concerniente a las comunidades bacterianas del suelo, en **2015, Trivedi y col.**, realizaron un experimento a partir de distintas muestras de suelo, utilizando tratamientos contrastantes, entre los que se incluyeron cultivos con irrigación de algodón, con prácticas tradicionales y de conservación, con la finalidad de evaluar, si es que las prácticas de manejo dirigían cambios en las comunidades bacterianas del suelo.

Los resultados mostraron que se realizaba un cambio de una comunidad oligotrófica a una comunidad microbiana copiotrófica cuando se incrementaba la cantidad de C en suelo. De la misma forma, las comunidades bacterianas involucradas en la degradación de compuestos lábiles de C se afectaban por las distintas prácticas de manejo, y que uno de los

factores que influía fuertemente era el tamaño de los agregados del suelo, siendo los microagregados los que tenían una mayor interacción con las comunidades microbianas.

11. Materiales y Métodos

11.1. Sitio experimental

El sitio experimental se encuentra localizado en el Centro de Investigación Australiano del Algodón (ACRI), en las cercanías de Narrabri, en el Noroeste de New South Wales (NSW) Australia (149° 27' E, 30° 13' S) (Fig. 18). El sitio experimental se caracteriza por tener condiciones climáticas semi-áridas, con vientos fuertes, una temperatura que oscila entre los -5 °C a 25 °C en periodo invernal, y veranos cálidos con temperaturas entre 18 °C a 45 °C, con una media anual pluvial de 616 mm. Los suelos están caracterizados como finos-térmicos, montomoriloníticos Typic Hapluster (Soil Survey Staff, 1996).



Fig. 18 Sitio experimental ACRI, localizado en el Este australiano, Narrabri,, NSW, Australia. (Tomado de Ghosh et al., 2010).

11.2. Tratamientos en campo

Los tratamientos utilizados para este ensayo fueron tres tratamientos ($n = 3$) por triplicado, las parcelas en campo están constituidas por bloques al azar (en la Tabla 10 se encuentra una breve descripción de los tratamientos en campo), y fueron los siguientes, 1) Cultivo de algodón en camas convencionales (CTCC, Conventional Tillage, Continuous

Cotton, por sus siglas en ingles, donde se lleva a cabo labranza y reformación de camas, incorporación de los residuos a través de la labranza y monocultivo de algodón), 2) Camas permanentes con monocultivo de algodón (MTCC, Minimum Tillage Continuous Cotton, por sus siglas en inglés, tratamiento en el cual se lleva a cabo la incorporación de los residuos al reformar las camas y monocultivo de algodón), 3) Camas permanentes con rotación algodón-trigo y residuo retenido en la superficie (MTWC, Minimum Tillage Wheat-Cotton, por sus siglas en inglés, tratamiento en el cual, a partir de 1999 el residuo de la rotación trigo-algodón comenzó a dejarse en la superficie, y la reformación de camas sólo cuando es necesario) (Hulugalle et al., 2008).

Tabla 10. Resumen de los tratamientos pertenecientes a los suelos de ACRI, Narrabri, Australia establecidos en 1985.

	CTCC	MTCC	MTCW
Cultivos en camas	Algodón (<i>Gossypium hirsutum</i> L.)	Algodón (<i>Gossypium hirsutum</i> L.)	Rotación Trigo-Algodón (<i>Gossypium hirsutum</i> L. - <i>Triticum aestivum</i> L.)
Residuo	Incorporación de residuos mediante labranza convencional (cosecha y post-cosecha)	Incorporación de residuos mediante labranza mínima (cosecha)	Retenidos en la superficie de las camas
Labranza	Labranza convencional, mediante un disco a una profundidad de 30 cm, reformación de camas en cada cultivo	Camas permanentes, reformación sólo cuando es necesario	Camas permanentes, reformación sólo cuando es necesario

11.3. Muestreo de suelos

El muestreo de suelos se realizó en noviembre de 2014, entre las dos primeras líneas de siembra (Fig. 19), en cada parcela ($n = 3$), por cada tratamiento ($n = 3$). Se tomaron 20 muestras de cada parcela, de la capa superficial que va de 0 a 20 cm, mediante una barrena de 2 cm de diámetro, obteniendo una muestra compuesta de cada parcela ($n = 9$). La materia orgánica superficial, se removió antes de realizar el muestreo.

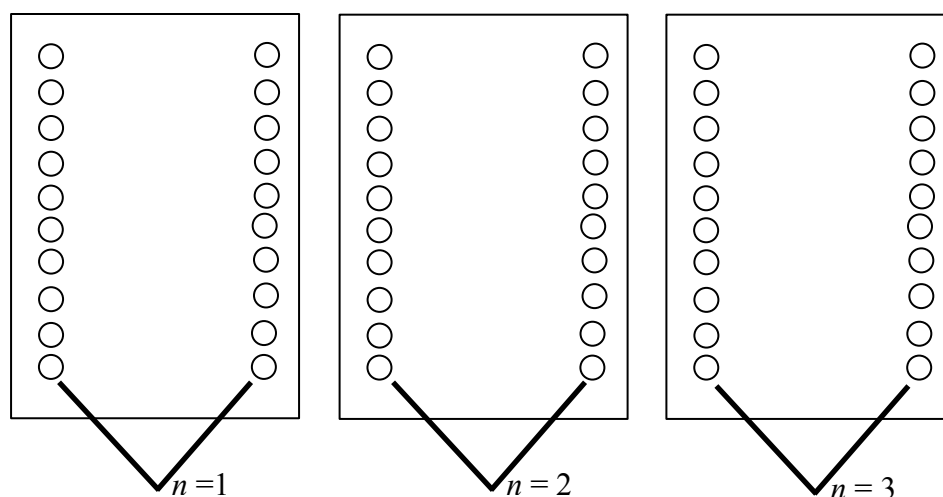


Fig. 19 Esquema de muestreo de un tratamiento de suelos en campo, correspondientes al sitio ACRI, Narrabri, Australia, ($n = 3$ / tratamiento).

11.4. Cultivo de maíz y fraccionamiento del residuo

Se utilizó el rastrojo de maíz y FDN descrito previamente en el capítulo 1.

11.5. Diseño experimental e incubación aerobia

El suelo colectado fue enviado al laboratorio, una porción de cada suelo se secó para poder realizar la caracterización fisicoquímica, mientras que el resto se ajustó al 40% de la capacidad de retención de agua (WHC., por sus siglas en inglés) con agua destilada y se dispuso a preincubación por 7 días, en un tambo de 70 l conteniendo un contenedor (1-l) con NaOH 1M para capturar el CO₂ emitido, además de un contenedor con agua destilada (5-l) para prevenir la desecación en la preincubación.

Las muestras de suelo se analizaron para contenido de carbono y nitrógeno, conductividad electrolítica (EC, por sus siglas en inglés), pH, textura, carbono orgánico total y capacidad de retención de agua de acuerdo a lo descrito por Aguilar-Chávez et al., (2012), la descripción de estas técnicas se encuentran en el anexo correspondiente a las determinaciones fisicoquímicas.

Para la realización de la incubación aerobia, se utilizó un total de 189 sub-muestras de 20 g cada una, las cuales se añadieron a frascos de 120 ml y se les aplicaron 4 tratamientos a nivel laboratorio, 1) tratamiento control, 2) tratamiento rastrojo, 3) tratamiento FDN y 4) tratamiento urea. La cantidad de residuo aplicado, fue tal que se agregaron 2 g C/kg de suelo para los tratamientos FDN y rastrojo de maíz, y un equivalente a 100 kg N ha⁻¹ en forma de urea. Cada frasco fue colocado en una jarra (1-l) conteniendo un frasco de 25 ml con 20 ml de NaOH 0.5M para capturar el CO₂ emitido, además de contener 25 ml de agua para evitar la desecación durante la incubación.

Después de 0, 1, 3, 7, 14, 28, 56 días, las jarras fueron abiertas, los frascos con NaOH 0.5M se utilizaron para el análisis de la emisión de CO₂ producto de la respiración microbiana y degradación de sustratos (Jenkinson y Powlson, 1976). El suelo fue removido del frasco contenedor, y 6 g de este fueron tomados para la extracción de DNA como se describe previamente en el capítulo 1, mientras que el resto se utilizó para la determinación de N mineral (NH₄⁺, NO₂⁻ y NO₃⁻) con 100 ml de K₂SO₄ 0.5M y analizado mediante un analizador automático San Plus System-Skalar (Skalar, Breda, the Netherlands) (Mulvaney, 1996).

11.6. Amplificación del gen 16S rRNA

Se llevó a cabo la amplificación (Tabla 11) de la región V1 – V3 de los genes bacterianos 16S rRNA mediante los iniciadores 8-F (5'-AGAGTTTGATCITGGCTCA-3') y 556-R (5'-TGCCAGIAGCIGCGGTAA-3'), que contenía las etiquetas de 10 pb y el adaptador Lib-L para la plataforma de Roche 454 de pirosecuenciación (Navarro-Noya y col., 2013). Los productos de las reacciones de cada muestra de DNA metagenómico fueron mezcladas para la constitución de una librería de productos de PCR (Acinas y col., 2004), se purificaron utilizando el kit DNA clean and concentrator de acuerdo a las recomendaciones del fabricante (Zymo Research, Irvine, CA, USA) y finalmente se cuantificaron utilizando PicoGreen dsDNA assay (Invitrogen, Carlsbad, USA) y el fluoroespectrofotómetro NanoDropTM 3300 (Thermo Scientific NanoDrop).

El secuenciamiento fue realizado por MacroGen Inc. (DNA Sequencing Service, Seoul, Korea) utilizando el sistema de pirosecuenciación Roche 454 GS-FLX Titanium (Roche, Mannheim, Germany).

Tabla 11. Condiciones para PCR del gen 16S rRNA

Volumen de reacción: 25 µl	Ciclo	Temperatura (°C)	Tiempo min.
	Desnaturalización inicial	95	10
	25 Ciclos	Temperatura (°C)	Tiempo seg.
	Desnaturalización	95	45
	Alineación	50	45
	Extensión	72	50
	Extensión final	72	10 mins.

Cada reacción contenía 10 mM de cada uno de los cuatro desoxinucleótidos trifosfato, 10 pM de cada uno de los iniciadores, 0.7 unidades de la polimerasa “Phusion hot start high fidelity” de FINNZYMEZ y 20 ng de DNA metagenómico como templado.

11.7. Análisis de los datos secuenciados

Se utilizó el software QIIME versión 1.9.0 (<http://www.qiime.org>) para el análisis de los datos de pirosecuenciación (Caporaso y col., 2010), seleccionando las unidades taxonómicas operacionales (OTU's) a un nivel de similitud del 97% utilizando el algoritmo UCLUST (Edgar, 2010). El alineamiento de las secuencias se realizó mediante el algoritmo PyNAST, con un umbral mínimo de identidad del 75% contra la base de datos Greengenes (<http://greengenes.lbl.gov/>) (Caporaso et al., 2010), mientras que la eliminación de quimeras se realizó mediante el método de detección y filtrado Chimera Slayer. La asignación taxonómica fue realizada con el clasificador del Ribosomal Data Project (RDP), utilizando la clasificación Naïve Bayesian, con un mínimo de identidad del 80% (Wang et al., 2007).

11.8. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), para determinar el efecto de las prácticas agrícolas en las características fisicoquímicas del suelo (R Development Core Team, 2008).

Se realizó un análisis PERMANOVA, con la finalidad de determinar el efecto de las prácticas agrícolas, la adición de materia orgánica, así como el tiempo, en la estructura de las comunidades bacterianas utilizando las distancias generadas en UniFrac. Además, se realizaron pruebas de ANOVA con la finalidad de determinar el efecto del tratamiento y la adición de materia orgánica con respecto a la abundancia relativa de los distintos grupos bacterianos a nivel de filo, clase, orden y familia, mediante un análisis GLM (R Development Core Team, 2008).

Se exploró mediante un análisis de componentes principales la abundancia relativa de los diferentes grupos taxonómicos a nivel de filo, orden y género utilizando PCA (R Development Core Team, 2008). Finalmente se realizó una predicción de las posibles rutas metabólicas que pudieran estar involucradas en los distintos suelos evaluados (CTCC, MTCC y MTWC), mediante el software PICRUST (Langille et al., 2013), basado en análisis *in silico* de los genes 16S rRNA y en comparación con la base de datos KEGG (Enciclopedia de genes y genomas de Kyoto).

12. Resultados

12.1. Características del suelo

Con treinta años bajo distintos tratamientos agrícolas (Constable et al., 1992), algunas de las características fisicoquímicas han tenido cambios en los suelos utilizados. Una de las características más remarcables en las que se hace énfasis es en la cantidad de carbono que puede acumular un suelo, ya que esta cantidad está fuertemente ligada a la calidad del suelo (Kallenbach et al., 2015).

El suelo en el cual se realiza rotación de cultivo (Trigo-Algodón) y no se realiza labranza (MTWC) es el que presenta una cantidad significativamente mayor de carbono orgánico, con respecto al suelo en el cual se realiza labranza convencional y no se lleva a cabo rotación de cultivos (CTCC) ($n = 3$, $P < 0.05$), (Tabla 12).

La cantidad de carbono que contiene un suelo, puede influir en otras características fisicoquímicas (Fultz et al., 2013), en este caso, la capacidad de retención de agua se ve incrementada en el suelo con rotación de cultivos, labranza mínima y cobertura del suelo (MTWC), con respecto al suelo en el cual no se lleva a cabo rotación de cultivos, pero si labranza convencional (CTCC) ($n = 3$, $P < 0.05$) (Tabla 12). Las demás características fisicoquímicas no fueron significativamente diferentes.

12.2. Estructura de la comunidad bacteriana en suelos sin adición de residuos

Se obtuvo un promedio de 11200 secuencias por muestra de suelo, con OTU's observadas que van de 137 a 170 (Tabla 13), con un intervalo de diversidad filogenética de 18 a 22 y una riqueza de especies entre 404 y 557. Se tienen observaciones similares para estos tres índices analizados, en los distintos tratamientos que corresponden a control o suelo sin adición, y suelos adicionados con rastrojo de maíz, fibra detergente neutro y urea como fuente de nitrógeno.

Tabla 12. Características fisicoquímicas del suelo cultivado con diferentes prácticas agrícolas del campo experimental ACRI, Narrabri, Australia

Tratamiento	pH	CE ^a	N total ^b	C org. ^c	WHC ^d	Arcilla	Arena	Limo	Textura (USDA)
(g Kg ⁻¹ suelo seco)									
MTCC ^e	7.2 (0.09) ^f	0.13 (0.01)	0.97 (0.12)	8.3 (0.48)	510 (60)	360 (100)	470 (70)	170 (40)	Arcillo-arenoso
MTWC ^g	7.2 (0.09)	0.31 (0.15)	1.02 (0.12)	9.3 (1.35)	530 (30)	340 (80)	510 (90)	150 (65)	Arcillo-arenoso-limoso
CTCC ^h	7.4 (0.03)	0.14 (0.02)	0.86 (0.06)	6.7 (0.18)	430 (10)	260 (30)	580 (40)	155 (60)	Arcillo-arenoso-

^a CE: Conductividad electrolítica

^b Nitrógeno total

^c Carbono orgánico

^d WHC: Capacidad de retención de agua

^e MTCC: Camas permanentes, labranza mínima, monocultivo de algodón

^f Valores entre paréntesis es la media de tres parcelas ($n=3$)

^g MTWC: Camas permanentes, labranza mínima, rotación trigo-algodón

^h CTCC: Camas convencionales, labranza convencional, monocultivo de algodón

Tabla 13. Parámetros de la diversidad alfa

Residuo aplicado	Tratamiento	Número de secuencias	Diversidad filogenética	Riqueza de especies (Chao1)	OTU's observadas
Control	CTCC	12442	21.95 (2.3) ^a	506 (115)	162 (18)
	MTCC	10308	22.86 (1.9)	553 (176)	170 (16)
	MTWC	10147	21.81 (2.2)	540 (153)	162 (17)
Rastrojo de maíz	CTCC	11189	18.13 (4.1)	413 (172)	137 (39)
	MTCC	12541	19.17 (3.7)	438 (98)	148 (33)
	MTWC	12754	18.21 (3.5)	404 (143)	138 (35)
Fibra detergente neutro	CTCC	10382	18.75 (3.1)	419 (135)	139 (31)
	MTCC	10061	20.26 (2.5)	464 (119)	147 (26)
	MTWC	11284	20.05 (2.4)	446 (139)	148 (26)
Urea	CTCC	11412	18.89 (4.4)	466 (178)	137 (45)
	MTCC	10965	20.67 (3.6)	557 (225)	151 (38)
	MTWC	10980	18.21 (3.5)	421 (143)	134 (46)

^a Valores entre paréntesis corresponden al error estándar de la media

Se encontraron un total de 24 *phyla* distintos (Figs. 20–22), entre los cuales, 15 representan a < 1% del total de las secuencias. En los suelos que no tuvieron adición de ningún residuo (Tabla 14), se determinó que la abundancia relativa del filo Bacteroidetes (3.4%), fue significativamente mayor ($n = 3$, $P < 0.01$), en el suelo que se realiza monocultivo y labranza mínima, suelo MTCC, en comparación con el suelo en el que se realiza rotación de cultivo, suelo MTWC con un 2.0%.

El filo Nitrospirae por el contrario, presenta un comportamiento opuesto, ya que determinó una diferencia significativa ($n = 3$, $P < 0.01$) en el suelo MTWC, con labranza mínima pero con rotación de cultivo con un 2.1%, en comparación con el suelo en el cual se lleva a cabo labranza mínima pero con monocultivo de algodón, suelo MTCC (1.2%).

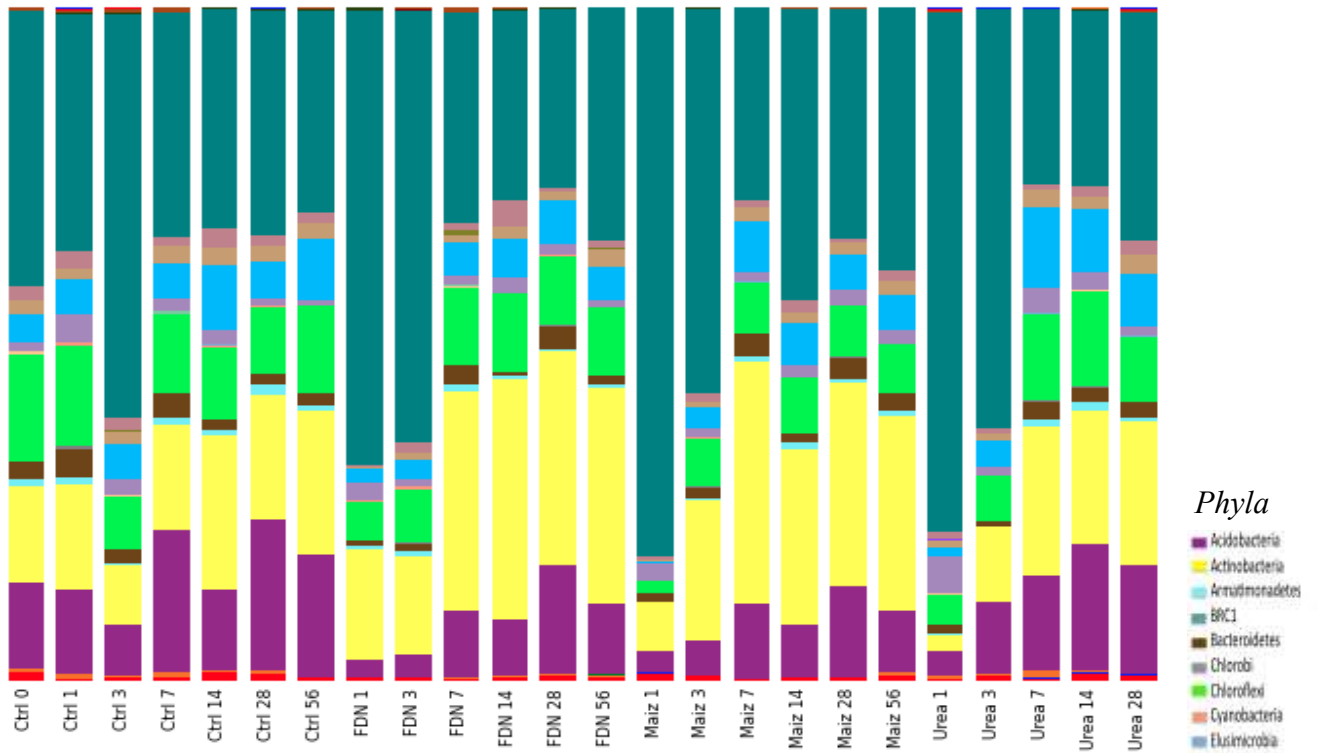


Fig. 20 Abundancia relativa de los *phyla* encontrados en los suelos de ACRI, Australia, correspondientes a CTCC, suelo sin adición (Ctrl), con residuo de fibra detergente neutro (FDN), rastrojo de maíz y urea.

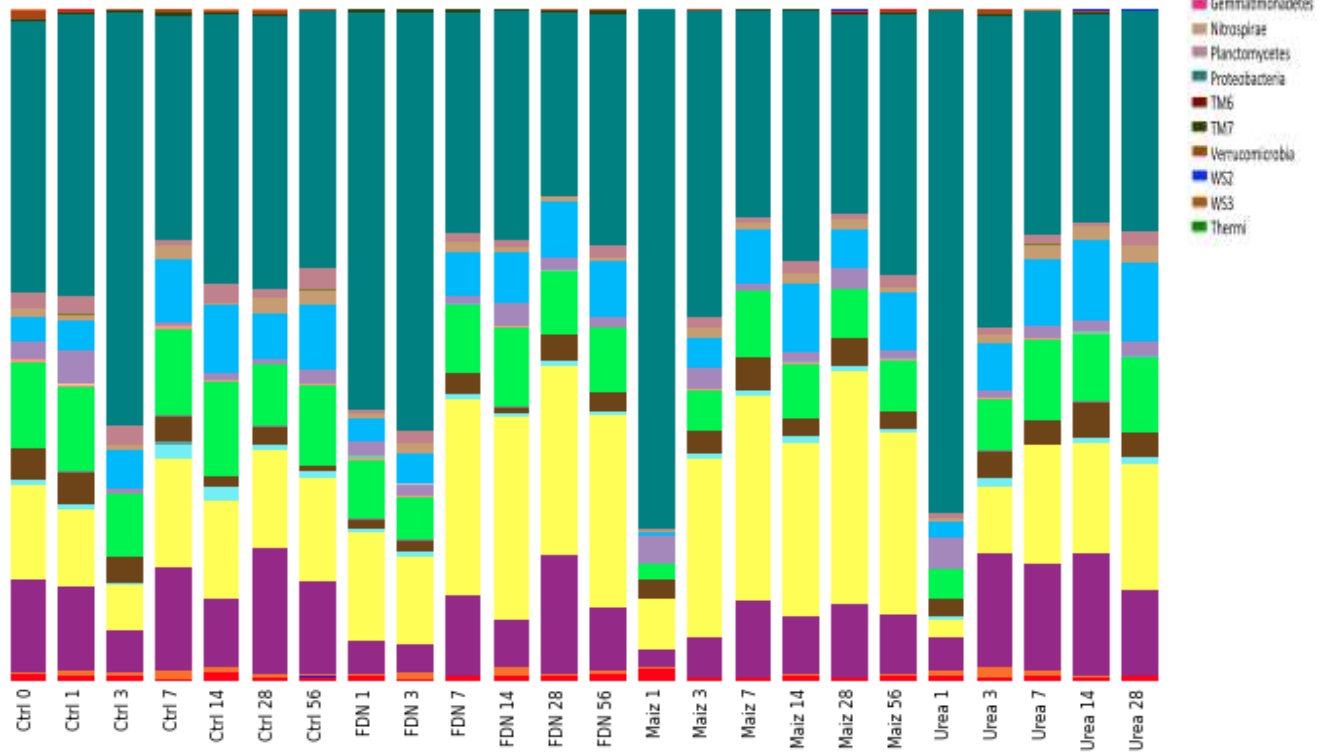


Fig. 21 Abundancia relativa de los *phyla* encontrados en los suelos de ACRI, Australia, correspondientes a MTCC, suelo sin adición (Ctrl), con residuo de fibra detergente neutro (FDN), rastrojo de maíz y urea.

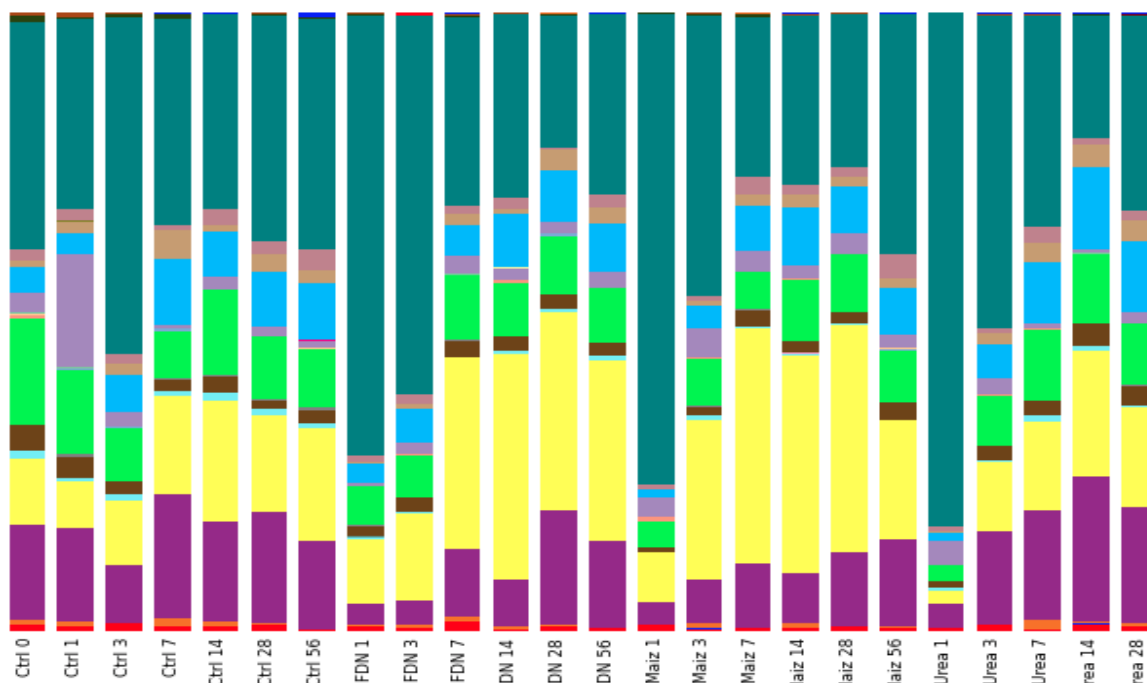


Fig. 22 Abundancia relativa de los *phyla* encontrados en los suelos de ACRI, Australia, correspondientes a MTWC, suelo sin adición (Ctrl), con residuo de fibra detergente neutro (FDN), rastrojo de maíz y urea.

Tabla 14. Efecto de las prácticas agrícolas (Práctica convencional (CTCC), Agricultura de conservación sin rotación (MTCC) y con rotación (MTWC) en la abundancia relativa de diferentes grupos bacterianos en suelo sin adición de residuos incubados aeróbicamente por 56 días

Filo	La abundancia relativa de los grupos bacterianos fue mayor en el tratamiento de agricultura convencional CTCC que en el tratamiento de agricultura de conservación MTWC	La abundancia relativa de los grupos bacterianos fue mayor en el tratamiento de agricultura convencional MTWC que en el tratamiento de agricultura de conservación CTCC
Acidobacteria	Acidobacteria 5*, Acidobacteria 6*, iii1_15*	Chloracidobacteria*, RB41*
Actinobacteria	Thermoleophilia**, Actinomycetales*, 0319_7L14*, Gaiellales**, C111*, Intrasporangiaceae*, Nocardiodaceae**, Gaiellaceae*, Streptomycetaceae*	
Chloroflexi	Gitt GS 136*, S085*	SBR1031*
Proteobacteria	Syntrophobacterales**, Rhizobiaceae*	
Filo	La abundancia relativa de los grupos bacterianos fue mayor en el tratamiento de agricultura convencional MTCC que en el tratamiento de agricultura de conservación MTWC	La abundancia relativa de los grupos bacterianos fue mayor en el tratamiento de agricultura convencional MTWC que en el tratamiento de agricultura de conservación MTCC
Bacteroidetes*	Cytophagales**, Cytophagaceae**, Cytophagia**	
Proteobacteria	Alphaproteobacteria*, Caulobacterales**, Rhodobacterales*, Sphingomonadales**, Burkholderiales*, Spirobacillales*, Caulobacteraceae**, Rhodobacteraceae*, Sphingomonadaceae**	
Nitrospirae*		Nitrospira*, Nitrospirales*, 0319_6A2*
* Significancia a $P < 0.01$, ** Significancia a $P < 0.001$		

Las prácticas de cultivo contrastantes, agricultura de conservación MTWC (rotación de cultivos, retención de residuos y camas permanentes sólo con reformatión de camas cuando es necesario, y agricultura convencional CTCC (monocultivo de algodón, incorporación de residuos mediante labranza convencional), tienen efecto sobre distintos grupos bacterianos a diferentes niveles.

De la misma forma, la práctica agrícola en la que se realiza labranza mínima, pero con la incorporación de residuos mediante la labranza y monocultivo de algodón (MTCC), en comparación con la agricultura de conservación, tienen efectos sobre distintos grupos bacterianos a distintos niveles.

Dentro de los grupos en los cuales existe un mayor efecto significativo se encuentran el orden de Gaiellales (Actinobacteria), con un 3.2% de abundancia relativa en la agricultura convencional en comparación de un 1.4% de abundancia relativa en la agricultura de conservación ($n = 3$, $P < 0.001$), mientras que el orden de Actinomycetales es observado en un 8% en la agricultura convencional en comparación con la agricultura de conservación en un 7.1% ($n = 3$, $P < 0.01$). De la misma manera pero con un 3.2% de abundancia relativa se encuentra la familia Rhizobiaceae en la agricultura convencional, y en la agricultura de conservación se obtiene una abundancia relativa del 2.1% ($n = 3$, $P < 0.01$).

Otra familia que tiene alta significancia es Nocardioideae con un 1.6% de abundancia relativa en el tratamiento CTCC en comparación de un 0.9% de abundancia relativa para MTWC ($n = 3$, $P < 0.001$).

La rotación de cultivos también tiene efectos en algunos grupos bacterianos a diferentes niveles al comparar la agricultura donde se utiliza labranza mínima pero incorporando residuos mediante labranza mínima (MTCC), y la agricultura de conservación (MTWC).

El filo Proteobacteria predomina en la práctica MTCC con diferentes órdenes como Caulobacterales, Sphingomonadales con una abundancia relativa del 1.7% y 1.4% en comparación de un 0.8% y 0.5% en la práctica de MTWC respectivamente ($n = 3$, $P < 0.001$), mientras que las familias Caulobacteraceae y Sphingomonadaceae presentan una significancia mayor con una abundancia relativa del 1.7% y del 1.0% en la práctica agrícola de MTCC en comparación con la práctica agrícola MTWC con abundancias relativas del 0.01% y 0.3% respectivamente ($n = 3$, $P < 0.001$).

El grupo de Bacteroidetes es otro filo bacteriano en el cual su significancia es mayor en la práctica MTCC con un 3.4% de abundancia relativa en comparación con MTWC, en la cual presenta una abundancia relativa del 2.0% ($n = 3$, $P < 0.01$). El orden Cytophagales y la familia Cytophagaceae tienen una significancia mayor en la agricultura MTCC con una abundancia relativa del 1.2% y 1.4% respectivamente, en comparación con una abundancia relativa del 0.5% y 0.8% respectivamente para la agricultura de conservación ($n = 3$, $P < 0.001$).

Pocos grupos bacterianos presentan una significancia mayor en la agricultura de conservación (MTWC) en comparación con la práctica agrícola con labranza mínima y monocultivo (MTCC). El filo en el cual se observa mayor grado de significancia es Nitrospirae con una abundancia relativa del 2.1% para MTWC y del 1.2% para MTCC ($n = 3$, $P > 0.001$).

Dentro de la clase Nitrospira con una abundancia relativa significativamente mayor del 5.3% para MTWC y del 3.1% para MTCC ($n = 3$, $P < 0.001$), el orden de Nitrospirales es significativamente mayor para MTWC con una abundancia relativa del 2.1% y de un 1.0% para MTCC ($n = 3$, $P < 0.001$), dentro de este mismo orden, la familia 03196A2 es significativamente mayor en MTWC con una abundancia relativa del 1.0% y del 0.4% para MTCC ($n = 3$, $P < 0.001$).

12.3. Aplicación de la materia orgánica

La aplicación de materia orgánica fue la misma que en el ensayo previamente descrito para los suelos de “El Batán”, Texcoco, Estado de México, México (Tabla 7). La emisión de CO₂ se ve incrementada de manera significativa (Tabla anexo1) en todos los suelos con la adición de rastrojo de maíz, con el mayor incremento entre los días 14 y 28. El tratamiento en el que se adiciona urea, tiene una emisión similar al tratamiento al cual no se adicionó ningún residuo (Figuras anexo 2-4).

La aplicación de materia orgánica en el suelo cultivado bajo labranza mínima, incorporación de residuos durante la labranza y monocultivo de algodón (MTCC), tiene un efecto menor en la abundancia relativa de los grupos bacterianos en comparación con la agricultura de conservación (MTWC) y agricultura convencional (CTCC) (Tabla 15).

En el suelo MTWC, al aplicar el residuo de rastrojo de maíz, la abundancia relativa del filo Actinobacteria se incrementa significativamente con un 27.1% en comparación con la adición de urea y del control con un 13.1% y 13.2% respectivamente ($n = 3, P < 0.0001$). En el suelo con labranza mínima y monocultivo de algodón (MTCC), también se incrementa significativamente la abundancia relativa de Actinobacteria cuando se adiciona residuo de maíz en comparación con el suelo sin adición, con una abundancia relativa del 24.3% y 14.6% respectivamente ($n = 3, P < 0.001$).

En el caso del filo Chloroflexi, su abundancia relativa se ve reducida significativamente en todos los suelos cuando se aplica rastrojo de maíz en comparación con el suelo control, con abundancias relativas de CTCC = 12.5%, MTWC = 12.2% y 11.5% para MTCC, mientras que en el suelo sin adición su abundancia relativa correspondió a CTCC = 6.4%, MTWC = 7.1% y 6.3% ($P < 0.0001$).

Un decremento en la abundancia relativa del filo Acidobacteria ocurre de manera significativa en los suelos CTCC cuando se aplica rastrojo de maíz, con abundancia relativa de 14.8% para este suelo sin adición y de 8.3% para el suelo con adición ($n = 3, P < 0.01$),

mientras que en el suelo MTWC, el decremento va de 15.1% a 9.3% cuando se adiciona rastrojo de maíz ($n = 3, P < 0.01$).

El orden de los Actinomycetales presenta incrementos significativos en la abundancia relativa en suelo MTWC y CTCC cuando se le aplica rastrojo de maíz y FDN. La abundancia relativa de Actinomycetales va de 20.5% con la adición de rastrojo de maíz a 5.8% en suelo MTWC sin adición ($n = 3, P < 0.001$), mientras que en comparación con la adición de urea también es posible determinar un incremento significativo de este orden, con una abundancia relativa de 20.5% en suelo con adición de rastrojo y de 4.9% cuando se adiciona urea ($n = 3, P > 0.001$).

En el suelo que corresponde a agricultura convencional (CTCC), la abundancia relativa va de 18.6% a 7.7% cuando se adiciona rastrojo de maíz en comparación con el suelo sin adición respectivamente ($n = 3, P < 0.001$), así como una abundancia relativa de 18.6% para suelo con rastrojo de maíz y de 5.6% cuando se adiciona urea ($n = 3, P < 0.001$).

Cuando se adiciona fibra detergente neutro, la abundancia relativa de Actinomycetales se incrementa significativamente con respecto al tratamiento al cual no se adiciona residuo, así como al que se adiciona urea, con una abundancia relativa de 18.4% cuando se adiciona fibra y de 5.8% en el suelo sin adición que corresponde a MTWC respectivamente ($n = 3, P < 0.001$).

En el suelo MTCC (Tabla 16), la abundancia relativa de Actinomycetales va de 15.5% cuando se adiciona FDN en comparación con el control (7.0%) y de 7.8% cuando se adiciona urea ($n = 3, P < 0.001$). En el suelo con agricultura convencional (CTCC), la abundancia relativa se incrementa significativamente con la adición de FDN, con una abundancia relativa de 18.4%, con respecto al control (7.7%), así como una abundancia relativa de 5.6% con respecto a la adición de urea ($n = 3, P < 0.001$).

Dentro del filo Proteobacteria, el orden Enterobacteriales es significativamente mayor en el suelo MTWC cuando se adiciona rastrojo de maíz, con una abundancia relativa de 2.0% en comparación con la abundancia relativa de 0.3% cuando se adiciona urea y de 0.2% cuando se adiciona fibra ($n = 3, P < 0.001$).

El grupo de Burkholderiales contrario a lo que sucede con Enterobacteriales, disminuye significativamente con la adición de FDN en el suelo MTCC (Tabla 15) con una abundancia relativa de 7.0% en el suelo sin adición y de 4.1% en el suelo con la adición de fibra detergente neutro ($n = 3, P < 0.01$). El grupo de Xanthomonadales tiene un incremento significativo en su abundancia relativa cuando se adiciona rastrojo de maíz con respecto a la adición de urea en el suelo con agricultura convencional (CTCC) con una abundancia relativa de 6.4% y de 2.4% respectivamente ($n = 3, P < 0.01$).

Tabla 15. Efecto de la aplicación de residuo de maíz, FDN y urea en la abundancia relativa de los grupos bacterianos en suelos incubados aeróbicamente por 56 días. Los grupos bacterianos mostrados fueron significativamente afectados por la aplicación de residuos en los suelos con distintas prácticas agrícolas en comparación con el suelo sin adición

Residuo	Agricultura convencional (CTCC)	Agricultura de conservación (MTWC)
M > C	Actinobacteria***, Actinomycetales***, Micrococcaceae**, Promicromonosporaceae**, Streptosporangiaceae**, Moraxellaceae**	Actinobacteria***, Actinomycetales***, Streptophyta**, Enterobacteriales***, Micrococcaceae*
F > C	Actinobacteria*, Actinobacteria_c_Actinobacteria***, Actinomycetales***	Actinobacteria**, Actinobacteria_c_Actinobacteria***, Actinomycetales***, Nocardiaceae***
A > C	NB1j**	
M > F	Xanthomonadales***, Streptosporangiaceae*	Streptophyta*, Streptomycetaceae***
M > A	Actinobacteria_c_Actinobacteria***, Actinomycetales***, Xanthomonadales**, Micrococcaceae***, Streptosporangiaceae**	Actinobacteria***, Actinobacteria_c_Actinobacteria***, Actinomycetales***, Streptophyta*, Enterobacteriales***
M > A = C		Streptomycetaceae***
M = F > A		Nocardioidaceae**
M = F > A = C	Streptomycetaceae**	
M = F > C		Nocardioidaceae**
M = F > C = A	Streptomycetaceae***	
F > A	Actinobacteria**, Actinomycetales***,	Actinobacteria**, Nocardiaceae***,

Continúa en la siguiente página

	Actinobacteria_c_Actinobacteria***,	Actinomycetales***, Actinobacteria_c_Actinobacteria***
F = M > A = C	Streptomycetaceae*	
F = M > A	Nocardioidaceae***	
F = M > A	Nocardiaceae*	
C > M	Gaiellaceae***, Syntrophobacterales**, envOPS12**, Gaiellales***, DS_18*, Deltaproteobacteria**, Anaerolineae***, Thermoleophilia***, iii1_8**, Chloroflexi***, Acidobacteria*	Anaerolineae*, Chloracidobacteria*, Chloroflexi***, Acidobacteria*
C > F	Acidobacteria_c_iii1_8*, DS_18*,	Chloroflexi**, Deltaproteobacteria*, Anaerolineae*, Chloracidobacteria*,
C > A		Chloroflexi*, envOPS12*,
A > M	NB1 j*, Thermoleophilia**	
A > F		Enttheonellales*, CPlA 3*
* Significancia a $P < 0.01$, ** Significancia a $P < 0.001$, *** Significancia a $P < 0.0001$		

Tabla 16. Efecto de la aplicación de residuo de maíz, FDN y urea en la abundancia relativa de los grupos bacterianos en suelo MTCC incubado aeróbicamente por 56 días. Los grupos bacterianos mostrados fueron significativamente afectados por la aplicación de residuos en los suelos con distintas prácticas agrícolas en comparación con el suelo sin adición

Residuo	Agricultura con labranza mínima incorporando residuos en la labranza y monocultivo de algodón (MTCC)	
A > C	Firmicutes_c_Clostridia_o_Clostridiales_f_Veillonellaceae**	
A > M	Firmicutes_c_Clostridia_o_Clostridiales_f_Veillonellaceae**	
C > A	Proteobacteria_c_Betaproteobacteria**, Proteobacteria_c_Betaproteobacteria_o_SC_I_84*	
C > F	Acidobacteria_c_iii1_8**, Proteobacteria_c_Betaproteobacteria***, Acidobacteria_c_iii1_8_o_DS_18*, Chloroflexi_c_Chloroflexi_o_AKIW781*, Proteobacteria_c_Betaproteobacteria_o*, Proteobacteria_c_Betaproteobacteria_o_Burkholderiales**	
C > M	Chloroflexi**, Chloroflexi_c_Anaerolineae*, Proteobacteria_c_Betaproteobacteria*, Chloroflexi_c_Anaerolineae_o_envOPS12*	
F > A	Actinobacteria_c_Actinobacteria**, Actinobacteria_c_Actinobacteria_o_Actinomycetales**, Actinobacteria_c_Actinobacteria_o_Actinomycetales_f_Mycobacteriaceae***	

Continúa en la siguiente página

F > C	Actinobacteria*, Actinobacteria_c_Actinobacteria**, Actinobacteria_c_Actinobacteria_o_Actinomycetales**, Actinobacteria_c_Actinobacteria_o_Actinomycetales_f_Mycobacteriaceae*, Actinobacteria_c_Actinobacteria_o_Actinomycetales_f_Streptomycetaceae*
F > M	Actinobacteria_c_Acidimicrobiia*, Actinobacteria_c_Acidimicrobiia_o_Acidimicrobiales*, Actinobacteria_c_Actinobacteria_o_Actinomycetales***, Actinobacteria_c_Actinobacteria_o_Actinomycetales_f_Mycobacteriaceae**
M > A	Actinobacteria_c_Actinobacteria***, Actinobacteria_c_Actinobacteria_o_Actinomycetales***, Actinobacteria_c_Actinobacteria_o_Actinomycetales_f_Promicromonosporaceae*
M > C	Actinobacteria*, Actinobacteria_c_Actinobacteria***, Actinobacteria_c_Actinobacteria_o_Actinomycetales_f_Nocardioideaceae*, Actinobacteria_c_Actinobacteria_o_Actinomycetales_f_Promicromonosporaceae*
* Significancia a $P < 0.01$, ** Significancia a $P < 0.001$, *** Significancia a $P < 0.0001$	

12.4. Análisis de componentes principales

Se realizó un análisis de componentes principales PCA, tomando en cuenta los diferentes *phyla* bacterianos encontrados en los suelos con distintas prácticas en campo y la aplicación de residuos, rastrojo de maíz, FDN, urea y suelo sin adición (Fig. 23–26).

Al observar el PCA de los suelos en los cuales no se adiciona ningún tipo de residuos (Fig. 23), en los suelos control CTCC, MTCC y MTWC, es posible observar que en los primeros días del experimento (0, 1 y 3), el filo Proteobacteria, es el que se encuentra separado de los demás tratamientos con un PC1 positivo al día 3, mientras que los demás *phyla* a excepción de Firmicutes (PC2 positivo), Actinobacteria y Gemmatimonadetes con un PC2 negativo, se encuentran concentrados muy cerca uno del otro.

Al observar los PCA's de los suelos agrícolas cuando se adiciona rastrojo de maíz (Fig. 24), así como FDN (Fig. 25) y urea (Fig. 26), los *phyla* bacterianos se agrupan de manera muy semejante al suelo control, pero con la peculiaridad de que Proteobacteria se agrupa con un PC1 negativo para urea y FDN, y un PC1 positivo con rastrojo de maíz al

igual que el suelo control. Sin embargo, el filo bacteriano que no cambia su comportamiento respecto al control es Actinobacteria, con un PC2 negativo cuando se adiciona alguno de los tres residuos. Otro filo que se separa al adicionar urea, rastrojo de maíz y FDN con un PC2 positivo, es Acidobacteria, que en el suelo control, se encuentra concentrado en el centro con la mayoría de los *phyla*, mientras que el filo de Firmicutes se concentra con los demás *phyla*.

Entre los días 7 y 14 del experimento, en los tratamientos con rastrojo de maíz y FDN, la mayoría de las observaciones de los distintos suelos se encuentra de manera dispersa en el PCA, a los días 28 y 56, la mayoría de las observaciones se separan hacia el filo Acidobacteria, principalmente en los suelos con rastrojo de maíz. Mientras que en el tratamiento con urea, la separación de Acidobacteria es aproximadamente al día 14 y 28 del experimento.

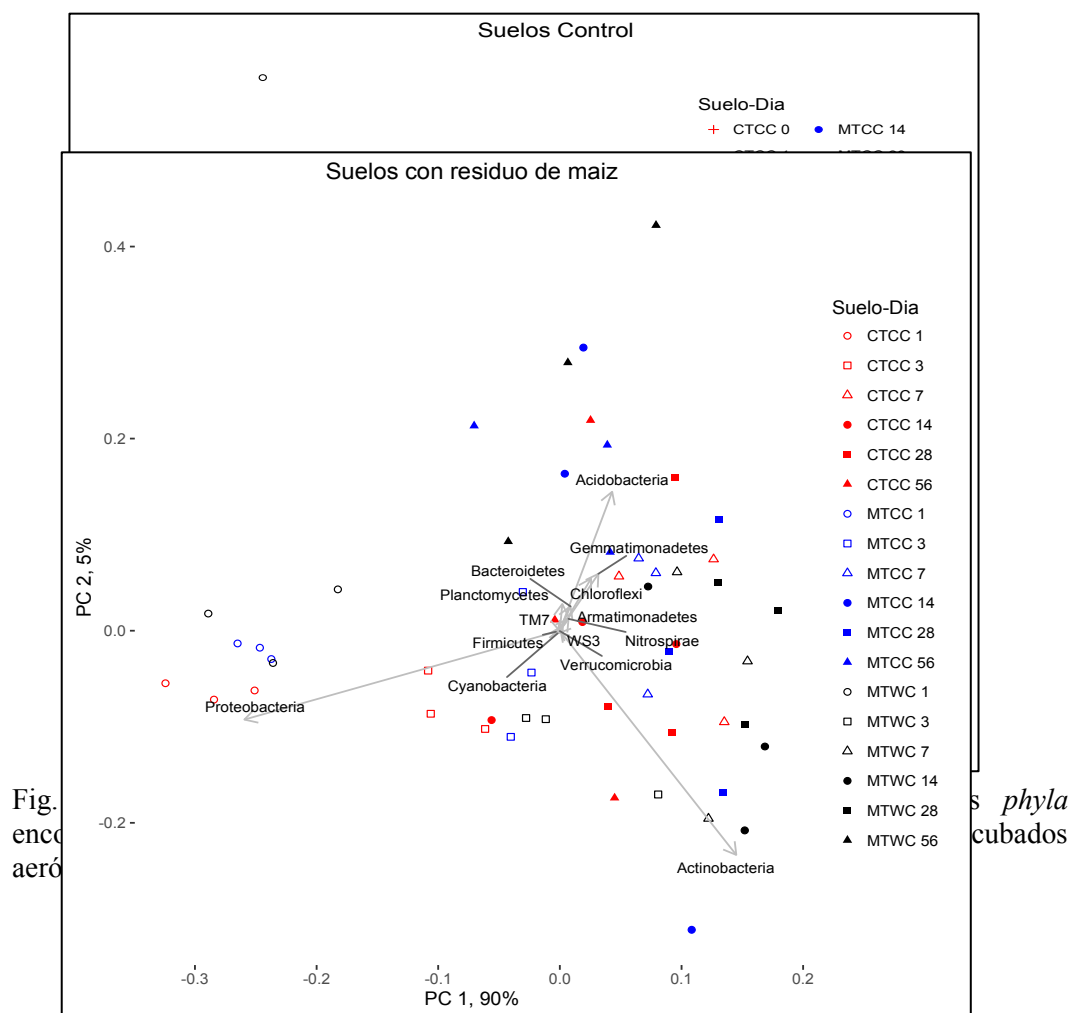


Fig. 24 Análisis de componentes principales considerando los diferentes *phyla* encontrados en suelos CTCC, MTCC y MTWC adicionado con residuo de maíz, incubados aerómicamente por 56 días.

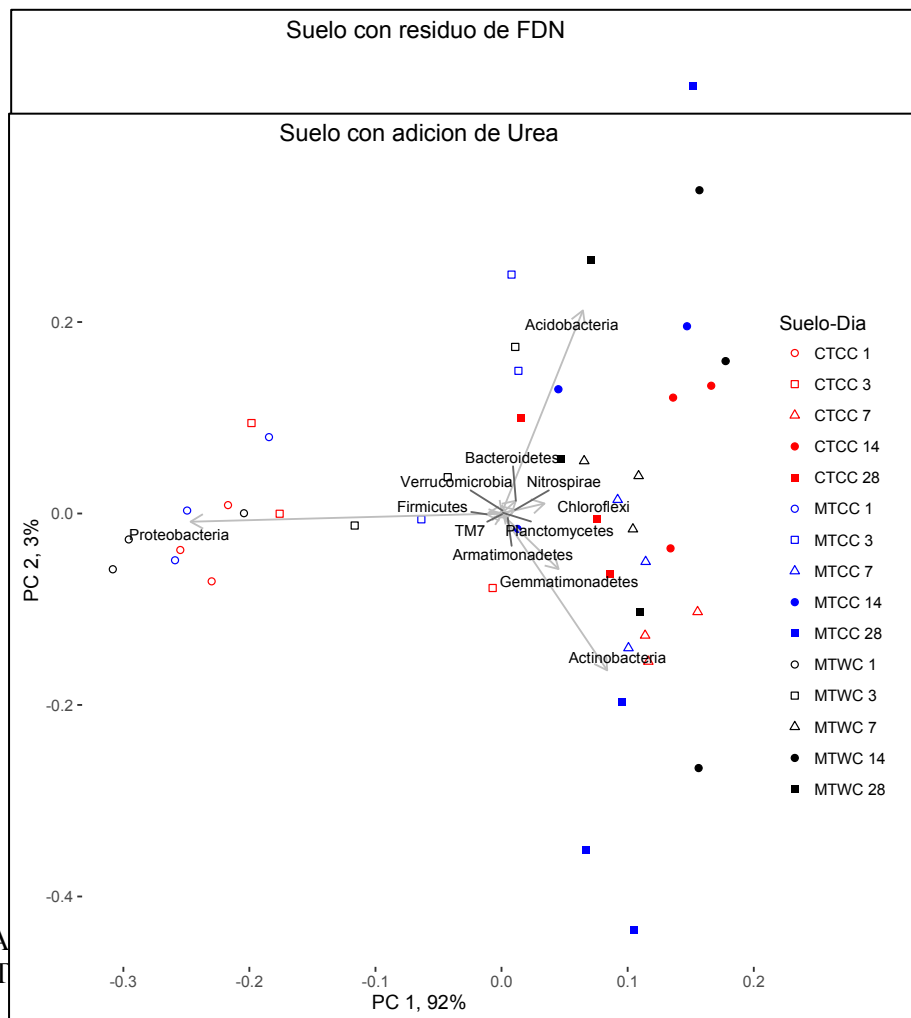


Fig. 25 A
suelos CT
56 días.

entrados en
mente por

Fig. 26 Análisis de componentes principales considerando los diferentes *phyla* encontrados en suelos CTCC, MTCC y MTWC adicionados con urea, incubados aeróbicamente por 56 días.

También se realizó un PCA a nivel de clase, orden y familia, comparando el suelo de práctica convencional (CTCC) con práctica de conservación con y sin rotación de residuos (MTWC y MTCC, respectivamente) sin la adición de residuos. A nivel de Clase (Fig. anexo 5), se observan Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria y Betaproteobacteria, todos estos pertenecientes al filo Proteobacteria, se separan del resto de las Clases con PC1 positivos, y PC2 positivo para Gammaproteobacteria y Alphaproteobacteria, mientras que el PC2 es negativo para Betaproteobacteria.

La Clase de Bacilli, perteneciente al filo Firmicutes también se separa del resto de los órdenes con un PC2 y PC1 positivos.

A nivel de orden (Fig. Anexo 6), se mantienen la separación de los mismos grupos, Bacillales, perteneciente a la clase Bacilli con PC1 positivo y Oceanospirales, perteneciente a Gammaproteobacteria con PC1 negativo, ambos con un PC2 positivo. El orden de Rubrobacterales también se separa de los demás con un PC1 y PC2 positivo.

A nivel de familia (Fig. Anexo 7), Halomonadaceae (PC1 negativo, PC2 positivo), Rubrobacteraceae (PC1 y PC2 positivos), y pertenecientes al orden Bacillales, las familias Bacillaceae y Planococaceae con PC1 positivo y PC2 negativos, son los grupos que se separan del resto de las familias al analizar el PCA de este nivel.

Cuando se realiza el análisis PCA a estos mismos niveles, pero tomando en cuenta la adición de residuos, se observa que, de manera similar al PCA realizado a nivel de filo, la separación de los grupos bacterianos está dado principalmente por el tiempo.

El análisis PERMANOVA, indica que los distintos tratamientos en suelo no tienen efectos significativos sobre la estructura de la comunidad bacteriana, la aplicación de materia orgánica tiene poco efecto sobre la comunidad bacteriana, mientras que el tiempo de incubación es el factor que modifica significativamente la estructura de la comunidad bacteriana (Tabla 17).

Tabla 17. Análisis PERMANOVA para determinar las diferencias entre prácticas agrícolas, adición de materia orgánica y tiempo de incubación utilizando distancias UniFrac

Comparación	Tratamiento	Valor <i>F</i>	Valor <i>P</i>
CTCC vs MTCC vs MTWC		3.06	0.059
Aplicación de material orgánica	CTCC	2.60	0.026
	MTCC	3.44	0.014
	MTWC	2.94	0.019
Tiempo de incubación	CTCC	4.77	0.001
	MTCC	4.07	0.001
	MTWC	4.42	0.001

CTCC: Labranza convencional, sin rotación e incorporación de rastrojo mediante labranza; MTCC, Labranza mínima, sin rotación e incorporación de rastrojo mediante labranza; MTWC, Labranza mínima, rotación trigo-algodón y retención de residuos en la superficie.

12.5. Aproximación de la funcionalidad metabólica en los suelos CTCC, MTCC y MTWC

De manera adicional a este ensayo, se realizó una exploración *in silico*, mediante el software PICRUST, el cual nos permitió observar algunas de las principales actividades

metabólicas que pudieran estar involucradas en los diferentes suelos con las distintas prácticas de manejo (Figs. 27–29).

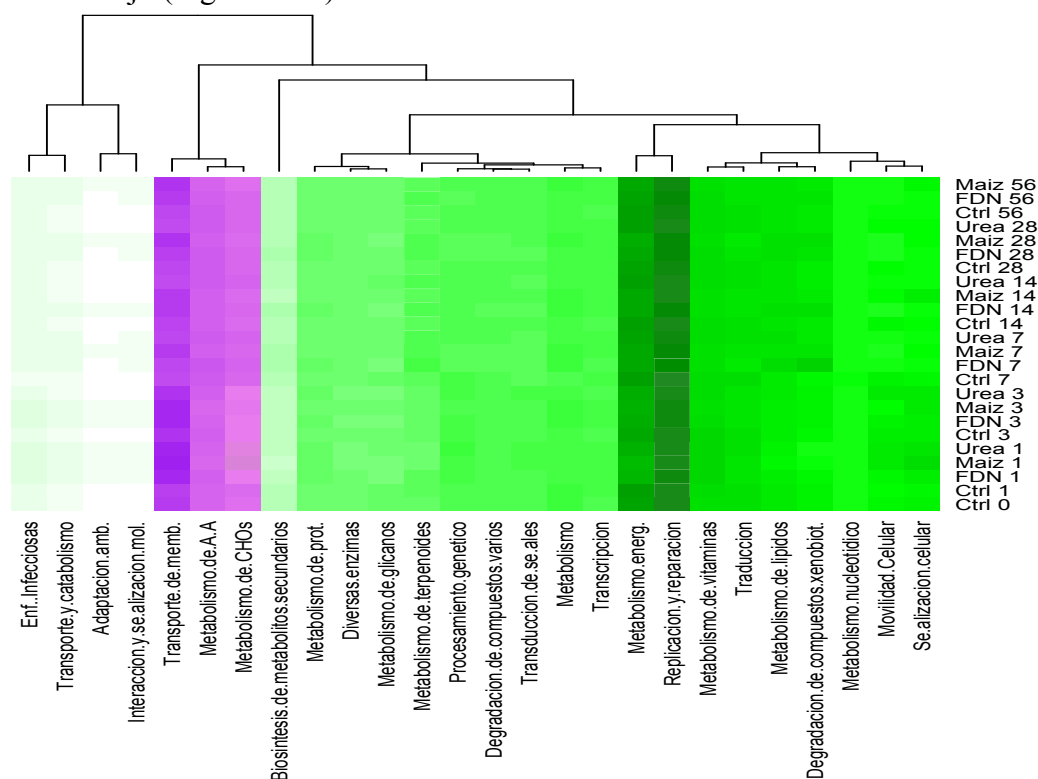
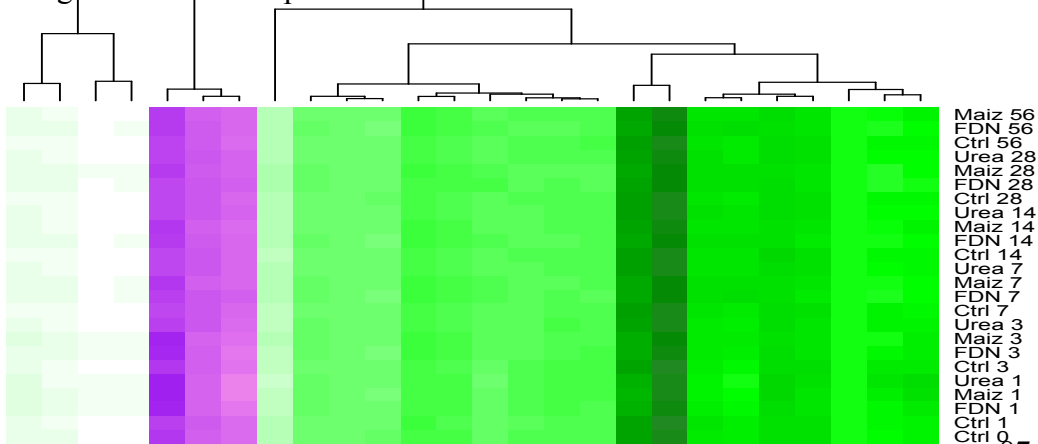


Fig. 27 Principales actividades metabólicas posiblemente involucradas en el suelo CTCC.

Al realizar las predicciones metabólicas que nos permite el software PICRUSt, en comparación con la base de datos KEGG, es posible encontrar en los tres suelos utilizados para este ensayo, actividades metabólicas asociadas principalmente al transporte membranar bacteriano, en una misma proporción que el metabolismo de aminoácidos así como de carbohidratos. En menor proporción, se encuentran rutas metabólicas asociadas al a replicación y reparación de DNA y/o RNA, así como el metabolismo energético en general. Otra de las rutas metabólicas predichas mediante este software está relacionada con la biodegradación de compuestos xenobióticos.



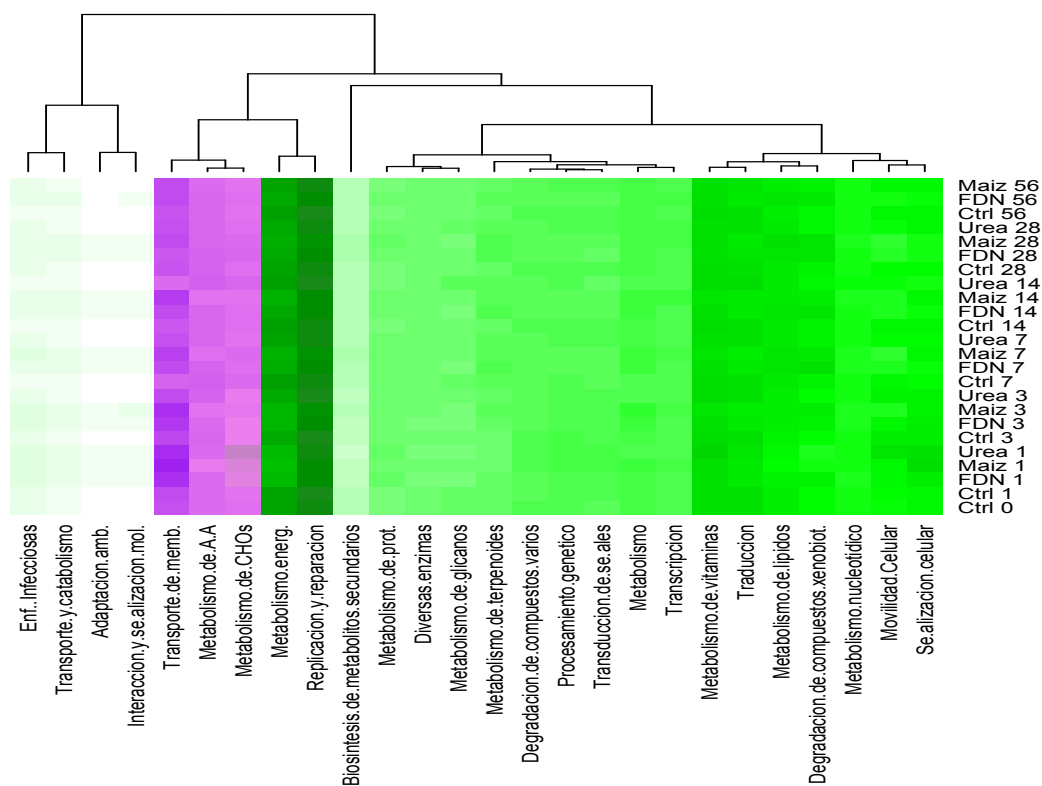


Fig. 29 Principales actividades metabólicas posiblemente involucradas en suelo MTWC

13. Discusión

13.1. Características del suelo

La cantidad de carbono orgánico en el suelo donde se retienen los residuos en la superficie y se realiza rotación trigo-algodón, suelo MTWC, presenta una cantidad de

carbono orgánico significativamente mayor a los suelos en los que a pesar de que los residuos se incorporan en el suelo cuando se realiza la labranza, suelos CTCC y MTCC. De la misma manera, la capacidad de retención de agua está ligado a la cantidad de carbono orgánico que está contenida en un suelo.

Se ha reportado que la retención de residuos en la superficie de los suelos agrícolas, permite que se incremente el contenido de carbono orgánico en el suelo, en comparación con suelos en los que se realiza la incorporación de los residuos mediante la labranza (Panettieri et al., 2015). Por otro lado, al realizar labranza de manera continua, produce el rompimiento de los agregados del suelo, lo que puede exponer la materia orgánica que haya sido incorporada, haciéndola disponible para los microorganismos y que su mineralización sea más rápida (Chivenge et al., 2007).

13.2. Mineralización de la materia orgánica

La emisión de CO₂ cuando se aplica residuo de rastrojo de maíz es mayor en la incubación aerobia por 56 días en los suelos CTCC, MTCC y MTWC, en comparación con los suelos en los que se adiciona FDN, urea y con el suelo control. A su vez, los suelos con adición de FDN tienen una emisión mayor en comparación con los suelos sin adición y con adición de urea. La emisión de CO₂ de los suelos con adición de urea es similar a la determinada en los suelos sin adición, ya que una menor proporción de bacterias pueden hacer uso directo de la urea para utilizarla en su metabolismo, y la materia orgánica disponible estará dada por la contenida en el suelo, similar a la encontrada en el suelo control. Al analizar los suelos donde se adicionó urea, no se observó la presencia de grupos que se favorecieran fuertemente por esta adición o que tuvieran una relación estrecha en los ciclos del nitrógeno.

La tasa de mineralización de la materia orgánica depende de la composición de esta y del contenido de C y N (Parnas, 1975; de la Cruz-Barron et al., 2016). La materia orgánica aplicada en este ensayo es de fácil descomposición, ya que está constituida por residuos de maíz de plantas jóvenes, en el caso del rastrojo de maíz, constituido por carbohidratos de

cadenas cortas y proteínas, además de (hemi) celulosa y lignina, las cuales pueden ser mineralizadas más rápido que la FDN, que está constituida principalmente por (hemi) celulosa y lignina en menor proporción (Benbi y Khosa, 2014).

13.3. Abundancia relativa de grupos bacterianos

Los suelos agrícolas presentan una gran cantidad de perturbaciones, pudiendo presentar variabilidad en el contenido de materia orgánica, contenido de nitrógeno, contenido de agua etc. En general, el comportamiento de ciertos grupos bacterianos con respecto a la teoría puede llegar en ciertos puntos a ser ambiguo, ya que dentro de los diferentes *phyla*, podemos encontrar una gran cantidad de bacterias que pueden realizar las funciones muy diversas.

En este experimento, no fue posible determinar grupos específicos para los distintos tipos de agricultura, ya que estos fueron afectados principalmente por la adición de los diferentes residuos, o por el efecto del tiempo en la incubación aerobia.

La abundancia relativa de los *phyla* en suelos sin adición de residuos estuvo dominada principalmente por Actinobacteria en el suelo de agricultura convencional (CTCC). Este tipo de práctica y por la manera en que son incorporados los residuos en el suelo, favorecen a los microorganismos colonizadores, aquellos que se encuentran en condiciones de alta disponibilidad de nutrientes.

Algunos filotipos relacionados a Actinobacteria se encontraron en proporciones significativas en el suelo de agricultura convencional, en comparación al suelo de agricultura de conservación, entre ellos, Streptomycetaceae, familia que se encuentra en la mayoría de los suelos, y que tienen importancia biológica por la posibilidad de extraer metabolitos secundarios, principalmente con actividad antibiótica (Labeda et al., 2012), así Nocardioideae, familia que puede encontrarse en la mayoría de los suelos, ya que tiene la capacidad de degradar una amplia gama de compuestos tanto de fácil como de difícil degradación (Jung-Hoon y Yong-Ha, 2006).

En el filo Actinobacteria, se han descrito diversas especies con capacidades metabólicas para degradar compuestos celulósicos así como lignina (Suela-Silva et al., 2013), residuos que se encuentran fácilmente en los suelos agrícolas. Ya que en este tipo de suelos, además de realizar labranza convencional, se incorporan los residuos agrícolas, se facilita en gran manera el contacto de los microorganismos con la materia orgánica, y por lo tanto su mineralización, razón por la cual, a pesar de que se incorpore de manera rutinaria el rastrojo agrícola, el contenido de carbono sea menor si se compara con el suelo con agricultura de conservación (MTWC).

Ya que las prácticas agrícolas pueden modificar las características fisicoquímicas del suelo, en este ensayo fue posible determinar que, en la agricultura de conservación, el contenido de carbono en suelo, es significativamente mayor (9.3 g kg^{-1}) que en el tratamiento de agricultura convencional (CTCC) (6.7 g kg^{-1}), y de igual manera se vio reflejado en la capacidad de retención de agua, con 530 g kg^{-1} para el suelo MTWC, y de 430 g kg^{-1} para el suelo CTCC. Estos cambios en las características fisicoquímicas, son suficientemente importantes, para modificar la abundancia relativa de diversos grupos microbianos a diferentes niveles taxonómicos.

Si bien, en este ensayo no se observa un gran número de grupos taxonómicos afectados por las prácticas agrícolas, la adición de residuos, así como el tiempo, son los factores que definen la estructura bacteriana en este tipo de suelos.

Por un lado, la agricultura convencional, la cual incorpora los residuos en el suelo, permite que exista una gran cantidad de materia orgánica fácilmente disponible para los microorganismos del suelo, sin embargo, esto propicia una rápida mineralización. En la agricultura de conservación (MTWC), la incorporación de materia orgánica es de manera paulatina, por lo que de manera muy probable, puede convertirse en ácidos húmicos, que pueden ser más complejos para poder ser degradados por los microorganismos.

Cuando se adicionó rastrojo de maíz, se afectó positivamente a la abundancia relativa del orden Actynomicetales en los tres suelos utilizados para este ensayo, lo que confirma que, filotipos pertenecientes a Actinobacterias se ven beneficiados por ambientes ricos en nutrientes (Eichorst y Kuske, 2012).

Otro filo que se afecta de manera positiva por la adición de rastrojo de maíz, es Proteobacteria, sin embargo, los filotipos asociados, son menor en número si se compara con Actinobacteria. El filo Proteobacteria ha sido considerado muy versátil en cuanto a actividades metabólicas, ya que puede responder de manera significativa cuando se adicional alguna fuente de carbono (Fierer et al., 2007).

El grupo de Enterobacteriales, perteneciente a Gammaproteobacteria, es significativamente mayor cuando se adiciona rastrojo de maíz en el suelo de agricultura de conservación, mientras que Burkholderiales, perteneciente a Betaproteobacteria, se ve afectado significativamente cuando se adiciona fibra detergente neutro. De ahí que existan reportes en la gran variación que puede presentar el filo Proteobacteria.

Por otro lado, el grupo Deltaproteobacteria, tiene un aumento significativo en su abundancia relativa con la adición de urea en el suelo con práctica convencional, y es afectado negativamente cuando se adiciona rastrojo de maíz, confirmando que no se ve favorecido por la adición de compuestos de fácil asimilación como el rastrojo de maíz (de Gannes et al., 2013). En este sentido, la adición de urea no presenta un efecto significativo en algún grupo bacteriano, salvo el descrito para Deltaproteobacteria.

La adición de FDN, tiene efecto similar al que se observa cuando se adiciona rastrojo de maíz, el número de grupos bacterianos es menor, pero sigue el mismo patrón, afectando significativamente y de manera positiva al filo Actinobacteria principalmente, pero en este caso, el efecto es más evidente en suelo con agricultura convencional, confirmando que este filo y los grupos asociados a este, se ven favorecidos por ambientes ricos en nutrientes.

13.4. Análisis de Componentes Principales a nivel de filo en suelos sin adición de residuos

El análisis PCA no separa a todos los grupos bacterianos a nivel de filo, de igual manera que el análisis GLM y el análisis PERMANOVA, los distintos tratamientos agrícolas tienen poco efecto sobre las comunidades bacterianas. El mayor efecto se observa cuando se adiciona algún residuo así como por efecto del tiempo de incubación.

A partir del tercer día de incubación, el PCA a nivel de filo el grupo Proteobacteria se separa de los demás. Este patrón se conserva al realizar PCA a nivel de Clase, Orden y Familia. La clase Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria y Betaproteobacteria se separan de las demás clases a este nivel. Hay que tomar en cuenta que este filo (Proteobacteria), siempre se encuentra dentro de los más abundantes en suelo (Ros et al., 2014), y se le ha observado responder de manera positiva cuando se adiciona una fuente de carbono de fácil asimilación (Fierer et al., 2007). Dentro de este mismo contexto, el filo de Firmicutes otro filo que presenta alta abundancia en suelos (Ros et al., 2014), se separa de los demás filos.

Cuando se observa el PCA a nivel de Orden, Bacillales (perteneciente al filo Firmicutes y Clase Bacilli), es uno de los pocos grupos que se separa del resto de órdenes. De manera similar, el Orden Rubrobacterales es otro grupo que se separa de los demás. Este orden ha sido reportado en diferentes ambientes, incluyendo suelos (Jurado et al., 2012), el encontrar este tipo de bacterias es de gran importancia en diversos suelos, ya que se le ha asociado a la producción de cierto tipo de antibióticos, y se ha reportado su presencia en suelos con labranza convencional (Schlatter et al., 2009; Souza et al., 2013).

El Orden de Oceanospirales es otro de los grupos que se separa en el PCA a este nivel filogenético. Este grupo bacteriano ha sido reportado en suelos contaminados con hidrocarburos, ya que tiene el potencial de degradar compuestos xenobióticos (Li et al., 2015). Otros reportes indican que su presencia en suelos, puede tener un carácter protector en la rizósfera de maíz, y funcionar como un microorganismo protector de las plantas

(Prasanna et al., 2016). Este grupo bacteriano se separa de los demás en los tres tipos de suelos analizados mediante componentes principales, por lo que es importante reportar este hallazgo en estos suelos agrícolas.

Finalmente, a nivel de familia, se mantiene el patrón con relación a los grupos bacterianos a nivel de Clase y Orden, ya que Hallomonadaceae, junto con Rubrobacteraceae, Bacillaceae y Planococcaceae, son los grupos que se separan de manera clara de los demás al observar el PCA a nivel de familia.

La familia Planococcaceae ha sido reportada principalmente en suelos con labranza mínima o suelos agrícolas sin labranza (Caesar-TonThat et al., 2010), además se ha reportado que esta Familia se le ha descrito como degradadora de compuestos recalcitrantes en distintos ambientes, por lo que su presencia en este tipo de suelos puede ayudar a la mineralización de nutrientes con cadenas largas de carbono (Caliz et al., 2011).

13.5. Análisis de Componentes Principales a nivel de filo en suelos con adición de residuos

Cuando se observa el análisis de componentes principales a nivel de filo, con la adición de rastrojo de maíz, FDN y urea en los suelos CTCC, MTCC y MTWC, es posible determinar que en los tres suelos, existen pocos grupos que se ven afectados directamente por las distintas prácticas, es decir, por la labranza, por la rotación o por la incorporación o no de los residuos agrícolas.

De manera general, los *phyla* Proteobacteria, Acidobacteria y Actinobacteria, son los principales grupos que logran separarse. Es importante señalar que en los tres suelos se separan casi de la misma forma. Otro grupo que se separa pero de manera menos evidente que los tres anteriormente descritos, es el filo Firmicutes.

La separación del filo Proteobacteria se realiza en los primeros días de la incubación aerobia, de manera similar en los tres suelos analizados. Seguramente por la diversa

actividad funcional que puede encontrarse en este filo bacteriano. Acidobacteria se separa preferentemente en los últimos días de la incubación. Previamente se ha descrito que este grupo bacteriano se ve favorecido en ambientes donde la cantidad de nutrientes es escasa. Mientras que el grupo Actinobacteria se ve favorecido en ambientes ricos de materia orgánica, y su separación en el PCA se observa en los días intermedios de la incubación, aunque no es una separación franca.

13.6. Exploración *in silico* mediante PICRUST

La exploración bioinformática continúa ganando terreno en la mayoría de las ciencias, la ecología microbiana no es la excepción. Se realizó la predicción de rutas metabólicas utilizando las secuencias del gen 16S rRNA de este ensayo, comparándolas con la base de datos de KEGG, para de esta manera poder conocer cuáles son las rutas metabólicas que se encuentran de manera principal en este tipo de suelos agrícolas. Al tratarse de secuencias bacterianas, resulta importante señalar, cuales son las rutas metabólicas que predominan en este tipo de ambientes.

Al tratarse de ambientes ricos en nutrientes, con cambios y perturbaciones ambientales, las actividades relacionadas con el transporte de nutrientes y metabolismo energético son muy importantes en estos ambientes. El metabolismo de compuestos carbonados resulta esencial para los microorganismos, ya que están a expensas de cantidades en algunos casos menores de nutrientes como en la agricultura de conservación por lo antes expuesto, o grandes cantidades de nutrientes, cuando se realiza la labranza y se incorporan los residuos al suelo.

Cabe señalar, que existen rutas metabólicas para la degradación de compuestos recalcitrantes o xenobióticos, por esta razón es importante continuar con la exploración microbiana en este tipo de ambientes.

Se ha descrito que en estos suelos, a pesar de que se realizan actividades agrícolas contrastantes, no fue posible observar cambios sustanciales en los grupos bacterianos analizados. En general, se observan casi los mismos grupos en los tres tipos de suelos. De

la misma manera que los análisis descritos anteriormente, la predicción funcional no fue la excepción, ya que la predicción funcional en los tres tipos de suelo fue semejante entre los tratamientos analizados.

Un punto importante a recalcar al hacer uso de este tipo de herramientas informáticas, es que no se requiere realizar ensayos prácticos, ya que la información se obtiene a partir de las secuencias ya adquiridas para los ensayos previos.

14. Conclusiones del capítulo 2

Se encontró que las prácticas agrícolas tienen un efecto limitado en la estructura de la comunidad bacteriana, ya que sólo un pequeño número de grupos bacterianos fue afectado por los distintos tipos de agricultura.

La aplicación de materia orgánica tiene un efecto rápido en la estructura de la comunidad bacteriana, sin embargo el efecto es limitado.

En este tipo de suelos, se observa que la agricultura convencional favorece a los microorganismos que tienen la capacidad de responder de manera rápida cuando se tiene materia orgánica de fácil degradación, predominando fuertemente el filo Actinobacteria y en menor proporción, Proteobacteria, mientras que el filo Acidobacteria, aumenta su abundancia relativa cuando la materia orgánica de fácil degradación ha sido mayormente utilizada.

Las diferentes actividades metabólicas de este tipo de suelos están ligadas principalmente a la utilización de una gran gama de compuestos, aminoácidos, carbohidratos y xenobióticos. Este tipo de suelos son una excelente opción para la exploración de fuentes biológicas que permitan mejorar la agricultura en gran medida.

15. Capítulo 3

15.1. Contribución y perspectivas del trabajo

Al realizar este proyecto, se tuvo la oportunidad de trabajar con dos ambientes agrícolas distintos, no sólo en cuanto a localización geográfica, sino también en cuanto a características fisicoquímicas. Además, a pesar de que se habla en términos de agricultura de conservación, esta se realiza de diferente manera de acuerdo a las necesidades de cada cultivo, e incluso de acuerdo a necesidades logísticas, ambientales y experimentales.

Los microorganismos del suelo son de vital importancia para la función y sostenibilidad de los agroecosistemas, pues contribuyen en la descomposición y dinámica de los nutrientes del suelo. Tratar de entender la relación que tienen las bacterias de suelos agrícolas con los factores fisicoquímicos no es tarea fácil.

Poco a poco y de acuerdo a los antecedentes, se ha hecho una aproximación a la estructura bacteriana de los suelos descritos en los dos capítulos anteriores. Los comienzos describen a los microorganismos cultivables, posteriormente la descripción se ha realizado mediante las técnicas disponibles en el periodo correspondiente. Finalmente, en este ensayo se ha utilizado una aproximación molecular haciendo uso del pirosecuenciamiento, pero añadiendo una simulación a lo que puede estar sucediendo a nivel de campo una vez que comienza la incorporación de los distintos residuos agrícolas. Es así como se desarrollaron las dinámicas de degradación de distintos sustratos agrícolas.

En el capítulo uno, se describe la estructura de la comunidad bacteriana siguiendo la línea de trabajo del laboratorio de Ecología de Suelos, haciendo uso de herramientas bioinformáticas y complementándola con herramientas estadísticas, además de integrar las funciones teóricas descritas para los grupos bacterianos en los que se observaron los mayores cambios estadísticos.

El segundo capítulo, correspondiente a suelos agrícolas australianos, es una descripción bioinformática y estadística de suelos que no han sido estudiados en cuanto al seguimiento de una dinámica de degradación de sustratos agrícolas. Además, fue posible realizar una exploración de las posibles funciones metabólicas que pueden encontrarse en

este tipo de suelos, haciendo uso de la información que ya se posee en términos de secuenciamiento. Por lo que para futuros estudios dentro del grupo de trabajo podrían ser relevantes.

De manera contrastante, los suelos utilizados presentan respuestas muy distintas cuando se hacen interaccionar con los residuos utilizados. Los suelos de la estación experimental del CIMMYT si presentan cambios desde un inicio, es decir, las prácticas agrícolas si son capaces de modificar la estructura bacteriana, mientras que la estructura bacteriana del suelo de la estación experimental de ACRI, está definida por la adición de los residuos utilizados y en mayor medida por el tiempo de experimentación.

Ya existen reportes que indican que las prácticas agrícolas tienen la capacidad de modificar la comunidad microbiana de los suelos, sin embargo, este ensayo muestra dos resultados contrastantes. De esta manera se generan nuevas preguntas con respecto a la modificación de la estructura bacteriana. ¿Qué define que la agricultura de conservación y prácticas convencionales modifiquen la estructura bacteriana?., ¿Cuáles son los factores bióticos o abióticos que modifican la estructura bacteriana o microbiana?., ¿Las prácticas agrícolas, ya sea de conservación o convencional pueden ser utilizadas de manera ubicua en todos los suelos?.

Como siempre, el extraer datos de un ambiente o de un fenómeno biótico o abiótico es la tarea más fácil, como utilizar los datos, explicarlos e interpretarlos es la tarea más difícil a la que nos enfrentamos.

Realizar otro tipo de aproximaciones cada vez más finas, será una necesidad para continuar. Por ejemplo, el secuenciamiento de genes y genomas se hace cada vez más sencillo, pero el análisis tiende que ser cada vez más robusto, además de que exige un esfuerzo computacional mucho mayor. Un nuevo nivel de secuenciamiento con el material genético ya obtenido puede despejar dudas a niveles taxonómicos más precisos.

En referencia al párrafo anterior, en este proyecto se ha dejado un poco de lado, a aquellos grupos bacterianos que tienen poca actividad estadística, es decir, aquellos que tienen abundancias relativas menores al 1%, pero que en suma, pueden ser grandes contribuyentes a los procesos biogeoquímicos de estos agroecosistemas.

Para futuras exploraciones, se puede trabajar únicamente con los grupos bacterianos de baja abundancia, se tendrá que hacer uso de herramientas matemáticas o estadísticas, que permitan visualizar de la manera más sencilla sus interacciones físicas o químicas en este tipo de agroecosistemas.

Por otro lado, el uso de marcadores moleculares específicos, como aquellos involucrados en el ciclo del nitrógeno, carbono-metano y fósforo, podrían ayudar a la comprensión de las interacciones bioquímicas y biológicas en este tipo de agroecosistemas. Además, podría colaborar en explicar que está sucediendo con los grupos que son de baja abundancia relativa, pero que, de nueva cuenta, en suma pudieran ser grandes contribuyentes a los procesos de mineralización-inmovilización de nutrientes en los diferentes ciclos biogeoquímicos.

16. Referencias

Acinas S. G., Klepac-Ceraj V., Hunt D. E., Pharino C., Ceraj I., Distel D. L., Polz M. F., 2004. Fine-scale phylogenetic architecture of a complex bacterial community. *Nature*, 430, 551–553.

Acosta-Martinez V., Mikha M. M., Sistani K. R., Stahlman P. W., Benjamin J. G., Vigil M. F., Erickson R., 2011. Multi-location study of soil enzyme activities as affected by types and rates of manure application and tillage practices. *Agriculture*, 1, 4– 21.

Aguilar-Chávez A., Díaz-Rojas M., Cárdenas-Aquino M. R., Dendooven L., Luna-Guido M., 2012. Greenhouse gas emissions from a wastewater sludge amended soil cultivated with wheat (*Triticum* spp. L.) as affected by different application rates of charcoal. *Soil Biology and Biochemistry*, 52, 90–95.

Alvararado A., 2006. Potential of soil carbon sequestration in Costa Rica. En: Lal R., Cerni C. C., Bernoux M., Etchevers J., Ceri C. E. P. Ed. *Carbon Sequestration in Soil of Latin America*. The Harworth Press Inc., USA., pp. 554.

Aquino P., 1998. The adoption of bed planting of wheat in the Yaqui Valley, Sonora, Mexico. Mexico DF, CIMMYT. *Wheat Special Report*.

Araya T., Cornelis M. W., Nyssen J., Govaerts B., Getnet F., Bauer H., Amare K., Raes D., Haile M., Deckers J., 2012. Medium-term effects of conservation agriculture based cropping systems for sustainable soil and water management and crop productivity in the Ethiopian highlands. *Field Crops Research*, 132, 53–62.

Araya T., Nyssen J., Govaerts B., Deckers J., Sommer R., Bauer H., Gebrehiwot K., Cornelis W. M., 2016. Seven years resource-conserving agriculture effect on soil quality and crop productivity in the Ethiopian drylands. *Soil and Tillage Research*, 163, 99–109.

Arrouays D., McKenzie N., Hempel J., de Forges A. R., McBratney A. B., 2014. *GlobalSoilMap: Basis of the global spatial soil information system*. Ed. Taylor and Francis. Canberra, Australia. pp. 494.

Aziz I., Mahmood T., Islam R. K., Effect of long term no-till and conventional tillage practices on soil quality. *Soil and Tillage Research*, 131, 28–35.

Baeumer K., 1970. First experiences with direct drilling in Germany. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 18, 283–292.

Bardgett R. D., Freeman C., Ostle N. J., 2008. Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks. *The ISME Journal*, 2, 805–814.

Bationo A., Kihara J., Vanlauwe B., Waswa B., Kimetu J., 2007. Soil organic carbon dynamics, functions and management in West African agro-ecosystems. *Agricultural Systems*, 94, 13–25.

Bauer A., Black A. L., 1981. Soil carbon, nitrogen, and bulk density comparison in two cropland tillage systems after 25 years in virgin grassland. *Soil Science Society of America Journal*, 45, 1160–1170.

Baveye P. C., Rangel D., Jacobson A. R., Laba M., Darnault C., Otten W., Radukovich R., Camargo F. A. O., 2011. From Dust Bowl to Dust Bowl: Soils are still very much a frontier of science. *Soil Science Society of America Journal*, 75, 2037–2048.

Benbi D. K., Khosa M. K., 2014. Effects of temperature, moisture and chemical composition of organic substrates on C mineralization in soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 45, 2734–2753

Berndard E., Larkin P. R., Tavantzis S., Erich S. M., Alyokhin A., Sewell G., Lannan A., Gross D. S., 2012. Compost, rapeseed rotation, and biocontrol agents significantly impact soil microbial communities in organic and conventional potato production systems. *Applied Soil Ecology*, 52, 29–41.

Bisantino, T., Bingner, R., Chouaib, W., Gentile, F., Trisorio, Liuzzi G., 2015. Estimation of runoff, peak discharge and sediment load at the event scale in a medium-size Medi- terranean watershed using the annagnps model. *Land Degradation and Development*, 26, 340–355.

Breulmann M., Masyutenko N. P., Kogut B. M., Schroll R., Dorfler U., Buscot F., Schulz E., 2014. Short-term bioavailability of carbon in soil organic matter fractions of different particle sizes and densities in grassland ecosystems. *Science of the Total Environment*, 497-498, 29–37.

Brevik E. C., Calzolari C., Miller B. A., Pereira P., Kabala C., Baumgarten A., Jordán A., 2016. Soil mapping, classification, and pedologic modeling: history and future directions. *Geoderma*, 264, 256–274.

Bull I. D., Betancourt P. P., Evershed R. P., 2001. An organic geochemical investigation of the practice of manuring at a Minoan Site on Pseira Island, Crete. *Geoarchaeology – an International Journal*, 16, 223–242.

Caesar-TonThat T., Lenssen A. W., Caesar A. J., Sainju U. M., Gaskin J. F., 2010. Effects of tillage on microbial populations associated to soil aggregation in dryland spring wheat system. *European Journal of Soil Biology*, 46, 119–127.

Caliz J., Vila X., Martí E., Sierra J., Nordgren J., Lindgren P. E., Bañeras L., Monsterrat G., 2011. The microbiota of an unpolluted calcareous soil faces up chlorophenols: Evidences of resistant strains with potential for biorremediation. *Chemosphere*, 83, 104–116.

Caporaso J. G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F. D., Costello E. K., Fierer N., Pena A. G., Goodrich J. K., Gordon J. I., Huttley G. A., Kelley S. T., Knights D., Koenig J. E., Ley R. E., Lozupone C. A., McDonald D., Muegge B. D., Pirrung M., Reeder J., Sevinsky J. R., Turnbaugh P. J., Walters W. A., Widmann J., Yatsunenko T., Zaneveld J., Knight R., 2010a. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7, 335–336.

Carpenter D., Hodson M. E., Eggleton P., Kirk C., 2007. Earthworm induced mineral weathering: preliminary results. *European Journal of Soil Biology*, 43, 176–183.

Carter M. R., Gregorish E. G., Angers D. A., Beare M. H., Sparling G. P., Wardle D. A., Voroney R. P., 1999. Interpretation of microbial biomass measurements for soil quality assessment in humid temperate regions. *Canadian Journal of Soil Science*, 79, 507–520.

Ceja-Navarro J. A., Rivera-Orduña F. N., Patiño-Zúñiga L., Vila-Sanjurjo A., Crossa J., Govaerts B., Dendooven L. 2010. Phylogenetic and multivariate analyses to determine the effects of different tillage and residue management practices on soil bacterial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, 3685–3691.

Celik I., 2005. Land-use effects on organic matter and physical properties of soil in a southern Mediterranean highlands of Turkey. *Soil and Tillage Research*, 83, 270–277.

Chávez-Romero Y., Navarro-Noya Y. E., Reynoso-Martínez S. C., Sarria-Guzmán Y., Govaerts B., Verhulst N., Dendooven L., Luna-Guido M., 2016. 16S metagenomics reveals changes in the soil bacterial community driven by soil organic C, N-fertilizer and tillage-crop residue management. *Soil and Tillage Research*, 159, 1–8.

Chen Z., Wang H., Liu X., Zhao X., Lu D., Zhou J., Li C., Changes in soil microbial community and organic carbon fractions under short-term Straw return in a rice-wheat cropping system. *Soil and Tillage Research*, 165, 121–127.

Chivenge P. P., Murwira H. K., Giller K.E., Mapfumo P., Six J., 2007. Long-term impact of reduced tillage and residue management on soil carbon stabilization: implications for conservation agriculture on contrasting soils. *Soil and Tillage Research* 94,328–337.

Christian D.G., 1994. Experience with direct drilling and reduced cultivation in England. *Proceedings of the Ec-workshop. Experience with the Applicability of No-tillage Crop Production in the West-european Countries*, Wissenschaftlicher Fachverlag Giessen. pp. 25–31.

Conant T. R., Easter M., Paustian K., Swan A., Williams S., 2007. Impacts of periodic tillage on soil C stocks: A synthesis. *Soil and Tillage Research*. 95, 1–10.

Constable G. A., Rochester I. J., Daniells I. G., 1992. Cotton yield and nitrogen requirement is modified by crop rotation and tillage method. *Soil and Tillage Research* 23, 41–59.

CTIC., 1994. Definition of conservation tillage. *Conservation Impact. Conservation Tillage Information Centre*, 6, 11.

Datta A., Smith P., Lal r., 2013. Effects of long-term tillage and drainage treatments on greenhouse gas fluxes from a corn field durign the fallow period. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 171, 112–123.

de Gannes V., Eudoxie G., Hickey W. J., 2013. Prokaryotic successions and diversity in composts as revealed by 454-pyrosequencing. *Bioresource Technology*, 133, 573–580.

De la Cruz-Barrón M., Cruz-Mendoza A., Navarro-Noya E. Y., Ruíz-Valdiviezo M. V., Gutiérrez-Ortíz D., Ramírez-Villanueva D. A., Luna-Guido M., Thierfelder C., Wall P. C., Verhulst N., Govaerts B., Dendooven L., 2016. The bacterial community structure and dynamics of carbon and nitrogen when maize (*Zea mays* L.) and its neutral detergent fibre were added to soil from Zimbabwe with contrasting management practices. *Soil Microbiology*, DOI 10.1007/s00248-016-0807-8

De Vries F. T., Thébault E., Liiri M., Birkhofer K., Tsiafouli M. A., Bjørnlund L., Bracht Jørgensen H., Brady M. V., Christensen S., de Ruiter P. C., d'Hertefeldt T., Frouz J., Hedlund K., Hemerik L., Hol W. H. G., Hotes S., Mortimer S. R., Setälä H., Sgardelis S. P., Uteseny K., van der Putten W. H., Wolters V., Bardgett R. D., 2013. Soil food web properties explain ecosystem services across European land use systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110, 14296–14301.

Delmont T. O., Prestat E., Keegan K. P., Faubladier M., Robe P., Clark I. M., Pelletier E., Hirsch P. R., Meyer F., Gilbert J. A., Le Paslier D., Simonet P., Vogel T. M., 2012. Structure, fluctuation and magnitude of a natural grassland soil metagenome. *The ISME Journal*, 6, 1677–1687.

Dendooven L., Gutiérrez-Oliva V. F., Patiño-Zúñiga L., Ramírez-Villanueva D. A., Verhulst N., Luna-Guido M., Marsch R., Montes-Molina J., Gutiérrez-Miceli F. A., Vásquez-Murrieta S., Govaerts B., 2012. Greenhouse gas emission under conservation agriculture compared to traditional cultivation of maize in the central highlands of Mexico. *Science of the Total Environment*, 431, 237–244.

Derspich R., Friedrich T., Kassam A., Li H., 2010. Current status of adoption of no-till farming in the world and some of its main benefits. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 3,1–25.

Ding X., Zhang B., Zhang X., Yang X., Zhang X., 2011. Effects of tillage and crop rotation on soil microbial residues in a rainfed agroecosystem of northeast China. *Soil and Tillage Research*, 114, 43–49.

Edgar R. C., 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26, 2460–2461.

Egli M., Gristina L., Guido L. B., Weisenberg G. L. B., Civantos J. M. M., Rotolo A., Novara A., Branová D., Raimondi S., 2013. From pedologic indications to archaeological reconstruction: deciphering land use in the Islamic period in the Baida district (north-western Sicily). *Journal of Archaeological Science*, 40, 2670–2685.

Eichorst S. A., Kuske C. R., 2012. Identification of cellulose-responsive bacterial and fungal communities in geographically and edaphically different soils by using stable isotope probing. *Applied Environmental Microbiology*, 78, 2316–2327.

España M., Rasche F., Kandeler E., Brune T., Rodriguez B., Bending G. D., Cadisch G., 2011. Identification of active bacteria involved in decomposition of complex maize and soybean residues in a tropical Vertisol using ¹⁵N-DNA stable isotope probing. *Pedobiologia- International Journal of Soil Biology*, 54, 187–193.

European Commission, 2006. Thematic Strategy for Soil Protection. European Commission, Brussels.

FAO., 1985. Irrigation water management: Training manual No. 1. Introduction to irrigation. En, *Soil and water*. FAO Natural Resources Management and Environment Department. Ed. Provicional. pp. 1–24. FAO, Rome, Italy.

FAO., 2001. Conservation agriculture case studies in Latin America and Africa. Introduction. *FAO Soils Bulletin*. No. 78. FAO, Rome, Italy.

Ferrier S., Manion G., Elith J., Richardson K., 2007. Using generalized dissimilarity modelling to analyse and predict patterns of beta diversity in regional biodiversity assessment. *Diversity and Distributions*, 13, 252–264.

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

Foley J. A., DeFries R., Asner G. P., Barford C., Bonan, G., Carpenter S. R., Chapin F. P., Coe M. T., Daily G. C., Gibbs H. K., Helkowski J. H., Holloway T., Howard E. A., Kucharik C. I., Monfreda C., Patz J. A., Prentice I. C., Ramankutty N., Snyder P. K., 2005. Global consequences of land use. *Science*, 309, 570–574.

Forey E., Barot S., Decaëns T., Langlois E., Laossi K. R., Margerie P., Scheu S., Eisenhauer N., 2011. Importance of earthwormseed interactions for the composition and structure of plant communities: a review. *Acta Oecologica*, 37, 594–603.

Fultz L. M., Moore-Kucera J., Zobeck T. M., Acosta-Martínez V., Wester D. B., Allen V. G., 2013. Organic carbon dynamics and soil stability in five semiarid agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 181, 231–240.

Garbeva P., Van Veen J. A., Van Elsas J. D., 2004. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annual Review of Phytopathology*, 42, 243–270.

Garbisu C., Alkorta I., Epelde L., 2011. Assessment of soil quality using microbial properties and attributes of ecological relevance. *Applied Soil Ecology*, 49, 1–4.

Ghosh S., Lockwood P., Hulugalle N., Daniel H., Kristiansen P., Dodd K., 2010. Changes in properties of sodic Australian Vertisols with application of organic waste products. *Soil Fertility and Plant Nutrition*, 74, 153–160.

Giller K. E., Witter E., Corbeels M., Titttonell P., 2009. Conservation agriculture and smallholder farming in Africa: the heretics' view. *Field Crops Research*, 114, 23–34.

Goldfarb K. C., Karaoz U., Hanson C. A., Santee C. A., Bradford M. A., Treseder K. K., Wallenstein M. D., Brodie E. L., 2011. Differential growth responses of soil bacterial taxa to carbon substrates of varying chemical recalcitrance. *Frontiers of Microbiology*, 2, 94.

Gonzalez-Sanchez E. J., Veroz-Gonzalez O., Blanco-Roldan G. L., Marquez-Garcia F., Carbonell-Bojollo R., 2015. A renewed view of conservation agriculture and its evolution over the last decade in Spain. *Soil and Tillage Research*, 146, 204–212.

Govaerts B., Barrera-Franco M. G., Limón-Ortega A., Muñoz-Jiménez P., Sayre K. D., Deckers J., 2008a. Clasificación y evaluación edafológicas de tres sitios experimentales en el altiplano central de México. *Tropicultura* 26, 2–9.

Govaerts B., Mezzalama M., Sayre K. D., Crossa J., Lichter K., Troch V., Vanherck K., De Corte P., Deckers J., 2008b. Long-term consequences of tillage, residue management, and crop rotation on selected soil micro-flora groups in the subtropical highlands. *Applied Soil Ecology*, 38, 197–210.

Govaerts B., Mezzalama M., Sayre K. D., Crossa J., Nicol J. M., Deckers J., 2006. Long-term consequences of tillage, residue management, and crop rotation on maize/wheat root rot and nematode populations in subtropical highlands. *Applied Soil Ecology*, 32, 305–315.

Govaerts B., Sayre K. D., Goudeseune B., De Corte P., Lichter K., Dendooven L., Deckers J., 2009. Conservation agriculture as a sustainable option for the central Mexican highlands. *Soil and Tillage Research*, 103, 222–230.

Gowdy J., Krall L., 2013. The ultrasocial origin of the Anthropocene. *Ecological Economics*, 95, 137–147.

Grabowski P. P., Haggblade S., Kabwe S., tembo G., 2014. Minimum tillage adoption among commercial smallholder cotton farmers in Zambia, 2002 to 2011. *Agricultural Systems*, 131, 34–44.

Haas B. J., Gevers D., Earl A. M., Feldgarden M., Ward D. V., Giannoukos G., Ciulla D., Tabbaa D., Highlander S. K., Sodergren E., Methe B., DeSantis T. Z., Petrosino J. F., Knight R., Birren B. W., 2011. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. *Genome Research*, 21, 494–504.

Hanson C. A., Fuhrman J. A., Horner-Devine M. C., Martiny J. B., 2012. Beyond biogeographic patterns: processes shaping the microbial landscape. *Nature Reviews Microbiology*, 10, 497–506.

Helgason B. L., Walley F. L., Germida J. J., 2010a. No-till soil management increases microbial biomass and alters community profiles in soil aggregates. *Applied Soil Ecology*, 46, 390–397.

Helgason B. L., Walley F. L., Germida J. J., 2010b. Long-term no-till management affects microbial biomass but not community composition in Canadian prairie agroecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 42, 2192–2202.

Hernanz J. L., López R., Navarrete L., Sánchez-Girón V., 2002. Long-term effects of tillage systems and rotations on soil structural stability and organic carbon stratification in semiarid central Spain. *Soil and Tillage Research*, 66, 129–141.

Hevia G. G., Mendez M., Buschiazzo D. E., 2007. Tillage affects soil aggregation parameters linked with wind erosion. *Geoderma*, 140, 90–96.

Hill P. R., Griffith D. R., Steinhardt G. C., Parson S. D., 1994. The evolution and history of no-till farming. *National Conservation Tillage Digest*, 1, 14–15.

Hobbs R. P., Sayre K., Gupta R., 2008. The role of conservation agriculture in sustainable agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society. B*, 363, 543–555.

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

Hoitink H. A. J., Boehm M. J., 1999. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. *Annual Review of Phytopathology*, 37, 427–446.

Homburg J. A., Sandor J. A., 2011. Anthropogenic effects on soil quality of ancient agricultural systems of the American Southwest. *Catena*, 85, 144–154.

Hulme P. J., McKenzie D. C., MacLeod D. A., Anthony D. T. W., 1996. An evaluation of controlled traffic with reduced tillage for irrigated cotton on a Vertisol. *Soil and Tillage Research*, 38, 217–237.

Hulugalle N. R., Entwistle P. C., Mensah R. K., 1999. Can lucerne (*Medicago sativa* L.) strips improve soil quality in irrigated cotton (*Gossypium hirsutum* L.) fields?. *Applied Soil Ecology*, 12, 81–92.

Hulugalle N. R., Broughton J. K., Tan D. K. Y., 2015. Fine root production and mortality in irrigated cotton, maize and sorghum sown in vertisols of northern New South Wales, Australia. *Soil and Tillage Research*, 146, 313–322.

Hulugalle N. R., Nehl B. D., Weaver B. T., 2004. Soil properties, and cotton growth, yield and fibre quality in three cotton-based cropping systems. *Soil and Tillage research*, 75, 131–141.

Hulugalle N. R., Weaver B. T., Finlay A. L., 2010. Soil water storage and drainage under cotton-based cropping systems in a furrow-irrigated Vertisol. *Agricultural Water Management*, 97, 1703–1710.

Hulugalle N. R., Weaver B. T., Finlay A. L., Luelf N. W., Tan D. K. Y., 2009. Potential contribution by cotton roots to soil carbon stocks in irrigated Vertisols. *Australian Journal of Soil Research*, 47, 243–252.

Hulugalle N. R., Weaver B. T., Scott F., 2008. Continuous cotton and cotton-wheat rotation effects on soil properties and profitability in an irrigated Vertisol. *Journal of Sustainable Agriculture*, 27, 5–24.

Hulugalle N., Scott F., 2008. A review of the changes in soil quality and profitability accomplished by sowing rotation crops after cotton in Australian Vertisols from 1970 to 2006. *Australian Journal of Soil Research*, 46, 173–190.

Hulugalle, N. R., Entwistle P., 1997. Soil properties, nutrient uptake and crop growth in an irrigated Vertisol after nine years of minimum tillage. *Soil and Tillage Research*, 42, 15–32.

Hulugalle, N.R., Lobry de Bruyn, L.A., Entwistle, P., 1997. Residual effects of tillage and crop rotation on soil properties, soil invertebrate numbers and nutrient uptake in an irrigated Vertisol sown to cotton. *Applied Soil Ecology*, 7, 11–30.

Islam K. R., Weil R. R., 2000. Soil quality indicator properties in mid-Atlantic soils as influenced by conservation management. *Journal of Soil and Water Conservation*, 55, 69–78.

IUSS Working Group WRB. 2015. World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015 International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. *World Soil Resources Reports*, No. 106. FAO, Rome.

Jeffery S., Gardi C., Jones A., Montanarella L., Marmo L., Miko L., Ritz K., Peres G., Römbke J., van der Putten W. H., 2010. *European Atlas of Soil Biodiversity*. European Commission. Publications Office of the European Union, Luxembourg.

Jenkinson D. S., Powlson D. S., 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 8, 209–213.

Jiménez-Bueno N. G., Valenzuela-Encinas C., Marsch R., Ortiz-Gutiérrez D., Verhulst N., Govaerts B., Dendooven L., Navarro-Noya Y. E., 2016. Bacterial indicator taxa in soils under different long-term agricultural management. *Journal of Applied Microbiology*, 120, 921–933.

Johnston A. E., Poulton P. R., Coleman K., 2009. Soil organic matter: its importance in sustainable agriculture and carbon dioxide fluxes. *Advances in Agronomy*, 101, 1–57.

Jouquet P., Dauber J., Lagerlöf J., Lavelle P., Lepage M., 2006. Soil invertebrates as ecosystem engineers: intended and accidental effects on soil and feedback loops. *Applied Soil Ecology*, 32, 153–164.

Jung-Hoon Y., Yong-Ha P., 2006. The genus *Nocardioides*. *Prokaryotes*, 3, 1099–1113.

Jurado V., Miller A. Z., Alias-Villegas C., Laiz L., Saiz-Jimenez C., 2012. *Rubrobacter bracarensis* sp. nov., a novel member of the genus *Rubrobacter* isolated from a biodeteriorated monument. *Systematic and Applied Microbiology*, 35, 306–309.

Kaisermann A., Roguet A., Nunan N., Maron P. A., Ostle N., Lata J. C., 2013. Agricultural management affects the response of bacterial community structure and respiration on water-stress. *Soil Biology and Biochemistry*, 66, 69–77.

Kallenbach C. M., Grandy A. S., Frey S. D., Diefendorf A. F., Microbial physiology and necromass regulate agricultural soil carbon accumulation. *Soil Biology and Biochemistry*, 91, 279–290.

Kassam A., Friedrich T., Shaxson F., Pretty J., 2009. The spread of conservation agriculture: justification, sustainability and uptake. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 7, 292–320.

Kassie M., Zikhali P., 2009. The contribution of sustainable agriculture and land management to sustainable development. *United Nations Sustainable Development Innovation Brief Issue 7*.

Keesstra S. D., Bouma J., Wallinga J., Tittonell P., Smith P., Cerdà A., Montanarella L., Quinton J. N., Pachepsky Y., van der Putten W. H., Bardgett R. D., Moolenaar S., Mol G., Jansen B., Fresco L. O., 2016. The significance of soils and soil science towards realization of the United Nations Sustainable Development Goals. *Soil*, 2, 111–128.

Kennedy A. C., Papendick R. I., 1995. Microbial characteristics of soil quality. *Journal of Soil and Water Conservation*, 50, 243–248.

Kennedy A. C., Smith K. L., 1995. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant and Soil*, 170, 75–86.

Kertesz, A., 2004. Conventional and conservation tillage from pedological and ecological aspects. The SOWAP Project. En: Proceedings of the 4th International Congress of the European Society for Soil Conservation “Soil Conservation in a Changing Europe”, Budapest, Hungary. pp. 33–135.

Khalid H., Zakaríá, Z., Anderson J., 2000. Nutrient cycling in an oil palm plantation: the effects of residue management practices during replanting on dry matter and nutrient uptake of young palms. *Journal of Oil Palm Research*, 12, 130–150.

Kienzler K. M., Lamers J. P. A., McDonald A., Mirzabaev A., Ibragimov N., Egamberdiev O., Ruzibaev E., Akramkhanov A., 2012. Conservation agriculture in Central Asia—What do we know and where do we go from here?. *Field Crops Research*, 132, 95–105.

Kirkegaard J. A., Sarwar M., 1998. Biofumigation potential of Brassicas I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant and Soil*, 201, 71–89.

Labeda D, P., Goodfellow M., Brown R., Ward A. C., Lanoot B., Vanncanneyt M., Swings J., Kim S. B., Liu Z., Chun J., Tamura T., Oguchi A., Kikuchi T., Kikuchi H., Nishii T., Tsuji K., Yamaguchi Y., Tase A., Takahashi M., Sakane T., Suzuki K. I., Hatano K., 2012. Phylogenetic study of the species within the family Streptomyetaceae. *Journal of Microbiology*, 101, 73–104.

Lal R., 1997. Degradation and resilience of soils. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B*, 352, 997–1010.

Lal R., Bruce J. P., 1999. The potential of world cropland soil to sequester carbon and mitigate the greenhouse effect. *Environmental Science and Policy*, 2, 177–185.

Lal R., Reicosky D. C., Hanson J. D., 2007. Evolution of the plow over 10,000 years and the rationale for no till-farming. *Soil and Tillage Research*, 93, 1–23.

Landesman J. W., Nelson M. D., Fitzpatrick C. M., 2014. Soil properties and tree species drive β -diversity of soil bacterial communities. *Soil Biology and Biochemistry*. 76, 201–209.

Langille M. G. I., Zaneveld J., Caporaso J. G., McDonald D., Knights D., a Reyes, J., Clemente J., C., Burkepille D. E., Vega Thurber R. L., Knight R., Beiko R. G., Huttenhower C., 2013. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nature Biotechnology*, 8, 1–10.

Lazarovits G., 2010. Managing soilborne disease of potatoes using ecologically based approaches. *American Journal of Potato Research*, 87, 401–411.

Leij F. J., Ghezzehei T. A., Or D., 2002. Modeling the dynamics of the soil pore-size distribution. *Soil and Tillage Research*, 64, 61–78.

Li C., Yan K., Tang L., Jia Z., Li Y., 2014. Change in deep soil microbial communities due to long-term fertilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 75, 264–272.

Lichtfouse E., Hamelin, M., Navarrete, M., Debaeke, P., Henri, A., 2010. Emerging agrosience. *Agronomy for Sustainable Development*, 30, 1–10.

Ling-Ling L., Gao-bao H., Ren-zhi Z., Belloti B., Li G., Chan Y. K., 2011. Benefits of conservation agriculture on soil and water conservation and its progress in China. *Agricultural Sciences in China*, 10, 850–859.

Li X., Wang X., Ren J. Z., Zhang Y., Li N., Zhou Q., 2015. Sand amendment enhances bioelectrochemical remediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil. *Chemosphere*, 141, 62–70.

McKenzie D. C., Shaw A. J., Rochester I. J., Hulugalle N. R., Wright P. R., 2003. Soil and nutrient management for irrigated cotton. AGFACT No. 5.3.6, Agriculture, NSW, Australia, pp 40.

Majeed A., Muhmood A., Niaz A., Javid S., Ahmad A., Shah H. S. S., Shah H. A., 2015. Bed planting of wheat (*Triticum aestivum* L.) improves nitrogen use efficiency and grain yield compared to flat planting. *The Crop Journal*, 3, 118–124.

Marinari S., Masciandaro G., Ceccanti B., Grego S., 2000. Influence of organic and mineral fertilizers on soil biological and physical properties. *Bioresource Technology*, 72, 9–17.

Marschner P., Umar S., Baumann K., 2011. The microbial community composition changes rapidly in the early stages of decomposition of wheat residue. *Soil Biology and Biochemistry*, 43, 445–451.

Martin K., Sauerborn J., 2013. Origin and development of agriculture. En: *Agroecology*. Ed. Springer. pp. 9–48.

Mashingaidze N., Madakadze C., Twomlow S., Nyamangara J., Hove L., 2012. Crop yield and weed growth under conservation agriculture in semi-arid Zimbabwe. *Soil and Tillage Research*, 124, 102–110.

Mathew R. P., Feng Y., Githinji L., Ankumah R., Balkcom K. S., 2012. Impact of No-tillage and conventional tillage systems on soil microbial communities. *Applied and Environmental Soil Science*, 2012, 1–10.

Melero S., López-Bellido R. J., López-Bellido L., Muñoz-Romero V., Moreno F., Murillo J. M., 2011. Long-term effect of tillage, rotation and nitrogen fertiliser on soil quality in a Mediterranean Vertisol. *Soil and Tillage Research*, 114, 97–107.

Mulvaney R. L., 1996. Nitrogen-inorganic forms. En Sparks D. L. Ed., *Methods of Soil Analysis, Part 3. Chemical Methods*. Soil Science Society of America Inc., American Society of Agronomy, Madison, USA, pp. 1123–1184.

Navarro-Noya Y. E., Gómez-Acata S., Montoya-Ciriaco N., Rojas-Valdez A., Suárez-Arriaga M. C., Valenzuela-Encinas. C., Jiménez-Bueno, N., Verhulst N., Govaerts, B., Dendooven, L. 2013. Relative impacts of tillage, residue management and crop-rotation on soil bacterial communities in a semi-arid agroecosystem. *Soil-- Biology and Biochemistry*, 65, 86–95.

Nivelle E., Verzeax J., Habbib H., Kuzyakov Y., Decocq G., Roger D., Lacoux J., Duclercq J., Spicher F., Nava-Saucedo J. E., Catterou M., Dubois F., Tetu T., 2016. Functional response of soil microbial communities to tillage, cover crops and nitrogen fertilization. *Applied Soil Ecology*, 108, 147–155.

Noble R., Coventry, E., 2005. Suppression of soil-borne plant diseases with composts: a review. *Biocontrol Science and Technology*, 15, 3–20.

O'Brien K. P., 1977. *Agriculture and the Industrial Revolution*. En: *The Economic History Review, New Series*. Ed. Wiley on behalf of The Economic History Society. pp. 166–181.

Ogle S. M., Breidt F. J., Paustian K., 2005. Agricultural management impacts on soil organic carbon storage under moist and dry climatic conditions of temperate and tropical regions. *Biogeochemistry*, 72, 87–121.

Oicha T., Cornelis M. W., Verplancke H., Nyssen J., Govaerts B., Behailu M., Haile M., Deckers J., 2010. Short-term effects of conservation agriculture on Vertisols under tef (*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter) in the northern Ethiopian highlands. *Soil and Tillage Research*, 106, 294–302.

Orgiazzi A., Bianciotto V., Bonfante P., Daghino S., Ghignone S., Lazzari A., Lumini E., Mello A., Napoli C., Perotto S., Vizzini A., Bagella S., Murat C., Girlanda M., 2013. 454 pyrosequencing analysis of fungal assemblages from geographically distant, disparate soils reveals spatial patterning and a core mycobiome. *Diversity*, 5, 73–98.

Orgiazzi A., Dunbar B. M., Panagos P., de Groot A. G., Lemanceau P., 2015. Soil biodiversity and DNA barcodes: opportunities and challenges. *Soil Biology and Biochemistry*, 80, 244–250.

Ozpinar S., Cay A., 2006. Effect of different tillage systems on the quality and crop productivity of a clay-loam soil in semi-arid north-western Turkey. *Soil and Tillage Research*, 88, 95–106.

Pace R. N. 1997. A molecular view of microorganisms diversity and the biosphere. *Science*, 276, 734–740.

Paltineanu I. C., Starr J. L., 2000. Preferential water flow through corn canopy and soil water dynamics across rows. *Soil Science Society of America Journal*, 64, 44–54.

Panettieri M., Berns A. E, Knicker H., Murillo J. M., Madejon E., 2015. Evaluation of seasonal variability of soil biogeochemical properties in aggregate-size fractioned soil under different tillages. *Soil and Tillage Research*, 151, 39–49.

Parnas H., 1975. Model for decomposition of organic material by microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 7, 161–169.

Partanen P., Hultman J., Paulin L., Auvinen P., Romantschuk M., 2010. Bacterial diversity at different stages of the composting process. *BMC Microbiology*, 10, 94.

Patiño-Zúñiga L., Ceja-Navarro J. A., Govaerts B., Luna-Guido M. L., Sayre K. D., Dendooven L., 2009. The effect of different tillage and residue management practices on soil characteristics, inorganic N dynamics and emissions of N₂O, CO₂, CH₄ in the central highlands of Mexico: a laboratory study. *Plant and Soil*, 314, 231–241.

Paul B. K., Vanlauwe B., Ayuke F., Gassner A., Hoogmoed M., Hurisso T. T., Koala S., Lelei D., Ndabamenye T., Six J., Pulleman M. M., 2013. Medium-term impact of tillage and residue management on soil aggregate stability, soil carbon and crop productivity. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 164, 14–22.

Paustian K., Collins H. P., Paul E. A., 1997. Management controls on soil carbon. En: Paul E. A., Paustian K., Elliott E. A., Cole C. V. Ed. *Soil Organic Matter in Temperate Ecosystems: Long Term Experiments in North America*. CRC Press, Boca Rotan, Florida, USA., pp. 15–49.

Peixoto R. S., Coutinho H. L. C., Madari B., Machado P. L. O. A., Rumjanek N. G., Van Elsas J. D., Seldin L., Rosado A. S., 2006. Soil aggregation and bacterial community structure as affected by tillage and cover cropping in the Brazilian Cerrados. *Soil and Tillage Research*, 90, 16–28.

Plourde D. J., Pijanowski C. B., Pekin K. B. 2013. Evidence for increased monoculture cropping in the Central United States. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 165, 50–59.

Poll C., Marhan S., Ingwersen J., Kandeler E., 2008. Dynamics of litter carbon turnover and microbial abundance in a rye detritusphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 1306–1321.

Pongue J. F., Pérès G., Guernion M., Ruiz-Camacho N., Cortet J., Pernin C., Villenave C., Chaussod R., Martin-Laurent F., Bispo A., Cuzeau D., 2013. The impact of agricultural practices on soil biota: A regional study. *Soil biology and Biochemistry*, 67, 271–284.

Powlson D. S., Stirling C. M., Thierfelder C., White R. P., Jat M. L., 2016. Does conservation agriculture deliver climate change mitigation through soil carbon sequestration in tropical agro-ecosystems?. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 220, 164–174.

Prasanna R., Kanchan A., Ramakrishan B., Ranjan K., Ventkatachalam A., Hossain F., Shivay Y. S., Krishnan P., Nain L., 2016. Cyanobacteria-based bioinoculants influence growth and yields by modulating the microbial communities favourably in the rhizospheres of maize hybrids. *European Journal of Soil Biology*, 75, 15–23.

Prasuhn V., 2012. On-farm effects of tillage and crops erosion measured over 10 years in Switzerland. *Soil and Tillage Research*, 120, 137–146.

Pretty J., 2008. Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, 363, 447–465.

R Development Core Team, 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Ramirez-Villanueva D. A., Bello-López J. M., Navarro-Noya Y. E., Luna-Guido M., Verhulst N., Govaerts B., Dendooven L., 2015. *Applied Soil Ecology*, 90, 49–59.

Rasmussen P. E., Collins H. P., 1991. Long-term impacts of tillage, fertilizer, and crop residue on soil organic matter in temperate semi-arid regions. *Advances in Agronomy*, 45, 93–134.

Reicosky D. C., 1995. Impact of tillage on soil as carbon sink. En: *Soil and water conservation society. Ed. Farming for a better environment. White paper water conservation society. Ankeny, Iowa, USA.*, pp. 50–53.

Renard D., Birk J. J., Zangerlé A., Lavelle P., Glaser B., Blatrix R., McKey D., 2013. Ancient human agricultural practices can promote activities of contemporary non-human soil ecosystem engineers: A case study in coastal savannas of French Guiana. *Soil Biology & Biochemistry*, --- 62, 46–56.

Repullo M. A., Carbonell R., Hidalgo J., Rodríguez-Lizana A., Ordóñez R., 2012. Using olive pruning residues to cover soil and improve fertility. *Soil and Tillage Research*, 124, 36–46.

Rivers A., Barbercheck M., Govaerts B., Verhulst N., 2016. Conservation agriculture affects arthropod community composition in a rainfed maize-wheat system in central Mexico. *Applied Soil Ecology*, 100, 81–90.

Rochester I. J., 2011. Sequestering carbon in minimum-tilled clay soils used for irrigated cotton and grain production. *Soil and Tillage Research*, 112, 1–7.

Roesch L. F. W., Fulthorpe R. R., Riva A., Casella G., Hadwin A. K. M., Kent A. D., Daroub S. H., Camargo F. A. O., Farmerie W. G., Triplett E. W., 2007. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *The ISME Journal*, 1, 283–290.

Rousk J., Brookes P. C., Baath E., 2010. Investigating the mechanisms for the opposing pH relationships of fungal and bacterial growth in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 42, 926–934.

Ros M., Rodríguez I., García C., Hernández M. T., 2014. Bacterial community in semiarid hydrocarbon contaminated soils treated by aeration and organic amendments. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 94, 200–206.

Sambrook J., Russell D. W., 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, New York, USA,

SAS Institute, 1989. *Statistic guide for personal computers*. Version 6.0. Ed. SAS Institute Incorporated. Cary, North Caroline, USA.

Sayre K. D., 2004. Raised-bed cultivation. En: Lal, R. Ed., *Encyclopedia of Soil Science*. Marcel Dekker, Inc.

Sayre K. D., Mezzalama M., Martinez M., 2001. Tillage, crop rotation and crop residue management effects on maize and wheat production for rain fed conditions in the altiplano of central Mexico. En: Garcia-Torres L., Benites J., Martinez-Vilela A., *Conservation agriculture, a worldwide challenge*. Proceedings of the I world congress on Conservation Agriculture. Madrid, Cordoba, Spain. pp. 575–585.

Schlatter D., Fubuh A., Xiao K., Hernandez D., Hobbie S., Kinkel L., 2009. Resource amendments influence density and competitive phenotypes of *Streptomyces* in soil. *Microbial Ecology*, 57, 413–420.

Semenov A.V., Silva M. C. P., Szturc-Koestsier A. E. Schmitt H., Salles J. F., Elsas J. D. V., 2012. Impact of incorporated fresh ¹³C potato tissues on the bacterial and fungal community composition of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 49, 88–95.

Seneviratne G., 2009. Collapse of beneficial microbial communities and deterioration of soil health: a cause for reduced crop productivity. *Current Science*, 96, 633.

Shi Y., Lalonde R., Ziadi N., Sheng M., Hu Z., 2012. An assessment of the soil microbial status after 17 years of tillage and mineral P fertilization management. *Applied Soil Ecology*, 62, 14–23.

Siddikee M. A., Chauhan P. S., Anandham R., Han G. H., Sa T., 2010. Isolation, characterization, and use for plant growth promotion under salt stress, of ACC deaminase-producing halotolerant bacteria derived from coastal soil. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20, 1577–1584.

Simon C., Daniel R., 2011. Metagenomic analyses: past and future trends. *Applied Environmental Microbiology*, 77, 1153–1161.

Sithole J. N., Magwaza S. L., Mafongoya L. P., 2016. Conservation agriculture and its impact on soil quality and maize yield: A South African perspective. *Soil and Tillage Research*, 162, 55–67.

Six J., Paustian K., Elliot E. T., Combrink C., 2000. Soil structure and organic matter: I. Distribution of aggregates-size classes and aggregates associated carbon. *Soil Science Society of America Journal*, 37, 509–513.

Soil Survey Staff, 1996. *Keys to Soil Taxonomy*, 7a ed. Natural Resources Conservation Service of the United States Department of Agriculture, Washington, DC, USA.

Soil Survey Staff, 2003. *Keys to soil taxonomy*, 9na ed. United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service. Washington, D. C., USA.

Souza C. R., Cantão E. M., Vasconcelos R. A. T., Nogueira M. A., Hungria M., 2013. Soil metagenomics reveals differences under conventional and no-tillage with crop rotation or succession. *Applied Soil Ecology*, 72, 49–61.

Squire G. R., Hawes C., Valentine T. A., Young M. W., 2015. Degradation rate of soil function varies with trajectory of agricultural intensification. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 202, 160–167.

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

Stemmer M., Watzinger A., Blochberger K., Haberhauer G., Gerzabek M. H., 2007. Linking dynamics of soil microbial phospholipid fatty acids to carbon mineralization in a ¹³C natural abundance experiment: Impact of heavy metals and acid rain. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 3177–3186.

Suela-Silva M., Naves-Sales A., Teixeira Magalhaes-Guedes K., Dias R. D., Schwan R. F., 2013. Brazilian Cerrado soil Actinobacteria ecology. *BioMed Research International*, 2013, 503805.

Tanner S., Katra I., Haim A., Zaady E., 2016. Short-term soil loss by eolian erosion in response to different rain-fed agricultural practices. *Soil and Tillage Research*, 155, 149–156.

Tennakoon B. S., Hulugalle R. N., 2006. Impact of crop rotation and minimum tillage on water use efficiency of irrigated cotton in a Vertisol. *Irrigation Science*, 25, 45–52.

Thierfelder C., Mwila M., Rusinamhodzi L., 2013. Conservation agriculture in Eastern and southern provinces of Zambia: Long-term effects on soil quality and maize productivity. *Soil and Tillage Research*, 126, 246–258.

Thierfelder C., Wall P. C., 2010. Investigating Conservation Agriculture (CA) Systems in Zambia and Zimbabwe to mitigate future effects of climate change. *Journal of Crop Improvement*, 24, 113–121.

Torsvik V., Øvreås L., 2002. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, 5, 240–245.

Trivedi P., Rochester I. J., Trivedi C., Van Nostrand J. D., Zhou J., Karunaratne S., Anderson I. C., Singh B. K., 2015. Soil aggregate size mediates the impacts of cropping regimes on soil carbon and microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 91, 160–181.

United Nations, 2009. *World population prospects: The 2008 revision*. New York, USA.

Valenzuela-Encinas C., Neria-González I., Alcántara-Hernández R. J., Enríquez-Aragón J. A., Estrada-Alvarado I., Hernández-Rodríguez C., Dendooven L., Marsch R., 2008. Phylogenetic analysis of the archaeal community in an alkaline-saline soil of the former lake Texcoco (Mexico). *Extremophiles*, 12, 247–254.

Van Soest P. J., 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal Association of Official Analytical Chemist*, 46, 829–835.

Van Soest P. J., Wine R. H., 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *Journal Association of Official Analytical Chemist*, 50, 50–55.

Vandermeer J., Perfecto I., 2007. The diverse faces of ecosystems engineers in agroecosystems. En: Cuddington K., Byers J. E., Wilson W. G., Hastings A., *Ecosystem*

engineers: Plants to protists. Ed. Academic Press, Burlington, Vermont, USA., pp, 367–386.

Verhulst N., Govaerts B., Verachtert E., Castellanos-Navarrete A., Mezzalama M., Wall P., Chocobar A., Deckers J., 2010. Conservation agriculture, improving soil quality for sustainable production systems. En *Advances in Soil Science: Food Security and Soil Quality* eds. Lal R. and Stewart B. A., pp 137–208. Boca Raton, Florida, USA.

Wang Q., Garrity G. M., Tiedje J. M., Cole J. R., 2007. Naïve bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 5261–5267.

Wang Y. X., Liu Q., Yan L., Gao Y. M., Wang Y. J., Wang W. D., 2013. A novel lignin degradation bacterial consortium for efficient pulping. *Bioresource Technology*, 139, 113–119.

Weller D. M., Raaijmakers J. M., Gardener B. B. M., Thomashow L. S., 2002. Microbial population responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 40, 309–348.

Williams J. D., Gollany H. T., Siemens M. C., Wuest S. B., Long D. S., 2009. Comparison of runoff, soil erosion, and winter wheat yields from no-till and inversion tillage production systems in northeastern Oregon. *Journal of Soil and Water Conservation*, 64, 43–52.

Yan X., Cai Y. L., 2015. Multi-scale anthropogenic driving forces of Karst Rocky desertification in Southwest China. *Land Degradation and Development*, 26, 193–200.

Yao S., Merwin I. A., Abawi G. S., Thies J. E., 2006. Soil fumigation and compost amendment alter soil microbial community composition but do not improve tree growth or yield in an apple replant site. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 587–599.

Yeates, G. W., Wardle D. A., Watson R. N., 1999. Responses of soil nematode populations, community structure, diversity and temporal variability to agricultural intensification over a seven-year period. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 1721–1733.

Yin C., Jones K. L., Peterson D. E., Garrett K. A., Hulbert S. H., Paulitz T. C., 2010. Members of soil bacterial communities sensitive to tillage and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry*, 42, 2111–2118.

Young I. M., Ritz K., 2000. Tillage, habitat space and function of soil microbes. *Soil and Tillage Research*, 53, 201–213.

Zentner R. P., Wall D. D., Nagy C. N., Smith E. G., Young D. L., Miller P. R., Campbell C. A., McConkey B. G., Brandt S. A., Lafond G. P., Johnson A. M., Derksen D.

A., 2002. Economics of crop diversification and soil tillage opportunities in the Canadian prairies. *Agronomy Journal*, 94, 216–230.

Páginas web

RAE., <http://dle.rae.es/?id=Mk0fHqB> Real Academia Española Consultado: 31/08/16

Lorentz P., 1936. *The Plow that Broke the Plains*. US Resettlement Administration., <http://www.youtube.com/watch?v=fQCwhjWNcH8&feature=related> Consultado: 31/08/2016

QIIME org., <http://www.qiime.org>

17. Anexo de figuras

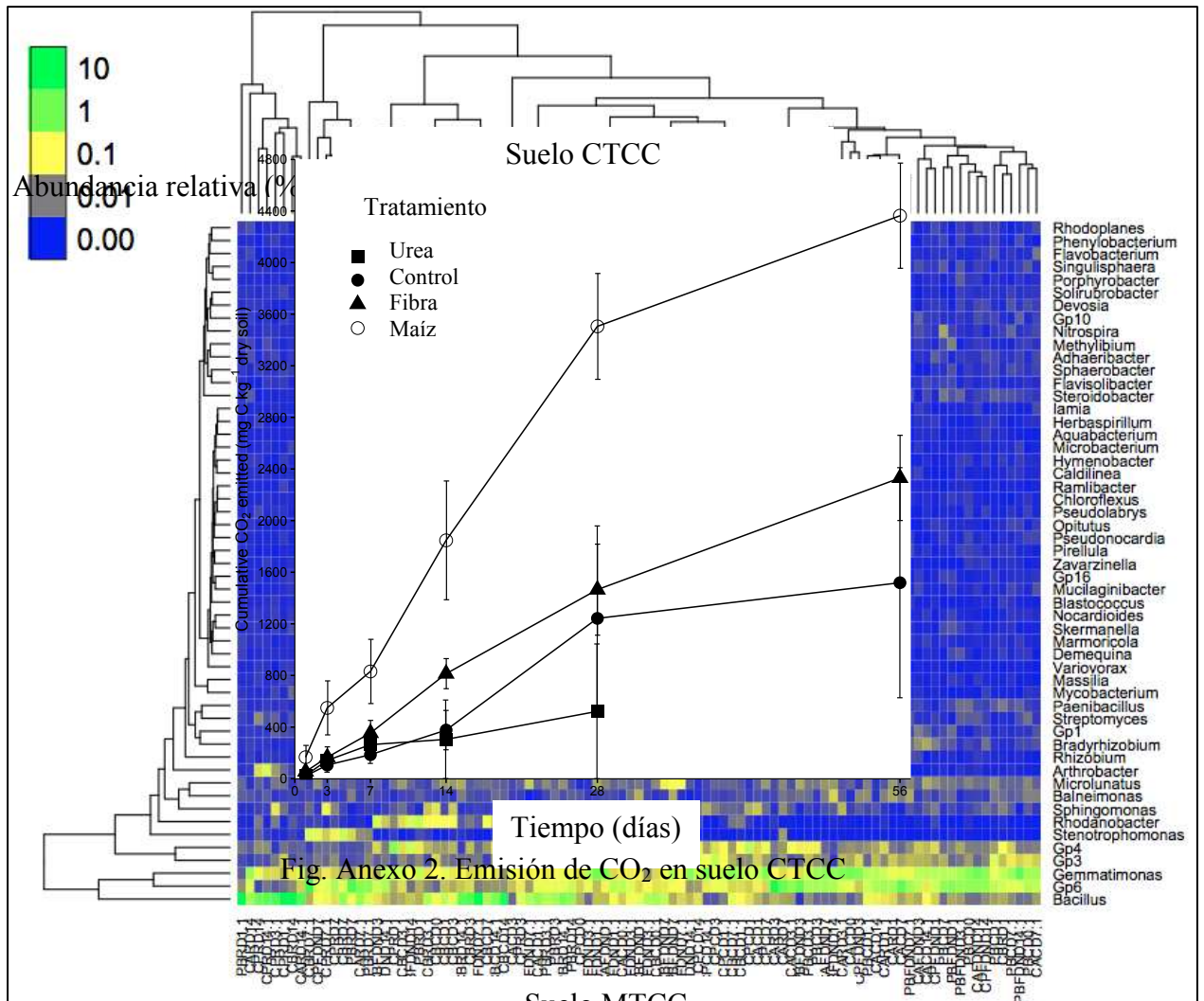


Fig. Anexo 1. Se muestra de distintos sustratos a prácticas de manejo agrícola

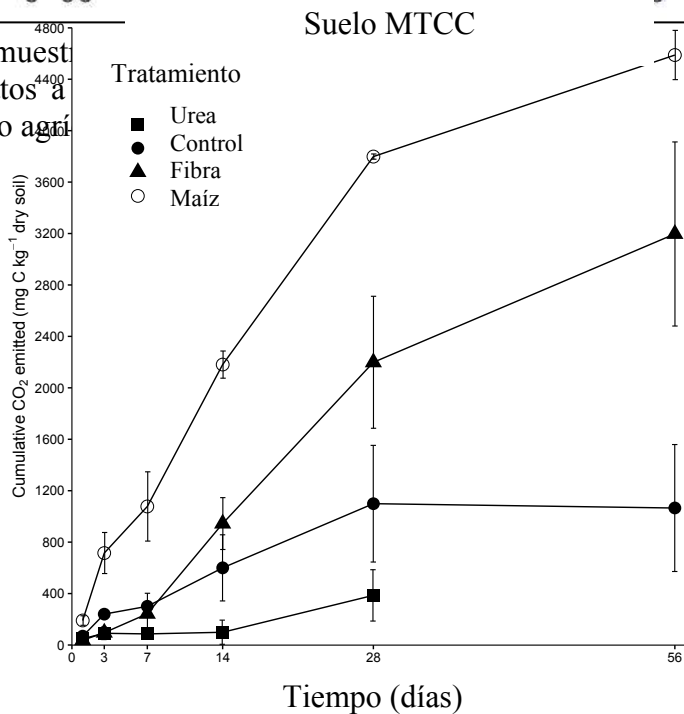


Fig. Anexo 3. Emisión de CO₂ en suelo MTCC

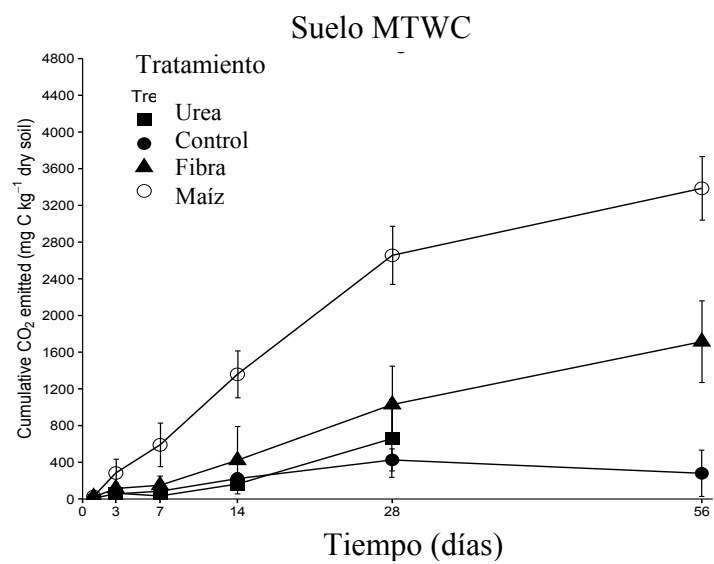


Fig. Anexo 4. Emisión de CO₂ en suelo MTWC

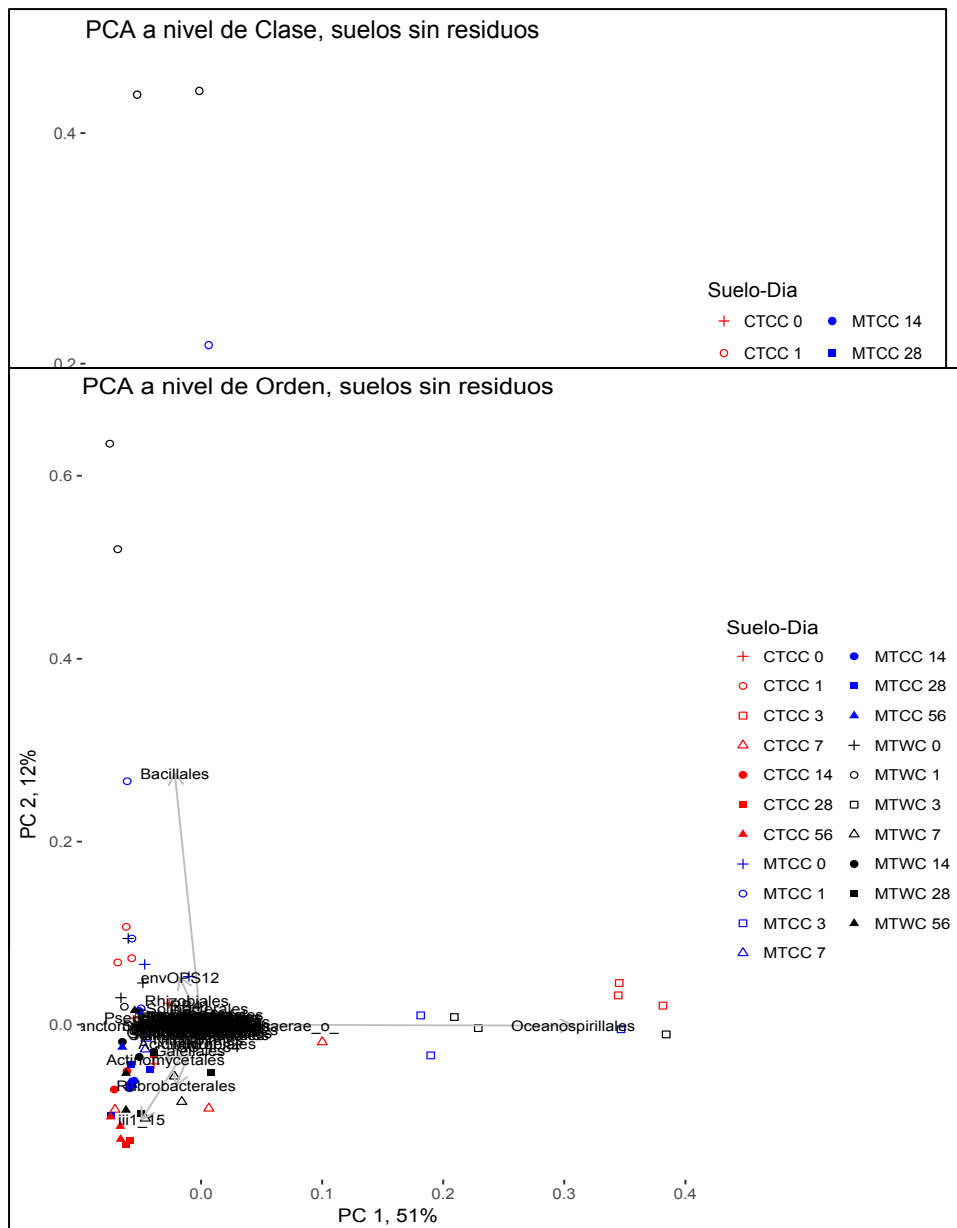
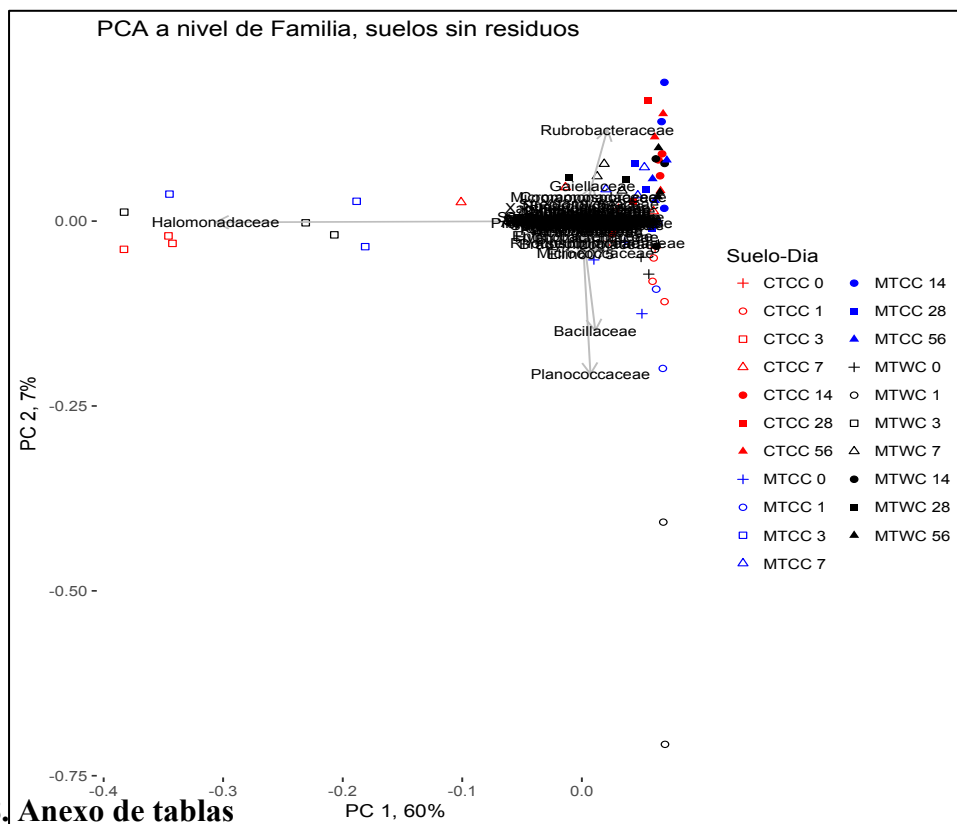


Fig. Anexo 6. PCA a nivel de Orden de suelos CTCC, MTCC y MTWC ¹²¹ incubados por 56 días sin adición de residuos



18. Anexo de tablas

Fig. Anexo 7. PCA a nivel de familia de suelos CTCC, MTCC y MTWC incubados por 56 días sin adición de residuos

Tabla

**Anexo 1.
Emisión de
CO₂ en los
suelos
CTCC,
MTCC y
MTWC, sin
adición y
con adición
de residuos
de rastrojo
de maíz,
FDN y urea,
incubados
aeróbicame
nte por 56
días**

S	T	E
u	r	mi
e	a	sió
l	t	n
o	a	de
	m	C
	i	O ₂
	e	(m
	n	g C
	t	kg ⁻¹
	o	sue
		lo
		sec
		o)
C	C	4
T	o	8
C	n	0
C	t	
	r	b
	o	
	l	
	U	5
	r	1
	e	0
	a	
		b
	F	8
	D	6

N	4
	b
M	1
a	8
í	7
z	7

		a
M	C	5
T	o	6
C	n	2
C	t	
	r	b
	o	
	l	
	U	5
	r	7
	e	9
	a	
		b
	F	1
	D	1
	N	1
		9
		b
	M	2
	a	0
	í	9
	z	2

		a
M	C	1
T	o	7
W	n	9
C	t	
	r	b
	o	
	l	
	U	1
	r	8
	e	3
	a	

	b
F	5
D	7
N	4

	b
M	1
a	3
í	8
z	3

a

CTCC:

Incorporación de residuos mediante labranza convencional sin rotación de cultivos.

MTCC:

Incorporación de residuos mediante labranza mínima sin rotación de cultivos.

MTWC:

Agricultura de conservación, retención de residuos en la superficie y rotación de cultivos trigo-algodón.

Análisis HSD Tukey, Emisión de CO₂ con diferente letra indica diferencia significativa entre los tratamientos.

19. Anexo de determinaciones fisicoquímicas

Determinación de Nitrógeno total Kjeldahl (Black C. A., 1965)

- Pesar 1 ó 2 grs. De suelo y colocarlos en un tubo de digestión Kjeldahl
- Agregar a cada tubo incluyendo los blancos:
 - 1 gr. de sulfato de potasio
 - 0.5 grs de sulfato de cobre o HgO
 - 10 ml de H₂SO₄

Colocar los tubos en el digestor a 120 °C, subir la temperatura paulatinamente hasta alcanzar 320 °C. Cuando haya desaparecido el color de las muestras, es el final de la digestión, apagar el bloque de digestión y dejar enfriar. Realizar la destilación arrastrando con agua destilada el contenido de cada tubo y depositarlas en matraz Erlenmeyer de 500 ml. Llevar hasta un volumen aproximado de 220 ml y agregar cuerpos de ebullición. Agregar 35 ml de una solución de NaOH/Tiosulfato de sodio al 40/5 respectivamente, sin agitar. Colocar inmediatamente el matraz en el destilador y proceder a la destilación recibiendo en 10 ml de solución de ácido bórico al 2 % con indicador mixto. Al obtener 100 ml del destilado, sacar la manguera de la solución y continuar destilando hasta 120 ml.

Preparación de indicador mixto (azul de metileno-rojo de metilo)

- a) 200 mg de rojo de metilo en 100 ml de etanol al 95 %
- b) 100 mg de azul de metileno en 50 ml de etanol al 95 %
- Mezclar a y b. Tiempo de caducidad un mes aproximadamente.

Solución de ácido bórico como indicador

Disolver 20 grs. de ácido bórico en H₂O destilada exenta de amoniaco, y agregar 10 ml del indicador mixto, posteriormente aforar a 1 l.

Cálculos

$$\text{mg N kg}^{-1} \text{ SS} = ((\text{ml de HCl gastado} - \text{ml blanco}) * \text{N HCl} * 14 * 1000) / \text{g SS}$$

donde:

N HCL es la normalidad del HCl utilizado en la titulación.

g SS son los gramos de la muestra en suelo seco.

Determinación de la Capacidad de retención de agua (CRA) (Black C. A., 1965)

1. Pesar una pieza de papel filtro 10 x 10 cm (p. Ej. Whatman 42).
2. En un embudo, colocar el papel filtro y adicionar 50 g de suelo.
3. Adicionar agua destilada hasta inundar el suelo por completo.
4. Cubrir con aluminio la muestra y el embudo evitando la evaporación.
5. Dejar reposar por 24 h y pesar el papel filtro junto con el suelo húmedo.

Cálculos

$$\text{CRA (g kg}^{-1}) = ((\text{Wt} - (\text{pt} * \text{Fpf}) - \text{W SS}) * 1000) / \text{W SS}$$

Donde:

Wt: Peso total drenado 24 h (papel filtro húmedo más suelo húmedo)

Pf: Peso del papel filtro inicial (seco)

FpF: Factor de retención de agua del papel filtro, se obtiene con blancos de papel filtro saturados con agua y dispuestos de la misma manera en embudos con cubiertos con aluminio, drenados por 24 h. El $\text{Fpf} = \text{peso pf húmedo (24 h drenado)} / \text{peso pf seco (inicial)}$.

W SS: Peso del suelo seco.

Determinación de textura (Black C. A., 1965)

1. Eliminación de materia orgánica: En caso de que las muestras tengan un alto contenido de materia orgánica, se adiciona H_2O_2 y se permite su evaporación, repitiendo este procedimiento hasta que no se observe la formación de efervescencia.
2. Pesar 50 g de suelo
3. Agregar aproximadamente 600 ml de agua destilada y colocar en un vaso de mezclado 19 ml de dispersante (hexametáfosfato de sodio 50 g l).
4. Agitar por 2 minutos
5. Verter a una probeta de 1 l y aforar con agua destilada.
6. Agitar por inversión por 1 minuto para homogeneizar, reposar 40 segundos y tomar la primera lectura de temperatura y del hidrómetro.
7. Dejar reposar por 2 h y realizar la segunda lectura del hidrómetro y de la temperatura.

Cálculos

$\% \text{ de limo} + \% \text{ de arcillas} = (1^{\text{a}} \text{ lectura} + ((T1 - 20) * 0.36)) * 100 / \text{g de suelo}$

$\% \text{ de arena} = 100 - (\% \text{ de limo} + \% \text{ de arcilla})$

$\% \text{ de arcilla} = (2^{\text{a}} \text{ lectura} + ((T2 - 20) * 0.36)) * 100 / \text{g de suelo}$

Determinación de pH (Black C. A., 1965)

1. Pesar 10 g de suelo en un vaso de precipitado y adicionar 25 ml de agua destilada.
2. Agitar con magneto durante 10 min.
3. Dejar reposar por 10 min.
4. Leer con potenciómetro calibrado.

Determinación de Conductividad electrolítica (Black C. A., 1965)

1. Pesar 200 g de suelo y adicionar c. B. P 100 % de CRA, mezclar hasta homogeneizar.
2. Reposar por 24 h en refrigeración.
3. Centrifugar a 3500 rpm durante 30 min.

4 Extraer el sobrenadante y leer en conductímetro, calibrando con los estándares respectivos.

Determinación de carbono total (Amato M., 1983)

Preparar soluciones de:

- NaOH 1M

Mezcla digestora:

- H₂SO₄ conc. 60 ml

- H₃PO₄ conc. 40 ml

- K₂Cr₂O₇ 5 g

- Adicionar el suelo seco al fondo del tubo de ensaye de 2.5 x 2.5 cm.

- Colocar un bastoncillo de vidrio en el fondo del tubo

- Adicionar 20 ml de mezcla digestora al tubo anterior, evitando que toque las paredes del tubo.

- Colocar un tubo de ensaye con rosca con 20 ml de NaOH 1M.

- Tapar inmediatamente con un sub-seal.

- Calentar paulatinamente hasta que alcance una temperatura de 130 °C, manteniendo esta temperatura por varias horas y hasta que no se observe la producción de burbujas en la mezcla digestora. Dejar reposar por 24 h y titular la solución de NaOH para HCO₃⁻

20. Anexo de artículo

Se incluye el artículo correspondiente al capítulo 1 de este proyecto