



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGIA

**EFFECTO DEL CAMBIO DE USO DE SUELO EN LAS EMISIONES DE
CO₂ Y LAS POBLACIONES MICROBIANAS EN EL MONTE
TLÁLOC, SIERRA NEVADA**

ANA RUBÍ GONZÁLEZ VELASCO

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2016

La presente tesis titulada: **EFFECTO DEL CAMBIO DE USO DE SUELO EN LAS EMISIONES DE CO₂ Y LAS POBLACIONES MICROBIANAS EN EL MONTE TLÁLOC, SIERRA NEVADA** realizada por la alumna: **ANA RUBÍ GONZÁLEZ VELASCO**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS
EDAFOLOGÍA**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:

DR. JUAN JOSÉ ALMARAZ SUAREZ

ASESOR:

DR. RONALD FERRERA CERRATO

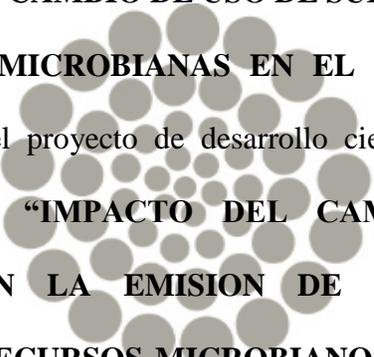
ASESOR:

DR. RAMÓN IGNACIO ARTEAGA GARIBAY

Montecillo, Texcoco, Estado de México

2016

La presente tesis: **“EFECTO DEL CAMBIO DE USO DE SUELO EN LAS EMISIONES DE CO₂ Y LAS POBLACIONES MICROBIANAS EN EL MONTE TLÁLOC, SIERRA NEVADA”**, fue financiada por el proyecto de desarrollo científico para atender problemas nacionales **CONACYT 213059 “IMPACTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO Y LA ACTIVIDAD AGRÍCOLA EN LA EMISION DE GASES DE EFECTO DE INVERNADERO Y EN LOS RECURSOS MICROBIANOS DE LA SIERRA NEVADA, MÉXICO**



CONACYT

EFFECTO DEL CAMBIO DE USO DE SUELO EN LAS EMISIONES DE CO₂ Y LAS POBLACIONES MICROBIANAS EN EL MONTE TLÁLOC, SIERRA NEVADA.

Ana Rubí González Velasco, M.C.
Colegio de Postgraduados

RESUMEN

Los suelos de ecosistemas forestales son importantes almacenes de carbono, los cuales pueden ser afectados por el cambio de uso de la tierra y el cambio climático. En el presente trabajo se estudió el efecto del uso del suelo en las comunidades microbianas y en las emisiones de CO₂, en el Monte Tláloc, Sierra Nevada, Centro de México. El experimento se estableció en un área de 3000 m² en el ejido de San Pablo Ixayoc, que incluyó tres usos de la tierra: plantación de *Pinus ayacahuite*, bosque de encino (*Quercus rugosa* y *Q. laurina*) y cultivo de maíz. En cada uso del suelo se tuvieron cuatro repeticiones y en cada una de estas se establecieron tres cuadros para medir los flujos de CO₂ del suelo a través del método de la cámara dinámica cerrada. Se midió la temperatura y humedad del suelo, se cuantificaron poblaciones microbianas y se determinó C, N y P. El cultivo presentó mayor humedad del suelo que los otros usos del suelo en la temporada de lluvias. El área de cultivo tuvo en promedio una temperatura del suelo de 13.5 °C, la plantación forestal de 11 °C y el bosque de encino de 10.8 °C. Las emisiones de CO₂ en los tres sitios con uso diferente de suelo, durante el periodo de septiembre 2014 a octubre 2015, presentaron marcadas variaciones estacionales. En general, los mayores flujos de CO₂ se registraron en la plantación forestal y en el bosque de encino, con un promedio anual de 2.93 μmol m⁻² s⁻¹ y 2.91 μmol m⁻² s⁻¹, respectivamente, y la más baja en la zona agrícola con 2.05 μmol m⁻² s⁻¹. El bosque de encino presentó el mayor almacén de carbono en el suelo con 148 t ha⁻¹, la conversión de uso agrícola a uso forestal generó una ganancia de carbono del suelo de 16.97% en los últimos 20 años al pasar de 59.07 a 69.11 t de carbono. Las poblaciones microbianas fueron mayores en la estación de lluvias que en la seca. El bosque de encino tuvo en temporada de lluvias el número más alto de actinomicetos con 8 X 10⁵ unidades formadoras de colonias (UFC), mientras que el cultivo y la plantación forestal tuvieron el más alto número de hongos con cerca de 17 X 10⁴ UFC. El índice Shannon- Weaver de la diversidad metabólica microbiana en los tres usos del suelo (bosque de encino, plantación forestal y cultivo) fue estadísticamente igual y en la estación de lluvias este índice fue significativamente más alto que en la estación seca. Los resultados sugieren que el cambio de uso del suelo altera las condiciones de humedad y temperatura, afectando las emisiones de CO₂ y las poblaciones microbianas.

Palabras claves: Ciclo del carbono, poblaciones microbianas, flujos de CO₂, actividad metabólica, carbono del suelo.

EFFECT OF LAND USE CHANGE IN CO₂ EMISSIONS AND MICROBIAL POPULATIONS IN MOUNT TLÁLOC, SIERRA NEVADA

Ana Rubí González Velasco, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2015

ABSTRACT

Soils of forest ecosystems are important carbon stores which can be affected by land use change and climate change. In this work the effect of land use in microbial communities and CO₂ emissions on Mount Tlaloc, Sierra Nevada, Central Mexico was studied. The experiment was established in the ejido San Pablo Ixayoc at an area of 3000 m², which included three land uses: *Pinus ayacahuite* plantation, oak forest (*Quercus rugosa* and *Q. Laurina*) and a corn field. Each land use had 4 replicates and in each one three square frames were established to measure soil CO₂ fluxes with the dynamic chamber method. Soil temperature and moisture, microbial populations, C, N and P were determined. The crop area had higher soil moisture than the other land uses during the rainy season. The cultivation area had an average soil temperature of 13.5 °C, forest plantation of 11 °C and oak forest of 10.8 °C. The highest C level was found on the oak forest soil with 7%. The CO₂ emissions in the three areas with different land use during the period of September 2014 to October 2015, showed marked seasonal variations. Overall the CO₂ fluxes were higher in the forest plantation and oak forest with an annual average of 2.93 μmol m⁻² s⁻¹ and 2.91 μmol m⁻² s⁻¹, respectively, and the lowest in the agricultural area with 2.05 μmol m⁻² s⁻¹. The oak forest soil was the highest carbon store with 148 t ha⁻¹. The Conversion of agricultural land to forest plantation had a soil carbon gain of 16.97% in the last 20 years, increasing from 59.07 to 69.11 t of carbon. Microbial populations were higher in the rainy season than in the dry. Oak forest had during the rainy season the highest number of actinomycetes with 8 X 10⁵ colony forming units (CFU), while the crop land and forest plantation had the highest number of fungi with about 17 X 10⁴ CFU. The Shannon Weaver index of microbial metabolic diversity in the three land uses (oak forest, forest plantation and cultivation) was statistically equal, but in rainy season this index was higher than in the dry season. The results suggest that changing land use alters the conditions of soil moisture and temperature, affecting CO₂ emissions and microbial populations.

Keywords: carbon cycle, Microbial populations, CO₂ fluxes, metabolic activity, soil carbon.

AGRADECIMIENTOS

A CONACyT por la beca proporcionada para el desarrollo de la presente investigación.

Al Colegio de Postgraduados, por la oportunidad y confianza brindada en el proceso de mi formación.

Al Dr. Juan José Almaraz Suárez, muchísimas gracias por todo el apoyo brindado a lo largo del proyecto, por su paciencia, por compartir su tiempo y conocimientos conmigo. Es usted una persona única y maravillosa. Gracias por aceptarme desde la primera vez que platicamos.

Al Dr. Ronald Ferrera-Cerrato, por sus pláticas tan lindas y amenas, por permitir utilizar ampliamente el instrumental del laboratorio de Fijación de Nitrógeno.

Al dr. Jesus Pérez Moreno, por brindarme la oportunidad de conocerlo, es una persona tan humilde, accesible y humana, fue una linda oportunidad conocer a una persona como usted.

Al Dr. Garibay por sus atinados comentarios en las reuniones que hicimos, le agradezco su confianza.

Dedico un especial reconocimiento a la M.C. Cristina Heredia y M.C. Yadira Cornejo, por todas las veces que me apoyo y me resolvió muchas dudas. Son un amor de personas, gracias por tanto café.

A Ma. Del Rosario Galicia López por ser siempre tan atenta y gentil conmigo, también por solucionarme las dudas administrativas que llegaba a tener.

Les agradezco mucho al Sr. Genaro Pineda y Margarito Pineda por las decenas de veces que me apoyaron en las salidas de campo, por hacer amenas las salidas, y por tener disposición cada vez que los necesitamos.

DEDICATORIA

Agradezco a Dios por darme la oportunidad de conocer a este grupo de trabajo, de crecer, madurar, sufrir cuando no entendía y padecer cada una de las experiencias vividas a lo largo de estos dos provechosos años. Gracias por brindarme entendimiento y lograr mis objetivos en la maestría.

A mis padres, porque a pesar de la distancia siempre estuvieron atentos a mi estado de ánimo, me apoyaron a pesar de no saber en qué consistía una maestría y porqué yo quería hacerla, sin embargo siempre me hicieron sentir lo orgullosos que están de mí, y eso me anima para llegar muy lejos y lograr mis objetivos. Gracias por todo.

A la familia Pineda Raygoza por brindarme siempre hospitalidad las veces que yo estaba en Puebla. Gracias por ser amables conmigo, en especial a la Sra. Bety.

Gracias a Ivan Pineda Raygoza, (Otra tesis más) por el tiempo y aguante que tuvo durante estos dos años, y por apoyarme en todo lo que yo quise hacer. Gracias por todo, por ser como eres y por estar conmigo en todo momento.

Esta tesis se la dedico a mis tíos, Daniel Pérez e Irma Velasco, por estar al pendiente de mí, y a ser tan lindos y preocuparse por mí, esté donde esté.

Este trabajo se lo dedico a mis amigos que conocí en la maestría y a los ya conocidos: Gerardo, Abigail, Conchis, Chris por ayudarme en la estadística, y a todos los que en su momento me hicieron muy amena y feliz mi estancia en el colegio.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	vi
CAPÍTULO 1	1
INTRODUCCION	1
REVISIÓN GENERAL DE LITERATURA	2
1.1 Efecto del cambio de uso del suelo en las características físico-químicas y biológicas del suelo ..	3
1.2 Importancia de la materia orgánica en ecosistemas forestales	4
1.3 Pérdida y captura de Carbono en los ecosistemas	6
1.4 Función e importancia de los microorganismos del suelo.....	8
1.5 Comunidades microbianas en ecosistemas forestales y agroecosistemas	9
1.6 Métodos para medir respiración microbiana del suelo.....	11
Literatura citada.....	13
CAPÍTULO 2	18
OBJETIVOS.....	18
2.1 OBJETIVO GENERAL	18
2.1.1 Objetivos particulares.....	18
2.2 HIPÓTESIS	18
CAPÍTULO 3	19
FLUJOS DE CO ₂ EN TRES ÁREAS CON USO DIFERENTE DE SUELO EN EL MONTE TLÁLOC.	19
3.1 Resumen.....	19
3.2 INTRODUCCIÓN.....	21
3.3 MATERIALES Y MÉTODOS	
3.3.1 ÁREA DE ESTUDIO Y ESTABLECIMIENTO DE EXPERIMENTO	23
3.3.2 Medición de flujos de CO ₂ , humedad y temperatura	24
3.3.3 Análisis de laboratorio	24
3.3.4 Análisis estadísticos	25
3.4 RESULTADOS.....	25
3.4.1 Humedad y temperatura	25

3.4.2 Precipitación	28
3.4.3 Características del suelo	28
3.4.4 Respiración del suelo	30
3.4.5 Carbono acumulado en los tres usos de la tierra	32
DISCUSIÓN.....	33
Factores ambientales y físicos químicos del suelo.....	33
Variación estacional de la respiración del suelo	36
CONCLUSIONES	39
LITERATURA CITADA.....	40
CAPÍTULO 4.....	46
POBLACIONES MICROBIANAS Y DIVERSIDAD METABÓLICA EN TRES SITIOS CON USO DIFERENTE DE SUELO EN EL MONTE TLÁLOC.....	46
4.1 Resumen	46
4.2 INTRODUCCIÓN.....	48
4.3 MATERIALES Y MÉTODOS	52
4.3.1 Área de estudio.....	52
4.3.2 Toma de muestra en campo.....	52
4.3.3 Análisis de laboratorio	52
5.3.4 Perfil metabólico	53
4.3.4 Análisis estadístico.....	55
4.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
4.4.1 Bacterias totales	56
4.4.2 Hongos totales	57
4.4.3 Actinomicetos	59
4.4.4 Bacterias solubilizadoras de fosfatos	61
4.4.5 Bacterias productoras de ácido indolacético	63
4.4.6 Diversidad metabólica.....	64
CONCLUSIONES	68
LITERATURA CITADA.....	69

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Análisis de correlación entre el flujo de CO ₂ , la humedad y la temperatura del suelo de los tres sitios con diferente uso del suelo en el Monte Tláloc.	28
Cuadro 2. Características químicas de suelos con diferente uso en el Monte Tláloc.	31
Cuadro 3. Toneladas de Carbono del suelo y mantillo en los tres sitios con uso diferente del suelo, en el monte Tláloc.	32

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Humedad del suelo en tres sitios con diferente uso de suelo en el Monte Tláloc. PF: Plantación forestal, ZA: Zona Agrícola, BE: Bosque de Encino. Las barras en los puntos indican el error estándar.	25
Figura 2. Temperatura del suelo en tres sitios con diferente uso de suelo (PF: Plantación Forestal, ZA: Zona Agrícola, BE: Bosque de Encino). Las barras en los puntos indican el error estándar.	26
Figura 3. Precipitación mensual del área de estudio, en el Monte Tláloc.	27
Figura 4. Variación estacional de los flujos de CO ₂ del suelo en tres sitios con diferente uso del suelo en el Monte Tláloc. PF: Plantación forestal de <i>Pinus ayacahuite</i> , ZA: Zona agrícola, BE: Bosque de encino. La barra en cada punto indica el error estándar.	29
Figura 5. Poblaciones de bacterias totales en el periodo de lluvias (septiembre 2014) y seco (enero 2015), en tres sitios con uso diferente de suelo: Zona agrícola; Bosque de encino y Plantación forestal de <i>pinus ayacahuite</i> , en el Monte Tláloc.	55
Figura 6. Poblaciones de hongos totales, en periodo de lluvias (septiembre 2014) y secas (enero 2015) en tres sitios con uso diferente de suelo: Zona agrícola, Bosque de encino y Plantación forestal de <i>Pinus ayacahuite</i> , en el Monte Tláloc.	57

Figura 7. Poblaciones de actinomicetos, en periodo de lluvias (septiembre 2014) y secas (enero 2015) en tres sitios con uso diferente de suelo.: Zona agrícola, Bosque de encino y Plantación forestal de *Pinus ayacahuite*, en el Monte Tláloc. **59**

Figura 8. Poblaciones de bacterias solubilizadoras de fosfato, en periodo de lluvias (septiembre 2014) y de secas (enero 2015) en tres sitios con uso diferente de suelo: Zona agrícola, Bosque de encino y Plantación forestal de *Pinus ayacahuite*, en el Monte Tláloc. **62**

Figura 9. Poblaciones de bacterias productoras de ácido indolacético en el periodo de lluvia (septiembre 2014) y de secas (enero 2015), en tres sitios con uso diferente de suelo: zona agrícola; bosque de encino; plantación forestal de *Pinus ayacahuite*, en el Monte Tláloc. **63**

Figura 10. Índice de Shannon- Weaver de sustratos metabolizados en Biolog EcoPlate, en tres sitios con uso diferente de suelo, en dos periodos estacionales. Húmedo: lluvias (septiembre) y secas (enero). n = 12. **64**

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

El uso de la tierra y cambios en la cobertura del suelo provocan un pérdida de 13 millones de hectáreas en zonas boscosas (FAO, 2010), esto se debe principalmente al aumento de la actividad antropogénica ligada a la explotación forestal y en general es seguido por la pérdida de la vegetación natural del ecosistema (Latocha *et al.*, 2016). La agricultura es una de las principales actividades emisoras de gases de efecto invernadero, las áreas forestales que se convierten en terrenos de cultivos causan un desequilibrio ecológico y afectan a los procesos biogeoquímicos que se llevan a cabo en el suelo, disminuyendo las poblaciones microbianas que intervienen en dichos procesos; además este cambio de uso de suelo incrementa la erosión del suelo y aumenta las tasas de descomposición de la fracción orgánica creando así un aumento en el flujo de CO₂. En el suelo el CO₂ se produce fundamentalmente a través del metabolismo de los microorganismos y de las raíces de las plantas, siendo la descomposición microbiana de compuestos orgánicos el proceso más importante que lo genera. Durante la descomposición una parte del carbono es devuelto a la atmosfera en forma de CO₂, mientras que otra se transforma en otros compuestos más sencillos o se almacena en las propias estructuras microbianas. En particular, la biomas forestal y la materia orgánica del suelo han sido las reservas más afectadas por el cambio de uso del suelo y la transformación agrícola, debido a su relativamente bajo periodo de renovación que es entre 30 y 100 años (Fuentes, 2011).

Sin embargo, esta disminución del carbono sugiere la oportunidad de que a través de tiempo y con un correcto manejo se pueda incrementar la captura de carbono de los ecosistemas terrestres, tomando en cuenta la velocidad de acumulación de carbono, las condiciones del suelo, el clima y la vegetación (Fuentes, 2011). Por consiguiente, es importante examinar en qué medida varían los flujos de carbono y la capacidad de los diferentes usos de suelos para emitir o actuar como sumideros de carbono. En el presente trabajo se abordaron tres diferentes aspectos referente al cambio de uso de suelo los cuales son: medir la emisiones de CO₂ en tres usos diferentes de la tierra (bosque de encino, plantación forestal y zona agrícola), cuantificar las poblaciones microbianas presentes en esos sitios durante un periodo de lluvia y uno de secas, y determinar la diversidad metabólica microbiana de cada sitio a partir del índice de diversidad de Shannon- Weaver.

REVISIÓN GENERAL DE LITERATURA

1.1 Efecto del cambio de uso del suelo en las características físico-químicas y biológicas del suelo

Actualmente, el cambio de uso de suelo ha sido impulsado en gran parte, por el crecimiento poblacional y sus demandas de alimentación e infraestructura. Como consecuencia de estos eventos, se afecta directamente la biodiversidad, los ciclos biogeoquímicos, y los servicios ambientales (Pérez *et al.*, 2013). SEMARNAT (2003) reporta que entre 1993 y 2002, aproximadamente 2.8 millones de hectáreas cambiaron su uso, los ecosistemas más afectados entre esas fechas fueron las selvas (perdiendo alrededor de 1.3 millones de hectáreas), seguidas por los matorrales (cerca de 953 mil hectáreas) y los bosques templados (aproximadamente 370 mil hectáreas). En todos los casos, la agricultura fue la principal causa del cambio de uso del suelo en el país. La FAO (1995) estimó que para finales del siglo XX en Latinoamérica, los bosques y selvas se reducirían al 53% de la cobertura original. El cambio de uso de suelo ha provocado en México que cerca del 35 % del área natural de bosques templados haya sido deforestada, esta área representa cerca del 19.2 % del territorio nacional con aproximadamente 38.4 millones de hectáreas (FAO, 2005). Por otro lado, los bosques templados han sido fuertemente impactados por el manejo forestal, que ha modificado la composición de especies, las condiciones microclimáticas, los flujos de materiales y la tasa de formación de claros (Martínez-Falcón *et al.*, 2006).

El cambio del uso de la tierra modifica los procesos físicos, químicos y biológicos del suelo que intervienen en la productividad del ecosistema; en el ámbito biológico, la respiración del suelo se ve afectada con el cambio de uso de la tierra de forestal a cultivo agrícola, ya que al desproteger la capa superficial del suelo se destruye la estructura (macro y microagregados) por el impacto de la lluvia, se acentúan los cambios bruscos de temperatura, aumenta la tasa de evaporación y la erosión,

disminuye la tasa de infiltración, y la cantidad de nutrimentos para las raíces de las plantas y los microorganismos (Heimann y Reichstein, 2008). Tales cambios de uso de la tierra han sido reconocidos como el factor principal de la alteración de la funcionalidad del ecosistema, incluyendo el ciclo del carbono y nitrógeno, y de la modificación de la diversidad de especies vegetales y la productividad del ecosistema (Cusack *et al.*, 2013). Fraterrigo *et al.* (2006) reporta que las comunidades microbianas se ven afectadas en su estructura y función por el cambio de uso del suelo. Esto puede tener repercusiones muy graves en el ciclaje de nutrientes y en la emisión de CO₂ a la atmósfera en países con altos niveles de modificación de la cubierta vegetal, como es el caso de México, donde más del 30% de la vegetación original ha sido removida para dedicar la tierra a otras actividades tales como agricultura, ganadería y construcción (Velázquez *et al.*, 2002).

1.2 Importancia de la materia orgánica en ecosistemas forestales

Un elemento principal, que en los ecosistemas forestales se modifica rápidamente al presentarse un cambio de uso del suelo, es la materia orgánica, debido a que está conformada por residuos animales, restos vegetales tales como raíces, hojas, ramas y excreciones a nivel rizósfera, los cuales son transferidos al suelo por eventos naturales (Berg y Laskowski, 2005). Los compuestos más representativos en la composición de la materia orgánica son la lignina, celulosa, hemicelulosa, grasas, ceras, taninos y compuestos nitrogenados. Algunos componentes de la MO, no se originan solamente de los restos vegetales o animales, pudiendo provenir de los minerales del mismo. La celulosa, la hemicelulosa y la lignina son los componentes más importantes de la hojarasca, constituyendo del 50 al 80 % de la materia seca (Berg y Smalla, 2009); estas macromoléculas, previamente a la asimilación por los microorganismos, son hidrolizadas a subunidades más simples mediante enzimas extracelulares. La materia orgánica, debido a su conformación, es importante en el funcionamiento del ecosistema, se acumula en el suelo formando horizontes, sirve de hábitat y

como alimento a muchos organismos y microorganismos que conforman una red trófica (Atlas y Bartha, 2002). También es clave como vía de transferencia de energía entre las plantas y el suelo, aportando al desarrollo, estabilidad y fertilidad de este último (Williams-Linera y Tolome, 1996). Evita que los nutrimentos se pierdan del sistema por el lavado, la lixiviación o algún otro proceso, pues al estar integrados en moléculas orgánicas pueden ser liberados paulatinamente por la acción microbiana, también es la fuente energética básica que posibilita todo el conjunto de procesos biológicos que ocurren en el suelo; la materia orgánica puede dividirse en aquella que se degrada rápidamente y la que se resiste por mucho tiempo tal degradación (Stevenson, 1982). Es la fuente básica de N, S y P del suelo. Juega un papel importante en la agregación y estructuración del suelo y tiene efectos directos sobre la retención del agua y el desarrollo vegetal. Influye también en mejorar las propiedades físico-químicas del suelo, ya que esta aumenta la capacidad de intercambio catiónico, así mismo aumenta la capacidad reguladora ácido - base, permite la estabilidad coloidal e influye sobre los procesos de óxido- reducción.

La descomposición de la materia orgánica contribuye al adecuado funcionamiento de los ciclos biogeoquímicos, y la productividad primaria, así como al mantenimiento de la fertilidad del suelo forestal (Wang *et al.*, 2008). La descomposición de la materia orgánica puede dividirse en tres procesos: lavado, fragmentación y degradación química (Waring y Running, 1998). El lavado es un proceso físico por el que los iones minerales y pequeños compuestos orgánicos de la materia orgánica muerta, se disuelven en el agua y pasan al suelo. Los animales del suelo, fragmentan y mezclan la hojarasca con el suelo mineral, aumentando la superficie y las oportunidades de colonización para los microorganismos. Durante la degradación química, se producen CO₂, agua, y energía para las bacterias, hongos y actinomicetos. Los microorganismos pueden actuar como sumideros (inmovilización) o fuentes (mineralización) de carbono y nutrientes, controlando la disponibilidad de nutrientes para la vegetación. En ecosistemas forestales, se considera que valores

de la relación C:N mayores de 25 indican que no hay liberación neta de nitrógeno en la materia orgánica en descomposición (Chapin, *et al.*, 2002). En el caso de la recuperación de áreas degradadas por actividades antropogénicas, recuperar los procesos biológicos, físicos y químicos es fundamental, ya que la vegetación ha sido eliminada y ha provocado un desequilibrio de los ciclos biogeoquímicos y con ello la actividad biológica.

1.3 Pérdida y captura de Carbono en los ecosistemas

El carbono es el elemento principal de la vida y su ciclo es fundamental para el desarrollo de todos los organismos, se encuentra acumulado en compartimentos llamados depósitos y circula activamente entre ellos. Existen cuatro reservas principales de C, los océanos almacenan la mayor cantidad con 38,000 Gt [1 Gt=mil millones de toneladas], seguido por el suelo con 1500 Gt, la atmósfera con 750 Gt y las plantas con 560 Gt (FAO, 2000). Un cambio en cualquiera de estas reservas tiene efecto directo en las otras, debido a que están íntimamente ligadas. Los bosques son los almacenes de carbono más importantes del mundo y son responsables de la mayor parte de los flujos de carbono entre la tierra y la atmósfera a través de la fotosíntesis y la respiración (Rodríguez *et al.*, 2006). El C dentro de los bosques se encuentra capturado en los componentes estructurales de las plantas (hojas, ramas, corteza, tronco, raíces), en el mantillo acumulado en el piso forestal, en el material leñoso en proceso de descomposición, en el suelo mineral y en la biomasa microbiana (Cadena, 2006). La contribución microbiana al almacenamiento de C en el suelo está directamente relacionada con la dinámica de la comunidad microbiana y el equilibrio entre la formación y la degradación de los subproductos microbianos. Se calcula que las emisiones de carbono originadas por la quema de la biomasa aérea, la descomposición y el cambio en el uso del suelo producto de la deforestación (incluyendo pérdidas de carbono en el suelo) en estimaciones conservadoras van de 51.4 a 53.6 Mt C año⁻¹ y en estimaciones altas son de 63.4 a 71 Mt C año⁻¹ (Ordóñez, 1999).

En México, los bosques, por la explotación forestal, incendios y cambio de uso de la tierra, representan la segunda fuente de emisión de gases efecto invernadero, contribuyen con el 30 % del total y su capacidad de almacenamiento de carbono está disminuyendo rápidamente por los procesos de deforestación, degradación de ecosistemas y cambio de uso de la tierra (Ordoñez y Masera, 2001). A nivel mundial, los bosques capturan grandes cantidades de carbono a través de la fotosíntesis y lo mantienen almacenado por largos periodos de tiempo. Por esta razón, los bosques son importantes sumideros de carbono (Ordoñez y Masera, 2001). Sin embargo, los incendios forestales provocados afectan estos procesos, siendo una de las causas más importantes de la pérdida de la vegetación natural de un ecosistema. La pérdida de la calidad de la cubierta vegetal puede cambiar la composición, la densidad de las especies presentes, afectar su estructura y funcionamiento y tener efectos negativos sobre sus servicios ambientales y sobre su posible aprovechamiento sostenible.

Sierra- Cárdenas (2010) sugiere que un sistema de producción agrícola puede funcionar como emisor o como almacén de carbono durante diferentes actividades del ciclo agrícola. El almacenamiento de carbono orgánico dependerá directo o indirectamente de la calidad y del tipo de suelo (características como estructura, temperatura y humedad), de las condiciones climáticas y de las prácticas de manejo en las que se desarrolla la producción agrícola (tipo de labranza, uso de fertilizantes, eliminación de la cobertura vegetal).

1.4 Función e importancia de los microorganismos del suelo

El suelo constituye un sistema complejo, formado por minerales, material vegetal, aire, agua y una gran variedad de microorganismos de diversos tipos fisiológicos (Juárez *et al.*, 2009), que cumplen diferentes funciones. El componente biótico que conforma el suelo incluye poblaciones de nematodos, protozoos, organismos filamentosos, levaduras, hongos, microalgas y bacterias,

incluidos los actinomicetos, el grupo archea, los quimio y fotolitótrofos y una gran cantidad de formas no cultivadas (Martínez *et al.*, 2008). Dichos microorganismos desarrollan funciones que mantienen y regulan los ecosistemas naturales, entre ellas destacan la descomposición de materia orgánica, intervención en los ciclos biogeoquímicos, producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal, inducción de la resistencia de las plantas a enfermedades o se comportan como antagonistas de agentes fitopatógenos (Sylvia *et al.*, 2005). Estas funciones están relacionadas a la interacción de las poblaciones microbianas y plantas, en un área de influencia conocida como rizósfera (Reyes *et al.*, 2007). El concepto rizósfera fue descrito por Hiltner en 1904, como la zona de las raíces donde se estimula el crecimiento de los microorganismos, los cuales utilizan los compuestos mucilaginosos (azúcares solubles, antibióticos, ácidos orgánicos y compuestos volátiles) exudados por las células radicales (McCully, 2005); otros la definen como la región del suelo que está en íntimo contacto con la raíz de la planta y recibe directamente influencia de ella, estableciendo un equilibrio ecológico entre organismos (Khan, 2005). Estos microorganismos condicionan la nutrición y salud de las plantas y por tanto el correcto funcionamiento de toda la biosfera (Dobbelaere *et al.*, 2003).

Los microorganismos del suelo juegan un papel fundamental en la sustentabilidad de los ecosistemas desarrollando funciones esenciales como: ciclado de nutrientes (C, N), mejoramiento de la estructura edáfica, formación del humus del suelo, mejoramiento de propiedades físicas, mantenimiento de la biodiversidad de los ecosistemas y aumento de la disponibilidad de nutrimentos como el nitrógeno y el fósforo (Kohler *et al.*, 2008). En los últimos años han aumentado las investigaciones interesadas en determinar la composición y función microbiana (Zogg *et al.*, 1997; Balser y Firestone, 2005). Estudios previos indican que, la composición microbiana es influenciada por factores como el pH (Högberg *et al.*, 2007) y la disponibilidad de

carbono y nutrientes, otros estudios reportan que la composición de la comunidad microbiana del suelo puede ser influenciada por las especies vegetales (Waldrop *et al.*, 2000). Las propiedades microbiológicas que se determinan en los suelos están íntimamente vinculadas con la diversidad de funciones que se realizan en el mismo. Muchas de ellas son consideradas como excelentes bioindicadores de la calidad del suelo (Alvear *et al.*, 2007). La importancia de las comunidades bacterianas en la rizósfera está dada por la interacción que presentan con las plantas, a las cuales les proporciona nutrientes mediante procesos de descomposición de sustratos de fácil asimilación (Crutsinger *et al.*, 2009). Por lo anterior, la rizósfera es un medio complejo, donde se realizan procesos muy importantes para el ecosistema y que de manera regular se encuentra en constante cambio que es ocasionado por diferentes factores como el tipo de suelo, humedad, aireación, temperatura, contenido de materia orgánica, cambio del uso del suelo y pH, los cuales de acuerdo a su intensidad van a repercutir en la diversidad y abundancia de los microorganismos y en su capacidad para cubrir las necesidades que presente el ecosistema.

1.5 Comunidades microbianas en ecosistemas forestales y agroecosistemas

Los suelos forestales contienen altas cantidades de carbono (C) por los restos de hojarasca, ramas y raíces de la vegetación que el bosque deposita en la superficie del suelo. A esta capa generalmente se le denomina, mantillo (Fisher y Binkley, 2000), donde las condiciones de humedad y temperatura son óptima para la actividad microbiana (Six *et al.*, 2006). Las actividades de estos microorganismos son irremplazables en las transformaciones de la materia orgánica, pues la biomasa microbiana contribuye en la formación del humus, la conservación de la estructura del suelo y la biodegradación de contaminantes (Hoffman *et al.*, 2003 y Bashan *et al.*, 2007). Las poblaciones bacterianas son especialmente importantes en la inmovilización y retención de nutrientes en sus células y, por lo tanto, previenen la pérdida de éstos de la zona de las raíces.

Ferrera-Cerrato (2010) estimó para los sistemas forestales los grupos microbianos principales, encontrando una población de bacterias totales de 500×10^4 y hongos filamentosos de 29×10^3 UFC/ g de suelo.

El número y tipo de bacterias presentes en un suelo están en función de las prácticas y manejo que se realicen, los microorganismos en un sistema agrícola influyen sobre la fertilidad y productividad de un cultivo, en particular, con respecto a la disponibilidad de nutrientes, la supresión de agentes causantes de enfermedades para las plantas, así como la degradación de diferentes plaguicidas (Moratto *et al.*, 2005). Esto demuestra que un buen estatus de los microorganismos del suelo es un prerequisite de su buena calidad y fertilidad (Hoffman *et al.*, 2003). Martínez *et al.* (2008) encontraron que un suelo de pastizal presenta mayor abundancia de bacterias en comparación con un suelo agrícola, esto debido a la acumulación de materia orgánica que se produce en los pastizales, mientras que en suelos agrícolas su manejo provoca la remoción de la materia orgánica, dando como resultado una disminución en la población microbiana. De la misma manera, la conversión de un bosque a área de cultivo modifica el microambiente edáfico, influye en la reducción del carbono y nitrógeno, limitando el alimento disponible para las comunidades microbianas.

1.6 Métodos para medir respiración microbiana del suelo

La respiración edáfica es un componente que más aporta a la respiración total del ecosistema (Covaleda *et al.*, 2006), la cual es más intensa en el horizonte superficial edáfico (Rastogi *et al.*, 2002). El flujo neto de CO_2 es la variable que se usa para estudiar los intercambios entre los ecosistema terrestre y la atmósfera (net ecosystem exchange, NEE). Se puede descomponer en: flujos debido a la actividad fotosintética que fija el CO_2 atmosférico y flujo debido a la respiración

que libera CO₂ a la atmósfera. La respiración del ecosistema (TER o Total Ecosystem Respiration) se compone de la respiración de la cobertura foliar, tejido leñoso y raíces de los árboles (AR, o respiración autotrófica del suelo) así como de la respiración de los microorganismos del suelo (respiración heterotrófica del suelo, HR). La suma entre las respiraciones autotróficas y la heterotrófica del suelo es lo que se denomina SR o Respiración de Suelo (Janssens *et al.*, 2001).

Se estima que los flujos de CO₂ del suelo representan el 40-80% de la respiración de un ecosistema forestal, por lo que durante los últimos años el número de estudios se han centrado en la medición de flujos en la superficie del suelo, usando una amplia gama de métodos para evaluar la respiración (Jassal *et al.*, 2005). Estos efectos directos en la respiración del suelo depende de la temperatura y humedad, por ello, un aumento de la temperatura puede provocar un aumento en el flujo de CO₂ del suelo (Janssen *et al.*, 2001).

Existen varios métodos para medir flujos de CO₂, con grandes diferencias en precisión, resolución espacial y temporal y aplicabilidad. Una de las técnicas más comunes es la cámara estática cerrada (Static Closed Chamber o SCC): en esta técnica, una cámara se cierra herméticamente sobre una porción de suelo durante un tiempo determinado (normalmente entre 20 y 60 minutos). Pasado ese tiempo, el aire se extrae y se cuantifica el CO₂ en un analizador de gas externo. Otro método para medir respiración del suelo es usando la cámara dinámica cerrada (Dynamic Closed Chamber, o DCC) (Pumpanen *et al.*, 2004). Este tipo de cámara se diferencia del anterior en que el aire se mezcla dentro de todo el sistema de medición, haciéndolo pasar por un analizador de gases infrarrojo (IRGA) portátil. Este tipo de instrumentos es más reciente que los de tipo SCC (Liang *et al.*, 2004). Otro método utilizado es el de Eddy Covariance (EC). Este sistema está compuesto de un anemómetro sónico y un IRGA, a la vez que se miden la velocidad del viento en los tres componentes espaciales y la proporción de CO₂ en el aire a alta frecuencia (10 Hz o más). Otro

sistema empleado es el de cámara abierta (open-chamber system) este presenta un flujo constante de aire a través de la cámara, y la proporción de CO₂ dentro y fuera se vigila constantemente. En este sistema, el aire no circula, pero se desplaza hacia la atmósfera. Los sistemas de cámara abierta, son extremadamente sensibles a diferencias de presión entre la cámara y la atmósfera (Jassal *et al.*, 2004).

Las técnicas con cámaras estáticas sirven tanto para medir CO₂ por absorción como por colecta. El método de “soda lime” se usa frecuentemente porque es económico, fácil de usar y particularmente adecuado cuando la variabilidad espacial es alta. De todas maneras, los instrumentos con cámaras estáticas tienden a subestimar flujos altos, y se han considerado de peor calidad que los instrumentos con cámaras dinámicas.

Literatura citada

- Alvear M., Urrea C., Huaiquilao R., Astorga R. y Reyes F. 2007. Actividades biológicas y estabilidad de agregados en un suelo del bosque templado chileno bajo dos etapas sucesionales y cambios estacionales. *Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal* 7(3): 38-50.
- Atlas R. y Bartha R. 2002. *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Cuarta edición. Pearson Educación, S.A. Madrid, España, 677 pp.
- Balser T.C. and Firestone M.K., 2005. Linking microbial community composition and soil processes in a California annual grassland and mixed-conifer forest. *Biogeochemistry* 73: 395–415.
- Bashan L., Holguin G., Glick B., y Bashan Y. 2007. Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales. *In* Ferrera-Cerrato R. y Alarcon A. *Microbiología agrícola*. (Eds) Trillas. Pp 170-224.
- Berg B. and Laskowski, R. 2005. *Litter decomposition: A guide to carbon and nutrient turnover*. (Eds. B. Berg & R. Laskowski). Academic Press, New York. 448 p.
- Berg G. and Smalla, K. 2009. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiol. Ecol.* 68, 1–13.

- Cadena M., O. I. 2006. Almacenes de carbono en el mantillo en bosques manejados de *Pinus patula* Schiede & Deppe, en el Ejido de La Mojonera, Zacualtipán, Hidalgo. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana. Córdoba, Veracruz. 53 p.
- Chapin F. S. III, Matson P.A. and Mooney H.A. 2002. Principles of terrestrial ecosystem ecology. Springer, Nueva York. 436 PP.
- Covaleda S., Pajares S., Gallardo J.F. and Etchevers J.D. 2006. Short-term changes in C and N distribution in soil particle size fractions induced by agricultural practices in a cultivated volcanic soil from Mexico. *Org. Geochem.* 37: 1943-1948.
- Crutsinger G.M., Sander N.J., Classen A.T. 2009. Comparing intra and inter-specific variation on litter dynamics. *Basic Appl. Ecol.* 10: 535-543.
- Cusack D.F., Chadwick O.A., Ladefoged T., Vitousek P.M. 2013. Long-term effects of agriculture on soil carbon pools and carbon chemistry along a Hawaiian environmental gradient. *Biogeochemistry* 112: 229-243.
- Dobbelaere J., Vanderleyden J., Okon Y. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Crit. Rev. Plant Sci.* 22: 107-149.
- FAO. 1995. Clasificación mundial de suelos. Organización de las Naciones Unidas. Roma, Italia. N°. 112, 41 pp
- FAO. 2000. Global forest resources assessment. FAO Forestry Paper N° 140. Rome, Italy. 357 p.
- FAO. 2005. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/agl/agll/docs/wsrr88.pdf> /julio 2015).
- FAO 2010. Evaluación de los recursos forestales mundiales 2010. <http://www.fao.org/docrep/013/i1757s/i1757s.pdf>
- Ferrera-Cerrato R. 2010. Microbiota edáfica y su importancia en la agricultura. *Microbiología agrícola*. Editorial trillas. Pp 40-41.
- Fichtner A., Oheimb G., Hardtle W., Wilken C., Gutnecht J.L.M. 2013. Effects of anthropogenic disturbance on soil microbial communities in oak forests persist for more than 100 years. *Soil Biol. Biochem.* 70: 79-87.
- Fisher R. and Binkley D. 2000. Ecology and Management of Forest soils . John Wiley and Sons, USA.
- Fraterrigo J.M., Balser T.C. and Turner M.G. 2006. Microbial community variation and its relationship with nitrogen mineralization in historically altered forests. *Ecology* 87: 570-579.
- FUENTES, J.A. 2011. Soil carbon dioxide flux and organic carbon content: effects of tillage and nitrogen fertilization. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 75: 1874-1884.

- Heimann M and Reichstein M. 2008. Terrestrial ecosystem carbon dynamics and climate feedbacks. *Nature* 451: 289–292.
- Hiltner L. 1904. Über neu Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderes Berücksichtigung der Grundzügen und Brauch. *Arb. Dtsch. Landwirtsch. Ges. Berlin* 98: 59-78.
- Hoffman J., Bezchlebová J., Dusek L., Dolezal L., Holoubek I., Andel P., Ansorgová A. and Maly S.. 2003. Novel approach to monitoring the soil biological quality. *Environ. Intl.* 28: 771-778.
- Hogberg, P. and Read, D.J. (2006). Towards a more plant physiological perspective on soil ecology. *Trends Ecol. Evol.* 21: 548–554.
- Janssens, I.A., Matteucci H.G., Kowalski A.S., Buchman N., Epron D., Pilegaard K., Kutsch W., Longdoz B., Grunwald T., Montagnani L., Dore S., Rebmann C., Moors E.J., Grelle A., Rannik U., Morgenstern K., Oltchev S., Clement R., Gudmundsson J., Minerbi S., Berbigier P., Ibrom A., Moncrieff J., Aubinet M., Bernhofer C., Jensen N.O., Vesala T., Granier A., Schulze E.D., Lindroth A., Dolman A.J., Jarvis P.G., Ceulamans R., Valentini R., 2001. Productivity over-shadows temperature in determining soil and ecosystem respiration across European forests. *Global Change Biol.* 7: 269–278.
- Jassal R.S., Black T.A., Drewitt G.B., Novak M.D., Gaumont-Guay D., Nestic Z. 2004. A model of the production and transport of CO₂ in soil: predicting soil CO₂ concentrations and CO₂ efflux from a forest floor. *Agr. Forest Meteorol.* 124: 219–236.
- Jassal R., Black A., Novak M., Morgenstern K., Nestic Z., Gaumont-Guay D. 2005. Relationship between soil CO₂ effluxes. *Agr. Forest Meteorol.* 130: 176 – 192.
- Jenkinson D.S., Adams D.E. and Wild A. 1991. Model estimates of CO₂ emissions from soil in response to global warming. *Nature* 351: 304 – 306.
- Juárez R., D., Fragoso C., Ferrera R., Sandoval E., Turrent A., Ocampo I. y Ocampo J. 2009. Procesos biológicos del suelo en la restauración de agroecosistemas. I simposio en Manejo Agroecológico de sistemas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. Pp 37-64.
- Khan A.G. 2005. Role of soil microbes in the rhizosphere of plants growing on trace metal contaminated soil in phytoremediation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 18: 355-364.
- Kohler J., Tortosa G., Cegarra J., Caravaca F., Roldan A. 2008. Impacto de la DOM de “alperujo” compostado en la estructura del suelo, hongos AM, la actividad microbiana y el crecimiento de *Medicago sativa*. *Gestión de residuos* 28 (8): 1423-1431.

- Latocha A., Szymanowski M., Jeziorska J., Stec M., Roszczewska M. 2016. Effects of land abandonment and climate change on soil erosion—An example from depopulated agricultural lands in the Sudetes Mts., SW Poland. *CATENA*. 145: 128-141.
- Liang N., Nakadai T., Hirano T., Qu L., Koike T., Fujinuma Y., Inoue G. 2004. In situ comparison of four approaches to estimating soil CO₂ efflux in a northern larch (*Larix kaempferi* Sarg.) forest. *Agr. Forest Meteorol.* 123: 97–117.
- Martínez E.H., Fuentes J.P., Acevedo E.H. 2008. Carbono orgánico y propiedades del suelo. *J. Soil Sc. Plant Nutr.* 8 (1): 68-96.
- Martínez-Falcón A. P., Moreno C. E., Chávez-Peón C. y Pavón N. P. 2006. Biodiversidad de meso y macrofauna y su influencia en la descomposición de la hojarasca en un bosque templado sujeto a manejo forestal. *In* E. Estrada, J. Romero, A. Equihua, C. Luna y J. L. Rosas (Eds.), *Entomología mexicana Vol. 5 Tomo 1* (pp. 321-326). Texcoco, México: Sociedad Mexicana de Entomología, Colegio de Posgraduados.
- McCully M. 2005 The rhizosphere: the key functional unit in plant/soil/microbial interaction in the field. Implications for the understanding of allelopathic effects. *Proceedings of the 4th World Congress on Allelopathy, “Establishing the Scientific Base”*. Wagga, New South Wales, Australia.
- Moratto C., Martinez J.L., Valencia H., Sanchez J. 2005. The effect of land use on phosphate solubilising fungi and diazotrophic bacteria on the bleak uplands of páramo of Guerrero, Cundinamarca department. *Agronomía Colombiana* 23 (2): 299-309.
- Ordóñez B. J. A., y Masera O. 2001. Captura de carbono ante el cambio climático. *Maderas y Bosques* 7(1): 3-12.
- Ordóñez D. J. A. B. 1999. Captura de carbono en un bosque templado: el caso de San Juan Nuevo, Michoacán. Tesis de Licenciatura. Facultad de ciencias. UNAM. México, D.F. 61 p.
- Pérez R.S., Ramírez M.I., Jaramillo L.P.F., Bautista F. 2013. Contenido de carbono orgánico en el suelo bajo diferentes condiciones forestales: reserva de la biosfera mariposa monarca, México. *Rev. Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente* 19 (1): 157-173.
- Post W.M., Emmanuel W.R, Zinke P.J, Stangenberger A.G. 1982. Soil carbon pools and world life zones. *Nature* 298: 156-59.
- Pumpanen J., Kolari P., Ilvesniemi H., Minkkinen K., Vesala T., Niinistö S., Lohila A., Larmola T., Morero M., Pihlatie M., Janssens I., Curiel Yuste J., Grünzweig J. M., Reth S., Subke J.A., Savage K., Kutsch W., Ostreng G., Ziegler W., Anthoni P., Lindroth A. and Hari P. 2004. Comparison of different chamber techniques for measuring soil CO₂ efflux. *Agr. Forest Meteorol.* 123: 159-176.

- Reyes I., Valery A., Valdúz Z. 2007. Phosphate-solubilizing microorganisms isolated from rhizospheric and bulk soils of colonizer plants at an abandoned rock phosphate mine. *Developments in Plant and Soil Sci.* 287: 69-75.
- Rodríguez L.R., Jiménez P.J., Aguirre C.O. y Treviño G.J. 2006. Estimación del carbono almacenado en un bosque de niebla en Tamaulipas México. *CIENCIA/ UANL IX (2)*: 179-188.
- Six J., Frey S.D., Thiet R.k. and Batten K.M. 2006. Bacterial and Fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 555- 569.
- Sierra-Cárdenas D. C. 2010. Relación de la captura de carbono en *Saccharum officinarum* con otros factores ambientales para el cultivo de caña panelera. Bogotá. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia.
- Smith C. and Norris C. 1995. Stevenson, F.J. 1982. Humus chemistry. Genesis composition, reactions. J. Willey & Sons. Consultado en: www.icfrnet.unp.ac.za/bulletin/o7-95/soilsens.htm.
- Sylvia M.D., Fuhrman J.J., Harlet G.P., Zuberer A.D. 2005. Principles and Applications of Soil Microbiology. Prentice Hall. 517 pp.
- Velázquez A., Mas J. F., Díaz Gallegos J. R., Mayorga Saucedo R., Alcántara P. C., Castro R., Fernández T., Bocco G., Ezcurra E., Palacio J. L. 2002. Patrones y tasas de cambio de uso del suelo en México. *Gaceta Ecológica* 62. pp. 21-37.
- Waldrop M.P., Balser T.C., Firestone M.K. 2000. Linking microbial community composition to function in tropical soil. *Soil Biol. And Biochem.* 32: 1837-1846.
- Wang Q., Wang S. and Huang Y. 2008. Comparisons of litterfall, litter decomposition and nutrient return in a monoculture *Cunninghamia lanceolata* and a mixed stand in southern China. *Forest Ecol. Manag.* 255: 1210-1218.
- Waring R. H. and Running S.W. 1998. Forest ecosystems. Analysis at multiple scales. Academic Press, San Diego. 420 pp.
- Williams L., G. and Tolome. J. 1996. Litterfall, temperature and tropical dominant trees, and climate in a mexican lower montane forest. *Biotropica* 28 (4b): 649-656.
- Zogg G. P., Zak D. R., Ringelberg D. B., White D. C., MacDonald N. W. and Pregitzer K. S. 1997. Compositional and Functional Shifts in Microbial Communities Due to Soil Warming. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61: 475-481.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del uso del suelo en las emisiones de CO₂ y en las poblaciones microbianas, en el Monte Tláloc, Estado de México, considerando tres sitios contrastantes: área agrícola, bosque de encino y una plantación forestal.

2.1.1 Objetivos particulares

- Determinar las emisiones de CO₂ de tres sitios con diferente uso de suelo: bosque de encino, plantación forestal de *Pinus ayacahuite* y una zona agrícola.
- Evaluar la influencia de la temperatura y humedad en la respiración del suelo en el Monte Tláloc.
- Cuantificar las comunidades microbianas en tres áreas con diferente uso de suelo: plantación forestal, bosque de encino y agrícola.

2.2 HIPÓTESIS

- Las emisiones de CO₂ son 40% más altas en el bosque de encino que en los otros dos usos del suelo en el Monte Tláloc.
- Las emisiones de CO₂ están significativamente asociadas a la humedad del suelo más que a la temperatura en los tres usos del suelo.
- Las poblaciones microbianas y su actividad metabólica son mayores en el bosque de encino en comparación a la plantación forestal y al área agrícola.

CAPÍTULO 3

FLUJOS DE CO₂ EN TRES ÁREAS CON USO DIFERENTE DE SUELO EN EL MONTE TLÁLOC

3.1 Resumen

En los ecosistemas forestales, el cambio de uso del suelo es un factor que puede alterar los almacenes de carbono, modificar de la cobertura vegetal y cambiar las condiciones de humedad y temperatura del suelo, provocando un aumento en los flujos de CO₂ del suelo. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del uso del suelo en las emisiones de CO₂ en el Monte Tláloc, Sierra Nevada, Centro de México. El experimento se estableció en una superficie de 3000 m² que incluyó como tratamientos tres usos de suelo (bosque de encino, plantación forestal de *Pinus ayacahuite* y cultivo de maíz) con cuatro repeticiones. En cada parcela se establecieron tres cuadros para medir los flujos de CO₂ por el método de cámara dinámica cerrada. Se midió también temperatura y humedad del suelo, y se determinó C, N, y P. Las mayores emisiones de CO₂ se registraron en la plantación forestal y en el bosque de encino con un promedio anual de 2.93 μmol m⁻² s⁻¹ y 2.91 μmol m⁻² s⁻¹, respectivamente, y la más baja en la zona agrícola con 2.05 μmol m⁻² s⁻¹. En la estación de lluvias, la mayor humedad del suelo fue en la zona agrícola en comparación al bosque de encino y la plantación forestal. El análisis de correlación entre el flujo de CO₂ y la humedad mostró que existe una correlación significativa del 75 % entre la humedad y la respiración del suelo en la plantación forestal y de 54 % en el sitio del bosque de encino. Los resultados sugieren que el cambio de uso del suelo altera las condiciones de humedad y temperatura, lo que origina cambios en los flujos de CO₂.

Palabras clave: respiración del suelo, pérdida de carbono, condiciones del suelo, encino.

CO₂ FLUXES IN THREE AREAS WITH DIFFERENT LAND USE IN MONTE TLÁLOC

3.1 Abstract

In forest ecosystems, land use change is a factor that may affect carbon storage and plant cover, modify soil moisture and temperature conditions, causing an increase in the soil CO₂ fluxes. The objective was to determine the effect of land use on the CO₂ emissions at Mount Tlaloc, Sierra Nevada, Mexico. The experiment was established in an area of 3000 m² which included three land uses (oak forest, *Pinus ayacahuite* plantation and a corn field) as treatments with four replicates. In each plot three square frames were installed to measure CO₂ fluxes by the dynamic closed chamber method. Soil temperature and moisture, as well as C, N and P were determined. The higher emissions of CO₂ were obtained in the forest plantation and oak forest with an annual average of 2.93 and 2.91 μmol m⁻² s⁻¹, respectively, and the lowest one in the cropping area with 2.05 μmol m⁻² s⁻¹. In the rainy season, higher soil moisture was recorded in the cropping area in comparison with oak forest and forest plantation. Correlation analysis between CO₂ fluxes and soil moisture showed an association of 75% between moisture and soil respiration in forest plantation and about 54% in the oak forest. The results suggest that land use change alters the soil moisture and temperature conditions, causing changes in CO₂ fluxes.

Keywords: soil respiration, carbon loss, soil conditions, oak forest.

3.2 Introducción

El cambio de uso del suelo modifica la cobertura del suelo y la captura de carbono (Arevalo *et al.*, 2009). Cada suelo tiene un potencial diferente de alcanzar un equilibrio en la cantidad de carbono que puede almacenar y se rige por la naturaleza del tipo de vegetación, condiciones climáticas y las propiedades fisicoquímicas del suelo (Lal, 2005). Sin embargo, este equilibrio puede ser alterado por el uso diferente de la tierra y la sobreexplotación, provocando una disminución en la captura de carbono y un aumento de las emisiones de CO₂ a la atmósfera, esto depende de los sistemas de cultivo y las prácticas de manejo. Es evidente que el manejo forestal intensivo altera considerablemente las propiedades y condiciones ambientales del suelo, lo que repercute en la actividad de los microorganismos (Compton y Boone., 2000). En el suelo, el CO₂ se produce principalmente a través del metabolismo de los microorganismos y de las raíces de las plantas, siendo la descomposición de compuestos orgánicos el proceso más importante que genera emisiones de CO₂. Durante la descomposición, parte del C se integra a la atmósfera en forma de CO₂, mientras que otra se transforma en compuestos más sencillos o se almacena en las propias estructuras de los microorganismos. Se estima que el flujo de CO₂ en bosques templados representa aproximadamente el 70 % de la respiración del ecosistema (Law *et al.*, 1999). Bond-Lamberty y Thomson, (2010), estimaron que las emisiones de CO₂ en los ecosistemas terrestres son de 98 ± 12 Pg año⁻¹, con un incremento anual del 0.1 Pg. Esta cantidad de C emitida a través de la respiración del suelo es 10 veces más que la liberada por combustibles fósiles y fabricación de cemento. De acuerdo con Lal (2008), la tasa anual de fijación de C a través de la fotosíntesis es de 120 Pg yr⁻¹, y mediante la respiración del suelo se regresa 60 Pg yr⁻¹. Es muy importante estudiar los flujos de CO₂ de los suelos de los bosques templados para comprender mejor el ciclo global C, de tal forma que la medición de CO₂ es una estimación de la actividad y, por lo tanto de la presencia microbiana,

tal actividad varía en función de muchos factores, como características físicas del suelo, cobertura vegetal, prácticas de manejo y calidad de los residuos que entran al sistema. Según Jenkinson (1992), otros factores involucrados en la actividad microbiana, como son temperatura, pH, humedad, disponibilidad de oxígeno, nutrientes inorgánicos y accesibilidad al sustrato, influyen en la descomposición de la materia orgánica. Por tanto, si ocurre alguna modificación de cualquier factor que regula la actividad microbiana, ocurre un aumento de las emisiones de gases.

El registro de temperaturas se puede utilizar para predecir de forma confiable las tasas de respiración del suelo cuando no existen otros factores limitantes, como variación en el contenido de humedad, cantidad de biomasa, aportación de hojarasca, (Londo *et al.*, 1999; Parkin y Kaspar, 2003; Chen *et al.*, 2010). El contenido de humedad del suelo también es otra variable importante para predecir la respiración del suelo. Un bajo contenido de humedad inhibe el rendimiento fisiológico de microorganismos y reduce la disponibilidad de nutrimentos en el suelo, (Riveros-Iregui, *et al.*, 2007). De forma general, la actividad microbiana disminuye a medida que los suelos se secan por debajo o se saturan por encima de cierto umbral y los cambios de la humedad influyen en los cambios de temperatura la cual repercute en la respiración del suelo. En el presente trabajo se cuantificaron las emisiones de CO₂, que incluye la respiración de microorganismos y raíces del suelo, en tres usos del suelo (área de cultivo agrícola, plantación de *Pinus ayacahite* y bosque de encino). Se relacionaron las emisiones con las condiciones físicas, químicas y ambientales del suelo de las tres áreas de uso de la tierra estudiadas.

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1 ÁREA DE ESTUDIO Y ESTABLECIMIENTO DE EXPERIMENTO

El trabajo se realizó en la región fisiográfica conocida como Sierra Nevada, ubicada al oriente del Estado de México, es un sistema montañoso constituido principalmente por cuatro volcanes, al sur, el Popocatepetl (5.452 m) y el Iztaccíhuatl (5.272 m), y al norte Telapón (4.000 m) y Tláloc (4.150 m) (Rueda *et al.* 2011). El sitio experimental se estableció en el Monte Tláloc, dentro del ejido de San Pablo Ixayoc, perteneciente al municipio de Texcoco, Estado de México, geográficamente se ubica entre las coordenadas 19° 26' 51'' latitud norte y 98° 46' 16'' longitud oeste. El tipo de vegetación que predomina es el bosque de pino, oyamel, encino y pradera alpina. El clima es templado, subhúmedo, la temperatura media anual es entre 5 y 12°C, y la precipitación anual entre 800 y 1000 mm, los suelos son ricos en materia orgánica, profundos y de textura media (Sánchez-González y López Mata, 2003).

El experimento incluyó tres usos de suelo: bosque de encino, plantación forestal y cultivo agrícola, cada uno con una superficie de 1000 m². El sitio experimental se seleccionó de tal forma que las tres áreas de uso del suelo estaban adyacentes una de la otra. Las especies arbóreas dominantes en el bosque de encino fueron *Quercus rugosa* y *Q. laurina*, la plantación forestal consistió en árboles de *Pinus ayacahuite* de 20 años de edad y el área de cultivo consistió en maíz de una variedad local de grano blanco. Cada uso de suelo tuvo cuatro repeticiones, cada una de 10 X 25 m.

La investigación inició en septiembre 2014, cuando en el área agrícola el cultivo anterior, avena, ya había terminado su ciclo. El terreno agrícola se barbechó en octubre de 2014 y en enero de 2015 se rastreó. En el mes de febrero de ese año se sembró el maíz a una densidad de 55 mil plantas por hectárea, bajo un sistema de humedad residual.

3.3.2 Medición de flujos de CO₂, humedad y temperatura

En cada parcela se marcaron tres cuadros de 60 X 60 cm que se dejaron libres de hojarasca. Para medir los flujos de CO₂ se utilizó el método de la cámara dinámica cerrada, que consistió de una cámara de acrílico de 60 X 60 X 15 cm, conectada a un analizador portátil de gases infrarrojo Ciras 3 (PPSystems, Amesbury, MA). La cámara se insertó en el cuadro cada vez que se midió la respiración. El flujo de CO₂ se calculó según la variación de la concentración de CO₂ (dC) en el tiempo (dt), teniendo en cuenta los parámetros de volumen (V) y área de la cámara (A): $F \sim (V/A) (dC/dt)$. Se realizaron mediciones de septiembre 2014 a octubre 2015, aproximadamente cada mes.

La humedad se midió en campo con un medidor de humedad TDR modelo Spectrum Technologies, Inc. a la profundidad de 0-20 cm. La temperatura del suelo se tomó con termómetro HI 145 de lectura directa de suelo (Hanna Instruments, Rhode Island, USA).

3.3.3 Análisis de laboratorio

En cada área de uso de suelo se tomaron cuatro muestras compuestas de suelo y fueron enviadas al Laboratorio Central de la Universidad Autónoma Chapingo para la determinación de las características fisicoquímicas del suelo. En cada sitio se determinó la densidad aparente, para ello se tomaron muestras con un cilindro de volumen conocido, la densidad se calculó en función del volumen de suelo tomado y el peso seco de éste. El pH se midió en una suspensión suelo: agua 1:2.5; la textura se determinó mediante el método de Bouyoucos modificado (López y López, 1978). El fósforo se determinó con el método de Olsen (Olsen y Sommers, 1982), basado en la extracción de los elementos con una solución de bicarbonato de sodio 0,5 M a pH 8.5 y el contenido de potasio se cuantificó utilizando la técnica de espectrofotometría de absorción atómica. El calcio

y el magnesio se extrajeron con una solución de acetato de sodio 0,125 N, siguiendo el método de Morgan (López de Rojas, 1982). El Ca se determinó por fotometría de llama, mientras que el Mg se analizó por espectrofotometría de absorción atómica. El Fe se determinó mediante la lectura directa en el espectrofotómetro de absorción atómica, a partir del extracto de suelo obtenido con solución extractora ácida (HCl 0,05 M y H₂SO₄ 0,0125 M) según Page (1982). El C orgánico total se determinó por combustión seca utilizando el analizador de carbono, el N total por el método de Kjeldahl (Bremner 1996).

3.3.4 Análisis estadísticos

Los datos se procesaron mediante análisis de varianza (ANOVA), y las comparaciones de medias fueron realizadas de acuerdo a la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 95% ($P < 0.05$). Para determinar la relación entre variables se usó la prueba de correlación de Pearson. El análisis estadístico se realizó con el programa SAS versión 9.0 para Windows (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA).

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Humedad y temperatura

El estudio registró la mayor humedad de suelo en la zona agrícola con un promedio anual del 20%, seguido por el bosque de encino con 19 % y la plantación forestal con 15.4 %. De septiembre a noviembre de 2014 los tres sitios presentaron porcentajes altos de humedad, de diciembre a mayo de 2015 la humedad descendió debido a que este es el periodo seco, con un pico de incremento de la humedad al final de febrero por la lluvia que se había presentado el día anterior a la toma de los datos. A partir de mayo nuevamente los contenidos de humedad se incrementaron, esto es por el inicio de la temporada de lluvias, siendo la zona agrícola el sitio que mayor humedad

tuvo, esto causado por la exposición directa del suelo a la lluvia, evento que no ocurrió en los otros sitios, ya que en ellos había una cubierta vegetal arbórea y en el piso forestal una capa de mantillo que evita la entrada directa del agua de lluvia en el suelo (Figura 1).

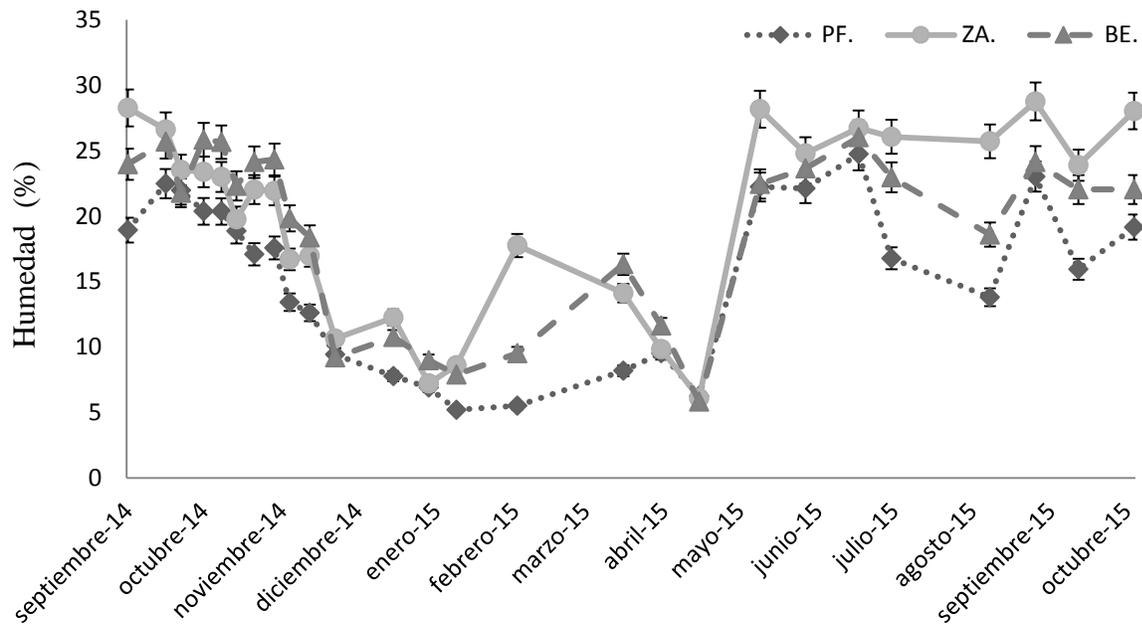


Figura 1. Humedad del suelo en tres áreas con diferente uso de suelo en el Monte Tláloc. PF: Plantación forestal, ZA: Zona Agrícola, BE: Bosque de Encino. Las barras en los puntos indican el error estándar.

La temperatura del suelo fue mayor en el sitio agrícola, con un promedio anual de 13.46 °C, la plantación forestal presentó 11.01 °C y el bosque de encino 10.75 °C (Figura 2). La temperatura del suelo del sitio agrícola fue de 6.88°C en noviembre y de 18.89 °C abril, en la plantación forestal

fluctuó entre 6.95 °C en diciembre a 14.55 en octubre 2014, y en el bosque de encino varió de 7.63°C en enero a 13.81°C en octubre 2014. De marzo a mayo, la zona agrícola mostró el incremento más alto de temperatura con 18°C en comparación a los otros dos usos del suelo, esto se debe a que es el periodo más cálido, posteriormente tiene un descenso de temperatura a finales de mayo, lo cual se relaciona con el inicio del periodo de lluvias, manteniéndose de junio a octubre 2015 en un rango de temperatura de 10°C a 13°C en las tres áreas de uso del suelo (Figura 2).

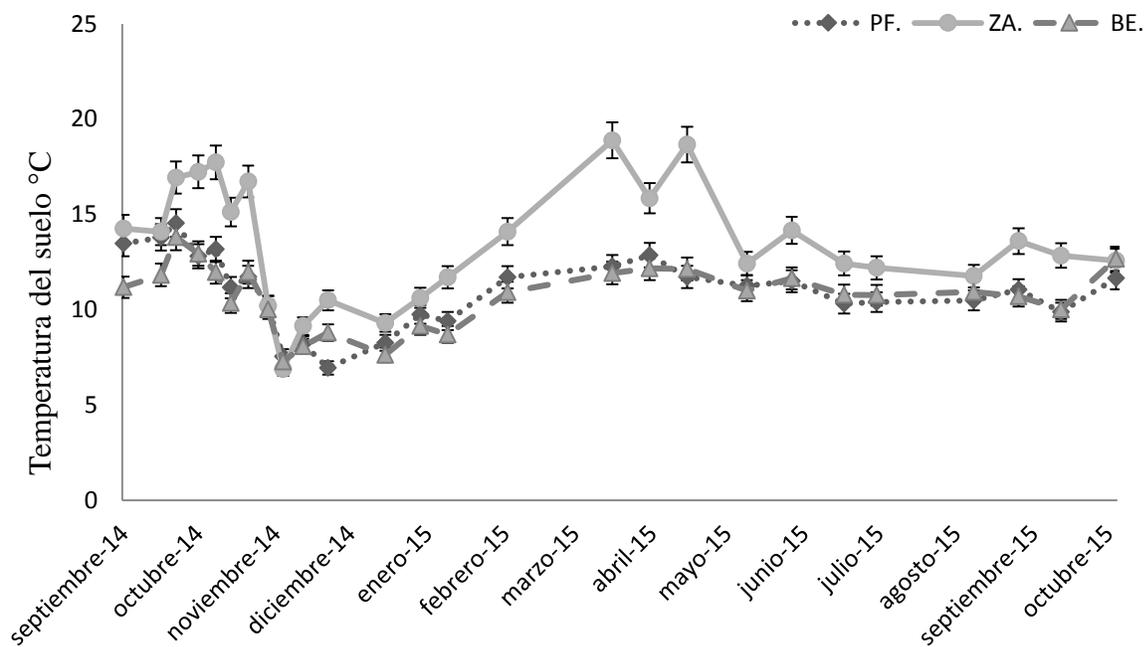


Figura 2. Temperatura del suelo en tres áreas con diferente uso de suelo (PF: Plantación Forestal, ZA: Zona Agrícola, BE: Bosque de Encino). Las barras en los puntos indican el error estándar.

3.4.2 Precipitación

La precipitación registrada a lo largo del año, mostró que los meses más lluviosos fueron septiembre 2015 con una precipitación acumulada de 114 mm, y junio 2015 con 109 mm, los

valores más bajos de precipitación se dieron en el mes de enero 2015 con una acumulación de 3.8 mm y en octubre 2014 con 22 mm, eso es debido a que son meses de temporada seca; las mayores precipitaciones se registraron de mayo a septiembre 2015 (Figura 3).

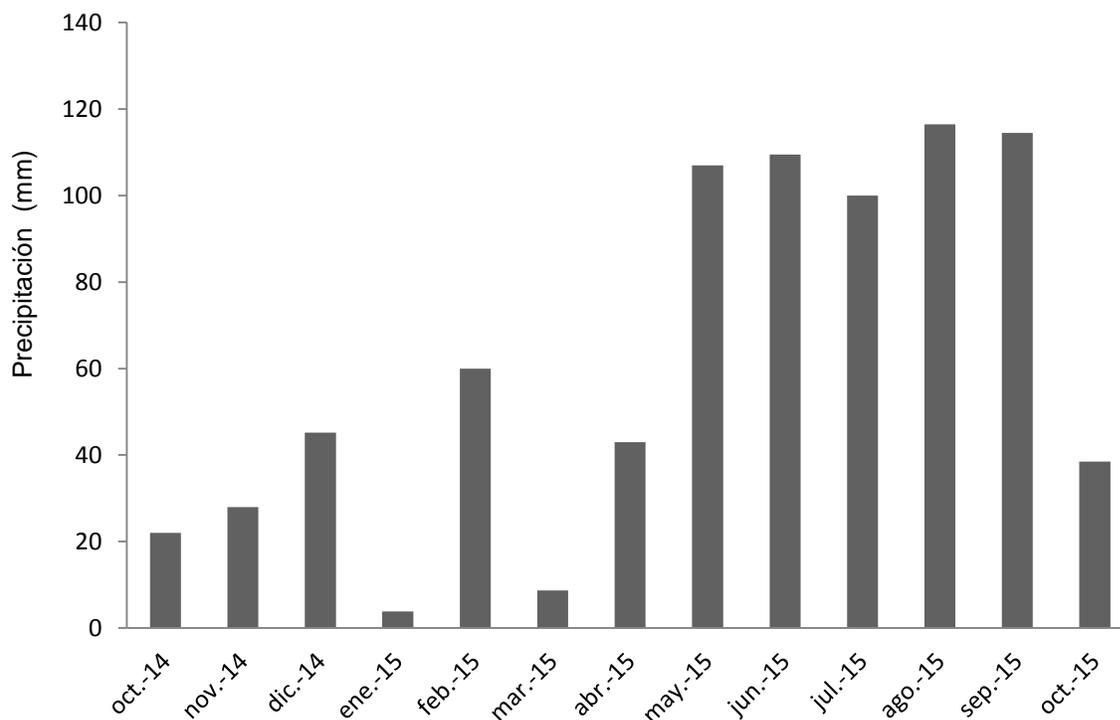


Figura 3. Precipitación mensual del área de estudio, Monte Tlálloc.

3.4.3 Características del suelo

El pH del suelo fue ligeramente ácido, variando en un rango de 5.6 a 5.8 (Cuadro 1). El porcentaje de materia orgánica y carbono fue mayor en el bosque de encino, comparado con los otros dos sitios, el porcentaje de nitrógeno total también fue mayor en el bosque de encino, mientras que en la zona agrícola y forestal los valores de nitrógeno total fueron similares. El amonio, el nitrato y el fósforo (P) no fueron significativamente diferentes entre los sitios, mientras que el potasio (K) fue mayor en el encino, seguido por el forestal y el agrícola. La concentración del calcio (Ca) fue igual en la zona agrícola y forestal, pero diferente en el encino, el magnesio (Mg) tuvo el mismo

comportamiento que el calcio, presentando mayor concentración el bosque de encino y menor el agrícola y forestal. En el trabajo se observó que en el bosque de encino hubo mayor contenido de materia orgánica comparado con los otros dos sitios, lo mismo pasó con el hierro.

Cuadro 1. Características químicas de suelos con diferente uso en el Monte Tláloc.

Variables	Agrícola	Encino	Forestal
pH	5.69 ± 0.05 (a)	5.66 ± 0.09 (a)	5.788 ± 0.05 (a)
MO (%)	4.15 ± 0.14 (b)	17.15 ± 0.69 (a)	4.64 ± 0.18 (b)
C (%)	2.11 ± 0.04 (b)	7.28 ± 0.31 (a)	2.24 ± 0.07 (b)
N Total (%)	0.18 ± 0.004 (b)	0.65 ± 0.03 (a)	0.193 ± 0.005 (b)
NH ₄ (mg kg ⁻¹)	26.47 ± 2.04 (a)	29.30 ± 3.81 (a)	27.42 ± 2.24 (a)
NO ₃ (mg kg ⁻¹)	25.52 ± 3.22 (a)	26.45 ± 6.73 (a)	21.75 ± 6.61 (a)
P (mg kg ⁻¹)	18.42 ± 0.58 (a)	16.32 ± 2.12 (a)	13.58 ± 0.93 (a)
K (mg kg ⁻¹)	400 ± 8.76 (c)	1533 ± 87 (a)	757 ± 34.51 (b)
Ca (mg kg ⁻¹)	2524 ± 19.68 (b)	5742 ± 680.87 (a)	2642 ± 63.61 (b)
Mg (mg kg ⁻¹)	266 ± 10.27 (b)	1025 ± 77.06 (a)	386 ± 19.13 (b)
Fe (mg kg ⁻¹)	32.71 ± 4.06 (b)	79.16 ± 4.44 (a)	35.12 ± 2.25 (b)

(Media ± SE), (n=12). Las diferencias significativas entre los tipos de suelos se denotan con letras

diferentes (p < 0.05).

3.4.4 Respiración del suelo

Las emisiones de CO₂ en los tres sitios con uso diferente de suelo, durante el periodo de septiembre 2014 a octubre 2015, experimentaron marcadas variaciones estacionales, (figura 4). Los valores más altos se presentan en el mes de julio 2015 en el sitio agrícola y octubre 2015 en el bosque de encino, coincidiendo en ambos con el periodo de lluvias. En general las mayores emisiones de CO₂ se registraron en la plantación forestal y en el bosque de encino con un promedio anual de 2.93 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y 2.91 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente, y la más baja en la zona agrícola con 2.05 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las emisiones en los sitios evaluados fueron más altas en el periodo de lluvias que en la época seca, debido a que las lluvias originaron mayores niveles de humedad del suelo, condición que favoreció la respiración del suelo.

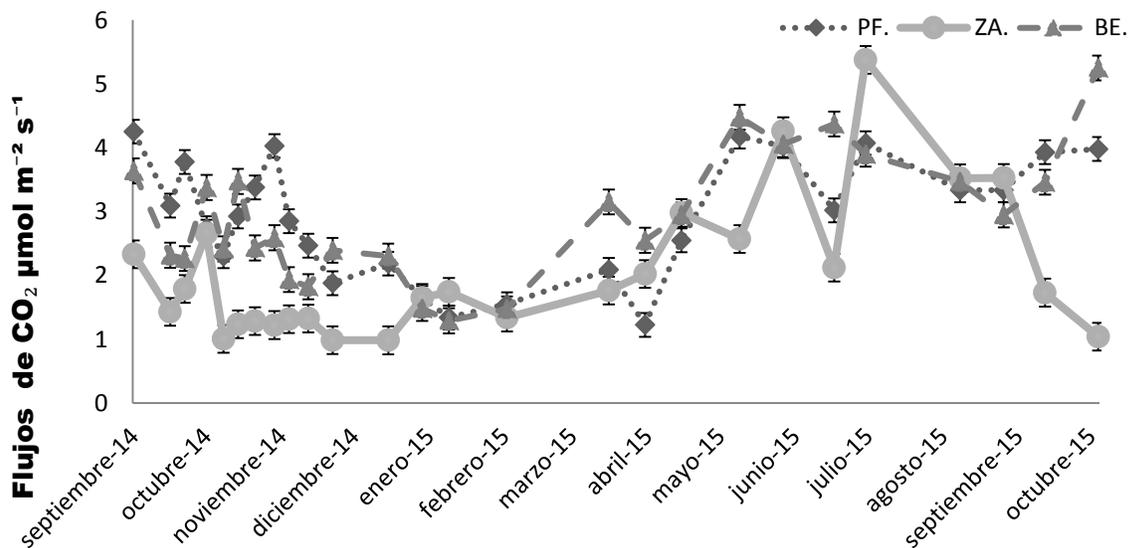


Figura 4. Variación estacional de los flujos de CO₂ del suelo en tres sitios con diferente uso del suelo en el Monte Tláloc. PF: Plantación forestal de *Pinus ayacahuite*, ZA: Zona agrícola, BE: Bosque de encino. La barra en cada punto indica el error estándar.

De septiembre a noviembre la plantación forestal presentó la mayor respiración del suelo, con un promedio de $3.26 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, en el mismo periodo el bosque emitió un promedio de $2.72 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y la zona agrícola $1.58 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, posteriormente con la entrada del invierno (diciembre a febrero) la respiración descendió, la plantación forestal presentó un flujo promedio de $1.84 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, el bosque de encino $1.34 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y la zona agrícola $1.79 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Para los meses de abril a mayo el suelo de la plantación forestal tuvo una respiración en promedio $1.95 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, el de bosque de encino de $2.88 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, mientras que en la zona agrícola fue de $2.26 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, en este último caso el aumento de la respiración se debe a que al inicio de febrero se preparó el terreno para la siembra del cultivo de maíz; de marzo a abril 2015, aumenta gradualmente la emisión de CO_2 , debido al crecimiento del cultivo, principalmente por el crecimiento de las raíces. A finales de junio y principios de julio se incrementó la respiración tanto en la zona agrícola como en los otros dos sitios, esto debido a la temporada de lluvias. En el cultivo de maíz, en el mes de julio se presentó el pico más alto de flujos de CO_2 con $5.38 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, este aumento puede ser explicado por el crecimiento máximo alcanzado por la planta. En la etapa final (madurez) del maíz que ocurre de agosto a octubre, la respiración del suelo disminuyó, esto se debe a que ya no hay respiración por parte de la planta, únicamente queda la respiración de los microorganismos y se observa en las bajas tasas de emisión de ese periodo. Finalmente de septiembre a octubre el bosque de encino presentó la mayor respiración del suelo, con un promedio de $3.78 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, la plantación forestal con $3.64 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y la zona agrícola tuvo un promedio de $2.46 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Considerando los valores obtenidos en todos los sitios de estudio, se relacionaron los datos de flujos de CO_2 con la temperatura y humedad (Cuadro 2): Para el caso del sitio de la plantación forestal, la humedad explica el 75 % de la variación de la respiración del suelo, mientras que la temperatura

solo explica el 24% de la variación. En la zona agrícola, la humedad se correlaciona en un 38% con la respiración del suelo, mientras que la temperatura no fue significativa; en el bosque de encino, nuevamente la humedad se correlacionó significativamente explicando la variación de la respiración del suelo en un 54%, mientras que la temperatura tampoco fue significativa para este sitio.

Cuadro 2. Análisis de correlación entre el flujo de CO₂, la humedad y la temperatura del suelo de los tres sitios con diferente uso del suelo en el Monte Tláloc.

SITIOS	VARIABLES	Flujo de CO ₂	Temperatura del suelo	Humedad del suelo
1	<i>Flujo de CO₂</i>	1	0.24 ns	0.75**
2		1	0.08 ns	0.38*
3		1	0.38*	0.54**
1	<i>Temperatura del suelo</i>		1	0.40*
2			1	0.03 ns
3			1	0.35 ns
1	<i>Humedad del suelo</i>			1
2				1
3				1

*= Significativa ($P < 0.05$); **= Altamente significativa ($P < 0.01$); ns= no significativo; Sitio 1= plantación forestal; Sitio 2= zona agrícola, Sitio 3= bosque de encino.

3.4.5 Carbono acumulado en los tres usos de la tierra

El carbono acumulado en el suelo se determinó considerando un perfil de 30 cm de profundidad. El bosque de encino fue el que presentó la mayor cantidad de carbono en el suelo con 148 t ha⁻¹, seguido por la plantación forestal con 69 t ha⁻¹ y la menor se obtuvo en el área agrícola con 59 t ha⁻¹. En el caso de bosque de encino y plantación forestal, estos tenían una capa de mantillo, cuyos valores de carbono fueron de 3 y 2 t ha⁻¹ (Cuadro 3). El área de uso agrícola no presentó mantillo, ya que todos los residuos de cosecha se extraen.

En términos porcentuales, el suelo de uso agrícola tuvo un 60% menos de carbono que el suelo del bosque de encino, mientras que la plantación forestal tuvo 53% menos carbono que el bosque de encino. El área agrícola se abrió al cultivo hace 90 años, antes de su apertura era un bosque de encino. La plantación forestal de *Pinus ayacahuite* tiene apenas 20 años de establecida, antes su uso era agrícola. Estos datos indican que el área de uso agrícola perdió 60% de su carbono original, y con el cambio a uso forestal se tuvo una ganancia de carbono de 7%.

Cuadro 3. Carbono del suelo y carbono del mantillo de los tres sitios con diferente uso de suelo en el Monte Tláloc.

Uso de suelo	C - Suelo (t ha⁻¹)	C - Mantillo (t ha⁻¹)
Agrícola	59	0
Plantación	69	2
Encino	148	3

DISCUSIÓN

Factores ambientales y físicos químicos del suelo

Como lo han descrito diversos autores, la temperatura y humedad son dos de los factores ambientales que influyen directamente en la emisión de CO₂ en los ecosistemas (Davidson *et al.*, 2000; Xue-Fa *et al.*, 2006; Laganière *et al.*, 2012). Negassa *et al.* (2015), mencionan que el sistema de labranza no solo influye en la retención de humedad del suelo, sino que también expone la fracción lábil de la materia orgánica del suelo (MOS) y esto se refleja en la variación de las emisiones de CO₂, asociada a la variación en humedad y la temperatura. En nuestro caso la labranza

no fue un factor de estudio, sino más bien el tipo de uso del suelo, no obstante, en este trabajo se observó que la humedad fue el principal factor ambiental de regulación de respiración en cada uno de los usos de suelo, mientras que la temperatura ocupó un lugar secundario, pero significativo solo en el caso de bosque de encino (Figuras 1, 2 y 4 y Cuadro 2). En suelos fríos se puede dar algo inverso, por ejemplo, Laganier *et al.* (2012), señalan que en bosque boreal la temperatura es el factor principal en la regulación de respiración y la humedad del suelo es un factor secundario, y solo el efecto de esta es significativa en condiciones de humedad extrema. Diversos autores coinciden en que la temperatura y humedad, el tamaño de reservorio de carbono, la calidad de materia orgánica, la abundancia de raíces, son componentes de una serie de variables que afectan a la respiración del suelo, los cuales cambian de acuerdo al tipo de vegetación (Saiz *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2010; Luan *et al.*, 2011). Este trabajo, difiere con lo presentado por Sánchez *et al.* (2002), quienes en una zona agrícola de cereales correlacionan significativamente los flujos de CO₂ con la temperatura en un 80 %. En este estudio, en la zona agrícola de maíz la temperatura explica el 8% las emisiones de CO₂ y el factor humedad explica el 38% de la variación en los flujos de CO₂. Negassa *et al.* (2015), señalan que las condiciones climáticas estacionales influyen en las emisiones de CO₂ en cultivos agrícolas, estos autores en dos sistemas de labranza (con arado convencional y con arado de cinceles) y usando centeno como cultivo de cobertura encontraron que la temperatura fue el factor ambiental que influyó con 65% en las variaciones de los flujos de CO₂ del suelo y la humedad solo contribuyó con 5%. En otros estudios realizados de respiración de suelo se ha observado una falta de relación entre la humedad del suelo y las emisiones de CO₂ (Reth *et al.*, 2005) o relación negativa entre la humedad del suelo y las emisiones de CO₂ (Kallenbach *et al.*, 2010). Durante el estudio de la respiración del suelo en campo se observaron diferentes picos de emisión de CO₂ que coinciden con los valores más altos registrados en la

humedad del suelo (Figuras 1 y 4)). Los meses en que se registraron los mayores contenidos de humedad en los sitios, coinciden con los episodios de lluvias (Figuras 1 y 3).

Las propiedades físicas y químicas del suelo tienen una influencia importante sobre la cantidad de microorganismos, la concentración de sustratos, enzimas, nutrimentos inorgánicos y todo esto recae sobre las actividades microbiológicas y bioquímicas (Sánchez *et al.*, 2005). El bosque de encino tuvo la mayor acumulación de carbono y materia orgánica, esto se debe a que el bosque de encino es un área poco perturbada, presenta recirculación de nutrimentos y a que la caída de hojas, ramas, tallos, es la entrada principal de carbono al suelo (Cuadro 1 y Cuadro 3). El sitio agrícola tuvo 60% menos carbono que el bosque de encino, lo que sugiere una gran pérdida de carbono en los últimos 90 años (Cuadro 3). La plantación forestal tiene apenas 20 años desde que cambió de uso agrícola a forestal, lo cual reporta una ganancia de carbono de 7%. En la plantación forestal la acumulación de materia orgánica se debe a la lenta descomposición de las acículas y ramas que caen al suelo, lo que ha originado una capa de mantillo, cuyo contenido de carbono es de 2 t ha⁻¹ (Cuadro 3). Las especies de pinos presentan aproximadamente 28% de lignina en sus tejidos, compuesto, difícil de degradar y que se encuentra formando parte de la fracción orgánica en los suelos forestales, pocos microorganismos (especialmente hongos) son capaces de producir enzimas necesarias para degradar estos materiales (Gellerstedt & Henrinksson, 2008). Vitousek *et al.* (1994) considera que la relación C/N influye en la disponibilidad del nitrógeno inorgánico, mayor cantidad de carbono se reflejó en menor cantidad de nitrógeno inorgánico que se encontró en los sitios (Cuadro 1).

En relación a los mayores valores de materia orgánica encontrados en el bosque de encino del presente trabajo, Vitousek *et al.*, (2013), consideran que en los ecosistemas donde la temperatura es baja hay mayor acumulación de carbono y una disminución del nitrógeno inorgánico. Sin

embargo, de acuerdo con Lal, (2005), en un ecosistema forestal natural en equilibrio, va a existir altas concentraciones de carbono, nitrógeno y fósforo, que fue lo que reportado en este trabajo en el sitio de bosque de encino (Cuadro 1). La menor proporción de nitrógeno en la zona agrícola se debe posiblemente a la extracción del elemento por el cultivo y a la poca cantidad de residuos que se quedan en el suelo después de la cosecha.

El contenido de potasio fue significativamente diferente en los tres sitios, las altas cantidades de potasio en los sitios puede ser como consecuencia del origen del suelo, siendo los más ricos aquellos que derivan de cenizas volcánicas, y nuestro estudio se desarrolló en Monte Tláloc, uno de los cuatro volcanes que conforman a la Sierra Nevada. De acuerdo con Gonzalez *et al.* 2002, el potasio ocupa el séptimo lugar en abundancia entre los elementos de la corteza terrestre, se encuentra en grandes cantidades (2.6%) en la naturaleza en minerales primarios tales como: los feldespatos (KAlSi_3O_8) que se encuentran principalmente en ortoclasa y microlina, en arenas y limos o en forma de micas como la muscovita ($\text{H}_2\text{KAl}_3(\text{SiO}_4)_3$) o biotita ($\text{H, K}_2(\text{Mg, Fe})_2\text{Al}_2(\text{SiO}_4)_3$), la carnalita, la arenisca verde y la silvita.

Variación estacional de la respiración del suelo

En este trabajo, la respiración en los tres usos de suelo (agrícola, bosque de encino y plantación forestal) tuvo un comportamiento estacional, asociado a la variación de la humedad y temperatura durante el año (Figuras 1, 2 y 4). Diversos autores han estudiado los flujos de CO_2 en diferentes usos de la tierra, Ahmad *et al.* (2015), evaluaron flujos de CO_2 del suelo en cuatro tipos de bosque de coníferas de abril 2012 a diciembre 2013, ellos observaron que los flujos presentan un patrón estacional en todos los tipos de bosques; el bosque mixto, en el periodo de otoño 2012, presentó un promedio de $2.55 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, temperatura de $13.1 \text{ }^\circ\text{C}$ y humedad de 23.1%; estos datos

son similares a lo reportado para encino en este trabajo, el cual presentó para los meses de septiembre, octubre y noviembre (Otoño), un flujo promedio de $2.72 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, una temperatura de $11.26 \text{ }^\circ\text{C}$ y humedad promedio de 23.7%. Estos autores reportaron para *Pinus wallichiana*, en otoño 2012, un promedio de $2.55 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, temperatura del suelo $13.1 \text{ }^\circ\text{C}$ y humedad de 24 %; en este trabajo, para la plantación de *Pinus ayacahuite* reportamos para ese mismo periodo, un flujo promedio de $3.26 \text{ CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, temperatura del suelo $12.05 \text{ }^\circ\text{C}$ y humedad del 19%. De forma general, el trabajo de Ahmad *et al.* (2015) en el Himalaya, coincide en parte con lo reportado por nosotros para los tres usos de suelo en la Sierra Nevada. Ellos encontraron que en sus cuatro bosques estudiados las emisiones de CO_2 máximas se presentaron en junio y julio, mientras que las mínimas en diciembre; este mismo comportamiento también se observó en nuestro estudio en los tres sitios evaluados del Monte Tláloc, (bosque de encino, plantación forestal de *Pinus ayacahuite* y cultivo de maíz), donde en promedio la respiración más alta fue la de *Pinus ayacahuite* y bosque de encino, mientras que para los autores la máxima respiración fue de *Pinus wallichiana* seguido del bosque mixto. La alta respiración se puede atribuir a una mayor actividad microbiana y al crecimiento de las plantas ya que es la temporada de lluvias, con lo que aumenta la respiración de las raíces (Chen *et al.*, 2010). Lee *et al.* (2010), en los bosques siempre verdes templados del centro de Corea, también observaron altas tasas de respiración en verano con valores de 710 a $1170 \text{ mg de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Reichstein *et al.* (2002), señalan que un aumento o disminución de la humedad del suelo, puede detener las actividades de las raíces y los microorganismos del suelo e inhibir su respiración, ya que el agua en niveles suficientes es esencial para la raíz y la función microbiana. En el caso del bosque de encino y la plantación forestal de nuestro estudio, las emisiones de CO_2 fueron menos fluctuantes que en el cultivo de maíz. Xue-Fa *et al.* (2006), atribuyen a que el dosel influye notablemente en la pérdida de humedad y mantiene regulada la temperatura del suelo, así mismo señalan que la respiración de las raíces de ecosistemas

forestales ejerce una fuerte influencia sobre la variación de la temperatura. Posiblemente, el incremento anual promedio de respiración del suelo que se dio en la plantación forestal y en encino se debe a la producción de raíces finas y desarrollo de micelio de hongos. Existen estudios que reportan que los hongos ectomicorrizicos generan una extensa red de micelio externo que explora el suelo forestal en búsqueda de recursos, destacando nutrimentos y agua, e interconecta a las raíces de plantas de la misma especie (Simard y Duan, 2004). Además, como parte de la cadena trófica, las hifas de estos hongos son consumidas por la fauna del suelo, como los nemátodos y los microartrópodos. Asimismo, las hifas constituyen una parte importante de la biomasa del suelo y son un importante sumidero de carbono, ya que los hongos micorrízicos asociados a las especies vegetales reciben entre el 57% y 90% del carbono de los árboles, y llega a representar hasta el 50% de la biomasa microbiana total del suelo (Olsson *et al.*, 1999) y por ende provocan un aumento en la respiración. Las bajas tasas de CO₂ en el bosque de encino y plantación forestal, registradas entre noviembre y febrero, se puede atribuir a menor contenido de humedad en el suelo, por tratarse de la época seca, y a las variaciones en la entrada de radiación solar, y baja temperatura del suelo (Han *et al.*, 2012).

El caso del sitio agrícola, coincide con lo mencionado por Kristensen *et al.* (2000), quienes afirman que el barbecho, técnica utilizada por los campesinos como estrategia para retener la humedad de las primera lluvias del ciclo, provoca la destrucción de los agregados y favorece la mineralización de la materia orgánica del suelo y un incremento en la liberación de CO₂; aunque en nuestros resultados el incremento fue pequeño después del barbecho, posiblemente por baja humedad del suelo. Sánchez *et al.* (2002), evaluaron los flujos de CO₂ en un cultivo de cereales bajo un sistema de labranza convencional y cero labranza, reportando que en los meses de marzo-octubre el sitio de labranza convencional presentó un promedio de 2.76 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mientras que labranza cero

2.14 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, estos autores atribuyen el 90% de los flujos de CO_2 a la influencia de las prácticas agrícolas, y que la labranza cero tiene más beneficios ambientales contribuyendo a una disminución en las emisiones de gases. Martínez *et al*, (2008), señalan que el manejo del sistema de labranza incrementa los flujos de CO_2 desde el suelo a la atmosfera, y el aumento del flujo se da principalmente en los primeros centímetros del perfil del suelo.

Conclusiones

- i. En los tres usos de suelo estudiados, la plantación forestal y el bosque de encino presentaron emisiones similares de CO_2 con un promedio anual de 2.93 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y 2.91 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y en último lugar la zona agrícola con 2.05 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.
- ii. La humedad del suelo influyó directamente en la respiración, siendo el principal factor que la controla.
- iii. Las emisiones de CO_2 fueron mayores en periodos húmedos que secos.
- iv. El bosque de encino presentó los mayores contenidos de carbono, materia orgánica, nitrógeno. Las características fisicoquímicas presentaron mejor concentración en el bosque de encino, mientras que en la plantación forestal y zona agrícola fueron iguales.

Literatura citada

- Ahmad D.J., Ahmad G.K., Sundarapandian S. 2015. Soil CO₂ efflux among four coniferous forest types of Kashmir Himalaya, India. *Environ Monit Assess.* 187:715
- Arevalo C.B.M., Jagtar S.B., Scott X.C., Derek S. 2009. Ecosystem carbon stocks and distribution under different land-uses in north central Alberta, Canada. *Forest Ecology and Management* 257: 1776–1785.
- Arriaga L., Espinoza J.M., Aguilar C., Martínez E., Gómez L., and Loa E. (coordinadores). 2000. Regiones terrestres prioritarias de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México.
- Augusto L., Ranger J., Binkley D., Rothe A. 2002. Impact of several common tree species of European temperate forests on soil fertility. *Ann. Sci. For.* 59: 233-253.
- Bajracharya R. 2000. Erosion effects on carbon dioxide concentration and carbon flux from an Ohio Alfisol. *Soil Sci. Soc. Am J.* 64 (2): 694-700.
- Bond-Lamberty, B., & Thomson, A. M. (2010). Temperature associated increases in the global soil respiration record. *Nature*, (464): 579–582.
- Carrasco M.A. 1992. El suelo como sistema químico. En Vera W.: *Suelos, una visión actualizada del recurso*. Publicaciones Miscelaneas Agrícolas N° 38, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, p. 345.
- Chen B.T., Liu S.R., Ge J.P., Chu J.X. 2010. Annal and seasonal variations of Q₁₀ soil respiration in the sub-alpine forest of the Eastern Qinghai – Tibet Plateau, China. *Soil Biol. Biochem.* (42): 1735-1742.
- Compton E.J., and Boone D.R. 2000. Long-term impacts of agriculture on soil carbon and nitrogen in new temperate forests. *Ecology* 81: 2314–2330.

- Cosío C. 2001. Panorama socioeconómico y demográfico de Texcoco. Indicadores para la planeación municipal. Universidad Autónoma de Chapingo, Texcoco, México.
- De Rijck G., Schrevens E.1998^a. Cationic Speciation in Nutrient Solutions as a Function of Ph. *Journal of Plant Nutrition*, 21(5):861-870.
- Fassio A. Carriquiry A.I., Tojo C., Romero R. 1998. Maíz: aspectos sobre fonología. Serie técnica N°.101. edit. Unidad de difusión e información Tecnológica del INIA.
- González E, D. S. Alcalde B. A. Castillo M. Y Ortiz J. C. 2000. Dinámica de la acumulación de potasio por trigo en diferentes ambientes. *Agrociencia Serie Agua-Suelo-Clima*. 34(1):1-11.
- Hagen T.A., Callesen I., Armolaitis K., Nihlgard, B.; 2004. The impact of six European tree species on the chemistry of mineral topsoil in forest plantations on former agricultural land. *Forest Ecol. Manage.* 195: 373-384.
- Hendrix P.F., Chun-Ru H. Groffman P.M. 1988. Soil respiration in conventional and no tillage agroecosystems under different winter cover crop rotations. *Soil Tillage Res.* 12: 135-148.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2000. Cuaderno Estadístico Municipal de Texcoco, Estado de México, México.
- Jenkinson, D.S., Harkness, D.D., Vance, E.D., Adams, D.E., Harrison, A.F., 1992. Calculating net primary production and annual input of organic matter to soil from the amount and radiocarbon content of soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 24: 295-308.

- Kallenbach C.M., Rolston D.E., Howart W.R. 2010. Cover cropping affects soil N₂O and CO₂ emission differently depending on type of irrigation. *Agri. Ecosyst. Environ.* (173): 251-260.
- Killingbeck K.T. 1996. Nutrients in senesced leaves: keys to the search for potential resorption proficiency.
- Kristensen H.L., McCarty G.W. and Meisinger J.J. 2000. Effects of soil structure disturbance on mineralization of organic soil nitrogen. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64: 371-378.
- Krull E.S., Skjemstad J.O., Baldock J.A., 2004. Functions of soil organic matter and the effect on soil properties. Grains Research & Development Corporation report Project No CSO 00029.
- Laganière J., Paré D., Bergeron Y., Chen H.Y.H. 2012. The effect of boreal forest composition on soil respiration is mediated through variations in soil temperature and C quality. *Soil Biology & Biochemistry* (53): 18-27
- Law B. E., Ryan M. G., & Anthoni P. M. 1999. Seasonal and annual respiration of a ponderosa pine ecosystem. *Global Change Biology*, (5):169–182.
- Lal R. 2005. Forest soils and carbon sequestration. *Forest Ecology and Management* 220: 242-258.
- Luan J., Liu S., Wang J., Zhu X., Shi Z. 2011. Rhizospheric and heterotrophic respiration of a warm-temperate oak chronosequence in China. *Soil Biology and Biochemistry* (43): 503-512.
- Martínez E.H., Fuentes J.P., Acevedo E.H. 2008. Carbono orgánico y propiedades del suelo. *J. Soil Sc. Plant Nutr.* 8 (1) 68-96.

- Negassa W., Price R.F., Basir A., Snapp S.S. 2015. Cover crop and tillage systems effect on soil CO₂ and N₂O fluxes in contrasting topographic positions. *Soil & Tillage Research* (154): 64-74.
- Olsson P.A., Thingstrup I., Jakobsen I. y Baath E. 1999. Estimation of the biomass of arbuscular temperature al fungi in a linseed field. *Soil Biology and Biochemistry*, 31: 1879-1887.
- Oulehle F.; Hofmeister J. Hruska J. 2007. Modelling of the long-term effect of 292 tree species (Norway spruce and European beech) on soil acidification in the Ore Mountains. *Ecol. Model.* 204: 359-371.
- Park I.J., J.C. Yoon S.J. Park E.H. Kim, Y.J. Cho y K.S. Shin. 2003. Characterization of the proteolytic activity of bacteria isolated from a rotating biological contactor. *J. Microbiol.* (41): 73-77.
- Pérez S.E., Pérez C.A., Carmona, M.R., Fariña J.M, & Armesto J.J. 2008. Efectos del fósforo y carbono lábiles en la fijación no simbiótica de N₂ en hojarasca de bosques siempreverdes manejados y no manejados de la Isla de Chiloé, Chile. *Revista chilena de historia natural*, 81(2), 267-278.
- Qureshi S., Richards B., Hay A., Tsai C., McBride M., Baveye P. & Steenhuis T. 2003. Effect of microbial activity on trace element release from sewage sludge. *Environ. Sci. Technol.* 37: 3361-3366.
- Ramos V.E., Zuñiga D.D. 2008. Soil microbial activity in response to diferent conditions of moisture temperature or pH. *Ecol. Apl.* 7:123-130.

- Reicosky D.C. 2002. Long – Term Effect of Moldboard Plowing on Tillage – Induced CO₂ Loss, in J. M. Kimble, R. Lal and R. F. Follet: Agricultural Practices and Policies for Carbon Sequestration in Soil. Lewis Publishers. Papers from symposium held July 1999 at Ohio State University, Columbus, Ohio, 87-96.
- Rueda H., Macias J.L., Arce J.L., Gardner J.E., Layer P.W. 2013. The -31 ka rhyolitic Plinian to sub-Plinian eruption of Tlaloc Volcano, Sierra Nevada, central Mexico. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*. 252: 73-91.
- Saiz G., Green C., Butterbach-Bahl K., Kiese R., Avitabile V., Farrell E.P., 2006. Seasonal and spatial variability of soil respiration in four Sitka spruce stands. *Plant and Soil*. 287: 161-176.
- Sánchez-González, A. y López-Mata, L. 2003. Clasificación y ordenación de la vegetación del norte de la Sierra Nevada a lo largo de un gradiente altitudinal. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. Serie Botánica* 74(1): 47-71.
- Sánchez M., Soriano M., Delgado G, and Delgado R. 2002. Soil quality in Mediterranean mountain environments effects of land U use change. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66: 948-958.
- Sanchez B., Ruiz M., Ríos M.M. 2005. Materia orgánica y actividad biológica del suelo en relación con la altitud, en la cuenta del rio Maracay, Estado de Aragua. *Agron. Trop.* 55:(4) 507-534.
- Sánchez F.G., Scott D.A. and Ludovici. 2006. Negligible effects of severe organic matter removal and soil compaction on loblolly pine growth over 10 years. *Forest Ecology and Management* 227: 145-154.

- Simard S.W. and Durall D.M. 2004. Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. *Canadian Journal of Botany*, 82: 1140-1165.
- Srivastava S.S., Sharma S.D., Kudrat M. 2012. Effect of crop rotation, soil temperature and soil moisture on CO₂ emission rate in Indo- Gangetic Plains of India. *Int. J. Agric. For.* (2): 117-120.
- Vásquez R.E. y Zúñiga D.D. 2008. Soil microbial activity in response to different conditions of moisture, temperature or pH. *Ecología Aplicada*. (7) 123- 130.
- Vitousek P.M., Menge D.N.L., Reed S.C., Cleveland C.C. 2013 Biological nitrogen fixation: rates, patterns and ecological controls in terrestrial ecosystems. *Phil Trans R Soc B* 368: 1-9.
- Vitousek P., Turner D., Parton W., and Sanford R. 1994. Litter decomposition on the Mauna Loa environmental matrix, Hawaii (I): patterns, mechanisms and models. *Ecology*, 75(2): 418-429.
- Wang X., Jiang Y.L., Jia B.R., Wang F.Y., and Zhou G. S. 2010. Comparison of soil respiration among three temperate forests in Changbai mountains, China. *Canadian Journal of Forest Research*. (40):788–795.

CAPITULO 4

POBLACIONES MICROBIANAS Y DIVERSIDAD METABÓLICA EN TRES SITIOS CON USO DIFERENTE DE SUELO EN EL MONTE TLÁLOC

4.1 Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del uso del suelo en las poblaciones microbianas y actividad metabólica microbiana en el Monte Tláloc. El experimento se estableció en el ejido de San Pablo Ixayoc e incluyó tres usos de la tierra: plantación de *Pinus ayacahuite*, bosque de encino (*Quercus rugosa* y *Q. laurina*) y cultivo de maíz. Los tratamientos fueron los tres usos del suelo con cuatro repeticiones, que se establecieron en un diseño experimental bloques al azar. Se colectaron muestras de suelo en dos estaciones del año (lluvias y seca) y se cuantificaron las poblaciones de hongos, bacterias totales, actinomicetos, bacterias solubilizadoras de fosfato y productoras de auxinas. La diversidad metabólica se determinó usando las eco-microplacas Biolog que contienen 31 fuentes de carbono. La mayor población de bacterias y hongos en los tres sitios fue en periodo de lluvias. El bosque de encino tuvo en temporada de lluvias el número más alto de actinomicetos con 9×10^5 unidades formadoras de colonias (UFC), mientras que el cultivo y la plantación forestal tuvieron el más alto número de hongos con 18×10^4 UFC. Las poblaciones de bacterias solubilizadoras de fosfato fueron similares en los tres usos de suelo. El índice Shannon-Weaver de la diversidad metabólica microbiana en los tres usos del suelo (bosque de encino, plantación forestal y cultivo) fue más alto en temporada de lluvias que en la estación seca. No hubo diferencias significativas para esta variable entre los tres usos de suelo.

Palabras claves: Microorganismos del suelo, bacterias solubilizadoras de fosfato, actinomicetos, bosque de encino.

SOIL MICROBIAL POPULATIONS AND METABOLIC DIVERSITY IN THREE LAND USE SITES ON MOUNT TLALOC

4.1 Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of land use in microbial populations and microbial metabolic activity on Mount Tlaloc. The experiment was established in the ejido of San Pablo Ixayoc, which included three land uses: plantation of *Pinus ayacahuite*, oak forest (*Quercus rugosa* and *Q. Laurina*) and corn field. The treatments were the three land uses with four replicates, which were established in a randomized block experimental design. Soil samples were collected in two seasons (rainy and dry), and fungal populations, total bacteria, actinomycetes, phosphate solubilizing bacteria and auxin producing bacteria were quantified. Metabolic diversity was determined using the Biolog eco-microplates with 31 carbon sources. The largest population of bacteria and fungi in the three sites was in rainy season. Oak forest in rainy season had the highest number of actinomycetes with 9×10^5 colony forming units (CFU), while the corn field and the forest plantation had the highest number of fungi with 18×10^4 CFU. Populations of phosphate solubilizing bacteria were similar in the three land uses. The Shannon Weaver index of microbial metabolic diversity in the three land uses (oak forest, forest plantation and corn field) was higher in rainy season than in the dry season. There were no significant differences for this variable among the three land uses.

Keywords: soil microorganisms, phosphate solubilizing bacteria, actinomycetes, oak forest.

4.2 Introducción

Las bacterias y los hongos son los microorganismos del suelo más activos que intervienen en la descomposición de la materia orgánica y liberación de nutrientes (Fierer y Lennon, 2011). Cabrera (2000) señala que en el ciclo del carbono, los hongos juegan un papel fundamental puesto que son los organismos responsables de transformar alrededor del 80% de la celulosa que se produce en los ecosistemas. Los microorganismos del suelo, también intervienen en el crecimiento de la planta, afectan de manera local la química de la rizósfera (Silva *et al.*, 2009). Se ha demostrado que diversos microorganismos del suelo como hongos y bacterias pueden solubilizar iones fosfatos a partir de fuentes de fósforo orgánico e inorgánico de escasa solubilidad (Guerrero *et al.*, 1996). Los microorganismos pueden mejorar el crecimiento de las plantas mediante la solubilización de fosfatos, el incremento de la eficiencia en la fijación biológica del nitrógeno y el incremento de la disponibilidad de otros micronutrientes tales como Fe y Zn, así como a través de la producción de sustancias promotoras de crecimiento y del antagonismo que ejercen contra fitopatógenos (Gyaneshwar *et al.*, 2002). De acuerdo con Gómez y Corlay (2007), la mayoría de las bacterias del suelo son Gram negativas, con dimensiones diversas y peso aproximado de 10^{-12} g.

El número de microorganismos depende principalmente de las condiciones microclimáticas, tipos de suelo, vegetación y disponibilidad de materia orgánica (Vieira y Nahas, 2005). Marschner *et al.* (2001) mencionan que el aumento de las poblaciones microbianas y las actividades que realizan en el suelo dependen principalmente de la interacción con las plantas, tipo de suelo, y su localización en la rizosfera. Hoffman *et al.* (2003), señalan que un buen estatus de los microorganismos del suelo tanto en cantidad, actividad y /o diversidad, es un prerrequisito de la calidad y fertilidad del suelo. Gray y Williams 1971, citados por Gómez y Corlay 2007, estimaron la población de actinomicetos en un rango entre 1×10^5 y 1×10^8 UFC g^{-1} de suelo seco en zonas

templadas. Whitman *et al.* 1998, estimaron que la población bacteriana en diferentes suelos va de 4×10^6 a 2×10^9 UFC g^{-1} de suelo seco. Khaled *et al.* (2006), estiman que en suelos relativamente secos, calcáreos y húmicos, los actinomicetos forman la fracción dominante de la microflora. Recientemente, Ferrera-Cerrato 2010, estimó las poblaciones de los principales grupos microbianos, las bacterias presentaron valores de 50×10^4 y los hongos 3×10^3 UFC en un sistema agrícola, para el área forestal reportó 500×10^4 bacterias totales y 29×10^3 UFC de hongos filamentosos.

Existe un factor que afecta a las poblaciones microbianas de cualquier ambiente y éste es provocado de manera natural o por intervención del hombre, el cambio de uso de suelo, que consiste en la eliminación parcial o total de la cubierta vegetal (Duran *et al.*, 2009). Martínez *et al.* (2008), señala que un suelo de pastizal presenta mayor abundancia de bacterias comparado con un suelo agrícola, debido a la acumulación de materia orgánica que se produce en los pastizales, mientras que en los suelos agrícolas la remoción de la materia orgánica y la pérdida de nitrógeno provoca una disminución en la población microbiana. La alteración provocada por el cambio de uso de suelo, repercute también en que la temperatura del suelo aumente y disminuya bruscamente, afectando el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos, ya que la actividad metabólica de los organismos se inicia cuando se supera un determinado umbral térmico (Madigan y Martinko, 2004). Una forma de estudiar la respuesta del componente biológico del suelo al cambio de uso de la tierra es midiendo las funciones microbianas tales como la transformación de carbono, nitrógeno, fósforo y otros elementos, además de las funciones, las mediciones del tamaño y la composición de las poblaciones microbianas son valiosas también, utilizándose como indicadores de su estado biológico (Nielsen y Widing 2002).

El conteo de poblaciones microbianas por dilución en placa es un método simple y rápido para la cuantificación viable de células microbianas en el suelo. El método se fundamenta en que cualquier célula viable inoculada en un medio de cultivo se multiplica y produce datos de fácil identificación. Un medio selectivo o no selectivo puede ser usado dependiendo de la naturaleza del microorganismo que se desea contar o aislar (Ramirez *et al.*, 1992), también se necesita de incubación bajo condiciones óptimas y finalmente se cuentan las colonias crecidas o se toma la lectura de tubos positivos para determinar el número más probable (Germida, 1993). La diversidad microbiana del suelo es importante para los ecosistemas, la biota cumple un papel fundamental en el ciclo del carbono, descomposición de materia orgánica y el mantenimiento de la fertilidad edáfica (Gómez *et al.*, 2006).

La comunidad microbiana puede considerarse como una unidad funcional que está caracterizada por la sumatoria de sus actividades metabólicas. Actualmente, están disponibles diversos métodos para el análisis de las características microbiológicas del suelo, cada uno con sus ventajas y desventajas (Kirk *et al.*, 2004). La estimación de la diversidad funcional microbiana mediante el uso de perfiles de fuentes de carbono, es un método sensible para detectar modificaciones provocadas por el manejo del suelo (Stenberg, 1999 y Gómez *et al.*, 2004). El sistema BIOLOG EcoPlatesTM ha sido reconocido como una herramienta útil para comparar las comunidades microbianas (Classen *et al.*, 2003, Gómez *et al.*, 2004, Weber *et al.*, 2007, Weber y Legge, 2009 y Frac *et al.*, 2012), ya que puede detectar cambios funcionales en las comunidades como resultado de la distinta disponibilidad de carbono en el suelo.

La evaluación de la actividad de las comunidades microbianas puede realizarse mediante el análisis a nivel de comunidad de patrones de utilización de fuentes de carbono, para lo cual se ha empleado el sistema Biolog EcoPlatesTM, que consiste en una microplaca con 96 pocillos, que contienen 95

fuentes de carbono diferentes y un pocillo blanco (A1) que únicamente contiene agua. De acuerdo con Zak *et al.* (1994) las fuentes de carbono presentes en las microplacas se ubican en seis grupos principales: carbohidratos, ácidos carboxílicos, aminoácidos, aminas/amidas, polímeros y un grupo denominado misceláneos. A su vez, en todos los pocillos se encuentra un indicador de la actividad redox, violeta de tetrazolium, incoloro, que pasa de forma irreversible a formazan, de color púrpura. Cuando un organismo responde positivamente a una fuente de carbono presente en el pocillo, este organismo generará NADH como intermediario metabólico, entonces a su vez, el NADH será oxidado por el tetrazolium, siendo este último transformado al estado reducido. A mayor oxidación de una fuente de carbono, mayor producción de NADH y por lo tanto mayor reducción de tetrazolium.

El objetivo del presente trabajo fue cuantificar las poblaciones microbianas (Bacterias, hongos, actinomicetos, bacterias productoras de indóles y bacterias solubilizadoras de fosfatos) y evaluar la diversidad metabólica de la población microbiana en el periodo perteneciente a lluvias (septiembre 2014) y en el periodo de secas (enero 2015) en tres sitios con uso diferente de suelo, en el ejido de San Pablo Ixayoc, Texcoco, estado de México.

4.3 Materiales y métodos

4.3.1 Área de estudio

El trabajo se realizó en la parte norte de la Sierra Nevada, en el Monte Tláloc, municipio de Texcoco, estado de México, entre las coordenadas 19° 26' 51'' latitud norte y 98° 46' 16'' longitud oeste. Se seleccionaron tres áreas adyacentes con diferente uso del suelo: bosque de encino, plantación forestal de *Pinus ayacahuite* y área cultivada con maíz. El área de cada uso del suelo fue de 1000 m², se tuvieron cuatro repeticiones y donde el tamaño de cada una fue de 250 m².

4.3.2 Toma de muestra en campo

El estudio se realizó en dos periodos, en septiembre 2014 (periodo de lluvias) y enero 2015 (periodo seco). En cada parcela (repetición) se recogieron tres submuestras de aproximadamente 200 g, se mezclaron con el fin de obtener muestras compuestas, de esta manera, se recolectaron cuatro muestras compuestas para cada uso de suelo. Las muestras se tomaron a una profundidad comprendida entre 0 y 10 cm. Se trasladaron en bolsas de plástico con cierre hermético y se colocaron bajo refrigeración a 4°C, para ser posteriormente utilizadas en la cuantificación de microorganismos y medición de la actividad metabólica.

4.3.3 Análisis de laboratorio

El número de microorganismos del suelo se determinó empleando el método de diluciones y cuenta viable, en septiembre 2014, que correspondió al final de temporada de lluvia y en enero 2015, que se ubicó en la temporada de seca. Los microorganismos evaluados fueron bacterias totales, bacterias solubilizadoras de fósforo, hongos totales, bacterias productoras de indoles y actinomicetos. Se utilizó medio agar nutritivo (AN) para determinar el número de bacterias totales, Papa Dextrosa Agar (PDA) con Rosa de Bengala (RB) para determinar el número de hongos totales, medio Czapeck + extracto de levadura para actinomicetos, medio Luria Bertani para

bacterias productoras de indoles y el medio Picovskaya para bacterias solubilizadoras de fosfatos. La actividad de bacterias solubilizadoras de fosfatos se observó por la aparición de halos transparentes alrededor de las colonias (Reyes *et al.*, 1999). Todas las diluciones de cada medio se realizaron por triplicado, incubándose a una temperatura de 28°C, en un periodo de tres días para bacterias, diez días para los actinomicetos, de tres a cinco días para hongos y siete días para solubilizadores de fósforo.

Se mezclaron 10 g de la muestra de suelo rizosférico con 90 mililitros de agua destilada estéril para realizar la primera dilución (10^{-1}) y se agitó durante 20 minutos a 180 rpm. De la dilución se tomó con la ayuda de una pipeta 1 mL y se depositó en un tubo que contenía 9 mL de agua estéril y nuevamente se agitó en un vórtex durante un minuto para homogeneizar la dilución. Esta fue la segunda dilución (10^{-2}), el proceso se realizó de la misma forma para obtener diluciones 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} . De cada una de las diluciones 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} se tomó una alícuota de 0.1 mL y se vertió en una caja de Petri con el medio de cultivo específico para cada grupo microbiano, posteriormente se distribuyó homogéneamente con una varilla de vidrio en forma de “L”. Para bacterias totales, solubilizadores de fosfatos, actinomicetos y bacterias productoras de indoles se usaron las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , y para hongos totales las diluciones 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} .

Basándose en el desarrollo característico de los microorganismos evaluados, se cuantificaron las colonias crecidas en las cajas Petri con los medios de cultivo. Estos resultados se registraron y reportaron en términos de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de suelo, los datos fueron transformados a unidades logarítmicas para su análisis estadístico. Para realizar cálculos se consideró sólo aquellas cajas (diluciones) que contenían de 30 a 300 colonias. Para determinar las UFC se usó la ecuación:

$$\text{UFC/g s.s.} = (\text{NC} * 1/\text{FD} * 1/\text{V}) / (\text{P} * \text{FH}).$$

Dónde: UFC/ g s. s. = Unidades formadoras de colonias / g de suelo seco; NC = número de colonias en el medio de cultivo; FD = factor de dilución que corresponde a la dilución de donde se tomó la muestra con la que se inocula la caja (10^{-2} a 10^{-6}); V= volumen inoculado en la caja = 0.1 ml. P = peso de la muestra húmeda = 1 g; FH = factor de corrección de humedad ($1-(\% \text{humedad}/100)$).

La humedad del suelo se midió en campo con una sonda de humedad TDR Spectrum Technologies, Inc. a la profundidad de 0-20 cm. La temperatura del suelo se midió con termómetro de lectura directa de suelo.

5.3.4 Perfil metabólico

Los perfiles metabólicos de las comunidades microbianas cultivables, se determinaron con las microplacas Biolog™ EcoPlates (BIOLOG Inc., Hayward, CA) con diferentes fuentes de carbono, definiendo como perfil metabólico a la identidad y abundancia de los sustratos que las comunidades microbianas fueron capaces de metabolizar, medida ya sea cualitativamente (presencia / ausencia) o cuantitativa (abundancia). Cada placa de 96 pocillos se compone de tres repeticiones, cada una comprende 31 únicas fuentes de carbono y un blanco de agua. Se utilizó el procedimiento adaptado de Garland y Mills (1991), consistió en pesar 10 g de suelo seco y adicionarlo a una botella con 90 mL de agua destilada, dicha solución se agitó en un termo agitador modelo MAXQ durante 30 minutos, posteriormente se realizaron diluciones seriadas de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} . Se utilizó la dilución 10^{-3} , de esta se tomó una alícuota de 150 μ l y se depositó en cada uno de los pocillos, en el pozo A1 únicamente se le agregó 150 μ l de agua destilada (blanco). Las placas se incubaron a 28 °C y la absorbancia fue leída a 590 nm, usando un lector de microplacas (Perkin- Elmer Life Sciences, Massachusetts, EEUU). Las mediciones se realizaron a las 24 horas de la incubación. El desarrollo del color del pocillo se registró como la densidad óptica (DO), se corrigió sustrayendo el pocillo de blanco (inoculado con agua esterilizada), y luego normalizada por la suma de color

de toda la placa. La actividad metabólica microbiana en cada microplaca se expresó como promedio de desarrollo de color (AWCD) que se determinó con la siguiente ecuación:

$$AWCD = \sum OD_i / 31$$

Donde OD_i es el valor de densidad óptica de cada pocillo.

El índice de Shannon-Weaver (H) (es decir, la riqueza y la uniformidad de la respuesta) se calcularon usando una DO de 0,25 como umbral para la respuesta positiva (Garland, 1997). El índice de Shannon-Weaver se calculó de la siguiente manera:

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

Donde p_i es la relación entre la actividad de cada sustrato (OD_i) y la suma de las actividades en todos los sustratos ($\sum OD_i$).

4.3.4 Análisis estadístico

Los datos fueron procesados y se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de una vía para determinar si existen diferencias entre usos de suelo para las poblaciones microbianas evaluadas. Se realizaron comparaciones de medias mediante la prueba de Tukey. Los análisis se realizaron con la ayuda del programa SAS versión 9.0 para Windows (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA).

4.4 Resultados y discusión

4.4.1 Bacterias totales

La plantación de *Pinus ayacahuite* en la temporada húmeda (septiembre), presentó el mayor número de bacterias totales con 46×10^6 UFC $g^{-1} s^{-1}$, seguido por la zona agrícola y el menor número

de colonias lo presentó el bosque de encino. Para el periodo seco (enero), se presentó el mismo comportamiento, la plantación forestal tuvo el mayor número de colonias, seguido por la zona agrícola y el bosque de encino (Figura 5). Estos resultados sugieren que la conversión de bosques naturales a plantaciones forestales, al modificar las características fisicoquímicas del suelo (Cuadro 3) afectan también a las comunidades microbianas. Vitalí *et al.* (2015), mencionan que las propiedades fisicoquímicas, especialmente el pH del suelo, influyen en la composición y diversidad de las comunidades microbianas, ellos reportan que la conversión de un bosque mixto caducifolio a una plantación forestal de álamo de 15 años, inicialmente aumentó las poblaciones bacterianas, pero éstas se ven después reemplazadas por un aumento de la población de hongos, lo que atribuyeron a la modificación del pH, que cambió de ligeramente ácido a ácido.

Este número alto de la población bacteriana en la plantación forestal puede atribuirse a la caída de acículas de pino, Reyes *et al.* (2011), reportan que en especies de *Pinus montezumae* y *P. greggii* la asociación entre bacterias y hongos aumenta las poblaciones de esos microorganismos, y beneficia aumentando el crecimiento y desarrollo de esas dos especies forestales. Posiblemente este sea el efecto que sucedió en la plantación de *P. ayacahuite*, debido a que la parte del suelo en contacto con el mantillo estaba cubierta de micelio. Montañaño *et al.* (2007), sugieren que suelos con menor concentración de carbono incrementan las poblaciones de bacterias celulolíticas durante la estación de lluvias.

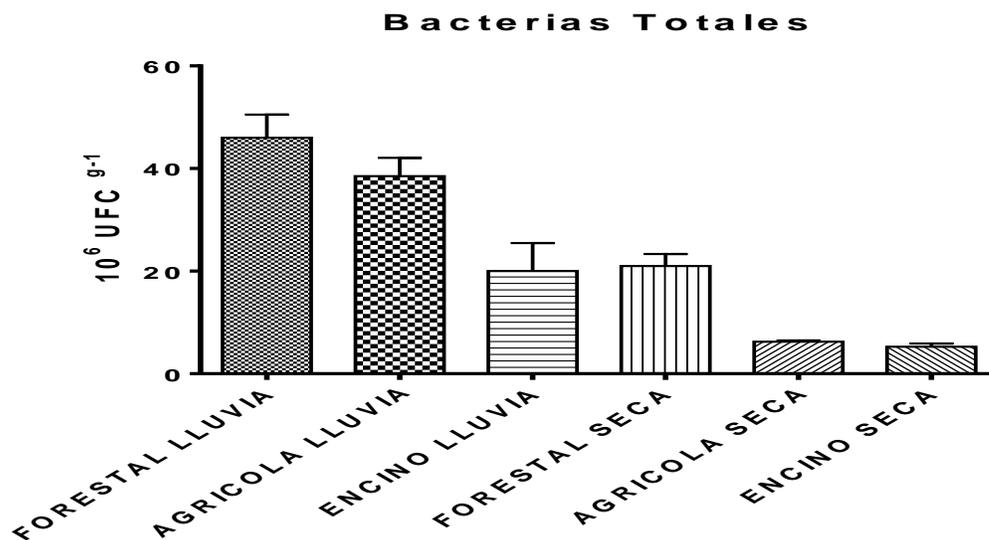


Figura 5. Poblaciones de bacterias totales en el periodo de lluvias (septiembre 2014) y seco (enero 2015), en tres sitios con uso diferente de suelo: Zona agrícola; bosque de encino y plantación forestal de *pinus ayacahuite*, en el Monte Tlálloc.

La población de bacterias en la zona agrícola en lluvia fue mayor respecto al periodo seco. De acuerdo con Montaña *et al.* (2013), esto se debe a que la disponibilidad de agua aumenta la actividad de bacterias heterótrofas de rápido crecimiento. Mientras que cuando la humedad del suelo es baja, la actividad de las heterótrofas es limitada y permite la actividad de bacterias celulolíticas y nitrificantes de lento crecimiento, motivo por el cual se encuentran bajas poblaciones en temporada seca.

En el caso del bosque de encino, la mayor población de bacterias se dio también en época de lluvias, coincidiendo con el periodo de otoño; de acuerdo con Li *et al.* (2004) un aumento en la densidad de árboles en un bosque genera un mayor aporte de hojarasca, favorece la retención de agua en el suelo, equilibra los niveles de humedad edáfica, y aumenta la materia orgánica del suelo, que conduce a la activación y desarrollo de la población microbiana del suelo. En general el periodo de lluvias, que incluye parte de la estación de otoño, presentó una mayor población de bacterias totales en los tres sitios. Lupatini *et al.* (2013), sugiere que la dinámica estacional y el tipo de plantas cultivadas pueden afectar la estructura, distribución y abundancia de las poblaciones microbianas, provocando una disminución en el periodo invernal e incrementando su población en periodos de lluvias. Es posible que los bosques con baja intervención antrópica y con abundantes fuentes nutricionales favorezcan el establecimiento y diversificación funcional de grupos de microorganismos, esto contrasta con lo que sucede con ecosistemas intervenidos, donde especies microbianas con metabolismos fácilmente adaptables a nuevas condiciones (por procesos de sucesión luego de deforestaciones, o aperturas a campos de cultivos y cuando se establece una sola

especie forestal) forman grupos funcionales específicos, disminuyendo de esta forma la diversidad de microorganismos presentes en esos sitios (Escobar, 2003). Este efecto de abundancia se observó en la zona agrícola, ya que después de la plantación forestal, el sitio agrícola presentó la mayor población de bacterias; Cardona (2004), señala que la aparición de grupos de microorganismos funcionales específicos es más evidente en gramíneas, donde hay una cobertura vegetal más homogénea, que puede favorecer el crecimiento de grupos más restringidos de microorganismos.

4.4.2 Hongos totales

La población total de hongos fue mayor en la plantación forestal tanto en periodo húmedo como en seco, comparado con los otros dos sitios, presentando 18×10^4 y 12×10^4 , seguido por la zona agrícola con 17 y 11×10^4 , y con menor población el bosque de encino con 10 y 9×10^4 UFC g^{-1} respectivamente (Figura 6). Frioni (1999), señala que las poblaciones suelen ser mayores en otoño y en primavera, mientras que en periodo de invierno la acción de los hongos es baja, y que el pH ácido hace que los hongos sean la microflora dominante por falta de competencia de bacterias.

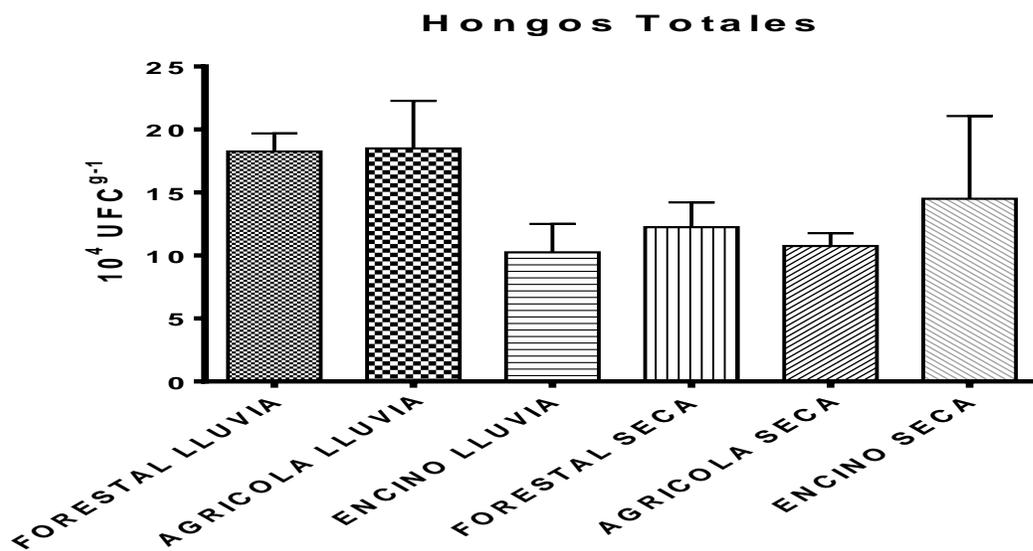


Figura 6. Poblaciones de hongos totales, en periodo de lluvias (septiembre 2014) y secas (enero 2015) en tres sitios con uso diferente de suelo: Zona agrícola, bosque de encino y plantación forestal de *Pinus ayacahuite*, en el Monte Tláloc.

Las poblaciones de hongos en los sitios de plantación forestal y zona agrícola son muy similares tanto en lluvias como seca; Vitalí *et al.* (2015) sugieren que el cambio de uso del suelo reduce la población de bacterias y aumenta la población de hongos, pero disminuye la riqueza en la comunidad de hongos; en el estudio que realizaron encontraron que el 7% del sitio de plantación forestal estuvo ocupado por bacterias y el 52% por hongos, concluyendo que la composición microbiana fue el resultado de la conversión de bosques naturales a plantaciones de álamo. En nuestro caso, la población de hongos en la plantación de *P. ayacahuite* y en la zona agrícola fue mayor respecto al bosque de encino, estos datos no coinciden con lo presentado por Cabello y Arambarri (2002), quienes observaron que el número de hongos fue dos veces más alto en un bosque no perturbado que en un bosque intervenido. Sin embargo, lo reportado en este trabajo coincide con lo señalado por Allegrucci *et al.* (2005), quienes reportan que la comunidad de hongos es mayor en bosques perturbados que en un bosque natural sin disturbios, indicando que puede disminuir la heterogeneidad de las poblaciones de hongos al cambiar el uso del suelo. Purahong *et al.* (2014), destacan que la conversión de bosque templado de hoja caduca a plantación de coníferas puede disminuir la diversidad y aumentar abundancia de los hongos, pero sugieren que también depende de la especie de conífera que se introduce. Ellos reportan que la introducción de coníferas perdió del 20- 27% de hongos nativos. En nuestro experimento, en general en ambos periodos estacionales, las poblaciones fúngicas no fueron tan diferentes, debido a que el factor humedad no vario fuertemente en otoño e invierno. Diversos autores coinciden que en el periodo de invierno, el contenido de humedad, pH y materia orgánica influyen en la secreción de enzimas generando mejores condiciones para la actividad fúngica, incluyendo a micorrizas y hongos

saprófitos. También reportan que el rol natural de los microorganismos del suelo está siendo marginado debido a las prácticas agrícolas convencionales como labranza y altos consumo de fertilizantes inorgánicos y plaguicidas (Criquet *et al.*, 2004; Alvear *et al.*, 2008; Kang *et al.*, 2009).

4.4.3 Actinomicetos

La población de actinomicetos fue mayor en el bosque de encino, presentando en temporada húmeda 9×10^5 UFC y en temporada seca 2×10^5 UFC g^{-1} , respectivamente. Mientras que la plantación de *P. ayacahuite* mostró las menores poblaciones tanto en periodo húmedo como en seco (Figura 7). De acuerdo con Sylvia *et al.* (2005), los actinomicetos llegan a representar entre 10^6 y 10^7 individuos por gramo de suelo seco, poblaciones no tan alejadas de los datos reportados en este trabajo.

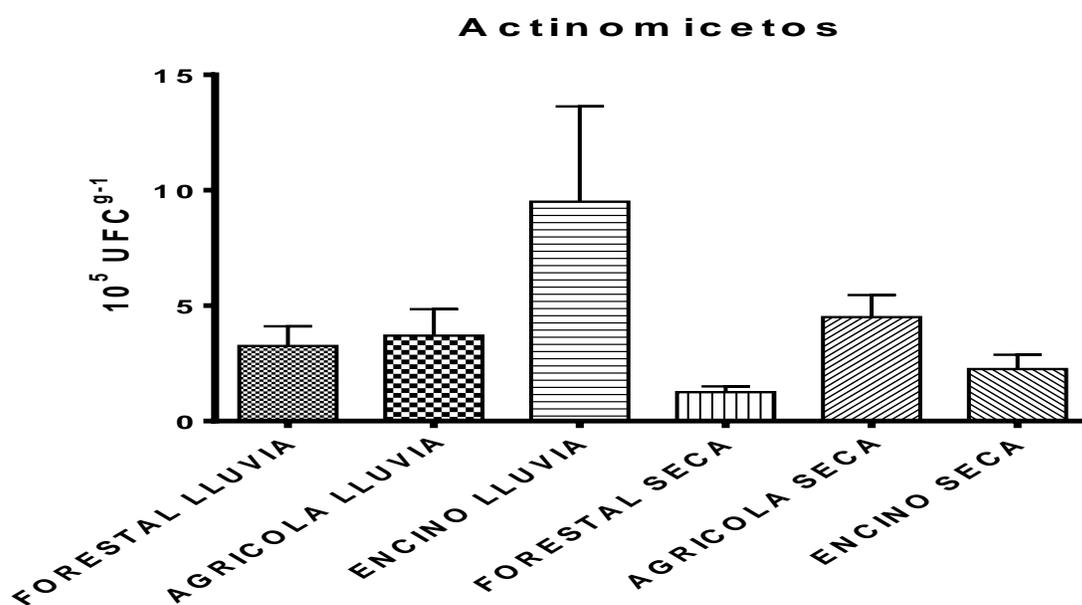


Figura 7. Poblaciones de actinomicetos, en periodo de lluvias (septiembre 2014) y secas (enero 2015) en tres sitios con uso diferente de suelo.: Zona agrícola, bosque de encino y plantación forestal de *Pinus ayacahuite*, en el Monte Tláloc.

De forma general las poblaciones de actinomicetos en los tres sitios no fueron diferentes significativamente, excepto encino en el periodo de lluvias que presentó la población más alta de este grupo microbiano; de acuerdo con Koneman (2001), la presencia de mayor población de actinomicetos en bosque de encino puede deberse a que estos microorganismos generalmente son aerobios que crecen abundantemente en suelos drenados; Titus y Pereira (1999) sugieren que la adición de materia orgánica a los suelos estimula la multiplicación y actividad de los actinomicetos, y señalan que en suelos alcalinos y neutros es más favorable su desarrollo, ya que en suelos por debajo de pH 5.0 es frecuente observar su ausencia. En este trabajo se reportó un pH de 5.7 a 5.8 en los tres sitios, el cual es ligeramente ácido. De acuerdo a Tate (2000), bajo condiciones adversas las poblaciones de actinomicetos disminuyen levemente, que depende también del tipo de suelo, este autor reporta que en suelos fértiles la población de actinomicetos puede ser de hasta 10^6 UFC g^{-1} ; en este trabajo nosotros encontramos poblaciones en encino de 5.5×10^5 , en la zona agrícola de 3.5×10^5 y en la plantación forestal de 2×10^5 . Los resultados encontrados también se aproximan a los reportados por Khaled y Tarabilya (2006), quienes encontraron que en suelos calcáreos y con buen contenido de materia orgánica, los actinomicetos alcanzan una población de 10^6 g^{-1} suelo seco, ellos indican que las enmiendas que se le hacen a los cultivos aumentan la abundancia de dichas poblaciones. En estudio, Dinishi y Parkinson (2008), evaluaron las poblaciones de actinomicetos a las profundidades de 0-4 y 4-8 cm en un bosque de álamo y un bosque de *P. contorta*, encontrando una mayor población en el bosque de álamo en la profundidad de 0-4 cm, con una población de 2.3×10^4 UFC, mientras que en *P. contorta* fue de 1.9×10^4 UFC g^{-1} ; Das y Mishra (1989), realizaron un estudio de actinomicetos en bosques de pino en el Noreste de la india, encontrando que la comunidad de actinomicetos fue influenciada negativamente por la hojarasca en descomposición que generó productos fitotóxicos como el ácido dihidroxibenzoico, ácido vanílico y ácido quínico. Tal vez esta sea una posible explicación a los

bajos números de la población de actinomicetos en la plantación evaluada de *P. ayacahuite* de nuestro estudio en la temporada de secas. Este trabajo sugiere que, los actinomicetos se ven inhibidos en los bosques de pino, por lo tanto en pinos estarán en mayor proporción los hongos, mientras que en los bosques caducifolios, por la cantidad de materia orgánica y de rápida descomposición, estarán en mayor proporción los actinomicetos.

4.4.4 Bacterias solubilizadoras de fosfatos

La población de bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSP) en el periodo húmedo no fue diferente significativamente en los tres sitios evaluados. Para el periodo de secas, el bosque de encino mantuvo similar población de BSP que en la época de lluvias, mientras que la plantación forestal y la zona agrícola las poblaciones de BSP disminuyeron respecto al periodo de lluvias, pero entre estos sitios las poblaciones de BSP fueron similares (Figura 8). De forma general la población de bacterias solubilizadoras fue alta en los tres sitios y en los dos periodos de muestreo con 10^5 UFC g^{-1} de suelo seco. Becerra *et al.* (2011), reportaron para tres cultivos de fruto exótico “uchuva”, (*Physalis peruviana* L.) una población estimada de 29×10^3 , 39×10^4 y 36×10^4 UFC mL^{-1} , respectivamente. Estos mismos autores indican que las bacterias actúan mejor en pH superior a 5.5, y en este trabajo el pH osciló entre 5.7-5.8. Diversos autores coinciden en que el número de microorganismos solubilizadores de compuestos de fosfatos varía ampliamente de un tipo de suelo a otro (Peix y col 2001; Fernández *et al.* 2005). Este estudio presenta el mismo tipo de suelo en los sitios (Franco-Arenoso). Estos autores coinciden en que las poblaciones serán influenciadas por el clima y la historia del cultivo. Podría asumirse de forma general que las poblaciones se relacionan positivamente con la humedad, más que por el tipo de suelo y cantidad de materia orgánica. Sin embargo Montaña *et al.* (2009), sugiere que una mayor concentración de carbono incrementa la abundancia de bacterias solubilizadoras de P, ya que el carbono lábil presenta formas químicas y

estructuralmente sencillas para ser degradadas. Esa podría ser una explicación a que en el bosque de encino encontramos la misma población de Bacterias solubilizadoras de P, tanto en lluvia como periodo seco.

En cuanto a la población en el sitio agrícola, las bacterias posiblemente persistieron en la rizosfera de las plantas, Patiño, (2010) señala que estas pueden solubilizar fosfato inorgánico de diferentes compuestos como el fosfato bicálcico, fosfato tricálcico, y rocas fosfóricas, también de los residuos del cultivo, en especial de la degradación de la raíz de la planta.

B. Solubilizadoras de Fósforo

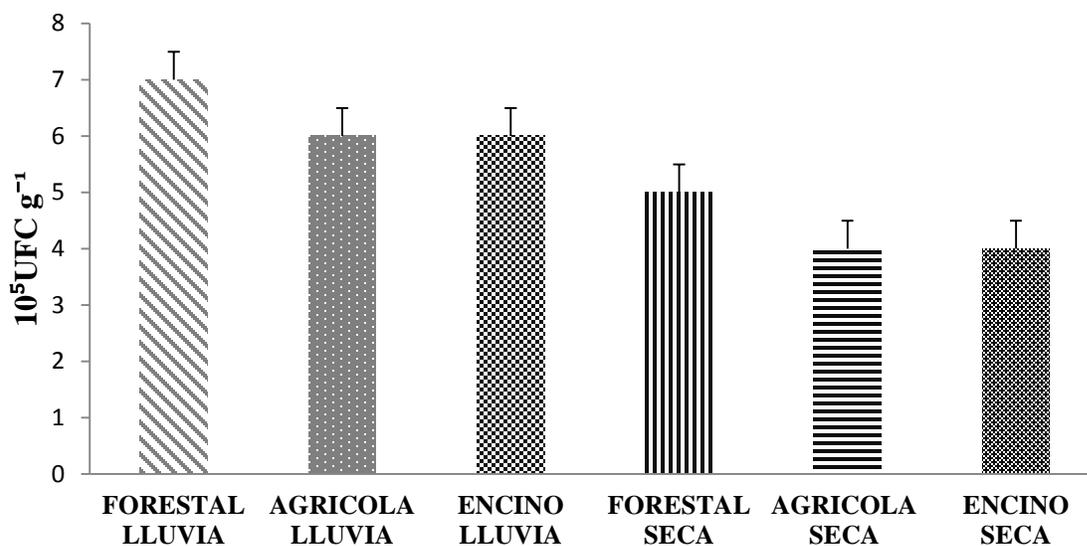


Figura 8. Poblaciones de bacterias solubilizadoras de fosfato, en periodo de lluvias (septiembre 2014) y de secas (enero 2015) en tres sitios con uso diferente de suelo: Zona agrícola, bosque de encino y plantación forestal de *Pinus ayacahuite*, en el Monte Tláloc.

4.4.5 Bacterias productoras de ácido indolacético

Esta población de bacterias, tienen una función importante en la rizósfera, ya que producen indoles, que pueden influir directamente en la fisiología de las plantas. Lo que las convierte en una fuente reguladora de crecimiento optimizando el rendimiento y la producción en un ecosistema natural o en cultivos. En el trabajo se reporta que las poblaciones de bacterias productoras de indoles no son diferentes significativamente entre los tres sitios, y en el periodo húmedo y seco (Figura 9).

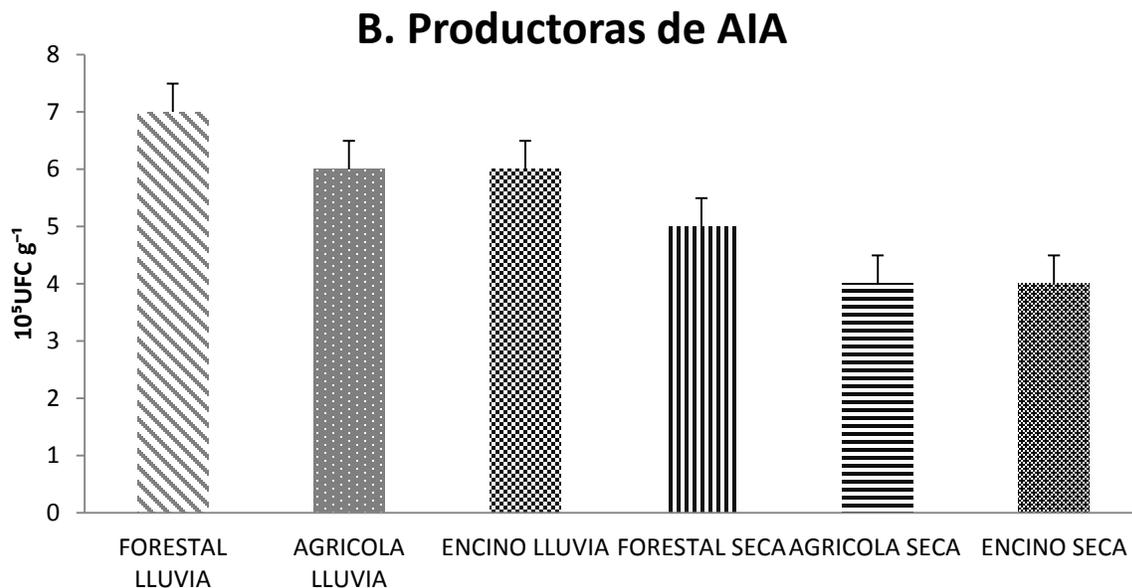


Figura 9. Poblaciones de bacterias productoras de ácido indolacético en el periodo de lluvias (septiembre 2014) y de secas (enero 2015), en tres sitios con uso diferente de suelo: zona agrícola; bosque de encino; plantación forestal de *Pinus ayacahuite*, en el Monte Tláloc.

La población de bacterias productoras de indoles en los tres sitios disminuyó ligeramente en la temporada de secas, hay diversos estudios que demuestran que bacterias específicas del suelo tienen la capacidad de producir estas auxinas promoviendo efectos positivos a las plantas. Por lo

tanto las poblaciones de estas bacterias que se reportan en los tres sitios son importantes, porque son indicadores de que están estimulando el crecimiento de las plantas.

4.4.6 Diversidad metabólica

En los tres sitios evaluados en la temporada húmeda, no se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$), tampoco en temporada de seca, ambos periodos mostraron homogeneidad en la utilización de fuentes carbono, sin embargo respecto a la temporada húmeda contra la temporada seca la diversidad si mostró diferencia (Figura 10).

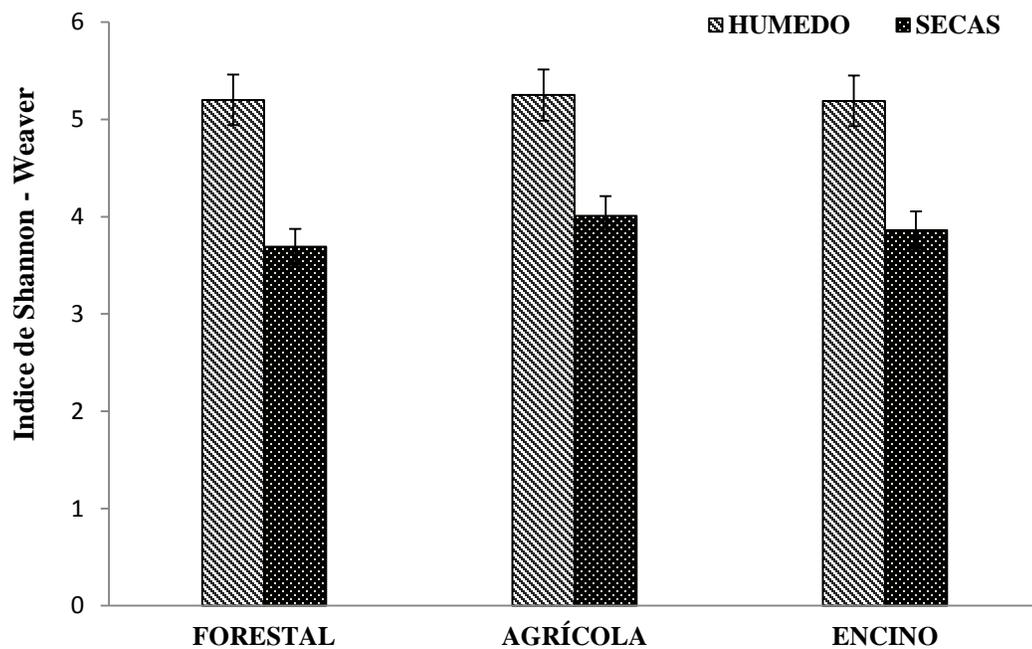


Figura 10. Índice de Shannon- Weaver de sustratos metabolizados en Biolog EcoPlate, en tres sitios con uso diferente de suelo, en dos periodos estacionales. Húmedo: lluvias (septiembre) y secas (enero). $n = 12$.

Flores *et al.* (2015), indican que el factor pH influye directamente en la diversidad de microorganismos, en este trabajo el pH fue de 5.7 a 5.8, similar entre los sitios, por lo que el índice se debe explicar por otros factores. La diversidad metabólica solo presenta diferencia respecto a los periodos de lluvia y secas, este comportamiento fue similar en los tres usos de suelo (Figura 12). Walker, (2012) sugiere que las perturbaciones o modificaciones en el ecosistema, se relacionan con el aumento o disminución en la biodiversidad microbiana del suelo. Gómez *et al.* (2006), reportan que en un sitio sin perturbación la diversidad microbiana es alta y constante, debido a que el suministro de materia orgánica al suelo estimula las poblaciones microbianas, reflejando su capacidad oxidativa de carbono. De acuerdo con Fließbach y Mader (2000) los índices de diversidad aumentan cuando al cultivo se le aporta abono o compost, esto es posiblemente como resultado del desarrollo y adición de una diferente microbiota después de la incorporación de materia orgánica. Sin embargo Torsvik *et al.* (2002) señala que en los suelos agrícolas la diversidad microbiana puede reducirse en comparación con los suelos naturales, provocando una especificidad de grupos microbianos, pudiendo reducir la funcionalidad de los microorganismos en el suelo. Mäder *et al.* (2002), consideran que las prácticas orgánicas son ecológicamente más sostenibles, ya que aumentan la diversidad microbiana comparada con las prácticas agrícolas convencionales. Schneider *et al.* (2010), indican que las condiciones climáticas, principalmente temperatura y humedad, pueden contribuir a regular la diversidad y abundancia de especies microbianas, así como el aporte de materia orgánica. Classen *et al.*, (2003), indican que la presencia de árboles ejerce una fuerte influencia positiva sobre la cantidad de sustratos consumidos, provocando una diversidad microbiana mayor, comparada con áreas abiertas. Mientras que Curiel y colaboradores (2012), explican que la diversidad en sitios agrícolas se da por la formación de nuevos nichos disponibles después de la perturbación, por lo que es posible encontrar mayor abundancia de microorganismos.

Bien se sabe que el carbono es un factor clave que regula el crecimiento de microorganismos del suelo, por lo que el incremento en el potencial funcional de las poblaciones microbianas, puede explicarse por un aumento en la disponibilidad de carbono como consecuencia de incorporaciones de material orgánico. En este estudio, el aumento coincide con el periodo de otoño, en el que tanto bosque de encino como plantación forestal presentan caída de hojas, aumentando la capa de materia orgánica, así mismo el factor humedad y temperatura, crean un ambiente propicio para la actividad microbiana; en cuanto al sitio agrícola coincidió con la preparación del suelo, provocando una aireación de la tierra, exponiendo las fracciones de carbono no accesibles.

CONCLUSIONES

1. La mayor población de bacterias en los tres usos del suelo se dio en el periodo lluvioso, la plantación forestal presentó la mayor población.
2. En los tres usos diferentes de suelo, la población de hongos presentó el menor número (10^4 UFC g^{-1}) en comparación a los otros grupos microbianos. Los actinomicetos fueron abundantes en el bosque de encino.
3. La cantidad de microorganismos en el suelo depende de varios factores como son: la temporada, el tipo de suelo, el uso de suelo, el contenido de humedad, el tipo de labranza y fertilización.
4. Los tres usos de suelo presentan una alta diversidad metabólica en el periodo de lluvia y baja en el periodo de secas.
5. Los tres usos de suelo presentaron la misma diversidad metabólica.
6. El perfil metabólico de cada sitio debe ampliarse para evaluar por tiempos prolongados y por grupos funcionales, para tener un perfil metabólico completo.

7. Se requiere de un mayor conocimiento sobre la diversidad y función microbiana para predicciones presentes y futuras sobre las respuestas a los cambios de uso de la tierra y cambio climático global.

Literatura citada

Allegrucci N., Cazau M.C., Cabello M.N., Arambarri A.N. 2005. Análisis de las comunidades de microhongos de la hojarasca de *Scuti Buxifolia* (Rhamnaceae) en el este de la provincia de buenos aires, Argentina. DARWINIANA 43(1-4): 1-9.

Alvear M., Astorga M., Reyes F. 2008. Efecto de los residuos vegetales provenientes de dos tratamientos silvícolas en una plantación de *Pinus radiata* D. Don sobre los cambios estacionales de las actividades biológicas del suelo. Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal. 8(1): 14-27.

Becerra J.M., Quintero D., Martínez M., Matiz A. 2011. Characterization of phosphate solubilizing microorganisms isolated from soils planted with cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). Rev. Colombiana de ciencias hortícolas.5 (2):195-208.

Cabello M. y Arambarri A. 2002. Diversity in soil fungi from un disturbed and disturbed *Celtis tala* Gill. Ex *Planch* and *Scutia buxifolia* Reiss forests in the Eastern Buenos Aires province (Argentina). Microbiol. Res. 157(2): 115-125.

Cabrera, L. T. A. 2000. Aporte al Conocimiento de la Microbiota Fúngica, con énfasis en tres grupos funcionales. Santa fe de Bogota: (Tesis Biólogo). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.www.control-biologico.com/monog.lilacinol.htm.

Cardona G.I. 2004. Evaluación de la diversidad de actinomicetos en suelos bajo tres coberturas vegetales en el sur del trapecio amazónico colombiano. Tesis Pontificia universidad Javeriana, Bogotá Colombia.

- Classen A.T., Boyle S.I., Haskins K.E, Overby S.T, Hart S.C. 2003. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils. *FEMS Microbiology Ecology*. (44):319-328.
- Criquet S., Ferre E., Farnet A. and Le Petit J. 2004. Annual dynamics of phosphatase activities in an evergreen oak litter: influence of biotic and abiotic factors. *Soil Biol. Biochem.* (36): 1111–1118.
- Curiel Y.J., Barba J., Fernández G.A.J., Fernández L. M,S., Mattana J., Martínez V. P., Lloret N.F. 2012. Changes in soil bacterial community triggered by drought-induced gap succession preceded changes in soil C stocks and quality. *Ecology and Evolution*. (2): 3016–3031.
- Das P.K., Mishra R.R., 1989. Studies of soil actinomycetes: I. Influence of litter decomposition on the soil actinomycetes of a pine forest of North India. *Geobios* 16, 231.
- Dinishi J.B.A.T. y Parkinson D. 2008. Actinomycetes as antagonists of litter decomposer fungi. *Applied soil ecology*. (38), 109-118.
- Escobar L.F. 2003. Efecto del sistema de uso del suelo sobre la abundancia de poblaciones nativas de rizobios en la microcuenca potrerrillo, departamento del Cauca. Tesis de pregrado en Ecología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá DC, Colombia.
- Fernández L.A., Zalva P., Gómez M.A., Sagardoy M.A. 2005. Bacterias soubilizadoras de fosfato inorgánico aisladas de suelos de la región sojera. *Ci. Suelo*. 23 (1): 31-37
- Ferrera-Cerrato R. 2010. Microbiota edáfica y su importancia en la agricultura. *Microbiología agrícola*. Editorial trillas. Pp 40-41.
- Fierer N. and Lennon J.T. 2011. The generation and maintenance of diversity in microbial communities. *Am J Bot.* 98(3):439-48.
- Fliessbach A., Mäder P. 2000. Microbial biomass and size-density fractions differ between soils of organic and conventional agricultural systems. *Biochem.* (32):757–768.
- Flores R. d., J. Curiel Y. A., Rincón F. B., García-G.F.V. 2015. Habitat fragmentation can modulate drought effects on the plant-soil-microbial system in Mediterranean holm oak (*Quercus ilex*) forests. *Microbial Ecology*. (69): 798–812.
- Frac K. M., Lipiec O.J. 2012. Community level physiological profiles (CLPP), characterization and microbial activity of soil amended with dairy sewage sludge. *Sensors*. (12): 3253–3268.

- Frioni L. 1999. Procesos microbianos. Editorial Fundacion Universidad Nacional de Río IV. 332 pp.
- Garland J.L., 1997. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbial Ecol.* (24): 289–300.
- Garland J.L., Mills A.L. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology.* (57): 2351–2359.
- Germida J. 1993. Cultural methods for soil microorganisms. In : Soil sampling and methos of analysis. M.R.Carter editor. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers. 263-275 pp.
- Gómez C. and Corlay L. 2007. Microbiota edáfica y su importancia en la agricultura. *In: Ferrera-Cerrato R. y Alarcón A. pp. 39-55. Microbiología Agrícola. (eds.) Trillas.*
- Gómez J.E., Ferreras L. Toresani S. 2006. Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application. *Bioresource Technology* (97):1484–1489.
- Gómez J.E., Garland M.C. 2004. Reproducibility in the response of soil bacterial community-level physiological profiles from a land use intensification gradient. *Applied Soil Ecology.* (26):21–30.
- Guerrero E.C., Orozco A., Rivillas C. 1996. *Micorrizas: Recursos biológicos del suelo.* Bogotá: Fondo Fen Colombia. 56 – 57 pp.
- Gyaneshwar P., Kumar G.N., Parekh L.J., Poole P.S. 2002. Role of soil microorganisms in improveing P nutrition of plants. *Plant Soil* (245): 83-93.
- Hoffman, J., Bezchlebová J., Dusek L., Dolezal L., Holoubek I., Andel P., Ansorgová A. and Maly S. 2003. Novel approach to monitoring of the soil biological quality. *Environ. Intl.* (28): 771-778.
- Kang H., Kang S., Lee D. 2009. Variations of soil enzyme activities in a temperate forest soil. *Ecological Research* 24(5): 1137-1143.
- Khaled A.E.T., Sivasithamparam k. 2006. Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biology & Biochemistry* (38):1505–1520.

- Kirk J.L., Beaudette L.A., Hart M., Moutoglis P., Khironomos J.N., Le H., Trevors J.T., 2004. Methods of studying soil microbial diversity. *J. Microbiol. Methods* (58): 169–188.
- Koneman E.W. 2001. *Diagnóstico microbiológico: texto y atlas a color*. Quinta edición. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires. 533 p.
- Li Q., Allen H.L., Wollum A.G. 2004. Microbial biomass and bacterial functional diversity in forest soils: effects of organic matter removal, compaction, and vegetation control. *Soil Biology and Biochemistry* 36(4): 571-579.
- Lupatini M., Ahmad S.K.A., Seminoti J.R.J., Antonioli I.Z., Kuramae E.E., de Oliveira C.F.A., Wurdig R.L.F. 2013. Soil-Borne Bacterial Structure and Diversity Does Not Reflect Community Activity in Pampa Biome. *PLoS ONE*. 8 (10): e76465.
- Mäder P., Fliessbach A., Dubois D., Gunst L., Fried P., Niggli U. 2002. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*. (296): 1694–1697.
- Madigan. T.M Brock-Biology of Microorganisms. Prentice Hall, Editions Pearson Edutacion. 150 pp.
- Marschner P., Yang C.H., Lieberei R., Crowley D.E., D.E., 2001. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil biology and biochemistry* (33): 1437 – 1445.
- Martínez E.H., Fuentes J.P., Acevedo E.H. 2008. Carbono orgánico y propiedades del suelo. *J. Soil Sc. Plant Nutr.* 8 (1) 68-96.
- Montaño N., Sandoval P.A., Nava M.M., Sanchez-Yañez J.M., Garcia O.F. 2013. Variación espacial y estacional de grupos funcionales de bacterias cultivables del suelo de un bosque tropical seco en México. *Rev. Biol. Trop.* 61 (1): 439-453.
- Montaño N.M., F. García-Oliva and J. Jaramillo. 2007. Dissolved organic carbon affects soil microbial and nitrogen dynamics in a Mexican tropical deciduous forest. *Plant Soil* 295: 265-277.
- Montaño N.M., Sandoval-Pérez A.L., García-Oliva F., Larsen J., Gavito M.E. 2009. Microbial activity in contrasting conditions of soil C and N availability in a tropical dry forest. *J. Trop. Ecol.* 25: 401-413.

- Moratto C., Martinez J.L., Valencia H., Sanchez J. 2005. The effect of land use on phosphate solubilising fungi and diazotrophic bacteria on the bleak uplands of páramo of Guerrero, Cundinamarca department. *Agronomia Colombiana*. 23 (2): 299-309.
- Nielse M.N and Winding A. 2002. Microorganisms as indicators of soil health. Technical report (388). National Environmental Research Institute, Denmark. 84 p.
- Patiño C. 2010. Solubilización de fosfatos por poblaciones bacterianas aisladas de un suelo del Valle del Cauca. Estudio de biodiversidad y eficiencia (tesis doctoral en Ciencias Agropecuarias - Manejo de Suelos y Aguas). Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.
- Peix A, Rivas-Boyer A.A., Mateos P.F., Rodríguez-Barrueco C, Martínez-Molina E, Velazquez E. 2001. Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions. *Soil Biol. Biochem.* 33:103-110.
- Purahong W., Hoppe B., Kahl T., Schloter M., Detlef Schulze E., Bausch J., Buscot F., Krüger D. 2014. Changes within a single land-use category alter microbial diversity and community structure: Molecular evidence from wood-inhabiting fungi in forest ecosystems. *Journal of Environmental Management*. (139): 109-119.
- Reyes F., Lillo A., Ojeda N., Reyes M., Alvear M. 2011. Influence of slope and orientation on biological activities of a relict temperate forest from South- Central Chile. *Bosque*. 32 (3): 255-265.
- Richardson A.E. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Austr. J. Plant Physiol.* (28): 897-906.
- Schneider S., Hatmann M., Enkerli J., Widmer F. 2010. Fungal community structure in soils of conventional and organic farming systems. 3 (3): 215- 224.
- Silva F.C. 2009. Handbook of chemical analysis of soils, plants and fertilizers Embrapa Information Technology, Brasília.
- Stenberg B., 1999. Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators. *Acta Agric. Scand., Sect. B. Soil Plant Sci.* (49): 1–24.

- Sylvia M.D., Fuhrman J.J., Harlet G.P., Zuberer A.D. 2005. Principles and Applications of Soil Microbiology (2nd Edition). Prentice Hall. 432p.
- Tate R.L. 2000. Soil Microbiology (second ed.), Wiley, New York, pp.47-56
- Titus A., Pereira G.N. 1999-2007. The role of Actinomycetes in coffee plantation ecology.
- Torsvik V., Ovreas L., 2002. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Curr. Opin. Microbiol.* (5):240–245.
- Ushio M., Wagai R., Balser T.R., Kitayama K. 2008. Variations in the soil microbial community composition of a tropical montane forest ecosystem: Does tree species matter? *Soil Biology and Biochemistry* 40(10): 2699-2702.
- Vieira F.C.S y Nahas E. 2005. Comparison of microbial numbers in soils by using various culture media and temperaturas. *Microbiological Research.* 160 (2): 197-202.
- Vitalí F., Mastromei G., Senatore G., Caroppo C. 2015. Long lasting effects of the conversion from natural forest to poplar plantation on soil microbial communities. *Microbiological Research* (182): 89-98.
- Walker L.R. 2012. The Biology of Disturbance Ecology. Press, New York
- Wan J.H.C. y Wong M.H. 2004. Effects of earthworm activity and P-solubilizing bacteria on P availability in soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science.* 167, (2): 209-213.
- Weber K.P., Legge R.L. 2009. One-dimensional metric for tracking bacterial community divergence using sole carbon source utilization patterns. *Journal of Microbiological Methods.* (79): 55–61.
- Weber K.P., Grove J.A., Gehder M., Anderson W.A., Legge R.L. 2007. Data transformations in the analysis of community-level substrate utilization data from microplates. *Journal of Microbiological Methods.* (69): 461–469.
- Whitman W.B., Coleman D.C., Wiebe W.J. 1998. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc. Nat. Acad. Sci. Usa.* (95): 6578-6583.
- Zak J.C., Willing M.R., Moorhead D.L., Wildman H.G., 1994. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biol. Biochem.* (26): 1101–1108.