

Instituto Tecnológico de Costa Rica

Universidad Nacional de Costa Rica

Universidad Estatal a Distancia

Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo



**DIVERSIDAD MICROBIANA ASOCIADA A CHENOPODIACEAE
HALOTOLERANTES:**

Análisis comparativo de comunidades microbianas de suelo, de rizósferas y de microorganismos endofíticos en *Suaeda spp* y *Atriplex spp*

Tesis sometida a consideración del tribunal evaluador como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias Naturales para el desarrollo, con énfasis en Gestión de Recursos Naturales

Sustentante

Angélica del Carmen Ruiz Font

Tutora

Dra. Mary Lucero

MIEMBROS DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

Dra. Caterina Guzman Verri
Representante del Consejo Central de Posgrado UNA

Dr. Giovanni Sáenz-Arce
Coordinador del Posgrado

Dra. Mary Lucero
Tutor de tesis

Dra. Susana Mendoza Elvira
Miembro del Comité Asesor

Dr. Edgardo Vargas Jarquín
Miembro del Comité Asesor

Dr. José Guillermo Penieres Carrillo
Lector Externo

Angélica del Carmen Ruiz Font
Sustentante

CGA-623-16
Costa Rica, 17 de noviembre, 2016

Señora
María Angélica Ruíz Font
Estudiante UNA-2007
DOCINADE

Asunto: Comunicación acuerdo sobre requisito de artículos.

Estimada señora,

Reciba un saludo muy cordial por parte del programa de Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo (DOCINADE).

Por medio de la presente, se le informa que en sesión del Comité de Gestión Académica, n° 15-2016, celebrada el 02 de noviembre de 2016, acuerdo n°187, el cual se transcribe el mismo:

ACUERDO 187. "Se aprueba el requisito de los artículos presentados por la estudiante Angélica del Carmen Ruiz Font las cuales son:

- **Artículo:** Sanchez, G y Ruiz-Font, A. 2012. Efecto del NaCl y de los termoperiodos sobre la germinación de semillas de *Suaeda mexicana* (Standl.) Standl. (Chenopodiaceae) Effect of NaCl and thermoperiod on seed germination of *Suaeda mexicana* (Standl.) Standl. (Chenopodiaceae). *Tecnología en Marcha*.

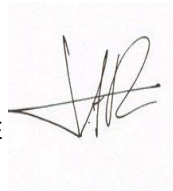

- **Libro:** BIOTECNOLOGIA. Estudio de la Secretaría de Economía Federal sobre el Desarrollo basado en Tecnologías Emergentes. VOLUMEN I. Situación Internacional de la Biotecnología y Tendencias de Desarrollo. ISBN Volumen I: 978-607-414-328-7 ISBN Obra Completa: 978-607-414-327-0.

- **Capítulo:** Lucero, M., DeBolt, S., Unc, A. Ruiz-Font, A, Reyes, L., McCulley, R. And Barrow, J. 2014. Sustainable agroecosystems in climate change mitigation Using microbial community interactions within plant microbiomes to advance an evergreen agricultural revolution. In *Sustainable agroecosystems in climate change mitigation*, Edited by Maren Oelbermann, 04/2014: chapter 10: pages 183-202; Wageningen Academic Publishers."

Agradezco la atención.

Atentamente,

Dr. Freddy Araya Rodríguez,
Coordinador General del DOCINADE

FAR/vmq
C.c Archivo 

Comité Gestión Académica Tel: (506) 2475-5310/2277-3276/2202-1810

ABSTRACT

Background: Population growth with corresponding decreases of arable land, available water and nutrients, under biotic and abiotic stress presents major challenges for the production of sufficient food, fiber and biofuels in the coming century. Salinity stress is one of the major abiotic stresses.

Plant associated microbes may help mediate such dry and salt stress. The identification of salt tolerant or halophilic rizobacteria has the potential to promote saline soil based agriculture.

Methodology/Principal Findings: We analyzed rhizospheric, soil and leaf litter microbial communities associated with two saline-adapted chenopod plants, *Suaeda mexicana*, from central Mexico and *Atriplex canescens*, from the Chihuahuan Desert region of the United States. In order to characterize the cultivable microbial community, soil and leaf litter samples were processed and analyzed by traditional surface spread plating methods. The samples were plated on sixteen different culture media: modified R2A; Casamino acids; BHAP; PDA; TYA and YCED. Each medium contained either 4% or 10% NaCl (w/v), and was adjusted to either neutral (pH 7) or basic (pH 9). Cells of 43 strains, selected as representatives of the cultivated isolates, were lysed by freeze-boiling and directly applied to PCR mixtures. Amplification of 16S rADN fragments was carried out using the primer pairs F984GC-R1378 for bacteria and ITS1F-ITS4 for the sole fungal isolate. Sequences obtained from PCR products obtained from *Atriplex* isolates were homologous to sequences of the bacterial genera *Penibacillus*, *Streptomyces*, *Promicromonospora*, *Rhodococcus*, *Bacillus* and *Pseudomonas*, and the fungal genus *Aspergillus*. Sequences homologous to the genera *Arthrobacter*, *Streptomyces*, *Nocardia*, *Cellulosimicrobium*, *Pseudomonas* and *Bacillus* were amplified from *Suaeda* isolates.

Each of the isolates was used for the inoculation of axenically grown *Amaranth spp* seedlings and plant growth promotion was evaluated. From the

collection of halophilic microorganism we found that nine of them have the ability to reduce the effect of stress under salinity and promote plant growth.

In order to characterize non-cultivable microbial community, samples of seed, soil and leaf litter in different seasons (dry and rainy) were processed and analyzed by molecular technics. Total DNA was extracted from. Using a Universal Bacterial 16S Primer, Tag-Encoded FLX Amplicon Pyrosequencing (TEFAP) was used to assess microbial diversity. Clustering analysis of total microbial community results in four groups: 1) soil microbiome from *Atriplex* and *Suaeda*, 2) litter microbiome from *Atriplex* and *Suaeda* 3) *Suaeda* seed and 4) *Atriplex* seed.

There is no significant difference between the samples of the rainy and dry seasons.

The results of pyrosequencing-based analysis of the 16S rRNA gene regions showed higher diversity in *Suaeda*'s litter and minima in seeds of *Suaeda* and *Atriplex* (Shannon diversity index: 5.26/1.78/1.53). The Actinobacteria and Proteobacteria are the most representative phyla at soil and litter samples in both plants. Firmicutes was significantly higher at seed, they are representing 97% of the *Atriplex* microbiome and 60% in *Suaeda*.

Actinobacteria play the key role: they represented 60% of the salino-tolerant with promotive vegetal activity.

Conclusions: Rhizospheric bacterial community shows no difference between chenopods separated by 2000 km. Neither do the bacterial community of litter. Instead, we found the seeds present a low but specific diversity that makes them unique bacterial communities as extremophilic bacteria.

The cultivable microbiome with resistance to salinity is a source of biological technology for food production in extreme environments. Interestingly, we detected that indigenous desert microorganism promoted plant health in agro-ecosystems.

AGRADECIMIENTOS

A la beca Norman E Borlaug del departamento de Agricultura de Estados Unidos, que me permitió ser una de las diez becarios honrados a nivel mundial para recibir el apoyo de 30,000 USD para realizar mi tesis doctoral.

A la Dra. Mary Lucero y su equipo en la Jornada Experimental Range, USDA ubicado en la Universidad Estatal de Nuevo México en Las Cruces, NM. Ella me proporcionó herramientas, protocolos y metodologías que hicieron mi proyecto mucho más interesante de lo que ya era. Su trabajo fue realmente inspirador para mí e hizo que los descubrimientos que obtuve en Nuevo México se convirtieran en el corazón de mi proyecto doctoral.

Al DOCINADE y su cuerpo de profesores, su academia que aunque no tuvieron una participación directa en el proyecto, sé que siempre estuvieron allí para apoyarme, dirigirme, acompañarme en este reto.

Al Instituto Politécnico Nacional, especialmente al General Lázaro Cárdenas, que en hace ochenta años decreto su creación.

DEDICATORIA

A la memoria del tecnólogo, agrónomo y humanista Norman E. Bourlaug, quien con su incansable trabajo trató de mitigar el hambre en el mundo.

A la memoria de la Dra. Carol D. Litchfield, una microbióloga de nuestro tiempo, quien hizo camino para que en el mundo pudiéramos estudiar a los organismos extremófilos.

Especial dedicatoria merece el Dr. Jerry Barrow quien a través de sus estudios de endófitos de plantas del desierto, de restauración y sobre todo del papel revolucionario que dio a los hongos que conviven de forma amigable dentro de las plantas, generó una nueva connotación para estos organismos.

A todos los biólogos del mundo, que día a día luchan por hacer de éste un mundo mejor.

INDICE

ABSTRACT.....	4
AGRADECIMIENTOS.....	6
DEDICATORIA	7
INDICE.....	8
Indice de figuras	12
Indice de tablas.....	14
CAPITULO 1.....	16
Antecedentes	17
1. Plantas ambientes desérticos.....	17
1.1 Zonas áridas y semiáridas	17
1.2 El potencial productivo de las zonas áridas y semiáridas	17
1.3 Familia Chenopodiaceae.....	18
1.4 <i>Atriplex</i> , taxonomía y distribución.....	20
1.5 Biología del género <i>Atriplex</i>	22
1.6 El género <i>Suaeda</i>	24
2. Interacción Planta-Microorganismo	25
2.1 Introducción	25
2.2 Los suelos y su deterioro	26
2.3 Conservación de la biodiversidad de suelos	29
3. Diversidad microbiana y su potencial restaurador	33
4. Conservación de la Biodiversidad	35
4.1 El desarrollo sostenible y la biodiversidad	37

5. Referencias.....	39
CAPÍTULO 2.....	44
Efecto del NaCl y de los termoperiodos sobre la germinación de semillas de <i>Suaeda mexicana</i> (Standl.) Standl. (Chenopodiaceae).....	44
CAPITULO 3.....	57
Diversidad microbiana halófila asociada a quenopodiáceas del desierto y su potencial promotor del crecimiento vegetal.....	58
ABSTRACT.....	58
RESUMEN.....	59
1. INTRODUCCIÓN.....	60
2. MATERIALES Y MÉTODOS	63
2.3.6 Bioensayo	68
2.4.2. Análisis de secuencias por pirosecuenciación	71
2.4.3. DGGE	72
2.5. Análisis estadístico	73
3. RESULTADOS	73
3.1. Cuenta viable de <i>Atriplex spp</i> y <i>Suaeda spp</i>	73
3.3 Efecto de los medios en la recuperación.....	76
3.4. El rol de los sustratos en el aislamiento de morfotipos.....	81
3.5 Identificación de morfotipos por secuenciación	86
3.6 Efecto de las cepas en la promoción vegetal en medio axénico	89
3.7.4 DGGE	106
4. DISCUSION.....	111

5. Conclusiones	115
CAPÍTULO 4.....	123
Uso de las interacciones del microbioma de plantas para promover una agricultura siempre verde.....	124
Resumen	124
1. Introducción	125
2. Los avances de la Revolución Verde	126
3. Esfuerzos multiescala y multidisciplinarios para ayudar a la sostenibilidad	131
4. Interacciones microbianas a través de interfaces de plantas, suelos y medioambientales	133
5. Evaluando el potencial microbiano para revolucionar la sostenibilidad del agroecosistema.	137
5.1 Escala elemental, celular y molecular	139
5.2 Tejido y planta entera.	140
5.3 Escala comunitaria o bioma.....	141
5.4 Paisaje a escala global.	142
5.5 Dinámicas que varían a lo largo de escalas temporales.	143
5.6 Gestión a través de escalas socioeconómicas.....	144
5.7 Acceso a la información a través de escalas socioeconómicas.	145
6. Potencial microbiano para promover la seguridad alimentaria y mitigar el cambio climático	146
7. Conclusiones	148
8. Fuentes Consultadas.....	150

CAPÍTULO 5.....	155
1. Conclusiones y recomendaciones	156
2. Aplicación de la Biotecnología en desarrollo local.....	157
3. Propuesta de plan estratégico	159
5. Marco Institucional en México	162
6. Importancia de la investigación	163
7. Referencias.....	165
Anexo A. <i>Atriplex pueblensis</i>	167
ANEXO B. Publicaciones.....	170

Indice de figuras

Figura 1. Ubicación de las dos zonas de muestreo de Suaeda spp en el centro de México y <i>Atriplex spp</i> en el Desierto de Chihuahua en Nuevo México _____	64
Figura 2. Proceso para análisis bioinformático del microbioma de plantas quenopodáceas de este estudio. _____	70
Figura 3. Efecto de 3% de NaCl sobre la recuperación de UFC de bacterias (medio ALP) y hongos (medio PDA) provenientes de suelo rizosférico y hojarasca (litter) de <i>A. canescens</i> y <i>S. mexicana</i> . _____	74
Figure 4. Gráfica comparativa de las UFC de bacterias de suelo aislado directamente de las raíces (suelo rizosférico y de suelo exterior) de Suaeda mexicana, con dos niveles de sales (3% y 10% NaCl) y dos niveles de pH 7 y 9 _____	75
Figura 5. Efecto del medio, de la dilución del medio, del pH y del contenido de _____	78
Figura 6. Gráfico del primero y segundo componente del análisis ACP con los 24 morfotipos de bacterias aisladas de <i>A. canescens</i> representados como cuadrados numerados y los puntos oscuros que representan los 20 medios diferentes utilizados. _____	83
Figura 7. Gráfico del primero y segundo componente del análisis ACP con los 16 morfotipos de bacterias aisladas de <i>S. mexicana</i> representados como cuadrados numerados y los puntos oscuros que representan los 20 medios diferentes utilizados _____	85
Figura 8. Relación filogenética de la diversidad cultivable halofila y halotolerante de quenopodiáceas <i>Atriplex</i> y <i>Suaeda</i> . Análisis generado por OneCodex. _____	87
Figura 10. Gráfica que muestra el efecto de las cepas halófilas sobre plántulas de <i>Amaranto spp.</i> , crecidas en medio salino (50mM NaCl). _____	91

Figura 11. Curvas de rarefaccion del microbioma de <i>Atriplex</i> y <i>Suaeda</i> , de muestras de muestras de rizosfera y hojarasca (litter).	94
Figura 12. Curvas de rarefaccion del microbioma de semilla de <i>Atriplex</i> y <i>Suaeda</i> .	95
Figura 13. Abundancia total de phylla 1 y 2 = Suelo rizosferico, 3 y 4 = Litter, 1 y 3 = <i>Suaeda</i> , 2 y 4 = <i>Atca</i> , A = epoca lluvias, B = epoca seca	97
Figure 14. Abundancia relativa de phylum bacteriano de muestras de plantas quenopodiaceas de <i>Atriplex</i> y <i>Suaeda</i> .	98
Figura 15 (siguente hoja). Análisis de diversidad Beta y composición taxonómica del microbioma de rizósfera, litter y semilla de quenopodáceas de <i>Atriplex</i> y <i>Suaeda</i> .	101
Figura 18. Perfil molecular de productos de PCR obtenidos después de la amplificación de ADN total. El gel esta teñido con bromuro de etidio.	106
Figura 19. Perfil de DGGE que permite la separacion de fragmentos de ADN obtenidos por PCR.	107
Figura 20. Grafica de la comparación de diversidad microbiana por tipo de muestra	110
Figure 21. Variables que interactúan para influenciar la seguridad alimentaria son infinitamente complejos. A. Las variables son agrupadas dentro de una escala temporal, biofisica y social.	128
Figura 22. Esquema que ilustra las interacciones en escala espacial y temporal de las variables que influyen la seguridad alimentaria	129
Figura 23. Las plantas en ambientes naturales y sin perturbación establecen un continuo microbiano de endofitos (circulos azules), epifitos (estrella roja), microorganismos rizosfericos (marcas purpuras), microorganismos de la capa de suelo (diamantes amarillos) y facultativos (triangulos blancos) y los microorganismos del suelo no asociados a la planta	

(cuadros dorados) para obtener nutrientes basicos, minerals y/o responder al estres biotico y abiotico. _____	134
Figura 24. <i>Atriplex pueblensis</i> Standl. _____	168

Indice de tablas

Tabla 1: Evaluación de los beneficios económicos de la diversidad de suelos. Adaptado de Pimentel <i>et al.</i> , 1997	30
Tabla 2. Primers utilizados para pruebas de Electroforesis de Gradiente desnatirizante ..	72
Tabla 3. Promedio de las UFC/gr de suelo por combinación de variables.....	77
Tabla 4. Análisis de Varianza (ANOVA) del efecto que influencia la recuperacion microbiana medida como UFC/gr de suelo. (Fishers LSD test).....	80
Tabla 5. Diversidad cultivable halofilica de microorganismos en las quenopodiaceas Atriplex y Suaeda.....	88
Tabla 6. Análisis de conglomerado de tukey.....	92
Tabla 7. Análisis comparativo multiple de Tukey.....	93
Table 8. Índices de diversidad derivados de análisis de secuencias	99
Tabla 9. Marco logico de la estrategia propuesta.....	159

Índice de abreviaturas

ACP	Análisis de componentes principales
ADN	Ácido desoxiribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
ATCA	<i>Atriplex canescens</i>
DGGE	Electroforesis de gradiente desnaturalizante (por sus siglas en inglés)
gr	Gramo
Kg	Kilogramo
ml	Mililitro
NaCl	Cloruro de sodio
OTU	Unidad operacional taxonómica (por sus siglas en inglés)
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (por sus siglas en inglés)
TEA	Tris-Acetato amortiguador
UFC	Unidades formadoras de colonia
ul	Microlitro

CAPITULO 1

Antecedentes

1. Plantas ambientes desérticos

1.1 Zonas áridas y semiáridas

El territorio mexicano presenta diversos climas, categorizados en relación a la época de lluvias, y comportamiento de la temperatura anual. El clima seco y muy seco ocupan el 49.1 % de la superficie, abarcando la mayoría del norte del país (INEGI, 2005). En esta región se encuentran amplias zonas áridas o desérticas y semiáridas o esteparias que ocupan más del 60% del territorio y, están presentes en más de 20 estados (Márquez Berber *et al.*, 2006), en ellas podemos encontrar vegetación de tipo pastizal, matorral, chaparral, y vegetación halófitas, también selva baja caducifolia y selva baja espinosa (INEGI, 2005). La vegetación halófitas prospera en hábitats salinos y yesosos presentes en zonas áridas y semiáridas y en zonas litorales las cuales ocupan 10,000 km² del país (Cervantes *et al.*, 2001), en 1983 Valdés y Flores reportan en México aproximadamente 650 especies de halófitas y cerca de 300 gipsófilas.

1.2 El potencial productivo de las zonas áridas y semiáridas

El uso potencial agrícola está estructurado por la clase de capacidad de uso agrícola, por la aptitud para el desarrollo de cultivos, la aptitud para la labranza y la aptitud para la implantación de obras para riego (INEGI, 1991). En relación a eso, en las zonas de climas áridos se sitúan las principales zonas irrigadas de México, con una importante producción agrícola, destacando la siembra de maíz y trigo (Márquez Berber *et al.*, 2006). Dos tercios de la producción de maíz bajo riego (56.1%) se obtienen en estas regiones, en suma, desde 2005 se ha incrementado la producción del maíz de riego en las regiones áridas y semi áridas de México, este aumento de productividad ha sido mayor que en la superficie de temporal (Márquez Berber *et al.*, 2006).

En Puebla la agricultura de riego se concentra en áreas bien definidas, donde se emplea constantemente maquinaria, fertilizantes y plaguicidas. En Tehuacán, se realiza agricultura de riego, mecanizada continua, ya que por lo general el suelo es favorable (profundos y sin pedregosidad superficial). Sin embargo, en áreas muy localizadas el municipio presenta suelos salinos (12-18 mmhos/cm) que llegan a afectar los cultivos y donde crece pastizal halófilo. En este tipo de vegetación el ganado ha provocado pisoteo y sobre pastoreo, y la agricultura se practica en pequeña escala ya que el lavado de tierras para la introducción de cultivos resulta ser muy costoso y tardío (INEGI, 1991)

1.3 Familia Chenopodiaceae

Chenopodiaceae es una familia de plantas cosmopolitas que se caracterizan por su adaptación a tolerar condiciones extremas de salinidad y sequía, Son principalmente hierbas anuales o perennes, y en mucha menor medida árboles. Se encuentran comúnmente en marismas templadas, en áreas desérticas, semi desérticas y en hábitats perturbados por el hombre, por ejemplo, terrenos baldíos. Frecuentemente forman parte de la vegetación halófito y en algunas áreas forman extensas comunidades, en forma individual o en asociación con otras plantas (Durant y Sanderson en Tiedemann 1983).

Las semillas en las especies de Chenopodiaceae exhiben variedad de mecanismos de germinación y dormancia, su fruto es usualmente “one-seeded” y presenta utrículo de paredes delgadas (James *et al.* en Tiedemann 1983)

Chenopodiaceae es una de las 11 familias del orden Caryophyllales, caracterizada por la posición de la placenta del ovario, embriones enroscados o curvados, formas suculentas, morfología del polen similar, y betalainas como pigmentos (Durant y Sanderson en Tiedemann, 1983). La familia se ha dividido en dos o tres subfamilias basadas en características del embrión, endospermo, flores y frutos, incluye 100 géneros con 1200-1500 especies (Cronquist, 1981), y presenta una considerable

variación entre géneros debido a la forma de las células epidermales de la exotesta, el tamaño y forma del embrión y la posición y cantidad de perispermo (Shepherd, 2005). Además, sus especies tienen diversidad en las vías fotosintéticas y en la estructura anatómica para la asimilación de CO₂. Cuatro tribus, entre ellas Suaedeae y Atripliceae presentan ambos tipos de fotosíntesis (C3 y C4) (Voznesenskaya *et al.*, 2001), esta característica se ha aprovechado para estudiar ampliamente las diferentes vías, sobre todo de tipo C4 en el género *Atriplex* (Downie *et al.* 1997). También se han encontrado casos de Fasciación en la familia, los cuales son poco comunes y solo se reportan en el género *Chenopodium* (White 1948 en Flores Olvera H. 1994) y más recientemente en *Atriplex elegans* (Flores, 1994) recolectado en el oeste de México.



Figura 1. Ejemplo de especie perteneciente a la familia Chenopodiaceae (tomado de Flores, 1994)

Chenopodiaceae frecuentemente se maneja bajo sinonimia con Amaranthaceae, debido a la cercana relación filogenética basada en caracteres sinapomorficos tales como características florales, morfología del polen, y embriología, apoyados por análisis moleculares, sin embargo, esta relación aún no está esclarecida (Shepherd, 2004). Downie *et al.* (1997) coloca a Chenopodiaceae como un grupo parafilético dentro del cual surge Amaranthus, y propone Chenopodiaceae – Amaranthaceae como grupo hermano de Caryophyllaceae, mientras que Wilson y Manhart (1992) así como Rzedowski y Rzedowski (2001) reconocen a Chenopodiaceae como un grupo monofilético. Estudios de base molecular realizados por Kadereit *et al.*, 2003 ubican a la familia Amaranthaceae y a la familia Chenopodiaceae como familias hermanas, ya que al usar los marcadores moleculares *rbcL* y *matK* se encontró gran similitud molecular.

La distribución de la familia Chenopodiaceae está condicionada por su capacidad de crecer en ambientes salinos. Aunque son cosmopolitas tienen mayor diversidad en Norte América, Australia, Asia Central, y en menor medida en Sur América y en el Mediterráneo (Durant y Sanderson en Tiedemann 1983). En México se le puede encontrar como una de las principales familias que componen los pastizales halófitos del noreste y centro de México (Estrada-Castillón *et al.* 2010, INEGI 1991).

1.4 *Atriplex*, taxonomía y distribución

El género *Atriplex* tiene entre 200 y 250 especies distribuidas en el mundo (Flores Olvera, 1994) en zonas áridas y semi áridas, particularmente en hábitats con alta salinidad. Son especies halófitas altamente resistentes a salinidad, sequía y metales pesados. Por sus características se utilizan para reforestación de suelos salinos y como forraje (Kachout, 2009), además constituyen material para la identificación de mecanismos fisiológicos y genes involucrados en resistencia a estrés abiótico (Martínez *et al.*, 2005).

En América prosperan un número importante de estas especies (132 spp), Norte América representa el segundo lugar de endemismos (después de Sudamérica) con 78 % de especies endémicas, de las 59 descritas (Flores, 1994). En México las podemos encontrar en el desierto Sonorense y Chihuahuense, en la zona árida de Oaxaca-Puebla, y en algunas áreas de los estados de Baja California, Durango, México, Veracruz, Tlaxcala y San Luis Potosí (INEGI 2005, Flores 1994). En Puebla Gómez Pompa (1977) reporta *Atriplex pueblensis* en la parte central del estado, como parte de la vegetación halófila de una pequeña área en el municipio de Tepeyahualco, así como en las cercanías de Oriental en la zona de inundación de la Laguna de Totolcingo y el Salado, mientras que Flores Olvera (1994) reconoce la misma especie (*Atriplex pueblensis*) al sureste, en el municipio de Tehuacan. Se anexa al trabajo la diagnosis de esta especie endémica de Puebla y fotografías de un isotipo depositado en MEXU.

Atriplex es el género con más especies de la tribu Atripliceae (con 19 géneros) y uno de los más diversos en la familia (Flores y Davis, 2001). Aunque la tribu Atripliceae generalmente se ha reconocido como un grupo natural, la taxonomía de *Atriplex* es compleja, la delimitación de las especies se dificulta debido al polimorfismo en varios caracteres y a la existencia de individuos intermedios entre las especies aceptadas (Flores, 1994). Se han segregado 9 géneros entre ellos *Obione* (con más de 100 spp). Flores y Davis, (2001) reconocen a *Atriplex* como un género parafilético, basados en un análisis cladístico de la tribu Atripliceae usando caracteres morfológicos. Para las especies de Norte América Hall y Clements (1923) proponen el grupo *Atriplex pentandra* conformado por 8 especies. Sin embargo, debido a los problemas de delimitación taxonómica Flores Olvera (1994) hace un estudio del grupo pentandra la cual incluye observaciones y recolectas en varios estados a lo largo de la república mexicana. En sus resultados reconoce 16 especies y una subespecie delimitadas mediante aspectos relacionados con su forma de vida, duración, distribución de los sexos, características de las hojas, de las inflorescencias, de las bractéolas de los frutos, polen, números cromosómicas, y

distribución geográfica. El grupo pentandra abarca hierbas anuales o perennes, erectas o postradas de 3.4 cm a 3 m de altura, las hojas son siempre alternas y presentan estructura Kranz, el número cromosómica básico del grupo es $x = 9$, otra característica propia de este grupo es que son plantas monoicas (Flores Olvera, 1994).

1.5 Biología del género *Atriplex*

Las plantas del género *Atriplex* son arbustos o hierbas anuales o perennes, monoicos o dioicos con frecuencia blanquecinos o grisáceos, con hojas opuestas o alternas, más bien pequeñas, flores solitarias, dispuestas en glomérulos axilares, espigas o en panículas (Rzedowski y Rzedowski, 2001)

En cuanto a su ecología, se han investigado aspectos como relación suelo-planta, tolerancia a salinidad, microorganismos-planta, germinación, entre otros.

Las condiciones bióticas y abióticas para la germinación de *Atriplex* varían según la especie. Algunas como *A. patula*, no requieren luz para la germinación, pero ésta se ve incrementada si se expone a luz durante la incubación. Otras especies requieren de un marcado fotoperiodo el cual puede variar de 12 a 16 horas de luz (James y Abernethy, y Ungar, en Tiedemann 1983), incluso en *A. dimorphostegia* la germinación se ve afectada negativamente en total oscuridad. En cambio, otras especies como *A. lentiformis*, *A. canescens*, *A. polycarpa* y *A. semibaccata* aparentemente no responden a la presencia o ausencia de luz durante la incubación (James *et al.* en Tiedemann 1983)

Muchas Chenopodiaceas presentan dormancia de la semilla, éste fenómeno persiste debido a las brácteas y la testa de la semilla. Dichas estructuras en varias especies de *Atriplex* contienen sales y otros compuestos que pueden inhibir la germinación o bien la dormancia puede estar relacionada con un control genético relacionado a la poliploidía (James *et al.* en Tiedemann, 1983).

La escarificación puede favorecer la germinación, como en el caso de *A. semibaccata* al sumergir el fruto en agua (James *et al.* en Tiedemann 1983) ó en *A. gardneri* donde las semillas fueron sometidas a cuatro pre tratamientos en conjunto (escarificación, sequía después de la maduración, lavados, estratificación) los cuales ayudaron a superar la dormancia de la semilla (James y Abernethy en Tiedemann, 1983).

La escarificación no funciona para todas las especies, según James *et al.* (en Tiedemann 1983) las semillas de las especies nativas de Norte América germinan sin necesidad de pretratamientos. Sprinfield (1970) determinó para *A. canescens* que algunas semillas incrementaron la germinación con escarificación mientras que otras de una fuente diferente mostraron un decremento al germinar, incluso en esta misma especie se ha reportado que el pretratamiento con agua caliente inhibe completamente la germinación (James *et al.* en Tiedemann 1983)

Se ha descrito dimorfismo de la semilla en varios individuos de *Atriplex*. En condiciones de campo, el periodo de germinación puede estar relacionado con este dimorfismo y con fluctuaciones en la salinidad del suelo lo cual puede limitar la cantidad de semillas que germinan, como en el caso de *A. triangularis* que produce una gran cantidad de semillas pequeñas al crecer en hábitats de baja salinidad (Ungar en Tiedemann 1983). En *A. patula*, aunque el dimorfismo no es evidente, se identificaron diferentes tamaños de semillas que produjeron distintas tasas de crecimiento en las plántulas y en *A. polycarpa* se ha encontrado que el tamaño de semilla influencia marcadamente en la germinación, con mejor respuesta aquellas de mayor tamaño (James *et al.* Tiedemann 1983).

El fruto de las plantas de *Atriplex*, se caracteriza porque las brácteas más o menos foliáceas rodean las flores pistiladas, se agrandan y se inflan. En algunos casos estas bracteas son sitios de depósito de sales solubles separadas por el metabolismo de la planta, lo cual las ayuda a mantener el equilibrio osmótico. Esta

acumulación de sales puede ser el principal factor que influencia en la germinación característica de las Chenopodiaceas. (James *et al.* Tiedemann 1983).

1.6 El género *Suaeda*

El género *Suaeda* incluye 90 especies de amplia distribución (Downie *et al.*, 1997), son plantas halofitas de hojas suculentas, crecen en los humedales salinos y alcalinos y en desiertos en todo el mundo. Varias de sus especies son útiles como comida de ganado en zonas áridas y otras son utilizadas para desalinizar tierras agrícolas de riego. Son arbustos o hierbas anuales o perennes, erguidos o postrados, glabros o pubescentes; hojas sésiles alternas, enteras, carnosas, cilíndricas o raras veces aplanadas y espatuladas, con flores pequeñas, hermafroditas a veces unisexuales (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

La taxonomía de *Suaeda* es muy complicada, los estudios de anatomía, morfología y ecología frecuentemente se ven obstaculizados por una identificación incorrecta de las especies, debido entre otras cosas al polimorfismo que presentan (Downie *et al.*, 1997). La anatomía foliar es un carácter importante para la delimitación taxonómica del género, y recientemente con el fin de esclarecer las secciones de Norte América en la sistemática de *Suaeda*, Downie *et al.* (1997) estudió la distribución de especies C3 y C4 en diferentes secciones del género, sus resultados muestran una relación filogenética relacionada con las vías fotosintéticas. En México se les puede encontrar en pastizales halófitos en el noreste de México, en estados de la parte central, como Michoacán, Jalisco, Estado de México, en Puebla (en el municipio de Tepeyahualco y la zona de inundación de la Laguna de Totolcingo y el Salado) y también en el Distrito Federal, Baja California Norte, Sinaloa y Sonora (INEGI 2005, IBU 1874, Villaseñor y Espinosa, 1998, Estrada-Castillón *et al.*, 2010).

2. Interacción Planta-Microorganismo

2.1 Introducción

Los microorganismos son los seres más numerosos que existen en la Tierra; y son organismos ancestrales que han colonizado exitosamente cada nicho ecológico posible. Los microorganismos se encuentran prácticamente en todas las regiones del planeta, desde los polos, en ambientes bajo el punto de congelación y muy secos, hasta los trópicos con temperaturas altas y con elevada precipitación pluvial. Sin duda, es el suelo el lugar donde está la megadiversidad de microorganismos se hace más evidente, el suelo, en especial la zona de la rizósfera se puede considerar como 'un ser vivo' ya que cumple con las descripciones clásicas para ello: "nace, crece, se reproduce y muere".

Los microorganismos extremófilos han sido fuente de inspiración de una gran cantidad de estudios, ya sea en zonas de gran altitud o de extrema salinidad la búsqueda de bacterias y hongos con metabolismos que puedan ser útiles a nivel industrial, agronómico, farmacéutico, etc.

Este proyecto aborda el estudio de bacterias y hongos presentes en la rizosfera de plantas que crecen en suelos salinos y alcalinos. De acuerdo con FAO y UNESCO al menos la mitad de las tierras con irrigación están más o menos influenciadas por salinización y alcalinización secundaria. Cada día se incrementa la demanda de alimentos y decrecen las condiciones de disponibilidad de suelos y agua dulce llevándonos a utilizar agua con cantidades de sal que están cerca del límite recomendable.

Lo anterior ha llevado a la búsqueda de plantas halófilas o especies cultivadas a las que se les ha seleccionado por su tolerancia a las sales, pero muy poco se ha investigado del papel que tienen las bacterias y hongos rizosféricos en la sobrevivencia de la planta hospedera.

Las bacterias del suelo y hongos juegan un papel determinante en varios ciclos biogeoquímicos y son responsables del ciclaje de compuestos orgánicos. Los microorganismos también impactan los ecosistemas que están sobre y por debajo de la tierra, contribuyen a la nutrición vegetal, a la salud de los productores primarios, a la estructura y fertilidad del suelo (Kirk, *et al.*, 2004). Por desgracia nuestro conocimiento sobre la diversidad microbiana es limitado debido a que aún no existen las herramientas para describirlo en su totalidad. Torsvik (1990) ha estimado que en 1gr de suelo existen 4000 unidades genómicas bacterianas diferentes y de esta población solo el 1% es cultivable por los métodos estándar de laboratorio.

Los microorganismos son vitales para la continuidad en el ciclo de nutrientes y en la dirección que pueden llegar a tomar los ecosistemas cuando se ven alterados. Mientras muchas de las actividades antropogénicas como el desarrollo urbano, la agricultura, el uso de pesticidas y los contaminantes están afectando la diversidad microbiana y desconocemos como estos cambios afectarían la actividad de especies vegetales cultivadas y silvestres.

2.2 Los suelos y su deterioro

Es un hecho que la aparición de las enfermedades degenerativas en el ser humano está asociado con el efecto citotóxico causado por una gama de compuestos sintéticos los cuales son utilizados como agroquímicos. Por ejemplo estudios realizados al herbicida glifosato han demostrado afectar el ADN de células de epitelio bucal (Koller, *et al.*, 2012) Esto implica la necesidad de contar con una agricultura orgánica sustentable. Por otra parte, cada vez tenemos menos yacimientos minerales para obtener fertilizantes, por ejemplo piedra fosfórica. La forma sustentable de corregir ambos retos es el uso de la biodiversidad del suelo.

Uno de los problemas más importantes que se presenta en zonas agrícolas de México es la salinización que sufren sus suelos. Este problema reduce la producción de los cultivos e incrementa la superficie sin potencial agrícola. La salinidad es causada por el uso de sistemas de irrigación que utilizan agua de pobre calidad, o por la explotación de zonas con poca precipitación donde el agua no es suficiente para remover el exceso de sales solubles del suelo (Wu, 2001).

Los factores relacionados con la salinidad son los contenidos de sales de: calcio, magnesio, sodio y sales de sulfato. También la topografía afecta el grado de salinidad en el suelo, así como la estacionalidad, es decir la época de lluvias y sequía. Pero a pesar de estas características adversas hay una gran variedad de organismos adaptados a ambientes salinos. Complejos rangos de respuesta a la salinidad han tratado de ser explicados para la existencia de microorganismos, plantas y su interrelación (McKenzie, 1988).

El estrés de salinidad es uno de las principales afectaciones abióticas que limitan la producción de alimentos en regiones áridas y semiáridas. La seguridad alimentaria es una necesidad fundamental en todas las sociedades ya que en los próximos 50 años se ha proyectado que la población humana se incrementará en 10 billones con la consiguiente demanda de alimentos que deberá duplicarse (Godfray *et al.*, 2010 citado en Etesami, H., 2018). Pero es importante resaltar que los suelos agrícolas se reducen en 2% anual debido a la salinidad. Ésta afectación es producto de una reducción en los periodos de lluvia, altas temperaturas, uso de agua reciclada, uso excesivo de fertilizantes y uso agua de pozos disminuidos donde las sales se concentran. El estrés por salinidad tiene efectos en el 70% de la superficie cultivada de importantes granos como trigo, maíz, arroz y cebada.

Esta problemática ha sido mitigada a través del uso de plantas halófilas como las salicornias, los romeritos, etc. Así también el microbioma vegetal ha sido motivo de amplios estudios. El interés está aumentando en la aplicación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) para mejorar el estrés de salinidad. La

selección e identificación de RPCV tolerantes a la sal o halófilos tiene el potencial de promover la agricultura salina basada en el suelo. Los halófitos son un reservorio útil de bacterias halotolerantes con capacidades promotoras del crecimiento de las plantas. Etesami, H & Beattie, G. (2018) hicieron una profunda revisión de estudios recientes sobre el uso de RPCV halófilas para estimular el crecimiento de las plantas y aumentar la tolerancia de los cultivos no halófitos a la salinidad. Estos estudios ilustran que los RPCV halófilos de la rizosfera de especies halófitas pueden ser bioinoculantes efectivos para promover la producción de especies no halófitas en suelos salinos. Estos estudios apoyan la viabilidad de la bioinoculación con RPCV halófilos como estrategia para la mejora sostenible del crecimiento de cultivos no halófitos. El potencial de esta estrategia fue expuesta por los autores en el contexto de garantizar una producción alimentaria sostenible para un mundo con una población creciente y un cambio climático continuo. Los expertos hicieron hincapié en futuras necesidades de investigación para usar RPCVs halotolerantes bajo estrés de salinidad.

El funcionamiento de los ecosistemas terrestres está estrechamente ligado a los microorganismos del suelo y los procesos en los que están involucrados. La variación físico-química y los factores ambientales son elementos que interactúan de forma compleja para influenciar la función y diversidad microbiana. Sin embargo, nuestro entendimiento de los factores clave que determinan la existencia de ciertas especies y el funcionamiento de los microorganismos presentes en el suelo, es aún muy limitado. El conocimiento fundamental puede ser utilizado dentro de los estudios de cambios de largo plazo en los atributos del suelo como serían la acidez, sodicidad o salinidad (Wakelin, 2008).

2.3 Conservación de la biodiversidad de suelos

La intervención humana en los sistemas naturales, el cambio de uso de suelo hacia uso agrícola ha demostrado que no solo tiene un efecto sobre la estructura vegetal, sino que también hay un cambio en la diversidad microbiana. Un ejemplo es el estudio realizado por la Universidad Tecnológica de Graz, Austria y la Universidad de El Cairo en Egipto en la que se analiza el cambio de la diversidad bacteriana en los suelos prístinos del desierto y en los suelos transformados hacia agricultura. Ellos encontraron que al analizar las huella molecular bacteriana, existen diferencias estadísticamente significativas entre el suelo agrícola (que antes fué desierto) y suelo nativo del desierto de aproximadamente del 60% (Köberl, *et al.*, 2011).

Köberl y su equipo (2011) realizó análisis basado en pirosecuenciación de las regiones del gen 16S rRNA mostró una mayor diversidad en el suelo agrícola que en el desierto (índices de diversidad de Shannon: 11.21 / 7.90), y mostró diferencias estructurales. La proporción de Firmicutes en el suelo del campo fue significativamente mayor (37%) que en el desierto (11%). *Bacillus* y *Penibacillus* juegan el papel clave: representaron el 96% de los antagonistas hacia los fitopatógenos. Aquí de forma sorpresiva encontraron que la proporción de cepas antagónicas se duplicó en el suelo agrícola que en comparación con el suelo del desierto (21,6% / 12,4%); Las bacterias supresoras de la enfermedad se enriquecieron especialmente en las raíces de las plantas. Por el contrario, varios grupos bacterianos extremófilos, por ejemplo, *Acidimicrobium*, *Rubellimicrobium* y *Deinococcus-Thermus*, desaparecieron del suelo después del uso agrícola. El grupo *Herbaspirillum* de fijación de N solo ocurrió en suelo desértico. Las comunidades bacterianas del suelo fueron fuertemente impulsadas por los factores abióticos, el suministro de agua y el pH.

El conocimiento de la diversidad del suelo presenta una amplia gama de beneficios económicos que se presentan en tabla 1 Pimentel *et al.*, (1997) recalca que no solo para la agricultura sino también en la protección ambiental, la

bioprospección o la conservación de la vida salvaje es necesario conocer la diversidad del suelo.

Tabla 1: Evaluación de los beneficios económicos de la diversidad de suelos. Adaptado de Pimentel *et al.*, 1997

Actividad	Grupo microbiano involucrado	Beneficios económicos (x \$10⁹)
Procesos de reciclaje de basura	Saprotitos, invertebrados que se alimentan de litter, hongos, bacteria actinomicetos	760
Formación de suelo	Biota del suelo que faculta su formación: Lombrices, hongos, hormigas	25
Fijación biológica de nitrógeno	Bacterias diazótrofoas	90
Biorremediación	Mantenimiento de la biodiversidad de suelos y en agua es imperativo para mantener la efectividad de los biotratamientos	121
Biotecnología	Poco más de la mitad de los beneficios económicos de la biotecnología relacionada a la agricultura involucra a bacterias fijadoras de nitrógeno y reguladoras del crecimiento vegetal.	6
Biocontrol	El suelo provee de microhabitats para los enemigos naturales de pestes, la biota del suelo contribuye a incrementar la resistencia de plantas.	160
Polinización	Muchos polinizadores tienen una fase edáfica en su ciclo de vida	200
Alimentación	Por ejemplo hongos, setas, lombrices, pequeños artrópodos.	180
	TOTAL	1542

Si un área (terrestre o acuática) está siendo evaluada para una propuesta de conservación, es deseable considerar la diversidad de especies y hábitats, el tamaño del área, la rareza del ecosistema. Normalmente los suelos no son explícitamente incluidos en ningún criterio, pero implícitamente pueden haberse

considerado por ejemplo en el “estadio sucesional”. En términos de los requerimientos legales para la designación de sitios de conservación es importante contar con un inventario de especies y hábitats que incluyan especies endémicas, raras o en peligro de extinción (Usher 1986).

Ellis (1996) indica que la importancia de los suelos ha estado un tanto abandonado y hasta ahora que se han materializado las propuestas de la conservación de la naturaleza y el estudio y cuidado del suelo ha ido ganando prominencia dentro del concepto de sustentabilidad dándole cabida en los programas futuros. Este mismo autor reconoce tres criterios para seleccionar sitios aptos para conservación: 1) la importancia del sitio para la comunidad científica internacional, 2) la presencia de características excepcionales que le dan importancia científica y 3) la importancia a nivel nacional para que este sitio sea representativo de una característica, de un evento o un proceso ecológico.

El grupo de criterios que han sido seleccionados para reconocer los sitios de importancia para ser conservados biológica y científicamente, por lo general no hacen explícita la mención de los suelos. Sin embargo, sabemos que hay una relación estrecha entre la roca y los organismos que allí se comienzan a formar, todo esto está mediado por los suelos (Usher, 1996). Hay sin embargo una cuestión de por qué los suelos no tienen características que sean pensadas para la conservación o al menos esto no apareció sino hasta mediados los años noventa.

En un interés por evaluar los suelos, Yaalon (2000) se cuestiona si los suelos son un lugar común de solo mención o son sitios de verdadero estudio científico. Por desgracia las propuestas de conservación solo utilizan los estudios de suelo como una mera cita de caracterización de los elementos que forman esa área a conservar.

¿Por qué los suelos han sido olvidados por los objetivos de conservación? Existen cuatro razones,

a) la taxonomía de suelos es relativamente muy joven y se ha entendido poco (André, 2002) es mucho mejor conocido el ensamblaje de especies o animales.

b) No existen en los suelos especies “carismáticas” como lo es el tamandua para Chiapas, el tigrillo de Costa Rica, el coyote mexicano; es decir una especie que capte la atención de la sociedad y facilite los trabajos de conservación.

c) La pérdida de conocimiento taxonómico; no están bien descritos los “hot spots” de riqueza de especies en suelos, tampoco se sabe a qué se le llamaría exactamente un “hot spots” de actividad biológica de suelos.

d) Los suelos tienden a estar fuera de las mentes de las personas, en general no se le considera algo valioso.

Lo anterior queda asentado en la poca atención al diseño de sitios por el afán o interés por la conservación del suelo ya que los datos disponibles para el diseño de estas áreas son muy limitados. Por ejemplo, la creación de una serie de áreas diseñadas por la Unión Europea (UE) basada en el directorio de aves de 1979 y el directorio de hábitats de 1992 y por desgracia no requirió de información de suelos. En México se han decretado 155 Áreas Naturales Protegidas que abarcan una superficie de 18,867,731 ha, lo que representa casi el 10 % del territorio nacional y por desgracia ninguno de ellos se explica por la necesidad de conservar la biota del suelo. La red esmeralda para conservar áreas especiales que la conforman 15 países de UE y 23 no UE no generó algún dato que tuviera que ver con la conservación de alguna característica de suelo.

Mientras más uso pudiera hacerse de los datos de suelo para la conservación de la naturaleza (Towers, 2002), más se podrá hacer por la conservación sustentable. Hay tres importantes facetas de la conservación en las que se valora los suelos, uno es el valor que tienen los suelos que no han sido afectados y en los que se desarrollan características de un perfil estable de un rango de biota. Por ejemplo, en México encontramos reductos de suelos volcánicos muy antiguos que han mantenido por miles de años vegetación forestal en el área protegida Pico de Orizaba, los cuales se ha encontrado que tienen una gran capacidad de residencia,

después del cambio de uso del suelo (Ruiz-Font, 2004), prueba inequívoca de actividad microbiana sustentable.

El segundo es la biota de las comunidades microbianas que su importancia radica en el funcionamiento de la descomposición de materia vegetal muerta, residuos de animales y contaminantes. Por desgracia estos organismos permanecen relativamente desconocidos, sin embargo, ellos fueron importantes en los estratégicos y han sido considerados para la conservación, y algunos de ellos son importantes para el uso sustentable de suelos.

El tercer punto es un esfuerzo para hacer en el mundo una restauración muy amplia de ecosistemas dañados y degradados (Bardgett, 2005). Como los suelos es un vital componente de todos los ecosistemas terrestres hay de nuevo un interés en lo que es la naturaleza de conservación por la biota que vive dentro de los suelos.

3. Diversidad microbiana y su potencial restaurador

Los suelos son dinámicos y su perfil puede cambiar substancialmente la cubierta de plantas y animales. Los suelos pueden cambiar como resultado de los procesos geomorfológicos como la erosión del material existente o la depositación de nuevos materiales. La incertidumbre taxonómica que rodea a la biota del suelo hace que la diversidad de especies sea un criterio pobre y la rareza de especies es un criterio imposible de usar.

Hasta el momento la metodología clásica para calcular la biodiversidad de los microorganismos del suelo o de ambientes similares consistía en tomar una muestra de suelo (generalmente a 10 centímetros de profundidad) y sembrarla en agares nutritivos específicos para microorganismos del suelo, luego microscópicamente se separaban de acuerdo a la morfología de la colonia y del microorganismo, finalmente se aplicaban exámenes morfo-fisiológicos (pruebas bioquímicas), generalmente específicas para el grupo de microorganismos en el que se tuviera interés.

Nuestro conocimiento sobre la diversidad microbiana del suelo es muy limitado en parte por la dificultad para estudiar dichos organismos. Se estima que en 1 gramo de suelo hay 4000 diferentes “unidades genómicas” bacterianas, esto basado en estudios de reasociación de ADN-ADN (Torsvik, *et al.*, 1990). Se estima que sólo el 1% de los microorganismos del suelo crecen en medios de cultivo en el laboratorio entonces, según esto, si pretendemos valorar la diversidad total de microorganismos que existen en un ecosistema dado no podemos sacar conclusiones válidas contando con sólo el 1% de la población.

Hay limitaciones generales que dificultan los estudios de diversidad microbiana en suelos, el primero es la heterogeneidad espacial, en segundo lugar, se sabe que el 99% de los microbios de suelo no son cultivables. Y en tercer lugar tenemos que aun los métodos moleculares pueden fallar cuando se trata de que en algunos grupos existe una gran similitud genética entre especies o procesos de extracción de ADN se ven alterados por sustancias inherentes en suelos como ácidos húmicos que pueden interferir en los subsecuentes análisis.

A pesar de lo dicho en el párrafo anterior es importante el estudio de la diversidad microbiana de suelos, no solo como una investigación básica, sino para entender la interrelación entre diversidad, estructura de la comunidad y función. Más aún, es necesario ampliar nuestro conocimiento en la interacción planta-microbio-suelo en ambientes salinos.

Barrow *et al.*, en 2008 (citado en Coleman, D & Tringe, S., 2014) indica acertadamente que los enfoques convencionales basados en la mejora genética basados en ingeniería genética dependen de la suposición de que las plantas funcionan como organismos autónomos regulados únicamente por su código genético y fisiología celular sin tomar en consideración el efecto de regulador que puede tener la interacción planta-microorganismo. Así también critica los experimentos, los bioensayos en los que se esterilizan los suelos, lo que elimina uno de los determinantes fenotípicos, simbiosis de transmisión vertical que tendrían un

efecto relevante en la planta. El Dr. Barrow concluye que los microorganismos asociados a la planta representan un reservorio de plasticidad genética que ha coevolucionado con el huésped bajo las condiciones ambientales naturales lo que le ha permitido mayor adaptabilidad.

4. Conservación de la Biodiversidad

El movimiento para conservar la biodiversidad ha ido creciendo a partir de 1960 año en que se decidió sobre la necesidad de conservar la vida silvestre y de proteger esta diversidad, misma que ya había sido reconocida en el año 1900 (año de la Convención de Londres para la protección de la fauna silvestre en África) y que desgraciadamente nunca fue ratificada a nivel mundial. Este evento fue el primer intento para diseñar leyes internacionales que complementaran los esfuerzos de preservación de las especies y los derechos de la soberanía de los países; el cual culminó con La Convención de la Diversidad Biológica, reunión que proveyó de un marco legal internacional para la utilización de la biodiversidad, bioprospección y el intercambio de material genético (Klem y Shine 1993).

Los microorganismos representan una proporción muy grande de la biodiversidad del planeta. Hay un gran número de productos de servicios ambientales de los cuales son responsables los microbios, pero desgraciadamente esto permanece aún desconocido para la humanidad (Whitman *et al.*, 1998). Sin embargo lo que ellos generan nos dan una gran reserva de biorecursos, algunos de los cuales aún no han sido explotados, por ejemplo las drogas, los antibióticos que actualmente los que tenemos disponibles en el mercado son derivados en un 60% de recursos naturales en su mayoría de microorganismos.

Los microbios también juegan un papel importante en los servicios del ecosistema y han sido explotados de varias formas para minimizar el daño que los humanos han ocasionado al ambiente. Esto ha ocurrido a través, por ejemplo del manejo de los contaminantes a través de lo que se conoce como biorremediación y a través de los

tratamientos microbianos de efluentes que se han desarrollado para preservar el ambiente. El reciclaje a base de nutrientes microbianos principalmente nitrógeno y fósforo también ha demostrado ser un importante factor en el mantenimiento de varios ecosistemas (Davison *et al.* 1998).

En adición muchas relaciones benéficas existen entre los microorganismos y las plantas o los animales y obviamente con otros microorganismos. Un ejemplo reciente de esta sucesión de un invertebrado marino (un briozoo), *Bugula neritina* y la bacteria *Endobugula sertula* (Pain, 1998). Estos briozoos viven a una profundidad de 10 metros y producen un compuesto llamado briostatina-1, este compuesto contiene una droga anticancerígena y en el mercado farmacéutico ha generado un billón de dólares por año. Sin embargo, se sospecha que la briostatina-1 es producida por *E. sertula* y no por el briozoo. Las cepas de *B. neritina* que crecen a más de 10 metros no producen la briostatina. Esto quiere decir que es indispensable conocer cuáles son las ventajas ecológicas conferidas al briozoo a través de la sucesión de la bacteria y la producción de briostatina.

Los microorganismos juegan un papel importante en la fertilidad de suelos y en la agricultura en general. La estructura del suelo, la fertilidad y estabilidad. En ambientes desérticos la erosión del suelo es el mayor problema ambiental. La erosión afecta el 90% de la tierra arable y la subsiguiente pérdida del suelo se puede estimar en millones de pesos por año en todo el mundo. Sin embargo, asociaciones fúngicas con las plantas (micorrizas) pueden capacitar a las plantas para establecerse en condiciones poco favorables, facilitándole la toma de fósforo y de agua. Un estudio reciente ha mostrado que la diversidad de micorrizas fúngicas puede ser determinante para la productividad vegetal y de un ecosistema (van der Hiejden, 1998). Sin embargo, la importancia de las asociaciones micorrízicas en zonas desérticas y como se desarrolla en estos hábitats no han sido aún establecido.

La desertificación permanece como un problema global ambiental y los microorganismos juegan un papel para ayudar a combatir este destructivo proceso y para rehabilitar hábitats que han sido deforestados. La estabilidad de los suelos es mejorada por la formación de los agregados que se desarrollan por las hifas de hongos y polisacáridos de origen microbiano. Varios microorganismos incluyendo algas bacterias y hongos filamentosos pueden participar en la agregación de partículas de suelo en zonas desérticas, también líquenes y cianobacterias son particularmente importantes.

La diversidad microbiana es un componente esencial de la biodiversidad, sin embargo no estamos generando nada para conocerla y al contrario estamos haciendo que esta diversidad se vea decremada. Sin la biodiversidad microbiana los humanos y los ecosistemas están en riesgo ya que se reducen las posibilidades de hacer frente al estrés ambiental incluyendo el calentamiento global o en esta poza de recursos biológicos podría encontrarse la cura para muchas enfermedades; y por desgracia la estamos perdiendo (Riesenfeld, 2004).

Los servicios de los ecosistemas que son proveídos por los principales microorganismos contribuyen a los valores de producción económica de este planeta, los mínimos estimados han puesto un valor de alrededor de 33 trillones de dólares por año. Así pues, un recurso de ganancias biológicas como son las microbianas y las formas de biodiversidad puede ser igualmente compartidas entre países desarrollados y en desarrollo y por comunidades indígenas (Costanza *et al.* 1997).

4.1 El desarrollo sostenible y la biodiversidad

A pesar de la visión de generaciones tempranas de científicos, biólogos de suelos y ecólogos terrestres, hasta ahora no han mostrado suficiente evidencia de la fragilidad de suelos y como al entender la vida en este microambiente es posible encontrar una posibilidad de sustentabilidad de nuestro ambiente global.

Los biogeoquímicos, agrónomos, ecónomos y los que elaboran las políticas públicas; todos ellos empiezan a prestar atención en múltiples cuestiones que involucran a los suelos y su biota en ambas escalas, global y local. Los fenómenos que afectan la sustentabilidad global como la erosión, la contaminación, el uso de plantas y microbios genéticamente modificados, especies invasivas, depositaciones atmosféricas, el cambio en el uso del suelo y los cambios en la estructura del suelo; tales cambios han transformado los efectos del ciclo hidrológico, la pérdida del carbón, la pérdida en la fertilidad en suelos de cultivo y hasta las necesidades sociales. El avance de las prioridades de investigación es la necesidad de evaluar en el corto y largo plazo los requerimientos que determinan las soluciones a los problemas ambientales. Los estudios recientes junto con los inmediatos cambios ambientales que afectan el suelo y la biota del suelo han generado los siguientes compromisos: a) evaluación del estado del arte en esta materia, b) desarrollo de nuevos retos y c) priorizar agenda de nuevas investigaciones (Wall, D. *et al.*; 2005).

La definición de biodiversidad que se ha usado para este trabajo es la que se desarrolló en la convención de biodiversidad 1992 que dice:

Es la variabilidad entre organismos vivientes dentro de las especies, entre las especies y de ecosistemas (Takacs, 1996). Estos términos primero fueron acuñados y como la pérdida global de biodiversidad ha escalado, se ha dado un incremento en la investigación de la biodiversidad de suelos. Un diagnóstico de la literatura hecha por Morris, C. *et al.*; (2002) muestra que se han incrementado diez veces el número de publicaciones entre el año 1985 al 2000 en temas como la rizosfera, los hábitats microbianos en suelo y en los temas interacción planta-microbio, con un énfasis especial en micorrizas. La conferencia internacional en micorrizas ahora ha reunido a 500 científicos que han demostrado el papel de la biodiversidad de suelos en la funcionalidad de los ecosistemas.

5. Referencias

- André, H.M., Ducarme, X. y Lebrun, P.** 2002. Soil biodiversity: myth, reality or conning? *Oikos*, 96, 3-. 24
- Bardgett, D.** 2005. *Biological Diversity and Function in soils*. Cambridge University Press.
- Calderón de Rzedowski G. y Rzedowski J.** 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. Instituto de Biología, A.C. México. PP. 115-117.
- Cervantes Maldonado A., Flores Olvera H., Valdés J.** 2001. Las Euphorbiaceae halófilas y gipsófilas de México, exepcto Euphorbia. *An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México. Serie Botánica* 72(1):1-83
- Coleman-Derr, D & Tringe S.G.** 2014. Building the crops of tomorrow: advantages of symbiont-based aproches to improving abiotic stress tolerance. *Frontiers in microbiology*, 5, 283.
- Costanza R, d'Arge R, de Groot R, Farber S, Grasso M, Hannon B, Limburg K, Naeem S, O'Neill RV, Paruelo J, Raskin RG, Sutton P and van den Belt M.** 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 387: 253–260
- Cotera-Correa M., Cantú-Ayala C y García-Pérez J.** 2010. Clasificación de los pastizales halófilos del noreste de México asociados con perrito de las praderas (*Cynomys mexicanus*): diversidad y endemismo de especies. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 81: 401- 416.
- Davison AD, de Brabandere J and Smith D.** 1998. Microbes, collections and the MOSAICC approach. *Microbiology Australia* 19: 36–37
- Downie S., Katz-Downie D., Cho Kyung-Jin.** 1997. Relationships in the caryophyllales as suggested by phylogenetic analyses of partial chloroplast

DNA orf2280 homolog sequences. American Journal of Botany. 84(2): 253–273.

Ellis, N.V., Bowen, D.Q., Campbell, S., Knill, J.L., McKirdy, A.P., Prosser, C.D., Vincent, M.A. y Wilson, R.C.L. 1996. An Introduction to the Geological Conservation Review, Geological Conservation Review Series, No. 1*

Estrada-Castillón E., Scott-Morales L., Villarreal-Quintanilla J.A., Jurado-Ybarra E., Valdés J. y Flores H. 1983. Las pteridofitas en la flora halófila y gipsofila de México. An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México. Serie Botánica 54: 173-188

Flores Olvera H. 1994. A New Species of *Atriplex* (Chenopodiaceae) from Saline Soils of Central Mexico. JSTOR. 4 (3): 242-245.

Flores Olvera H. 1992. Taxonomía del grupo *Atriplex pentandra* (Chenopodiaceae). Anales Inst. Biol. 63 (2): 155-194

Flores Olvera H. 1994. Fasciación de un individuo de *Atriplex elegans* (MOQ.) D. Dietr. (Chenopodiaceae). Acta Botánica Mexicana. 026:21-25

Flores H. y Davis J. I. 2001. A cladistic analysis of *Atripliceae* (Chenopodiaceae) base on morphological data. Journal of the Torrey Botanical Society. 128 (3):297-319

Gómez-Pompa, A. 1977. Ecología de la Vegetación del Estado de Veracruz. Instituto de Investigaciones sobre Recursos Bióticos, A.C. Xalapa, Veracruz. México.

Hall H. M. y Clements F. C. 1923. The phylogenetic method in taxonomy. The genus *Atriplex*. Publ. Carnegie Inst. Wash. 326: 235-246.

INEGI. 2005. Anuario Estadístico de los Estados Unidos Mexicanos. México

INEGI. 1991. Datos Básicos de la Biogeografía de Puebla. México.

Kachout S. S., Mansoura A.B., Jaffel K., Leclerc J.C., Rejeb M.N., Ouerghi Z. 2009. The Effect of Salinity on the Growth of the Halophyte *Atriplex hortensis* (Chenopodiaceae). Applied Ecology and Environmental Research 7. (4): 319-332.

- De Klemm C and Shine C.** 1993. *Biological Diversity Conservation and the Law*. IUCN Gland, Switzerland and Cambridge, UK
- Koller, V.J., Fürhaker, M., Nersesyan, A., Misik, M., Eisenbauer M., & Knasmueller S. (2012).** Cytotoxic and DNA-damaging properties of glyphosate and Roundup in human-derived buccal epithelial cells. *Archives of toxicology*, 86(5), 805-813
- Köberl, M., Müller, H., Ramadan, E. M., & Berg, G.** 2011. Desert farming benefits from microbial potential in arid soils and promotes diversity and plant health. *PLoS ONE*, 6(9), [e24452].
- Márquez Berber S. R., Schwentesius Rindermann R., Almaguer Vargas G., Ayala Garay A. V., Kalil Gardezi A.** 2006. La globalización y su efecto en la producción agrícola de las zonas áridas y semiáridas de México. *Revista Chapingo Serie Zonas Aridas*. 5:107-116.
- Martínez J. P., Kinet J.M., Bajji M y Lutos S.** 2005. NaCl alleviates polyethylene glycol-induced water stress in the halophyte species *Atriplex halimus* L. *Journal of Experimental Botany*. 56 (419): 2421–2431.
- McKenzie, R.C.** 1988. Tolerance of plants to soil salinity. *Proceedings of the Dryland Salinity Control. Workshop*, Calgary, Alberta. Alberta Agriculture, Food and
- Morris CE, Bardin M, Berge O, Frey-Klett P, Fromin N, Girardin H, Guinebretere MH, Lebaron P, Thiery JM, Troussellier M.** 2002. Microbial biodiversity: Approaches to experimental design and hypothesis testing in primary scientific literature from 1975 to 1999. *Microbiol Mol Biol Rev*. 66, 592-616.
- Pimentel D., Wilson C., McCullum C., Huang R., Dwen P., Flack J., Tran Q., Saltman T. y Cliff, B.** 1997. Economic and environmental benefits of biodiversity. *Bioscience*, 47, 747-757 pp.
- Riesenfeld, C.S., Schloss, P.D., Handelsman, J.** 2004. Metagenomics: genomic analysis of microbial communities. *Annual Review of Genetics* 38, 525–552.

velopment, Conservation and Development Branch. 246-251.

Ruiz-Font A. 2004. Cambio de uso del suelo en el Pico de Orizaba. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias. Facultad de Ciencias, UNAM Coyoacán. México.

Shepherd K. A., Macfarlane T.D. Colmer T. D. 2005. Morphology, Anatomy and Histochemistry of Salicornioideae (Chenopodiaceae) Fruits and Seeds. *Annals of Botany*. 95: 917–933.

Shepherd K. A., Waycott M., Calladine A. 2004. Radiation of the Australian salicornioideae (chenopodiaceae)—based on evidence from nuclear and chloroplast DNA sequences. *American Journal of Botany*. 91(9): 1387–1397.

Tiedemann A. R., McArthur E. P., Stutz H.C., Stevens R., Johnson K. 1983. Proceedings-Symposium on the Biology of *Atriplex* and related Chenopods. Department of Agricultur. USA.

Torsvik, V., Goksoyr, J., Daae, F.L. 1990. High diversity in DNA soil bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 56. 782-787.

Towers, W., Hester, A.J., Malcolm, A. y Stone, D. 2002. The use of soils data in natural heritage planning and management. *Soil Use and Management*, 18, 26-33

Usher, M.B. 1986. Wildlife conservation evaluation. Chapman & Hall, Londres, Inglaterra. 394 pp.

Usher, M. B. 1996. The soil ecosystem and sustainability. In *Soils, Sustainability and the Natural Heritage*, ed. by A.G. Taylor, J.E. Gordon y M.B. Usher. HMSO. Edinburgh. pp. 22-43.

van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engle R, Boller T, Weimken A and Sanders IR. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69–72

- Villaseñor R., J. L. y F. J. Espinosa G.** 1998. Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
- Voznesenskaya E., Artyusheva E. G., Franceschi V.R., Pyankov V.I., Kiirats O., Ku M. S. B., Edwards G.E.** 2001. *Salsola arbusculiformis*, a C3±C4 Intermediate in Salsoleae (Chenopodiaceae). *Annals of Botany*. 88: 337-348
- Wall, D.H., A. Fitter, and E. Paul.** 2005. Developing new perspectives from advances in soil biodiversity research. Pages 3-30 In R.D. Bardgett, M.B. Usher, and D.W. Hopkins, eds. *Biological Diversity and Function in Soils*, British Ecological Society, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Wakelin, S.A., Macdonald, L.M., Rogers, S.L.** 2008. Habitat selective factors influencing the structural composition and functional capacity of microbial communities in agricultural soils. *Soil Biology & Biochemistry*. (40)803-813
- Whitman WB, Coleman DC and Wiebe.** 1998. Prokaryotes: the unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 95: 6578–6583
- Wu, L., Guo, X. y Harivandi, A.** 2001. Salt tolerant and salt accumulation of landscape plants irrigated by sprinkler and drop irrigation systems. *Journal of plant nutrition*. 24:9. 1473-1490.
- Yaalon, D.H. y R.W. Arnold.** 2000. Attitudes toward Soils and Their Societal Relevance: Then and Now. *Soil Science* 165(1): 5-12

CAPÍTULO 2

Efecto del NaCl y de los termoperiodos sobre la germinación de semillas de *Suaeda mexicana* (Standl.) Standl. (Chenopodiaceae)

En éste capítulo se presenta el artículo en su formato publicado

Sanchez-Tizapantzi, G. & Ruiz-Font, A. 2012. Efecto del NaCl y de los termoperiodos sobre la germinación de semillas de *Suaeda mexicana* (Standl.) Standl. (Chenopodiaceae). Revista Tecnología en Marcha, 25 (3).

Efecto del NaCl y de los termoperiodos sobre la germinación de semillas de *Suaeda mexicana* (Standl.) Standl. (Chenopodiaceae)

Effect of NaCl and thermoperiod on seed germination of *Suaeda mexicana* (Standl.) Standl. (Chenopodiaceae)

Gabriel Sánchez-Tizapantzi¹
Angélica Ruiz-Font²

Fecha de recepción: 8 de enero del 2012
Fecha de aprobación: 25 de mayo del 2012

Sánchez, G; Ruiz, A. Efecto del NaCl y de los termoperiodos sobre la germinación de semillas de *Suaeda mexicana* (Standl.) Standl. (Chenopodiaceae). *Tecnología en Marcha*. Vol. 25, N° 3. Julio-Setiembre 2012. Pág 58-69.

1. Biólogo. Licenciado en Biología, Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala, México. Correo electrónico: gabrielstz@hotmail.com
2. Bióloga. Máster en Ecología y Ciencias Ambientales. Profesora titular: Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional, Tlaxcala, México. Correo electrónico: convenios23@hotmail.com

Resumen

En el presente trabajo se investigó el efecto del cloruro de sodio (NaCl) y de los termoperiodos en la germinación de la especie *Suaeda mexicana*, en tres tipos de semillas: 1) sin testa, 2) con testa café y 3) con testa negra. Las semillas se sometieron a tres diferentes termoperiodos (0 °C/20 °C, 5 °C/25 °C y 10 °C/30 °C) y a siete diferentes concentraciones de NaCl (200, 400, 600, 800, 1000, 1500 y 3000 mM) y como testigo se usó agua destilada (0 mM NaCl) utilizando un fotoperiodo de 12 h oscuridad/12 h luz.

En los resultados, las semillas sin testa presentaron el mayor porcentaje de germinación en todos los termoperiodos en agua destilada. En los termoperiodos de 5 °C/25 °C y 10 °C/30 °C se obtuvo una germinación de alrededor del 97% para los tres tipos de semillas, mientras que en el de 0 °C/20 °C en semillas sin testa se obtuvo el 72%; en las semillas de testa café fue del 7% y en las de testa negra del 1%.

Las concentraciones de NaCl reducen la germinación de las semillas sin testa en promedio un 12% a 1000 mM de NaCl en todos los termoperiodos. En las semillas de testa café la reducción fue del 3% a 600 mM de NaCl en un termoperiodo de 5 °C/25 °C y en las de testa negra no hubo germinación en concentraciones salinas.

En conclusión, la germinación de *Suaeda mexicana* varía de acuerdo al tipo de semilla, termoperiodo y salinidad expuesta, siendo la semilla sin testa la que mejor responde.

Palabras clave

NaCl, termoperiodo, germinación, *Suaeda mexicana*.

Abstract

In this study, we assessed the effect of NaCl and thermoperiod on germination of halotolerant plant *Suaeda mexicana*, in three types of seeds: without testa, black testa and brown testa. The three thermoperiod were 0° C/20° C, 5° C/25° C and 10° C/30° C. Were evaluated seven concentrations of NaCl (200, 400, 600, 800, 1000, 1500 and 3000 mM) and distilled water as a control under a photoperiod of 12 h light and 12 h darkness.

The best results indicated that germination in the thermoperiods 5° C/25° C and 10° C/30° C are about 97% for the three types of seeds. At 0° C/20° C thermoperiod in seeds without testa 72% was obtained; coffee seed testa was 7% and 1% black.

Adding NaCl reduces the cumulative germination percentage in 20 days, but there is a different response depending on the type of seed. Black testa seed did not germinate from the lowest concentration of NaCl (200 mM).

The brown seed germination was the highest in the thermoperiod 10° C/30° C con 21%, decrease in 5° C/25° C with 4% and is zero in the thermoperiod of 0° C/20° C. Finally the seed without testa is the best response to salinity, the highest germination was in 10° C/30° C thermoperiod with 83%, decreases in 5° C/25° C with 50% and 0° C/20° C thermoperiod 30%.

These results provide the basis for *Suaeda mexicana*, will be considered a potentially useful species for biomass generation in irrigated saline environments.

Key words

NaCl, thermoperiod, germination, *Suaeda mexicana*.

Introducción

En el mundo, más de 800 millones de hectáreas (ha) resultan afectados por la salinidad, un problema que se da principalmente en las zonas áridas y semiáridas, incluyendo del 10% al 50% de la superficie de regadío (FAO, 2007).

En México, las zonas áridas y semiáridas ocupan cerca del 40% de la superficie y es muy frecuente encontrar condiciones de salinidad y sodicidad en aproximadamente 3.5 millones de ha afectadas en las zonas áridas y semiáridas, 1 millón en otras zonas no agrícolas, 800 000 en las áreas costeras, un millón en áreas agrícolas de temporal y 500 000 en zonas agrícolas de riego, lo cual totaliza unos 6,8 millones de hectáreas de suelos afectados por sales en todo el país (Ortiz, 1992). Las regiones afectadas por la salinidad pueden llegar a quedar sin vegetación si no son recuperadas, debido a las propiedades desfavorables del suelo salino, y por consiguiente, la erosión de este (Keiffer & Ungar, 2001).

Sin embargo, la salinidad no es perjudicial para todas las plantas y varias especies, las denominadas halófitas, crecen naturalmente en los suelos salinos. El éxito de las poblaciones halófitas depende en gran medida de la respuesta de la germinación de sus semillas (Khan & Gul, 2006), donde una de las etapas más críticas en el ciclo de vida es el periodo de germinación y establecimiento en el campo.

Estos procesos están controlados por varios factores ambientales, en particular la luz (Gutterman, 1993; Huang & Gutterman, 1998, 1999), la temperatura (Badger & Ungar 1989) y la salinidad (Ungar, 1995; Khan *et al.*, 2002), siendo determinantes del éxito de muchas poblaciones de plantas características de saladares (Keiffer & Ungar, 1997).

Existe un amplio rango de variación en la respuesta de las halófitas a la salinidad, por ejemplo, las semillas de *Salicornia herbacea* germinan a 1700 mM NaCl (Chapman, 1960). La variación de la tolerancia a la salinidad en especies del género *Suaeda* es de 500-1400 mM en las siguientes especies: *S. japonica* (900 mM) (Yokoishi & Tanimoto, 1994), *S. fruticosa* (500 mM) (Khan & Ungar, 1998), *S. moquinii* (1000 mM) (Khan *et al.*, 2001), *S. salsa* (1200 mM) (Li *et al.*, 2005) y *S. aralocaspica* (1400 mM) (Wang *et al.*, 2008).

La temperatura es un factor crítico durante la germinación, que influye especialmente en su velocidad; además, la capacidad germinativa

puede sufrir gravemente a causa de condiciones inapropiadas de temperatura (Benech-Arnold & Sánchez, 2004; Guretzky *et al.*, 2004; Leon *et al.*, 2004).

El dimorfismo y el polimorfismo puede permitirles a las halófitas responder de forma variada a los pantanos salados o a los ambientes desérticos y podrían proveer oportunidades para el establecimiento de la plántula y la supervivencia en ambientes salinos (Khan *et al.*, 2001).

Típicamente se reportan dos tipos de semillas en el género *Suaeda*: las de testa blanda de color café y las de testa dura de color negro; algunos ejemplos son: *S. moquinii* (Khan *et al.*, 2001), *S. salsa* (Li *et al.*, 2005), *S. splendens* (Redondo-Gómez *et al.*, 2008) y *S. aralocaspica* (Wang *et al.*, 2008).

En el presente trabajo se analiza la influencia de NaCl y diferentes termoperiodos sobre la germinación de *Suaeda mexicana*, que es una planta herbácea anual perenne, perteneciente a la familia Chenopodiaceae, erguida o postrada, glabra o casi glabra, de 20 cm a 1 m de alto, con ramas ascendentes o divergentes, flexuosa; hojas lineares cilíndricas o a veces algo aplanadas de 7 a 2,5 cm de largo, mientras que las inflorescencias son reducidas. El tamaño de la semilla es de alrededor de 1 mm, de color negro a rojo intenso (Rzedowski & Rzedowski, 2005).

Metodología

Sitio de recolección y descripción de las semillas

La recolección de las semillas de *S. mexicana* se realizó durante el mes de enero de 2010 en la Laguna Tepeyahualco (El Salado), que se encuentra ubicada al pie del Cerro del Pizarro a una altitud de 2312 metros sobre el nivel del mar (msnm) en el estado de Puebla, en México (figura 1).

Los ejemplares recolectados se depositaron en la colección del herbario TLXM del Centro de Investigaciones en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala como respaldo.

En el laboratorio del CIBA-IPN-Tlaxcala se limpiaron las semillas, pasando por diferentes tamices, entre ellos uno de 0,8 mm y otro de 0,5 mm, observándose que existía variación en el tamaño, el color y la dureza de la testa, por lo que se decidió tomar las semillas >0,8 mm y separarlas con ayuda del estereoscopio, para

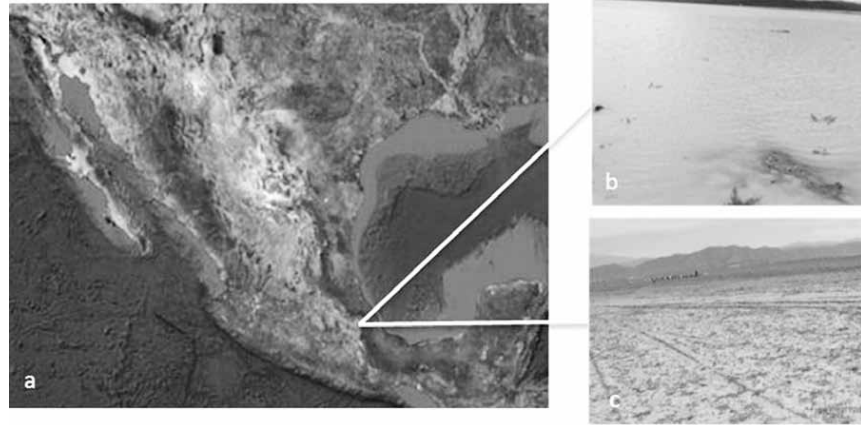


Figura 1. Laguna de Tepeyahualco (El Salado): a) ubicación, b) en verano con agua, c) en invierno seca.

obtener tres diferentes tipos de semillas: sin testa, con testa café y con testa negra. Posteriormente se secaron y se almacenaron en nuevas bolsas de papel estraza, en condiciones ambientales durante tres meses (Herranz *et al.* 2004).

La temperatura ambiental anual de El Salado se obtuvo del promedio de datos de tres estaciones meteorológicas cercanas (Alchichica, Tepeyahualco y Totalco) de los años 1971-2001 del Servicio Meteorológico Nacional (2009).

La temperatura varía de $-0.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un valor medio de $13,6\text{ }^{\circ}\text{C}$. El clima es templado seco, con verano seco y poca oscilación térmica (García, 1988), con una precipitación anual menor a 451 mm y una tasa de evaporación de 1722.53 mm (figura 2).

Prueba de imbibición

La prueba de imbibición se hizo para tres tipos de semillas en el laboratorio, a una temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $28\text{ }^{\circ}\text{C}$, usando cuatro réplicas de 25 semillas

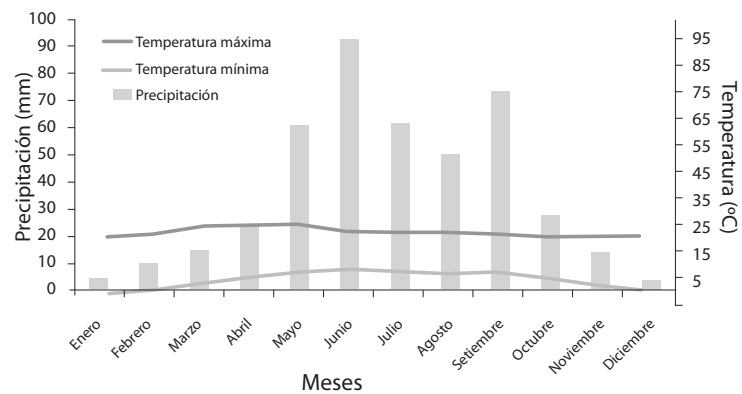


Figura 2. Promedio de la precipitación y temperaturas máximas y mínimas de El Salado (promedio de Alchichica, Tepeyahualco y Totalco de los años 1971-2001 del Servicio Meteorológico Nacional de México, 2009).

secas de cada tipo. Se pesó la masa seca de cada grupo de 25 semillas para determinar el tiempo 0, y posteriormente las semillas se colocaron en cajas de Petri de 9 cm de diámetro con papel filtro Whatman de poro medio, saturado con agua destilada.

Después de una hora, las semillas fueron removidas de las cajas, se pesaron nuevamente y se secaron con papel filtro, posteriormente se pusieron de nuevo en las cajas de Petri. Esto se volvió a repetir a las 3, 6, 9, 12 y 22 horas para determinar la absorción de agua. El incremento relativo en peso fresco (W_r) de semillas está calculado como $W_r = (W_f - W_i) / W_i * 100$, donde W_i es el peso inicial de la semilla y W_f el peso después de un determinado tiempo (Baskin *et al.*, 2004).

Efecto de la salinidad y temperatura sobre la germinación

Antes de someter las semillas a los diferentes tratamientos, se rompió la tensión superficial con Tween 80 y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. Después se desinfectaron con cloro comercial al 10% durante 10 minutos en constante agitación, en una campana de flujo laminar; enjuagándose tres veces con agua destilada estéril.

Ya desinfectadas, se colocaron 25 semillas en cada caja de Petri de 9 cm de diámetro con dos capas de papel filtro Whatman de poro medio. Se realizaron siete tratamientos con diferentes concentraciones de NaCl (200 mM, 400 mM, 600 mM, 800 mM, 1000 mM, 1500 mM y 3000 mM) y un testigo con agua destilada (0 mM NaCl), agregando 5 ml de cada solución (Khan & Gulzar, 2003).

Las cajas se sellaron con Parafilm para evitar la evaporación. Se realizaron cuatro repeticiones para cada tratamiento, considerando esto para someterlas a tres diferentes termoperiodos (0-20 °C, 5-25 °C y 10-30 °C) durante 20 días con 12 horas de fotoperiodo, haciendo coincidir la temperatura más alta con la luz y la más baja con la oscuridad, en cámaras de germinación (Scorpion Scientific®); el termoperiodo y el fotoperiodo se controlaron de forma manual. Todos los lotes de semillas tratados de esta forma tenían la misma edad, descartando así que las diferencias en la capacidad germinativa estuvieran influenciadas por ese factor (Baskin y Baskin, 1998).

La tasa de germinación se estimó utilizando una versión modificada del índice Timson de velocidad de germinación: índice de germinación $I_g = \sum G/t$, donde G es el porcentaje de germinación de las semillas a intervalos de 2 días y t es el periodo de germinación total (Khan y Ungar, 1984), considerando como germinadas las que tenían más de 2 mm. El máximo valor posible para los datos usando este índice fue de 50 (es decir, 1000-20). Cuanto mayor sea el valor, más rápida es la germinación.

Análisis estadístico

Todos los datos se expresaron como media de la desviación estándar (+/- DE). Los datos se transformaron a arcoseno antes del análisis estadístico para la homogeneidad de varianza (no se transformaron los datos que aparecen en todas las figuras). Los datos se analizaron usando el programa estadístico PASW Statistics 18 Versión 18.0.0 para Windows (SPSS Inc., 2009).

Se utilizó un modelo lineal general (MLG) para el análisis de varianza (ANOVA) para comparar los efectos de los tratamientos. El ANOVA de dos vías se utilizó para determinar las diferencias significativas en agua destilada entre la temperatura, el tipo de semillas y su interacción; y para determinar las diferencias entre la salinidad y la temperatura y su interacción en semillas sin testa, omitiendo las concentraciones salinas donde no hubo germinación. La prueba de Tukey HSD se utilizó para determinar diferencias ($p < 0.05$) entre los tratamientos individuales.

Resultados

Descripción de las semillas

Suaeda mexicana varía en el diámetro de sus semillas de 0,5 mm a 0,8 mm, de acuerdo con el tamaño de los tamices utilizados para separarlas de los restos vegetales. Para el experimento se utilizaron las semillas mayores a 0,8 mm, encontrándose variación en el color y la dureza de la testa de la semilla, lo cual se observó mediante el estereoscopio, obteniendo tres diferentes tipos de semillas: sin testa, el 24%; con testa café, el 23%; y con testa negra, el 41% (figura 3).

Prueba de imbibición

La absorción inicial de agua manifestó un aumento en la masa de las semillas sin testa del 28,1% después de 1 h y del 63,1% a las 3 h; se dejó de tomar el peso

Figura 3. Semillas de Suaeda mexicana a) sin testa, b) de testa café y c) de testa negra.

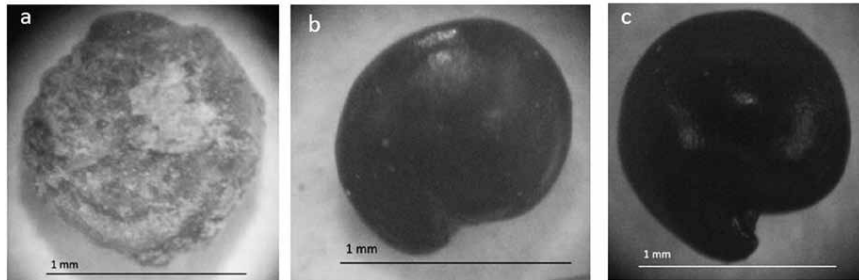
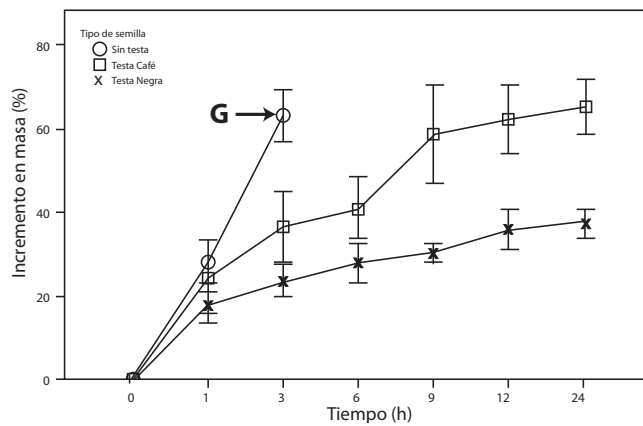


Figura 4. Curvas de imbibición de semillas de Suaeda mexicana (semillas sin testa, de testa café y de testa negra) en agua destilada. 'G', tiempo en que empieza la germinación en semillas sin testa.



debido a que algunas semillas habían germinado (figura 4). En las semillas de testa café, después de 1 h se registró un aumento en su masa del 24,5%, a las 3 h del 36%, y a las 24 h del 65,6% (figura 4). En las semillas de testa negra, después de 1 h se observó un aumento en su masa del 17,4%, a las 3 h del 24% y a las 24 h del 37,7% (figura 4).

Germinación

Se registró la germinación inicial a los 2 días en agua destilada (0 mM NaCl), siendo el termoperiodo de 10 °C/30 °C en el que se obtuvo el mayor porcentaje de germinación, con un 35% en semillas sin testa (figura 5a), un 15% en semillas de testa café (figura 5b) y un 4% en semillas de testa negra (figura 5c).

Durante 20 días de incubación en agua destilada, el porcentaje de germinación acumulada y la velocidad de germinación de las semillas sin testa fue mayor que el de las semillas de testa café y de testa negra en el termoperiodo 0 °C/20 °C. La germinación de semillas sin testa en agua destilada en un termoperiodo de 0 °C/20 °C se ve menos afectada, con un 72% de germinación a los 20 días (figura 5a), en semillas de testa café y testa negra en agua destilada en un termoperiodo de 0 °C/20 °C fue del 7% y 1%, presentándose en los días 2 y 6 respectivamente, sin modificarse hasta los 20 días (figura 5b y c).

El índice de germinación en agua destilada en el termoperiodo 0 °C/20 °C de las semillas sin testa

Figura 5. Porcentaje de germinación acumulada en agua destilada de Suaeda mexicana. a) semillas sin testa, b) semillas de testa café y c) semillas de testa negra incubadas a diferentes termoperiodos (0 °C/10 °C, 5 °C/25 °C y 10 °C/30 °C) y sometidas a un fotoperiodo 12:12 (media ± DE, n=4). Las letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas en el día 20 para todos los termoperiodos, de acuerdo con la prueba de Tukey HSD ($p < 0.05$).

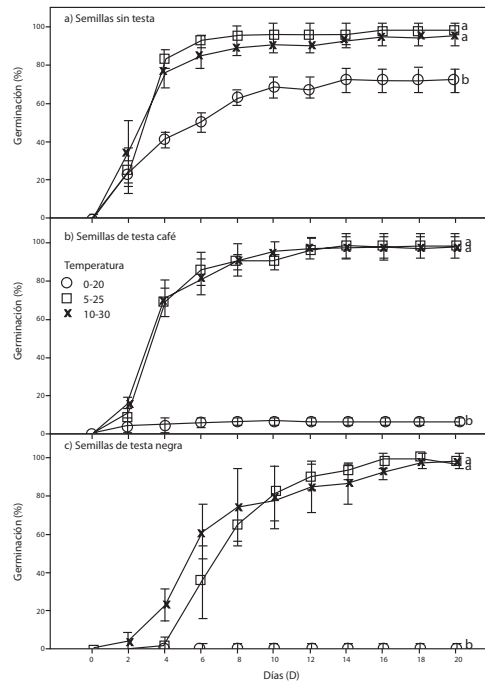


Figura 6. Índice de germinación en agua destilada de Suaeda mexicana, semillas sin testa, semillas de testa café y semillas de testa negra incubadas a diferentes termoperiodos (0 °C/20 °C, 5 °C/25 °C, y 10 °C/30 °C) y sometidas a un fotoperiodo 12:12 (media ± DE, n=4). Las letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas en el día 20 para todos los termoperiodos, de acuerdo con la prueba de Tukey HSD ($p < 0.05$).

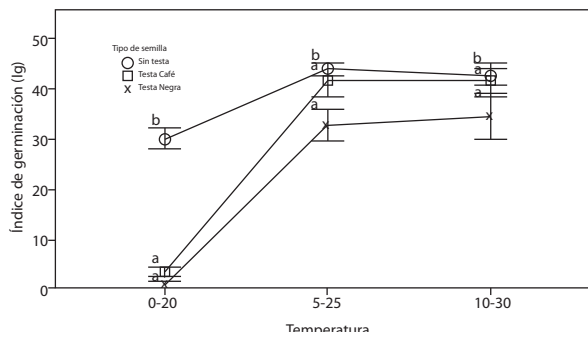
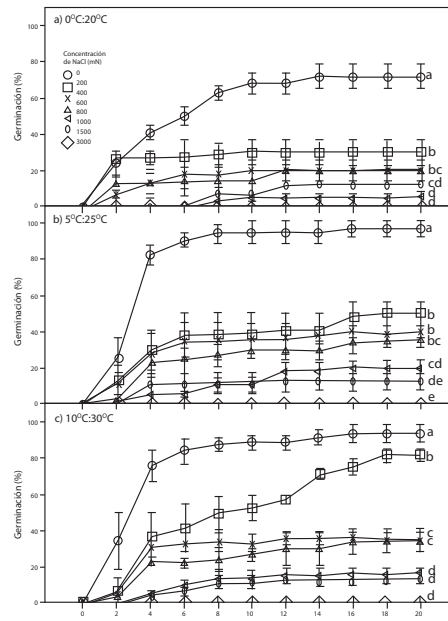


Figura 7. Porcentaje de germinación acumulada de semillas sin testa de Suaeda mexicana en diferentes concentraciones de NaCl a diferentes termoperiodos a) 0 °C/20 °C, b) 5 °C/25 °C y c) 10 °C/30 °C, sometidas a un fotoperiodo 12:12 (media ± DE, n=4). Las letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas en el día 20 para todas las concentraciones de NaCl, de acuerdo con la prueba de Tukey HSD ($p < 0.05$).



fue del 30%, mientras que las de testa café y testa negra tuvieron solo un 3% y 0,4% respectivamente; en los termoperiodos de 5 °C/25 °C y 10 °C/30 °C en semillas sin testa y con testa café en promedio fue del 42%, mientras que en las de testa negra fue del 33% (figura 6).

El ANOVA de dos vías demuestra que aunque los termoperiodos tienen 20 °C de diferencia entre el día y la noche, y 5 °C entre los diferentes termoperiodos, la germinación se ve significativamente afectada por la temperatura ($F=153.2, p < 0.001$), el tipo de semilla ($F=8.6, p < 0.001$) y la interacción entre la temperatura y el tipo de semilla ($F=8.4, p < 0.001$), en agua destilada (cuadro 1).

La germinación inicial de las semillas sin testa se da a los dos días en concentraciones de 200 mM a 600 mM de NaCl en todos los termoperiodos (figura 7a, b y c). En concentraciones de 800 mM y 1000 mM de NaCl, la germinación inicial es a los cuatro días

en los termoperiodos de 5 °C/25 °C y 10 °C/30 °C (figura 7b y c); en el termoperiodo de 0 °C/20 °C, la germinación inicia a los ocho días (figura 7a).

La germinación inicial en concentraciones de 200 mM a 1000 mM de NaCl varía de un 3% a un 26% (figura 7a, b y c); el mayor porcentaje de germinación inicial se registró en el termoperiodo de 0 °C/20 °C a 200 mM (figura 7a). Las semillas sin testa tienen una germinación en promedio del 13% en 1000 mM de NaCl en todos los termoperiodos a los 20 días (figura 7a, b y c).

Las semillas sin testa tienen la capacidad de germinar a 0 mM a 1000 mM de NaCl. El ANOVA de dos vías mostró que la germinación fue significativamente afectada por la temperatura ($F=68.4, p < 0.001$), salinidad ($F=261.7, p < 0.001$) y la interacción entre la temperatura y la salinidad ($F=114.6, p < 0.001$) (cuadro 2), lo que sugiere que las semillas sin testa

Cuadro 1. ANOVA de 2 vías para determinar los efectos de la temperatura y del tipo de semilla y sus interacciones en la germinación en agua destilada de las semillas de Suaeda mexicana.

	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	p≤0.05
Temperatura (T)	9.600	2	4.800	153.297	0.000
Tipo de semilla (TS)	0.540	2	0.270	8.616	0.001
T×TS	1.059	4	0.265	8.453	0.000
Error	0.845	27	0.031		
Total	12.043	35			

Cuadro 2. ANOVA de 2 vías para determinar los efectos de la temperatura y la salinidad y sus interacciones en la germinación de semillas café claro de Suaeda mexicana.

	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	p≤0.05
Temperatura (T)	1.020	2	0.510	68.406	0.000
Salinidad (S)	9.760	5	1.952	261.732	0.000
T × S	1.091	10	0.109	14.635	0.000
Error	0.403	54	0.007		
Total	12.274	71			

tienen la capacidad de germinar inmediatamente después de desprenderse de la planta.

La germinación de semillas de testa café a 600 mM en un termoperiodo de 5 °C/25 °C fue del 3% a los 20 días (cuadro 3) y su germinación inicial se da a los 10 días; en estas mismas condiciones las semillas sin testa tienen una germinación del 35% a los 20 días (cuadro 3), mientras que las semillas de testa negra no registraron germinación en ninguna concentración salina.

Discusión

La evolución de mecanismos para la supervivencia en ambientes impredecibles y estresantes en plantas halófitas ha llevado al desarrollo de una serie de cambios en su morfología y fisiología (Kan et al., 2001), que se ven reflejados en el dimorfismo y polimorfismo de las semillas de diferentes géneros

de halófitas, incluyendo *Suaeda*: *S. moquini* (Khan et al., 2001), *S. salsa* (Li et al., 2005), *S. splendens* (Redondo-Gómez et al., 2008) y *S. aralocaspica* (Wang et al., 2008).

En todas las especies solo se mencionan dos tipos de semillas: las blandas de color café y las duras de color negro. En *S. mexicana* las semillas son de dos tipos: sin testa y con testa, dicha variación permite que esta especie responda de forma distinta a las condiciones ambientales durante la germinación y el establecimiento de la plántula en suelos salinos.

Li et al. (2005) y Wang et al. (2008) encontraron que las semillas de color café absorben el agua más rápidamente que las de color negro. En las semillas de *S. mexicana* existe un comportamiento similar; ya que en las semillas sin testa absorben el agua más rápidamente, germinando a las 6 horas; sin embargo, a pesar de que las semillas con testa café y negra

Cuadro 3. Efecto de la temperatura en la germinación de semillas de Suaeda mexicana en diferentes concentraciones de NaCl.

Termoperiodo (°C)	Tipo de semilla	Concentración de NaCl (mM)			
		0	200	400	600
0:20	Sin testa	72±6.5a	30±6.9 a	20±5.6 a	20±8 a
	Testa café	7±2 b	0±0 b	0±0 b	0±0 b
	Testa negra	1±2 b	0±0 b	0±0 b	0±0 b
5:25	Sin testa	98±4 a	50±6.9 a	40±3.2 a	35±3.8 a
	Testa café	97±6 a	4±3.2 b	1±2 b	3±2 b
	Testa negra	97±3.8 a	0±0 b	0±0 b	0±0 b
10:30	Sin testa	95±5 a	83±3.8 a	36±3.2 a	35±6.8 a
	Testa café	96±5.6 a	21±3.8 b	0±0 b	0±0 b
	Testa negra	96±3.2 a	0±0 c	0±0 b	0±0 b

- Los valores se expresan en porcentaje (%) y son medias ± DE (n = 4).

- Las letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas en el día 20 para los diferentes tipos de semillas en cada termoperiodo, de acuerdo con la prueba de Tukey HSD (p<0.05).

de *S. mexicana* son menos permeables al agua, tienen una germinación inicial a los dos días en los termoperiodos de 5 °C/25°C y 10 °C/30 °C en agua destilada.

La temperatura es un factor crítico durante la germinación, que influye especialmente en la velocidad de esta; además, la capacidad germinativa puede sufrir gravemente a causa de condiciones inapropiadas de temperatura (Benech-Arnold & Sánchez, 2004; Guretzky et al., 2004; Leon et al., 2004).

En la germinación de *S. mexicana* la temperatura juega un papel importante, ya que los tres tipos de semillas tienen una germinación ≥91% en los termoperiodos más altos de 5 °C/25 °C y 10 °C/30 °C en agua destilada, teniendo diferencias significativas en los tres tipos de semillas (p<0.005) con respecto a los termoperiodos.

En el termoperiodo más bajo, de 0 °C/20 °C, es afectada en combinación con la testa, esto se refleja en semillas sin testa donde hay una germinación del 72%, mientras que las de testa café y negra es ≤7%, lo que sugiere que las semillas sin testa de *S. mexicana*

tienen la capacidad de germinar en un amplio rango de termoperiodos.

La variación de la temperatura en condiciones de salinidad tiene diferentes efectos sobre la germinación de las plantas halófitas y podría deberse a las condiciones ecológicas del hábitat al que pertenecen (Khan & Ungar 1996). De acuerdo con García (1988) *S. mexicana* pertenece a un clima templado seco, siendo afectada la tolerancia a la salinidad en la germinación por el termoperiodo más bajo.

Los termoperiodos y las diferentes concentraciones de NaCl influyen en la germinación inicial de semillas sin testa de *S. mexicana*; iniciando a los dos y cuatro días en los termoperiodos de 5 °C/25 °C y 10 °C/30 °C y a los 8 días en 0 °C/20 °C en 1000 mM de NaCl, con una germinación a los 20 días en promedio del 13% en todos los termoperiodos, teniendo los porcentajes más altos de germinación y del índice de germinación en los termoperiodos de 5 °C/25 °C y 10 °C/30 °C.

Las semillas de testa café y negra son las más afectadas por la salinidad, principalmente las de

color negro, donde no hay germinación en ninguna concentración salina, mientras que en las de color café hay una germinación a los 20 días del 3% a 600 mM de NaCl en el termoperiodo de 5 °C/25 °C y del 21% a 200 mM de NaCl en un termoperiodo de 10 °C/30 °C.

La variación de la tolerancia a la salinidad en otras especies del género *Suaeda*: *S. japonica* (900 mM) (Yokoishi & Tanimoto 1994), *S. fruticosa* (500 mM) (Khan & Ungar 1998), *S. moquinii* (1000 mM) (Khan et al. 2001), *S. salsa* (1200 mM) (Li et al. 2005) y *S. aralocaspica* (1400 mM) (Wang et al. 2008), siendo la germinación más alta en semillas cafés en especies que tienen polimorfismo; estos resultados coinciden con *Suaeda mexicana*.

Después de someter *S. mexicana* a los tratamientos de salinidad y agua destilada, los resultados coinciden con los trabajos realizados por Woodell (1985), Khan y Ungar (1997), Houle et al. (2001) y Khan y Gulzar (2003), que han puesto de manifiesto que la mayoría de las especies halófitas germinan mejor en agua dulce que en agua salada.

Guan et al. (2010) sugieren que *S. corniculata* y *S. salsa* pueden ser utilizadas como plantas pioneras para la recuperación ecológica y la explotación de los suelos salinos y sódicos, teniendo una menor tolerancia a la salinidad (500 mM NaCl) y recuperación con respecto a *S. mexicana*, por lo que sería recomendable usarla con este fin en México.

Con base en los resultados, es posible concluir que la temperatura, la salinidad y el tipo de semilla y sus interacciones juegan un papel importante en la germinación de *S. mexicana*, permitiéndole establecerse en diferentes épocas del año.

Bibliografía

- Badger, K.S. & Ungar, I.A. (1989). The effects of salinity and temperature on the germination of the inland halophyte *Hordeum jubatum*. *Canadian Journal of Botany* 67: 1420-1425.
- Baskin C.C. & Baskin J.M. (1998). *Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. USA: Acad. Press.
- Baskin, J. M.; Davis, B. H.; Baskin, C. C.; Gleason S. M. & Cordell, S. (2004). Physical dormancy in seeds of *Dodonaea viscosa* (Sapindales, Sapindaceae) from Hawaii. *Seed Science Research* 14: 81-90.
- Benech-Arnold, R. & Sánchez R.A. (2004). *Handbook of seed physiology: Applications to agriculture*. New York: Food Products Press.
- Chapman, V.J. (1960). *Salt marshes and salt deserts of the world*. New York: Interscience Publishers.
- FAO (2007). *FAO Land and Plant Nutrition Management Service*. Sitio oficial en línea. Obtenido desde: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>
- García, E. (1988). *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana)*. México: García.
- Gutterman, Y. (1993). *Seed Germination of Desert Plants*. Springer (Adaptations of Desert Organisms). New York: Springer-Verlag.
- Guretzky, J. A.; Moore, K. J.; Knapp, A. D. & Brummer E. C. (2004). Emergence and survival of legumes seeded into pastures varying in landscape position. *Crop Science* 44, 227-233.
- Herranz, J. M.; Ferrandis, P. & Copete, M. A. (2004). Germinación de tres halófitas amenazadas en Castilla-La Mancha en condiciones de estrés salino. *Inv. Agr. Prod. Prot. Veg.* 13(2): 357-367.
- Huang, Z. & Gutterman, Y. (1998). *Artemisia monosperma* achene germination in sand: effects of sand depth, sand/water content, cyanobacterial sand crust and temperature. *Journal of Arid Environments* 8: 27-43.
- Huang, Z. & Gutterman, Y. (1999). Germination of *Artemisia sphaerocephala* (Asteraceae) occurring in the sandy desert areas of Northwest China. *South African Journal of Botany* 65: 187-196.
- Keiffer, C. H. & Ungar, I.A. (1997). The effect of extended exposure to hypersaline conditions on the germination of five inland halophyte species. *American Journal of Botany* 84: 104-111.
- Keiffer, C. H. & Ungar, I.A. (2001). The effect of competition and edaphic conditions on the establishment of halophytes on brine affected soils. *Wetland Ecology and Management* 9: 469-481.
- Khan, M. A. & Ungar I. A. (1984). Effects of salinity and temperature on the germination and growth of *Atriplex triangularis* Willd. *American Journal of Botany* 71: 481-489.
- Khan, M. A. & Ungar I. A. (1998). Germination of salt tolerant shrub *Suaeda fruticosa* from Pakistan: Salinity and temperature responses. *Seed Science and Technology* 26: 657-667.
- Khan, M. A.; Gul, B. & Weber, D. J. (2001). Germination of dimorphic seeds of *Suaeda moquinii* under high salinity stress. *Australian Journal of Botany* 49: 185-192.

- Khan, M.A.; Gul, B. & Weber, D.J. (2002). Seed germination in the great basin halophyte *Salsola iberica*. *Canadian Journal of Botany* 80: 650-655.
- Khan, M.A. & Gulzar, S. (2003). Light, salinity, and temperature effects on the seed germination of perennial grasses. *American Journal of Botany* 90: 131-134.
- Khan, M. A. & Gul, B. (2006). *Halophyte seed germination*. En: Khan, M.A. & Weber, D.J. (eds.). *Ecophysiology of high salinity tolerant plants*. Netherlands: Springer.
- Leon, R. G.; Knapp, A. D. & Owen, M. D. K. (2004). Effect of temperature on the germination of common waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*), giant foxtail (*Setaria faberi*) and velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). *Weed Science* 52: 67-73.
- Li, W. Q.; Liu, X. J.; Khan, M. A. & Yamaguchi, S. (2005). The effect of plant growth regulators, nitric oxide, nitrate, nitrite and light on the germination of dimorphic seeds of *Suaeda salsa* under saline conditions. *Journal of Plant Research* 118: 207-214.
- Ortiz, O.M. (1992). *Distribución y extensión de los suelos afectados por sales en México y en el mundo*. México: Publicaciones del Depto. de Suelos, UACH, Chapingo.
- Redondo-Gómez, S.; Mateos-Naranjo, E.; Cambrollé, J.; Luque, T.; Figueroa, M.E. & Davy, A.J. (2008). Carry-over of Differential Salt Tolerance in Plants Grown from Dimorphic Seeds of *Suaeda splendens*. *Annals of Botany* 102: 103-112.
- Rzedowski, G. C. & Rzedowski, J. (2005). *Flora Fanerogámica del Valle de México*. (2a. ed.). México: Instituto de Ecología, A. C., y CONABIO.
- Servicio Meteorológico Nacional de México. (2009). Sitio oficial en línea. Obtenido desde: <http://smn.cna.gob.mx/>
- SPSS Inc. (2009). PASW Statistics 18 Versión 18.0.0 para Windows. SPSS Inc., USA.
- Ungar, I.A. (1995). *Seed germination and seed-bank ecology of halophytes*. En: Kigel, J. & Galili, G. *Seed Development and Germination*. New York: Marcel and Dekker Inc.
- Wang, L.; Huang, Z.; Baskin, C. C.; Baskin, J. M. & Dong, M. (2008). Germination of Dimorphic Seeds of the Desert Annual Halophyte *Suaeda aralocaspica* (Chenopodiaceae), a C4 Plant without Kranz Anatomy. *Annals of Botany* 102: 757-769.
- Yokoishi, T. & Tanimoto, S. (1994). Seed germination of the halophyte *Suaeda japonica* under salt stress. *Journal of Plant Research* 107: 385-388.

CAPITULO 3

Diversidad microbiana halófila asociada a quenopodiaceas del desierto y su potencial promotor del crecimiento vegetal

Isolation and characterization of desert chenopod-associated bacteria and their potential for plant growth promotion

Angelica Ruiz-Font^{*1,2}, Mary Lucero^{3,4}

¹Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Posgrado en Biotecnología Productiva. Ex Hacienda San Juan Molino, Tepetitla, Tlaxcala. 90700.

²Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo, Universidad Nacional de Costa Rica.

³Biólogo de Sistemas, End-O-Fite Enterprises LLC, Vado, New Mexico, 88072

⁴Retirado Biólogo molecular de investigación, USDA-ARS Jornada Experimental Range, Las Cruces, New Mexico, 88003.

*Email del autor para correspondencia afont@ipn.mx

ABSTRACT

Plant associated microbes may help mediate drought and salt stress. We analyzed rhizospheric, soil and leaf litter microbial communities associated with two saline-adapted chenopod plants, *Suaeda mexicana*, from central Mexico and *Atriplex canescens*, from the Chihuahuan Desert region of the United States. In order to characterize the cultivable microbial community, samples were processed and analyzed by traditional surface spread plating methods on sixteen different culture media containing either 4% or 10% NaCl (w/v). 43 morphotypes were selected, analyzed by amplification and sequencing of 16S rDNA.

PCR products from *Atriplex* isolates were homologous to sequences of the bacterial genera *Penibacillus*, *Streptomyces*, *Promicromonospora*, *Rhodococcus*, *Bacillus* and *Pseudomonas*, and the fungal genus *Aspergillus*. Sequences homologous to the genera *Arthrobacter*, *Streptomyces*, *Nocardia*, *Cellulosimicrobium*, *Pseudomonas* and *Bacillus* were amplified from *Suaeda* isolates. Each morphotype were used for the inoculation of axenically grown *Amaranth spp* seedlings and plant growth promotion was evaluated. One third of the isolate microbes showed improving plant growth.

Keywords: *Atriplex*, endophyte, growth-promotion, microbial-diversity, *Suaeda*.

RESUMEN

Los microorganismos asociados a las plantas pueden ayudar a mediar el estrés seco y salino. Se analizaron las comunidades microbianas de la suelo, rizosfera, hojarasca y de la hoja, asociadas con dos plantas de Chenopodiaceae adaptadas a la solución salina, *Suaeda mexicana*, del centro de México y *Atriplex canescens*, de la región del desierto de Chihuahua de los Estados Unidos. Con el fin de caracterizar la comunidad microbiana cultivable, las muestras se procesaron y analizaron mediante métodos tradicionales de extensión de superficie extendida sobre dieciséis medios de cultivo diferentes, conteniendo cada uno 4% o 10% de NaCl (p / v). Se seleccionaron 43 morfotipos, se los ejecutó con PCR, se realizó la amplificación de 16S rADN usando los pares de cebadores F984GC-R1378 para bacterias y ITS1F-ITS4 para el único aislamiento fúngico.

Los productos de PCR de los aislamientos *A. canescens* fueron homólogos a secuencias de los géneros bacterianos *Penibacillus*, *Streptomyces*, *Promicromonospora*, *Rhodococcus*, *Bacillus* y *Pseudomonas*, y el género de hongos

Aspergillus. Se amplificaron secuencias homólogas a los géneros *Artrhobacter*, *Streptomyces*, *Nocardia*, *Cellulosimicrobium*, *Pseudomonas* y *Bacillus* a partir de aislados de *S. mexicana*. Se utilizó cada morfotipo para la inoculación de plántulas de Amarantho spp cultivadas axénicamente y se evaluó la promoción del crecimiento de las plantas.

Palabras clave: *Atriplex*, diversidad microbiana, endofitos, regulador de crecimiento vegetal, *Suaeda*.

1. INTRODUCCIÓN

Una tercera parte de los biomas terrestres son considerados como desiertos (también denominadas zonas áridas). El clima seco y muy seco, caracterizado por una baja precipitación y altas temperaturas generan ecosistemas únicos con temperaturas extremas que pueden variar hasta 30 grados centígrados en 24 horas (Fredrickson *et al.*, 1998).

En México, el clima seco y muy seco ocupan el 49.1% de la superficie, abarcando la mayoría del norte del país. En esta región se encuentran amplias zonas áridas o desérticas y semiáridas o esteparias que ocupan más del 60% del territorio y, están presentes en más de 20 estados (Trejo, 1999). En lo que respecta a la producción en esas zonas encontramos que el uso potencial agrícola está estructurado por la clase de capacidad de uso agrícola, por la aptitud para el desarrollo de cultivos, la aptitud para la labranza y la aptitud para la implantación de obras para riego. En relación a eso, en las zonas de climas áridos se sitúan las principales zonas irrigadas de México, con una importante producción agrícola, destacando la siembra de maíz y trigo, en el que dos tercios de la producción de maíz bajo riego se obtienen en estas regiones (INEGI, 2003).

En las zonas secas de México podemos encontrar vegetación de tipo pastizal, matorral, chaparral, y vegetación halófito, también selva baja caducifolia y selva baja espinosa (Leopold, 1950). La vegetación halófito prospera en hábitats salinos y yesosos presentes en zonas áridas y semiáridas y en zonas litorales las cuales ocupan 10,000 km² del país. Se reportan en México aproximadamente 650 especies de halófitas y cerca de 300 gipsófilas (Valdés & Flores, 1986).

Chenopodiaceae es una familia de plantas cosmopolitas que se caracterizan por su adaptación a tolerar condiciones extremas de salinidad y sequía. Son principalmente hierbas anuales o perennes, y en mucho menor medida árboles. Se encuentran comúnmente en marismas templadas, en áreas desérticas, semi desérticas y en hábitats perturbados por el hombre, por ejemplo terrenos baldíos. Frecuentemente forman parte de la vegetación halófito y en algunas áreas forman extensas comunidades, en forma individual o en asociación con otras plantas (Chapman, 2013). Las semillas en las especies de Chenopodiaceae exhiben variedad de mecanismos de germinación y dormancia, su fruto es usualmente de una sola semilla y presenta utrículo de paredes delgadas (James *et al.* en Tiedemann 1983)

Chenopodiaceae es una de las 11 familias del orden Caryophyllales, se ha dividido en dos o tres subfamilias basadas en características del embrión, endospermo, flores y frutos, incluye 100 géneros con 1200-1500 especies (Cronquist, 1981), Además sus especies tienen diversidad en las vías fotosintéticas y en la estructura anatómica para la asimilación de CO₂. Cuatro tribus, entre ellas Suaedeae y Atripliceae presentan ambos tipos de fotosíntesis (C3 y C4) (Voznesenskaya *et al.*, 2001), ésta característica se ha aprovechado para estudiar ampliamente las diferentes vías, sobre todo de tipo C4 en el género *Atriplex* (Downie *et al.* 1997). También se han encontrado casos de Fasciación en la familia, los cuales son poco comunes y solo se reportan en el género *Chenopodium* (White 1948 en Flores Olvera H. 1994) y más recientemente en *Atriplex elegans* (Flores, 1994) recolectado en el oeste de México.

Chenopodiaceae frecuentemente se maneja bajo sinonimia con Amaranthaceae, debido a la cercana relación filogenética basada en caracteres sinapomorficos tales como características florales, morfología del polen, y embriología, apoyados por análisis moleculares, sin embargo ésta relación aún no esta esclarecida (Kadereit, *et al.*, 2003).

La distribución de la familia esta condicionada por su capacidad de crecer en ambientes salinos. Aunque son cosmopolitas tienen mayor diversidad en Norte América, Australia, Asia Central, y en menor medida en Sur América y en el Mediterráneo. En México se le puede encontrar como una de las principales familias que componen los pastizales halófitos del noreste y centro de México (Sanchez & Ruiz 2012).

El cambio de uso del suelo y la desertificación permanece como un problema global ambiental relacionada con la perdida de suelos (Matson, *et al.*, 1997) y los microorganismos juegan un papel para ayudar a combatir este destructivo proceso y para rehabilitar habitas que han sido desforestados. La estabilidad de los suelos es mejorada por la formación de los agregados que se desarrollan por las hifas de hongos y polisacáridos de origen microbiano. Varios microorganismos incluyendo algas bacterias y hongos filamentosos pueden participar en la agregación de partículas de suelo en zonas desérticas, también líquenes y cianobacterias son particularmente importantes (Lucero, *et al.* 2014).

La diversidad microbiana es un componente esencial de la biodiversidad y por desgracia no estamos generando suficiente información para conocerla y utilizarla de forma sustentable. Al contrario estamos haciendo que esta diversidad se vea decrementada. Sin la biodiversidad microbiana los humanos y los ecosistemas están en riesgo ya que se reducen las posibilidades de hacer frente al estrés ambiental incluyendo el calentamiento global o en esta poza de recursos biológicos podría encontrarse la cura para muchas enfermedades; y por desgracia la estamos perdiendo (Lucero, 2014)

Este proyecto tiene por objetivo evaluar la diversidad cultivable de dos especies halófilas que se encuentran en zonas desérticas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Zona de muestreo

Este estudio se desarrolló en dos sitios desérticos. El sitio localizado en el desierto de Chihuahua pertenece a La Jornada Experimental Range (JER), del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (Jornada Basin Long Term Ecological Research) en el sur de Nuevo México (32°37' N, 106°40'W a 1260msnm). La JER tiene 100,000 ha destinadas a la investigación las cuales se ubican dentro del desierto de Chihuahua. El promedio anual de lluvia es 246 mm que es altamente variable año con año con más de la mitad de la precipitación ocurriendo entre Julio y Octubre. La media máxima de temperatura se registra en Junio con 26° y la mínima en Enero con 4°. Los suelos son arenosos-limosos a limosos con incrustaciones de capas de carbonato de cálcico a una profundidad de entre 15 a 50cm. (Peters, 2006). Se ubicaron poblaciones de *Atriplex* que tienen registros de registro de largo plazo con el fin de enriquecer éste estudio con datos previos.

En México, se seleccionó una región caracterizada como alcalo-salina, es la Cuenca Oriental de México (19° 27' N, 97° 26'W y 2370msnm). Se trata de una cuenca endorréica, de aproximadamente 4982 km², localizada en el sureste del Altiplano Mexicano; situada entre el Eje Neovolcánico y el sureste de la Sierra Madre Oriental. Comprende los llanos de San Juan y San Andrés. Predominan suelos con sustrato calizo, con pH que puede variar de 8 a 11. Específicamente el área del proyecto estaba aledaña a la laguna El Salado que es un cuerpo de agua de temporal que se forma en época de lluvia, y con esta se asegura el cantidad de

humedad para los campos de nopal (*Opuntia spp*) que le rodean. La extensión es de aproximadamente 5000 ha (figura 1).

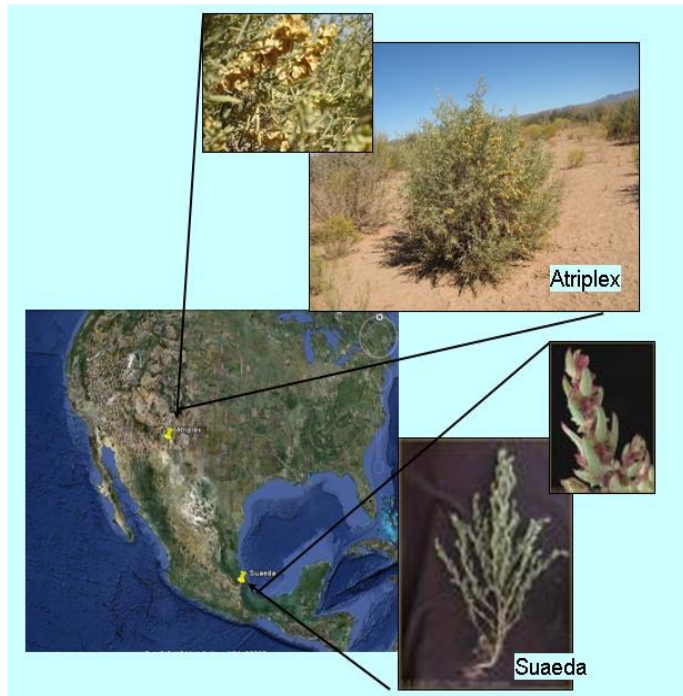


Figura 2. Ubicación de las dos zonas de muestreo de *Suaeda spp* en el centro de México y *Atriplex spp* en el Desierto de Chihuahua en Nuevo México

2.2 Colecta y tratamiento de la muestra

En cada sitio se colectaron muestras de suelo rizosférico, no rizosférico, hojarasca (litter) y semillas. En cada caso se tomaron muestras de tres plantas distintas para formar una muestra compuesta. La muestra de suelo rizosférico consiste en que en la base de la planta seleccionada se cava un hoyo de entre 20 a 30 cm y se extraen 500ml de suelo por planta. Esto mismo se realiza a metro y medio lejos de la planta para conformar la muestra de suelo no rizosférico. El litter u hojarasca se colecta

con ayuda de una pala plana evitando la colecta de suelo y la semilla se colectó directamente de la planta. La muestra es refrigerada a 4°C hasta el procesamiento.

2.3 Análisis de Diversidad Cultivable y efecto promotor

2.3.1 Cuenta viable

En un frasco Erlenmeyer de 250ml conteniendo 90ml de una solución de buffer de fosfatos ph 8 se adicionan 10 gr de la muestra y 25ul de tween80. El frasco se deja en agitación (150rpm) por 1hr, para después dejar en reposo por 15 min. A esta suspensión se realizan diluciones seriadas con el fin de conocer la cuenta viable microbiana.

Para determinar el número de microorganismos por muestra se realizó el método de plaqueo en superficie en los siguientes medios: agar papa-dextrosa (PDA), medio modificado R2A, un medio modificado de casaminoácidos (mCAT), todos preparados con concentraciones de sal que van de 4 al 10% (Skerman, V. 1967 y Litchfield, 2004). También se utilizó un medio bajo en nutrientes, especial para organismos oligotróficos, el medio Bushnell-Hass suplementado con acetato y ácido pirúvico (medio BHAP). Las muestras se incubaron a temperatura ambiente y a 37°C por cuatro semanas.

Cada placa fue evaluada de acuerdo a la pigmentación y tamaño de la colonia teniendo como datos las unidades formadoras de colonias (UFC) y los morfotipos derivados del análisis de microscopía estereoscópica.

Los resultados se reportaron en tablas que se denominan Análisis de las comunidades microbianas de suelo, de rizósferas y de bacterias endofíticas de plantas silvestres asociadas a un gradiente salino y alcalino; que contiene el conteo directo, la diversidad de morfotipos coloniales de microorganismos, hongos y bacterias cultivables, presentes en suelos, rizósferas y tejidos vegetales de los sitios y especies de plantas seleccionados.

2.3.2 Evaluación de factores que afectan la recuperación de diversidad cultivable

Con el de definir cuáles serían lo mejores medios para hacer la evaluación de diversidad cultivable, los morfotipos fueron sembrados en 20 diferentes medios, son cinco medios base diluidos, con y sin cloruro de sodio al 4% y 10%. Los medios utilizados son ALP, MCAT,R2A, PDA, C-zapeck.

Cada uno de los morfotipos se siembra en cada uno de los 20 medios para evaluar su crecimiento, el cual se hace en una escala del 0 al 6 de acuerdo a su crecimiento a los días. Las condiciones de incubación fueron en cámara que estaba a 25 grados.

2.3.3 Identificación de diversidad cultivable

Extracción de ADN y PCR con primers 16s. Cada morfotipo fue procesado para extracción de ADN utilizando el sistema comercial de extracción de ADN (MoBio, Carlsbad, CA). La cantidad total de ADN fue medido con un fluorómetro (Qubit).

Los genes 16sARN de cada morfotipo fueron amplificados en una mezcla de reacción que contenía 100ng de templado de ADN templado, el amortiguador PCR (10mM Tris-HCl [pH 8.3], 50mM KCl, 2mM MgCl₂, and 0.001% [w/v] gelatina), 2mM dNTPs, 5pM de cada primer (F y R) 2.5U de la polimerasa AmpliTaqGold (Perkin Elmer). Al final el volumen se ajustó a 50ul con agua destilada.

Los primers utilizados fueron el universal de bacterias 1387R (5'-GGGCGGWGTGTACAAGGC-3') y el 63F (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3'). El protocolo del PCR es el siguiente, temperatura inicial de desnaturalización de 94° C por 5min, seguido de 30 ciclos de 94° C for 45s, 55° C por 45s, y 72° C por 90s. Al final un paso de extension 72°C por 7min y se mantiene a 4°C.

2.3.4 Secuenciación de los productos de amplificación

Los productos de amplificación fueron purificados con un sistema comercial (QIAquick PCR purification kit de Westburg) de acuerdo con la metodología del fabricante. Las reacciones de secuenciación se realizaron con el sistema comercial Big Dye terminator cycle sequencing kit v1.0 o v1.1 (Applied Biosystems). Los productos del ciclo seco fueron resuspendidos en 25 µl de reactivo supresor del templado (Applied Biosystem) y posteriormente analizado en el analizador ABI Prism 310 (Applied Biosystems) de acuerdo con la metodología del vendedor.

2.3.5 Análisis de secuencias

Los datos crudos de las secuencias fueron analizados con software Sequence Analysis v3.3 y con el Factura Software v2.2 (Applied Biosystems). Las secuencias de ambas hebras (forward y reverse) fueron alineadas con el software AutoAssembler v2.1 y editadas para resolver discrepancias por electroferogramas. La doble secuencia consenso fue utilizada para la comparación con las secuencias de la base de datos GenBank (versión del año 2012) usando la herramienta de alineamiento local básico (BLAST; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>), donde las secuencias con el porcentaje más alto de alineación son las que fueron reportadas. Las secuencias identificadas en este estudio fueron depositadas en el GenBank bajo el siguiente número de accesos JN627161, JN627162, JX908004, JX908005, JX908006, JX908007, JX908008.

2.3.6 Bioensayo

2.3.6.1 Tratamiento de las semillas para cultivo axénico

La especie utilizada para el bioensayo fue amaranto (*Amaranthus spp*) de la marca comercial arrowhead mills de Estados Unidos. La semilla se lavó en la campana, se adicionó agua estéril a un tubo falcon también estéril y se adicionó una gota de jabón líquido tricloro. Se agitó para hacer espuma y después se adicionó la semilla de amaranto. Se agitó por cinco minutos, se decantó el agua con jabón y se lavó la semilla tres veces con agua estéril. Después se hizo una desinfección con alcohol al 70% que se mantuvo en lavado por 30 segundos, se decantó en coladera esteril y se enjuago con agua esteril en dos ocasiones.

Con la ayuda de un asa de microbiología, que se esterilizó por calor (flamear el asa), se dejó enfriar y después se introdujo en las semillas recién lavadas. Varias semillas se quedan pegadas al asa y de esta forma se va distribuyó entre 50 y 60 semillas en cada placa de agar – agua (8gr de agar por litro). Se sellaron con parafilm, se cubrieron con papel aluminio y se dejaron germinar a 25 grados y a temperatura ambiente.

2.3.6.2 Bioensayo

Poner la arena sílica en un recipiente y lavar con agua de la llave para eliminar polvo. Decantar el agua. Agregar HCl 0.1 molar hasta cubrir completamente la arena, tapar el recipiente y dejar en campana de extracción de vapores toda la noche. Al siguiente día decantar el ácido y enjuagar con agua de la llave tres o cuatro veces hasta que ya no tenga olor a ácido. Poner la arena en el refractario y poner a secar en horno a más de 100 grados.

La arena una vez que enfrió se deposita en cajas magenta. Aproximadamente 25 gramos por caja o hasta la marca de llenado que trae la caja de fábrica. Esterilizar dos veces.

Preparar los componentes de la solución Hoagland, la cual se usa al 10%, es decir es una solución diluida 1/10 y se le adiciona NaCl al 0.5% (Conductividad 10.5 dS/m)

para usar una solución salina en el bioensayo. Alternativamente se puede usar la solución Benes que también es una solución salina.

Una vez que están frías las soluciones después de esterilizar una vez, se procede a poner exactamente la misma cantidad de líquido en cada caja magenta, tratando de que toda la arena quede mojada y que esta quede en estado de “capacidad de campo” es decir que toda el agua queda retenida en la arena, al ladear la caja no hay escurrimiento.

Seleccionar las cajas con semillas de amaranto que no tienen ni una sola contaminación. Una vez que esta germinada la semilla, que ya se puede ver la radícula y abiertos los cotiledones (hojitas apicales) procedemos a sembrar cuatro plantas por caja. Seleccionar las que se vean más vigorosas. La caja magenta con la arena ya debe contener la solución.

De cada uno de los seis tratamientos (son cinco más el control, dan seis) se deben hacer diez cajas magenta. La mitad de cada tratamiento (Cinco cajas) se colocan en la cámara de crecimiento vegetal (a 25° C, con 16 horas luz y 8 de oscuridad) y la otra mitad se deja a temperatura ambiente en un lugar dentro del laboratorio donde les de la luz y este libre de polvo.

Se registra cada tercer día la sobrevivencia y el crecimiento de las plántulas de amaranto.

Inoculación. Cada una de las cepas es crecida en medio MCAT líquido hasta alcanzar la DO deseada. A cada planta se le inoculan 50ul.

A los quince días se evaluó el crecimiento de cada caja mediante el área foliar. Se fotografiaron con una cámara olympus. Las imágenes fueron importadas al programa Adobe Photoshop 5.5 y el área de cada caja fue evaluada mediante la función de histograma, las áreas con el pixel de interés se calibraron utilizando el total del área de caja como área de estudio.

2.4 Análisis de diversidad microbiana NO cultivable (análisis molecular).

El proceso conocido como análisis de metagenoma del microbioma asociado a las plantas quenopodiáceas se resume en la figura 2.

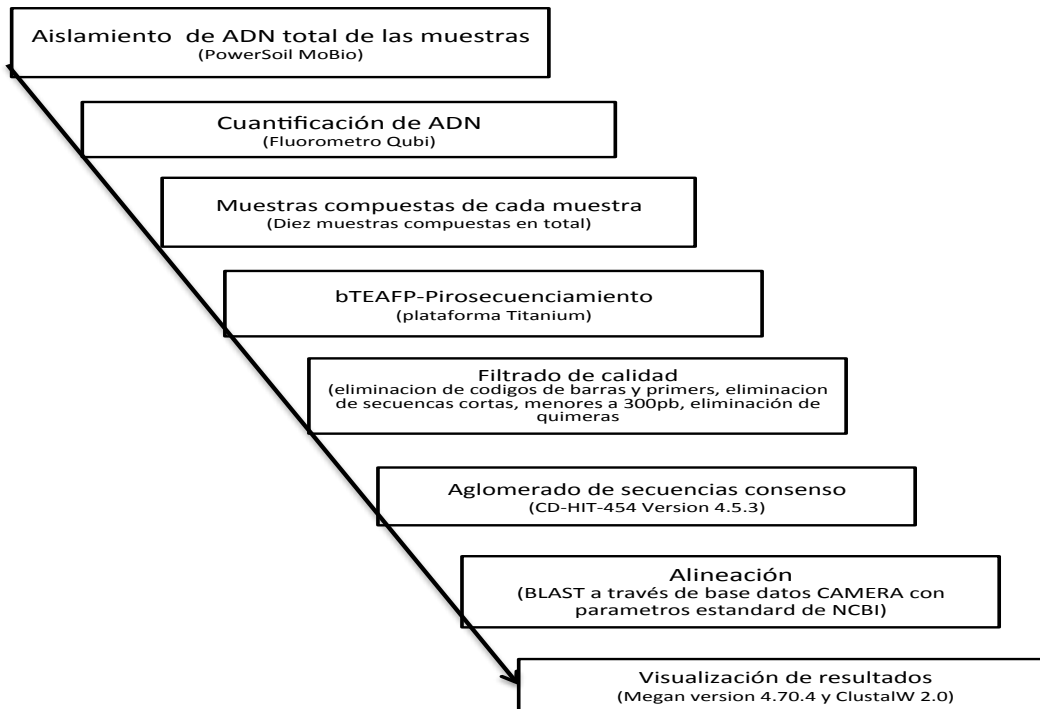


Figura 3. Proceso para análisis bioinformático del microbioma de plantas quenopodáceas de este estudio.

utilizados para evaluar por pirosecuenciación y en el sistema de Electroforesis de gradiente desnaturalizan (DGGE) por sus siglas en inglés.

2.4.1. Extracción y ampliación de ADN total.

Los extractos de ADN total de cada muestra de suelo y hojarasca (litter) fueron utilizados para evaluar por pirosecuenciación y en el sistema de Electroforesis de gradiente desnaturalizan (DGGE) por sus siglas en inglés.

La extracción de ADN total se hizo utilizando el kit de extracción estándar de ADN total (MoBio, Carlsbad, CA). El ADN total fue cuantificado mediante fluorómetro (Qubit) para registrar la concentración y se envió al servicio de pirosecuenciación de la Universidad Estatal de Nuevo México en las Cruces.

2.4.2. Análisis de secuencias por pirosecuenciación

Los datos crudos del pirosecuenciación fTEFAP se analizaron en base a las puntuaciones de calidad y agrupada en las colecciones de muestras individuales. Los archivos en formato FASTA de una sola muestra se combinan en un conjunto de datos y se sometieron a análisis de clusters (CD -HIT -454 4.5.3, Niu *et al.*, 2010), utilizando la infraestructura cibernética Comunidad de avanzada Ecología Microbiana de Investigación y Análisis (CAMERA) portal ([www. Camera.calit2.net](http://www.Camera.calit2.net); Sun *et al.* , 2008). La similitud se basa en un umbral de 99 % de identidad y los parámetros de alineación se dan por defecto (Niu *et al.*, 2010). Esto eliminó las secuencias redundantes. El archivo FASTA resultante contenía las secuencias únicas. Una búsqueda de similitud de secuencias de nucleótidos a través de Mega BLAST lleva a cabo alineando contra la base de datos de secuencia de nucleótidos de microorganismos de CAMERA. Los archivos de salida Mega BLAST se importaron en el MEGAN 4 (Meta Genome Analyzer ; Huson *et al.*, 2011) para visualizar clasificaciones taxonómicas basadas en la taxonomía NCBI. Las secuencias asociadas con clados a nivel de familia que incluyen todos los niveles taxonómicos subordinados eran entonces exportados en archivos FASTA individuales que luego fueron alineados por ClustalW 2,0 (Larkin *et al.*, 2007), integrada en Geneious Pro 5.4.6 (Biomatters Ltd , Auckland, Nueva Zelanda). A continuación, el análisis de árbol de máxima verosimilitud (ML) se preparó para cada nueva alineación empleando el programa PhyML en Geneious Pro 5.4.6, con un modelo de sustitución Jukes -Cantor sustitución y de arranque (100 ciclos) optimizada para la topología de árbol, rama longitud y la velocidad de sustitución de bases (Guindon y Gascuel , 2003). Clados que incluían secuencias similares (sobre

la base de $\leq 3\%$ de pares de bases sustituciones por sitio) para la correspondiente pares de tratamiento (por ejemplo S2, Atca_semilla, Suaeda_semilla) se extrajeron. Secuencias asociadas a estos subtipos que representa secuencias únicas obtenidos de los tratamientos de rizósfera, hojarasca (litter) y semillas se exportan como archivos FASTA y sometidos a MegaBLAST como se describió anteriormente para producir archivos más pequeños, agrupados por taxón los cuales pueden ser individualizados en nuevos archivos. Los archivos FASTA reducidos fueron alineados y se utilizan para producir un nuevo árbol PhyML como se describe.

2.4.3. DGGE

El programa de amplificación del ADN total con los primers de la tabla 2 fueron amplificados con el programa descrito por Lucero (2002), con la acción de cuatro ciclos de desnaturalización alineación y extensión previos al paso final de extensión, para quedar con un total de 29 ciclos. Los primers utilizados fueron 1698F (con un clamp de GC) y 2014R, también se utilizó la Taq polimerasas de la marca Fermentans (Glen Burnie, MD, USA). El PCR se llevó a cabo en un equipo termociclador de la marca Eppendorf.

Tabla 2. Primers utilizados para pruebas de Electroforesis de Gradiente Desnaturalizante

Primer	16S rDNA	Sequence (5' - 3')	Reference
BACTERIA			
F984GC	968-984	GGCACGGGCCGAACGCGAAGAACCCTTAC	Nubel <i>et al</i> , 1996
R1378	1378-1401	CGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACG	Heuer <i>et al</i> , 1997
CYANOBACTERIA			
CYA359F-GC	359-378	GCclamp-GGG GAA TYT TCC GCA ATG GG	Nubel <i>et al</i> 1997
CYA781R	781-805	GAC TAC TGG GGT ATC TAA TCC CAT T	Nubel <i>et al</i> 1997
GC-clamp		CCCCCGCCGCGCGCGGGCGGGGCGGG	Nubel <i>et al</i> , 1996

Los productos de PCR fueron separados por un DGGE utilizando un gel con 6% de poliacrilamida y un gradiente de desnaturalización de 40 a 60% con urea. Se cargó cada muestra sobre el gel y se corrió por 14 hrs a 85 V en amortiguador TAE en el

equipo Bio-Rad D-Code Universal Mutation Detection System. Una vez que culminó la corrida, el gel fue teñido con el método estándar de bromuro de etidio. También se uso teñido con plata y y 4% de glicerol para resguardo del gel en el largo plazo.

2.5. Análisis estadístico

Se usó el programa SPSS 14 para hacer la mayor parte de los análisis. Análisis de varianza de una y dos vías, el análisis de componentes principales, el análisis de conglomerados.

Para el análisis de secuencias se uso el programa PAST y One Codex.

3. RESULTADOS

3.1. Cuenta viable de *Atriplex spp* y *Suaeda spp*

El número de unidades formadoras de colonias presente en el medio de agar dextrosa papa estuvo entre 1×10^4 y 1×10^5 UFC, para las muestras de suelo y para las muestras de hojarasca (litter), de *Atriplex* y de *Suaeda*. Los resultados también muestran que no hay diferencia entre hacer un conteo utilizando medio con sales y sin sales, ya que para ambas especies vegetales el comportamiento es el mismo, no hay diferencia. Para el caso del medio R2A, un medio definido recomendado para bacterias oligotróficas, la cuenta puede oscilar entre 1×10^4 y 1×10^6 UFC, siendo una diferencia menor entre muestras. Tampoco existe diferencia significativa entre las UFC con sales y sin sales (ver figura 2). El medio modificado de casaaminoácidos muestra el mismo comportamiento (datos no mostrados).

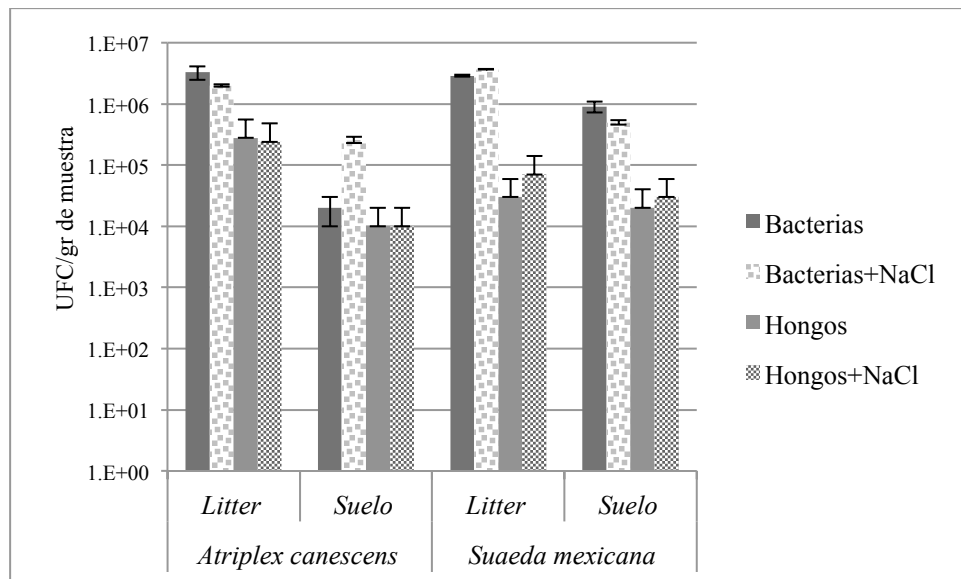


Figura 4. Efecto de 3% de NaCl sobre la recuperación de UFC de bacterias (medio ALP) y hongos (medio PDA) provenientes de suelo rizosférico y hojarasca (litter) de *A. canescens* y *S. mexicana*.

3.2 Efecto del pH y salinidad sobre la recuperación

Para evaluar el contenido de bacterias se utilizó el medio agar-extracto de levadura-peptona de caseína (ALP), el cual fue preparado en dos niveles de pH (7 y 9) y en dos niveles de sales. Se placieron las diluciones de 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} . La mejor fue la última dilución. Las muestras de suelo obtenido directamente de las raíces muestran que las UFC de bacterias son altas en medio a pH 7 con 3% de sales y en medio a pH 9 con 10% de sales. No se observó patrón claro entre el nivel de pH ni el nivel de sal y las UFC.

Este resultado muestra que las bacterias aisladas del suelo rizosférico pueden crecer muy bien a diferente pH y a diferente salinidad, incluso en el medio con los valores extremos de pH 9 y 10% de sal.

En la muestra aislada fuera de la rizósfera, a 15 cm de las raíces, se encontraron que el número más alto de UFC lo tuvieron los medios donde se adicionó 3% de

sales, a pH 7 y a pH 9, pero en el medio adicionado con 10% de sal en ambos casos fue una limitante ya que hubo poco crecimiento.

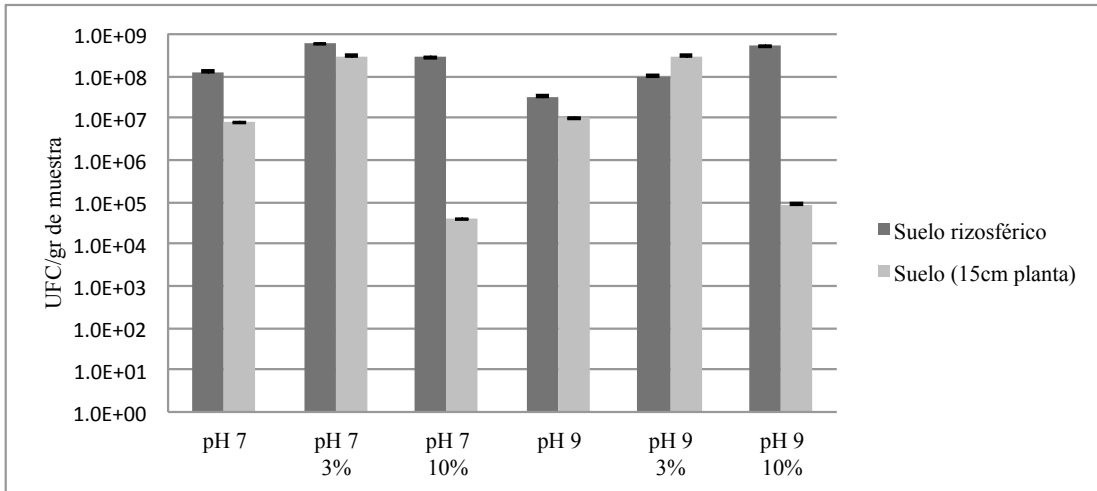


Figure 5. Gráfica comparativa de las UFC de bacterias de suelo aislado directamente de las raíces (suelo rizosférico y de suelo exterior) de *Suaeda mexicana*, con dos niveles de sales (3% y 10% NaCl) y dos niveles de pH 7 y 9

En el medio PDA para crecimiento de hongos encontramos una recuperación menor. La interacción de pH5 y salinidad se evaluó para efectos de recuperación de diversidad cultivable. Para evaluar el contenido de hongos se utilizó el medio agar-dextrosa-papa, el cual fue preparado en dos niveles de pH y en dos niveles de sales (3% y 10% de NaCl). Se plaquearon las diluciones 10^{-2} , 10^{-4} y 10^{-6} . La primera dilución dio resultados incontables. Las muestras de suelo obtenido directamente de las raíces muestran que no existe diferencia entre el contenido de hongos a pH 5 sin sales y con sal al 3%, y disminuye ligeramente el crecimiento en los medios que contenían pH5 con 10% de sales, pH9 sin sales y pH9 con 3% de sales. El crecimiento en pH9 con 10% de sales es muy lento y se contaron pocas colonias. Este resultado muestra que los hongos aislados del suelo rizosférico pueden crecer

muy bien a diferente pH y a diferente salinidad, excepto en el medio con los valores extremos. No hay diferencia entre los cinco primeros tratamientos.

En la muestra aislada fuera de la rizósfera, a 15 cm de las raíces, se encontraron que el número más alto de UFC los tuvieron los medios donde se adicionó 3% de sales, a pH5 y a pH9. Este hecho resalta la salinofilia de algunos hongos aislados de estos suelos. Otro rasgo interesante es el crecimiento en el medio extremo, con la máxima concentración de sal y a pH 9, que es ligeramente más alto que el aislamiento de rizosfera. Al hacer una comparación entre las UFC de suelo rizosferico y del suelo exterior se encuentra que el contenido de hongos en las raíces es mucho más alto.

3.3 Efecto de los medios en la recuperación

La tabla 3 y la figura 6 muestran el efecto de la dilución del medio, el pH y el contenido de sales (NaCl) en la recuperación de microorganismos vivos o cuenta viable (UFC/gr de suelo).

A 4% de sales y un pH neutro (pH 7.2) los medios MCAT, ALP, MR2A y MBHAP, todos produjeron un buen crecimiento colonial. En el medio PDA a pH ligeramente ácido (5.5, el recomendado) no hubo crecimiento, pero sorpresivamente hubo cuenta viable en el mismo medio con 10% de NaCl y pH alcalino (9.3).

Tabla 3. Promedio de las UFC/gr de suelo por combinación de variables

Medio	dilución	pH	%Salinidad	UFC
R2A	1	7.2	4	3.E+05
R2A	1	7.2	10	1.E+04
R2A	1	9.3	4	3.E+05
R2A	1	9.3	10	1.E+04
R2A	0.2	7.2	4	2.E+05
R2A	0.2	7.2	10	1.E+04
PDA	1	6.5	4	0.E+00
PDA	1	6.5	10	1.E+04
PDA	1	9.3	4	5.E+04
PDA	1	9.3	10	1.E+04
PDA	0.2	6.5	4	2.E+04
PDA	0.2	6.5	10	7.E+03
TYA	1	7.2	4	2.E+05
TYA	1	7.2	10	1.E+04
TYA	1	9.3	4	1.E+05
TYA	1	9.3	10	7.E+03
TYA	0.2	7.2	4	5.E+05
TYA	0.2	7.2	10	3.E+04
MCAT	1	7.2	4	3.E+05
MCAT	1	7.2	10	3.E+04
MCAT	1	9.3	4	2.E+05
MCAT	1	9.3	10	1.E+04
MCAT	0.2	7.2	4	2.E+05
MCAT	0.2	7.2	10	1.E+04
MBHAP	1	7.2	4	4.E+04
MBHAP	1	7.2	10	0.E+00
MBHAP	1	9.3	4	1.E+05
MBHAP	1	9.3	10	0.E+00
MBHAP	0.2	7.2	4	4.E+04
MBHAP	0.2	7.2	10	0.E+00

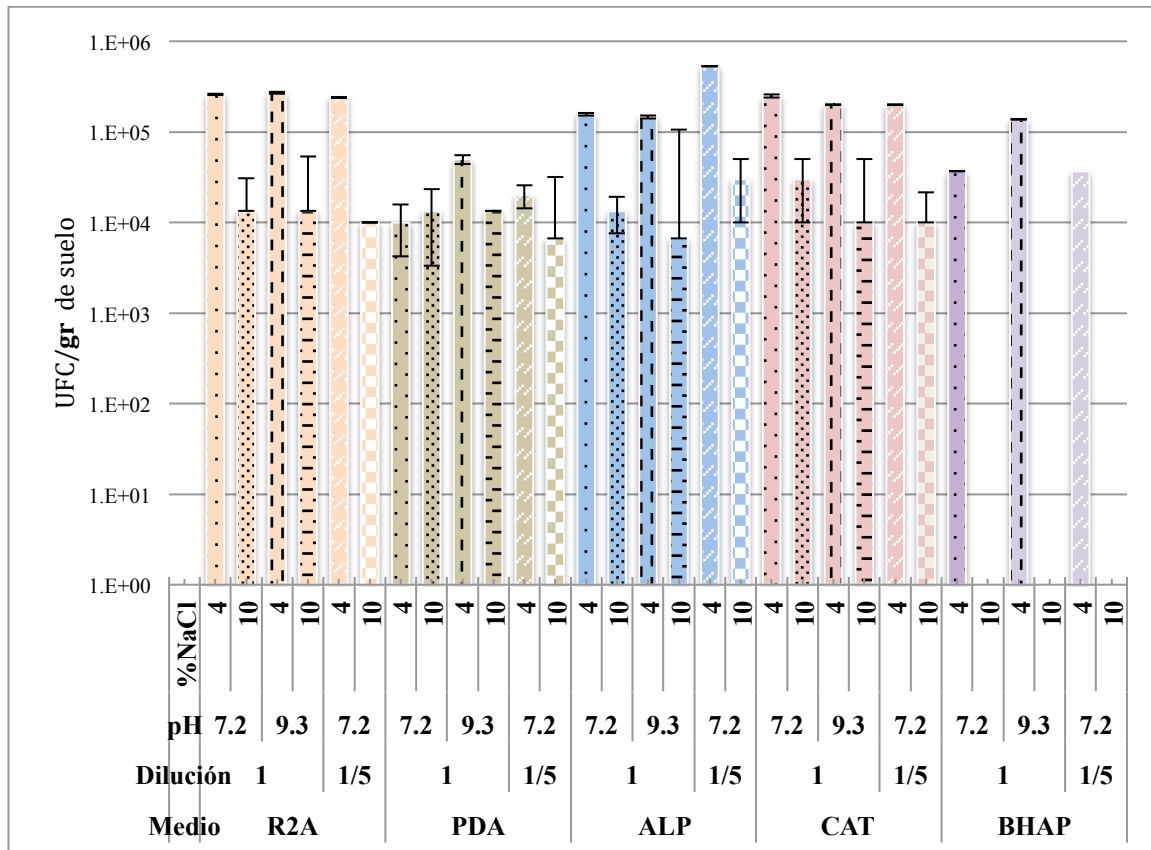


Figura 6. Efecto del medio, de la dilución del medio, el pH y el contenido de sales, en la recuperación de UFC en *Atriplex canescens*

El medio R2A es un medio recomendado para organismos oligotróficos como los encontrados en procesos de potabilización de agua. Aquí encontramos que la cuenta viable en el medio con 10% de NaCl (1.E+04) fue menor que en la de 4% (3.E+E05). Un resultado inesperado fue que el medio diluido cinco veces, presentó una buena recuperación de 2.E+05UFC/gr de suelo (tabla 3). En lo referente al tipo

de medio encontramos que existe diferencia significativa en cuanto a la recuperación microbiana o cuenta viable. La diferencia es significativa ($F=103.52$ y $p=4.29E-08$). Los medios de mejor recuperación a pH neutro son R2A y MCAT, y a pH alcalino es R2A. A pH básico o alcalino de 9.3, el medio R2A resultó el mejor medio para recuperar microorganismos halotolerantes. En cuanto a la dilución de medios también se encontraron diferencias significativas entre los medios ($F=47.65$, $p=1.77E-06$) el mejor es ALP, seguido por R2A y MCAT. El análisis de muestra el análisis de varianza, prueba de Fisher LSD, donde se indican los valores de cada uno de los efectos probados (pH, salinidad y dilución del medio).

La salinidad indica que hay un efecto sobre la cuenta viable en cualquiera de los medios. En los medios completos el valor de $F=19.03$ y la significancia $p= 0.001$. En el medio diluido el valor de $F=14.73$ y el valor de $P= 0.001$.

Cuando la dilución es tomada como una variante dentro de todos los medios no existe diferencia significativa ($F=1.23$, $p=0.27$) en cuanto a la recuperación microbiana en medios diluidos con 4% de sales.

Cuando se evalúa el efecto del pH sobre todos los medios no existe diferencia.

Tabla 4. Análisis de Varianza (ANOVA) del efecto que influencia la recuperación microbiana medida como UFC/gr de suelo. (Fishers LSD test)

EFECTO	VARIABLES	VALOR F	VALOR P	LINEA 1	NIVEL
Medio	Dilución = 1 pH = 7.2 Salinidad = 4%	103.52	4.29E-08	A	R2A
				A	MCAT
				B	TYA
				C	MBHAP PDA
Medio	Dilución = 1 pH = 7.2 Salinidad = 4%	48.12	1.69E-06	A	R2A
				B	MCAT
				C	TYA
				C	MBHAP PDA
Medio	Dilución = 0.2 pH = 7.2 Salinidad = 4%	47.65	1.77E-06	A	TYA
				B	R2A
				B	MCAT
				C	MBHAP PDA
Salinidad	Dilución = 1 pH = 7.2 Todos los medios	19.03	0.0001		
Salinidad	Dilución = 0.2 pH = 7.2 Todos los medios	14.73	0.001		
Dilución	Dilución = 1 Salinidad = 4% Todos los medios	1.236	0.276		
pH	Dilución = 1 Salinidad = 4% Todos los medios	1.236	0.276		
pH	Dilución = 1 Salinidad = 10% Todos los medios	2.56	0.121		

3.4. El rol de los sustratos en el aislamiento de morfotipos

En total se recuperaron 24 morfotipos de la rizosfera de *Atriplex canescens* y otro 4 morfotipos de el hojarasca (litter) de esta planta. De Sueda se recuperaron 16 morfotipos rizosfericos y 9 morfotipos de hojarasca (litter). La mayoría de los aislados son bacterias y solo dos son hongos.

Cada uno de esos morfotipos fue sembrado en veinte diferentes medios con el fin de evaluar la posibilidad de generar un medio óptimo para la recuperación de diversidad microbiana. La tasa de recuperación fue estimada en función del tamaño de la colonia.

Los resultados de *Atriplex*, de los 24 morfotipos rizosfericos, que fueron sembrados en 21 medios diferentes. Se encontró que 16 de estas cepas son capaces de crecer en medio DRBC (agar Dicloran Rosa de bengala Cloranfenicol y tetraciclina).

El crecimiento fue muy variable y lo más relevante son los morfotipos que lograron crecer en los medios con contenido de cloruro de sodio.

La figura 6 y 7 muestra los resultados del análisis de componentes principales (ACP), se representan los morfotipos y los medios que interactúan con ellos, esto quiere decir que los morfotipos están distribuidos según su respuesta a cada medio de cultivo y aquellos medios que más influyen están alejados del centro u origen del plano, ya que este tipo de análisis tiene las características de centralizar el origen en el punto 0 y estandarizar los datos para una mejor comprensión de los mismos.

De acuerdo al gráfico de la figura 6, se encontró lo siguiente:

- Existen medios que tienen muy poco efecto sobre el crecimiento de estos morfotipos que el conjunto marcado en amarillo y con la letra A. No existe un patrón específico, ya que están medios ricos como 1/10ALP , 1/20ALP y 1/5PDA4%, también están medios pobres como 1/10Czapeck4%, 1/50Czapeck4%, 1/5BHAP4% y finalmente medios con altas concentraciones de sales 1/10ALP10% y 1/5R2A10%.

Estos medios podrían descartarse ya que no tienen efecto en la microbiota cultivable de la rizosfera de *A. canescens*.

- El conjunto ubicado en la zona positivo-positivo (círculo azul, letra B) pareciera el de la microbiota con capacidad de utilizar nitrógeno inorgánico, ya que en este grupo está determinado por tres niveles del medio Czapeck y de este grupo parece que el medio 1/10 Czapek es un buen medio que podría representar la respuesta de los demás.

- En la región positivo-negativa tenemos dos conjuntos, el primero ubicado cerca del eje "X" está determinado por el medio 1/5MCAT4% . El otro conjunto (agrupado en elipse azul) agrupa a cuatro morfotipos se encuentra determinado por el medio 1/5R2A 4%, lo que lo hace un buen sistema para aislar la diversidad rizosferica de *A. canescens*.

- En la región negativo-positiva encontramos morfotipos muy dispersos que no tuvieron buen crecimiento en ninguno de los medios. Y en el lado negativo-negativo (círculo azul, letra c) encontramos un grupo de seis morfotipos que tuvieron muy buen crecimiento en todos los medios sin sales, pero las sales afectan su crecimiento.

De los resultados anteriores algunas conclusiones son que no hay un medio único para aislar la mayor diversidad posible y se deben utilizar al medio cuatro medios: 1/5MCAT4%, 1/5R2A4%, 0.1ALP4% y 0.1Czapeck sin sales.

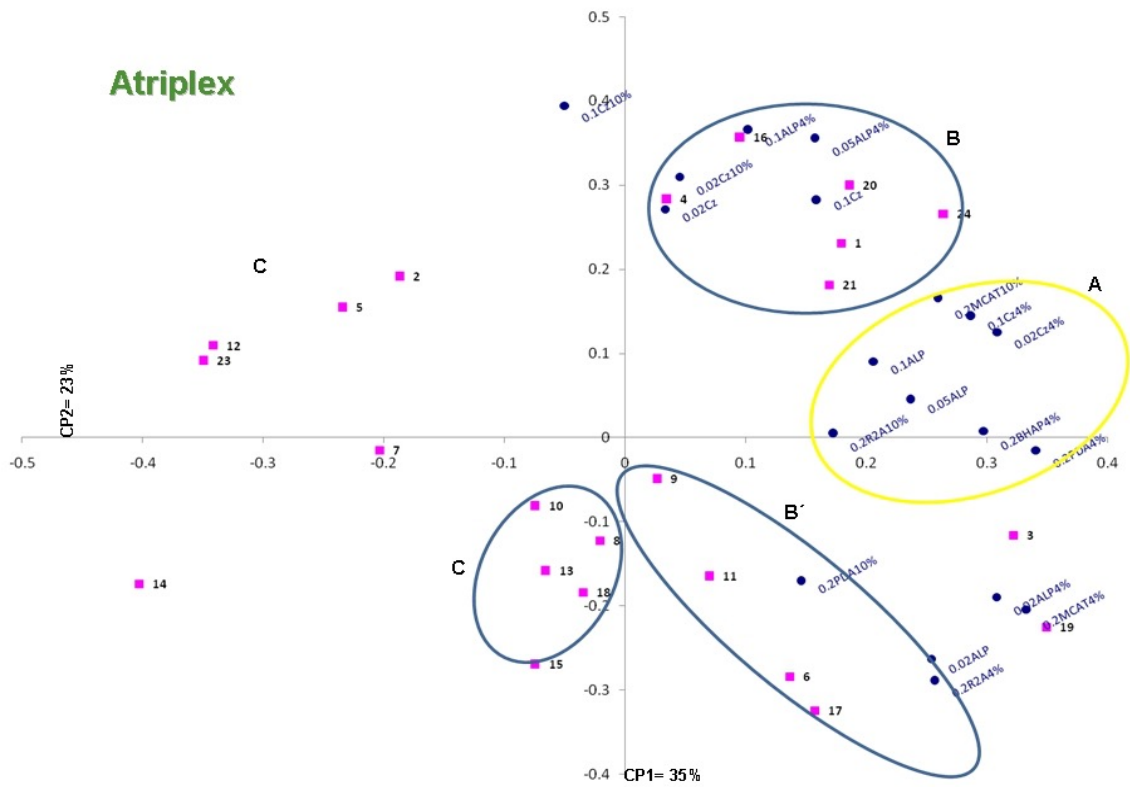


Figura 7. Gráfico ACP con los 24 morfotipos de bacterias aisladas de *A. canescens* representados con cuadrados numerados y los puntos oscuros que respresentan los 20 medios diferentes utilizados. Descripción en el texto.

Por otra parte de los 16 morfotipos aislados de la rizosfera de Sueda mexicana y de estos son nueve los que tienen la capacidad de crecer en medio DRBC. Los morfotipos que lograron crecer con sales son el 1, 4, 5, 7, 12, 14, 15, y 16, en estos suelos encontramos un número mayor de microorganismos capaces de crecer en sales.

Los resultados fueron analizados a través del Análisis de Componentes Principales (ACP), el gráfico de la figura 7 muestra en rosa los morfotipos y en azul los medios en los cuales se evaluó su crecimiento.

- Un primer análisis es que del lado izquierdo del plano se ubican los morfotipos tolerantes a sal y de ese lado se ubica la mayoría de los medios que contienen sales. Del lado derecho se ubican los organismos que no toleran o tienen una tolerancia baja al cloruro de sodio. De hecho los morfotipos que están en la región positivo-negativo, que no se encuentran enmarcados por ningún conjunto son los morfotipos que menos toleran la sal. Por el contrario el morfotipo que se ubica en el extremo izquierdo (morfotipo 4) es el que mejor soporta el contenido de sal, podríamos decir que es salinofílica.

- En la región negativo-positiva (círculo amarillo) están los medios que no ejercen una influencia determinante sobre el crecimiento de los morfotipos, aunque esto no quiere decir que en esos medios no exista crecimiento. Esos medios son el 1/50ALP4%, 1/10ALP4%, 1/50Czapek4%, 1/5R2A4%, 1/20ALP, 1/5BHAP4%, 1/5PDA4% y 1/5MCAT4%. Este grupo de medios son los que se descartan ya que no son determinantes para el crecimiento de ninguno.

- Los dos conjuntos ubicados en la región positivo-positivo es la que está determinada por los medios sin sales y expresamente aparecen son el Czapeck (morfotipo 7 y 12 en la elipse azul punteado) y el ALP (elipse azul), aquí aunque aparecen pocos morfotipos parecen ser los que tienen la capacidad de utilizar el nitrógeno inorgánico.

- En la región negativo-negativo (elipse azul) se encuentran los morfotipos determinados por los medios con altas concentraciones de sales donde los más

determinantes son el 1/5R2A10% y el 1/5MCAT10%, lo que quiere decir que cualquiera de estos medios sería un buen sistema para aislar microbiota salinofílicas.

En el caso de la microbiota rizosférica de *S. mexicana* se puede concluir que para aislar morfotipos halotolerantes no hay un medio único para aislar la mayor diversidad posible y se deben utilizar al medio cuatro medios: 1/10 o 1/50 ALP4%, 1/10Czapeck, 1/5 de R2A o mCAT al 10%.

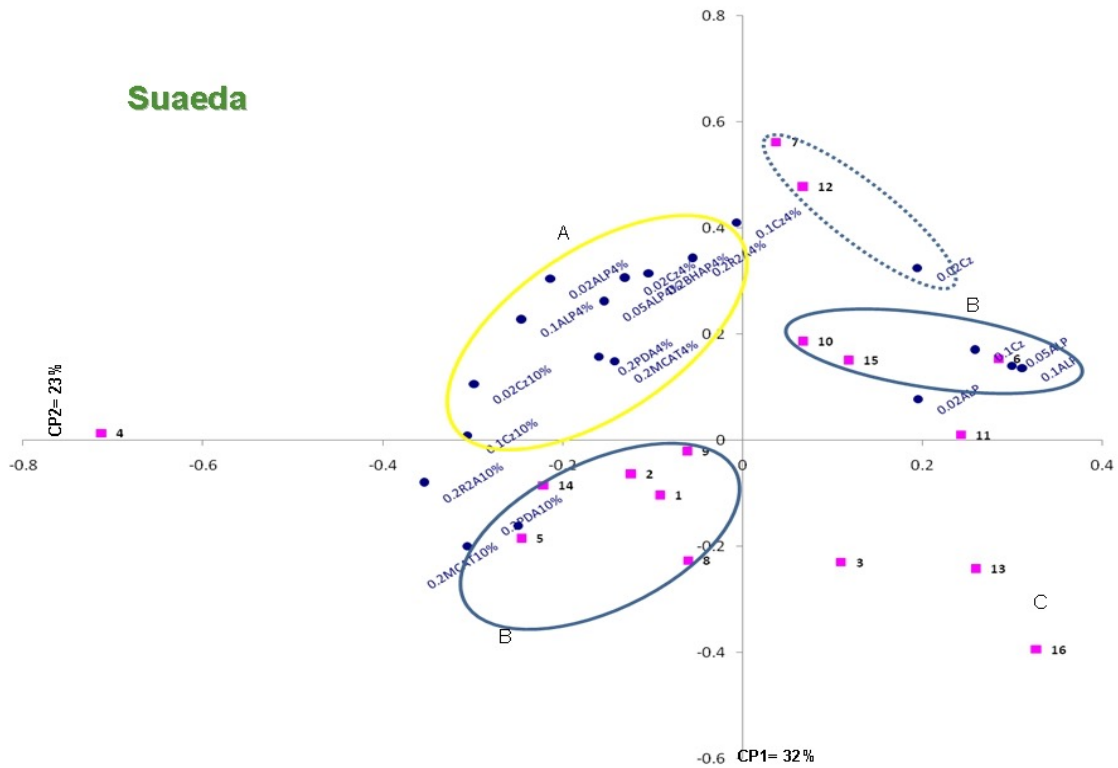


Figura 8. Gráfico ACP con los 16 morfotipos de bacterias aisladas de *S. mexicana* representados con cuadrados numerados y los puntos oscuros que representan los 20 medios diferentes utilizados. Descripción en el texto.

Se realizó un análisis al conjuntar las dos poblaciones con el fin de buscar algún medio que nos permita crecimientos de ambas poblaciones. Igualmente se repite que en el lado derecho se ubican los morfotipos salinofilicos en la región positivo-negativo donde la mayoría son morfotipos aislados de *Suaeda* (no mostrado). En la región positivo-positivo se ubican los morfotipos halotolerantes y los que tienen la capacidad de crecer utilizando fuentes de nitrógeno inorgánico.

3.5 Identificación de morfotipos por secuenciación

Todos los morfotipos recuperados (la diversidad cultivable) responden a la característica de crecer al 4% de NaCl. La comparación de secuencias con la base de datos de NCBI, nos indica que ninguna de las especies se comparten.

Las secuencias recuperadas de cada una de las las clonas provenientes de las muestras de suelo, de hojarasca (litter) y de semillas conforman la comunidad cultivable halofila. Estas secuencias alineadas en la plataforma NCBI generaron la caracterización de cada clona con secuencias de referencia por encima de 96% de identidad como se muestra en la figura 8.

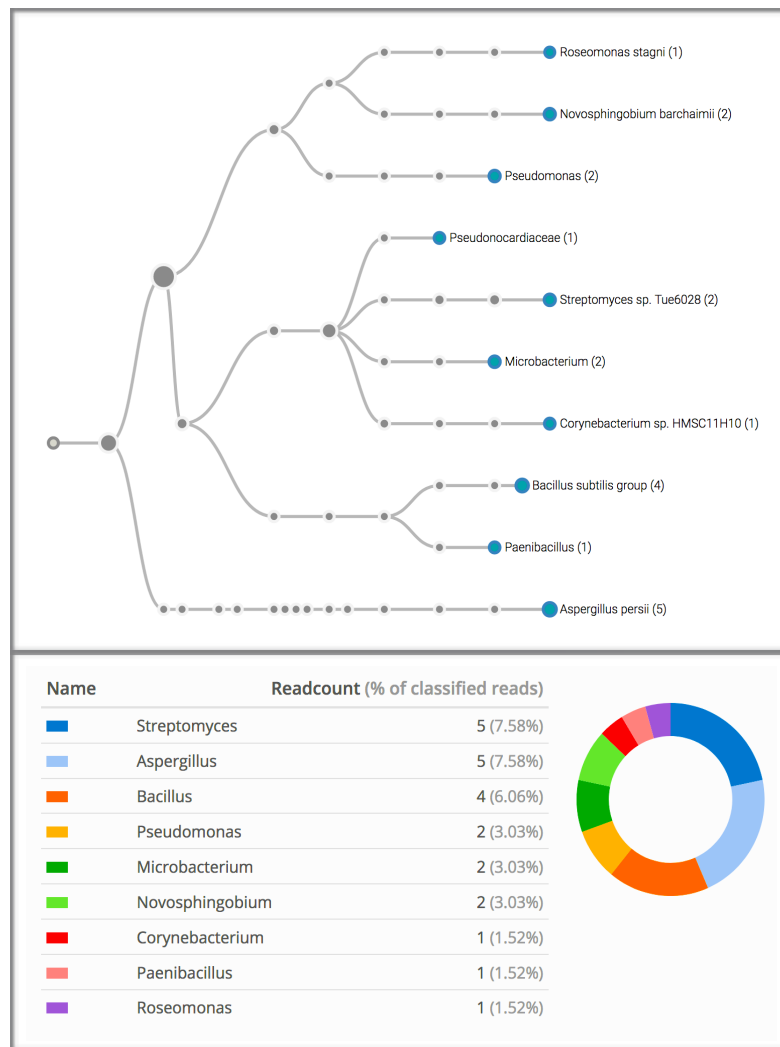


Figura 9. Relación filogenética de la diversidad cultivable halofila y halotolerante de quenopodiaceas *Atriplex* y *Suaeda*. Análisis generado por OneCodex.

En la tabla 5 presenta las especies encontradas en cada una de las muestras. Aquí cabe mencionar que las semillas no tuvieron diversidad halofílica o halotolerante cultivable, es decir ninguna muestra de suelos presentó colonias en la caja petri que pudieran cultivarse o al menos en los medios utilizados no fueron los adecuados para hacer una buena recuperación.

Tabla 5. Diversidad microbiana cultivable halofílica aislada de las quenopodiáceas *Atriplex* y *Suaeda*

Especies	<i>Suaeda</i>		<i>Atriplex</i>	
	rizósfera	litter	rizósfera	litter
<i>Arthrobacter globiformis</i>			X	
<i>Arthrobacter sp.</i>		X		
<i>Bacillus aetrophaeus</i>	X			
<i>Bacillus subtilis, strain 1</i>	X			
<i>Bacillus simplex</i>			X	
<i>Bacillus simplex</i>	X			
<i>Bacillus subtilis</i>	X			
<i>Cellulosimicrobium sp</i>		X		
<i>Microbacterium oxydans</i>			X	
<i>Nocardia sp</i>				
<i>Paenibacillus sp</i>			X	
<i>Promicromonospora sp</i>			X	
<i>Pseudomonas putida</i>				X
<i>Pseudomonas sp</i>		X		
<i>Sphingomonas sp</i>				X
<i>Streptomyces fulvissimus</i>	X			
<i>Streptomyces massasporeus</i>			X	
<i>Streptomyces coelicolor</i>			X	
<i>Streptomyces ochraceiscleroticus</i>			X	
<i>Streptomyces sp, strain 1</i>			X	
<i>Streptomyces sp, strain 2</i>		X		
<i>Streptomyces sp, strain 3</i>	X			
<i>Streptomyces tricolor</i>		X		

3.6 Efecto de las cepas en la promoción vegetal en medio axénico

Cada uno de los morfotipos fue analizado en un bioensayo axénico utilizando una especie mexicana emparentada con las quenopodiáceas estudiadas, por lo que se seleccionó el amaranto. Cada especie bacteriana creció por en medio líquido por 24 hrs y después se inocularon 50ul por planta y se mantuvo en un medio hoaglang ligeramente salino (CE de 0.35, NaCl equivalente a 50mM). A los diez días se evaluó el crecimiento mediante el área foliar y el peso seco (Figura 10). Se evaluó el efecto de la cepas que previamente habían mostrado un efecto positivo sobre plantas de amaranto crecidas en medio salino al 0.5%.

En la tabla 6 se muestran los resultados que de acuerdo a la prueba de Tukey de comparaciones múltiples, el análisis de homogeneidad indica que con un alpha de 0.05 se generan dos subgrupos. El primero agrupado junto con el control a dos cepas que no presentan diferencia significativa que son Atca9 y Atca22. En el segundo grupo se encuentran las cepas que tienen un efecto significativamente positivo sobre el amaranto. La figura 9, muestra solamente a las cepas que potencian el crecimiento evaluado a través de el área, siendo siete las que presentan de acuerdo a la prueba de tukey una diferencia tal, que evidencia el aumento significativo del área foliar con respecto al control.

Se evaluó el efecto de la cepas que previamente habían mostrado un efecto positivo sobre plantas de amaranto crecidas en medio salino al 0.5%. De acuerdo a la prueba de Tukey de comparaciones múltiples, el análisis de homogeneidad indica que con un alpha de 0.05 se generan dos subgrupos. En la tabla 6 se describe la pertenencia a cada grupo.

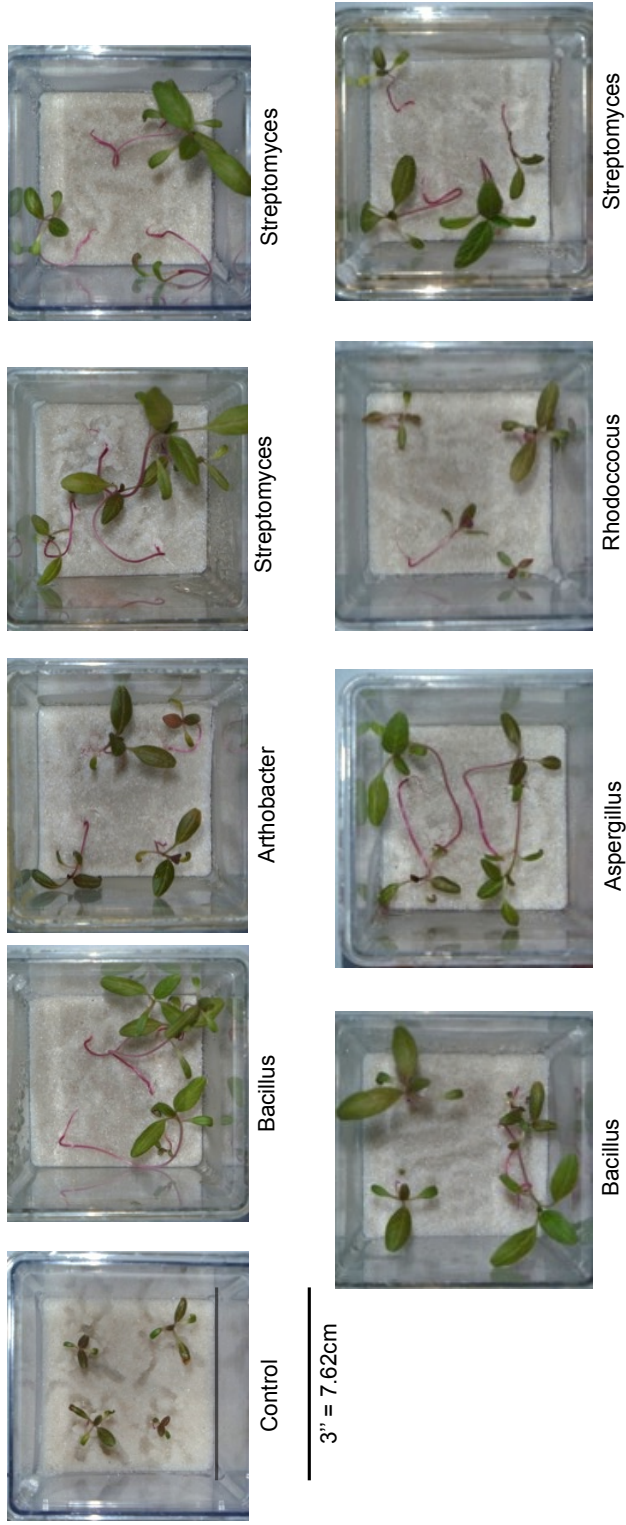


Figure 10. Fotografias que muestran el efecto de cada una de las cepas halófilas seleccionadas sobre Amarantho.

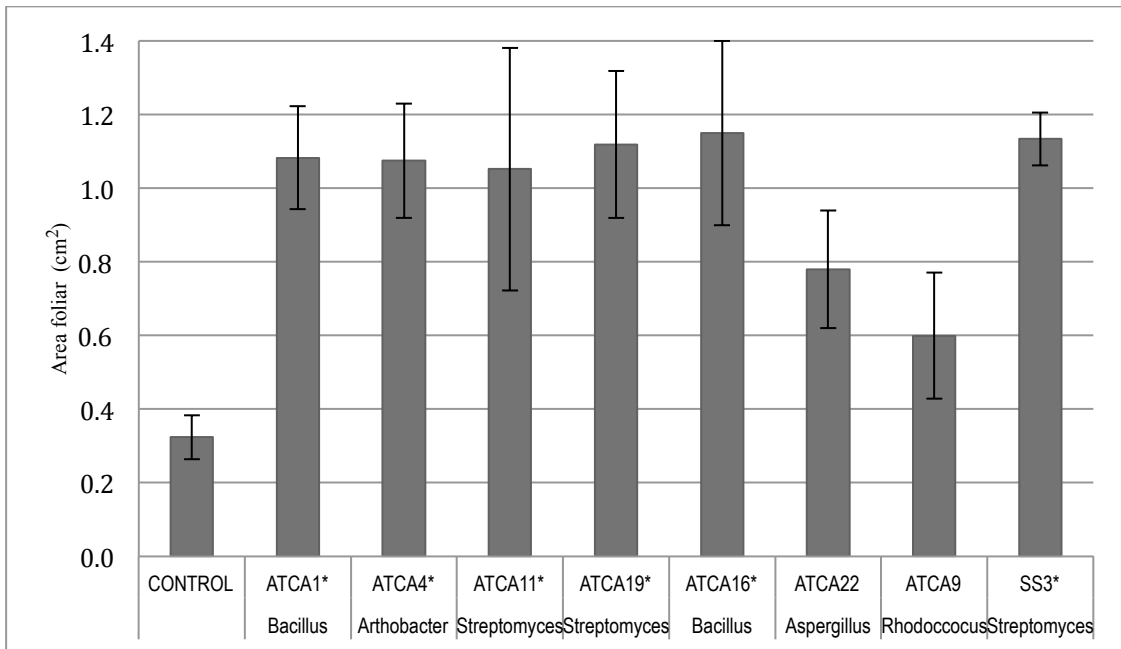


Figura 11. Gráfica que muestra el efecto de las cepas halófilas sobre plántulas de *Amaranto spp.*, crecidas en medio salino (50mM NaCl).

La comparación múltiple de Tukey con 95% de confianza nos muestra un gradiente de respuesta y de diferencias con respecto al control, siendo las cepas Atca16 (sig 0.010), Atca20 (sig. 0.011) y Atca25 (sig. 0.013) las tres cepas con menor diferencia significativa. Por el contrario las cepas con diferencia significativa mayor a 0.05 fueron las cepas Atca22 y Atca9.

Tabla 6. Análisis de conglomerado de Tukey del efecto de las cepas halófilas sobre plantulas de amaranto.

Cepa	Subgrupos alpha = 0.05	
	1	2
Control	0.3235	
atca9	0.5996	0.5996
atca22	0.7794	0.7794
atca11		1.051
atca4		1.074
atca1		1.083
atca19		1.119
atca25		1.132
ss3		1.133
atca20		1.143
atca16		1.149
Sig.	0.50	0.250

Tabla 7. Análisis comparativo múltiple de Tukey (*alpha <0.05)

Cepa	promedio	R
atca1	1.083010834	0.024*
atca4	1.074685763	0.027*
atca11	1.05186327	0.035*
atca19	1.119421738	0.015*
atca16	1.149475481	0.010*
atca25	1.132298843	0.013*
atca22	0.77948259	0.591
atca20	1.143912898	0.011*
atca9	0.59968448	0.947
ss3	1.133799892	0.013*

3.7 DIVERSIDAD NO CULTIVABLE

3.7.1 Microbioma bacteriano

Los productos del PCR, los amplicones del rADN16s de cada una de las muestras de *Atriplex* y de *Suaeda* muestran una marcada diversidad, aunque las curvas de rarefacción tienen saturación. Sin embargo, las curvas de rarefacción están basadas en información taxonómica para organismos encontrados de acuerdo a un buen proceso de alineamiento contra secuencias de referencia. Si la identidad a la cual la

secuencia empata con la secuencia de referencia en más del 96% la designación de especie para esta secuencia fue utilizada.

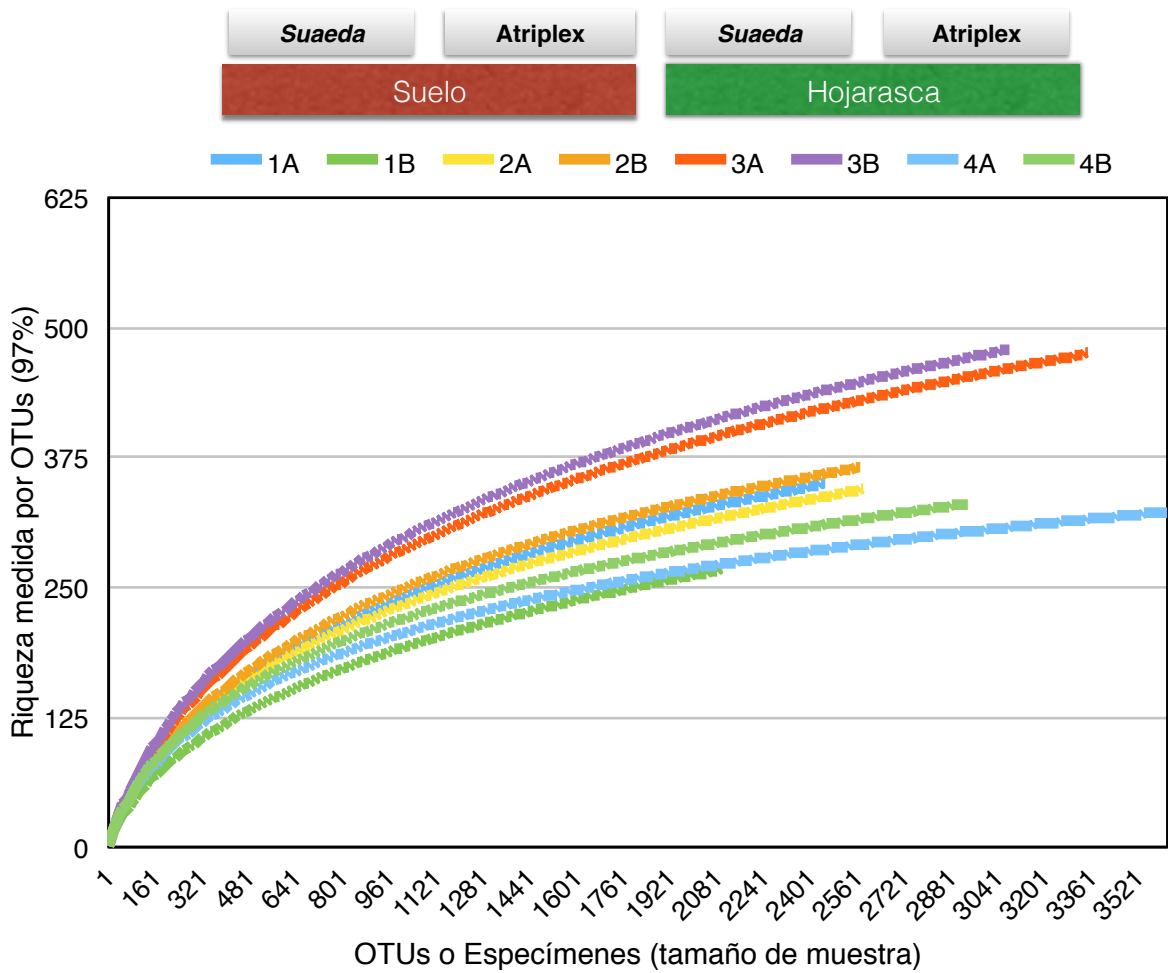


Figura 12. Curvas de rarefaccion del microbioma de *Atriplex* y *Suaeda*, de muestras de rizosfera y hojarasca (litter).

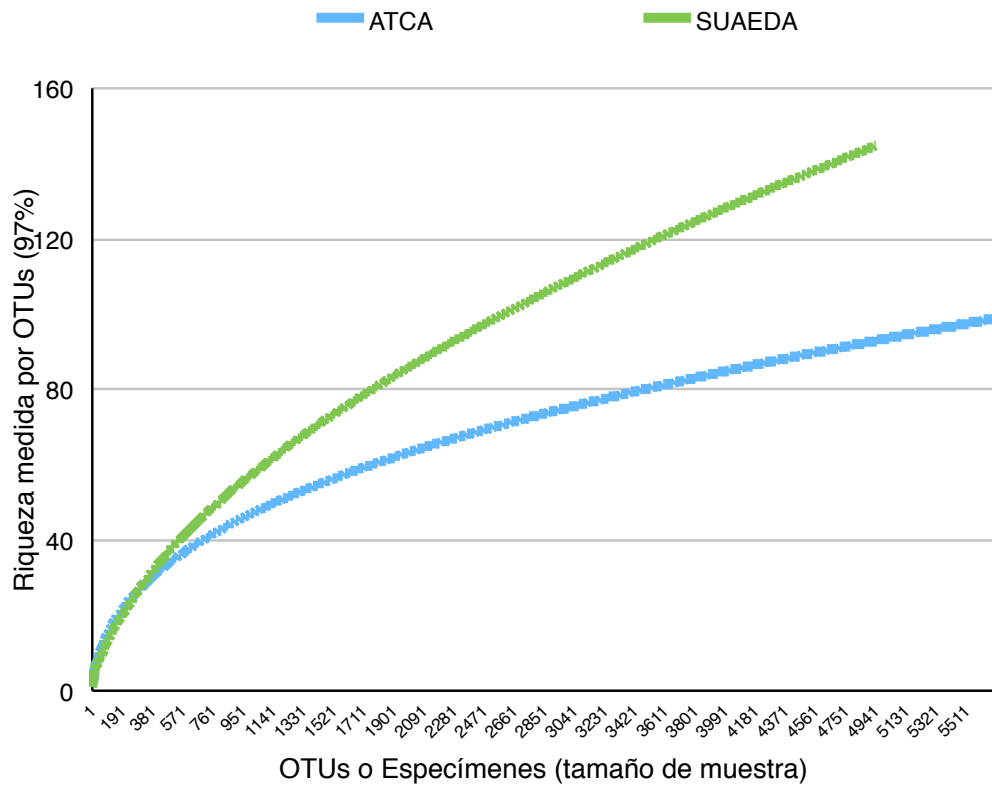


Figura 13. Curvas de rarefaccion del microbioma de semilla de *Atriplex* y *Suaeda*.

Poco más de 40,000 secuencias se obtuvieron de diez muestras analizadas por Secuenciación masivo, donde del 2% al 8% de las secuencias no pudieron ser clasificadas con certeza requerida por lo que su baja similitud en la base de datos de secuencias conocidas del NCBI dejaron fuera esas secuencias no clasificadas.

Las secuencias que se analizaron dieron un primer nivel, el de Phylum, en el cual encontramos que las muestras 1 y 2 pertenecen a suelo rizosférico de *Suaeda* (1A y 1B) y *Atriplex* (2A y 2B); las muestras 3 y 4 pertenecen a la hojarasca (litter o mantillo) y Atca es la semilla de *Atriplex* y *Suaeda* la semilla de esta planta. El análisis a nivel de phylum indica que los phyla actinobacteria y proteobacteria son representativos de las muestras de suelo rizosférico y de hojarasca (litter). Por el contrario, en las semillas el phylum Firmicutes es el más representativo.

Las secuencias analizadas como OTUs (unidad operacional taxonómica) se clasifican de acuerdo con un nivel de similitud mínimo del 85% a nivel de phylum. La muestra con menor número de secuencias fue 1B, suelo rizosférico de *Suaeda spp* (figura 10) y la muestra con mayor número de secuencias fue la muestra de semillas de *Atriplex canescens*.

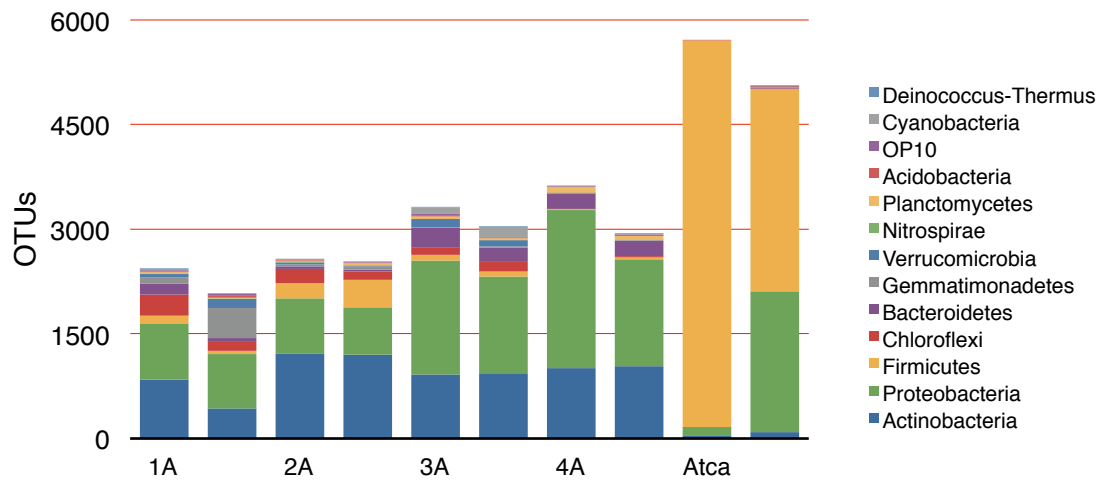


Figura 14. Abundancia total de phylla 1 y 2 = Suelo rizosferico, 3 y 4 = Litter, 1 y 3 = Suaeda, 2 y 4 = Atca, A = epoca lluvias, B = epoca seca

En análisis de abundancia relativa (figura 11) nos indica una uniformidad en las muestras de suelo rizosférico y de litter (mantillo) derivada de la presencia de los Phyla proteobacteria y actinobacteria. Otro dato importante es que el phyla Firmicutes está presente en más del 90% en la semilla de *Atriplex* y en 60% de las muestras de semilla de *Suaeda*, por lo que en este punto podemos medir el movimiento de estos grupos bacterianos en la semilla con una alta abundancia, una menos presencia en el suelo rizosférico y muy escaso en la hojarasca (litter).

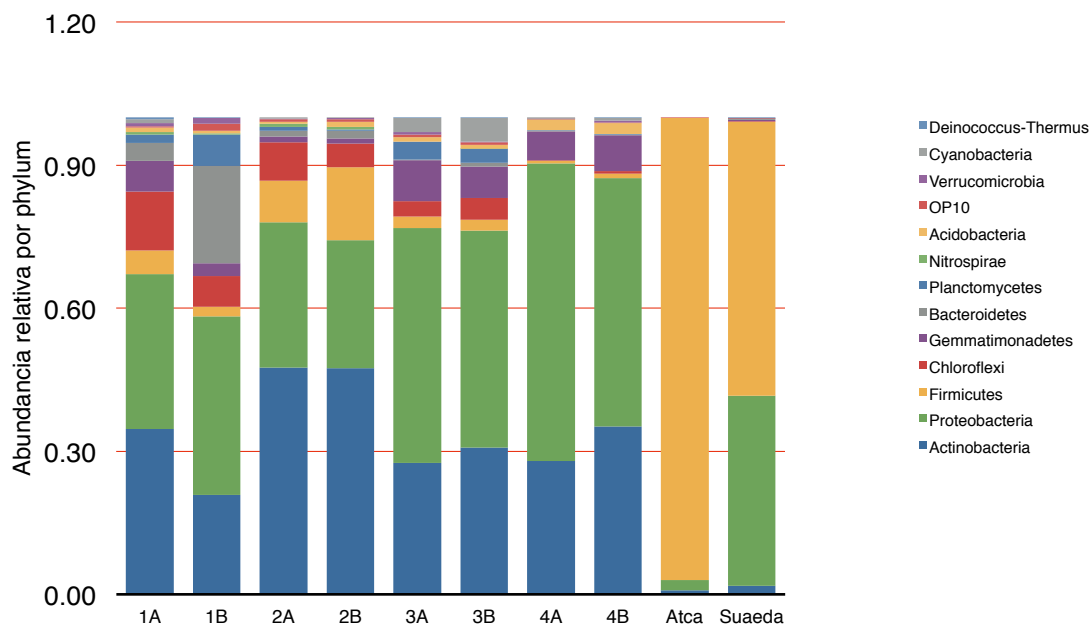


Figure 15. Abundancia relativa de phylum bacteriano de muestras de plantas quenopodiaceas de *Atriplex* y *Suaeda*.

La diversidad bacteriana fue evaluada por 454-pirosecuenciación de genes 16S rRNA. 1 y 2 = Suelo rizosferico, 3 y 4 = Litter, 1 y 3 = Suaeda, 2 y 4 = Atca, A = epoca lluvias, B = epoca seca

3.7.2. Índices de diversidad

El total de unidades taxonómicas con su clasificación y su abundancia de cada muestra se registra en la tabla 8 y permitió el análisis de diversidad bajo diferentes índices.

Table 8. Índices de diversidad derivados de análisis de secuencias

Indices	1A	1B	2A	2B	3A	3B	4A	4B	Atriplex	Suaeda
Taxa_S	350	268	345	366	476	480	323	331	99	145
Individuals	2460	2114	2594	2584	3365	3095	3634	2950	5706	4958
Dominance_D	0.0175	0.0532	0.0163	0.0193	0.0131	0.0108	0.0167	0.0169	0.4969	0.2889
Simpson_1-D	0.9825	0.9468	0.9837	0.9807	0.9869	0.9892	0.9833	0.9831	0.5031	0.7111
Shannon_H	4.83	4.18	4.83	4.83	5.16	5.26	4.73	4.79	1.53	1.78
Evenness_e^H/S	0.3561	0.2444	0.3626	0.3423	0.3668	0.4023	0.3513	0.3625	0.04642	0.0407
Brillouin	4.62	4.00	4.63	4.62	4.95	5.03	4.59	4.61	1.50	1.74
Menhinick	7.06	5.83	6.77	7.20	8.21	8.63	5.36	6.09	1.31	2.06
Margalef	44.7	34.87	43.76	46.45	58.49	59.6	39.28	41.3	11.33	16.92
Equitability_J	0.8237	0.748	0.8264	0.8184	0.8373	0.8525	0.8189	0.8251	0.3319	0.3567
Fisher_alpha	111.5	81.32	106.8	116.4	151.3	159	85.65	95.64	17.02	27.98
Berger-Parker	0.0671	0.2010	0.0625	0.0759	0.0532	0.0446	0.0570	0.0631	0.6991	0.3717
Chao-1	481	403.1	557.2	497	669.2	674.9	404.9	465.6	168.5	303.1

Índices de diversidad derivados de análisis de secuencias en el programa PAST

Los datos de índices de diversidad aportan un mejor conocimiento sobre el microbioma de quenopodiáceas. El número de secuencia por muestra va de 2114 secuencias para la muestra de suelo de *Suaeda* contra 5706 secuencias para la muestra de semilla de *Atriplex*. Se encontró que la muestra con mayor riqueza (S) era las muestras de hojarasca de *Suaeda* con 480 taxones y el menor fue la semilla de *Atriplex* con 99 taxones.

Al comparar la dominancia las muestras que presentan más elevado este índice es la semilla de *Atriplex* con 0.49 y la muestra con menor dominancia son las muestras de hojarasca (litter) de *Suaeda* con 0.010.

El índice de Simpson nos revela la probabilidad de que cierto individuo de la especie esté presente en la muestra que están siendo colectados al azar, por lo tanto, una

probabilidad cercana a la unidad nos indica mayor probabilidad, es decir mayor diversidad. En este sentido el microbioma de las muestras de suelo rizosférico y de hojarasca (litter) son más diversas que el microbioma endófito de las semillas.

3.7.3 Análisis de Clúster

La diversidad beta realizada mediante el análisis de clúster UPGMA, es un método de jerarquización aglomerativa por distancia media para evaluar las diferencias entre el microbioma de cada muestra. En la figura 15 se presenta el dendograma el cual revela una clara separación en cuatro clusters que son:

Cluster 1. Todas las muestras de suelo rizosférico y de hojarasca (litter), excepto la muestra de suelo rizosférico de *Suaeda* en tiempo de secas.

Cluster 2. Microbioma de suelo rizosférico de *Suaeda* en tiempo de secas.

Cluster 3. Microbioma de semilla de *Atriplex*

Cluster 4. Microbioma de semilla de *Suaeda*.

3.7.4 Análisis de diversidad de ATRIPLEX

Realizando un análisis por abundancia encontramos que la rizosfera de *Atriplex* está ampliamente representado por las familias Rubrobacteraceae, Bacillaceae, Caldilineaceae, Streptomycetae que forman el 40% de su población. Encontramos también que un cambio importante en abundancia sucede en la familia Thermoliophilaceae el cual aumenta en época secas, triplicado su población.

El litter u hojarasca está representado por las familias Oxalobacteraceae (de clase Bulkordeliales) que son rizobios, Geodermatophilaceae, Bradyrhizobiaceae, Acetobacteraceae, Rodhobacteraceae.

En la semilla encontramos que el 90% de su población está representada en la familia Bacillaceae, un 8% familia Planococcaceae. Ambas familias pertenecen al orden Bacillales.

3.7.4 Análisis de diversidad de *SUAEDA*

Realizando un análisis por abundancia encontramos que la rizosfera de *Suaeda* está ampliamente representado por las familias *Caldilineaceae*, *Rubrobacteraceae*, *Rodospirillaceae*, *Micrococcaceae* que forman el 40% de su población. Encontramos también que un cambio importante en abundancia sucede en la familia Gemmatimonadaceae el cual aumenta en época secas, quintuplicando su población.

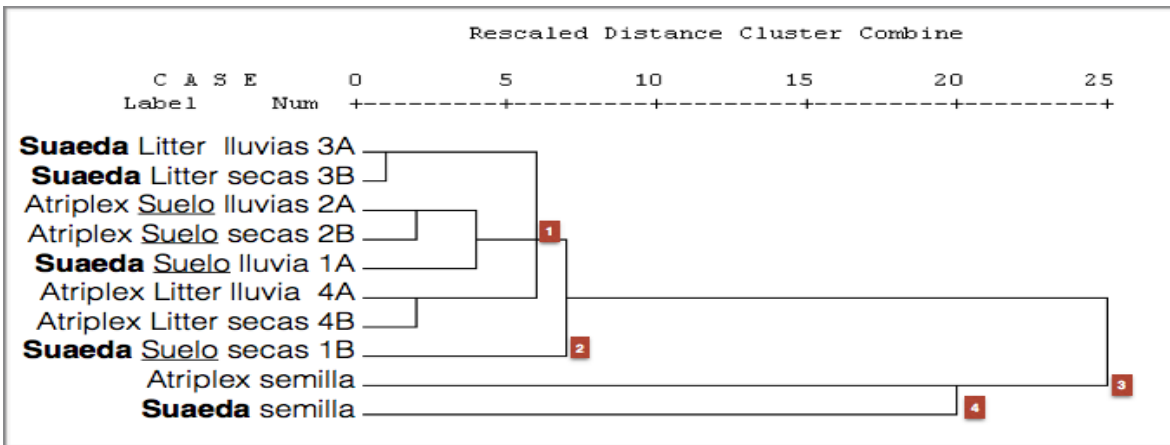
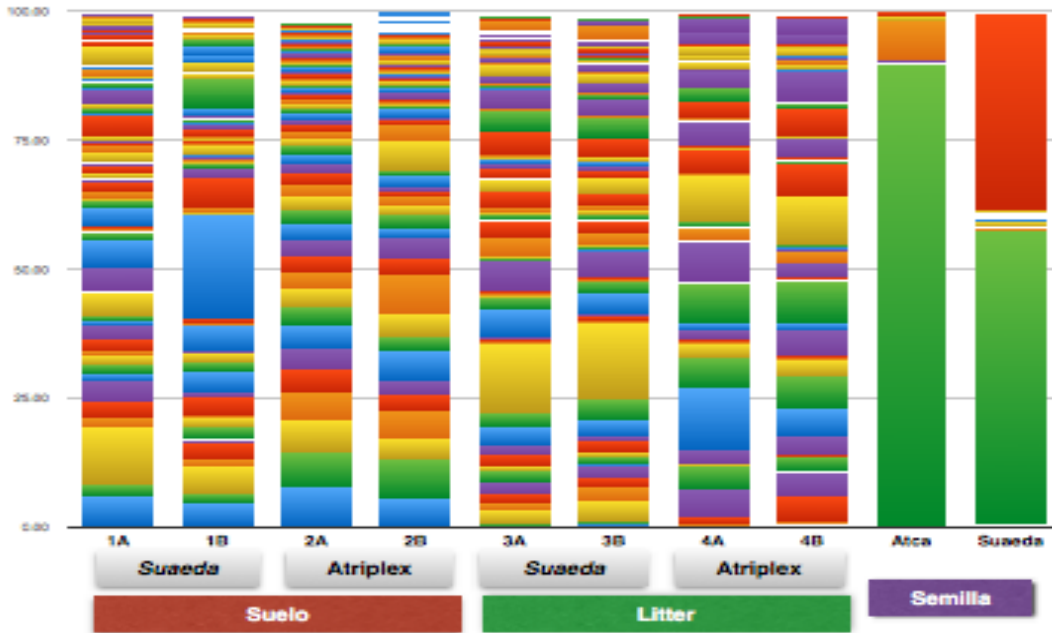
El litter está representado por las familias *Micromonosporaceae*, *Rhodospirillaceae*, *Rhizobiaceae*, *Flexibacteraceae*, *Caulobacteraceae*.

En la semilla encontramos que el 50% de su población está representada en la familia Bacillaceae, un 40% familia Oceanospirillaceae la cual está asociada a ambientes con altas concentraciones de sal, es decir son halotolerantes o halofílicas.

Figura 16 (siguiente hoja). Análisis de diversidad Beta y composición taxonómica del microbioma de rizósfera, litter y semilla de quenopodáceas de *Atriplex* y *Suaeda*.

Abajo: Dendograma a partir de análisis de cluster UPGMA (unweighted pair group metido with arithmetic mean) basado en secuencias 16SrADN. Valores bootstrap por encima del 50% basado en 100 remuestros se muestran en numeral café en las ramificaciones. La escala muestra el grado de disimilitud. Arriba: Abundancia relativa a nivel de familia.

- Listeriaceae
- Bifidobacteriaceae
- Halomonadaceae
- Shewanellaceae
- Gordoniaceae
- Microchaetaceae
- Spirochaetaceae
- Frankiaceae
- Beutenbergiaceae
- Rikenellaceae
- Cellulomonadaceae
- Porphyromonadaceae
- Peptococcaceae
- Sanguibacteraceae
- Nocardiaceae
- Xanthobacteraceae
- Flavobacteriaceae
- Nakamurellaceae
- Syntrophaceae
- Glycomycetaceae
- Erythrobacteraceae
- Alteromonadaceae
- Desulfuromonadaceae
- Thermomonosporaceae
- Methylocystaceae
- Chloroflexaceae
- Oxalobacteraceae
- Sphingobacteriaceae
- Streptosporangiaceae
- Micrococcaceae
- Sphingomonadaceae
- Hyphomicrobiaceae
- Caldilineaceae
- Enterococcaceae
- Anaerolineaceae
- Eubacteriaceae
- Neisseriaceae
- Fusobacteriaceae
- Ruminococcaceae
- Bdellovibrionaceae
- Desulfovibrionaceae
- Hahellaceae
- Coxiliaceae
- Nostocaceae
- Parvularculaceae
- BRC1 (family)
- Pelobacteraceae
- Rickettsiaceae
- Celerintantimonadaceae
- Propionibacteriaceae
- Chromatiaceae
- Nitrosomonadaceae
- Rhodocyceae
- Alicyclobacillaceae
- Geobacteraceae
- Solibacteraceae
- Flexibacteraceae
- Microbacteriaceae
- Methylococcaceae
- Phyllobacteriaceae
- Beijerinckiaceae
- Burkholderiaceae
- Mycobacteriaceae
- Nocardoidaceae
- Conexibacteraceae
- Bacillaceae
- Chitinophagaceae
- Nitriliruptoraceae
- Erysipelotrichaceae
- Chroococcales (family)
- Carnobacteriaceae
- Gracilibacteraceae
- Alcaligenaceae
- Deinococcaceae
- Clostridiales incertae sedis
- Veillonellaceae
- Bacillales incertae sedis
- Actinospicaceae
- Enterobacteriaceae
- Kineosporiaceae
- Cryomorphaceae
- Oscillochloridaceae
- Brucellaceae
- Methylophilaceae
- Tsukamurellaceae
- Cyanobacteria (family)
- Intrasporangiaceae
- Xanthomonadaceae
- Sporichthyaceae
- Myxococcaceae
- Noctuoidea
- Nitrospiraceae
- Cystobacteraceae
- Acidimicrobiaceae
- Paenibacillaceae
- Solirubrobacteraceae
- Polyangiaceae
- Methylobacteriaceae
- Rubrobacteraceae
- Alphaproteobacteria (family)
- Cytophagaceae
- Dermabacteraceae
- Succinivibrionaceae
- Aurantimonadaceae
- Aeromonadaceae
- Herpetosiphonaceae
- Staphylococcaceae
- Moraxellaceae
- Nostocales (family)
- Thermoanaerobacteraceae
- Legionellaceae
- Nannocystaceae
- Puniceococcaceae
- Bacteria (family)
- Acholeplasmataceae
- Verrucomicrobiaceae
- Pseudomonadaceae
- Chthoniobacterales
- Syntrophobacteraceae
- TM7 (family)
- OP10 (family)
- Caulobacteraceae
- Planctomycetaceae
- Sphaerobacteraceae
- Acetobacteraceae
- Ktedonobacteraceae
- Gemmatimonadaceae
- Geodermatophilaceae
- Micromonosporaceae
- Thermoleophilaceae
- Pseudonocardaceae
- Cyclobacteriaceae
- Segniliparaceae
- Bacteriovoracaceae
- Rivulariaceae
- Campylobacteraceae
- Rhodobiaceae
- Chroococcaceae
- Procabacteriaceae
- Oceanospirillaceae
- Oscillatoriaceae
- Prevotellaceae
- Syntrophomonadaceae
- Trueperaceae
- Nocardiopsaceae
- Clostridiaceae
- Promicromonosporaceae
- Thermoactinomycetaceae
- Acidobacteriaceae
- Haliangiaceae
- Planococcaceae
- Ectothiorhodospiraceae
- Rhodobacteraceae
- Acidothermaceae
- Thermomicrobiaceae
- Comamonadaceae
- Actinosynnemataceae
- Opitutaceae
- Rhizobiaceae
- Rhodospirillaceae
- Bradyrhizobiaceae
- Patulibacteraceae
- Streptomycetaceae



Un análisis de componentes principales realizado a las muestras de suelo y litter nos permitió generar un análisis espacial de donde se ubican por su relación en diversidad microbiana cada muestra y las especies más determinantes en cada agrupación. En las muestras de suelo tenemos a la especie *Gemmatimonas aurantica*, *Rubrobacter radiotolerans*, *Levilinea*, *Optus terrae*.

En hojarasca (litter) tenemos a *Balneiomonas*, *Basillia*, *Rhizobium* entre las de mayor peso.

El análisis de componentes principales de la semilla nos permite ver de forma esquemática el peso de especies significativas para cada muestra. El eigenvalor 1 explica el 72.7% de varianza y el eigenvalor 2 explica el 27.9% de la varianza.

Claramente el microbioma de ambas especies esta ampliamente representado por el género *Bacillus*. Las especies más significativas en la semilla de *Suaeda mexicana* son *Bacillus sp.*, *Bacillus gibsonii* y una cepa denominada *Bacillus sp* (ocenospiralles), *Bacillus horikoshi*, *Bacillus maurimartini*, *Paenibacillus sp.*

Por otra parte la semilla de *Atriplex canescens* tiene como especies altamente significativas a *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, *Solibacillus sp.*, *Bacillus thuringensis*, *Planococcus sp.* Una clona con alto peso fue clasificada como *Bacillus sp*, lo cual nos indica que el sistema de clasificación solo pudo llegar a nivel de género para clasificar con el nivel de significancia de 99%.

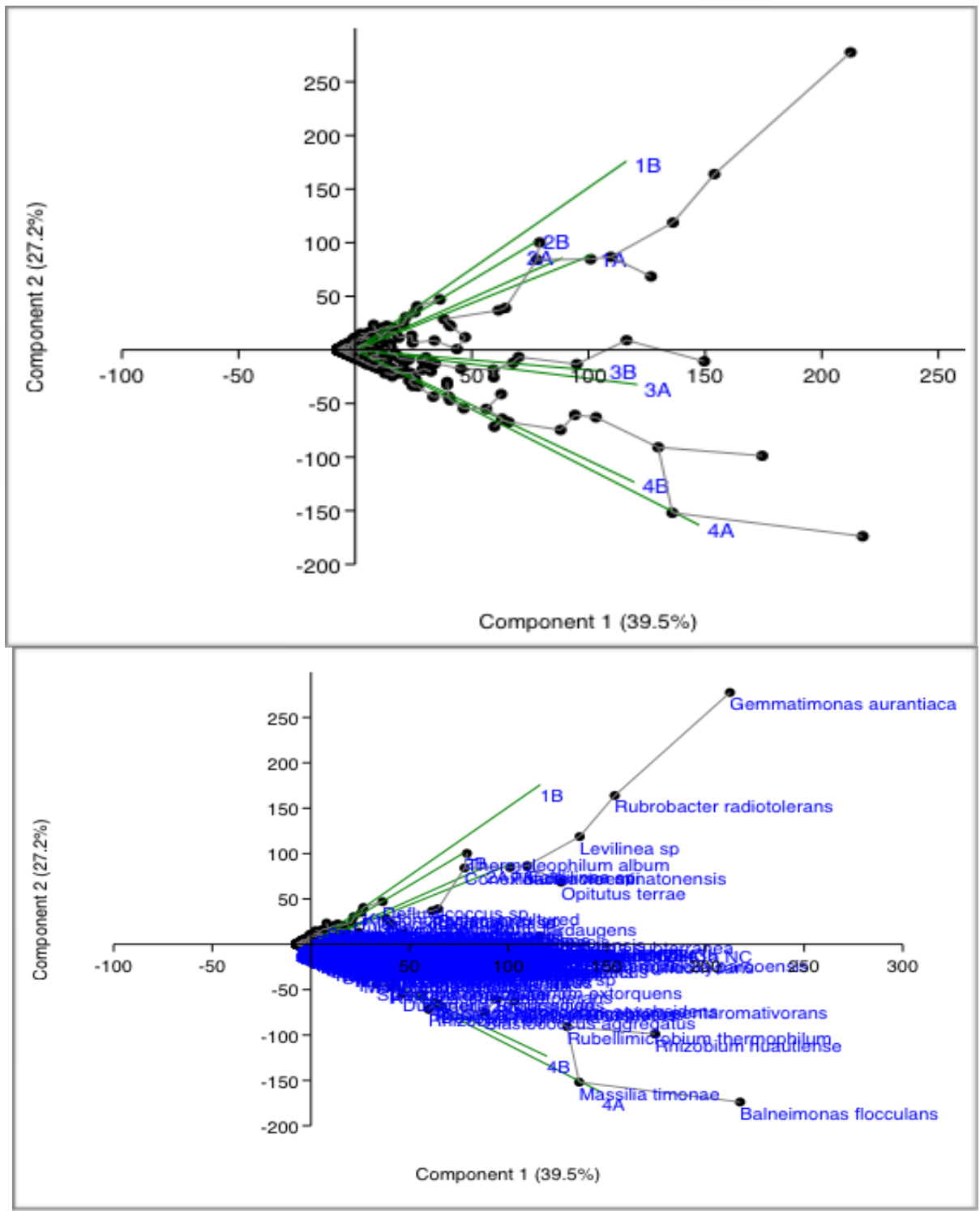


Figura 17. Análisis de componentes principales del microbioma de muestras de suelo rizosferico y de litter de *Atriplex* y *Suaeda*.

3.7.4 DGGE

Los resultados de amplificación (figura 18) indican que en el suelo rizosferico, el primer universal de bacterias esta presente en todas las muestras y es más evidente en época de lluvias. Pero en el caso de cianobacterias el PCR fue escaso y la única muestra que tiene una alta clonación de productos fue el de *Suaeda* en época de lluvias, y es que en estas fechas los suelos se mantienen con alta actividad microbiana.

Para la hojarasca (litter) es evidente que en ambos primers tiene resultados pero en el caso de el primer de cianobacterias es una línea gruesa y oscura, lo que indica una alta concenrracion de productos de clonación.

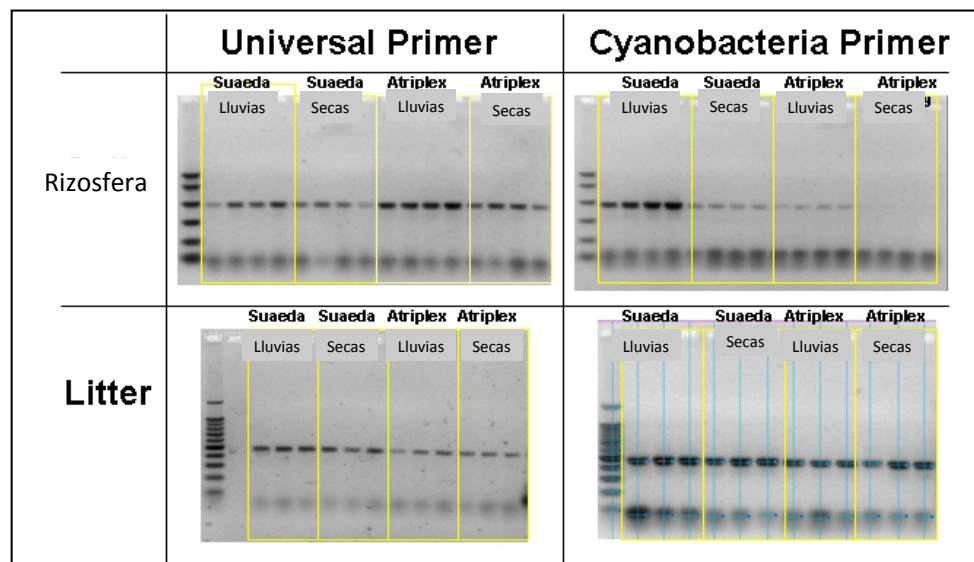


Figura 19. Perfil molecular de productos de PCR obtenidos después de la amplificación de ADN total. La regla molecular indica tamaño de alrededor de 350pb.

Se hicieron diferentes pruebas de separación de los productos de PCR. Se encontró que la mejor separación resultó al 6% de acrilamida y 25-75% en el gradiente. La reducción del TEMED y el persulfato de amonio a concentraciones del 50% con el consecuente tiempo que permita verterlo sin que solidifique antes de terminar el llenado.

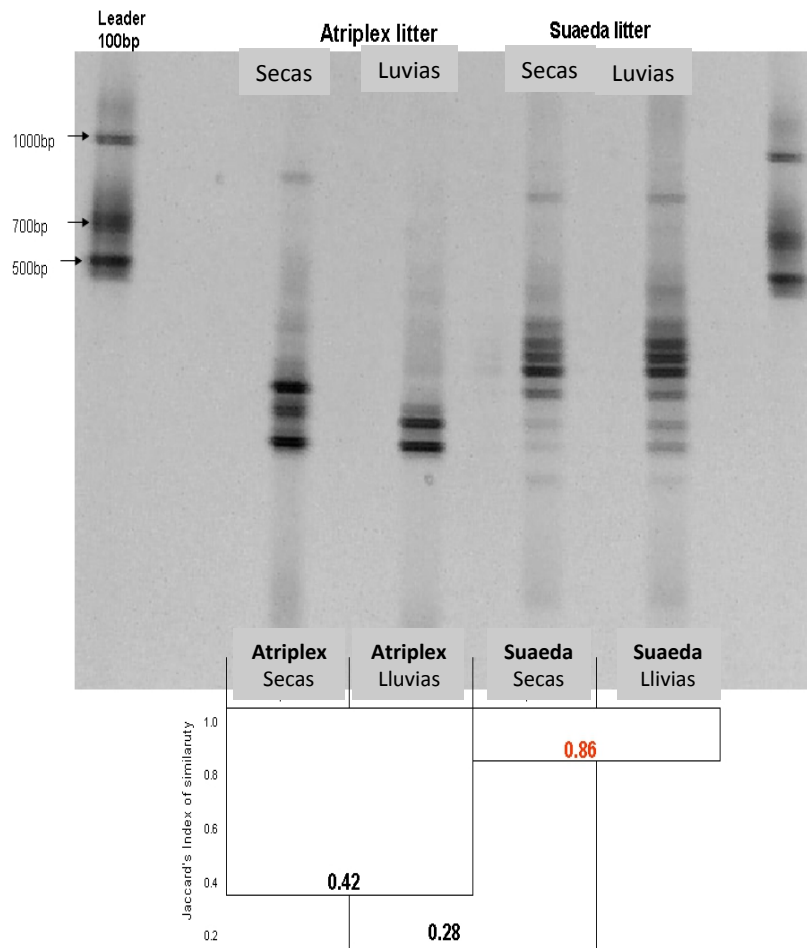


Figura 20. Perfil de DGGE que permite la separación de fragmentos de ADN obtenidos por PCR.

De acuerdo al programa del equipo fotográfico de geles marca Kodak nos permitio revelar 13 bandas de cianobacterias, lo que se debe traducir como 13 genotipos y en cada estación (lluvias y secas) y son 12 las bandas que se comparten.

En cambio en *Atriplex* tenemos 9 bandas, 9 genotipos que se detectan para la época de secas y 11 bandas para la época de lluvias. Se detectaron seis genotipos compartidos.

El análisis de similitud de Jaccard indica que la similitud de *Atriplex* es de 0.43, la similitud en las muestras de Sueda es de 0.86y el índice de acuerdo a Jaccard es significativo ($J+(0.05)=0.61$). Entre las muestras de *Suaeda* y *Atriplex* la similitud es de 0.28, valor que no es significativo.

Análisis comparativo de las diferentes muestras

Se realizó el ejercicio de comparar la diversidad microbiana de acuerdo al tipo de muestra. En la figura 20 se presenta un comparativo de cuatro muestras que son:

- a) Todas las muestras. Se refiere a las muestras de hojarasca y suelo rizosférico de la quenopodaceas analizadas. Se cuenta con 30,000 unidades operativas taxonómicas (OTUs por sus siglas en inglés) que son principalmente Actinobacterias y Bacteroidetes.
- b) En la siguiente columna representa la diversidad cultivable y precisamente es representativa de lo que encontramos en el microbioma donde existe un porcentaje de actinobacteria, un alto porcentaje de bacteroidetes y acidobacteria.
- c) La tercera y cuarta columna corresponde a la diversidad genética de las semillas de Suaeda y Atriplex, la cual es muy específica y en más del 90% asociada a acidobacteria.

Las acidobacterias es uno de los de los phyla más abundante sobre la tierra y por desgracia muy poco descritos por la dificultad de cultivarlos. Las secuencias del gen 16s ARNr fueron obtenidas relativamente de forma reciente en 1993 y asociadas a un nuevo phyla en 1997. Presentan metabolismo amplio en el uso de fuentes de carbono, como es uso de quitina, celulosa, almidon, laminarina y xilano. Así también tienen presencia de exopolisacaridos que les permiten sobrevivir en ambientes extremos.

Derivado de este estudio consideramos que esta es una evidencia de la particularidad en el microbioma que se resguarda en las semillas como fuente de conservación, de dispersión, de una diversidad mínima necesaria para que una vez que la semilla logre germinar se realice lo que se conoce como colonización vertical.

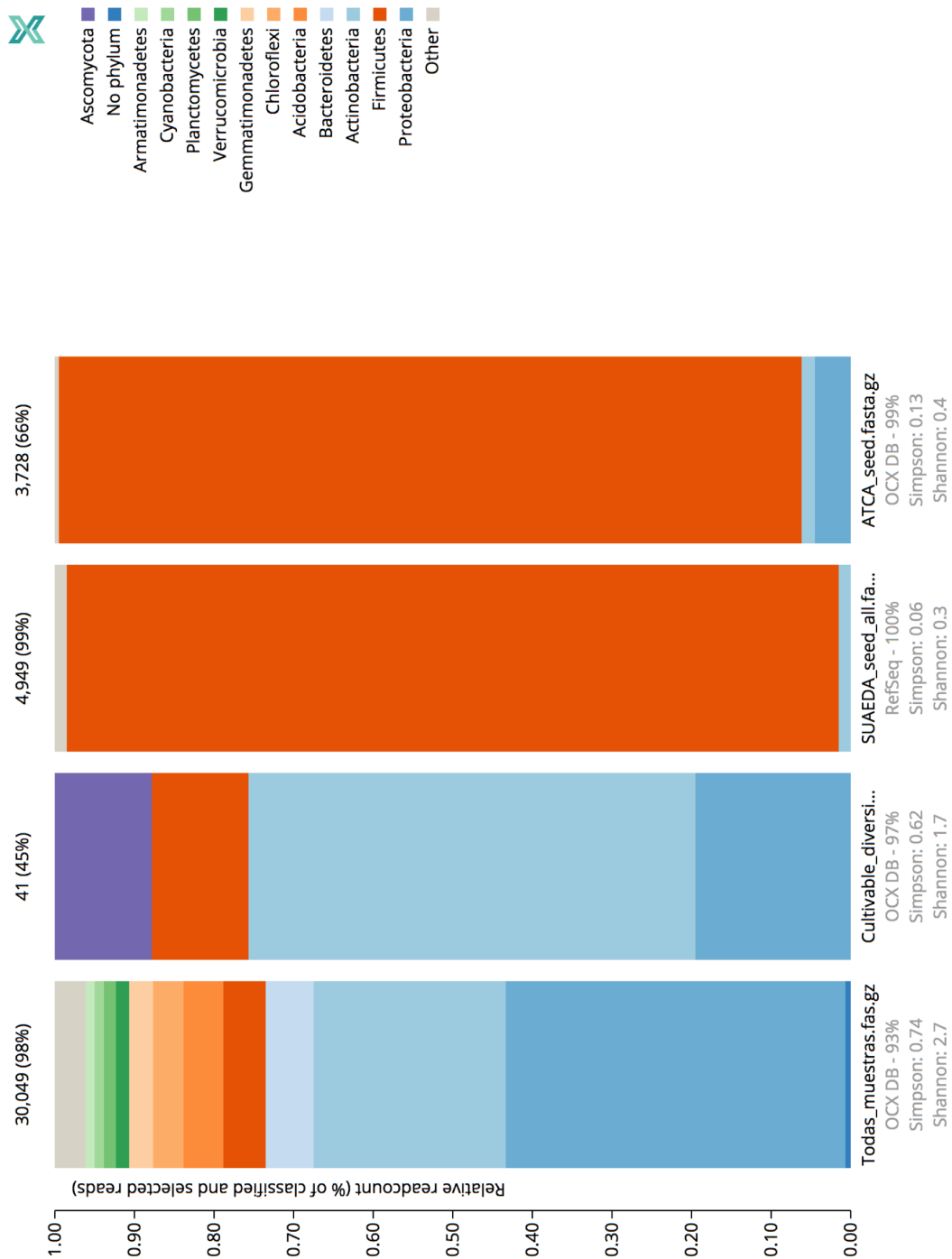


Figura 21. Grafica de la comparación de diversidad microbiana por tipo de muestra

4. DISCUSION

Muchos suelos salinos son el resultado de procesos naturales, los ríos de suelo mexicano y estadounidense muestran un amplio rango de salinidades debido a diferentes características geológicas y propias de los suelos, de su estructura y del grado en que las aguas son influenciadas por la salinidad del subsuelo (Niazi, 2003). Sin embargo, el problema se incrementa cuando el balance natural de la salinidad en el ambiente cambia (Wu, 2001). En regiones áridas y semiaridas, las tierras agrícolas comienzan a hacerse menos productivas debido a la baja precipitación y alta evapotranspiración, y por capilaridad las sales del subsuelo suben a la superficie (Niazi, 2003). Algunas plantas se han adaptado a estos ambientes, la *Suaeda mexicana* (el romerito) y *Atriplex canescens* (chamizo, four-wing saltbush) son ejemplos de como estas especies han logrado desarrollar características metabólicas pero también asociaciones que les permiten tener éxito en estos ambientes (Barrow, 1997), lo cual puede estar ampliamente relacionado con el microbioma salino que les acompaña.

Se ha demostrado que los microorganismos endofitos y epifitos han logrado son capaces de influenciar la sobrevivencia de plantas den ambientes extremos (Lucero, 2008). En la relación planta-microorganismo, bacterias y hongos han sido históricamente tratados como organismos individuales (Berg, 2009). Sin embargo, estudios recientes han descubierto múltiples asociaciones entre plantas individuales, las comunidades naturales de plantas y diversas asociaciones microbianas. Estas asociaciones, muchas veces persisten en sistemas asépticos, en cultivos in vitro, lo cual sugiere una compleja relación que puede ser fundamental para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Lucero *et al.*, 2008)

Algunos de estos microbios se cree que se extienden en la rizósfera y los suelos circundantes, donde pueden interactuar con otros microbios para crear un

microbioma complejo que afecta el funcionamiento de todo el ecosistema (Wakelin, 2008; Lucero, 2014).

Por la capacidad de crecimiento en ambientes extremos (pH de 9 y salinidad de 10%) los microorganismos aislados en este trabajo pudieran considerarse como extremófilos. Una serie de entornos pueden ser considerados extremos, ya sea en términos químicos (pH, salinidad, contenido de agua) o parámetros físicos (temperatura, presión, radiación) (Mohammadipanah, 2015). Los extremófilos se desarrollan para prosperar o aproximarse a los rangos extremos de estos parámetros físico-químicos. Por el contrario, un gran número de microorganismos, conocidos como extremótrofos, pueden crecer pero no se optimizan esencialmente a pesar de condiciones extremas como la disponibilidad de nutrientes diluidos que pueden ser considerados oligotróficos en lugar de oligófilos (Mohammadipanah, 2015) como los que se reportan en este trabajo.

La complejidad de la comunidad microbiana asociada a la rizósfera y los endófitos, así como su identificación ha obstaculizado previamente el estudio del impacto de la diversidad microbiana en plantas de importancia de zonas áridas y semiáridas (Lucero, et al 2011). Por ejemplo las células de microorganismos endófitos son superados rápidamente en número por las células dentro de la comunidad microbiana del suelo la cual es más diversa, resultado que también fue encontrado en este trabajo. En las semillas se encontró una menor diversidad pero una población mayor de microorganismos.

La diversidad, la naturaleza críptica, y características que hacen imposible cultivarse de taxones microbianos asociados a las plantas nos dirigen hacia los enfoques basados en la PCR, mismos que dependen de la extracción exitosa de ADN microbiano a partir de diversos tipos de células, y son propensos a la amplificación sesgada de diversas secuencias (Lucero 2011).

En la relación planta-microorganismo, bacterias y hongos han sido históricamente tratados como organismos individuales (Schardl *et al.*, 2004). Sin embargo, estudios recientes han descubierto múltiples asociaciones entre plantas individuales, las comunidades naturales de plantas y diversas asociaciones microbianas. Estas asociaciones, muchas veces persisten en sistemas asépticos, en cultivos in vitro, lo cual sugiere una compleja relación que puede ser fundamental para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Lucero *et al.*, 2008a; Yuan *et al.* 2010; Lucero *et al.* 2011).

Algunos de estos microbios se cree que se extienden en la rizósfera y los suelos circundantes, donde pueden interactuar con otros microbios para crear un microbioma complejo que afecta el funcionamiento de todo el ecosistema (Rodríguez *et al.* 2008; Raaijmakers *et al.* 2009; Yuan *et al.* 2010; Hardoim *et al.* 2012).

Se cree que todas las especies vegetales albergan endófitos muchos de los cuales son compartidos y transferidos entre las plantas, en sentido horizontal (Saikkonen *et al.* 2004; Gallery *et al.* 2007; Kluger *et al.* 2008), y vertical muchas de las cuales son transmitidas por la semilla, lo que se transfiere de generación en generación y que influyen en la germinación y la adecuación de las plantas (Kremer 1987; Schardl *et al.* 2004; Lucero *et al.* 2008a, 2011; Dalling *et al.* 2011; Johnston-Monje y Raizada 2012; Barrow *et al.* 1997; Barrow *et al.* 2004; Lucero *et al.* 2011).

La complejidad de la comunidad microbiana asociada a la rizósfera y los endófitos, así como su identificación ha obstaculizado previamente el estudio del impacto de la diversidad microbiana en plantas de importancia de zonas áridas y semiáridas (Lucero *et al.* 2008b). Por ejemplo las células de microorganismos endófitos son superados rápidamente en número por las células dentro de la comunidad microbiana del suelo la cual es más diversa, lo cual es un resultado que nuestro estudio confirma.

La diversidad, la naturaleza críptica, y características que hacen imposible cultivarse de taxones microbianos asociados a las plantas nos dirigen hacia los enfoques basados en la PCR, mismos que dependen de la extracción exitosa de ADN microbiano a partir de diversos tipos de células, y son propensos a la amplificación sesgada de diversas secuencias (Lucero 2011). Estas limitaciones explican los retos que hemos experimentado en los intentos anteriores para identificar y monitorear el microbioma asociado a quenopodaceas y como influyen en el crecimiento y la productividad de estas plantas en sus ambientes extremos (Lucero *et al.* 2006; Lucero *et al.* 2008b). Las nuevas herramientas de metagenómica, incluyendo 454- pirosecuenciación son las mejores oportunidades hasta la fecha para la exploración y entendimiento del microbioma y el movimiento vertical a través de genotipos de plantas hospederas.

La reciente aplicación de técnicas de metagenómica en el terreno y en las líneas de plantas halófilas-halotolerantes ha demostrado que las comunidades microbianas asociadas a la planta pueden ser extraordinariamente complejas (Arnold 2002; Arnold *et al.* 2007). Los secuenciadores próxima generación permiten revelar decenas de taxones microbianos en sistemas de plantas micropropagadas, de las cuales se pensaba que sólo contenía algunos endófitos (Lucero *et al.*, 2011). Trabajos recientes han descubierto una amplia información que indica que los hongos asociados a plantas representan muy diversos linajes de hongos, a menudo desconocidas (Arnold *et al.* 2002; Yuan *et al.* 2010). Por ejemplo, al examinar la diversidad y distribución de las comunidades de hongos del suelo en un pastizal semiárido, Porrás-Alfaro y otros (2011) encontraron que aproximadamente el 40 % de las unidades taxonómicas operacionales (UTO) de aislados de suelos rizosféricos de pastos y costras bióticas del suelo se consideran nuevas, en comparación con otras secuencias en NCBI utilizando BLAST. Se ha sugerido que la caracterización de la comunidad fúngica asociada a un amplio rango de hospedadores permitiría una comprensión más profunda de las interacciones dentro de estas comunidades y

revelaría cómo se transmiten estos en la relación planta-microorganismo (Collado *et al.* 2007; Yuan *et al.* 2010; Lucero *et al.* 2011).

5. Conclusiones

Uno de nuestras conclusiones es que como los medios diluidos (oligotróficos) son en los que mejor recuperación de la diversidad encontramos, por ejemplo el medio modificado mCAT. La recuperación de microflora cultivable de muestras de suelo de la rizosfera y de hojarasca (litter) depende de el medio utilizado, de las concentraciones de sal, pero en contraste podemos concluir que no hay influencia del pH para la recuperación de diversidad cultivable proveniente de este tipo de ambientes.

Los microorganismos provenientes de la rizosfera son los que mejor actividad promotora de crecimiento vegetal encontramos en el bioensayo, estos datos que obtuvimos otros autores indican tener resultados parecidos como en Smalla (2001).

Estos experimentos agregan apoyo a la hipótesis de que los microbiomas de plantas adaptadas a ambientes áridos incluyen especies que apoyan el crecimiento de las plantas y que toleran condiciones extremas como la salinidad o el pH alto.

Por otra parte la disminución de los costos asociados con la secuenciación del genoma ofrecen capacidades sin precedentes para el estudio de genes relacionados a la interacción planta-microorganismo lo que permite la oportunidad para la caracterización funcional de los microorganismos de vida libre y los endófitos con el fin de entender más completamente las relaciones verticales y horizontales (Lucero y col . 2011). El microbioma cultivable y los potenciales endófitos que se han aislado de ambientes únicos o extremas a menudo contienen rasgos moleculares que influyen en el rendimiento de plantas en estos ambientes (Barrow 2001; Barrow y Osuna 2002; Lucero *et al.* 2006 , 2008a ; . Yuan *et al.* 2010).

Potencialmente los organismos aislados y los que a futuro puedan ser recuperados de estos ambientes podrían constituir consorcios de microorganismos de vida libre y endófitos demostrado que contribuyen a la planta hospedante a conferir funciones adaptativas que pueden tener aplicaciones en la rehabilitación y restauración, los alimentos y la producción de energía, y la mitigación de los impactos del cambio climático global.

El análisis filogenético de la microbiota cultivable muestra un número importante de clonas del género *Bacillus* y del género *Streptomyces* mismos que están comúnmente asociados con los ecosistemas áridos. La respuesta de las plantas de amaranto crecidas en presencia de un medio salino y de la microbiota cultivable de quenopodiáceas proporciona clara evidencia de que las bacterias pueden ser transferidos a plantas huéspedes no relacionados para mejorar su sobrevivencia en ambientes adversos. Esta evidencia apoya la hipótesis de la transferencia endófito ofrecido para explicar los cambios en la productividad de las plantas observadas siguiendo co-cultivo de diversas especies de plantas reportadas en estudios previos (Lucero et. al, 2006 y 2008a).

Un examen más detallado de la transferencia horizontal de endófitos tiene el potencial para dilucidar la importancia ecológica de la ecología de bacterias y de las interacciones huésped- endófitos para controlar invasión de especies exóticas, la mejora de resistencia de las plantas al estrés biótico o abiótico, o la mejora de las capacidades de las plantas para adaptarse a los cambios en los hábitats. Asimismo, con la pérdida sin precedentes de biodiversidad que muchos ambientes están experimentando ahora , la necesidad de comprender mejor las interacciones planta - medio ambiente y la importancia ecológica que endófitos desempeñan en función de los ecosistemas está aumentando de forma exponencial. La comprensión de cómo los endófitos transferidos confieren sus rasgos de las plantas hospedantes nuevos tiene los posibles problemas ecológicos, ambientales y sociales del puente.

AGRADECIMIENTOS

Especial agradecimiento a la Beca Bourlaug del Departamento de Agricultura de Estados Unidos por el apoyo proporcionado, y al USDA-ARS Jornada Experimental Range para el uso de instalaciones. También recibieron apoyo a través de International Arid Lands Consortium (IALC) Project 09R-05.

CONFLICTO DE INTERESES

Angelica Ruiz-Font declaran que no existe conflicto de intereses. M. Lucero informa sobre un potencial de conflicto de intereses en el sentido de que ella trabaja como consultora privada para productores.

REFERENCIAS

- Arnold, A.E., Maynard, Z., Gilbert, G.S., Coley, O.D., and Kursar, T.A. 2002. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecological Letters*. 3: 267-274.
- Arnold, A.E., Henk, D.A., Eells, R.L., Lutzoni, F., Vilgalys, R. 2007. Diversity and phylogenetic affinities of foliar fungal endophytes in loblolly pine inferred by culturing and environmental PCR. *Mycologia*. 99: 185-206.
- Barrow, J. R. 1997. Natural asexual reproduction in fourwing saltbush, *Atriplex canescens*, (Pursh) Nutt. *J. Arid Environ.* 36:267-270.
- Barrow, J.R., Havstad, K.M., Hubstenberger, J., McCaslin, B.D. 1997. Seed-borne fungal endophytes on fourwing saltbush, *Atriplex canescens*. *Arid Soil Research and Rehabilitation* 11, 307-314.
- Barrow, J.R., P. Osuna-Avila, and I. Reyes-Vera. 2004. Fungal endophytes intrinsically associated with micropropagated plants regenerated from native

- Bouteloua eriopoda* Torr. And *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. In vitro Cell. Dev. Biolo-Plant 40: 608-612.
- Benes, S. E., Aragüés, R., Grattan, S. R., & Austin, R. B. (1996). Foliar and root absorption of Na⁺ and Cl⁻ in maize and barley: Implications for salt tolerance screening and the use of saline sprinkler irrigation. *Plant and Soil*, 180(1), 75-86.
- Berg, G. and K. Smalla. 2009. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology* 68: 1–13.
- Collado, J., Platas, G., Paulus, B., and Bills, G.F. 2007. High-throughput culturing of fungi from plant litter by a dilution-to-extinction technique. *FEMS Microbial Ecology*. 60: 521-533.
- Chapman, V. J. (2013). Salt marshes and salt desert of the world. verlag von.Alemania.
- Dalling, J.W., Davis, A.S., Schutte, B.J., and Arnold, A.E. 2011. Seed survival in soil: interacting effects of predation, dormancy, and the soil microbial community. *Journal of Ecology*. 99: 89-95.
- Fitter, A. H., Gilligan, C. A., Hollingworth, K., Kleczkowski, A., Twyman, R. M., & Pitchford, J. W. (2005). Biodiversity and ecosystem function in soil. *Functional Ecology*, 19(3), 369-377.
- Fredrickson, E., Havstad, K. M., Estell, R., & Hyder, P. (1998). Perspectives on desertification: south-western United States. *Journal of arid environments*, 39(2), 191-207.
- Gallery, R.E., Dalling, J.W., Arnold, A.E. 2007. Diversity, host affinity, and distribution of seed-infecting fungi: A case study with *Cecropia*. *Ecology*. 88:582–588.
- Hardoim, P.R., Hardoim, C.C.P., van Overbeek, L.S., and van Elsas, J.D. 2012. Dynamics of seed-borne rice endophytes on early plant growth stages. *PLoS ONE*. 7: 1-13.

- INEGI. (2003). Recursos Naturales: Uso de suelo y vegetación. México. Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/reclnat/usosuelo/> [Accesado en día 15 de Julio de 2016].
- Johnston-Monje, D. and Raizada, M.N. 2012. Conservation and diversity of seed associated endophytes in *Zea* across boundaries of evolution, ethnography, and ecology. *PLoS ONE*. 6: 1-22.
- Judd, W. S., & Ferguson, I. K. (1999). The genera of Chenopodiaceae in the southeastern United States. *Harvard Papers in Botany*, 4(2), 365-416.
- Kadereit, G., Borsch, T., Weising, K., & Freitag, H. (2003). Phylogeny of Amaranthaceae and Chenopodiaceae and the evolution of C4 photosynthesis. *International journal of plant sciences*, 164(6), 959-986.
- Kluger, C.G., Dalling, J.W., Gallery, R.E., Sanchez, E., Weeks-Galindo, C., *et al.*, 2008. Host generalists dominate fungal communities associated with seeds of four Neotropical pioneer species. *Journal of Tropical Ecology*. 24: 351–354.
- Köberl, M., Müller, H., Ramadan, E. M., & Berg, G. (2011). Desert farming benefits from microbial potential in arid soils and promotes diversity and plant health. *PLoS One*, 6(9), e24452.
- Kremer, R.J. 1987. Identity and properties of bacteria inhabiting seeds of selected broadleaf weed species. *Microbial Ecology*. 14; 29-37.
- Kühn, U., Bittrich, V., Carolin, R., Freitag, H., Hedge, I. C., Uotila, P., & Wilson, P. G. (1993). Chenopodiaceae. In *Flowering Plants· Dicotyledons* (pp. 253-281). Springer Berlin Heidelberg.
- Le Houérou, H. N. (1993). Salt-tolerant plants for the arid regions of the Mediterranean isoclimatic zone. In *Towards the rational use of high salinity tolerant plants* (pp. 403-422). Springer Netherlands.
- Leopold, A. S. (1950). Vegetation zones of Mexico. *Ecology*, 31(4), 507-518.
- Litchfield, C. D., & Gillevet, P. M. (2002). Microbial diversity and complexity in hypersaline environments: a preliminary assessment. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28(1), 48-55.

- Liverman, D. M. (1990). Drought impacts in Mexico: climate, agriculture, technology, and land tenure in Sonora and Puebla. *Annals of the Association of American Geographers*, 80(1), 49-72.
- Lucero, M. E., DeBolt, S., Unc, A., Ruiz-Font, A., Reyes, L. V., McCulley & Samac, D. A. (2014). Chapter 10. Using microbial community interactions within plant microbiomes to advance an evergreen agricultural revolution. In *Sustainable agroecosystems in climate change mitigation* (pp. 27-40). Wageningen Academic Publishers.
- Lucero, M. E., Unc, A., Cooke, P., Dowd, S., & Sun, S. (2011). Endophyte microbiome diversity in micropropagated *Atriplex canescens* and *Atriplex torreyi* var *griffithsii*. *PLoS One*, 6(3), e17693.
- Lucero, M.E., Barrow, J.R., Osuna, P., Reyes-Vera, I., Duke, S.E. (2008). Enhancing native grass productivity by cocultivating with endophyte-laden calli. *Rangeland Ecology and Management*. 61:124-130.
- Matson, P. A., Parton, W. J., Power, A. G., & Swift, M. J. (1997). Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science*, 277(5325), 504-509.
- McKenzie, R. C. (1988). Tolerance of plants to soil salinity. In *Proceedings of the Dryland Salinity Control Workshop*. Alberta Agriculture, Food and Rural Development, Conservation and Development Branch. Calgary, Alberta (pp. 246-251).
- Mohammadipanah, F., & Wink, J. (2015). Actinobacteria from arid and desert habitats: diversity and biological activity. *Frontiers in microbiology*, 6.
- Niazi B.H., I.U. Haq, M. Salim and M. Ahmad. (2003). Use of gypsum to increase fertilizer efficiency on normal soils. *Asian Journal of Plant Sciences (Pakistan)*. 2(9): 573-676.
- Porras-Alfaro, A., Herrera, J., Natvig, D.O., Lipinski, K., and Sinsabaugh, R.L. 2011. Diversity and distribution of soil fungal communities in a semiarid grassland. *Mycologia*. 103: 10-21.

- Raaijmakers, J.M., Paulitz, T.C., Steinberg, C., Alabouvette, C., and Moëgne-Loccoz, Y. 2009. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant Soil*. 321: 341-361.
- Riesenfeld, C. S., Schloss, P. D., & Handelsman, J. (2004). Metagenomics: genomic analysis of microbial communities. *Annu. Rev. Genet.*, 38, 525-552.
- Rodriguez, R.J., Henson, J., Van Volkenburgh, E., Hoy, M., Wright, L., Beckwith, F., Kim, U.O., and Redman, R.S. 2008. Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *ISME J*. 2: 404-416.
- Ruiz-Font, A., Trejo-Estrada, S., Lucero, M.E. 2010. Microbial diversity of rhizosphere in two saline chenopodiaceae [abstract]. 13th International Symposium on Microbial Ecology, August 22-27, 2010, Seattle, Washington. # 1586576.
- Sánchez-Tizapantzi, G., & Ruiz-Font, A. (2012). Efecto del NaCl y de los termoperiodos sobre la germinación de semillas de *Suaeda mexicana* (Standl.) Standl.(Chenopodiaceae). *Revista Tecnología en Marcha*, 25(3).
- Schardl, C., L., Leuchtman, A., and Spiering, M.J. (2004). Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. *Annual Review of Plant Biology*. 55: 315-340.
- Saikkonen, K., Wäli P, Helander, M., and Faeth, S.H. (2004) Evolution of endophyteplant symbioses. *Trends in Plant Science*. 9: 275–280.
- Smalla, K., Wieland, G., Buchner, A., Zock, A., Parzy, J., Kaiser, S., ... & Berg, G. (2001). Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. *Applied and environmental microbiology*, 67(10), 4742-4751.
- Trejo Vázquez, I. (1999). El clima de la selva baja caducifolia en México. *Investigaciones geográficas*, (39), 40-52.
- Valdés, J., & Flores, H. (1986). Las gimnospermas en la flora halofila y gipsofila de Mexico.(Gymnosperms in the halophyte flora and gypsophyte flora of Mexico.). *An. Inst. Biol. Univ. Nac. Auton. Mex., Bot*, 57(1), 45-58.

- Wakelin, S. A., Macdonald, L. M., Rogers, S. L., Gregg, A. L., Bolger, T. P., & Baldock, J. A. (2008). Habitat selective factors influencing the structural composition and functional capacity of microbial communities in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(3), 803-813.
- Wu, L., Guo, X., & Harivandi, A. (2001). Salt tolerance and salt accumulation of landscape plants irrigated by sprinkler and drip irrigation systems. *Journal of Plant Nutrition*, 24(9), 1473-1490.
- Yuan, Z., Zhang, C., and Lin, F. 2010. Role of diverse non-systemic fungal endophytes in plant performance and response to stress: progress and approaches. *Journal of Plant Growth Regulation*. 29: 11-126.

CAPÍTULO 4

Este capítulo 4 está conformado por la traducción al español del capítulo titulado:

USING MICROBIAL COMMUNITY INTERACTIONS WITHIN PLANT MICROBIOMES TO ADVANCE AN EVERGREEN AGRICULTURA.

El documento original puede encontrarse en el siguiente link bajo el marco *open access*:

Repository Citation Open Access

Lucero, M. E.; Debolt, Seth; Unc, A.; **Ruiz-Font, A.**; Reyes, L. V.; McCulley, Rebecca L.; Alderman, S. C.; Dinkins, R. D.; Barrow, J. R.; and Samac, D. A., "Using Microbial Community Interactions within Plant Microbiomes to Advance an Evergreen Agricultural Revolution" (2014). Plant and Soil Sciences Faculty Publications. 41.

https://uknowledge.uky.edu/pss_facpub/41

This Book Chapter is brought to you for free and open access by the Plant and Soil Sciences at UKnowledge. It has been accepted for inclusion in Plant and Soil Sciences Faculty Publications by an authorized administrator of UKnowledge. For more information, please contact UKnowledge@lsv.uky.edu
<https://weblog.wur.eu/openscience/open-access-reuse-rights/>

Uso de las interacciones del microbioma de plantas para promover una agricultura siempre verde.

Resumen

El innovador fitomejoramiento y la transferencia de tecnología fomentaron la Revolución Verde (GR), que transformó la agricultura en todo el mundo al aumentar los rendimientos de cereales en los países en desarrollo. El GR alivió temporalmente el hambre en el mundo, pero también redujo la biodiversidad, el ciclo de los nutrientes y el secuestro de carbono (C) que las tierras agrícolas pueden proporcionar. Mientras tanto, la disparidad económica y la inseguridad alimentaria dentro y entre los países continúan. Los avances agrícolas posteriores, centrados en objetivos como aumentar los rendimientos de los cultivos o reducir el riesgo de una plaga específica, no han logrado satisfacer las demandas de alimentos a escala local o restaurar los servicios perdidos de los ecosistemas. Un aumento en la población humana, el cambio climático, la creciente demanda per cápita de alimentos y energía, y la reducción del potencial de los ecosistemas para proporcionar servicios agrícolas relevantes han creado una necesidad implacable de mejores prácticas de producción de cultivos. Satisfacer esta necesidad de manera sostenible requerirá enfoques interdisciplinarios que integren la ecología microbiana y de las plantas con los esfuerzos para avanzar en la producción de cultivos mientras mitigan los efectos de un clima cambiante. Los avances metagenómicos están revelando dinámicas microbianas que pueden mejorar simultáneamente la producción de cultivos y la restauración del suelo al tiempo que mejora la resistencia de los cultivos al cambio ambiental. Restaurar la diversidad microbiana a los agroecosistemas contemporáneos podría establecer servicios ecosistémicos y reducir los costos de producción para los productores agrícolas. Nuestro marco para examinar las interacciones planta-microbiana a múltiples escalas, modelar los resultados para explorar ampliamente los impactos potenciales, e interactuar con las

redes de extensión y capacitación para transferir tecnologías agrícolas basadas en microbios a través de escalas socioeconómicas, ofrece una estrategia integrada para promover la sostenibilidad del agroecosistema y al mismo tiempo minimizar el potencial de tipo de retroalimentación ecológica y socioeconómica negativa que ha resultado de muchas tecnologías agrícolas ampliamente adoptadas.

Palabras clave: revolución verde, microbioma, metagenómico, agricultura sostenible.

1. Introducción

Entre 1940 a 1970 las innovaciones en genética vegetal y las prácticas agronómicas establecieron la llamada Revolución Verde (RV), la cual aumentó la producción de cultivos en todo el mundo y aceleró el desarrollo de la agricultura industrializada (Ortiz *et al.*, 2007; Stanger y Lauer, 2008). El beneficio general de las prácticas agrícolas resultantes y sus impactos tanto en la seguridad alimentaria como en la salud ambiental se han debatido durante décadas. Aunque la pérdida de la diversidad de microorganismos asociada con los agroecosistemas como resultado de las prácticas agrícolas industrializadas no ha sido un foco principal en este debate. Recientemente, los avances en metagenómica, la secuenciación de ADN de muestras ambientales no cultivadas, profundizaron la conciencia de que complejas comunidades microbianas interactúan con las plantas para promover el crecimiento. La nueva comprensión de esta interdependencia entre las plantas y los microbiomas proporciona evidencia de que restaurar la diversidad microbiana en los agroecosistemas es crucial para mitigar los impactos del cambio climático para lograr la sostenibilidad agrícola y la seguridad alimentaria.

En éste capítulo, revisaremos los resultados de los recursos genéticos y otros componentes de la agricultura industrializada que han reducido la sostenibilidad del

agroecosistema. Resaltaremos las complejidades de los agroecosistemas que desafían los esfuerzos contemporáneos para aumentar la seguridad alimentaria y la sostenibilidad a través de tecnologías mejoradas de producción de cultivos. Discutiremos la necesidad de abordar esta complejidad con esfuerzos multidisciplinarios que consideren los impactos en diversas escalas espaciales, temporales y socioeconómicas para desarrollar tecnologías diversas y apropiadas que hagan que la agricultura sea social, económica y ambientalmente sostenible. Finalmente, destacaremos el potencial de las tecnologías basadas en microorganismos para contribuir a tales esfuerzos de una manera que tenga un impacto beneficioso tanto en la mitigación del cambio climático como en la sostenibilidad del agroecosistema.

2. Los avances de la Revolución Verde

Los avances tecnológicos de la Revolución Verde dieron como resultado combinaciones genéticas de plantas que respondieron a insumos químicos para lograr alta productividad y rendimientos. La implementación en México transformó al país de una nación importadora de trigo a una nación exportadora de trigo. Esto llevó a India, Pakistán y Turquía a importar germoplasmas y tecnologías para trigo de México. El éxito revolucionario en estos países se atribuyó no solo a los avances técnicos en nutrición y genética de las plantas, sino también a la coordinación estratégica de los factores sociales y económicos. Este esfuerzo coordinado, descrito como la estrategia de lanzamiento (Borlaug y Aresvik, 1973), se implementó en naciones amenazadas por la hambruna en la década de 1960.

Fueron tres componentes involucrados en la RV:

1. La distribución de germoplasmas de trigo seleccionados;
2. La transferencia de la tecnología vía campos demostrativos en los que a partir de fertilizantes químicos y cultivares de granos híbridos se hacía visible la

innovación para los productores locales, planificadores, funcionarios del gobierno y científicos;

3. Apoyos de precios gubernamentales que aseguraron la rentabilidad de las nuevas prácticas.

India, Pakistán y Turquía vieron que la producción de trigo se duplicó cada cinco años después de adaptar las variedades mexicanas de trigo (Ortiz *et al.*, 2007). Los poderosos efectos beneficiosos que se produjeron apoyaron el Premio Nobel de la Paz para Norman Borlaug en 1970 y contribuyeron a una transformación global de las prácticas agrícolas.

Los logros obtenidos a través de la esperanza inspirada en los recursos genéticos de que las tecnologías para aumentar el rendimiento de los cultivos terminarían, o al menos reducirían, el hambre en el mundo, pero desafortunadamente, esta promesa de la RV no se realizó de manera uniforme o sostenible. El hecho de no reducir de manera sostenible el hambre, a pesar del aumento de la producción y el avance tecnológico continuo, puede atribuirse a una multitud de factores socioeconómicos, políticos y ambientales complejos que interactúan a través de escalas y disciplinas para influir negativamente en la distribución geográfica de los alimentos y su utilización (Figura 21). Borlaug citó el crecimiento de la población y la comprensión global insuficiente de la producción de cultivos como factores que limitan los beneficios a través de la mejora de la genética de las plantas. Lamentó el alcance disciplinario limitado de los esfuerzos de investigación agrícola en su época (Borlaug, 1977). M.S. Swaminathan, quien contribuyó decisivamente a llevar las variedades de alto rendimiento de Borlaug a la India, posteriormente pasó décadas evaluando las diversas amenazas a los ecosistemas que derivado de los esfuerzos enfocados para aumentar los rendimientos de los cultivos.

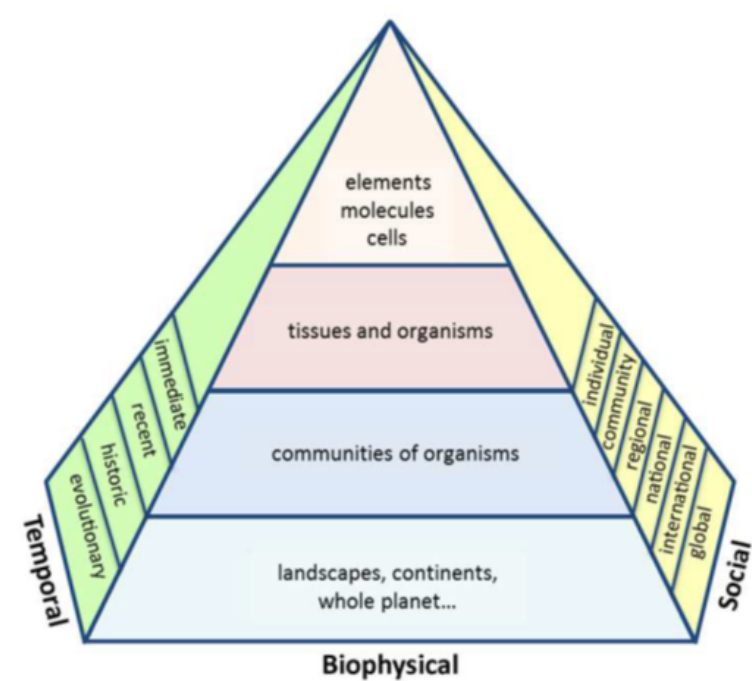


Figura 22. Variables que interactúan para influenciar la seguridad alimentaria son infinitamente complejos. A. Las variables son agrupadas dentro de una escala temporal, biofísica y social.

El potencial de variación temporal y espacial que influye en la seguridad alimentaria, incluida la disparidad económica, el crecimiento de la población humana, las demandas del mercado, la infraestructura, las políticas gubernamentales, el clima, el terreno, la calidad del suelo, la deriva genética y las plagas, es alto. Esto hace que los esfuerzos para comprender las consecuencias de los cambios tecnológicos sean tediosos y costosos de abordar (Figura 10.1a). Las preocupaciones de que la investigación agrícola está amenazada por un apoyo insuficiente para la investigación interdisciplinaria fueron articuladas por los científicos agrícolas desde el siglo XIX, cuando W. J. Spillman experimentó con la

genética del trigo (Carlson, 2005). Con el objetivo de documentar el progreso a pesar de los recursos limitados, fué tentador lograr avances o impactos en áreas estrechamente enfocadas que muchos consideraron importantes (por ejemplo, los rendimientos de los cultivos). Sin embargo, este enfoque no aborda la importancia de aquellos factores interactivos que son más difíciles de controlar, como el cambio climático, las poblaciones de insectos y microorganismos, la comprensión humana de la ecología y la economía. Por lo tanto, los científicos con frecuencia se especializan en áreas relativamente estrechas de experiencia que abarcan un número mínimo de disciplinas y escalas (Figura 10.1b).

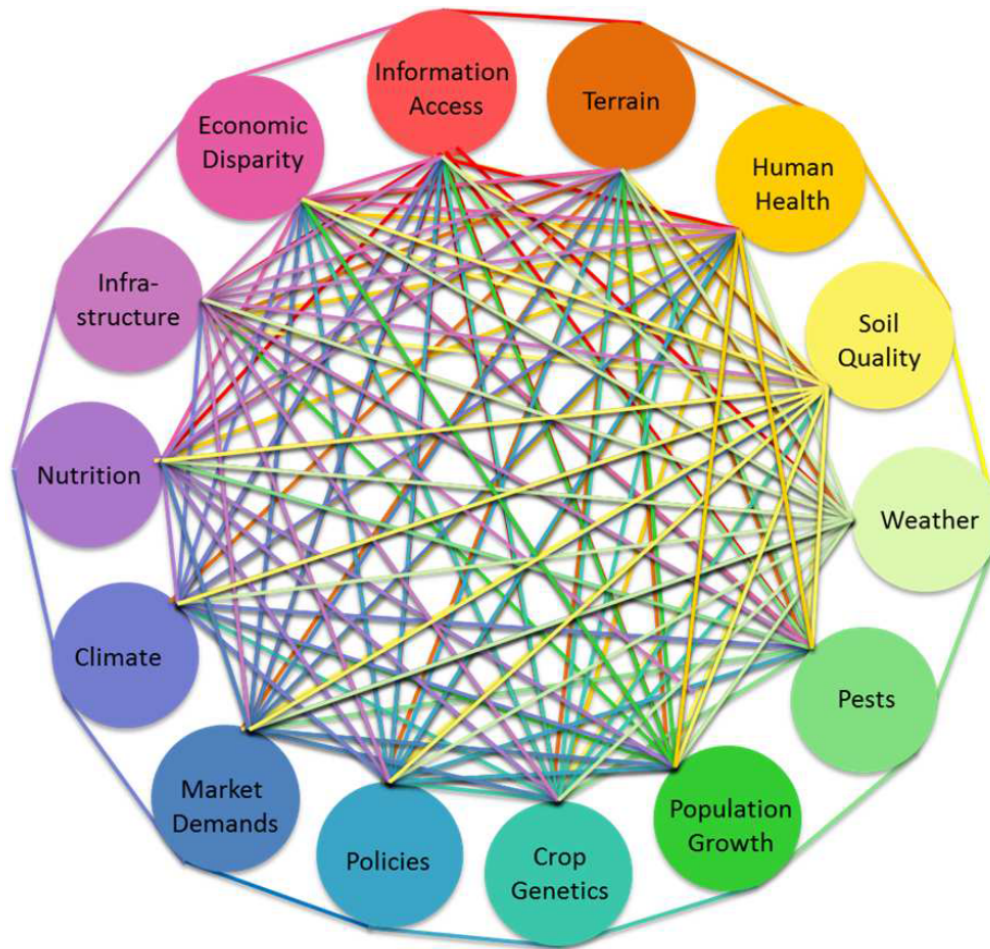


Figura 23. Esquema que ilustra las interacciones en escala espacial y temporal de las variables que influyen la seguridad alimentaria

El RV proporciona una imagen del potencial de los factores de interacción para crear problemas a largo plazo cuando se implementan ampliamente los avances tecnológicos en algunas áreas, incluida la genética de plantas, la mecanización y el desarrollo de fertilizantes químicos. Las tecnologías de la RV permitieron claramente a los cultivadores aumentar temporalmente los rendimientos de los cultivos en suelos agotados. La grave amenaza de hambruna en ese momento provocó esfuerzos complementarios en la diplomacia internacional, la extensión y la intervención gubernamental que evadieron la hambruna y expandieron el alcance global de la agricultura industrializada. La necesidad de una rápida toma de decisiones superó la necesidad de una planificación cuidadosa a largo plazo. Desafortunadamente, después de que se evitó la hambruna, las prácticas de RV se adoptaron ampliamente a costa del desarrollo de prácticas tradicionales de construcción de suelos a largo plazo. Esto ocurrió a pesar de las preocupaciones expresadas por los líderes de GR de que la adopción generalizada podría conducir a una era de desastre agrícola (Swaminathan, 1968).

Hoy en día, nuestra población mundial incluye a casi mil millones de personas que padecen hambre crónica (FAO, 2008) y otras personas que sufren de desnutrición. Mientras tanto, la erosión, la reducción de la calidad del suelo y del agua y la pérdida de biodiversidad asociada con las prácticas agrícolas contemporáneas es alta (Gunningham, 2007; Kiers *et al.*, 2008). El desafío al que nos enfrentamos es diseñar nuevos enfoques agrícolas que consideren no solo la mejora del rendimiento y la resistencia de los cultivos en condiciones de manejo controlado, sino también los factores ecológicos y socioeconómicos más amplios y menos manejables que interactúan a diferentes escalas para influir en la seguridad alimentaria y la calidad ambiental. Para enfrentar este desafío, debemos reconocer la complejidad del problema.

La Figura 10.1a ilustra el espectro infinitamente discutible de variables interdependientes que interactúan para influir en la seguridad alimentaria. Debido a

su interconexión intrínseca, la manipulación de cualquier conjunto de variables tendrá influencia directa o indirecta, inmediata o diferida en otras variables. Por ejemplo, el acceso de un administrador a la información sobre las poblaciones de plagas puede impulsar decisiones para tratar los cultivos con insecticida. La decisión puede ser impulsada por la necesidad real de administrar los ingresos. Sin embargo, la acción también afectará la calidad del suelo y el agua, la biodiversidad, la salud humana, la nutrición y otras variables en formas que son más difíciles de evaluar.

La escala de las variables se ilustra en la Figura 10.1b, y las interacciones entre las escalas también deben considerarse para comprender mejor el potencial de las decisiones para gestionar un conjunto de variables en una escala, como las vías biosintéticas de aminoácidos alteradas diseñadas en el genoma de una planta en la escala molecular, para influir en otras variables, incluidas las interacciones microbianas, los costos de producción de cultivos, la nutrición humana, la percepción pública, en otras escalas. Por lo tanto, los gerentes, investigadores y responsables de políticas que abordan la seguridad alimentaria se enfrentan a la tarea de evaluar el ilimitado potencial de resultados asociado uso de recursos finitos.

3. Esfuerzos multiescala y multidisciplinarios para ayudar a la sostenibilidad

Para lograr verdaderos avances agrícolas que beneficien a la sociedad en su conjunto, es importante integrar una comprensión de las tecnologías desarrolladas dentro de una disciplina y aplicadas a una sola escala. Esto incluye avances que mejoran la comunicación celular entre las raíces de las plantas y los rizobios, con los efectos más amplios y menos tangibles que estas variables pueden tener sobre factores relacionados en escalas más amplias, como las poblaciones de plagas, la nutrición humana y la calidad ambiental. Además de estos impactos más amplios, también debemos reconocer que las tecnologías de GR, que se implementaron para

aliviar el hambre al aumentar la producción de cultivos, son reconocidas por muchos por haber confundido los problemas al apoyar el crecimiento de la población, la pérdida de fincas pequeñas, la degradación ambiental y la riqueza de calorías, prácticas dietéticas pobres en nutrientes (Das, 2002; Lairon, 2010; Pinstруп-Anderson y Hazell, 1985).

Con un aumento de la población humana, el desarrollo industrial también progresa. Siguen el cambio climático y la degradación ambiental, que desafían la producción sostenible de cultivos (FAO, 2008; Sanchez y Swaminathan, 2005; Swaminathan, 2010; Proyecto del Milenio de las Naciones Unidas, 2005). Por ejemplo, el cambio climático tiene el potencial de aumentar el estrés abiótico en los cultivos al tiempo que altera los nichos ambientales de plagas, patógenos y malezas. Alternativamente, la mejora de la producción de alimentos utilizando las tecnologías actuales aumenta los requisitos de combustible, pero las reservas de combustible agotadas impulsan la demanda de biocombustibles, haciendo que la producción de cultivos para alimentos sea directamente competitiva contra la de combustibles. Cada una de estas preocupaciones está estrechamente vinculada a la dinámica de mejorar la calidad ambiental.

Numerosos esfuerzos locales, regionales y globales están abordando actualmente la seguridad alimentaria con esfuerzos innovadores de transferencia de tecnología e información (Fundación Bill y Melinda Gates, 2009; FAO, 2011; Lombard *et al.*, 2006; Ortiz, 2006; Ortiz *et al.*, 2007). El término Revolución Verde (RV) fue acuñado para articular la necesidad de hacer que los resultados de estos esfuerzos sean sostenibles (Swaminathan, 2010). Es incierto si los enfoques contemporáneos, que son todos los bloques de construcción de RV importantes, serán adecuados para abordar las demandas actuales y futuras de alimentos (Sánchez y Swaminathan, 2005). En particular, la mayoría de estos esfuerzos siguen

siendo fitocéntricos, haciendo hincapié en las tecnologías basadas en plantas para mejorar la producción de cultivos (Lynch, 2007; Ortiz *et al.*, 2007).

Los avances recientes en la comprensión de las interacciones planta-microbio, impulsados por las nuevas tecnologías que permiten la evaluación rápida de las comunidades microbianas, tienen una promesa importante para satisfacer las necesidades globales para acelerar la RV. En este capítulo, destacamos el potencial sin explotar de las comunidades microbianas para mejorar los rendimientos de los cultivos mientras se restauran las propiedades de construcción de suelos, ciclos de nutrientes y reducción de plagas en los agroecosistemas. Observamos las características de la producción de plantas asistida por microbios que ofrecen beneficios socioeconómicos para los pequeños agricultores y las características de secuestro de carbono (C) que ofrecen relevancia para mitigar los impactos del cambio climático. También describimos una estrategia fundamental que puede acelerar la comprensión de las interacciones planta-microbio dentro del contexto de múltiples escalas de agroecosistemas completos. Describimos las redes existentes y las que están en desarrollo diseñadas para promover el intercambio de información y la investigación participativa para ampliar los nuevos conocimientos a través de escalas socioeconómicas y geográficas. Finalizamos resumiendo la necesidad crítica de políticas que promuevan este y otros esfuerzos amplios, integrados y a largo plazo para promover la agricultura sostenible y la seguridad alimentaria.

4. Interacciones microbianas a través de interfaces de plantas, suelos y medioambientales

En los ecosistemas no perturbados, las plantas están asociadas con un continuo de otros organismos, la mayoría de los cuales son microorganismos. Estos incluyen epífitos en las superficies de las plantas, endófitos dentro de las plantas y rizosféricos y microbios del suelo asociados con los órganos de la planta subsuperficiales y las interfaces del suelo (Figura 10.2). Estos microbiomas

secuestran cantidades significativas de C atmosférico, lo que ayuda a mitigar el cambio climático (Müller-Stöver *et al.*, 2012).

FIGURE 1A

FIGURE 1B

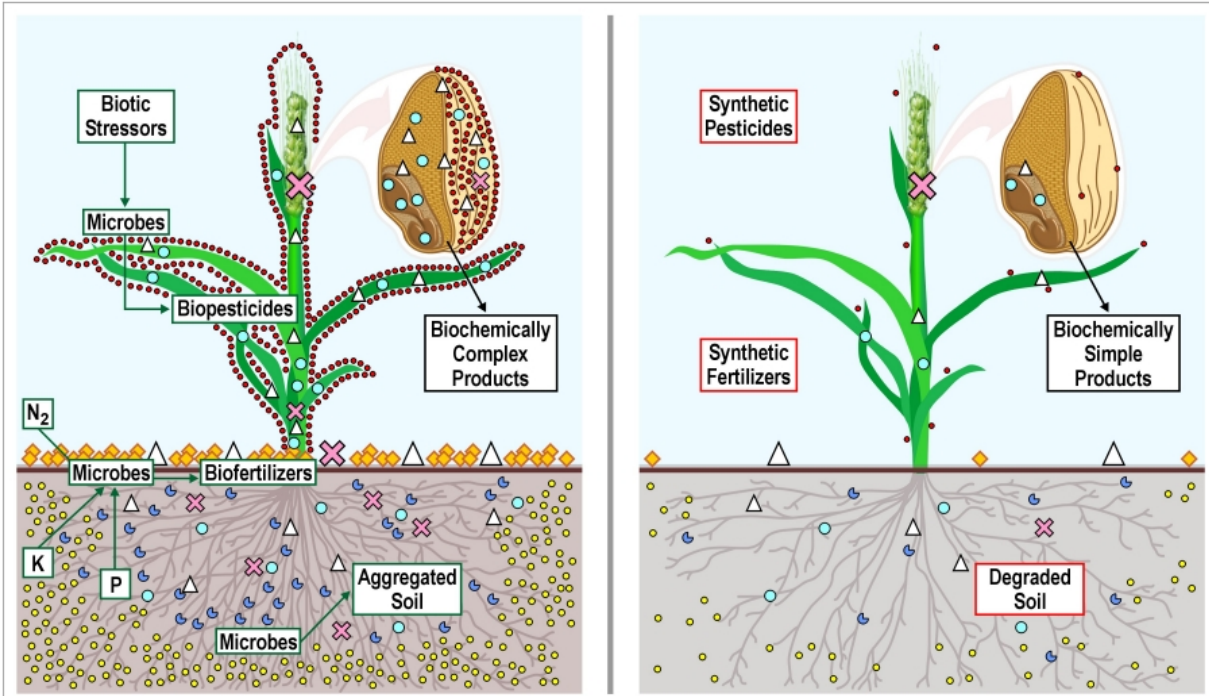


Figura 24. Las plantas en ambientes naturales y sin perturbación establecen un continuo microbiano de endofitos (círculos azules), epifitos (estrella roja), microorganismos rizosféricos (marcas púrpuras), microorganismos de la capa de suelo (diamantes amarillos) y facultativos (triángulos blancos) y los microorganismos del suelo no asociados a la planta (cuadros dorados) para obtener nutrientes básicos, minerales y/o responder al estrés biótico y abiótico.

Además, los microbiomas conectan las plantas a los sustratos circundantes (Green *et al.*, 2008; Khidir *et al.*, 2008), el ciclo de nutrientes (Barrow *et al.*, 2008; Green *et al.*, 2008; Rodríguez y Fraga, 1999), estabilizan el suelo (Gale *et al.*, 2000); aumentan la tolerancia al estrés biótico y abiótico (Barrow *et al.*, 2008) y amortiguan el impacto de los factores ambientales en las plantas (Gale *et al.*, 2000; Lee *et al.*,

2009; Okon, 1985; Plett y Martin, 2011; Rodríguez y Fraga, 1999; Rodríguez y Redman, 2008). Cabe destacar que estas funciones microbianas son paralelas a muchas de las acciones de manejo que realizan los humanos para mejorar el crecimiento de los cultivos en los agroecosistemas (Barrow *et al.*, 2008). Por ejemplo, los microorganismos pueden producir alcaloides que disminuyen a las plagas de insectos, reduciendo la necesidad de aplicación de pesticidas (Kuldau y Bacon, 2008; Schardl *et al.*, 2004). Los microbios fijan el nitrógeno atmosférico y solubilizan el fósforo, lo que puede reemplazar la necesidad de fertilizantes minerales (Richardson, 2001; Rodríguez y Fraga, 1999; Stanger y Lauer, 2008). Los microbios mejoran la agregación del suelo, aumentando tanto la aireación como la capacidad de retención de agua del suelo (Gale *et al.*, 2000) en formas que pueden reducir la necesidad de un manejo intensivo del riego o un arado profundo.

Cabe destacar que, aunque gran parte de la investigación sobre cultivos se dedica al estudio de los hongos micorrízicos, rizobiales y otros microorganismos asociados a la raíz que fijan nitrógeno, endófitos (Barrow *et al.*, 2008) y microbios de la capa o corteza (“crust”) del suelo (Briggs and Morgan, 2012; Evans y Belnap, 1999; Green *et al.*, 2008) han sido muy estudiados en pastos y ecosistemas naturales. Los endófitos son de creciente interés para la agricultura porque los beneficios que confieren a las plantas pueden transferirse de una generación a otra, ofreciendo una alternativa rápida y económica a la ingeniería genética (Barrow *et al.*, 2008). Los microbios de la corteza del suelo, que tienen la capacidad de fijar nitrógeno y promover la estabilidad del suelo (Briggs y Morgan, 2012; Evans y Belnap, 1999), son ampliamente ignorados en los agroecosistemas. Las prácticas agrícolas industriales, como la siembra mecánica, la labranza y el cultivo, la aplicación de fertilizantes sintéticos y pesticidas y la recolección perturban la integridad estructural y la diversidad funcional de las comunidades microbianas asociadas, lo que obliga a una mayor dependencia de los insumos artificiales para mantener los rendimientos de los cultivos.

Históricamente, los avances que aumentaron la producción agrícola se lograron en gran medida al evitar las asociaciones planta-microbioma, confiando en cambio en la labranza para controlar las malezas y la compactación del suelo, y en los agroquímicos para proporcionar nutrientes y eliminar los factores de estrés bióticos. Tal enfoque era inevitable, porque hasta hace poco, las comunidades microbianas y sus efectos asociados en la fisiología de las plantas no podían detectarse o estudiarse de manera eficiente. El hecho de omitir el papel de los microbios y otras biotas que sustentan las plantas dio como resultado la implementación de prácticas, como la aplicación de pesticidas no selectivos para reducir los patógenos, que las plantas se desacoplaron involuntariamente de sus organismos de apoyo, incluidas aquellas vastas comunidades microbianas cuyo éxito coevolutivo estaba asociado a la sincronización eficiente de la producción primaria de la planta con procesos de descomposición, solubilización de nutrientes y formación de suelos.

Muchas prácticas agronómicas contemporáneas y el uso de agroquímicos influyen negativamente en las estructuras de la comunidad microbiana, lo que afecta negativamente la fertilidad del suelo (Bueno y Ladha, 2009; Fox *et al.*, 2007) y las emisiones de C (Dubey y Lal, 2009), al tiempo que contribuyen a la degradación ambiental (Kiers *et al.*., 2008). A medida que se reconocen los impactos ambientales asociados con estas acciones, incluida la reducción del secuestro de C, la pérdida de poblaciones de insectos beneficiosos, el aumento de la erosión del suelo y la contaminación del agua subterránea por agroquímicos, las acciones en sí se han justificado por nuestra necesidad crítica de alimentar a la población humana en expansión. Esta justificación persiste a pesar de la conciencia de que las prácticas mismas afectan negativamente los costos de los insumos asociados con la producción de cultivos, lo que hace que la seguridad alimentaria sea cada vez más difícil para las comunidades de bajos ingresos (Kiers *et al.*, 2008).

5. Evaluando el potencial microbiano para revolucionar la sostenibilidad del agroecosistema.

Una alternativa al avance de la seguridad alimentaria y la mitigación del cambio climático a través de tecnologías agrícolas fitocéntricas es aprovechar comunidades microbianas enteras para ciclar los nutrientes, construir agregados del suelo e impulsar la tolerancia al estrés de las plantas (Barrow *et al.*, 2008; Dubey y Lal, 2009; Rodriguez y Redman , 2008). Los beneficios potenciales de explotar las interacciones microbianas con las plantas han sido reconocidos por más de un siglo (Frank, 2005). De hecho, algunos de estos beneficios ya se han adoptado mediante la mejora de la rotación de cultivos, la agricultura de precisión y la agricultura orgánica, la reducción de la labranza y el manejo integrado de plagas (Dubey y Lal, 2009; Stanger y Lauer, 2008; Swaminathan, 2010). La introducción de microbios fijadores de nitrógeno o de movilización de fósforo en los sistemas de producción de cultivos puede aumentar la disponibilidad de nutrientes (Rodríguez y Fraga, 1999; Stanger y Lauer, 2008). Por ejemplo, la transferencia de microbios endófitos transmitidos por las semillas puede crear nuevos germoplasmas con una mejor tolerancia al estrés (Barrow *et al.*, 2008).

Hasta la fecha, los resultados para aprovechar los servicios microbianos varían. Dicha variación se atribuye a una comprensión insuficiente de la complejidad de las comunidades microbianas, la falta de compatibilidad genética entre los hospedadores y microbios probados y las deficientes tecnologías de monitoreo y detección microbiana (Barrow *et al.*, 2008; Richardson, 2001). Los nuevos enfoques de secuenciación de ADN de alto rendimiento ofrecen las primeras oportunidades significativamente posibles para examinar ampliamente las interacciones microbianas importantes para aumentar la producción de plantas (Comité de Metagenómica, 2007). Estas técnicas, que incluyen la metagenómica para describir

la diversidad genética de la comunidad microbiana, y la transcriptómica, proteómica o metabolómica para describir las interacciones de la comunidad a escala molecular, ahora se aplican a los sistemas microbianos de plantas y suelos para explorar las influencias microorganismos en la productividad sostenible de las plantas.

Incluso los métodos más avanzados y de alto rendimiento disponibles hoy en día no detectan grandes porciones de las comunidades microbianas presentes (Lucero *et al.*, 2011), y es poco probable que la increíble diversidad de reinos microbianos nunca se entienda completamente. Esta es una de las razones por las que un enfoque que utiliza el conocimiento de patrones y procesos bióticos observados a escalas más grandes puede ayudar a comprender el proceso microbiano a escalas finas que pueden impulsar la producción de cultivos.

Si bien nunca será posible evaluar todas las variables que podrían interactuar dentro de un agroecosistema, estas interacciones complejas y entre escalas pueden comprenderse mejor a través de esfuerzos en red que combinan datos de diversos componentes del ecosistema y modelos de simulación para escalas vinculadas múltiples (Peters *et al.*, 2007). Dichos esfuerzos en red permiten a los especialistas dentro de áreas de especialización altamente enfocadas, como la genómica, la ecología microbiana, la ciencia del suelo y la economía, considerar conjuntos más amplios de efectores y respuestas, incluidas las respuestas inmediatas y latentes a las acciones de gestión. Este enfoque en red para abordar cuestiones ecológicas complejas ya se ha establecido (Moran *et al.*, 2008; Peters *et al.*, 2004, 2007).

Un marco conceptual relevante para el avance de agroecosistemas sostenibles basados en microorganismos para mejorar la seguridad alimentaria y mitigar el cambio climático podría incluir una síntesis de datos ecológicos recopilados de escalas espaciales y temporales de finas a amplias, y datos socioeconómicos recopilados de diversas poblaciones, como se detalla a

continuación. Dichos datos, muchos de los cuales ya están disponibles a través de análisis no relacionados realizados en diversas disciplinas de ciencias naturales, podrían vincularse a través de modelos de simulación que ilustran los efectos inmediatos ya largo plazo de las acciones de manejo en los conjuntos de comunidades microbianas y la función del agroecosistema. Estos modelos vinculados pueden ser útiles para predecir las consecuencias inmediatas ya largo plazo de las acciones de gestión con diversos impactos en las estructuras de la comunidad microbiana, permitiendo la exploración de riesgos y beneficios de las nuevas tecnologías antes de su implementación.

5.1 Escala elemental, celular y molecular

Los expertos en química, biología molecular y bioquímica podrían contribuir aún más a nuestra comprensión de las interacciones que se producen en escalas muy finas, incluido el ciclo de nutrientes y la estructura y función de la comunidad microbiana. Las diferencias genéticas y metabólicas entre comunidades microbianas pueden revelarse mediante la secuenciación de ácidos nucleicos o el perfil metabólico (Comité de Metagenómica, 2007; Lucero *et al.*, 2011). La secuenciación del genoma completo, la proteómica y / o la metabolómica de bacterias y hongos asociados con las plantas puede mejorar nuestra comprensión de las funciones microbianas que influyen en el crecimiento vegetal, productividad, la tolerancia a la sequía y la salinidad, la defensa química, el crecimiento, la patogénesis, el ciclo de nutrientes, el metabolismo primario y secundario, y nutrición. Los genomas microbianos considerados valiosos para el desarrollo de germoplasma pueden secuenciarse para evaluar genes que regulan la especificidad del hospedador, la tolerancia al estrés biótico y abiótico, la patogénesis y el metabolismo secundario (Kuldau y Bacon, 2008; Schardl *et al.*, 2004). Los metagenomas (secuencias genómicas de comunidades microbianas completas) asociadas con un huésped de planta en un hábitat seleccionado pueden revelar el potencial metabólico completo

de los microbiomas para influir en la producción de cultivos y otros tipos de secuestro de C, incluidas las tasas de fijación de C y la biomineralización catalizada por microbios del suelo. Las bases de datos, como el Centro Nacional de Información Biotecnológica (Genbank) o la Ciberinfraestructura para la Investigación y el Análisis de la Ecología Microbiana Avanzada (CAMERA) ya ofrecen colecciones públicas de datos ecológicos y metagenómicos que, en combinación con documentos de investigación relacionados, pueden proporcionar información fundamental para la simulación a gran escala. Cuando se vinculan a simulaciones realizadas a escalas más grandes, estos modelos se pueden usar para pronosticar cómo las comunidades microbianas podrían responder a acciones de manejo seleccionadas como la labranza del suelo o el riego, y para comprender cómo estas respuestas microbianas podrían influir en los factores observados a escalas más grandes, incluido el secuestro global de carbono.

5.2 Tejido y planta entera.

Los fisiólogos de plantas, los fitomejoradores y los ecólogos microbianos pueden interactuar para explorar las variaciones en los microbiomas asociados con las plantas nativas y las plantas de cultivos de variados historiales de domesticación para comprender mejor cómo las prácticas de manejo impactan a las comunidades microbianas asociadas a las plantas. Además, se pueden evaluar las interacciones microbianas que influyen en la productividad de las plantas y el contenido de nutrientes. La pirosecuenciación codificada en la etiqueta de las comunidades microbianas asociadas con las plantas hospedadoras y los suelos circundantes se puede utilizar junto con los bioensayos de rendimiento de la planta para evaluar la composición de la comunidad microbiana asociada con las variaciones en los parámetros de producción de la planta. Los bioensayos de laboratorio, de invernadero y de campo en los que las comunidades microbianas se manipulan agregando o eliminando grupos específicos de microbios pueden revelar

condiciones en las que los microbios interactúan con las plantas huésped y / o con otros microbios asociados a las plantas. Los experimentos a través de la sequía u otros gradientes de estrés ambiental pueden revelar mecanismos por los cuales los microbios se relacionan con las respuestas de estrés de toda la planta que influyen en la producción de cultivos. Los pronósticos de producción de cultivos simulados pueden incluirse en modelos a escala fina para demostrar cómo estos cambios vegetativos podrían influir en el ciclo de C y del nitrógeno dentro de la comunidad microbiana del suelo. Los resultados de ambas simulaciones vinculadas se pueden utilizar como variables en simulaciones a escala global.

5.3 Escala comunitaria o bioma

Las comunidades microbianas asociadas con semillas, hojas, raíces y suelo asociadas con sistemas de cultivo específicos que incluyen monocultivos convencionales, cultivos rotados y sistemas de labranza cero, pueden examinarse para comprender cómo la composición de la comunidad de plantas influye en la dinámica microbiana. La combinación de tales análisis con comparaciones de la persistencia microbiana a través de niveles tróficos podría revelar interacciones de microbios y plantas con el potencial de propagarse a través de las cadenas alimenticias. Los análisis de microbios asociados con plantas vecinas e invasoras pueden proporcionar información sobre las interacciones de la comunidad importantes para resistir la invasión de plagas, con implicaciones tanto para la producción de cultivos como para la restauración ambiental. La capacidad resultante para predecir qué sistemas de cultivo serán más resistentes a las invasiones u otras amenazas ambientales facilitará la planificación que asegure la productividad, incluso cuando el cambio climático hace que las prácticas históricas queden obsoletas.

Los parámetros que influyen en las características del suelo a escala de parche ya están ampliamente documentados en muchas escalas nacionales. Por

ejemplo, las unidades de mapas de suelos y las descripciones de sitios ecológicos relacionados están disponibles públicamente a través del Servicio de Conservación de Recursos Naturales del USDA (USDA-NRCS). La ambiciosa base de datos mundial de información de suelos de ISRIC se esfuerza por satisfacer las crecientes demandas globales al hacer que los datos relacionados espacialmente describan el suelo, el clima, la geomorfología, la vegetación, el uso de la tierra y otras variables disponibles en todo el mundo. Al documentar las coordenadas espaciales y describir los parámetros ecológicos asociados con las ubicaciones de las muestras de campo, estos conjuntos de datos a largo plazo existentes, detallados y disponibles al público pueden aprovecharse para comprender los parámetros del hábitat que influyen en la producción de cultivos.

5.4 Paisaje a escala global.

Las coordenadas geoespaciales y las descripciones de los sitios ecológicos asociadas con cada muestra ambiental podrían facilitar las comparaciones entre sitios y revelar distintos hábitats y variables de manejo que influyen en las composiciones de los microbiomas a través de escalas geográficas. Dichos análisis pueden ser poderosos para comprender el suelo, el paisaje y los factores climáticos que influyen en las respuestas de los cultivos a las modificaciones microbianas, y para comprender cómo estas respuestas pueden diferir a medida que cambian los hábitats. Se pueden aplicar análisis filogeográficos a escala regional y global para explorar el papel de los factores temporales, climáticos y edáficos en la adaptación microbiana y de plantas, la estructura de la comunidad y la coevolución. Los efectos de desenmarañamiento de diferentes factores se pueden lograr mejor a través de estos análisis de escala geográfica, donde se pueden examinar múltiples factores por separado y en combinación. La vinculación de estos factores de gran escala, como las variables climáticas o los efectos del paisaje, a los modelos de simulación

que predicen la productividad de los cultivos puede ayudar a los administradores de tierras a desarrollar prácticas de manejo relevantes a nivel local.

5.5 Dinámicas que varían a lo largo de escalas temporales.

La enorme diversidad genética de los microbiomas y sus cortos tiempos de generación permiten una respuesta rápida y dinámica al cambio ambiental. Se esperan cambios en la estructura de la comunidad microbiana luego de cambios estacionales o actividades de manejo. El uso de estos cambios para beneficiar la producción o amortiguar las respuestas de los agroecosistemas al cambio climático requerirá una mayor comprensión de la dinámica temporal de las respuestas microbianas a los impulsores ambientales. Las asociaciones de endófitos, que pueden trascender las generaciones de plantas o influir en la ecología del huésped, pueden entenderse mejor a través de análisis evolutivos de plantas hospedantes y microbios asociados. Dichos estudios, realizados en conjunto con análisis filogenéticos de plantas genéticamente relacionadas, podrían proporcionar información transformacional sobre cómo los microbios influyen en la adaptación de la planta. Las comparaciones filogenéticas que evalúan microbios asociados con germoplasmas de plantas nativas, de reliquia y comerciales tendrán un valor excepcional para ilustrar asociaciones importantes que se han perdido como resultado de varias prácticas de domesticación, reproducción y selección (Couch *et al.*, 2005; Doebley *et al.*., 2006; Eyre-Walker *et al.*, 1998).

Una jerarquía en escalas temporales corresponde aproximadamente a las escalas espaciales descritas anteriormente. Si bien las comunidades microbianas pueden responder rápidamente a los factores climáticos o la gestión, con el cambio de los taxones dominantes durante períodos de minutos a días, los taxones dominantes en las comunidades de plantas pueden tardar semanas, meses o incluso años en cambiarse. Los conocimientos de estas interacciones espaciales y temporales sugirieron que las comunidades microbianas que responden

rápidamente pueden ayudar a las plantas a adaptarse al cambio climático más rápidamente de lo que se puede esperar solo con el cambio genético de las plantas. Los experimentos que prueben estos conocimientos serán valiosos para diseñar estrategias que mejoren la producción de plantas o que hagan que las comunidades de plantas sean resistentes al cambio climático.

5.6 Gestión a través de escalas socioeconómicas.

En los agroecosistemas, los cultivos están influenciados no solo por los parámetros biofísicos estándar, como el clima, el suelo y la vida silvestre, sino también por las decisiones y acciones de gestión humana. Los seres humanos deciden qué especies de cultivo plantar, dónde plantarlas y cómo alterar el entorno natural para apoyar las plantas de cultivo. Dichas decisiones dependen en gran medida de la información, porque se basan en nuestra comprensión de cómo los parámetros biofísicos influyen en la productividad de la planta e interactúan a lo largo del tiempo con diversos factores, incluidos los costos de producción, los precios de mercado, la mano de obra, los gustos y las preferencias de los consumidores. Al igual que los parámetros biofísicos y temporales, los parámetros socioeconómicos interactúan a través de escalas. Por lo tanto, la decisión de un productor individual de cultivar un cultivo específico podría verse influida a nivel nacional por la información sobre los incentivos de precios del gobierno y a nivel local o regional por el conocimiento de la demanda del consumidor, la capacidad de producción y las redes de comercialización. Tales decisiones de gestión humana impulsadas por la información se encuentran entre los determinantes más poderosos de la seguridad alimentaria, la mitigación del cambio climático y la sostenibilidad del agroecosistema. Por esta razón, es importante que los gerentes tengan suficiente información, recursos y autoridad para tomar decisiones para implementar prácticas que se adapten a las condiciones que influyen en su entorno local.

Los modelos y las experiencias que ilustran las interacciones complejas y de gran escala que afectan a las personas y los entornos cada vez que se introducen nuevos enfoques de gestión serán útiles para evaluar las decisiones de gestión antes de su implementación. Hacer que estas ilustraciones estén ampliamente disponibles, al tiempo que reduce las políticas generales que limitan las opciones de gestión y compra, permitirá a las personas explorar las consecuencias inmediatas y a largo plazo de diversas acciones, y así aprender de una combinación de experiencias reales y simuladas. Esto permitirá a los productores y consumidores tomar decisiones informadas que equilibren efectivamente las necesidades calóricas y financieras a corto plazo con estrategias adaptadas localmente que promuevan la salud humana a largo plazo y la integridad ambiental. Los avances globales en tecnología educativa y de la información, incluida la disponibilidad generalizada de servicios de Internet y aplicaciones de telefonía celular, brindan la oportunidad de hacer que dichos modelos y herramientas estén ampliamente disponibles para diversos estratos socioeconómicos (Fundación Bill y Melinda Gates, 2009; Sánchez y Swaminathan, 2005; Swaminathan, 2010). Las estrategias de lanzamiento modernizadas deberán utilizar estos avances al mismo tiempo que aumentan simultáneamente los esfuerzos de extensión y educación para promover la transferencia efectiva de información a los responsables de la formulación de políticas, los productores de cultivos, los procesadores de alimentos, los distribuidores y los consumidores.

5.7 Acceso a la información a través de escalas socioeconómicas.

La necesidad de acceso a los datos para amplios sectores de usuarios públicos no puede ser subestimada. La comprensión insuficiente a nivel comunitario de las dinámicas ambientales y nutricionales detrás de las tecnologías de producción de alimentos podría llevar a una exacerbación de la disparidad socioeconómica

existente (FAO, 2011; Sánchez y Swaminathan, 2005; Swaminathan, 2010). Si el objetivo de una ER es lograr agroecosistemas sostenibles, es fundamental que la investigación y el desarrollo de nuevas tecnologías agrícolas y alimentarias se acompañen de esfuerzos agresivos e innovadores para compartir nuestra comprensión de las tecnologías de producción de alimentos y sus posibles efectos ambientales. La comprensión colectiva de tales esfuerzos debe incluir no solo la comprensión de cómo aumentar los rendimientos de los cultivos o los valores nutricionales, sino también la comprensión de cómo las diferentes prácticas de gestión y las elecciones de los consumidores influyen en los servicios de los ecosistemas que son cruciales para la sostenibilidad a largo plazo de las prácticas de gestión de agroecosistemas. Esta tarea se puede hacer manejable al incluir productores, educadores, desarrolladores de mercado, creadores de políticas y consumidores en diversos aspectos de la planificación e implementación de los esfuerzos de transferencia de tecnología, investigación y tecnología. Modelos como los adoptados por grupos sin fines de lucro, como los Centros Internacionales de Tecnología Apropriada y Sostenibilidad Indígena (iCATIS), ilustran cómo estos esfuerzos difíciles pueden avanzar a través de asociaciones en red.

6. Potencial microbiano para promover la seguridad alimentaria y mitigar el cambio climático

Se espera que las prácticas agrícolas que promueven microbiomas de plantas y suelos integrados y funcionales promuevan la calidad de las plantas y los suelos de maneras que sostengan, o incluso aumenten los rendimientos de los cultivos, a la vez que mitigan los impactos del cambio climático. protocolos de agricultura ecológica representan pasos en la dirección correcta, ya que reducen la alteración química de las plantas y del suelo microbioma. Sin embargo, tales protocolos no necesariamente reducen la interrupción mecánica ni promueven el desarrollo de la comunidad microbiana lo suficiente como para fomentar las comunidades microbianas que manejan de manera efectiva la humedad del suelo y el ciclo C, el

nitrógeno y otros nutrientes. Se necesitan esfuerzos que evalúen los rendimientos de los cultivos junto con las prácticas de manejo y la estructura de la comunidad microbiana. Se espera que tales esfuerzos para revelar las prácticas existentes que fomentan al mismo tiempo altos rendimientos, bajos costos de entrada, y la mejora de los servicios del ecosistema. Es probable que dichas prácticas varíen entre los agroecosistemas, porque las comunidades microbianas que prosperan en un hábitat no serán óptimas en otros hábitats.

Esta variación natural en las comunidades microbianas del suelo adaptadas y la necesidad resultante de la variación en las prácticas de manejo teóricamente podrían proporcionar retroalimentación socioeconómica positiva al aumentar la demanda de expertos agrícolas locales y mejorar las oportunidades para fincas pequeñas y diversificadas. El cambio resultante del liderazgo agrícola y la experiencia proporcionada por el gobierno a gran escala y las entidades corporativas hacia el liderazgo dentro de las comunidades locales puede fomentar interacciones más directas entre productores y consumidores. Estas interacciones pueden mejorar la seguridad alimentaria a nivel comunitario mediante la promoción de sistemas alimentarios diversificados que respondan mejor a las demandas culturales y ambientalmente diversas. Los beneficios pueden ser particularmente importantes dentro de las comunidades indígenas, donde las prácticas culturales antiguas y conservadas localmente pueden contener pistas fundamentales para desarrollar tecnologías sostenibles que restituyan la diversidad microbiana a los agroecosistemas locales y regionales. Las comunidades que han mantenido estas bases de conocimiento geográficamente específicas estarán bien posicionadas para iniciar nuevas prácticas comerciales que involucren la capacitación de cultivadores locales para producir alimentos sin agroquímicos, vender semillas de reliquia adaptadas al clima y desarrollar tecnologías a pequeña escala para el procesamiento de tipos de alimentos únicos a nivel regional. Estos alimentos ya son buscados por una nueva generación de consumidores que está cada vez más interesada en los alimentos orgánicos y cultivados localmente.

7. Conclusiones

Los esfuerzos históricos para promover prácticas sostenibles de manejo de agroecosistemas han demostrado que aumentar la producción de plantas sin prestar atención a los impactos ecológicos y sociales es devastador para la estabilidad a largo plazo del agroecosistema y la seguridad alimentaria. Los nuevos avances que revelan la complejidad e importancia de los microbiomas vegetales ofrecen un potencial interesante para desarrollar prácticas de gestión que promuevan la seguridad alimentaria sostenible y mitiguen el cambio climático. Las prácticas que fomentan la calidad de los microbiomas vegetales podrían sustituir las interacciones bióticas que mejoran la aptitud y el rendimiento de los cultivos al mismo tiempo que se restauran las funciones de la calidad del suelo y del ciclo de nutrientes, incluido el secuestro de C. Las comunidades microbianas del suelo desarrolladas adecuadamente pueden eliminar la necesidad de fertilizantes minerales. Las plantas colonizadas por consorcios microbianos tolerantes a la sequía, fijadores de nitrógeno y halófitos pueden producir cultivos en suelos áridos o salinos. Restaurar los microbios endofíticos puede aumentar el valor nutricional de los cultivos al agregar vías metabólicas que complementan las vitaminas, proteínas y antioxidantes producidos por sus plantas huésped. Debido a que la composición de la comunidad microbiana puede cambiar rápidamente en respuesta al cambio ambiental, las asociaciones microbianas también prestan plasticidad metabólica a los hospedadores de la planta, lo que facilita la adaptación al cambio climático.

Los avances en la comunicación y la transferencia de información ayudarán a garantizar que las nuevas tecnologías microbianas se implementen de manera que minimicen los impactos ambientales no deseados. Las bases de datos globales facilitan cada vez más el desarrollo de modelos que ilustran las interacciones de múltiples escalas entre plantas, microbios, seres humanos y entornos cambiantes. Estos modelos robustos y de múltiples escalas permitirán a los usuarios evaluar a

fondo los beneficios y riesgos asociados con las nuevas tecnologías de cultivo. Estos modelos deberían ayudar a prevenir los tipos de consecuencias no deseadas del GR. Por esta razón, los modelos ecológicos de escala múltiple, en combinación con las nuevas tecnologías microbianas, podrían acelerar el progreso global hacia la seguridad alimentaria y la agricultura sostenible. Esto es particularmente cierto si ambos se hacen accesibles a través de redes, esfuerzos interdisciplinarios y participativos que promueven nuestra comprensión de las interacciones bióticas a través de escalas biofísicas, temporales y socioeconómicas. Estos esfuerzos deben ser sinérgicos con los esfuerzos existentes para abordar la seguridad alimentaria.

Un público bien informado es crucial para el éxito de cualquier esfuerzo de este tipo. La participación pública puede minimizar el potencial de retroalimentación ecológica y socioeconómica negativa generalizada que podría derivarse de tecnologías agrícolas recientemente desarrolladas. Es de gran importancia para los productores agrícolas, los responsables de la formulación de políticas, los investigadores y los educadores revisar los conceptos de educación y extensión de larga data como ecualizadores de la disparidad socioeconómica y como pilares para el desarrollo sostenible (Grupo de trabajo del Proyecto del Milenio de las Naciones Unidas sobre ciencia, tecnología e innovación, 2005 Mann, 1848; Peters 2006). Las políticas y prácticas que apoyan la integración de la ecología microbiana con el desarrollo de cultivos, agroecología, ciencias ambientales, nutrición, socioeconomía y extensión promoverán agroecosistemas robustos, adaptables y sostenibles con el potencial mejorado para mitigar los impactos de la globalización y el cambio climático.

8. Fuentes Consultadas

- Barrow JR, Lucero ME, Reyes-Vera I, Havstad KM. 2008. Do symbiotic microbes have a role in plant evolution, performance and response to stress? *Communicative and Integrative Biology* 1: 69-93.
- Bill & Melinda Gates Foundation. 2009. Global Development Program Fact Sheet in Foundation BMG, ed: Bill & Melinda Gates Foundation.
- Borlaug NE. 1977. The green revolution: Can we make it meet expectations? Pages 6-21. *Proceedings of the American Phytopathological Society*.
- Borlaug NE, Aresvik OH. 1973. The Green Revolution-an approach to agricultural development and some of its economic implications. Pages 385-403. *Int J Agr Aff*.
- Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, Bienenstock J, Cryan JF. 2011. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Brosi GB, McCulley RL, Bush LP, Nelson JA, Classen AT, Norby RJ. 2010. Effects of multiple climate change factors on the tall fescue-fungal endophyte symbiosis: Infection frequency and tissue chemistry. *New Phytologist* 189: 797-805.
- Bueno CS, Ladha JK. 2009. Comparison of soil properties between continuously cultivated and adjacent uncultivated soils in rice-based systems [electronic resource]. *Biology and Fertility of Soils* 45: 499-509.
- Campbell TC, Campbell TM. 2006. *The China Study: The Most Comprehensive Study of Nutrition Ever Conducted And the Startling Implications for Diet, Weight Loss, and Long-term Health*. Dallas, Texas, USA: BenBella Books, Inc.
- Couch BC, Fudal I, Lebrun MH, Tharreau D, Valent B, Van Kim P, Nottéghem JL, Kohn LM. 2005. Origins of host-specific populations of the blast pathogen *Magnaporthe oryzae* in crop domestication with subsequent expansion of pandemic clones on rice and weeds of rice. *Genetics* 170: 613-630.

- Doebley J, Gaut B, Smith B. 2006. The molecular genetics of crop domestication. *Cell* 127: 1309-1321.
- Dubey A, Lal R. 2009. Carbon Footprint and Sustainability of Agricultural Production Systems in Punjab, India, and Ohio, USA. *Journal of Crop Improvement* 23: 332-350.
- Eyre-Walker A, Gaut RL, Hilton H, Feldman DL, Gaut BS. 1998. Investigation of the bottleneck leading to the domestication of maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 4441-4446.
- Food and Agriculture Organization. 2008. High food prices and food security-threats and opportunities. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- The State of Food Insecurity in the World 2011. 2011. How does international price volatility affect domestic economies and food security? Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fox JE, Burow ME, McLachlan JA, Gullledge J, Engelhaupt E. 2007. Pesticides reduce symbiotic efficiency of nitrogen-fixing rhizobia and host plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 10282-10287.
- Frank B. 2005. On the nutritional dependence of certain trees on root symbiosis with belowground fungi (an English translation of A.B. Frank's classic paper of 1885). *Mycorrhiza* 15: 267-275.
- Fuglie KO, Heisey PW. 2007. Economic Returns to Public Agricultural Research. United States Department of Agriculture: Agricultural Research Service. Report no.
- Gale WJ, Cambardella CA, Bailey TB. 2000. Root-Derived Carbon and the Formation and Stabilization of Aggregates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64: 201-207.
- Handelsman J, Tiedje J, Alvarez-Cohen L, Ashburner M, Cann I, DeLong E, Doolittle W, Fraser-Liggett C, Godzik A, Gordon J. 2007. The new science of

- metagenomics: revealing the secrets of our microbial planet: Washington, DC: The National Academies Press.
- Henrik Nilsson R, *et al.* 2011. Towards standardization of the description and publication of next-generation sequencing datasets of fungal communities. *New Phytologist* 191: 1469-8137.
- Ho M-W. 2011. How Food Affects Genes. The Institute of Science in Society Report no. 30/11/11.
- Iqbal J, Siegrist JA, Nelson JA, McCulley RL. 2012. Fungal endophyte infection increases carbon sequestration potential of southeastern USA tall fescue stands. *Soil Biology and Biochemistry* 44: 81-92.
- James P. 2006. Marabou 2005: Nutrition and human development. *Nutrition Reviews* 64: S1-S11.
- Juma C, Yee-Cheong L. 2005. Innovation: applying knowledge in development. New York. UN Millennium Project.
- Kiers ET, Leakey RRB, Izac AM, Heinemann JA, Rosenthal E, Nathan D, Jiggins J. 2008. Ecology: Agriculture at a crossroads. *Science* 320: 320-321.
- Kuldau G, Bacon C. 2008. Clavicipitaceous endophytes: Their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses. *Biological Control* 46: 57-71.
- Lairon D. 2010. Nutritional quality and safety of organic food. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 30: 33-41.
- Lee K, Pan JJ, May G. 2009 Endophytic *Fusarium verticillioides* reduces disease severity caused by *Ustilago maydis* on maize. *FEMS Microbiology Letters* 299: 31-37.
- Lombard KA, Forster-Cox S, Smeal D, O'Neill MK. 2006. Diabetes on the Navajo nation: what role can gardening and agriculture extension play to reduce it? *Rural and remote health [electronic resource]*. 6: 640.
- Lucero ME, Unc A, Cooke P, Dowd S, Sun S. 2011. Endophyte Microbiome Diversity in Micropropagated *Atriplex canescens* and *Atriplex torreyi* var *griffithsii*. *PLoS ONE* 6: e17693.

- Lynch JP. 2007. Roots of the second Green Revolution. *Australian Journal of Botany* 55: 493-412.
- Mann H. 1848. Education and National Welfare. Massachusetts State Board of Education.
- Moran MS, Peters DPC, McClaran MP, Nichols MH, Adams MB. 2008. Long-term data collection at USDA experimental sites for studies of ecohydrology. *Ecohydrology* 1: 377-393.
- Okon Y. 1985. Azospirillum as a potential inoculant for agriculture. *Trends in Biotechnology* 3: 223-228.
- Ortiz R, Crouch JH, Crossa J, Braun H-J, Dodds JH, Trethowan R, Ferrara GO, Iwanaga M. 2007. High yield potential, shuttle breeding, genetic diversity, and a new international wheat improvement strategy [electronic resource]. *Euphytica* 157: 365-384.
- Peters DPC, Sala OE, Allen CD, Covich A, Brunson M. 2007. Cascading events in linked ecological and socioeconomic systems. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5: 221-224.
- Peters DPC, Pielke Sr RA, Bestelmeyer BT, Allen CD, Munson-McGee S, Havstad KM. 2004. Cross-scale interactions, nonlinearities, and forecasting catastrophic events. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 15130-15135.
- Peters SJ. 2006. "Every farmer should be awakened": Liberty Hyde Bailey's vision of agricultural extension work. *Agricultural History* 80: 190-219.
- Plett JM, Martin F. 2011. Blurred boundaries: Lifestyle lessons from ectomycorrhizal fungal genomes. *Trends in Genetics* 27: 14-22.
- Porras-Alfaro A, Herrera J, Sinsabaugh RL, Odenbach KJ, Lowrey T, Natvig DO. 2008. Novel root fungal consortium associated with a dominant desert grass. *Applied and Environmental Microbiology* 74: 2805-2813.
- Richardson AE. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Functional Plant Biology* 28: 897-906.

- Rodriguez H, Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17: 319-339.
- Rodriguez R, Redman R. 2008. More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: Plant stress tolerance via fungal symbiosis. *Journal of Experimental Botany* 59: 1109-1114.
- Sachs JD. 2005. Investing in development: A practical plan to achieve the millennium development goals. New York. UN Millennium Project.
- Sanchez PA, Swaminathan MS. 2005. Cutting World Hunger in Half. *Science* 307: 357-359.
- Schardl CL, Leuchtman A, Spiering MJ. 2004. Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. Pages 315-340. *Annual Review of Plant Biology*.
- Smith AG, Croft MT, Moulin M, Webb ME. 2007. Plants need their vitamins too. *Current Opinion in Plant Biology* 10: 266-275.
- Stanger TF, Lauer JG. 2008. Corn grain yield response to crop rotation and nitrogen over 35 years. *Agronomy Journal* 100: 643-650.
- Swaminathan MS. 2010. From Green to an Evergreen Revolution. Pages 27-40. *Science and sustainable food security: selected papers of M S Swaminathan*. Singapore: World Scientific Publishing Company Pte. Ltd.
- Usfar AA, Lebenthal E, Atmarita, Achadi E, Soekirman, Hadi H. Obesity as a poverty-related emerging nutrition problems: The case of Indonesia. *Obesity Reviews* 11: 924-928.
- White L, Stauss JH, Nelson CE. 2006. Healthy families on American Indian reservations: A summary of six years of research by Tribal College faculty, staff, and students. *American Indian Culture and Research Journal* 30: 99-114.

CAPÍTULO 5

PLAN ESTRATÉGICO FINAL

1. Conclusiones y recomendaciones

La microbiota rizosférica es crucial y determinante en la productividad de plantas sometidas a estrés. Aquí en este caso nosotros hipotetizamos que la superior tolerancia de *Suaeda mexicana* y *Atriplex canescens* a suelos sódico-salinos y periodos de sequía estaba asociado a un microbioma con características que permiten soportar estas condiciones adversas.

Incrementar la tolerancia de las plantas a suelos salinos no sólo contribuye a incrementar nuestra comprensión de la fisiología básica y de la evolución vegetal, sino también nos permite mejorar el crecimiento de cultivos que garantizan la seguridad alimentaria.

Este proyecto tuvo como resultado el aislamiento microorganismos salinofílicos, fueron 24 especies bacterianas y una especie de hongo, todos ellos con alta capacidad de sobrevivencia en ambientes salinos de 4% de NaCl. Solo un aislamiento tuvo la capacidad de sobrevivir en condiciones de salinidad que son 10% de NaCl que se considera un ambiente extremófilo. Posteriormente se hicieron pruebas para evaluar capacidad promotora de crecimiento vegetal de cada uno de estos aislamientos y se encontró que más del 50% tienen capacidad promotora y de beneficio.

Varios autores han demostrado que el microbioma, la comunidad de bacterias y hongos asociados a una planta pueden ser la clave para entender la adaptación de especies vegetales a su hábitat (Coleman, D & Tringe, S. 2014; Redman, R. *et al.*, 2002). Un ejemplo es el fenómeno conocido como simbiosis de adaptación al hábitat, el cual significa que la adaptación de la planta al ambiente adverso es a menudo logrado a través de asociaciones simbióticas con hongos endófitos no micorrizicos, Rodríguez, *et al.* (2008) encuentra que los endófitos *Curvularia protuberata* (pleosporales) aislado de plantas de una geoterma y *Fusarium culmorum* (Hypocreales) aislado de plantas de dunas costeras y suelos salinos cercanos, ambos microorganismos muestran potencial para la comercialización con

beneficios en cultivos de alta demanda e incremento de tolerancia en suelos salinos. Aunado a este hecho Lucero, *et al.* (2008) reporta que el aislamiento individual de especies microbianas, una mezcla de hongos y bacterias endófitas que habitan las semillas de plantas del desierto del género *Atriplex*, fueron aislados y posteriormente transferidos a cultivos y se encontró que dicha mezcla microbiana tiene la capacidad de conferir beneficios funcionales en cultivos, similares a los que otorga en las especies nativas del desierto de donde se aislaron.

Estos hallazgos implican que las nuevas características vegetales reguladas por microorganismos no solamente se realizan o aplican para miembros individuales de la comunidad vegetal, sino que también puede desarrollarse una cooperación en las funciones del microbioma (Labeis, 2012; Bulgarelli, 2013). Estos estudios han tenido un profundo impacto en el desarrollo de biofertilizantes, generando un cambio de enfoque de estudios planta-microorganismo al de interacciones microbioma-planta. Una gran cantidad de reportes actuales han subrayado y develado que la influencia del microbioma total en el metabolismo vegetal, en la respuesta a sequía y hasta en los procesos fenológicos como la floración.

2. Aplicación de la Biotecnología en desarrollo local

Una de sus estrategias para generar empleos mejor remunerados es el diseño de agendas para la competitividad de sectores económicos de alto valor agregado y contenido tecnológico, así como de sectores precursores como la nanotecnología, la biotecnología y la mecatrónica, denominados así por su fuerte incidencia sobre diversas actividades productivas y porque se prevé que su aplicación será determinante para el desarrollo competitivo de los países como México.

La biotecnología es una de las áreas del conocimiento científico que ha logrado una evolución más acelerada en las últimas décadas y una de las que mayor

impacto ha tenido en el desarrollo de diversos sectores económicos, en particular los orientados al mejoramiento en salud, producción agrícola, producción pecuaria, prevención del deterioro y mejoramiento del ambiente, así como a la transformación industrial orientada a la producción de bienes diversos, fármacos y alimentos.

Países que contaban con un nivel de desarrollo comparable al de México en la década de los 80's, en el siglo pasado, han basado su crecimiento económico en el desarrollo de biotecnología. Canadá, España, Italia, Corea del Sur y Cuba, han desarrollado industria con importantes éxitos comerciales provenientes de la biotecnología. En la actualidad, países de Sudamérica y Europa Oriental desarrollan también procesos y productos basados en biotecnología para la generación de empresas productivas.

Por lo anterior se ha considerado necesario llevar a cabo en este último capítulo una estrategia identificada en la forma de un plan, un programa, indicadores y procedimientos, podrán entonces evaluarse con el fin de seleccionar aquéllas que mayor factibilidad de aplicación de los resultados de esta tesis para abonar a la sostenibilidad México, así como servir de plataforma para la construcción de estrategias propias de desarrollo nacional en biofertilizantes y biotecnología productiva.

Este proyecto demostró que potencialmente es posible contribuir a mejorar la respuesta de plantas que son cultivadas en ambientes adversos, como suelos salinos o con carencia de agua mediante la aplicación de microorganismos, elaborando biofertilizantes por procesos biotecnológicos.

De acuerdo con los resultados de ésta tesis, se cuenta con los elementos suficientes para el desarrollo de una tecnología sencilla, segura y con recursos locales con la finalidad de aprovechar subproductos agropecuarios elaborando una

formula líquida biofertilizante que contenga uno o varios de los microorganismos que cepas microbianas tienen un amplio potencial de uso, ya sea solos o como consorcio bacteriano.

Además de tener la capacidad para esporular, lo que les confiere un potencial para formulación en seco (polvo o talcos), también interactúa de forma positiva con amaranto (*Amaranthus spp*) observándose mejoras en su crecimiento por lo que se valida con argumentos científicos de la eficacia de una potencial fórmula como biofertilizante promotor de crecimiento vegetal.

3. Propuesta de plan estratégico

De manera sintética se presenta la propuesta de aplicación de la tecnología a través de la metodología de marco lógico considerando que es un método analítico que permite presentar en forma resumida y estructurada una estrategia (Schiavón, 2010).

Tabla 9. Marco lógico de la estrategia propuesta

Lógica de Intervención	Indicadores de productos	Medios de verificación	Supuestos
Contribuir a mejorar la sostenibilidad de los procesos para garantizar soberanía alimentaria.	(Valor de la producción en el año t / valor de la producción en el año t-1)-1)*100	Valor de la producción en la SAGARPA	Acceso a financiamiento de Programas de Gobierno. Interés de los involucrados para mejorar su ambiente y calidad de vida a través de la organización.
Implementación de tecnologías para producción	Productores, agricultores, empresas que	Porcentaje de productores,	Apoyo institucional para informar,

agrícola sostenible	aplican el paquete tecnológico satisfechos / Productores, agricultores, empresas que aplican el paquete tecnológico insatisfechos.	agricultores) que aplican el paquete tecnológico propuesto después de 2 años.	capacitar, organizar y asesorar a grupos de productores.
C1: Biofertilizante a base de microorganismos que interactúan con plantas en ambientes adversos	Cumple con los parámetros de control de calidad fisicoquímicos y microbiológicos preestablecidos.	pH 6.5, 4% de ácidos orgánicos, 1×10^8 UFC/mL	Disposición de los agricultores interesados en la producción de alimentos sostenible. de queso para donar y utilizar Apoyo financiero para gastos operativos para validar proyectos.
C:2 Agricultores con interés en restaurar suelos, disminuir uso de agroquímicos.	Hectáreas en proceso de restauración con esta tecnología	Litros de formulación producida y utilizado/año	Apoyo financiero para gastos operativos.
A1: Contratación de un prestador de servicios profesionales (Agencia de Desarrollo Rural) para la atención y ejecución de la estrategia.	Evaluación de desempeño por parte del Centro Estatal de Evaluación (SAGARPA).	Según normativa vigente y acta de satisfacción de productores.	PSP sensibilizado sobre la problemática a resolver.
A2: Convocatoria a productores y autoridades locales.	Numero de Reuniones informativas con autoridades locales	Por lo menos 3 por año.	Apoyo de instituciones e instancias de gobierno.

A3: Reuniones de planificación participativa.	Numero de reuniones. Número de asistentes.	Por lo menos 3 al año.	Producers informados participativos.
A4: Establecer un convenio entre instituciones y productores cooperantes para producción comercialización de cultivos con certificación orgánica.	Reuniones Cumplimiento del contenido del convenio: aprovechamiento de	Cumplimiento de convenio y financiamiento por dos años consecutivos.	Continuidad y compromiso por parte de instancias gubernamentales y productores.
A5: Establecer un centro demostrativo de producción de biofertilizantes Establecer una parcela demostrativa para producción de forrajes (alfalfa y maíz)	Producción constante de lactofermento. de alfalfa maíz regada con lactofermento visitada por productores locales.	Producción de 200 L/día de formula biofertilizante	Productores no usan fertilizantes, ni fungicidas, ni productos químicos.
A6: Establecer una parcela demostrativa para producción de forrajes (alfalfa y maíz).	Parcela demostrativa de alfalfa maíz adicionada con formula biofertilizante	Transferencia tecnológica de al menos 5 productores al año.	Apoyo institucional para hacer campañas de capacitación, información y divulgación.
A6: Reuniones de seguimiento a productores.	Promover el uso de biofertilizantes como sustituto o complemento de	Por lo menos 3 al año.	Interés por parte de instituciones y productores.

	agroquímicos. Reuniones con participantes de investigación (Municipio, SEFOA, INIFAP, SAGARPA)		

5. Marco Institucional en México

Esta es una propuesta que responde al gran desafío que enfrentan los científicos del siglo XXI que es la necesidad de abordar las amenazas reales y globales creadas por el aumento de la demanda de alimentos y combustibles, la disminución de los servicios de los ecosistemas y el cambio climático. Entre los diversos recursos disponibles para abordar estas amenazas, las comunidades microbianas complejas que influyen en todos los ecosistemas son las más infrautilizadas y poco comprendidas. No obstante, el potencial microbiano para aumentar la producción de combustible y alimentos al tiempo que mejora la gestión de los recursos naturales para el desarrollo sostenible es alto.

Esta estrategia de aplicación de la tesis es un plan multi agente que empleará biología de sistemas para definir interacciones complejas entre comunidades microbianas terrestres y sistemas vegetativos. Se pondrá énfasis especial en 1) la dinámica en los ecosistemas áridos, que representan 1/3 de las masas terrestres de la tierra, 2) endófitos transmitidos por semillas, que representan los taxones mejor posicionados para influir en la producción primaria, y 3) microbios del suelo asociados a plantas que influyen en el secuestro de carbono orgánico e inorgánico.

Este documento de tesis es la base para un plan local-regional, que puede replicarse a nivel nacional. Se basa en un análisis de interacciones complejas y de múltiples escalas entre microbios, plantas y hábitats coordinará los esfuerzos de

científicos, agricultores, productores y agroindustriales que están explorando las interacciones microbianas del suelo y endófitos en sistemas de plantas huésped representativos de hábitats naturales, manejados y experimentales geográficamente distintos.

Trabajos posteriores deberán contener hallazgos que revelarán principios relevantes para determinar cuándo y bajo qué condiciones las modificaciones a las comunidades microbianas serán útiles para administrar la productividad de la planta, la garantía de soberanía alimentaria y los sumideros terrestres de carbono. Tales principios tendrán implicaciones poderosas para mitigar los efectos del cambio climático, aumentar la producción de biocombustibles, reducir la huella de carbono asociada con la producción moderna de alimentos y restaurar los ecosistemas comprometidos por perturbaciones antropogénicas.

6. Importancia de la investigación

Las crecientes demandas de alimentos, según lo proyectado por el crecimiento de la población y las tendencias de desarrollo, la disminución de los servicios de los ecosistemas y el cambio climático representan amenazas reales para la sostenibilidad global. Los factores causales pueden atribuirse a las prácticas modernas en energía y agricultura, que dependen de los recursos naturales y los servicios de los ecosistemas. Durante mucho tiempo se ha aceptado que las prácticas que cambian el consumo hacia recursos "renovables" aliviarán las amenazas planteadas por las tendencias actuales, y se ha invertido un esfuerzo considerable en mejorar la productividad de la planta para aumentar la producción de alimentos y combustibles.

Irónicamente, las ganancias históricas de productividad han resultado en mayores demandas de energía, aumentando la tasa de agotamiento de los recursos naturales. Mientras tanto, los aumentos generalizados en la productividad de las plantas a través de la ingeniería genética de las plantas, que podrían reducir la

huella de carbono de la agricultura moderna al reducir la necesidad de insumos químicos, han tardado en obtener una gran aceptación, no sólo porque son costosos de desarrollar y probar, sino porque las preocupaciones públicas sobre la seguridad ambiental de los OGM son altas. En resumen, es poco probable que la ingeniería genética de plantas logre los rápidos avances de transformación necesarios para abordar las demandas globales aceleradas de mayor productividad primaria (también conocida como mayor producción de biomasa dirigida a combustible, forraje y / o restauración ambiental y sostenibilidad).

Los avances en la detección molecular de microbios no cultivados han abierto las puertas a nuevas tecnologías en la productividad primaria basada en microbios. Hoy en día, los roles de microbios en la producción de aceites combustibles útiles, la estabilización del suelo, la purificación de sitios contaminados y la facilitación de la adquisición de nutrientes de las plantas a través de la rizosfera son temas de intensa investigación. Claramente, los avances logrados a través de estas líneas de investigación continuarán produciendo importantes avances. Sin embargo, la mayor parte de estos esfuerzos no incluyen dos clases de microbios con un potencial significativo para influir en el ciclo global del carbono, a saber, las semillas, los endófitos transferidos verticalmente y los microbios involucrados en la precipitación de carbonato de calcio inorgánico.

La investigación propuesta en este estudio aprovechará los proyectos de investigación de tierras áridas a largo plazo liderados por Lucero y Monger, respectivamente, para integrar estudios basados en 1) persistencia y transferencia de endófitos microbianos transmitidos por semillas que influyen en la productividad primaria de la planta huésped, y 2) microbios del suelo asociados con microbiomas de arbustos en tierras áridas que secuestran carbono en forma de carbonato de calcio (el mayor sumidero de carbono terrestre global) con análisis más amplios de la diversidad microbiana a lo largo del continuo planta-suelo. El objetivo será lograr una comprensión amplia de las interacciones microbianas en las escalas celular, vegetal, comunitaria y del paisaje para transformar la comprensión de la dinámica

microbiana que influye en la producción primaria de las plantas y el ciclo del carbono terrestre en múltiples niveles de complejidad ambiental.

7. Referencias

- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., Ver Loren van Themaat, E. & Schulze-Lefert, P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 807–838 (2013).
- Coleman-Derr, D. & Tringe, S. G. Building the crops of tomorrow: advantages of symbiont-based approaches to improving abiotic stress tolerance. *Front. Microbiol.* 5, 283 (2014).
- Friesen, M. L. *et al.* Microbially mediated plant functional traits. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 42, 23–46 (2011).
- Lebeis, S. L., Rott, M., Dangl, J. L. & Schulze-Lefert, P. 28th New Phytologist Symposium: culturing a plant microbiome community at the cross-Rhodes (meeting report). *New Phytol.* 196, 341–344 (2012).
- Lucero, M. E., Barrow, J. R., Osuna, P., Reyes, I. & Duke, S. E. Enhancing native grass productivity by cocultivating with endophyte-laden calli. *Rangeland Ecol. Manage.* 61, 124–130 (2008).
- Redman, R. S., Sheehan, K. B., Stout, R. G., Rodriguez, R. J. & Henson, J. M. Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science* 298, 1581 (2002).
- Rodriguez, R. J. *et al.* Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *ISME J.* 2, 404–416 (2008).
- Vandenkoornhuysen, P., Quaiser, A., Duhamel, M., Le Van, A. & Dufresne, A. The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytol.* 206, 1196–1206 (2015).

Anexo A. *Atriplex pueblensis*

Hierbas perennes, postradas, muy ramificadas desde la base, Tallos cilíndricos, prismáticos desde la porción media, comúnmente furfuráceos, leñosos en la base, de hasta 55cm. Hojas sésiles o subsésiles, rara vez con pecíolos de hasta 5 mm. Oblongas, angostamente elípticas, (6-) 12-28 (-35) mm de largo, (2-) 4-8 (-14) mm de ancho, paulatinamente menores distalmente; haz comúnmente verde claro, glabro, envés densa y permanentemente furfuráceo, nervadura central evidente, las secundarias y terciarias rara vez evidentes; ápice agudo a redondeado, mucronulado; margen irregularmente dentado a entero, las hojas distales enteras; base aguda a cuneada. Inflorescencia en glomérulos unisexuales y mixtos axilares, los compuestos por flores estaminadas en espigas terminales discontinuas de hasta 30mm de largo, a veces formando panículas, los compuestos por flores pistiladas axilares. Bractéolas del fruto connadas hasta la porción terminal; sésiles a subsésiles; obladas, transversalmente elípticas a transversalmente rómbicas, 2.5-4 mm de largo, de 3-6mm de ancho; caras con un par de apéndices, densa y permanentemente farináceas, comúnmente rojizas; margen entero el primer tercio proximal, después con 5-9 dientes de subfoliáceos a foliáceos. Semillas de 1-2 mm de diámetro, de color pardo. Número cromosómico $2n=18$.

Distribución y hábitat. México, endémica de la zona árida poblana. Matorral xerófilo en suelos calizos como ruderal.

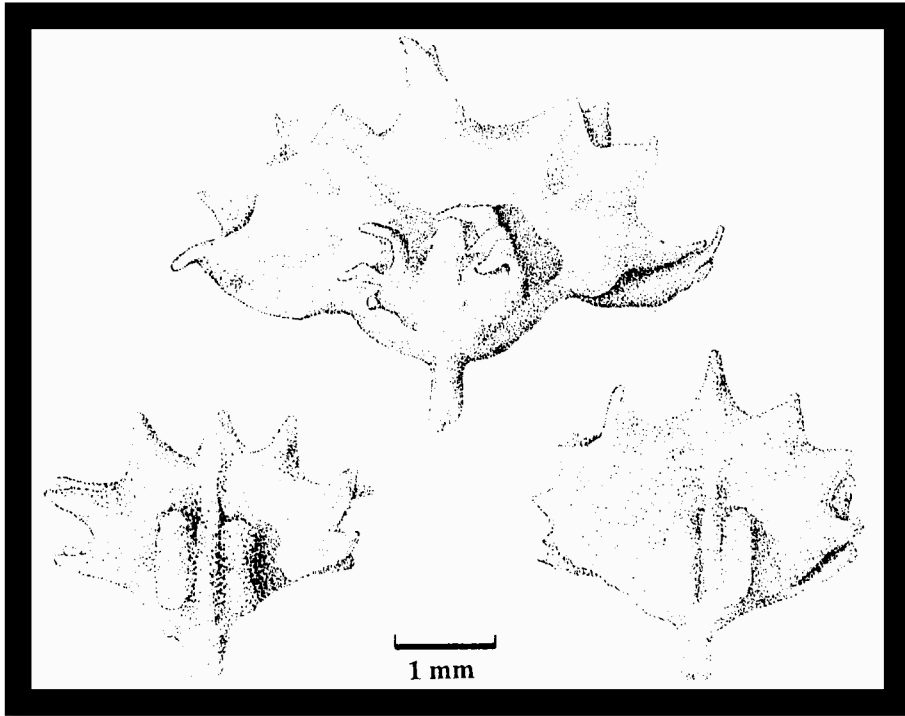


Figure 25. *Atriplex pueblensis* Standl.

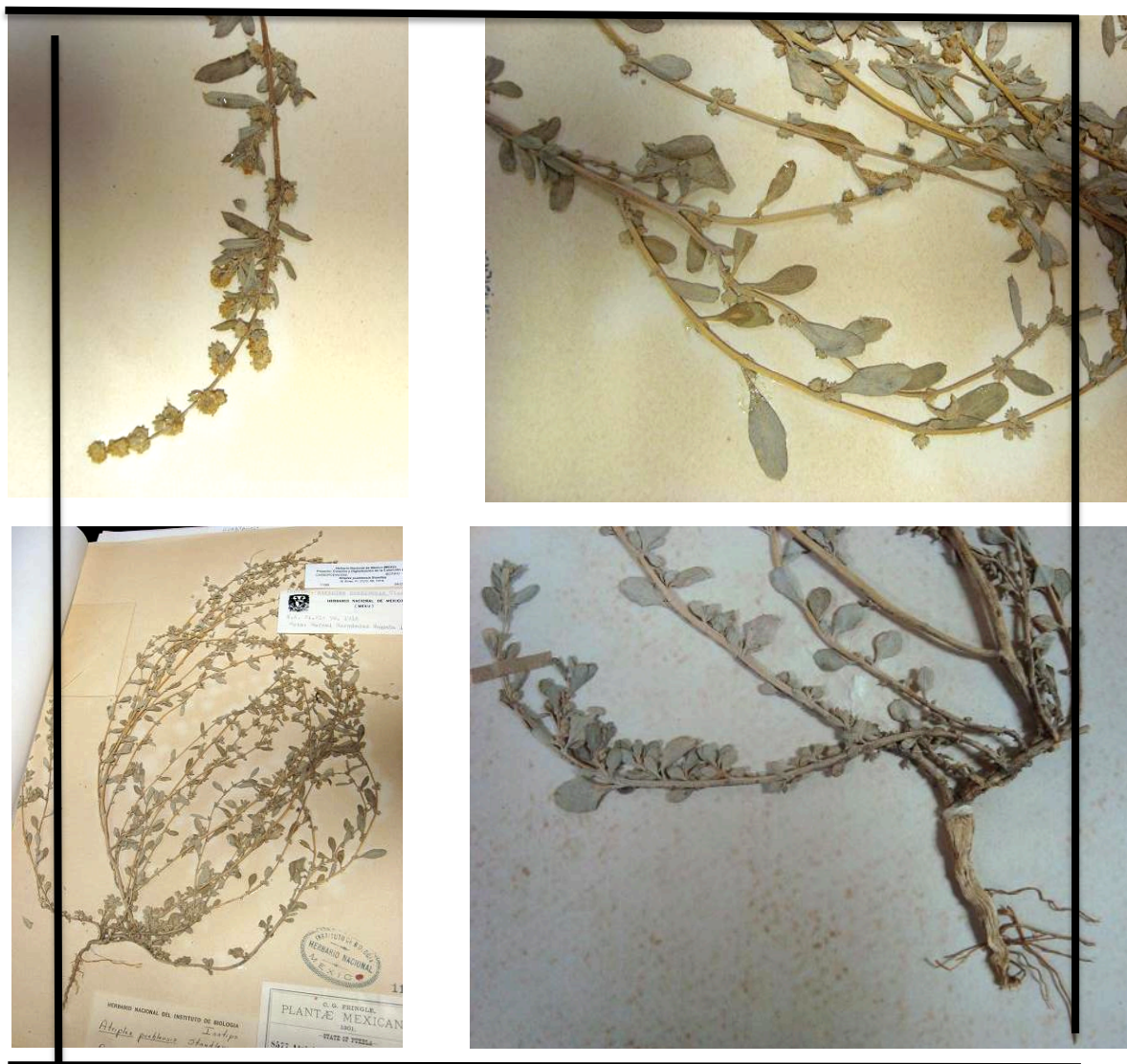


Figure 26. Isotipo de *Atriplex pueblensis*. MEXU. Recolectado en el estado de Puebla, cerca de Tehuacan

ANEXO B. Publicaciones

Biodiversidad del suelo, conservación de la naturaleza y sostenibilidad

Fecha de recepción: 09/10/2007

Fecha de aceptación: 10/10/2007

Angélica Ruiz-Font¹

Este trabajo examina documentalmente la importancia de la biodiversidad de suelos y la investigación de ecosistemas para las diferentes estrategias de sostenibilidad que el hombre se ha puesto como meta. Estos logros proveen un marco de investigación futura para incrementar y manejar las teorías ecológicas y para incorporar conocimiento al manejo sostenible de suelos y ecosistema.

Palabras clave

Diversidad microbiana, biodiversidad en suelo, conservación.

Key words

Microbial diversity, soil biodiversity, conservation

Resumen

Este trabajo examina documentalmente la importancia de la biodiversidad de suelos y la investigación de ecosistemas para las diferentes estrategias de sostenibilidad que el hombre se ha puesto como meta. Estos logros proveen un marco de investigación futura para incrementar y manejar las teorías ecológicas y para incorporar conocimiento al manejo sostenible de suelos y ecosistema.

Los retos para el futuro son muchos y aún no se han alcanzado en lo que respecta al suelo. Hemos subrayado los puntos que son retos en ecología de suelos con la esperanza de intensificar las interacciones

entre los ecólogos y otras ciencias, estimulando estudios integrados.

Este trabajo se construye con una visión de que la salud de suelo es la base de una sostenibilidad global.

Abstract

This work documentarily examines the importance of the soil biodiversity and the investigation of ecosystems for the different strategies from sustainability that the man has put itself as his goals. These profits provide with a frame of future analysis to increase and to handle the ecological theories and to incorporate knowledge to the sustainable soil management.

The challenges for the future are many and not yet they have been reached with regard to the soil. We have emphasized the points that are challenges in soil ecology with the hope to intensify the interactions between the ecologists and other sciences being stimulated integrated studies. This work is constructed with a vision of the ground health is the base of a global sustainability.

1. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional, Tlaxcala, México y alumna del Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo (DOCINADE), Instituto Tecnológico de Costa Rica. Correo electrónico: afont@ijm.mx.

Es un hecho que la aparición de las enfermedades degenerativas está asociada a la aparición de la síntesis química. Esto implica la necesidad de contar con una agricultura orgánica sostenible. Por otro lado, cada vez tenemos yacimientos minerales para obtener fertilizantes, por ejemplo piedra fosfórica. La forma sostenible de corregir ambos retos es el uso de la biodiversidad del suelo.

Introducción

Es un hecho que la aparición de las enfermedades degenerativas está asociada a la aparición de la síntesis química. Esto implica la necesidad de contar con una agricultura orgánica sostenible. Por otro lado, cada vez tenemos yacimientos minerales para obtener fertilizantes, por ejemplo piedra fosfórica. La forma sostenible de corregir ambos retos es el uso de la biodiversidad del suelo.

Nuestro conocimiento de las relaciones entre biodiversidad en suelos está creciendo rápidamente en los ecosistemas de regiones templadas y, buscando la simplicidad de algunos ecosistemas, se ha estudiado la diversidad en lugares como la Antártida o pastorales de montaña. En las últimas décadas, muchas regiones cubiertas por vegetación prístina de bosques tropicales han sido sustituidas por sistemas agrícolas (Noble y Dirzo, 1997), pecuarios o silvícola; en contraposición, las áreas con suelos degradados se han incrementado rápidamente (Dobson, 1997). Las causas de deforestación en los trópicos son muy complejas y muy a menudo estas no incluyen la tala comercial junto con las plantaciones de gran escala. La mayor causa es la presión del incremento en la población humana, fuertemente asociada con problemas de pobreza y la pérdida de oportunidades para obtener ingresos por medio de la agricultura o empleos bien remunerados. Sin embargo, cuando los bosques son clareados, allí puede darse la agricultura intensiva (por ejemplo, un régimen de cultivo simple o de ciclo corto), lo que lleva a una rápida pérdida del suelo y su fertilidad (Matson, P.A. et al., 1997). Los remanentes de bosque prístino por lo general se encuentran en regiones remotas, donde las densidades de población son bajas y los pobladores locales son altamente dependientes de los productos forestales y tienen poco

acceso al grueso de la economía de mercado.

La agricultura intensiva, la biodiversidad y la función del ecosistema

Los datos mundiales de intensificación de la agricultura nos llevan a dos hipótesis globales con respecto a la sostenibilidad de suelos (Swift, 1997).

H₁: la intensificación de la agricultura dará como resultado una reducción en la biodiversidad de suelos, llevando a una pérdida en la función en detrimento de la resistencia y la productividad sostenible, y

H₂: La diversificación en la agricultura aumenta la resistencia del ecosistema y la productividad sostenible debido a incremento en la biodiversidad del suelo.

H₁ y H₂ no son simplemente hipótesis opuestas en el sentido de que se espera que ocurra un retraso de una con respecto a la evolución de la otra o que por ocurrir efectos destructivos de la intensificación agrícola se dé el restablecimiento de la biodiversidad del suelo mediante el manejo. Las causas directas comienzan a emerger entre la intensificación, la biodiversidad y el funcionamiento de los ecosistemas, pero por desgracia no parece ser universal para todos los grupos de organismos (Giller et al. 1997).

Un análisis comparativo entre las diferentes condiciones agroecológicas de los diferentes países requiere una media de cuantificación del grado de intensidad de la agricultura. El término "intensificación" tiene diferentes interpretaciones en relación con el uso de la tierra, economía y eficiencia agrícola. La intensificación ha sido definida en función de varios parámetros: intensidad del uso de la tierra, la que a su vez depende de la fertilización mineral, el uso de pesticidas, la energía fósil y la irrigación del agua.

Cuadro 1. Evaluación de los beneficios económicos de la diversidad de suelos. Adaptado de Pimentel et al., 1997.

Actividad	Grupo microbiano involucrado	Beneficios económicos (x\$10 ⁶)
Procesos de reciclaje de basura	Saprófitos, invertebrados que se alimentan de <i>litter</i> , hongos, bacteria, actinomicetos	760
Formación de suelo	Biota del suelo que faculta su formación: lombrices, hongos, hormigas.	25
Fijación biológica de nitrógeno	Bacterias diazótrofas	90
Biorremediación	Mantenimiento de la biodiversidad de suelos y en agua es imperativo para mantener la efectividad de los biotratamientos	121
Biotecnología	Poco más de la mitad de los beneficios económicos de la biotecnología relacionada con la agricultura involucra a bacterias fijadoras de nitrógeno y reguladoras del crecimiento vegetal.	6
Biocontrol	El suelo provee de microhábitats para los enemigos naturales de plagas, la biota del suelo contribuye a incrementar la resistencia de plantas.	160
Polinización	Muchos polinizadores tienen una fase edáfica en su ciclo de vida	200
Alimentación	Por ejemplo hongos, setas, lombrices, pequeños artrópodos.	180
TOTAL		1542

Hay, sin embargo, una amplia gama de beneficios económicos que nos da la biodiversidad del suelo (cuadro 1). Pimentel et al (1997) recalcan que no solo para la agricultura, sino, también, en la protección ambiental, la bioprospección o la conservación de la vida salvaje.

¿Qué deberíamos de conservar? Desarrollo de criterios

Si un área protegida (terrestre o acuática) está siendo evaluada para una propuesta de conservación, es deseable considerar la diversidad de especies y hábitats, el tamaño del área, la rareza del ecosistema. Por lo general, los suelos no son explícitamente incluidos en ningún criterio, pero implícitamente pueden haberse considerado por ejemplo en el "estadio sucesional". En términos de los requerimientos legales para la

designación de sitios de conservación, es importante contar con un inventario de especies y hábitats que incluyan especies endémicas, raras o en peligro de extinción (Usher, 1986).

Ellis (1996) dice que la importancia de los suelos ha estado un tanto abandonada y hasta ahora que se han materializado las propuestas de la conservación de la naturaleza y el estudio y cuidado del suelo, ha ido ganando prominencia dentro del concepto de sostenibilidad dándole cabida en los programas futuros. Este mismo autor reconoce tres criterios para seleccionar sitios aptos para conservación: 1) la importancia del sitio para la comunidad científica internacional, 2) la presencia de características excepcionales que le dan importancia científica y, 3) la importancia a escala nacional para que este sitio sea representativo de una característica, de un evento o un proceso ecológico.

Los suelos son dinámicos y su perfil puede cambiar sustancialmente la cubierta de plantas y animales. Los suelos pueden cambiar como resultado de los procesos geomorfológicos, como la erosión del material existente o el depósito de nuevos materiales.

En el grupo de criterios que ha sido seleccionado para reconocer los sitios de importancia para ser conservados biológica y científicamente, por lo general no se hace explícita la mención de los suelos; sin embargo, hay una relación estrecha entre la roca y los organismos que allí se comienzan a formar; todo esto está mediado por los suelos (Usher, 1996). No obstante existe una cuestión de por qué los suelos no tienen características que sean pensadas para la conservación o al menos esto no ha sucedido hasta mediados de los años 90. En un interés por evaluar los suelos, Yaalon (2000) se cuestiona si los suelos son un lugar común de solo mención o son sitios de verdadero estudio científico. Lamentablemente, las propuestas de conservación solo utilizan los estudios de suelo como una mera cita de caracterización, de que suceden en ese lugar.

Hay cuatro razones por la que los suelos han sido olvidados por los objetivos de la conservación:

- a) la taxonómica de suelos es relativamente muy joven y se ha entendido poco (André, 2002); es mucho mejor conocido el ensamblaje de especies o animales.
- b) No existen en los suelos especies "carismáticas" como lo es el tamandúa para Chiapas, el tigrillo, el coyote mexicano; es decir, una especie que capte la atención de la sociedad y facilite los trabajos de conservación.
- c) La pérdida de conocimiento taxonómico; no están bien descritos los hot spots de riqueza de especies en suelos, tampoco se sabe a qué se le llamaría exactamente un hot spots de actividad biológica de suelos.
- d) Los suelos tienden a estar fuera de las mentes de las persona; en general, no se le considera algo valioso.

Los suelos son dinámicos y su perfil puede cambiar sustancialmente la cubierta de

plantas y animales. Los suelos pueden cambiar como resultado de los procesos geomorfológicos, como la erosión del material existente o el depósito de nuevos materiales. La incertidumbre taxonómica que rodea a la biota del suelo hace que la diversidad de especies sea un criterio pobre y la rareza de especies es un criterio imposible de usar.

Porque se le ha dado muy poca atención al diseño de sitios por el interés del suelo, son muy limitados los datos disponibles para el diseño de estas áreas. Por ejemplo, la creación de una serie de áreas diseñadas por la Unión Europea (UE) basada en el directorio de aves de 1979 y el directorio de hábitats de 1992 que por desgracia no requirió de información de suelos. En México se han decretado 155 áreas naturales protegidas que abarcan una superficie de 18 867 731 ha, lo cual representa casi el 10% del territorio nacional, sin embargo, en ninguno de ellos se explica la necesidad de conservar la biota del suelo. La red esmeralda para conservar áreas especiales que la conforman 15 países de UE y 23 que no son parte UE, no generó dato alguno que tuviera que ver con la conservación de alguna característica de suelo.

Mientras más uso pudiera hacerse de los datos de suelo para la conservación de la naturaleza (Tower, 2002), más se podrá hacer por la conservación sostenible. Hay tres importantes facetas de la conservación en las que se valoran los suelos:

- Uno es el valor que tienen los suelos que no han sido afectados y en los que se desarrollan características de un perfil estable de un rango de biota. Por ejemplo, en México encontramos reductos de suelos volcánicos muy antiguos que han mantenido por miles de años vegetación forestal en el área protegida Pico de Orizaba, los cuales se ha encontrado que tienen una gran capacidad de resiliencia, después del cambio de uso del suelo (Ruiz-Font, 2004).

Muchas actividades de conservación están manejadas por especies que tienen un apelativo emocional para la gente. Es considerable la necesidad que de esto se requiere para obtener dinero, dinero que es fácilmente atraído para salvar especies bandera. Esto ha demostrado que estas especies a menudo llegan a ser los logos de organizaciones de conservación no gubernamentales como el panda de la WWF.

- El segundo es de importancia por la biota, especialmente de las comunidades microbianas; su importancia radica en el funcionamiento, tal es la descomposición de materia vegetal muerta, residuos de animales y contaminantes. Por desgracia, estos organismos permanecen relativamente desconocidos; sin embargo, ellos fueron importantes en los estratigicos y han sido considerados para la conservación, y algunos de ellos son importantes para el uso sostenible de suelos.
- El tercer punto es un esfuerzo para hacer en el mundo una restauración muy amplia de ecosistemas dañados y degradados (Bardgett, 2005). Como los suelos son un vital componente de todos los ecosistemas terrestres, hay de nuevo un interés en lo que es la naturaleza de conservación por la biota que vive dentro de los suelos.

Los intereses para la creación o el diseño de áreas con base en los hábitats y especies, parece que puede ser razonable según los tipos de suelo; sin embargo, este es una problema de diseño, no hay datos que muestren alguna relación entre el tipo de suelos su biodiversidad.

Muchas actividades de conservación están manejadas por especies que tienen un apelativo emocional para la gente. Es considerable la necesidad que de esto se requiere para obtener dinero, dinero que es fácilmente atraído para salvar especies bandera. Esto ha demostrado que estas especies a menudo llegan a ser los logos de organizaciones de conservación no gubernamentales como el panda de la WWF. Otros animales, como aves, tiburones, tigres, son los que se han convertido en embajadores de las diferentes propuestas de conservación. Hacer lo propio por los suelos implica un reto factible si analizamos la gran

cantidad de grupos para encontrar algún género bandera.

Indicadores de biodiversidad del suelo

Un buen indicador debe ser capaz de detectar los cambios causados por la utilización del suelo, contaminación o cambio del clima; en un suelo con una localización dada, contrastando la última historia de la utilización del suelo, de la contaminación y de la sucesión ecológica. Todavía hay, sin embargo, mucha investigación requerida para desarrollar los indicadores confiables a fin de evaluar con certidumbre la salud de la biodiversidad del suelo y del mantenimiento de su multifuncionalidad.

En el trabajo hacia estas metas, puede ser útil, en un futuro próximo, comenzar con la medida de uno o dos grupos implicados en el mantenimiento de cada función del suelo identificada en la figura 1. Tal información debe generarse de manera profunda para subsanar el déficit de nuestro conocimiento sobre biodiversidad, respondiendo a los puntos clave de cómo un ecosistema puede ser resiliente a la perturbación ambiental, en relación con la biodiversidad y funcionalidad del suelo.

Conclusiones y recomendaciones

Este documento trató de resaltar la importancia de la diversidad de suelos en el contexto de la multifuncionalidad dentro del ecosistema. Los intereses han sido enfocados en el papel que tiene la biodiversidad del suelo para mantener la multifuncionalidad. Las consideraciones más importantes se citan a continuación:

- Deben desarrollarse las ventajas para optimizar la biodiversidad del suelo en todas las áreas agrícolas, farmacéuticas, ambientales, para la producción vegetal, la protección del

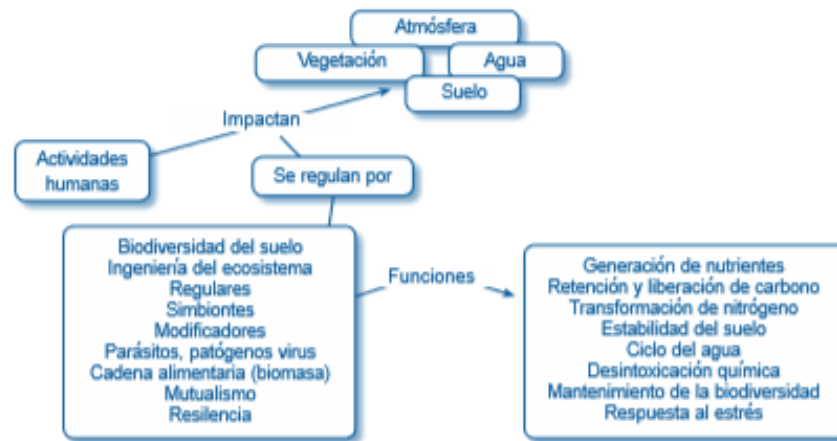


Figura 1. Diagrama que representa el significado funcional de la biodiversidad del suelo en el mantenimiento de las funciones en los ambientes terrestres.

Se necesita un mayor reconocimiento de las relaciones íntimas entre la biodiversidad del suelo y el ambiente, ya que juntos son conductores dominantes en las cualidades de la comunidad y del ecosistema (Wardle, 2002).

medio ambiente, la conservación de la naturaleza y heredar este interés.

- Debemos mejorar nuestro conocimiento de cómo las prácticas humanas impactan la biodiversidad del suelo.
- El desarrollo de los esquemas apropiados del muestreo o de la supervisión requiere métodos estandarizados de caracterización de la biodiversidad.
- Requerimos pruebas y resultados "patrón", que nos dé un estándar para la biodiversidad del suelo en diversos ecosistemas, bajo usos particulares y en respuesta a diversas presiones ambientales. Debemos contar con los elementos suficientes para poder predecir el significado de cualquier cambio en la biodiversidad.
- Esto requiere una mejor comprensión que prediga la regulación espacial y temporal de la variabilidad en la diversidad del suelo. Esta información puede ser utilizada para

destacar áreas de interés específico en el funcionamiento del suelo (por ejemplo, identificar áreas de alta prioridad de conservación), dar el sustento para desarrollar indicadores confiables directos e indirectos.

- Se necesita un mayor reconocimiento de las relaciones íntimas entre la biodiversidad del suelo y el ambiente, ya que juntos son conductores dominantes en las cualidades de la comunidad y del ecosistema (Wardle, 2002).
- Esto necesita ser considerado no solo en la supervisión de la biodiversidad del suelo, sino en el contexto más amplio de la calidad ambiental y de la política asociada.
- Poco se sabe de la dinámica de la colonización-extinción de la biota del suelo o cómo las adiciones y las cancelación de taxa o de grupos funcionales influirán productividad agrícola sostenible.

Bibliografía

- André, H.M., Ducarme, X. y Lebrun, P. 2002. *Soil biodiversity: myth, reality or conning?* *Oikos*, 96, 3-24.
- Bardgett, D. 2005. *Biological Diversity and Function in soils*. Cambridge University Press.
- Dobson, A. P., A.D. Bradshaw y A.J.M. Baker. 1997. *Hopes of the future: restoration ecology and Conservation Biology*. *Science*, 277, 515-522
- Ellis, N.V., Bowen, D.Q., Campbell, S., Knill, J.L., McKirdy, A.P., Prosser, C.D., Vincent, M.A. y Wilson, R.C.L. 1998. "An Introduction to the Geological Conservation Review", *Geological Conservation Review Series*, N.º 1
- Giller KE., Beare, M.H., Lavelle P., Izac, A-MN., y Swift, M.J. 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Appl Soil Ecology*, 6. 3-16.
- Matson, P.A., W.J. Parton, A.G. Power y M.J. Swift. 1997. Agriculture Intensification and Ecosystem Properties. *Science* 277: 504-508
- Noble IR y R Dirzo. 1997. Forests as human-dominated ecosystems. *Science*. 277: 522-525 pp.
- Pimentel D., Wilson C., McCullum C., Huang R., Dwen P., Flack J., Tran Q., Saltman T. y Cliff, B. 1997. Economic and environmental benefits of biodiversity. *Bioscience*, 47, 747-757 pp.
- Ruiz-Font A. 2004. *Cambio de uso del suelo en el Pico de Orizaba*. Tesis para obtener el grado de maestro en Ciencias. Facultad de Ciencias, UNAM. Coyoacán. México.
- Swift, M.J. 1997. Agricultural Intensification, Soil Biodiversity and Agroecosystem Function in the Tropics. *Applied Soil Ecology* 6(1): 1-2
- Towers, W., Hester, A.J., Malcolm, A. y Stone, D. 2002. The use of soils data in natural heritage planning and management. *Soil Use and Management*, 18, 26-33.
- Usher, M.B. 1986. *Wildlife conservation evaluation*. Chapman & Hall, Londres, Inglaterra. 394 pp.
- Usher, M. B. 1996. The soil ecosystem and sustainability. In *Soils, Sustainability and the Natural Heritage*, ed. by A.G. Taylor, J.E. Gordon y M.B. Usher. HMSO, Edinburgh. 22-43 pp.