



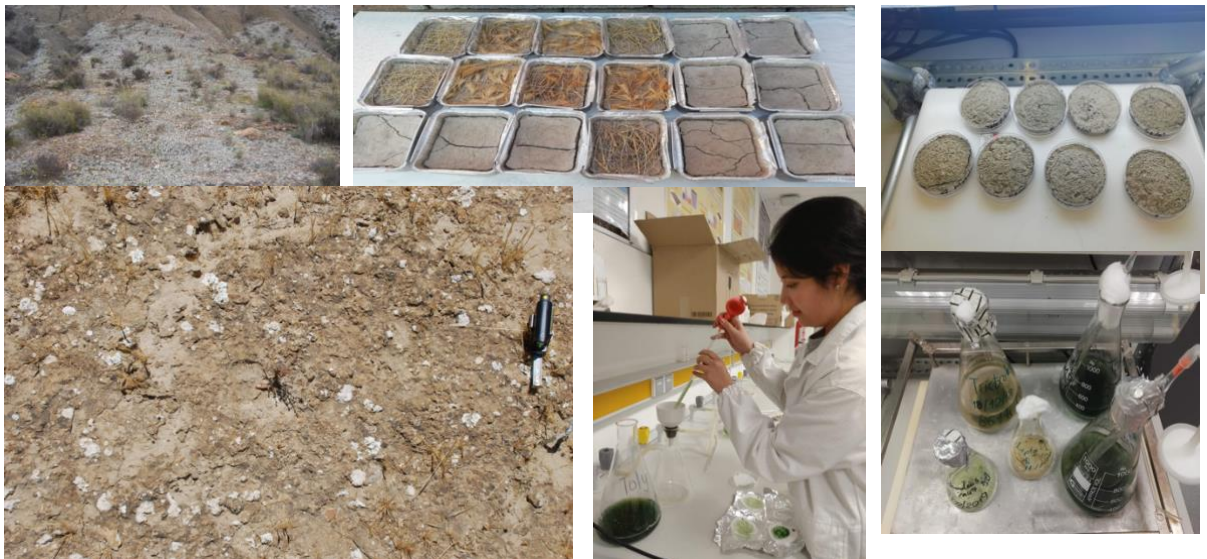
TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

Curso 2021-2022

Modalidad: Trabajo de
Investigación

UNIVERSIDAD DE ALMERIA

FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES



**Restauración de la biocostra
mediante la inoculación de suelo
con cianobacterias y estrategias
de reducción del estrés
ambiental.**

Autora: Sandra Milena Ordoñez Vargas

Tutoras: Sonia Chamizo de la Piedra

Beatriz Roncero Ramos

Agradecimientos

Quiero transmitir mi más sincero agradecimiento a todos los que me han ayudado a lo largo de esta etapa y han aportado muchísimo a este trabajo de fin de grado.

En primer lugar, a Sonia y a Bea, gracias por tanta paciencia, por la información y organización en este trabajo. Gracias a todo el equipo por el apoyo durante este proceso.

En segundo lugar, a mi familia, a mi mamá, papá y hermano por tanta dedicación y esfuerzo por hacer posible el sueño de venir a estudiar a otro país. Gracias a mi buen amigo Edu, gracias por la paciencia explicándome a utilizar programas como Mendeley y demás cosas del ordenador.

Gracias a la universidad de Almería por acogerme y hacerme sentir como en casa estos años, ha sido un muy buen periodo de aprendizaje académico y personal.

Mil gracias.

Índice

| | |
|--|----|
| Resumen/Abstract | 3 |
| 1. Introducción | 7 |
| 2. Material y Métodos | 10 |
| 2.1 Toma de muestras de suelo | 10 |
| 2.2 Preparación del inóculo de cianobacterias | 12 |
| 2.3 Inoculación del suelo con cianobacterias en condiciones de laboratorio | 13 |
| 2.4 Inoculación del suelo con cianobacterias y aplicación de estrategias de reducción del estrés en condiciones de exterior | 14 |
| 2.5 Variables analizadas | 16 |
| 2.6 Análisis estadístico | 17 |
| 3. Resultados | 17 |
| 3.1 Efecto de la inoculación de cianobacterias sobre la formación de la biocostra en condiciones de laboratorio | 17 |
| 3.2 Efecto de la inoculación de cianobacterias combinado con estrategias de reducción del estrés ambiental sobre el desarrollo de la biocostra | 19 |
| 4. Discusión | 23 |
| 5. Conclusiones | 25 |
| 6. Referencias bibliográficas | 25 |

Índice de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1. Biocostras ocupando los espacios entre las plantas en las tierras secas. a) Biocostra dominada por cianobacterias; b) Biocostra dominada por líquenes; c) Biocostra dominada por musgos | 8 |
| Figura 2. Vista general de la zona seleccionada ("El Cautivo" desierto de Tabernas) para la toma de muestras de suelo | 11 |
| Figura 3. Cultivo de diferentes especies de cianobacterias en matraces en laboratorio | 12 |
| Figura 4. Seguimiento de las placas inoculadas en condiciones de laboratorio: a) Suelo inoculado; b) Suelo no inoculado (control) | 13 |
| Figura 5. Preparación del inóculo y aplicación sobre el suelo | 14 |
| Figura 6. Bandejas con los suelos bajo los diferentes tratamientos aplicados | 15 |
| Figura 7. Reflectancia de los suelos control e inoculados en condiciones de laboratorio | 17 |
| Figura 8. Carbono orgánico en los suelos control e inoculados en condiciones de laboratorio después de tres y seis meses | 19 |
| Figura 9. Curva de reflectancia de los diferentes tratamientos establecidos en el experimento en exterior: a) después de 3 meses; b) después de 6 meses | 20 |
| Figura 10. Carbono orgánico en los diferentes tratamientos: a) Medida tomada a los 3 meses; b) Medida tomada a los 6 meses. | 22 |

Índice de Tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. p- valores obtenidos de la ANOVA de medidas repetidas para analizar el efecto del tiempo y tratamiento en el experimento en condiciones de laboratorio | 18 |
| Tabla 2. Albedo y NDVI (media +- desviación estándar) en los suelos control e inoculados después de 3 y 6 meses desde la inoculación en condiciones de laboratorio | 18 |
| Tabla 3. p-Valores obtenidos de la ANOVA de medidas repetidas para analizar el efecto del tiempo y tratamiento en el experimento en exterior | 21 |
| Tabla 4. Albedo y NDVI de los diferentes tratamientos, en el experimento en exterior | 21 |
| Tabla S1. Valor promedio del Carbono Orgánico total (g/kg) para los distintos tratamientos en el experimento en exterior | 32 |

Resumen

Palabras clave: *cianobacterias, tierras secas, degradación del suelo, carbono orgánico, restauración, mallas vegetales*

Las tierras secas constituyen el bioma más grande de la Tierra, en el cual vive una parte importante de la población mundial. El cambio global está aumentando la degradación del suelo en estas áreas y, debido a la escasez de agua, los métodos tradicionales de restauración basados en el establecimiento de plantas no tienen mucho éxito. Por lo tanto, en los últimos años se está desarrollando una nueva herramienta de restauración para recuperar suelos de tierras secas, basada en la recuperación de la biocostra. Las biocostras son comunidades de microalgas, líquenes, musgos, bacterias heterótrofas, hongos y cianobacterias, que forman una capa estable y más fértil en los primeros centímetros del suelo en la mayoría de tierras secas del mundo. Las biocostras tienen un papel crucial en muchos procesos del ecosistema, en tanto disminuyen la erosión por el viento y el agua, aumentan la fertilidad del suelo y la biodiversidad, y afectan positivamente el balance hídrico. Un método para inducir la formación de la biocostra -una vez que ésta se ha perdido por alguna perturbación- es la inoculación del suelo con cianobacterias previamente aisladas, provenientes de biocostras del área a restaurar y cultivadas en laboratorio, para su posterior aplicación en el suelo. Varios estudios han mostrado resultados positivos de la inoculación del suelo con cianobacterias sobre la formación de la biocostra y la mejora de las propiedades del suelo en condiciones de laboratorio. Sin embargo, sólo unos pocos estudios han obtenido resultados exitosos en campo debido al alto estrés ambiental. La aplicación de estrategias de reducción del estrés ambiental puede ayudar al crecimiento y establecimiento del inóculo, sobre todo en los primeros estadios tras su aplicación. En este trabajo, evaluamos el efecto de la inoculación con cianobacterias sobre un suelo degradado de una zona semiárida de la provincia de Almería (El Cautivo, desierto de Tabernas), primero en condiciones de laboratorio y posteriormente el efecto de la inoculación junto con estrategias de reducción del estrés ambiental basadas en el uso de mallas vegetales, en condiciones de exterior. En el laboratorio, la inoculación de una mezcla de cianobacterias fijadoras de N y no fijadoras de N, dio lugar a la formación de una biocostra sólo tres meses después de su aplicación, lo cual aumentó el carbono orgánico en comparación con los suelos no inoculados, así como el índice NDVI y disminuyó el albedo. En exterior, el efecto de la inoculación directa con cianobacterias tuvo un efecto limitado. Sin embargo, la aplicación de cubiertas vegetales hechas a base de *Lygeum spartum* y *Stipa capensis* mejoró

significativamente el crecimiento del inóculo después de 3 y 6 meses. Las variables medidas (carbono orgánico, NDVI y albedo) mostraron una ligera mejora en comparación con los controles y los suelos inoculados sin la cubierta vegetal. Estos resultados indican que el empleo de estrategias de reducción del estrés ambiental basadas en mallas vegetales mejora el crecimiento del inóculo y la formación de la biocostra en campo, pudiendo contribuir a una más rápida recuperación de los suelos degradados en las tierras secas.

Abstract

Keywords: *cyanobacteria, drylands, soil degradation, organic carbon, restoration, vegetal meshes*

Drylands are the largest biome on Earth where an important part of the world population lives. Global change is increasing land degradation in these areas and, due to water scarcity, traditional restoration methods based on plant establishment are not very successful. Therefore, a new restoration tool is being developed in the last years to restore dryland soils based on the recovery of the biocrust. Biocrusts are communities of microalgae, lichens, mosses, heterotrophic bacteria, fungi and cyanobacteria, which form a stable and more fertile layer within the first centimetres of soil surface in most drylands around the world. Thus, biocrusts play crucial roles in ecosystem processes as they decrease erosion by wind and water, increase soil fertility and biodiversity, and positively affect the water balance. One method to induce biocrust formation once it has been lost due to some disturbance consists of the soil inoculation with native cyanobacteria, previously isolated on the area to be restored and cultured in the laboratory, for their later application on soil. Several studies have shown positive results in inducing biocrusts and improving soil properties in laboratory conditions. However, just a few have been able to obtain successful results in field due to the harsh environmental stress. In this work, we first evaluated the effect of cyanobacteria inoculation on a degraded soil collected from a semiarid area in the province of Almería (El Cautivo, Tabernas desert) in laboratory conditions and then its effect together with application of habitat amelioration techniques based on plant covers in an experiment outdoors. In the laboratory, soil inoculation with a mixture of N and non-N fixing cyanobacteria led to the formation of a biocrust just after three months since application, that increased the organic carbon of soils compared with the non-inoculated soils, as well as the NDVI index and decreased soil albedo. In the experiment outdoors, cyanobacteria inoculation alone showed limited success. However, application of vegetable

meshes made with *Lygeum spartum* and *Stipa capensis* significantly improved inoculum growth after 3 and 6 months. The variables measured (organic carbon, NDVI and albedo) showed a slight improvement compared with controls and the noncovered inoculated soils. These results indicate that the application of habitat amelioration techniques based on vegetal meshes improves inoculum growth and biocrust induction in the field, likely contributing to a faster recovery of degraded soils in drylands.

1. Introducción

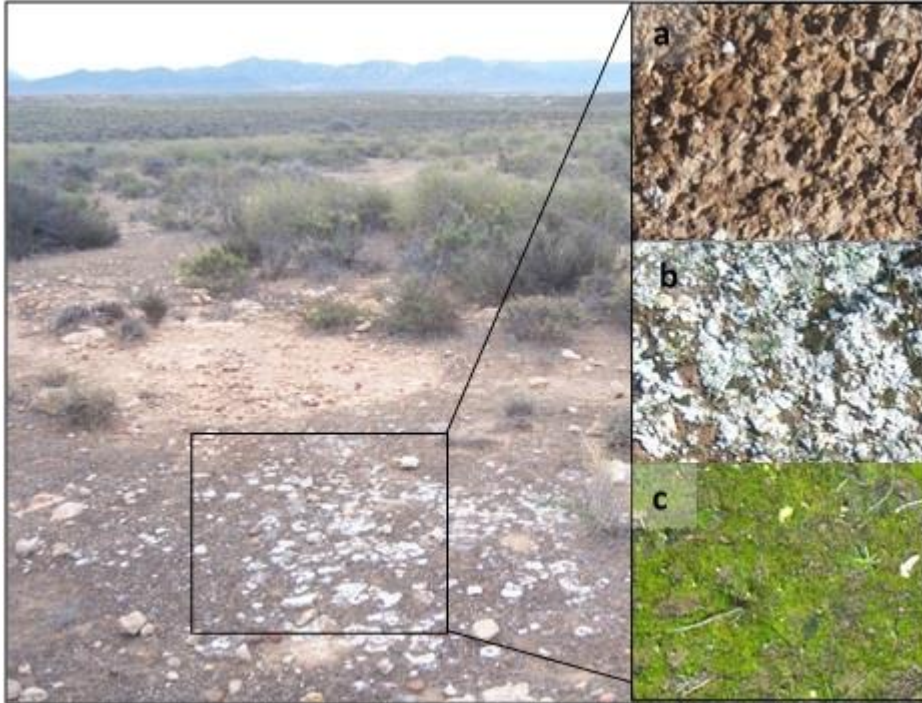
Las tierras secas -o drylands- ocupan aproximadamente el 45% de la superficie de la Tierra (Prävālie, 2016) y albergan al 38% de la población mundial (Reynolds et al., 2007). La degradación del suelo, que afecta a un 33% de la superficie terrestre (FAO, 2015), afecta especialmente a las tierras secas debido a la escasez de agua, la baja cobertura vegetal y la presencia de suelos poco desarrollados, con bajo contenido en materia orgánica (Reynolds et al., 2007). Estos problemas se ven además agravados por la creciente presión antrópica sobre estas áreas. La intensificación del suelo y el efecto del cambio climático son las principales causas del aumento de la degradación del suelo en estas regiones, la cual provoca que 12 millones de hectáreas de las tierras secas se degraden cada año (Reid et al., 2017). Según los datos del IPCC (Stocker et al., 2013), durante los próximos años se estiman períodos más prolongados de sequía y un aumento en la frecuencia de eventos extremos, lo que exacerbará los problemas de degradación del suelo en estas zonas. La degradación del suelo en las tierras secas puede culminar en desertificación, es decir, cambios en las propiedades del suelo que reducen su capacidad para retener agua y nutrientes, provocando la pérdida de productividad y graves problemas ambientales y socioeconómicos que afectan especialmente a las personas que viven en los países en desarrollo (FAO, 2015). Por tanto, es necesario implantar medidas para evitar o reducir la degradación del suelo en las tierras secas y, cuando sea necesario, medidas para restaurar eficazmente las zonas que ya han sido degradadas (UNCCD, 2017).

Los métodos tradicionales de restauración, generalmente basados en el establecimiento de una cobertura vegetal, a menudo no tienen éxito debido a las condiciones adversas que se dan en las tierras secas (James et al., 2013). Por lo tanto, es importante explorar nuevos métodos de restauración, que sean eficientes en estas áreas (Orr et al., 2017).

Una comunidad que ha despertado interés en los últimos años es la costra biológica del suelo o biocostra, formada por la asociación entre partículas del suelo y distintos organismos como cianobacterias, microalgas, bacterias, hongos, líquenes, briófitos, entre otros (Belnap et al., 2016) (Figura 1).

Figura 1.

Biocostras ocupando los espacios entre las plantas en las tierras secas: a) Biocostra dominada por cianobacterias; b) Biocostra dominada por líquenes; c) Biocostra dominada por musgos



Nota. Elaboración Propia. Fotografías tomadas durante el proceso de investigación

Las biocostras pueden llegar a ocupar hasta el 70% de la superficie entre plantas en las tierras secas y, aunque representan una parte muy pequeña del perfil del suelo (de unos cuantos milímetros), juegan un papel ecológico importante, ya que regulan el intercambio de gases, agua y nutrientes desde y hacia el suelo (Belnap et al., 2001). Además, tienen como efecto la fijación del carbono y nitrógeno atmosféricos (Elbert et al., 2012; Rodríguez-Caballero et al., 2018 a), aumentando el contenido en materia orgánica del suelo y, por tanto, incidiendo en su fertilidad (Chamizo et al., 2012). Por otro lado, las biocostras influyen en numerosas propiedades del suelo que afectan al movimiento del agua, por ejemplo, la rugosidad, la porosidad, la hidrofobia, el agrietamiento y el albedo, regulando la disponibilidad de agua en el suelo (Chamizo et al., 2016). Así mismo, producen exopolisacáridos que agregan las partículas del suelo (Chamizo et al., 2019) y forman un entramado sobre la superficie que aumenta su estabilidad, protegiéndolo de la erosión hídrica (Cantón et al., 2014; Chamizo et al., 2017) y eólica (Fattahi et al., 2020). Debido al papel tan importante que juegan las biocostras en las tierras secas y su capacidad para sobrevivir y colonizar estos ambientes, en

los últimos años ha crecido el interés en su uso como vehículo de restauración de estas zonas (Abinandan et al., 2019; Rossi et al., 2017).

Uno de los organismos más interesantes que se están utilizando para inducir la formación de la biocostra son las cianobacterias. Las cianobacterias son las primeras colonizadoras de los ecosistemas terrestres y pioneras en la sucesión de la biocostra (Mager & Thomas, 2011). Son capaces de sobrevivir a altos niveles de radiación UV, gracias a la producción de pigmentos protectores como la escitonemina (Dojani et al., 2011). Además, son muy resistentes a la sequía, quedándose en estado latente en ausencia de agua y reactivándose cuando el agua está disponible de nuevo (Rajeev et al., 2013). Las cianobacterias son capaces de fijar el carbono atmosférico – y algunas de ellas también el nitrógeno atmosférico-, liberando el carbono y nitrógeno fijados en el suelo y haciéndolo disponible para el resto de los organismos que coexisten en el lugar (Belnap et al., 2001).

Numerosos estudios han demostrado los efectos positivos de la inoculación del suelo con cianobacterias sobre la fertilidad en suelos agrícolas, sobre todo en cultivos anegados en Asia (Prasanna et al., 2009, 2013; Priya et al., 2015; Singh et al., 2016). En suelos de zonas áridas y semiáridas, se ha demostrado la eficacia de la inoculación de diferentes cepas de cianobacterias como *Microcoleus* spp., *Phormidium* spp., *Nostoc* spp. o *Scytonema* spp., sobre la formación de la biocostra y la mejora de diferentes propiedades y funciones del suelo como el aumento del contenido en carbono orgánico y nitrógeno (Román et al., 2018; Roncero-Ramos, Román, et al., 2019 a) la estabilidad de la superficie (Chamizo et al., 2018; Mugnai et al., 2018) o la reducción de la erosión hídrica y eólica (Fattahi et al., 2020; Sadeghi et al., 2020). Mientras que la inoculación del suelo con cianobacterias muestra resultados muy exitosos en condiciones de laboratorio, su eficacia en condiciones de campo es mucho más limitada. Existen algunos ejemplos de su aplicación exitosa en desiertos de China, donde la inoculación del suelo con diferentes especies de cianobacterias ha contribuido a la fijación de dunas de arenas, facilitando la posterior colonización de organismos más tardíos en la sucesión de la biocostra como líquenes y musgos, así como de plantas vasculares (Chen et al., 2006; Li et al., 2014; Wang et al., 2009). Sin embargo, aunque se sabe que son capaces de sobrevivir en ambientes extremos, la mayoría de los estudios disponibles revelan que las condiciones que se dan en estas zonas reducen la supervivencia y colonización del inóculo. Una forma de optimizar el crecimiento del inóculo en campo es mediante el empleo de estrategias de reducción del estrés ambiental, consistentes, por ejemplo, en la utilización de enmiendas de paja para estabilizar dunas previo a la inoculación (Wang et al., 2009), o también la adición de agentes adherentes, nano estabilizadores o pegamentos para mejorar la estabilidad del suelo (Park et

al., 2017). Además, se ha probado el uso de mallas o telas que proporcionan sombra, reduciendo así la radiación UV y aumentando la disponibilidad de agua (Condon & Pyke, 2016). La mayoría de estos estudios se han llevado a cabo en suelos de zonas áridas de Norteamérica o China, y, en muchos casos, empleando mallas de materiales sintéticos. La aplicación de estrategias basadas en la recuperación de la biocostra podría dar resultados muy positivos para restaurar zonas degradadas del sureste español, donde las condiciones ambientales extremas disminuyen el éxito de la restauración tradicional basada en la implantación de vegetación. Además, junto a la inoculación del suelo con cianobacterias, la aplicación de estrategias de reducción del estrés basadas en plantas nativas contribuiría de forma eficiente, además de sostenible, a acelerar la formación de la biocostra y a la recuperación de las funciones del suelo, ayudando así a la restauración del ecosistema.

El objetivo de este trabajo es analizar el efecto que tiene la inoculación del suelo con cianobacterias sobre el desarrollo de la biocostra y la mejora de las propiedades del suelo con el fin de usar esta estrategia para restaurar suelos degradados de zonas áridas. Dado el éxito más limitado de la inoculación con cianobacterias en condiciones naturales, se analizará además cómo la aplicación de estrategias de reducción del estrés basadas en el uso de plantas nativas puede ayudar a mejorar la supervivencia y crecimiento del inóculo.

En función de lo mencionado, los objetivos específicos son:

1. Analizar el efecto de la inoculación de cianobacterias sobre la formación de la biocostra y las propiedades del suelo en un suelo árido degradado, en condiciones de laboratorio.
2. Analizar el efecto combinado de la inoculación de cianobacterias junto con estrategias de reducción del estrés ambiental basadas en el uso de plantas nativas sobre la formación de la biocostra y las propiedades del suelo, en condiciones de exterior.

2. Material y Métodos

2.1 Toma de muestras de suelo

Para el desarrollo de este estudio se tomaron muestras de suelo de la zona experimental “El Cautivo” (37°00'38.6"N, 2°26'30.2"W). Se trata de una zona de badlands situada en el desierto de Tabernas, el cual se encuentra rodeado por Sierra Alhamilla, Sierra de los Filabres, Sierra Nevada y la Sierra de Gádor. Se encuentra a una altitud entre 245 m y 385 m aproximadamente sobre el nivel del mar (Cantón et al., 2003) (Figura 2).

Figura 2

Vista general de la zona seleccionada –“El Cautivo” desierto de Tabernas- para la toma de muestras de suelo.



Nota. Elaboración Propia. Fotografías tomadas durante el proceso de investigación

El clima es semiárido mediterráneo, caracterizado por una precipitación media anual de 235 mm, cayendo principalmente en invierno, y con veranos largos y secos. La temperatura media anual es de 17.8°C, y la evapotranspiración potencial anual es de aproximadamente 1500 mm. La textura del suelo es franco limosa (30% arena, 59% limo, y 11% arcilla), con un bajo contenido en carbono orgánico (< 1%). El pH es de 7.6 y la conductividad eléctrica es 1.09 dS m⁻¹ en los primeros 5 cm de suelo (Chamizo et al., 2012). La topografía es accidentada y la vegetación está formada por un matorral mediterráneo de bajo porte y cobertura. Así, el paisaje se caracteriza por presentar un mosaico de teselas formado por plantas perennes dispersas, entre las que domina *Machrochloa tenacissima*, y plantas anuales y costras físicas y biológicas que cubren más del 80% de la superficie del suelo (Cantón et al., 2004).

Para el estudio se seleccionó un área degradada por procesos erosivos y se tomaron muestras de suelo entre 0-10 cm de profundidad, las cuales fueron transportadas al laboratorio. En esa instancia se dejaron secar al aire y se tamizaron para eliminar los fragmentos rocosos y posibles restos vegetales, y así obtener la fracción de tierra fina (< 2 mm). A continuación, el suelo se autoclavó dos veces a 120°C durante 20 minutos para eliminar la fracción biótica y evitar su interferencia con las cianobacterias inoculadas y posible influencia sobre los resultados obtenidos.

2.2 Preparación del inóculo de cianobacterias

Para llevar a cabo los experimentos de inoculación con cianobacterias, se usaron cepas previamente aisladas de muestras de biocostra (0-1 mm) tomadas de diferentes zonas semiáridas de la provincia de Almería, llevándose adelante su identificación mediante análisis genéticos y morfológicos (Roncero-Ramos et al., 2019 b) Se utilizaron cuatro cepas de cianobacterias filamentosas: *Nostoc commune* (CANT2 UAM817) y *Tolypothrix distorta* (CANT7 UAM825), ambas fijadoras de nitrógeno, y *Leptolyngbya frigida* (CAU10 UAM837) y *Trichocoleus desertorum* (CAU7 UAM832), no fijadoras de nitrógeno, pero con una alta capacidad para secretar exopolisacáridos y mejorar la agregación del suelo (Mugnai et al., 2018). Cada cepa se cultivó por separado en matraces que contenían medio de cultivo BG11₀ (sin N, para las especies fijadoras de nitrógeno) y BG11 (con N, para las especies no fijadoras) y luego se pasaron a matraces más grandes, de 1 a 5 litros (Figura 3).

Figura 3.

Cultivo de diferentes especies de cianobacterias en matraces en laboratorio



Nota. Elaboración Propia. Fotografías tomadas durante el proceso de experimentación.

Las muestras se cultivaron a 25°C con iluminación continua y agitación, utilizando un agitador a 125 rpm. La concentración se determinó a partir del peso seco, que se determinó

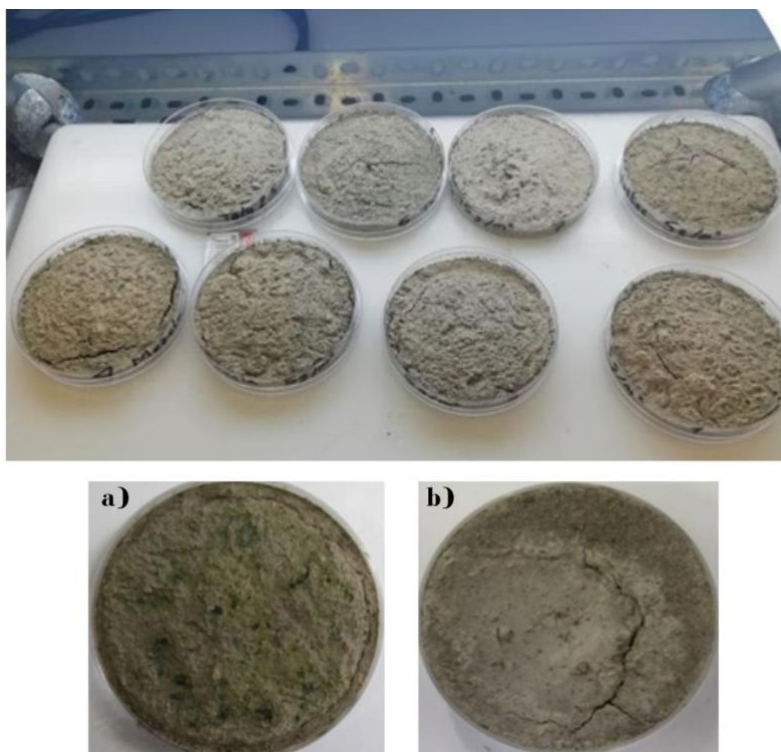
filtrando un volumen de cultivo y secando luego el filtro con la biomasa en una estufa a 50 °C durante 48 horas, para su posterior pesaje.

2.3 Inoculación del suelo con cianobacterias en condiciones de laboratorio

Para evaluar el efecto de la inoculación de cianobacterias sobre la formación de la biocostra se llevó a cabo un experimento inicial en el laboratorio. Se rellenaron placas de Petri de 66 cm² con 60 gramos del suelo previamente tamizado y autoclavado, y se regó con 20 ml de agua destilada para propiciar su sellado. Una vez que los sustratos se secaron, las muestras se inocularon a una concentración de biomasa de 6 gr. de peso seco por m² (40 mg de biomasa por muestra), con las cuatro especies (*L. frigida*, *T. desertorum*, *N. commune* y *T. distorta*) en la misma proporción (1:1:1:1) (Figura 4).

Figura 4.

Seguimiento de las placas inoculadas en condiciones de laboratorio: a) Suelo inoculado; b) Suelo no inoculado (control)



Nota. Elaboración propia. Fotografías tomadas durante el proceso de experimentación.

La cantidad de inóculo aplicada se determinó de acuerdo con un estudio previo (Román et al., 2018) y algunas otras pruebas preliminares con los suelos de estudio. La biomasa se distribuyó homogéneamente sobre toda la superficie de la placa, esparciendo pequeños

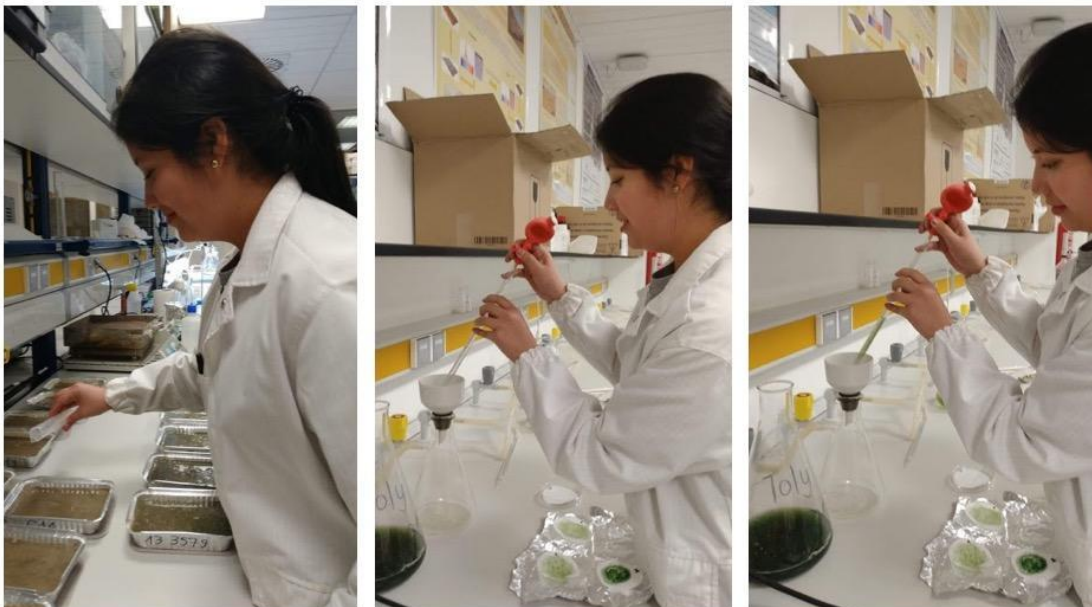
volúmenes con una pipeta. Así mismo, se prepararon controles (suelos no inoculados) a los que se aplicó una cantidad equivalente de agua destilada. Se prepararon 8 placas de Petri (4 inoculadas y 4 controles). Las muestras se incubaron en el laboratorio a 25°C, con iluminación fija e irrigación frecuente (10 ml de agua destilada, tres veces por semana), con el fin de procurar unas condiciones óptimas para el crecimiento del inóculo.

2.4 Inoculación del suelo con cianobacterias y aplicación de estrategias de reducción del estrés en condiciones de exterior

Dado que la supervivencia y crecimiento del inóculo de cianobacterias puede verse limitado en condiciones naturales debido a factores ambientales adversos, se llevó a cabo un experimento en el exterior, en el que además de analizar el efecto de la inoculación del suelo con cianobacterias, se examinó su eficacia junto con la aplicación de cubiertas vegetales. Para ello, se usaron plantas nativas, una anual y una perenne, ampliamente representadas en la zona donde se tomaron las muestras de suelo y, en general, en el sureste español: *Stipa capensis* y *Lygeum spartum*.

Figura 5

Preparación del inóculo y aplicación sobre el suelo



Nota. Elaboración propia. Fotografías tomadas durante el proceso de experimentación.

Para llevar a cabo el experimento, se prepararon bandejas de aluminio de 250 cm² de superficie y se rellenaron con 350 gramos de suelo autoclavado. En estos suelos se llevó a cabo la inoculación con la misma mezcla de cianobacterias empleada en el experimento de

laboratorio (Figura 5). De esta forma, se aplicó una mezcla de las especies *L. frigida*, *T. desertorum*, *N. commune* y *T. distorta*, en una proporción de 22%, 22%, 22% y 34% y aplicando el inóculo a una concentración total de 5 g m⁻², lo que equivalió a 125 mg de biomasa en cada bandeja. En los tratamientos que incluyeron la cubierta vegetal, se colocaron las plantas anuales sobre la superficie del suelo, cada una por separado y lo más homogéneamente posible. Por tanto, los tratamientos aplicados fueron: 1) control (suelo no inoculado y sin cubierta vegetal) (“Control”), 2) suelo inoculado con el consorcio de cianobacterias (“Inoculado”); 3) suelo inoculado y cubierto por *S. capensis* (“Inoculado SC”), 4) suelo inoculado y cubierto por *L. spartum* (“Inoculado LS”), 5) suelo no inoculado cubierto por *S. capensis* (“Control SC”) y 6) suelo no inoculado cubierto por *L. spartum* (“Control LS”). Se consideraron cuatro repeticiones para cada tratamiento, lo que sumó un total de 24 bandejas (Figura 6).

Figura 6.

Bandejas con los suelos bajo los diferentes tratamientos aplicados.



Nota. Elaboración propia. Fotografías tomadas durante el proceso de experimentación.

Las muestras de suelo se dejaron en exterior, en una zona del campus de la Universidad de Almería, de forma que estuvieran expuestas a las condiciones ambientales (temperatura, luz, viento, etc.) pero protegidas de la lluvia, para evitar así el encharcamiento de las muestras y su deterioro en caso de eventos intensos. Durante la época en que se realizó este proyecto, tuvieron lugar algunos eventos de lluvia. Para simular la disponibilidad de agua durante el periodo de

estudio, tras cada evento de lluvia se aplicó una cantidad de agua (en mm) equivalente a la lluvia acontecida. El experimento se inició en febrero de 2019, coincidiendo con la época en que las condiciones eran más favorables para la supervivencia de las cianobacterias, y tuvo una duración de 6 meses.

2.5. Variables analizadas

Tanto en el experimento en condiciones controladas como en el experimento en exterior, después de 3 y 6 meses, se midió la reflectancia del suelo en las diferentes muestras usando un espectroradiómetro ASD portátil FieldSpec® Hand Held (ASD Inc., Boulder, Colorado, EE.UU.) que tiene una resolución óptica de 3,5 nm de 325 a 1075 nm. Las mediciones espectrales se realizaron en condiciones de luz constante y con una fibra óptica situada a una distancia de aproximadamente 16 cm sobre la muestra, para, de este modo, abarcar la superficie equivalente a una placa de Petri. Antes de comenzar las mediciones, se adquirió una referencia blanca utilizando un panel Spectralon (r) con un 99.9% de reflectancia. La medida sobre cada placa o bandeja consistió en la media interna de tres espectros individuales, obteniéndose por tanto cuatro espectros de cada tratamiento, que fueron posteriormente promediados. Previamente, se realizó un pretratamiento de los datos que consistió en eliminar las bandas ruidosas (325-400 y 900-1075 nm) y en aplicar un filtro de suavizado (Savitzky & Golay, 1964).

Con la información espectral se calcularon dos variables: a) Albedo en la región visible (VIS), que se calculó como el promedio de la reflectancia entre 400 y 700 nm. b) Índice de vegetación de diferencia normalizada o NDVI que se calculó según la siguiente ecuación:

$$NDVI = [NIR - RED] / [NIR + RED]$$

donde NIR es el valor de la reflectancia a 800 nm y RED es la reflectancia a 670 nm.

Después de medir la reflectancia de la superficie en los diferentes tratamientos, se tomaron muestras de la superficie del suelo (0-3 mm) para determinación del contenido de carbono orgánico (CO) mediante el método de Walkley y Black -modificado por Mingorance et al. (2007)-. Para ello, se pesó 0,1 g de suelo finamente molido y se añadió 3 ml de $K_2Cr_2O_7$ 1N y 6 mL de H_2SO_4 , seguido de agitación en vortex durante 10 minutos, tras lo cual se dejó reposar durante 3 horas y, a continuación, se añadieron 10 mL de agua destilada. Tras 48 horas, se midió la cantidad resultante de Cr^{3+} resultante de la oxidación del carbono orgánico en la solución sobrenadante a través de la medida de absorción a 590 nm en un espectrofotómetro. El contenido en carbono orgánico se determinó a partir de una curva de calibración usando soluciones estándar de sacarosa con concentraciones crecientes.

2.6 Análisis estadístico

El efecto de los diferentes tratamientos en el tiempo (3 y 6 meses) sobre las variables analizadas (albedo, NDVI y CO) se determinó mediante una ANOVA de medidas repetidas. En primer lugar, se llevó a cabo la prueba de Kolmogorov-Smirnov para comprobar si los datos seguían una distribución normal. Posteriormente, se aplicó una ANOVA de medidas repetidas, usando el tiempo como factor intra-sujeto (con dos niveles), y el tratamiento como factor inter-sujeto. Diferencias significativas entre tratamientos para cada tiempo se analizaron posteriormente con el test post-hoc de Tukey de comparación por pares. Para la estadística inferencial se estableció un nivel de significación de $p < 0.5$. Los análisis se llevaron a cabo usando el programa estadístico SPSS (IBM, versión 22.0).

3. Resultados

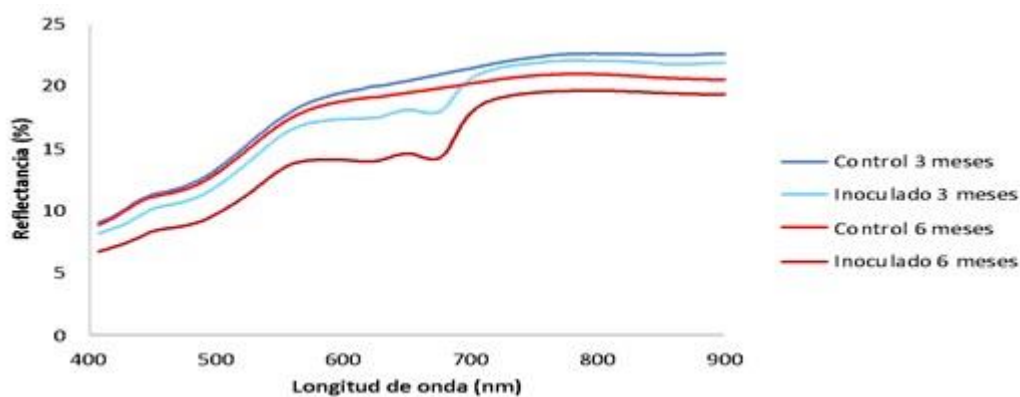
En este apartado se presentan los resultados obtenidos en función de los objetivos específicos inicialmente planteados.

3.1 Efecto de la inoculación de cianobacterias sobre la formación de la biocostra en condiciones de laboratorio

La inoculación del suelo con cianobacterias dio lugar a la formación de una biocostra artificial que se evidenció por el oscurecimiento de la superficie, y el color verde debido a la colonización del suelo por las cianobacterias. La Figura 7 muestra la curva de la reflectancia de los suelos controles e inoculados después de 3 y 6 meses.

Figura 7

Reflectancia de los suelos control e inoculados en condiciones de laboratorio.



Nota. Elaboración propia. Software Microsoft Excel. Resultados obtenidos durante el proceso de experimentación.

En el gráfico se puede observar que la reflectancia para los suelos inoculados es más baja que en los controles. En los suelos inoculados se observa un pico de absorción a 670 nm debido a la presencia de clorofila *a* que no aparece en los suelos sin inocular. Además, esta absorción por la clorofila *a* fue mucho mayor a los 6 que, a los 3 meses, indicando el crecimiento del inóculo con el tiempo.

El resultado de la ANOVA de medidas repetidas (Tabla 1) indicó que el tiempo tuvo un efecto significativo sobre el albedo, mientras que el tratamiento (con o sin inóculo) tuvo un efecto marginalmente significativo sobre el albedo. La interacción del tratamiento y el tiempo tuvo un efecto significativo sobre el NDVI. En el caso del CO, ambos factores tuvieron un efecto significativo.

Tabla 1

p-valores obtenidos de la ANOVA de medidas repetidas para analizar el efecto del tiempo y tratamiento en el experimento en condiciones de laboratorio

| | p-Valor | | |
|---------------------------|--------------|--------------|--------------|
| | Albedo VIS | NDVI | CO |
| Tratamiento | 0.077 | 0.000 | 0.000 |
| Tiempo | 0.000 | 0.643 | 0.000 |
| Tratamiento*Tiempo | 0.080 | 0.016 | 0.081 |

Nota. Elaboración Propia. Resultados significativos ($p < 0.05$) entre tratamiento y tiempo.

Tabla 2

Albedo y NDVI (media +- desviación estándar) en los suelos control e inoculados después de 3 y 6 meses desde la inoculación en condiciones de laboratorio.

| Tratamientos | 3 meses | | 6 meses | |
|------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | Albedo VIS | NDVI | Albedo VIS | NDVI |
| Control | 16,3 ± 0,8 ^a | 0,04 ± 0,0 ^b | 15,8 ± 0,7 ^a | 0,03 ± 0,0 ^b |
| Inoculado | 14,4 ± 0,6 ^b | 0,10 ± 0,01 ^a | 11,7 ± 1,0 ^b | 0,16 ± 0,03 ^a |

Nota. Elaboración Propia. Las letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos (control e inoculado).

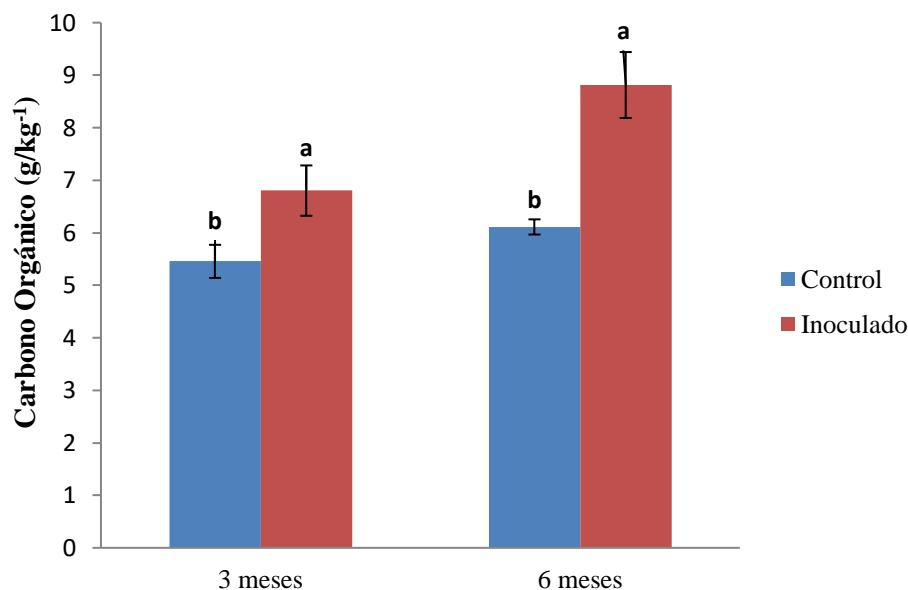
Así, el albedo en el visible fue significativamente más bajo en los suelos inoculados que en los controles después de 3 meses (Tabla 2). El NDVI fue significativamente más alto en los suelos inoculados que en los controles. Un patrón similar se observó después de 6 meses, con

valores significativamente más bajos de albedo y significativamente más altos de NDVI en los suelos inoculados que en los suelos no inoculados. Además, se observaron diferencias en los suelos inoculados tras 3 y 6 meses. Aunque el albedo no disminuyó significativamente, el NDVI sí aumentó con el tiempo en los suelos inoculados.

La aplicación del inóculo produjo un aumento significativo del contenido en carbono orgánico. Después de 3 meses (Figura 8), los suelos inoculados mostraron valores medios de carbono orgánico de 6.8 ± 0.32 g CO kg suelo⁻¹ mientras que los no inoculados mostraron valores de 5.45 ± 0.48 g CO kg suelo⁻¹. Además, el CO aumentó con el tiempo en los suelos inoculados. Los mismos, después de 6 meses (figura 8) mostraron un valor medio de 8.81 ± 0.63 g CO kg suelo⁻¹, mientras que los controles mostraron un valor medio de 6.11 ± 0.14 g CO kg suelo⁻¹.

Figura 8

Carbono orgánico en los suelos control e inoculados en condiciones de laboratorio después de tres y seis meses.



Nota. Elaboración propia. Software Microsoft Excel. Resultados obtenidos durante el proceso de experimentación. Las letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos (control e inoculado).

3.2. Efecto de la inoculación de cianobacterias combinado con estrategias de reducción del estrés ambiental sobre el desarrollo de la biocostra

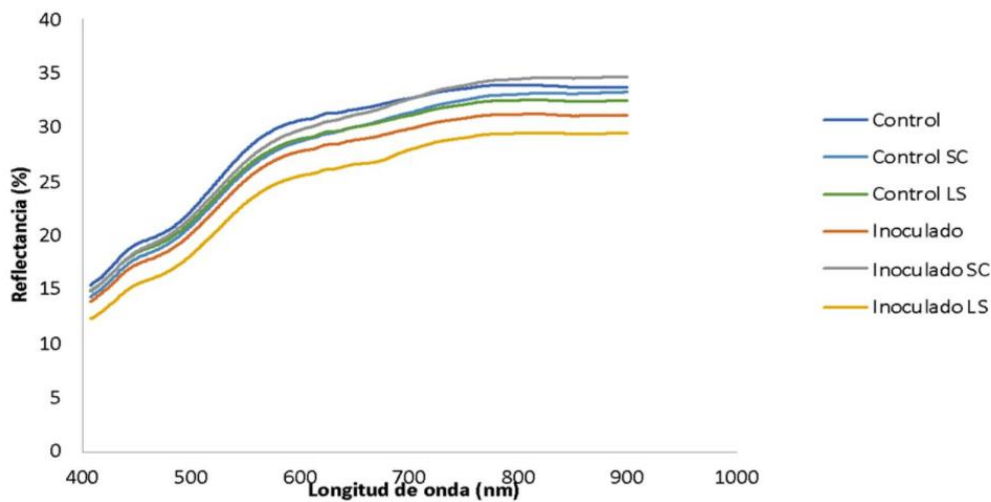
Al igual que se observó en el experimento en laboratorio, la reflectancia fue mayor en los suelos no inoculados. La inoculación del suelo con cianobacterias produjo una disminución de la reflectancia debido al oscurecimiento de la superficie con el crecimiento del inóculo. La

reflectancia fue, por lo general, menor en los suelos inoculados, indicando un mayor crecimiento del inóculo. La absorción por la clorofila *a* fue más evidente en el suelo inoculado y cubierto por *L. spartum* después de 3 meses. La absorción por la clorofila *a* no fue tan evidente después de 6 meses, aunque se observó una ligera mayor absorción en el suelo inoculado y cubierto por *S. capensis* (Figura 9).

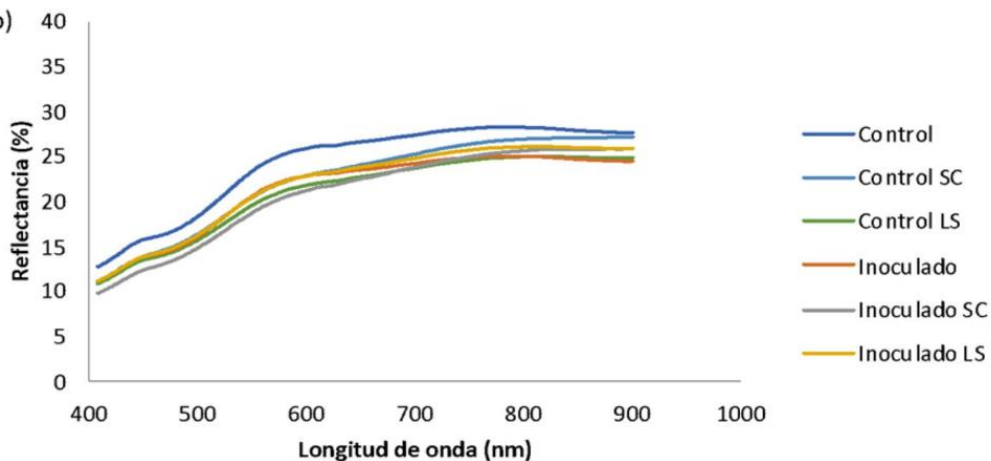
Figura 9

Curva de reflectancia de los diferentes tratamientos establecidos en el experimento en exterior: a) después de 3 meses; b) después de 6 meses

a)



b)



Nota. Elaboración propia. Software Microsoft Excel. Resultados obtenidos durante el proceso de experimentación.

El resultado de la ANOVA de medidas repetidas (Tabla 3) indicó que la interacción del tratamiento y el tiempo tuvieron un efecto significativo sobre el albedo y el NDVI, mientras que ambos factores tuvieron un efecto significativo (aunque no la interacción) sobre el CO.

Tabla 3

Valores obtenidos de la ANOVA de medidas repetidas para analizar el efecto del tiempo y tratamiento en el experimento en exterior

| | p-Valor | | |
|----------------------------|--------------|--------------|--------------|
| | Albedo VIS | NDVI | CO |
| Tratamiento | 0.001 | 0.000 | 0.000 |
| Tiempo | 0.008 | 0.085 | 0.008 |
| Tratamiento *Tiempo | 0.035 | 0.019 | 0.074 |

Nota. Elaboración Propia. Resultados significativos ($p < 0.05$) entre tratamiento y tiempo.

Si observamos la Tabla 3, después de 3 meses el albedo fue significativamente menor en el suelo inoculado y cubierto por *L. spartum* (21.62 ± 1.70). El NDVI fue significativamente mayor en los suelos inoculados y cubiertos por las dos plantas anuales (0.05) que en los suelos no inoculados (0.03). Sin embargo, los valores de NDVI observados fueron bajos en todos los tratamientos. Después de 6 meses, se observó una disminución del albedo en todos los tratamientos, pero el suelo inoculado y cubierto por *S. capensis* mostró los valores más bajos (17.93 ± 0.01), indicando un mayor crecimiento del inóculo en este tratamiento. Así mismo, el NDVI también fue mayor en este tratamiento (0.06). No obstante, los valores de NDVI fueron más bajos que los encontrados en los suelos inoculados en condiciones de laboratorio.

Tabla 4

Albedo y NDVI de los diferentes tratamientos en el experimento en exterior

| Tratamientos | 3 meses | | 6 meses | |
|---------------------|----------------------|---------------------|--------------------|-------------------|
| | Albedo | NDVI | Albedo | NDVI |
| <i>Inoculado</i> | 25.92 ± 2.14 abc | 0.04 ± 0.001 ab | 19.31 ± 0.03 a | 0.03 ± 0.0 bc |
| <i>Inoculado SC</i> | 25.48 ± 3.58 a | 0.05 ± 0.009 a | 17.93 ± 0.01 a | 0.06 ± 0.0 a |
| <i>Inoculado LS</i> | 21.62 ± 1.70 b | 0.05 ± 0.003 a | 19.37 ± 0.02 a | 0.04 ± 0.01 c |
| <i>Control</i> | 26.17 ± 0.81 ac | 0.03 ± 0.002 b | 21.95 ± 0.01 a | 0.03 ± 0.0 b |

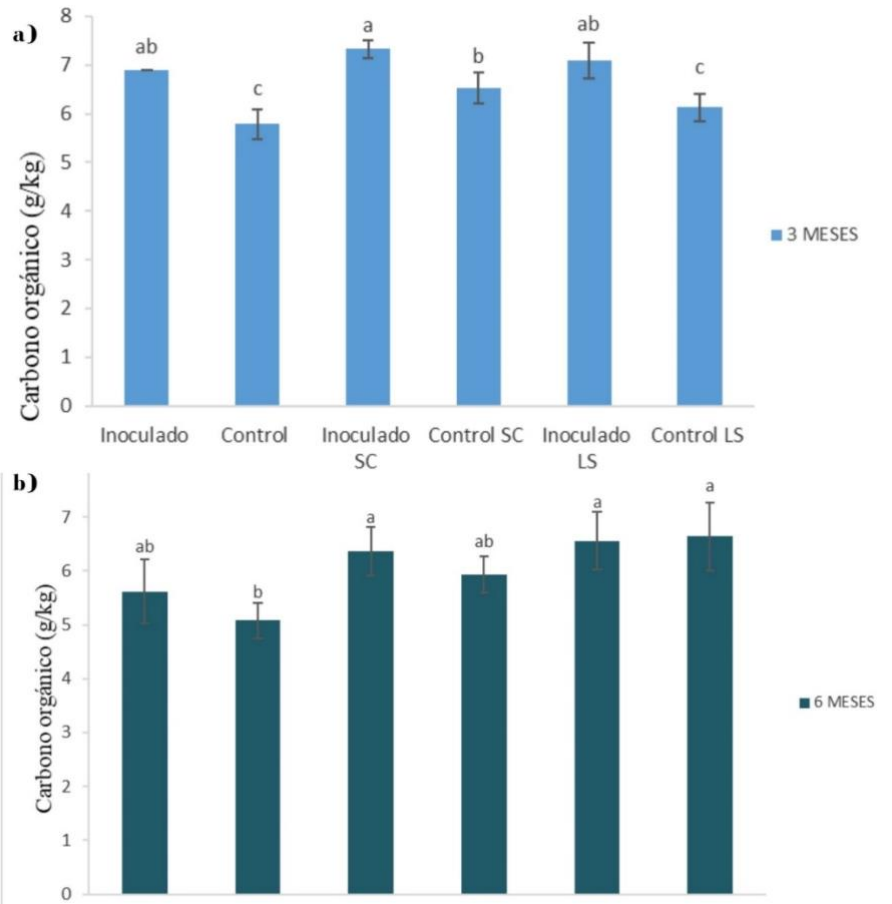
| | | | | |
|--------------------------|-----------------|----------------|---------------|--------------|
| <i>Control SC</i> | 24.59 ± 1.26abc | 0.04 ± 0.007ab | 19.47 ± 0.01a | 0.05 ± 0.01a |
| <i>Control LS</i> | 24.84 ± 2.46abc | 0.04 ± 0.005ab | 18.57 ± 0.02a | 0.04 ± 0.0ac |

Nota. Elaboración Propia.

Tras 3 meses, la inoculación del suelo con cianobacterias produjo un aumento significativo del contenido en CO respecto a los controles, siendo éste ligeramente mayor en los suelos que también estuvieron cubiertos por las plantas anuales. El contenido en CO disminuyó en general en todos los tratamientos después de 6 meses (Figura 10 y Tabla S1). Sin embargo, se mantuvo más alto en los suelos inoculados que en los no inoculados y los valores mayores se observaron en los suelos inoculados y con las cubiertas vegetales (6.37 ± 0.45 g CO kg suelo⁻¹ en el suelo inoculado cubierto por *S. capensis* y 6.55 ± 0.54 g CO kg suelo⁻¹ en el suelo inoculado cubierto por *L. spartum*, frente a 5.62 ± 0.59 g CO kg suelo⁻¹ en el suelo inoculado y 5.08 ± 0.34 g CO kg suelo⁻¹ en el suelo no inoculado) (Figura 10, Tabla S1)

Figura 10

Carbono Orgánico en los diferentes tratamientos: a) Medida tomada a los 3 meses; b) Medida tomada a los 6 meses.



Nota. Elaboración propia. Software Microsoft Excel. Resultados obtenidos durante el proceso de experimentación.

4. Discusión

Las biocostras son un componente clave de los ecosistemas de tierras secas, desempeñando un papel fundamental en el mantenimiento de las funciones del suelo y la provisión de servicios ecosistémicos (Rodríguez-Caballero et al., 2018 b). El uso de la biocostra -o de alguno de sus componentes- como inóculo puede ayudar a acelerar la formación de la una biocostra artificial, una vez que ésta se ha perdido debido a alguna alteración, y así contribuir a recuperar las propiedades del suelo y su funcionalidad (Antoninka et al., 2020). Hasta la fecha, muchas de las investigaciones que se han hecho sobre el uso de cianobacterias como bio-inoculantes para la restauración de suelos degradados de zonas áridas, se han basado en el uso de especies no fijadoras de nitrógeno como *Microcoleus vaginatus*, y fijadoras de nitrógeno, como *Nostoc commune* (Giraldo-Silva et al., 2020; Park et al., 2017; Rozenstein et al., 2014; Wang et al., 2009).

Para el presente estudio, se ha utilizado un consorcio de especies de cianobacterias nativas de suelos de zonas semiáridas del sureste español, incluyendo fijadoras y no fijadoras de nitrógeno, algunas de las cuales no habían sido exploradas previamente, tales como *T.*

desertorum y *L. frigida*. Estas especies son las primeras que colonizan el suelo tras una perturbación, pudiendo aparecer incluso antes que algunas de las especies pioneras que se han descrito comúnmente en bibliografía (por ejemplo, *M. vaginatus*) (Roncero-Ramos et al., 2020). En condiciones de laboratorio, la inoculación del suelo con el consorcio de cianobacterias condujo a la rápida formación de una biocostra, que se vio reflejado en un oscurecimiento de la superficie y disminución del albedo (Figura 7 y Tabla 2). Indicadores como el color de la superficie o la estabilidad del suelo (Belnap et al., 2008) se han usado para evaluar el grado de desarrollo de la biocostra. A partir de los datos de reflectancia, también se observó un pico de absorción alrededor de 670 nm debido a la clorofila *a*. El contenido en este pigmento es uno de los indicadores de la biomasa total de cianobacterias más usados (Bowker et al., 2008) y en nuestro estudio confirmó la presencia y crecimiento de las cianobacterias en los suelos inoculados respecto a los controles. El NDVI es también un buen indicador del grado de desarrollo de la biocostra (Zaady et al., 2007) y mostró valores más altos en los suelos inoculados que en los no inoculados, y un aumento en los inoculados con el tiempo (Tabla 1), sugiriendo un aumento del grado de colonización del suelo por el inóculo. Además, la formación de la biocostra tuvo un efecto positivo en el aumento del contenido en carbono orgánico (Figura 8). Estos resultados coinciden con trabajos previos que demuestran que la inoculación del suelo con cianobacterias da lugar a la formación de una biocostra y mejora propiedades como el contenido en CO y N, y estabilidad y resistencia superficial (Mugnai et al., 2018; Muñoz-Rojas et al., 2018; Román et al., 2018; Roncero-Ramos, Román, et al., 2019 a).

Aunque se encontraron resultados muy positivos en laboratorio, cuando se realizó el experimento en condiciones de exterior y, por tanto, sujeto a diversos estreses ambientales (alta temperatura e insolación, acción del viento, etc.), el crecimiento del inóculo sobre los mismos suelos fue mucho más limitado. Una de las estrategias más usadas para favorecer el desarrollo de la biocostra en campo es el empleo de estrategias de reducción de estrés como son la utilización de enmiendas de paja para estabilizar dunas previo a la inoculación (Wang et al., 2009), la adición de fijadores de suelo (Li et al., 2014; Peng et al., 2017) o el uso de mallas que dan sombra, reducen la radiación UV y aumentan la disponibilidad de agua, una estrategia de la que se han obtenido resultados exitosos para las cianobacterias (Román et al., 2021; Zhao et al., 2021).

En el presente estudio, la aplicación de cubiertas vegetales ayudó al desarrollo de la biocostra, encontrando en estos tratamientos generalmente un mayor pico de absorción por la clorofila *a* y un mayor contenido en CO. Transcurridos 6 meses desde la aplicación de los

tratamientos, el suelo inoculado y cubierto por *S. capensis* fue el que mostró valores de albedo más bajos, valores de NDVI más altos y mayor contenido en CO (Figura 10. Tablas 3 y 4). Esto puede deberse a una asociación positiva entre las cianobacterias y dicha especie, la cual se suele observar frecuentemente en campo, donde la cobertura de *S. capensis* suele ser mayor en los sitios con una alta cobertura de biocostras de cianobacterias. Coincidiendo con estos resultados, trabajos previos demuestran que el uso de cubiertas vegetales y otros tratamientos de mejora del hábitat como el uso de cuerdas o estabilizantes del suelo ayuda al establecimiento del inóculo de biocostra y optimiza su crecimiento, el cual puede verse impedido en muchas ocasiones debido a factores de estrés como la erosión o la alta radiación UV (Ayuso et al., 2017; Román et al., 2021; Slate et al., 2020; Zhao et al., 2021).

No obstante, se pudo observar una disminución del contenido de CO en casi todos los tratamientos entre los 3 y 6 meses (Figura 10 y Tabla S1), coincidiendo con el periodo de verano y el incremento de los factores de estrés (Román et al., 2021). La baja disponibilidad de agua, así como la exposición a altas temperaturas, pudo limitar la actividad fotosintética de la biocostra inducida, haciendo que la incorporación de CO al suelo disminuyera y que parte del C fijado se perdiese por la actividad de la comunidad heterótrofa del suelo que, siendo también reducida, pudo ser mayor que la fijación de C por la costra. Tales pérdidas de carbono pueden verse recuperadas de nuevo durante la época húmeda en la que la actividad fotosintética de la biocostra compensa las emisiones por respiración, dando lugar a una asimilación neta de C y un mayor contenido de materia orgánica en los suelos inoculados (Miralles et al., 2018). Así, en un estudio previo, la inoculación del suelo con cianobacterias junto con el empleo de mallas aumentó el contenido en CO del suelo respecto a los suelos no inoculados, dos años después de la aplicación de los tratamientos (Román et al., 2021). Es necesario, por tanto, un estudio a largo plazo para evaluar el efecto de estrategias de reducción de estrés ambiental basadas en cubiertas vegetales sobre el desarrollo de la biocostra y sus efectos sobre el suelo. Así mismo, es necesario explorar estas estrategias en diferentes ecosistemas, con diferentes tipos de suelo y características climáticas para encontrar la estrategia más prometedora adaptada a cada área de estudio.

5. Conclusiones

Este estudio demuestra que la inoculación de un suelo de una zona semiárida del sureste español con un consorcio de diferentes especies de cianobacterias nativas, fijadoras y no fijadoras de nitrógeno, favorece el desarrollo de una biocostra que mejora sus propiedades tanto

en laboratorio como en campo. Esto se determinó utilizando indicadores comunes basados en el contenido en clorofila *a* o carbono orgánico del suelo, así como diferentes índices espectrales de la superficie (como albedo o NDVI). Aunque el efecto de la inoculación con cianobacterias sobre la formación de la biocostra es exitoso en condiciones de laboratorio, su eficacia se puede ver reducida en condiciones naturales debido al incremento del estrés ambiental. Para disminuir el estrés en campo, aplicamos una de las estrategias más conocidas, las cubiertas vegetales. En este caso, usamos cubiertas hechas a base de plantas nativas del sitio que se pretende restaurar: *S. capensis* y *L. spartum*. Los resultados muestran un ligero incremento de los valores de carbono orgánico del suelo, NDVI y una disminución del albedo en los suelos inoculados con cianobacterias y cubiertos con plantas. Esto nos indica que la utilización de cubiertas vegetales combinada con la inoculación de cianobacterias puede ser una vía para mejorar la eficacia de la restauración de la biocostra en campo. Su eficacia puede variar dependiendo de las características del sitio y de las condiciones climáticas. Por tanto, es necesario explorar la viabilidad de estas técnicas en diferentes ambientes sujetos a diferentes estreses ambientales. Por último, a pesar de que se han logrado importantes avances en la aplicación de técnicas para comprobar el efecto de la inoculación de cianobacterias en suelos degradados y se han obtenido resultados prometedores a escala tanto local como internacional, es necesario seguir investigando para desarrollar estrategias de mejora que puedan aplicarse a mayor escala.

6. Referencias Bibliográficas

- Abinandan, S., Subashchandrabose, S. R., Venkateswarlu, K., & Megharaj, M. (2019). Soil microalgae and cyanobacteria: the biotechnological potential in the maintenance of soil fertility and health. In *Critical Reviews in Biotechnology* (Vol. 39, Issue 8). <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1654972>
- Antoninka, A., Faist, A., Rodriguez-Caballero, E., Young, K. E., Chaudhary, V. B., Condon, L. A., & Pyke, D. A. (2020). Biological soil crusts in ecological restoration: emerging research and perspectives. In *Restoration Ecology* (Vol. 28, Issue S2). <https://doi.org/10.1111/rec.13201>
- Ayuso, S. V., Silva, A. G., Nelson, C., Barger, N. N., & Garcia-Pichel, F. (2017). Microbial nursery production of high-quality biological soil crust biomass for restoration of degraded dryland soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(3). <https://doi.org/10.1128/AEM.02179-16>
- Belnap, J., Phillips, S. L., Witwicki, D. L., & Miller, M. E. (2008). Visually assessing the level of development and soil surface stability of cyanobacterially dominated biological soil crusts. *Journal of Arid Environments*, 72(7). <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2008.02.019>
- Belnap, J., Prasse, R., & Harper, K. T. (2001). *Influence of Biological Soil Crusts on Soil Environments and Vascular Plants*. https://doi.org/10.1007/978-3-642-56475-8_21
- Belnap, J., Weber, B., & Büdel, B. (2016). *Biological Soil Crusts as an Organizing Principle in Drylands*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-30214-0_1
- Cantón, Y., del Barrio, G., Solé-Benet, A., & Lázaro, R. (2004). Topographic controls on the spatial distribution of ground cover in the Tabernas badlands of SE Spain. *Catena*, 55(3). [https://doi.org/10.1016/S0341-8162\(03\)00108-5](https://doi.org/10.1016/S0341-8162(03)00108-5)
- Cantón, Y., Román, J. R., Chamizo, S., Rodríguez-Caballero, E., & Moro, M. J. (2014). Dynamics of organic carbon losses by water erosion after biocrust removal. *Journal of Hydrology and Hydromechanics*, 62(4). <https://doi.org/10.2478/johh-2014-0033>
- Cantón, Y., Solé-Benet, A., & Lázaro, R. (2003). Soil-geomorphology relations in gypsiferous materials of the tabernas desert (almería, se spain). *Geoderma*, 115(3–4). [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(03\)00012-0](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(03)00012-0)
- Chamizo, S., Adessi, A., Mugnai, G., Simiani, A., & de Philippis, R. (2019). Soil Type and Cyanobacteria Species Influence the Macromolecular and Chemical Characteristics of the Polysaccharidic Matrix in Induced Biocrusts. *Microbial Ecology*, 78(2). <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1305-y>
- Chamizo, S., Belnap, J., Elridge, D. J., & Issa, O. M. (2016). Biological soil crusts: An organizing principle in dryland ecosystems (aka: the role of biocrusts in arid land hydrology). In *Ecological studies*.

- Chamizo, S., Cantón, Y., Miralles, I., & Domingo, F. (2012). Biological soil crust development affects physicochemical characteristics of soil surface in semiarid ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 49. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.02.017>
- Chamizo, S., Mugnai, G., Rossi, F., Certini, G., & de Philippis, R. (2018). Cyanobacteria inoculation improves soil stability and fertility on different textured soils: Gaining insights for applicability in soil restoration. *Frontiers in Environmental Science*, 6(JUN). <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00049>
- Chamizo, S., Rodríguez-Caballero, E., Román, J. R., & Cantón, Y. (2017). Effects of biocrust on soil erosion and organic carbon losses under natural rainfall. *Catena*, 148. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2016.06.017>
- Chen, L., Xie, Z., Hu, C., Li, D., Wang, G., & Liu, Y. (2006). Man-made desert algal crusts as affected by environmental factors in Inner Mongolia, China. *Journal of Arid Environments*, 67(3), 521–527. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.02.018>
- Condon, L. A., & Pyke, D. A. (2016). Filling the interspace—restoring arid land mosses: source populations, organic matter, and overwintering govern success. *Ecology and Evolution*, 6(21). <https://doi.org/10.1002/ece3.2448>
- Dojani, S., Büdel, B., Deutschewitz, K., & Weber, B. (2011). Rapid succession of Biological Soil Crusts after experimental disturbance in the Succulent Karoo, South Africa. *Applied Soil Ecology*, 48(3). <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.04.013>
- Elbert, W., Weber, B., Burrows, S., Steinkamp, J., Büdel, B., Andreae, M. O., & Pöschl, U. (2012). Contribution of cryptogamic covers to the global cycles of carbon and nitrogen. *Nature Geoscience*, 5(7). <https://doi.org/10.1038/ngeo1486>
- FAO. (2015). World Reference Base for Soil Resources. World Soil Resources Reports 106. In *World Soil Resources Reports No. 106*.
- Fattahi, S. M., Soroush, A., & Huang, N. (2020). Wind erosion control using inoculation of aeolian sand with cyanobacteria. *Land Degradation and Development*, 31(15). <https://doi.org/10.1002/ldr.3590>
- Giraldo-Silva, A., Nelson, C., Penfold, C., Barger, N. N., & Garcia-Pichel, F. (2020). Effect of preconditioning to the soil environment on the performance of 20 cyanobacterial strains used as inoculum for biocrust restoration. *Restoration Ecology*, 28(S2). <https://doi.org/10.1111/rec.13048>
- James, J. J., Sheley, R. L., Erickson, T., Rollins, K. S., Taylor, M. H., & Dixon, K. W. (2013). A systems approach to restoring degraded drylands. In *Journal of Applied Ecology* (Vol. 50, Issue 3). <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12090>
- Li, H., Rao, B., Wang, G., Shen, S., Li, D., Hu, C., & Liu, Y. (2014). Spatial heterogeneity of cyanobacteria-inoculated sand dunes significantly influences artificial biological soil

- crusts in the Hopq Desert (China). *Environmental Earth Sciences*, 71(1), 245–253. <https://doi.org/10.1007/s12665-013-2428-6>
- Mager, D. M., & Thomas, A. D. (2011). Extracellular polysaccharides from cyanobacterial soil crusts: A review of their role in dryland soil processes. In *Journal of Arid Environments* (Vol. 75, Issue 2). <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2010.10.001>
- Miralles, I., Ladrón de Guevara, M., Chamizo, S., Rodríguez-Caballero, E., Ortega, R., van Wesemael, B., & Cantón, Y. (2018). Soil CO₂ exchange controlled by the interaction of biocrust successional stage and environmental variables in two semiarid ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 124. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.05.020>
- Mugnai, G., Rossi, F., Martin Noah Linus Felde, V. J., Colesie, C., Büdel, B., Peth, S., Kaplan, A., & de Philippis, R. (2018). The potential of the cyanobacterium *Leptolyngbya ohadii* as inoculum for stabilizing bare sandy substrates. *Soil Biology and Biochemistry*, 127. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.08.007>
- Muñoz-Rojas, M., Román, J. R., Roncero-Ramos, B., Erickson, T. E., Merritt, D. J., Aguila-Carricondo, P., & Cantón, Y. (2018). Cyanobacteria inoculation enhances carbon sequestration in soil substrates used in dryland restoration. *Science of the Total Environment*, 636. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.265>
- Orr, A. L., Cowie, V. M., Castillo Sanchez, P., Chasek, N. D., Crossman, A., Erlewein, G., Louwagie, M., Maron, G. I., Metternicht, S., Minelli, A. E., Tengberg, S., & Walter, S. (2017). Scientific Conceptual Framework for Land Degradation Neutrality. A Report of the Science-Policy Interface. United Nations Convention to Combat Desertification (UNCCD). In *United Nations Convention to Combat Desertification - UNCCD*.
- Park, C. H., Li, X. R., Zhao, Y., Jia, R. L., & Hur, J. S. (2017). Rapid development of cyanobacterial crust in the field for combating desertification. *PLoS ONE*, 12(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179903>
- Peng, C., Zheng, J., Huang, S., Li, S., Li, D., Cheng, M., & Liu, Y. (2017). Application of sodium alginate in induced biological soil crusts: enhancing the sand stabilization in the early stage. *Journal of Applied Phycology*, 29(3). <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1061-2>
- Prasanna, R., Jaiswal, P., Nayak, S., Sood, A., & Kaushik, B. D. (2009). Cyanobacterial diversity in the rhizosphere of rice and its ecological significance. *Indian Journal of Microbiology*, 49(1). <https://doi.org/10.1007/s12088-009-0009-x>
- Prasanna, R., Sharma, E., Sharma, P., Kumar, A., Kumar, R., Gupta, V., Pal, R. K., Shivay, Y. S., & Nain, L. (2013). Soil fertility and establishment potential of inoculated cyanobacteria in rice crop grown under non-flooded conditions. *Paddy and Water Environment*, 11(1–4). <https://doi.org/10.1007/s10333-011-0302-2>

- Prävǎlie, R. (2016). Drylands extent and environmental issues. A global approach. In *Earth-Science Reviews* (Vol. 161, pp. 259–278). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2016.08.003>
- Priya, H., Prasanna, R., Ramakrishnan, B., Bidyarani, N., Babu, S., Thapa, S., & Renuka, N. (2015). Influence of cyanobacterial inoculation on the culturable microbiome and growth of rice. *Microbiological Research*, 171. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.12.011>
- Rajeev, L., da Rocha, U. N., Klitgord, N., Luning, E. G., Fortney, J., Axen, S. D., Shih, P. M., Bouskill, N. J., Bowen, B. P., Kerfeld, C. A., Garcia-Pichel, F., Brodie, E. L., Northen, T. R., & Mukhopadhyay, A. (2013). Dynamic cyanobacterial response to hydration and dehydration in a desert biological soil crust. *ISME Journal*, 7(11). <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.83>
- Reid, W. v., Mooney, H. A., Cropper, A., Capistrano, D., Carpenter, S. R., Kanchan Chopra, P. D., Dietz, T., Duraiappah, A. K., Hassan, R., Kasperson, R., Leemans, R., May, R. M., McMichael, T. (A. J.), Pingali, P., Samper, C., Robert Scholes, R. T. W., Zakri, A. H., Shidong, Z., Ash, N. J., ... Zurek, M. B. (2017). Ecosystems Well-being and Human. In *ZooKeys* (Vol. 2017, Issue 715).
- Reynolds, J. F., Stafford Smith, D. M., Lambin, E. F., Turner, B. L., Mortimore, M., Batterbury, S. P. J., Downing, T. E., Dowlatabadi, H., Fernández, R. J., Herrick, J. E., Huber-Sannwald, E., Jiang, H., Leemans, R., Lynam, T., Maestre, F. T., Ayarza, M., & Walker, B. (2007). Ecology: Global desertification: Building a science for dryland development. In *Science* (Vol. 316, Issue 5826, pp. 847–851). <https://doi.org/10.1126/science.1131634>
- Rodriguez-Caballero, E., Belnap, J., Büdel, B., Crutzen, P. J., Andreae, M. O., Pöschl, U., & Weber, B. (2018). Dryland photoautotrophic soil surface communities endangered by global change. *Nature Geoscience*, 11(3). <https://doi.org/10.1038/s41561-018-0072-1>
- Rodríguez-Caballero, E., Castro, A. J., Chamizo, S., Quintas-Soriano, C., Garcia-Llorente, M., Cantón, Y., & Weber, B. (2018). Ecosystem services provided by biocrusts: From ecosystem functions to social values. *Journal of Arid Environments*, 159. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2017.09.005>
- Román, J. R., Chamizo, S., Roncero-Ramos, B., Adessi, A., de Philippis, R., & Cantón, Y. (2021). Overcoming field barriers to restore dryland soils by cyanobacteria inoculation. *Soil and Tillage Research*, 207. <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104799>
- Román, J. R., Roncero-Ramos, B., Chamizo, S., Rodríguez-Caballero, E., & Cantón, Y. (2018). Restoring soil functions by means of cyanobacteria inoculation: Importance of soil conditions and species selection. *Land Degradation and Development*, 29(9), 3184–3193. <https://doi.org/10.1002/ldr.3064>
- Roncero-Ramos, B., Muñoz-Martín, M. A., Cantón, Y., Chamizo, S., Rodríguez-Caballero, E., & Mateo, P. (2020). Land degradation effects on composition of pioneering soil

communities: An alternative successional sequence for dryland cyanobacterial biocrusts. *Soil Biology and Biochemistry*, 146. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107824>

- Roncero-Ramos, B., Román, J. R., Gómez-Serrano, C., Cantón, Y., & Acién, F. G. (2019a). Production of a biocrust-cyanobacteria strain (*Nostoc commune*) for large-scale restoration of dryland soils. *Journal of Applied Phycology*, 31(4). <https://doi.org/10.1007/s10811-019-1749-6>
- Roncero-Ramos, B., Muñoz-Martín, M. Á., Chamizo, S., Fernández-Valbuena, L., Mendoza, D., Perona, E., Cantón, Y., & Mateo, P. (2019b). Polyphasic evaluation of key cyanobacteria in biocrusts from the most arid region in Europe. *PeerJ*, 2019(1). <https://doi.org/10.7717/peerj.6169>
- Rossi, F., Li, H., Liu, Y., & de Philippis, R. (2017). Cyanobacterial inoculation (cyanobacterisation): Perspectives for the development of a standardized multifunctional technology for soil fertilization and desertification reversal. In *Earth-Science Reviews* (Vol. 171). <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2017.05.006>
- Rozenstein, O., Zaady, E., Katra, I., Karnieli, A., Adamowski, J., & Yizhaq, H. (2014). The effect of sand grain size on the development of cyanobacterial biocrusts. *Aeolian Research*, 15. <https://doi.org/10.1016/j.aeolia.2014.08.003>
- Sadeghi, S. H., Sadeghi Satri, M., Kheirfam, H., & Zarei Darki, B. (2020). Runoff and soil loss from small plots of erosion-prone marl soil inoculated with bacteria and cyanobacteria under real conditions. *European Journal of Soil Biology*, 101. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2020.103214>
- Savitzky, A., & Golay, M. J. E. (1964). Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. *Analytical Chemistry*, 36(8). <https://doi.org/10.1021/ac60214a047>
- Singh, J. S., Kumar, A., Rai, A. N., & Singh, D. P. (2016). Cyanobacteria: A precious bio-resource in agriculture, ecosystem, and environmental sustainability. *Frontiers in Microbiology*, 7(APR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00529>
- Slate, M. L., Durham, R. A., & Pearson, D. E. (2020). Strategies for restoring the structure and function of lichen-moss biocrust communities. *Restoration Ecology*, 28(S2). <https://doi.org/10.1111/rec.12996>
- Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G. K., Tignor, M. M. B., Allen, S. K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V., & Midgley, P. M. (2013). Climate change 2013 the physical science basis: Working Group I contribution to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. In *Climate Change 2013 the Physical Science Basis: Working Group I Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (Vol. 9781107057999). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324>

UNCCD. (2017). The Global Land Outlook, first edition. In *UNCCD*.

Wang, W., Liu, Y., Li, D., Hu, C., & Rao, B. (2009). Feasibility of cyanobacterial inoculation for biological soil crusts formation in desert area. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(5), 926–929. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.07.001>

Zaady, E., Karnieli, A., & Shachak, M. (2007). Applying a field spectroscopy technique for assessing successional trends of biological soil crusts in a semi-arid environment. *Journal of Arid Environments*, 70(3). <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2007.01.004>

Zhao, Y., Wang, N., Zhang, Z., Pan, Y., & Jia, R. (2021). Accelerating the development of artificial biocrusts using covers for restoration of degraded land in dryland ecosystems. *Land Degradation and Development*, 32(1). <https://doi.org/10.1002/ldr.3714>ⁱ

Anexo I.

Tabla S1.

Valor promedio del Carbono Orgánico total (g/kg) para los distintos tratamientos en el experimento en exterior

| Tratamiento | 3 Meses | | 6 Meses | |
|---------------------|----------|---------------------|----------|---------------------|
| | Promedio | Desviación Estándar | Promedio | Desviación Estándar |
| Inoculado | 6.88 | 0.31 | 5.62 | 0.59 |
| Control | 5.78 | 0.18 | 5.08 | 0.34 |
| Inoculado SC | 7.33 | 0.32 | 6.37 | 0.45 |
| Control SC | 6.52 | 0.36 | 5.94 | 0.34 |
| Inoculado LS | 7.09 | 0.28 | 6.55 | 0.54 |
| Control LS | 6.12 | 0.38 | 6.64 | 0.63 |

Nota. Elaboración Propia.