

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGÍA



Diversidad de la microbiota bacteriana en huertas de mezquite, con diferencias en edad y producción de frutos.

Por:

JONATHAN LÓPEZ DORANTES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROECOLOGÍA

Torreón, Coahuila, México.

Diciembre 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

Diversidad de la microbiota bacteriana en huertas de mezquite, con diferencias en edad y producción de frutos.

Por:

JONATHAN LÓPEZ DORANTES

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROECOLOGÍA



Dr. Jesús Vásquez Arroyo

Presidente

Aprobada por:



M.C. Eduardo Blanco Contreras

Vocal



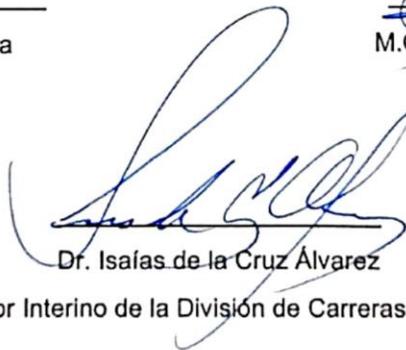
Dra. Erika Nava Reyna

Vocal



M.C. Gerardo Zapata Sifuentes

Vocal suplente



Dr. Isaiás de la Cruz Álvarez

Coordinador Interino de la División de Carreras Agronómicas

Universidad Autónoma Agraria
ANTONIO NARRO



COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN
DE CARRERAS AGRONÓMICAS

Torreón, Coahuila, México.

Diciembre 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGÍA

Diversidad de la microbiota bacteriana en huertas de mezquite, con diferencias en edad y producción de frutos.

Por:

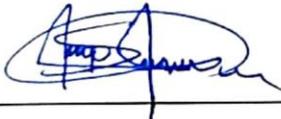
JONATHAN LÓPEZ DORANTES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROECOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Jesús Vázquez Arroyo
Asesor Principal



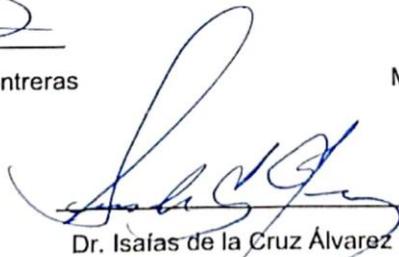
Dra. Erika Nava Reyna
Asesor Externo



M.C. Eduardo Blanco Contreras
Coasesor



M.C. Gerardo Zapata Sifuentes
Coasesor



Dr. Isaias de la Cruz Álvarez
Coordinador Interino de la División de Carreras Agronómicas

Universidad Autónoma Agraria
ANTONIO NARRO



COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN
DE CARRERAS AGRONÓMICAS

Torreón, Coahuila, México.

Diciembre 2021

Los abajo firmantes manifestamos nuestro derecho de autor de no permitir que la presente obra quede disponible en el repositorio de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por un tiempo de tres años a partir de la presentación de la misma en su modalidad de tesis de Licenciatura.

La obra lleva por título:” **DIVERSIDAD DE LA MICROBIOTA BACTERIANA EN HUERTAS DE MEZQUITE, CON DIFERENCIAS EN EDAD Y PRODUCCIÓN DE FRUTOS**”. D.R ©



Jonathan López Dorantes



Dr. Jesús Vásquez Arroyo

Torreón, Coahuila a 10 de Diciembre del 2021

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a dios, por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por darme fuerzas, voluntad, paciencia y perseverancia necesaria para poder concluir este proceso ya que sin él nada es posible.

A mis padres María Dorantes García e Isaías López Ramos, que son un pilar fundamental en mi formación académica, me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, sobre todo por el apoyo incondicional que me brindaron para llegar a este gran logro.

A mis Hermanas, Claudia y Janet, a mi hermano Israel, por su apoyo incondicional, su respaldo, cariño y la confianza que me han brindado, fueron mi motivación para llegar hasta esta meta. Este logro también es de ustedes.

Al MVZ Cristian David Avalos Trejo por el apoyo incondicional, por los consejos que me ha brindado y sobre todo por estar al pendiente de mí.

A la Ing. Brenda Alejandra Amador López por brindarme su amor, cariño y paciencia durante este proceso, gracias por todo el apoyo incondicional que me brindaste, por siempre estar en los momentos difíciles apoyándome y dándome ánimos de seguir adelante.

Al Arquitecto Roberto Ramos Morales agradezco el apoyo económico y moral que me brindo durante la carrera, hoy se ve reflejado lo que usted me brindo.

A mis asesores Dr. Jesús Vázquez Arroyo, al M.C. Eduardo Blanco Contreras, a la Dra. Erika Nava Reyna y al M.C. Gerardo Zapata Sifuentes, por el tiempo, dedicación y respaldo para llevar a cabo este proyecto.

A la UAAAN-UL por darme la oportunidad de ser parte de esta institución y permitirme adquirir conocimientos que hoy llevo conmigo, gracias a todos mis amig@s que me apoyaron durante mi estancia en la universidad.

DEDICATORIAS

Dedico esta tesis a mis padres **María Dorantes García e Isaías López Ramos** por todo el apoyo que me han brindado, a ustedes les debo todo lo que soy, gracias por inculcarme valores, por todo su cariño y amor, este logro también es de ustedes.

A mis hermanos que día a día me han brindado su apoyo y comprensión, por estar conmigo en las buenas y en las malas, a ustedes por sus buenas vibras y buenos deseos, hoy se cumple lo esperado por todos.

A mis abuelos Verónica Ramos Hernández y Vicente López Márquez por brindarme todo su cariño, consejos y todo el apoyo incondicional, este sueño que hoy se cumple se los dedico a ustedes que siendo mis segundos padres agradezco a dios de tenerlos y disfrutarlos en esta vida.

A mis tías y tíos que siempre recibí palabras de aliento y deseos de llegar a cumplir con mi objetivo, sus consejos, su apoyo incondicional que recibí de cada uno de ustedes hoy se hace realidad.

A Omar López Ramos (†) que más que un tío, fuiste como un hermano mayor, entre broma algún día dije que estudiaría alguna carrera, aprender y realizar lo que algún día comenzaste hacer en el campo, hoy hasta el cielo te dedico este logro, porque este interés por la agricultura despertó gracias a tus platicas.

Dedico esta tesis al MVZ Cristian David Avalos Trejo, por brindarme su apoyo, por el tiempo que dedico en inculcarme que ser un Buitre de la Narro sería un orgullo para mí como profesionista.

RESUMEN

Las comunidades bacterianas del suelo son alteradas por plantas nativas, siendo el mezquite una de estas, además de ser un arbusto que favorece a los matorrales semiáridos, el interés por realizar este estudio fue identificar las comunidades bacterianas existentes en suelos del mismo, debido a los pocos estudios realizados con el gen rRNA 16S en mezquites. En este estudio demostramos la importancia de las prácticas agroecológicas necesarias a futuro. El trabajo se llevó a cabo en huertas de mezquite ubicadas en el municipio de San Pedro, Coahuila de Zaragoza, México. Se buscó demostrar la existencia de diferencias en la diversidad del microbioma de suelos en huertas de mezquite donde existe: alta y baja producción de vainas (AP y BP), en suelo de producción silvestre (Mantillo) y suelo desnudo; considerando cuatro sitios de muestreo; A) bosque añoso sin manejo mayor a 40 años (mantillo y suelo desnudo en condición silvestre) y B) Bosque juvenil con manejo de aproximadamente 20 años, (AP Y BP). Los resultados fueron obtenidos utilizando el programa MGlinux 1.46, detectando un total de 17 Phyla, así como también 52 clases y 621 géneros; predominando principalmente: *Tepidisphaera*, *Sphingomonas*, *Microvirga* *Geodermatophilus*, *Blastococcus*, entre otros. Los análisis de diversidad alfa no presentaron diferencias estadísticas significativas entre grupos, no obstante, fue en la diversidad beta donde resultaron diferencias altamente significativas ($P=0.002$) y se constata por los análisis de componentes principales. Se puede concluir que la abundancia de bacterias en mezquites varía de acuerdo a la edad y manejo que se le puede dar a estos agroecosistemas.

Palabras Claves: Agroecología, rRNA 16S, Huerta de Mezquite, Microbioma, Prácticas agroecológicas

INDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
RESUMEN	iii
INDICE	iv
INDICE DE CUADROS	vi
INDICE DE FIGURAS	vii
I INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivo general	3
1.1.1 Objetivo específico	3
1.2 Hipótesis	3
II REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Historia de la agroecología	4
2.2 Importancia del mezquite.	5
2.3 Islas de fertilidad	6
2.4 Importancia ecológica	7
2.5 Usos.....	7
2.6 Importancia del mezquite a nivel mundial	8
2.7 Importancia del mezquite a nivel nacional	8
2.8 El mantillo	9
2.9 Bacterias del suelo.....	10
2.10 Importancia de los Microorganismos.....	10
2.11 Metagenómica.....	11
III MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1 Localización del experimento	13
3.2 Toma de muestras	16
3.3 Secuenciación masiva de siguiente generación 16S rRNA	16
3.4 Análisis bioinformática	17
IV RESULTADOS.....	20
4.1 Análisis de microbiota bacteriana.....	21

4.2 Mapas de calor para las familias y géneros representativos en los suelos analizados	26
4.3 Taxa biomarcadores	30
V DISCUSIÓN	32
VI CONCLUSIONES	35
VII REFERENCIAS	36

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.- Número de secuencias obtenidas para cada tipo de suelo ..	22
Cuadro 2.- Géneros predominantes en general de cada una de las muestras que se analizaron.....	28
Cuadro 3.- Resultados obtenidos con el método PERNOVA	29

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.- La agroecología como ciencia, tecnología y movimientos sociales (Tomado de Toledo, 2012).....	5
Figura 2.- Ubicación del sitio de muestreo (A 1-4). Imagen recuperada de Google Maps. Noviembre 2021.	13
Figura 3.- Ubicación del sitio de muestreo (B 1-4. Imagen recuperada de Google Maps. Noviembre 2021.	14
Figura 4.- Ubicación del sitio de muestreo, mantillo (S2). Imagen recuperada de Google Maps, noviembre 2021.	14
Figura 5.- Ubicación del sitio de muestreo, mantillo (S3), Imagen recuperada de Google Maps. Noviembre 2021,.....	15
Figura 6.- Ubicación del sitio de muestreo (S1). Imagen recuperada de Google Maps. Noviembre 2021.	15
Figura 7.- Contenido de carbono orgánico del suelo (COS) y materia orgánica del suelo (MOS) de los sitios de estudio en mezquiales y suelo desnudo.	20
Figura 8.- Conductividad eléctrica Y PH del suelo en sitios de estudio de mezquiales y suelo desnudo.	21
Figura 9.- Número de secuencias por el número de OTUs para cada muestra de suelo sin rarificar.	23
Figura 10.- Abundancia relativa (%) promedio de los principales Phyla de bacterias que existen en las muestras de suelo. Media A = Suelo con alta producción de mezquite, Media B = Suelo con baja producción de mezquite, Media S = Suelo con producción de mezquite silvestre.....	24
Figura 11. Abundancia relativa (%) promedio de las principales clases de bacterias en las tres diferentes muestras de suelo que se tomaron.....	25
Figura 12. Abundancia relativa (%) promedio de principales órdenes de bacterias en las tres diferentes muestras de suelo.	26
Figura 13.- Mapa de calor de las familias bacterianas de las tres diferentes muestras de suelo cuya abundancia relativa fue mayor a 0.01%.....	27
Figura 14.- Mapa de calor de los géneros bacterianos de las tres diferentes muestras de suelo cuya abundancia relativa fue mayor a 0.01%.....	27
Figura 15.- Visualización de grupos de muestras utilizando PCoA.	29
Figura 16.- Taxa biomarcadores predominantes representativo de los resultados LEfSe.	30
Figura 17.- Clandograma representativo de los resultados LEfSe.	31

I INTRODUCCIÓN

Altieri & Nichols, (2000) mencionan que la Agroecología surge como una ciencia multidisciplinar para enfrentar los problemas causados por la pseudoagricultura, y los conceptos de desarrollo económico aplicados a estos sistemas de producción, iniciando una construcción de los referentes conceptuales, integrados en definiciones desde la sociología, la antropología, la agronomía, la ecología y la política.

La evolución de la Agroecología, como una ciencia post-normal, la convierte en una herramienta ideal para identificar las bases ecológicas y ambientales de un desarrollo socioeconómico sustentable, haciendo fundamental el incrementar los esfuerzos en el desarrollo de enfoques que realmente integren las realidades sociales, económicas y ecológicas de las zonas donde se implementen sus enfoques, es mucho más que agricultura ecológica y orgánica, ya que se presenta como una alternativa de los modelos económicos, se enmarca en un movimiento de renovación, que inicia por defender sus bases, que nacen en las agriculturas indígenas, campesinas familiares o comunitarias, y que genera una distancia burocrática lógica, con el planteamiento político del concepto de desarrollo rural y los espacios ganados por la política convencional en la actualidad (Funtowicz & Ravetz, 2000).

García, *et al.*, (2012), describe que el suelo fértil es el que tiene la capacidad de suministrar los nutrientes suficientes al cultivo, así mismo, Lammel, *et al.*, (2015), menciona que al evaluar la calidad del suelo en campo y contrastarlo con los métodos de producción ayudarán al entendimiento de la sostenibilidad de las prácticas agroecológicas, así como para el desarrollo de estrategias de manejo que impacten positivamente en el rendimiento del cultivo.

Las prácticas agroecológicas en plantaciones son necesarias para el mantenimiento y aumento de la fertilidad de los suelos, así como para el manejo sostenible de las plantaciones (Larios, *et al.*, 2014). Estas estrategias reducen la vulnerabilidad al fomentar la conservación de los recursos naturales como suelo, agua y bosques, mejorando así la matriz ambiental circundante y su implementación permite diseñar agroecosistemas más resilientes (Altieri, 2013).

A su vez la microbiota del suelo tiene una gran variedad de microorganismos actinomicetos, hongos, protozoos, etc., por cada gramo de suelo cumpliendo un rol esencial en los procesos biogeoquímicos de la materia, (Ma de Lourdes, 1991). Entre las actividades de estos microorganismos está el mantenimiento de la fertilidad del suelo; siendo estos los responsables de la degradación de toda la materia orgánica muerta para formar el humus, retornando al suelo y a la atmosfera las sustancias transformadas por otros seres vivientes (George, 1963).

La población microbiana en la rizósfera es considerablemente mayor que la de los suelos sin raíces y es fisiológicamente más activa. (Ma de Lourdes 1991). La rizósfera puede considerarse como una zona de amortiguamiento microbiológico, en donde la microflora sirve de protección a la planta de ataque de patógenos (Krupa & Dommergues, 1981).

Agrios (1998), señala la existencia de muchos microorganismos del suelo reportados como productores de metabolitos biológicamente activos, teniendo bacterias y Actinomycetos, cuyo metabolismo y capacidad de producción ha sido apenas investigada. Por lo que se tiene como prioridad básica la búsqueda de grupos de microorganismos a partir de ambientes poco comunes como es el suelo.

1.1 Objetivo general

Evaluar la microbiota bacteriana en huertas de mezquite con diferentes muestras de suelos AP, BP, y PS (Mantillo y suelo desnudo).

1.1.1 Objetivo específico

Identificar la diversidad de microorganismos que se encuentran dentro de los ecosistemas de huertas de mezquite y suelo desnudo.

1.2 Hipótesis

Existen diferencias en la diversidad de microbiota en huertas de mezquite de alta producción, baja producción y silvestre (Mantillo y suelo desnudo).

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Historia de la agroecología

Desde la década de 1970, la evolución de la agroecología se dio mediante el aumento de la conciencia de las prácticas, centrándose en el conocimiento indígena y los movimientos sociales emergentes. Estos principios posicionan los paradigmas agroecológicos como una alternativa a la agricultura química, monocultural o industrial, como un catalizador para que la agricultura convencional adopte enfoques más sostenibles (Vaarst, *et al.*, 2017). Es por ello que la construcción del concepto de Agroecología en su alcance más simple, se sustenta primeramente como la aplicación de principios ecológicos al entendimiento y desarrollo de los sistemas productivos sustentables (Altieri & Nichols, 2000).

Altieri, (2002), la menciona como una alternativa a través del estudio holístico de los agroecosistemas, incluidos todos los elementos ambientales y humanos. Se enfoca en la forma dinámica, las funciones de sus interrelaciones y los procesos que están involucrados. Así mismo, Guzmán (2000), la define como el manejo ecológico de los recursos naturales a través de formas de acción social colectiva que presentan alternativas a la actual crisis de modernidad, mediante propuestas de desarrollo participativo, desde los ámbitos de la producción y la circulación alternativa de sus productos, pretendiendo establecer formas de producción y consumo que contribuyan a encarar la crisis ecológica y social, y con ello a restaurar el curso alterado de la coevolución social y ecológica, en la Figura uno se describen las respuestas de la agroecología a las demandas sociales y ecológicas.

2.2 Importancia del mezquite.

El árbol de mezquite (*Prosopis spp.*), es nativo de zonas áridas y semiáridas del mundo, adaptable a condiciones de extrema aridez y altura sobre nivel del mar, es un árbol que mide de cuatro a 12 metros de altura y pertenece a la familia Fabaceae, subfamilia Mimosoideae y género *Prosopis*. Su nombre proviene de la palabra azteca “misquitl”, y debido a su bajo requerimiento de agua, reviste gran importancia en las regiones áridas, las que alcanzan ya una tercera parte de la superficie terrestre; crea bajo su copa condiciones muy favorables para el desarrollo de otras plantas herbáceas cuya cobertura forma islas de fertilidad (Aguilar, 1998).

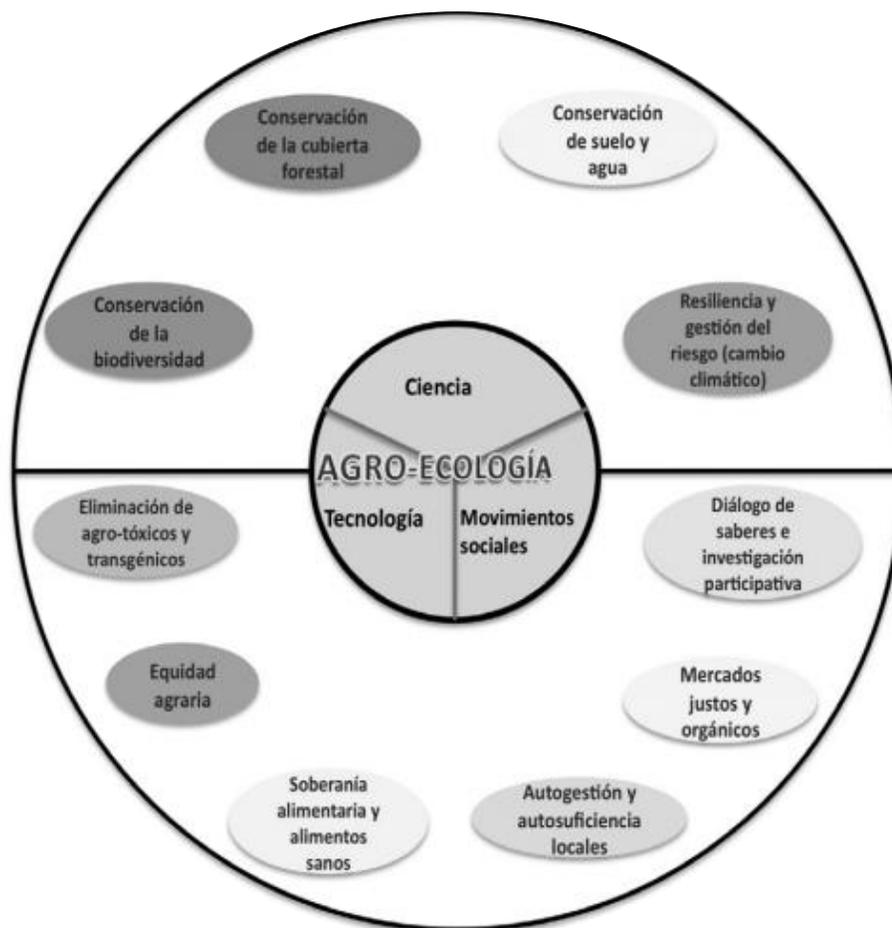


Figura 1.- La agroecología como ciencia, tecnología y movimientos sociales (Tomado de Toledo, 2012).

De igual forma Aguilar (1998), encontró que la cobertura vegetal bajo y fuera de la protección de la copa de este árbol difiere, encontrándose las mayores densidades dentro del área de influencia de la copa. Las diferencias que suelen observarse en la vegetación se reflejan también en cambios microbiológicos, puesto que el número de bacterias ($60 \times 10^6 \pm 15 \times 10^6$ bacterias g^{-1} de suelo) y de hongos ($17 \times 10^4 \pm 5 \times 10^4$ propágulos g^{-1} de suelo) presentes en los suelos bajo el dosel del árbol fue mayor que en los campos que fueron abiertos a la agricultura ($20 \times 10^6 \pm 5 \times 10^6$ bacterias g^{-1} de suelo y $46 \times 10^3 \pm 10 \times 10^3$ propágulos g^{-1} de suelo, respectivamente). Dichos resultados hablan claramente de una posible pérdida de biodiversidad microbiana que puede resultar importante en el mantenimiento del ecosistema.

2.3 Islas de fertilidad

De acuerdo a Flores & Jurado (2003), la base funcional de las islas radica en una relación de nodricismo, donde plantas de diferentes especies están protegidas por un arbusto de otra especie, los arbustos crean microambientes más favorables para otros organismos. Las IF comprenden uno o varios árboles o arbustos generalmente leguminosas y plantas establecidas bajo su dosel, se piensa que actúan como unidades funcionales básicas que permiten la estabilidad y productividad del ecosistema en su conjunto y de paisajes completos en las regiones áridas y semiáridas (Tielborger & Kadmon, 2000).

A su vez, Whitford, (2002), destaca su importancia ya que regulan el funcionamiento de los ecosistemas en muchas zonas áridas y semiáridas, debido a que disminuyen el estrés hídrico, así como también dentro de ella se da la transformación de materia y energía regulando la cantidad de nitrógeno, carbono y fósforo que se almacena y mineraliza en el suelo, permitiendo con esto la productividad del ecosistema.

2.4 Importancia ecológica

Golubov, *et al.*, (2001) señala que la importancia ecológica del mezquite es indiscutible; por una parte, juega un papel importante en el medio ambiente como planta fijadora de nitrógeno, enriquece el suelo a su alrededor, promueve el crecimiento de matorrales asociados a ella (nodricismo) y por tanto previene la erosión del suelo; así mismo actúa como hábitat temporal o permanente de numerosas especies de aves y roedores.

2.5 Usos

Esta planta se emplea en la obtención de madera, leña, carbón, miel; sus frutos (vainas) se utilizan en la elaboración de diversos alimentos para consumo humano y como forraje (Rodríguez y Maldonado, 1996). En escala muy pequeña también se aprovecha la goma de su corteza, así como la madera para la elaboración de parquet, muebles, leña y carbón, representan una importante actividad económica en numerosas comunidades rurales, la tala indiscriminada, ha resultado en una severa deforestación de este recurso en zonas áridas (Becker & Grosjean, 1980).

En contraste, el aprovechamiento de productos no maderables de alto valor, tales como vainas, miel y goma, constituyen alternativas económicas mucho más acordes con el concepto de desarrollo sostenible (Del Valle, *et al.*, 1983). De las diversas fracciones de la vaina del mezquite se obtiene harinas integrales, jarabe, sustituto de café y proteína, particularmente en el norte del Perú, (Estévez, *et al.*, 2004).

2.6 Importancia del mezquite a nivel mundial

Existen 44 especies de *Prosopis*, de las cuales 42 se encuentran en el Continente Americano, en Estados Unidos predominan cuatro especies: *P. glandulosa* var. *torreyana* en California, *P. velutina* en Arizona, *P. glandulosa* var. *glandulosa* en Texas y *P. pubescens* espiral, que se encuentra en pequeñas cantidades en todas las regiones, este recurso es abundante en Estados Unidos, México, Perú, Chile, Argentina, Brasil, Australia, Haití, Paquistán y en las partes áridas de la India (INE, 1994).

2.7 Importancia del mezquite a nivel nacional

México posee una extensión de 56 y 23 millones de km² de zonas áridas y semiáridas, respectivamente, que representan el 40 por ciento de la superficie total del territorio mexicano, se ha considerado que el cultivo del mezquite representa una alternativa de desarrollo agropecuario forestal (INE, 1994).

En México predominan especies como: *P. palmeri* (en Baja California); *P. reptans* var. *cinerascens* (al norte de Tamaulipas); *P. pubescens* (norte de Chihuahua y Baja California); *P. articulata* (en la región de Mar de Cortés, Sonora y Baja California Sur); *P. tamaulipana* (Tamaulipas, San Luis Potosí y Veracruz) que tal vez sea una variante de *P. laevigata*, ya que coexiste con ella; *P. velutina* (Sonora) muestra influencia genética con *P. glandulosa*; *P. juliflora*, reclasificada como *P. laevigata* (centro y sur de México, Guerrero, Querétaro, Estado de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca Puebla, San Luis Potosí, Veracruz, Nuevo León, Aguascalientes, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco y Zacatecas); *P. glandulosa* var. *glandulosa* (Coahuila, Chihuahua, Sonora, Nuevo León y norte de Tamaulipas); *P. glandulosa* var. *torreyana* (Baja California, Baja California Sur, Chihuahua, Sinaloa, Coahuila, Nuevo León, Zacatecas y norte de San Luis Potosí). En México la mayor densidad

de mezquiales (o mezquiteras) se concentra principalmente en el estado de Sonora, aunque también abunda en los estados de Durango, San Luis Potosí, Coahuila, Chihuahua, Nuevo León, Tamaulipas y Zacatecas (Rodríguez & Maldonado, 1996).

2.8 El mantillo

El mantillo juega un papel transcendental en los procesos naturales del ecosistema, donde algunos investigadores han reconocido que el cambio de la cobertura vegetal tiene efectos directos sobre la constitución del mantillo, y este último determina la organización y estructura de las comunidades vegetales, a través de la germinación de las semillas, la sobrevivencia de plántulas y el desarrollo de retoños vegetales (Guzmán & Walker 1991). Asimismo, Vitousek, *et al.*, (1995) mencionan que es parte primordial en el proceso de almacenaje de carbono y elementos minerales en el suelo, donde conjuntamente con la tasa de renovación de la biomasa subterránea constituye la vía principal de transferencia de nutrientes al suelo.

Domínguez, *et al.*, (2009), indican que el suelo sostiene una red trófica muy compleja cuyo funcionamiento resulta en último término en el ciclo de la materia orgánica y nutrientes donde los nutrientes del suelo son producto del equilibrio de la biomasa vegetal depositada y la calidad de nutrientes que pueda contener, y donde los sitios ricos en nutrientes reflejan la biomasa y crecimiento de las plantas. Por ejemplo, dada la heterogeneidad espacial de nutrientes del suelo, Zhang, *et al.*, (2010) encontraron una mayor proliferación de raíces en los sitios más ricos en nutrientes. Se ha demostrado que diferentes tipos de vegetación forman y mantienen diferentes calidades de suelos (Bach, y otros, 2003).

2.9 Bacterias del suelo

Las bacterias están presentes en todos los tipos de suelo, pero su población decrece a medida que la profundidad incrementa, así que la mayoría de los microorganismos se concentra en el horizonte a, que es la capa superficial del suelo con mayor materia orgánica (Subba R.1997).

2.10 Importancia de los Microorganismos

Como es bien sabido, los microorganismos son los seres más numerosos que existen en la tierra; son organismos ancestrales que han colonizado exitosamente cada nicho ecológico posible, 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, su presencia y actividad es esencial para la salud y funcionamiento adecuado de todos los ecosistemas (Olembo, 1991).

Las bacterias son los organismos más numerosos en el suelo (entre 10^6 y 10^7 bacterias $\cdot g^{-1}$ de suelo), mientras que los hongos dados su mayor tamaño, aunque menor abundancia tiene la biomasa más significativa (Alexander, 1980).

Tate (1995), explica que estos ayudan directamente al desarrollo de las plantas por su aporte nutricional o bien mejorando las características del suelo mediante una mejor agregación de partículas, incrementando la retención de suelo, la porosidad, la retención de agua y el control de la erosión.

De igual manera, Stewart (1991), indica que gran parte de la significancia de los microorganismos se expresa al mantener un balance adecuado entre el suelo, la planta y la microbiota nativa, señala que el punto en donde se llevan a cabo las interacciones más importantes, es la rizósfera, zona de influencia de la raíz, se puede decir que la sostenibilidad depende de mantener las buenas condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo.

Por otro lado, los microorganismos son un factor importante en el proceso de formación del suelo, participan en la transformación de compuestos orgánicos y minerales e influyen en el contenido y la movilidad de los macro y micro elementos, así como en su balance y asimilación por las plantas (Morell & Jiménez, 2008); además, desarrollan funciones esenciales como el ciclaje de nutrimentos para el crecimiento de las plantas, formación de humus del suelo, mejora de las propiedades físicas y el mantenimiento de la biodiversidad de los ecosistemas (Campbell, *et al.*, 1997)

Acuña, *et al.*, (2006), mencionan algunos de los beneficios de los microorganismos para el sistema suelo – planta: a) producen hormonas que promueven el crecimiento; b) facilitan el desarrollo de las plantas (Wolfe & Klinomoros, 2005); c) estimulan la germinación de las semillas y el enraizamiento; y d) protegen a las plantas del estrés hídrico y abiótico en general.

2.11 Metagenómica

La metagenómica es una ciencia que surge como una rama de las ciencias genómicas, la cual se refiere al estudio del metagenóma de un nicho en particular (Handelsman, 2004; Riesenfeld, *et al.*, 2004).

El término meta significa trascender y en el concepto metagenómica es estratégico porque esta herramienta de la ciencia incluye investigación a tres niveles interrelacionados (procesamiento de muestras, secuenciación de ADN y análisis funcional) para comprender la función e importancia de los genes en una comunidad y analizar su influencia en las actividades de otros genes al realizar una función colectiva (NRC 2007).

Chen y Pachter (2005), la definen como el empleo de metodologías genómicas modernas para el estudio espontáneo de las asociaciones microorganismos en entorno natural donde se encuentren, impidiendo así la necesidad de aislar y cultivarlas cada uno de las variedades de especies que forman la comunidad.

16S rRNA es el gen marcador molecular más utilizado en los estudios de la metagenómica para la identificación de microorganismos que llegan a ocupar un ambiente definitivo. (Jensen y Lauro, 2008; Sogin *et al.*, 2006).

Esta metodología estudia el total del ADN que podemos encontrar en un nicho específico (Kermekchiev *et al.*, 2009). El conocimiento del metagenoma de un ambiente en particular puede permitirnos una buena aproximación a los diversos aspectos de la vida microbiana que allí se está generando, genes que se expresan bajo esas condiciones ambientales, o quizás, las diferentes interacciones ecológicas de ese nicho particular (Venter y otros 2004).

El suelo es probablemente uno de los ambientes más complejos por su diversidad y complejidad microbiológica (Daniel, 2005; Mocali y Benedetti, 2010).

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del experimento

El presente trabajo de investigación se realizó en diversas áreas situadas en el municipio de San Pedro, Coahuila de Zaragoza, México. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos incluyendo el testigo, las muestras colectadas fueron las siguientes: (Muestras A 1-4, figura 2); bosque juvenil con manejo de aproximadamente 20 años, es el área donde se obtiene una alta producción de vaina de mezquite, obteniendo las siguientes coordenadas: 25°40'57.9"N 102°54'53.9"W, (Muestras B 1-4, Figura 3); bosque juvenil con manejo de aproximadamente 20 años y baja producción de vaina 25°40'55.7"N 102°54'48.3"W, (M S2-S3, Figura 4 y 5); mantillo, Bosque añoso sin manejo mayor de 40 años, 25°43'24.2"N 103°01'19.7"W ; 25°43'24.1"N 103°01'19.8"W y (S1, Figura 6) suelo desnudo sin mezquital, 25°40'54.2"N 102°54'50.6"W.



Figura 2.- Ubicación del sitio de muestreo (A 1-4). Imagen recuperada de Google Maps. Noviembre 2021.



Figura 3.- Ubicación del sitio de muestreo (B 1-4. Imagen recuperada de Google Maps. Noviembre 2021.

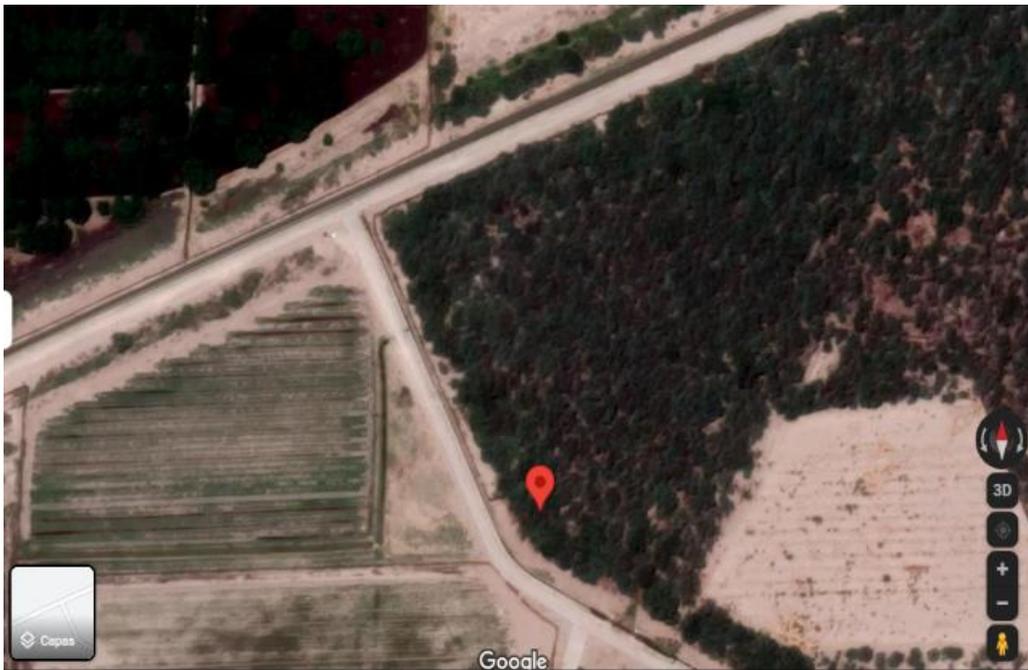


Figura 4.- Ubicación del sitio de muestreo, mantillo (S2). Imagen recuperada de Google Maps, noviembre 2021.

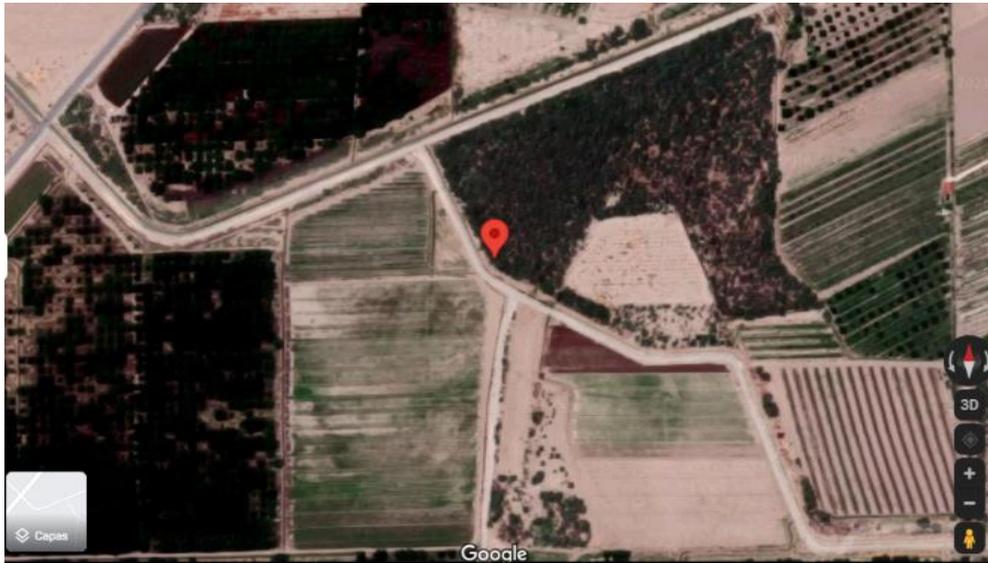


Figura 5.- Ubicación del sitio de muestreo, mantillo (S3), Imagen recuperada de Google Maps. Noviembre 2021,



Figura 6.- Ubicación del sitio de muestreo (S1). Imagen recuperada de Google Maps. Noviembre 2021.

3.2 Toma de muestras

Las muestras se tomaron en los cuatro sitios seleccionados, para el caso de los mezquiales se muestreó a una distancia de un metro aproximado del tallo, utilizando una barrena suelera estándar tipo (SP06505 Modelo J), para microorganismos del suelo y con un cilindro de bronce para densidad aparente.

3.3 Secuenciación masiva de siguiente generación 16S rRNA

El trabajo de laboratorio se llevó a cabo en el Laboratorio Nacional en Salud: Diagnóstico Molecular y Efecto Ambiental en Enfermedades Crónico-Degenerativas, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Las muestras fueron depositadas en tubos para lisis BashingBead™; en seguida se agregaron 750 µl de buffer lisante/estabilizador Xpedition™ Zymo Research™. Cada tubo se colocó en un disruptor celular (TerraLyzer™) durante 30 segundos para su conservación.

El DNA de las muestras fue extraído utilizando el kit DNA Zymobiomics MiniPrep de Zymo Research™. La cantidad de DNA por muestra se midió en un fluorómetro marca Qubit®. Se realizó la amplificación de la región V3-V4 del gen 16S rRNA empleando los primers sugeridos por Klindworth et al. (2013): S-D-Bact-0341-b-S-17, 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3' y S-D-Bact-0785-a-A-21, 5'-ACTACHVGGGTATCTAATCC-3', que producen un amplicón de ~460 pb. Estas secuencias se mandaron a sintetizar con los adaptadores "overhang" del protocolo de Illumina (2017a) quedando de la siguiente manera: 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3' y 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAA

TCC-3' (amplicón de ~550 pb). Se utilizó el protocolo de PCR Illumina (2017a) usando 12.5 µl de MyTaq™ Ready Mix 1X (Bioline®), un µl de cada primer (10 uM), 5 µl de DNA (50 ng totales) y 5.5 µl de H₂O grado molecular; se utilizó el siguiente ciclo: 95 °C por tres minutos; 25 ciclos de 95°C por 30 segundos, 55 °C por 30 segundos, 72 °C por 30 segundos; 72 °C por 5 minutos en un termociclador Labnet Multigene™ Gradient PCR. Se colocó un µl de los productos de PCR en un chip de Bioanalyzer ADN 1000 para verificar el tamaño del amplicón (~550 pb). Se realizó la purificación de los amplicones con perlas Agencourt® AMPure® XP al cero punto ocho por ciento. Posteriormente, los amplicones se etiquetaron utilizando el Nextera XT Index Kit™ para la creación de las bibliotecas, siguiendo el protocolo de Illumina (2017b), empleando 25 µl de MyTaq™ Ready Mix 1X (Bioline®), 5 µl de cada primer (N7xx y S5xx), el siguiente ciclo: 95 °C por tres minutos; 10 ciclos de 95 °C por 30 segundos, 55 °C por 30 segundos, 72 °C por 30 segundos; 72 °C por 5 minutos. Se realizó la purificación de las bibliotecas con perlas Agencourt® AMPure® XP al uno punto dos por ciento. Se colocó un µl de la biblioteca final de algunos productos de PCR seleccionados al azar en un chip de Bioanalyzer ADN 1000 para verificar el tamaño del amplicón esperando un tamaño de ~630 pb. Finalmente, se hizo la cuantificación, normalización (equimolaridad), la agrupación de las bibliotecas y la secuenciación masiva de siguiente generación (MiSeq Illumina® de 2 × 250 lecturas de final pareado) siguiendo el protocolo para metagenómica 16S (Illumina, 2017a).

3.4 Análisis bioinformática

Los resultados de la secuenciación se almacenaron en la aplicación digital de Illumina BaseSpace en formato FASTQ. El análisis de las secuencias se realizó en máquina virtual Oracle VM VirtualBox 5.1.14 en MGLinux mediante el software bioinformático Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME) v.1.9.0 (Caporaso et al., 2010). El proceso se inició ensamblando las secuencias forward y reverse utilizando el programa PEAR (Zhang et al., 2014) con un traslape de 50 pb,

una longitud mínima por lectura de 430 pb y máxima de 470 pb, un criterio de calidad Q30 (una base errónea por cada 1000 bases) y un valor de $P < 0.0001$. Enseguida el archivo fue convertido a formato FASTA y se calculó la media y la desviación estándar del número de pares de bases de las muestras, obteniendo una media cercana a las 460 pb (amplicón obtenido de la región V3-V4). Se llevó a cabo la eliminación de secuencias quiméricas de las muestras con USEARCH (Edgar, 2010). La selección de OTUs se realizó con el método UCLUST (Edgar, 2010) al 97% de similitud; se obtuvo una secuencia representativa para cada OTU y se asignó la taxonomía tomando como referencia la base de datos EzBioCloud actualizada 2020 (Yoon et al., 2017). Después se obtuvo la tabla de OTUs en formato biom (Biological observation matrix; McDonald et al., 2012), se separaron los dominios y se filtraron los singletons (que son los OTUs que solo tienen una observación). Se obtuvieron las tablas de abundancia absoluta de OTUs y se graficó el número de secuencias por el número de taxa, categoría género, para observar si se logró una profundidad de cobertura adecuada (curvas de tendencia asintota); esta gráfica se realizó en PAST ver 3.15 (Hammer et al., 2001). Al observar que el número de secuencias alcanzado de manera simultánea por todas las muestras fue 6,500 se llevó a cabo un proceso de rarefacción aleatoria simple (Weiss et al., 2017) tomando este valor como el número de secuencias a generarse. De esta forma se obtuvo un archivo biom estandarizado para todas las muestras. Con este archivo se calculó la diversidad beta utilizando el índice de Bray-Curtis (Beals, 1984); esta matriz de diversidad beta se utilizó para llevar a cabo una prueba Permanova ($p < 0.05$) para probar diferencia significativa de la microbiota entre grupos. Se obtuvieron las abundancias relativas para phylum, clase y orden y se graficaron en Excel. Las familias y géneros cuya abundancia relativa fue superior al 0.01% fueron representados en mapas de calor; se utilizó el método de conglomerados jerárquicos con medida euclidiana para el dendrograma de las muestras; esta visualización se realizó con el software Morpheus (<https://software.broadinstitute.org/GENE-E/>). Se enumeraron los taxa para visualizar los grupos de muestras utilizando Análisis de Coordenadas principales

(PCoA) y lo visualizamos utilizando el software Emperor (Vázquez-Baeza et al.,2013). Finalmente, se realizó un análisis LEfSe (tamaño del efecto del análisis discriminante lineal) para determinar estadística y biológicamente los biomarcadores clave que más contribuyeron a las diferencias entre grupos. Los clados seleccionados fueron los menores de 0.05 en el valor alfa de la prueba factorial de Kruskal-Wallis $>4,0$ en la puntuación logarítmica LDA. Este análisis se realizó en el sitio web <http://huttenhower.sph.harvard.edu/lefse/>.

IV RESULTADOS

De acuerdo con las determinaciones de las variables de carbono orgánico del suelo (COS, Mg ha^{-1}), materia orgánica (MOS, Mg ha^{-1}), pH y conductividad eléctrica (C.E., μScm^{-1}), en la Figura 7, de manera gráfica se observa que la acumulación de materia orgánica fue mayor en el suelo desnudo.

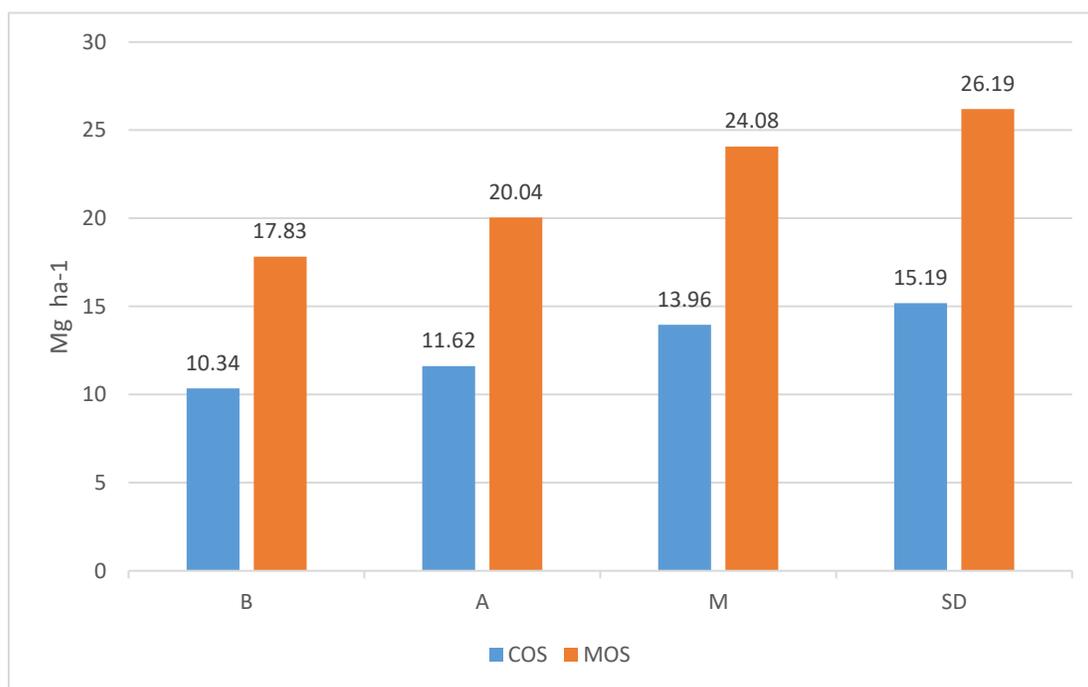


Figura 7.- Contenido de carbono orgánico del suelo (COS) y materia orgánica del suelo (MOS) de los sitios de estudio en mezquital y suelo desnudo.

En la figura 8 se observa una CE alta en la muestra de mantillo y una baja en suelo desnudo, el pH se muestra menor en mantillo y mayor en suelo desnudo.

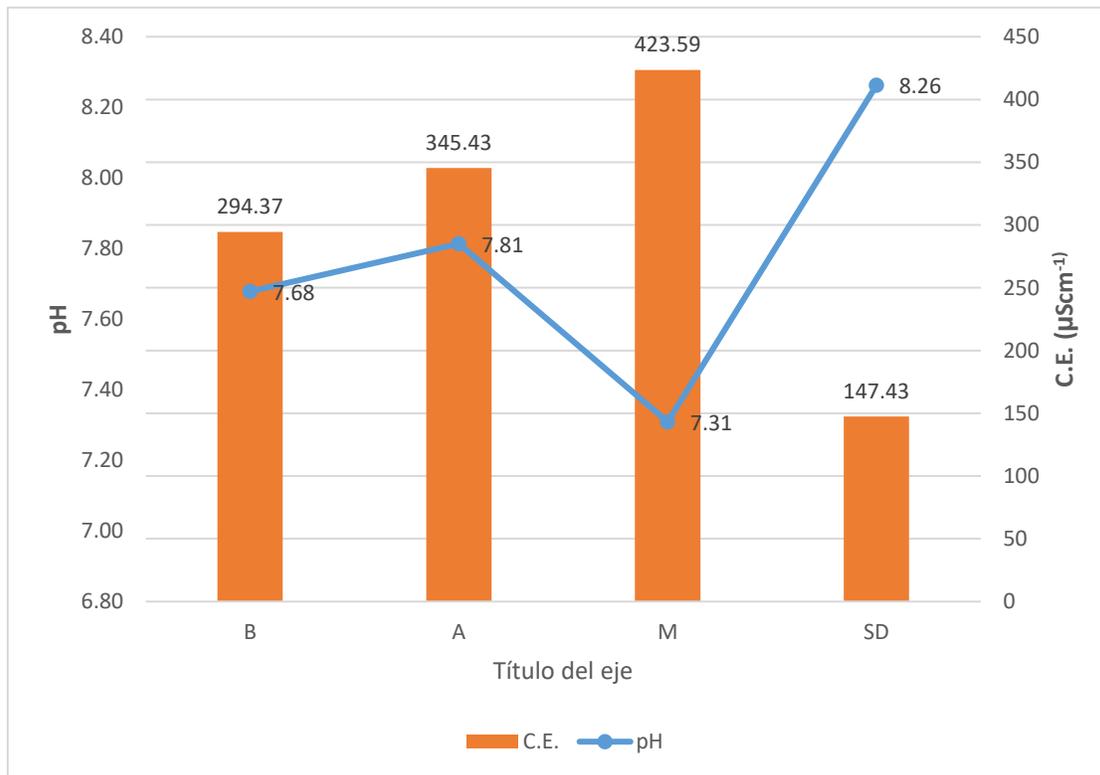


Figura 8.- Conductividad eléctrica Y PH del suelo en sitios de estudio de mezquiales y suelo desnudo.

4.1 Análisis de microbiota bacteriana

La media obtenida del número total de secuencias para los suelos de alta producción de mezquite antes de realizar el ensamblaje fue de 203,085, para los suelos con baja producción fue 103,607 y para suelo con producción silvestre fue 104,915. Las medidas de secuencias ya ensambladas fueron 101,821, 47,523 y 47,523 respectivamente. En seguida, se obtuvo una media de secuencias en FASTA; para suelo de alta producción 101,449, para suelos de baja producción 47,351 y para suelo de producción silvestre 42,839. Se obtuvo un promedio de 93,952 secuencias de calidad para suelo con alta producción de mezquite, 46,828 para suelo de baja producción de mezquite y 42,437 para suelo de producción

silvestre; después de la asignación taxonómica, se obtuvo una media de secuencias bacterianas de 75,655, 39,358 y 37,221 respectivamente a las muestras analizadas, posteriormente tras la eliminación de los sigletons se obtuvo una media de 27,104 para los suelos de alta producción de mezquite, 17,474 para suelo de baja producción de mezquite y 16,219 para suelo de producción silvestre (Cuadro 1).

Cuadro 1.- Número de secuencias obtenidas para cada tipo de suelo .ST= Secuencias totales, SE = Secuencias ensambladas, D= Desechadas, Q= Quimeras eliminadas, SC= Secuencias de calidad después de la eliminación de quimeras, SB= Secuencias bacterianas después de la asignación taxonómica, SBSS= Secuencias bacterianas después de la eliminación de los sigletons.

MUESTRA	ST	SE	D	FASTA	Q	SC	SB	SBSS
A1	105,292	53,379	51,913	53,172	723	52,449	46,995	26,886
A2	103,819	47,157	56,662	46,990	357	46,633	36,247	8,329
A3	487,228	255,304	231,924	254,382	28,350	226,032	175,753	54,425
A4	116,000	51,444	64,556	51,251	557	50,694	43,626	18,776
Media	203,085	101,821	101,264	101,449	7,497	93,952	75,655	27,104
B1	93,773	48,247	45,526	48,059	735	47,324	41,686	22,706
B2	98,256	47,003	51,253	46,844	525	46,319	39,144	17,678
B3	112,028	53,055	58,973	52,844	474	52,370	45,712	22,942
B4	110,372	41,786	68,586	41,656	359	41,297	30,890	6,570
Media	103,607	47,523	56,085	47,351	523	46,828	39,358	17,474
S1	101,748	48,233	53,515	48,049	331	47,718	42,482	19,026
S2	125,666	49,985	75,681	49,787	675	49,112	42,793	21,258
S3	87,330	30,795	56,535	30,681	199	30,482	26,389	8,373
Media	104,915	43,004	61,910	42,839	402	42,437	37,221	16,219

Se obtuvo una profundidad de cobertura aceptable en cuanto al número de OTUs bacterianos que se registró de las muestras, ya que las curvas tendieron a la asíntota (Figura 9).

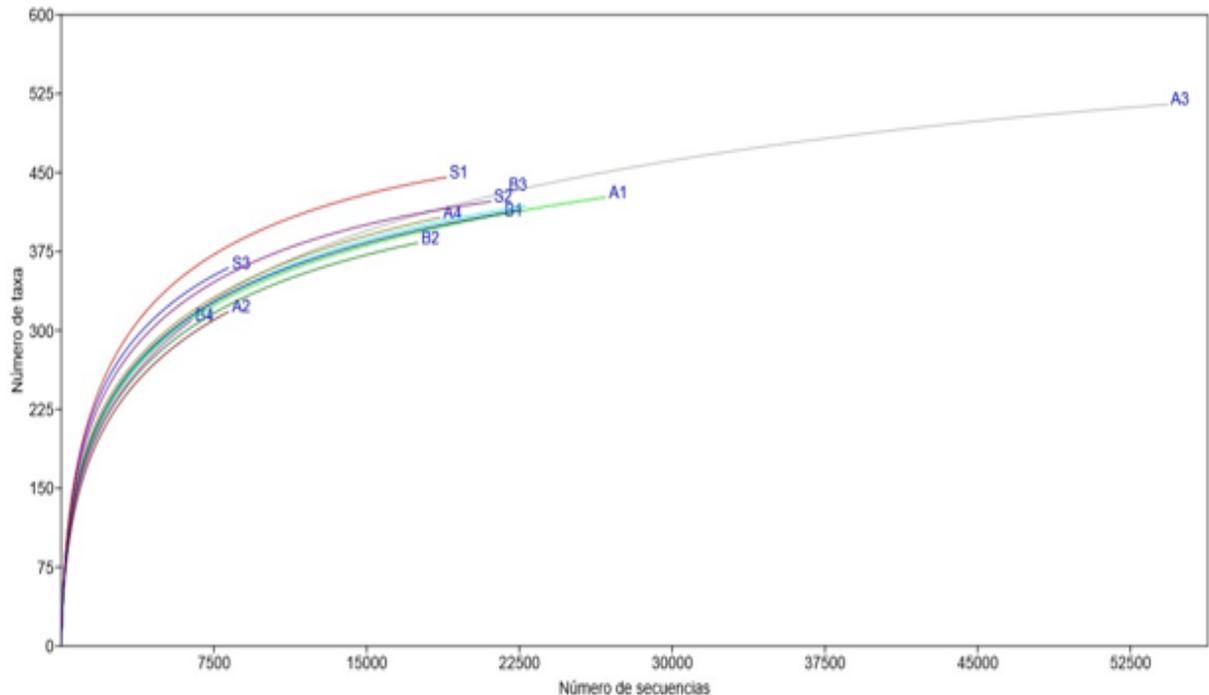


Figura 9.- Número de secuencias por el número de OTUs para cada muestra de suelo sin rarificar.

Se registraron 17 Phyla, de los cuales se tomaron 6 de los más abundantes en los tres diferentes suelos, para el caso de suelo de alta producción se presentó Actinobacteria ($\bar{x}=42\%$), Proteobacteria ($\bar{x}=25\%$), Chloroflexi ($\bar{x}=15\%$), Planctomycetes ($\bar{x}=12\%$), Acidobacteria ($\bar{x}=2\%$) y Saccharibacteria_TM7 ($\bar{x}=1\%$). Para suelo de baja producción se presentó Actinobacteria ($\bar{x}=0\%$), Proteobacteria ($\bar{x}=3\%$), Chloroflexi ($\bar{x}=41\%$), Planctomycetes ($\bar{x}=0\%$), Acidobacteria ($\bar{x}=0\%$) Saccharibacteria_TM7 ($\bar{x}=13\%$) y para suelo de producción silvestre Actinobacteria ($\bar{x}=0\%$), Proteobacteria ($\bar{x}=2\%$), Chloroflexi ($\bar{x}=40\%$), Planctomycetes ($\bar{x}=0\%$), Acidobacteria ($\bar{x}=0\%$) y Saccharibacteria_TM7 ($\bar{x}=9\%$) (Figura 10).

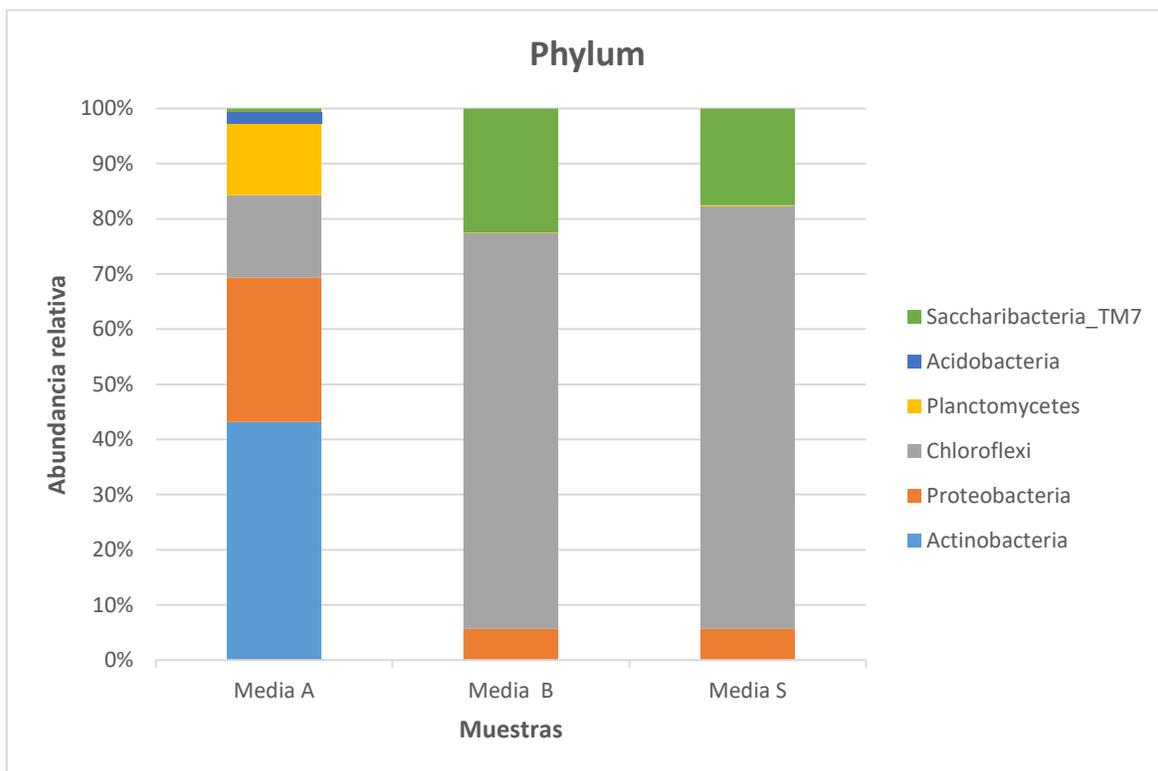


Figura 10.- Abundancia relativa (%) promedio de los principales Phyla de bacterias que existen en las muestras de suelo. **Media A** = Suelo con alta producción de mezquite, **Media B** = Suelo con baja producción de mezquite, **Media S** = Suelo con producción de mezquite silvestre.

Se registró un total de 52 clases en las 3 muestras de suelo que se analizaron, por lo cual en suelo de alta producción obtuvimos Actinobacteria_c (\bar{x} =36%), Alphaproteobacteria (\bar{x} =25%), Phycisphaerae (\bar{x} =11%), Acidimicrobiia (\bar{x} =5%), GQ396871_c (\bar{x} =7%), Thermomicrobia (\bar{x} =2%), en suelo de baja producción se obtuvo Actinobacteria_c (\bar{x} =33%), Alphaproteobacteria (\bar{x} =28%), Phycisphaerae (\bar{x} =10%), Acidimicrobiia (\bar{x} =6%), GQ396871_c (\bar{x} =4%), Thermomicrobia (\bar{x} =2%) y para la producción silvestre se presentó Actinobacteria_c (\bar{x} =35%), Alphaproteobacteria (\bar{x} =38%), Phycisphaerae (\bar{x} =4%), Acidimicrobiia (\bar{x} =4%),

GQ396871_c (\bar{x} =3%), Thermomicrobia (\bar{x} =1%) los más abundantes en cada suelo (Figura 11).

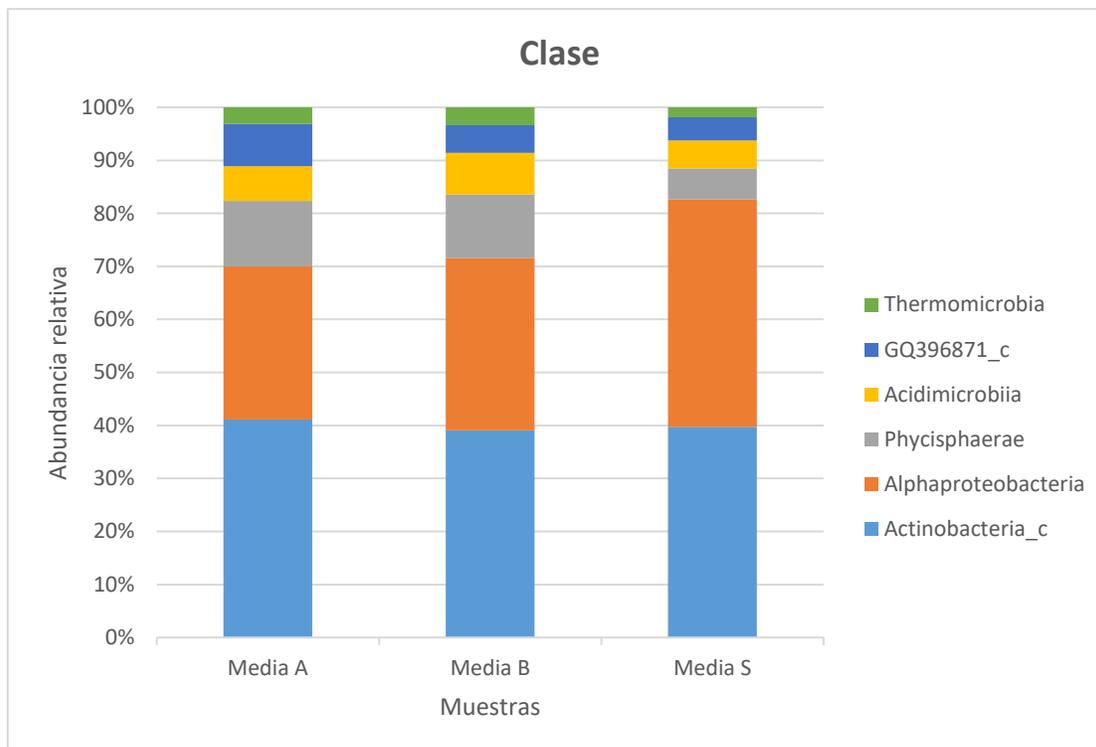


Figura 11. Abundancia relativa (%) promedio de las principales clases de bacterias en las tres diferentes muestras de suelo que se tomaron.

Dentro del análisis se encontró un total de 90 órdenes, de los cuales Phycisphaerales (\bar{x} =11%), Frankiales (\bar{x} =10%), Rhizobiales (\bar{x} =8%), PAC002290_o (\bar{x} =8%), Rhodospirillales (\bar{x} =8%) y GQ396871_o (\bar{x} =7%) fueron los más abundantes para el suelo con alta producción de mezquite, para el suelo con baja producción de mezquite Phycisphaerales (\bar{x} =9%), Frankiales (\bar{x} =10%), Rhizobiales (\bar{x} =11%), PAC002290_o (\bar{x} =10%), Rhodospirillales (\bar{x} =5%) y GQ396871_o (\bar{x} =7%) y Phycisphaerales (\bar{x} =13%), Frankiales (\bar{x} =7%), Rhizobiales (\bar{x} =9%), PAC002290_o

(\bar{x} =5%), Rhodospirillales (\bar{x} =11%) y GQ396871_o (\bar{x} =2%) para suelo con producción de mezquite silvestre (figura 12).

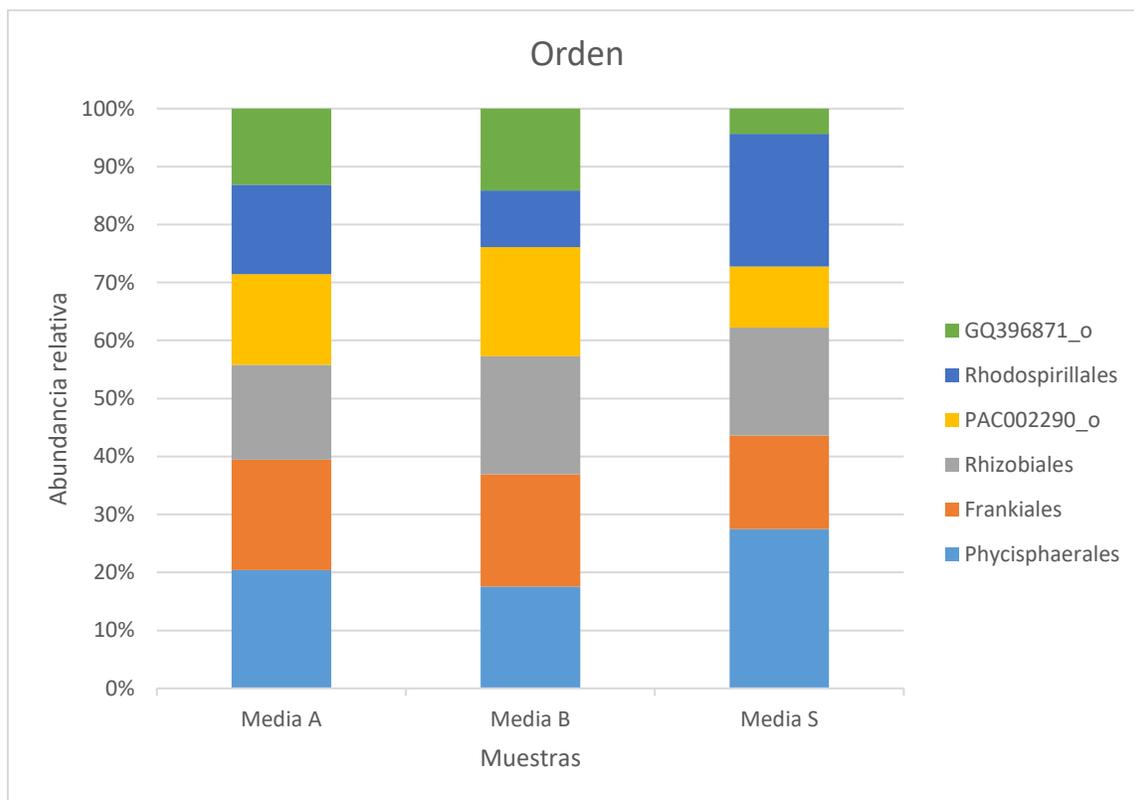


Figura 12. Abundancia relativa (%) promedio de principales órdenes de bacterias en las tres diferentes muestras de suelo.

4.2 Mapas de calor para las familias y géneros representativos en los suelos analizados

Se realizó un mapa de calor para representar a las familias debido al gran número de taxa que se registró, 210 familias (figura 13), de igual manera se registró una alta cantidad de géneros, 621 en total, lo cual presentaron una abundancia relativa mayor a 0,01% en ambos casos (figura 14).

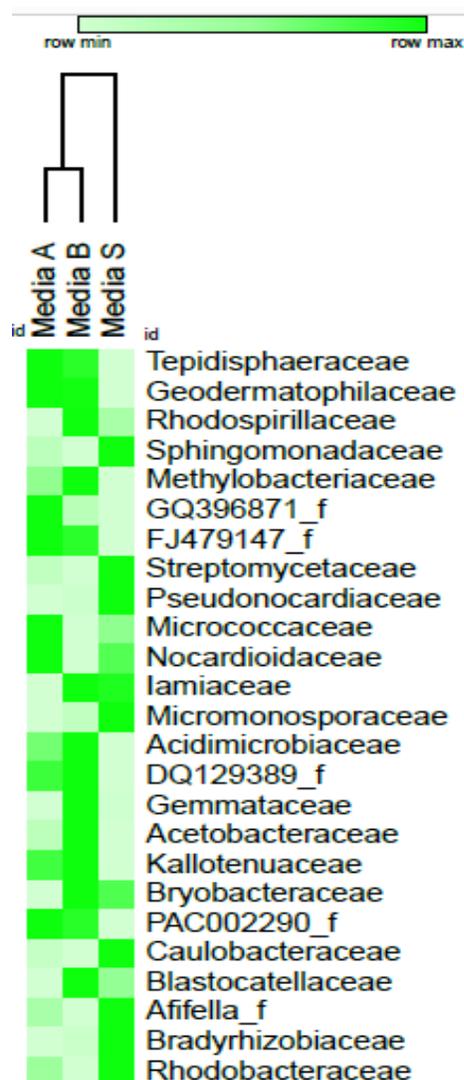


Figura 13.- Mapa de calor de las familias bacterianas de las tres diferentes muestras de suelo cuya abundancia relativa fue mayor a 0.01%.

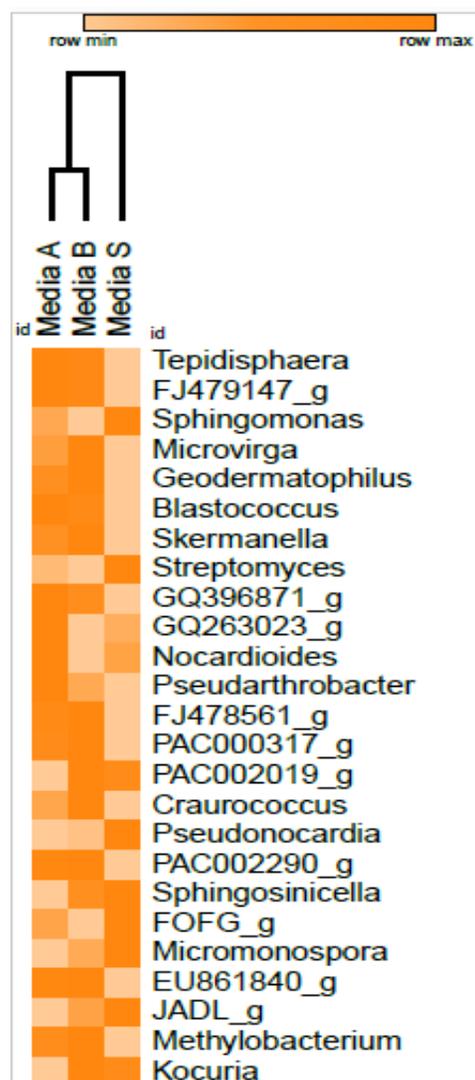


Figura 14.- Mapa de calor de los géneros bacterianos de las tres diferentes muestras de suelo cuya abundancia relativa fue mayor a 0.01%.

Entre las tres diferentes muestras de suelo: AP, BP Y PS (Mantillo y suelo desnudo) encontramos una cierta abundancia de géneros con similitud entre sí, en las que predominan ciertos ejemplos, tomando los principales 25 géneros más abundantes de cada una de las muestras, mostrándose de mayor a menor en su presencia (cuadro 2).

Cuadro 2.- Géneros predominantes en general de cada una de las muestras que se analizaron.

No.	ALTA PRODUCCIÓN	BAJA PRODUCCIÓN	MANTILLO	SUELO DESNUDO
1	Tepidisphaera	Tepidisphaera	Sphingomonas	Sphingomonas
2	FJ479147_g	FJ479147_g	Tepidisphaera	Streptomyces
3	Blastococcus	Microvirga	Streptomyces	Geodermatophilus
4	Sphingomonas	Skermanella	Microvirga	Microvirga
5	Geodermatophilus	Geodermatophilus	Blastococcus	Blastococcus
6	Microvirga	Blastococcus	Geodermatophilus	Tepidisphaera
7	Skermanella	GQ396871_g	Skermanella	GQ263023_g
8	GQ396871_g	Sphingomonas	Nocardioides	FOFG_g
9	GQ263023_g	Streptomyces	GQ396871_g	Pseudonocardia
10	Streptomyces	PAC000317_g	Lentzea	Pseudolabrys
11	Nocardioides	Craurococcus	Pseudarthrobacter	GQ396871_g
12	Pseudarthrobacter	FJ478561_g	PAC002019_g	Micromonospora
13	FJ478561_g	Nocardioides	GQ263023_g	Nocardioides
14	PAC000317_g	PAC002019_g	Sphingosinicella	JF266448_g
15	PAC002290_g	Pseudarthrobacter	FJ479147_g	Sphingosinicella
16	Pseudonocardia	GQ263023_g	Devosia	JADL_g
17	EU861840_g	PAC002290_g	Pseudonocardia	Skermanella
18	FOFG_g	Sphingosinicella	FOFG_g	PAC002019_g
19	Craurococcus	Methylobacterium	Micromonospora	Devosia
20	PAC002019_g	EU861840_g	PAC002290_g	Actinomadura
21	Micromonospora	Pseudonocardia	FJ478561_g	Constrictibacter
22	Methylobacterium	Micromonospora	Actinomadura	Kocuria
23	Rubellimicrobium	Kocuria	Ensifer	Asprobacter
24	JADL_g	Stenotrophobacter	Pseudolabrys	Kribbella
25	Sphingosinicella	JADL_g	JADL_g	Altererythrobacter

Al realizar el método PERNOVA con la prueba estadística pseudo-F se observó diferencia significativa entre grupos (cuadro 3).

Se pudieron apreciar los grupos de las muestras con Alta producción (A1-A4), Baja producción (B1-B4), y suelo con producción silvestre como testigo (S1-S3) utilizando Análisis de coordenadas principales (PCoA) haciendo evidente la separación que existe entre grupos (Figura 15).

Cuadro 3.- Resultados obtenidos con el método PERNOVA

Nombre del método	PERMANOVA
Nombre de la prueba estadística	pseudo-F
Tamaño de la muestra	11
Número de grupos	3
p-value	0.002
Número de permutaciones	999

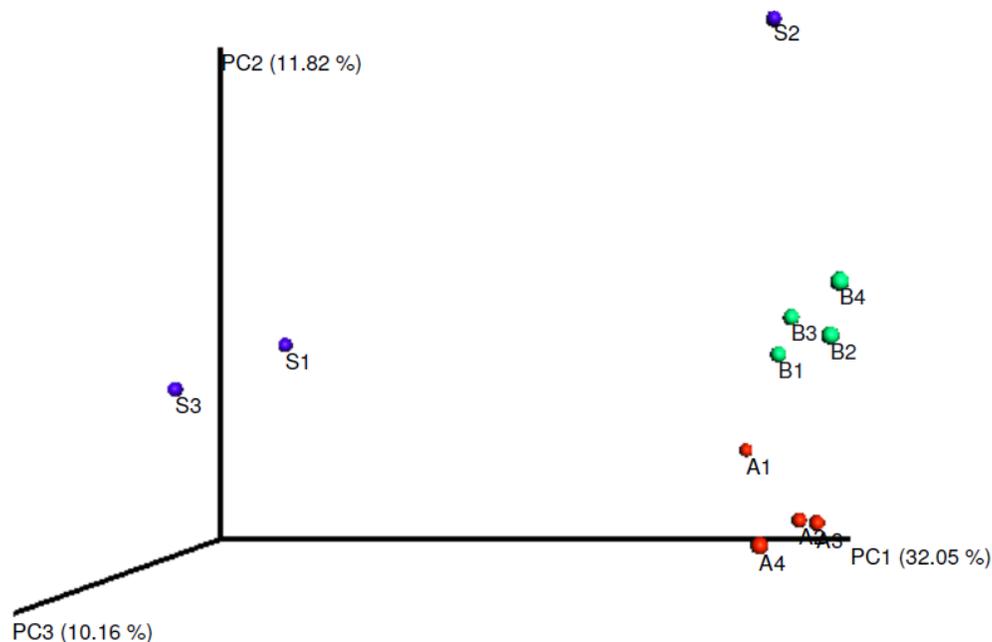


Figura 15.- Visualización de grupos de muestras utilizando PCoA.

4.3 Taxa biomarcadores

Se realizó una gráfica de barras para un análisis discriminante (figura 16) y un cladograma para representar los resultados obtenidos mediante el análisis LEfSe para hacer una comparación de clases de alta dimensión con un enfoque en los taxa biomarcadores (figura 17). En los que observamos una separación evidente entre las muestras de suelo con alta producción, baja producción y producción silvestre de mezquite, además de identificar los taxa predominantes por población.

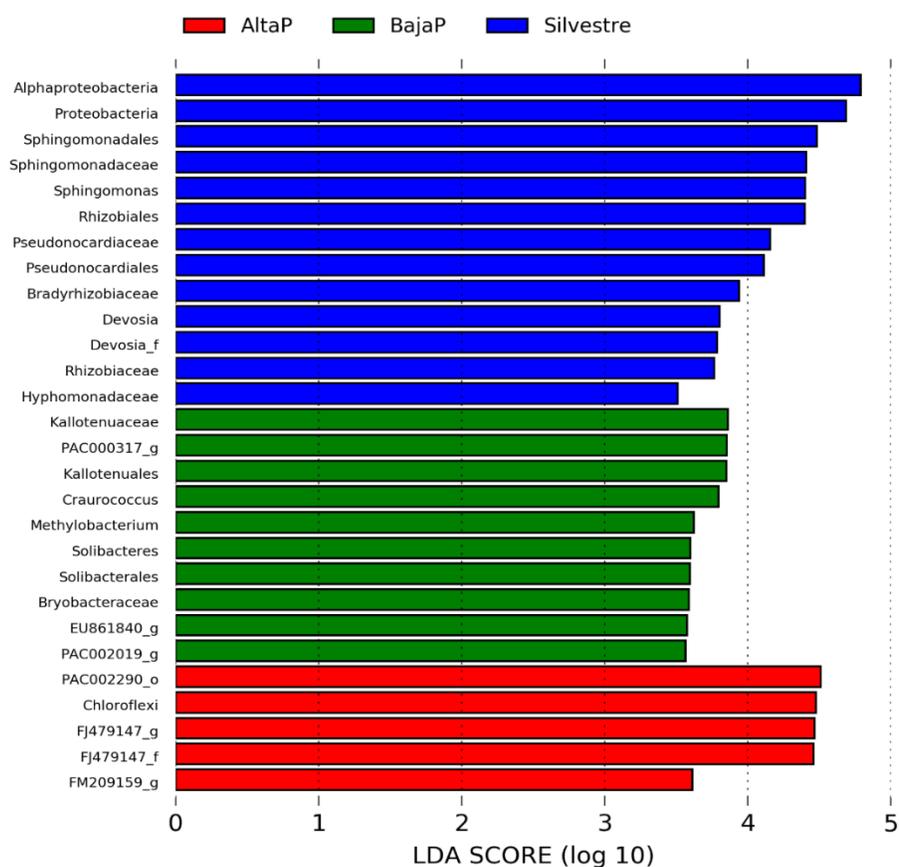


Figura 16.- Taxa biomarcadores predominantes representativo de los resultados LEfSe.

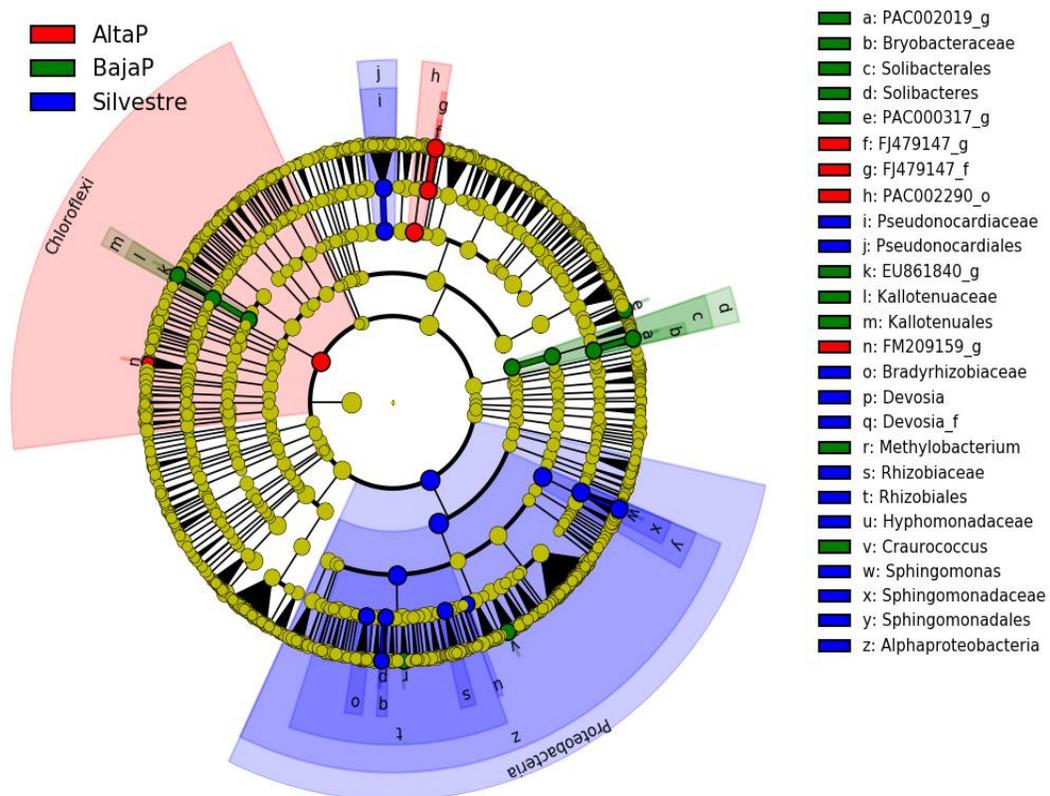


Figura 17- Cladograma representativo de los resultados LfSe.

V DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, se encontró un mayor contenido de COS y MOS en suelo desnudo. García *et al.*, (2006), mencionan que el alto contenido de materia orgánica de un suelo es definido por el balance entre ingresos y salidas de carbono pasando por un proceso de mineralización, así también Álvarez y Steinbach (2006), señalan que los niveles de M.O. están regulados por el clima, dado que el mismo incide en el balance de carbono al afectar el ingreso del mismo al suelo y su salida por respiración microbiana.

Así mismo en la variable de C.E y pH del suelo en sitios de estudio de mezquiales y suelo desnudo se tuvo un pH bajo de 7.31 (ácido) en la muestra de mantillo y una C.E. alta de $423 \mu\text{Scm}^{-1}$, Martínez *et al.*, (2008), menciona que esto se debe al aumento de la cantidad de MOS, es decir a mayor cantidad de materia orgánica menor será el pH sin mencionar que va a depender también del origen del suelo, así también en la muestra de suelo desnudo se obtuvo un pH alto de 8.26 (alcalino) y C.E. baja de $147 \mu\text{Scm}^{-1}$, en relación a la C.E. Esta varía según la cantidad de humedad retenida por las partículas del suelo (De Neve *et al.*, 2000). esto explica la diferencia de géneros en cada sitio.

En el análisis se encontró que en suelos con BP y PS de mezquite se presenta una mayor abundancia el phylum chloroflexi, a diferencia del suelo con alta producción de mezquite donde se encuentra el phylum actinobacteria de acuerdo a León *et al.*, (2007) son un grupo importante de bacterias saprófitas y de crecimiento filamentoso que son capaces de producir una amplia variedad de enzimas extracelulares.

Los resultados que se obtuvieron en cuanto a géneros bacterianos más abundantes en los suelos analizados fueron *Tepidisphaera*, *Sphingomonas*, *FJ479147_g*, *Blastococcus* y *Microvirga*, *Streptomyces*.

Para los suelos de Alta y Baja Producción, *Tepidisphaera* fue el género más abundante que se encontró y mostrándose a sí mismo como el tercero para el suelo con producción silvestre (PS). De acuerdo a Kovaleva *et al.*, (2015), estas pueden encontrarse en temperaturas moderadamente altas de hasta 50 °C con un pH óptimo para su crecimiento de 7,0 a 7,5 (rango de 4,5 a 8,5), de acuerdo a las condiciones que se encuentran en el suelo puede ser la razón por la cual este presente este género.

Se encontró *FJ479147_g* como el segundo más abundante en los suelos de mezquite de AP y BP presentándose como género no definido. En el suelo de producción silvestre se encontró *Sphingomonas*, de vida libre y beneficiosas para las plantas como promotoras de crecimiento vegetal (Seipke *et al.*,2011).

De acuerdo a las gráficas obtenidas del análisis Lefse se aprecia la muestra de suelo con alta producción de mezquite con mayor número de bacterias que aún no han sido registradas y solo se presenta con claves. Cloroflexi es una bacteria filamentosa capaz de producir una amplia variedad de exoenzimas, incluida la quintinasa, presente como antagonista de hongos en la rizosfera del mezquite (Hasnain, 2017) es la única bacteria identificada con mayor abundancia.

En el suelo de baja producción se encontró con mayor abundancia *kallotenuaceae* según Jessica *et al.*, (2013), menciona que estas son bacterias filamentosas no ramificadas y no formadoras de esporas, que crecen a 45–65 ° C, pH 5,6–9,0.

En esta misma grafica se puede ver una gran abundancia de Alphaproteobacteria en el suelo de producción silvestre , siendo esta una clase diversa de organismos dentro del filo proteobacteria con muchas funciones biológicas importantes, tienen un estilo de vida intracelular como mutualista de plantas (Batut, 2004), en segundo lugar se presentó proteobacteria, de acuerdo a Felske *et al.*, (1998), estas tienen efectos benéficos para crecimiento en plantas, síntesis de fitohormonas y la fijación de nitrógeno atmosférico .

La obtención de la alta y baja producción de vaina se obtiene de acuerdo al manejo que se da en las áreas donde se tiene mezquite, cuando estas llegan a su punto de maduración caen al suelo y son aprovechadas, ya que al ser leguminosas poseen un alto contenido de nitrógeno mismo que favorece a los suelos y al mismo tiempo a las plantas que se encuentren a su alrededor, aumentando la abundancia de microorganismos Lammel, *et al.*, (2015).

VI CONCLUSIONES

Acorde a los resultados obtenidos, se encontró que la diversidad de bacterias que se encuentran en cada uno de los diferentes suelos analizados, se debe principalmente al manejo agroecológico que se les dan a las diferentes huertas de mezquites, obteniendo así mejores resultados en huerta silvestres (mantillo), esto se debe a los años de antigüedad y por ende existe una mayor acumulación de materia orgánica y por lo tanto una mayor abundancia de microorganismos.

Así también el pH va a depender de la disponibilidad de materia orgánica, ya que ambos son indicadores de la fertilidad y sanidad del suelo, por lo cual es importante saber si estas propiedades se encuentran en los niveles y la profundidad adecuada para las plantas.

Se recomienda realizar más trabajos como este, enfocados en cultivos que beneficien a la sociedad, así como también se recomienda llevar a cabo las practicas agroecológicas en huertas de mezquite, ya que ayudan a incorporar materia orgánica, y con la intervención de los microorganismos aceleran la desintegración y se obtienen suelos más fértiles.

VII REFERENCIAS

- Acuña, O., Peña, W., Serrano, E., Pocasangre, L., Rosales, F., Delgado, E., . . . Segura, A. (2006). *La Importancia de los microorganismos en la calidad y salud de los suelos bananeros. In Memorias de XVII Reunión Internacional de ACORBAT*. Santa Catarina, Brasil.
- Agrios, G. (1998). *Fitopatología 3a edición*. Mexico: Limusa.
- Aguilar, L. (1998). *Caracterización microbiológica y fisicoquímica de suelos de islas de fertilidad de mezquite en un ecosistema semiárido*. Irapuato, Gto., México: Tesis de licenciatura, Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad de Guanajuato. Irapuato, Gto., México.
- Álvarez, R., & Steinbach, H. S. (2006). *Factores climáticos y edáficos reguladores del nivel de materia orgánica "Valor agronómico y Dinámica en Suelos Pampeanos"*. Buenos Aires: Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. pp. 31-40.
- Alexander, M. (1980). *Introducción a la microbiología del suelo*. DF, México.: .Ed. AGT. México.
- Altieri, M. (2002). Agroecology: the science of natural resource management for poor farmers in marginal environments. *Agriculture, ecosystems & environment*, 93(1), 1-24. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(02\)00085-3](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(02)00085-3).
- Altieri, M. A. (2013).). *Construyendo resiliencia socio-ecológica en agroecosistemas: algunas consideraciones conceptuales y metodológicas*.

En: C. I Nicholls, L. A. Ríos, & M. A. Altieri . Medellín, Colombia: Eds.).
Agroecología y resiliencia socioecológica: adaptándose al cambio climático.

Altieri, M., & Nichols, C. (2000). *Agroecología, teoría y práctica para una agricultura sustentable. Programa de las Naciones Unidas para el medio ambiente PNUMA – Red de formación ambiental para América Latina y el Caribe.* México D.F.

Bach, K., Schawe, S., Beck, S., Gerold, G., Grandstein, S. R., & Moraes, M. R. (2003). Vegetación, suelos y clima en los diferentes pisos altitudinales de un bosque montano de Yungas, Bolivia: Primeros resultados. *Ecol. Bolivia*, 38: p 3-14.

Batut, J., Andersson, S. G., & Callaghan, D. (2004). La evolución de las estrategias de infección crónica en las alfa-proteobacterias. *Nat. Rev. Microbiol*, 2 : 933-945.

Beals, E.W. (1984). Bray-Curtis ordination: an effective strategy for analysis of multivariate ecological data. *Advances in Ecological Research* 14, 1 – 55.

Becker, R., & Grosjean, O. K. (1980). A compositional study of pods of two varieties of mesquite (*Prosopis glandulosa*, *P. velutina*). *J. Agric. Food Chem*, 28: 22-25.

Campbell, C., Grayston, S., & Hirst, D. (1997). Use of rhizosphere carbon sources in sole carbon source test to discriminate soil microbial communities. *J. Microbiol. Methods*, 30.pag.33-41.

- Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K. et al. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7, 335 – 336.
- Chen, K., & Pachter, L. (2005). Bioinformatics for Whole-Genome Shotgun Sequencing of Microbial Communities. *PLoS Computational Biology* 1: e24. doi:10.1371/journal.pcbi.0010024.
- Daniel, R. (2005). The metagenomics of soil. *Nature Review Microbiology*, 3:pag, 470-478.
- Del Valle, F. R., Escobedo, M., Muñoz, M. J., Ortega, R., & Bourges, H. (1983). Chemical and nutritional studies on mesquite beans (*Prosopis juliflora*) . *J. Food Sci*, 48: 914-920.
- Domínguez, J., Aira, M., & Gómez, B. (2009). El papel de las lombrices de tierra en la descomposición de la materia orgánica y el ciclo de nutrientes. *Ecosistemas*, 18: p 20-31.
- Estévez, A. M., Saenz, C., Hurtado, M. L., Escobar, B., Espinoza, S., & Suárez, C. (2004). Extraction methods and some physical properties of mesquite (*Prosopis chilensis* (mol) stuntz) seed gum. *J. Sci. Food Agric*, 84: pag.1487-1492.
- Edgar, R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 26, 2460 – 2461.

Felske, A., Wolterink, R., Van, L., & Akkermans, D. L. (1998). Phylogeny of the main bacterial 16S rRNA sequences in Drenthe A grassland soil Netherlands. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(3):871-879.

Flores, J., & Jurado, E. (2003). Are nurse-protégé interactions more common among plants from arid environments? *J. Veget. Sci.* 14: 911-916., 14: pag.911-916.

Funtowicz, S. O., & Ravetz, J. R. (2000). *La ciencia posnormal: ciencia con la gente*. . Barcelona, España : Icaria Editorial.

García , F. O., Picone, L. I., & Berardo, A. (2006). *Fósforo en: Fertilidad de suelos y fertilización de cultivos*. . Buenos Aires, Argentina: INTA.

García , Y., Ramírez, W., & Sánchez, S. (2012). Indicadores de la calidad de los suelos: una nueva manera de evaluar este recurso. . *Pastos y Forrajes*, 35(2), p.125-138.

George, S. (1963). *Introducción a la Micología Industrial*. España: Edit.Acribia.

Gliessman, S. (1998). *Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible*. Florida. EE.UU: Boca Ratón.

Gulubov, J. M., Mandujano, C., & Eguiarte, L. E. (2001). The paradox of mezquites (Prosopis spp.):invading species or biodiversity enhancers? *Bol.Soc.Bot (mexico)*, 69: 23-30.

Guzmán, G. (2000). *Introducción a la agroecología como desarrollo rural sostenible*. España: Mundi-Prensa.

Guzmán, S. M., & Walker, L. R. (1991). Differential seeding responses to litter after hurricane Hugo in the Luquillo Experimental Forest, Puerto Rico. *Biotropica*, 23: p 407-413.

Handelsman, J. (2004). Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* , 68: pag 669-685.

Hasnain, S. (2017). Firmicutes y especies de γ -Proteobacteria resistentes al arsénico y promotoras del crecimiento de las plantas del crecimiento de las plantas del agua de riego contaminada industrialmente y las tierras de cultivo correspondientes. *J Appl Microbiol* , 123(3):748-758.

Hammer, Ř., Harper D.A.T, & Ryan P.D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package or education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): http://palaeoelectronica.org/2001_1/past/issue1_01.html.

INE. (1994). Mezquite *Prosopis* spp. Cultivo alternativo para las zonas áridas y semiáridas de México. *Instituto Nacional de Ecología. México*, pp,30 .

Illumina. (2017a). 16S Metagenomic sequencing library preparation, Preparing 16S ribosomal RNA gene amplicons for the Illumina MiSeq system. Recuperado el 10 agosto, 2017 de: https://support.illumina.com/content/dam/illumina_support/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16sm

[etagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf](#)

Illumina. (2017b). Nextera XT DNA library prep kit reference guide. Recuperado el 10 agosto,2017 de: https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/samplepreps_nextera/nextera-xt/nextera-xt-library-prep-referenceguide-15031942-02.pdf

Jessica , K. C., Brandon, A. G., Devon, L. H., Maryknoll, M. P., Amada, J. W., Alice, C. D., . . . Brian, P. H. (2013). *Kallotenua papyrolyticum* gen. nov., sp. nov., un termófilo celulolítico y filamentoso que representa un nuevo linaje (Kallotenuales ord. nov., Kallotenuaceae fam. nov.) dentro de la clase Cloroflexia. *Microbiology society*.

Kermekchiev, M. B., Kirilova, L. I., Vail, E. E., & Barnes, W. M. (2009). Mutants of Taq DNA polymerase resistant to PCR inhibitors allow DNA amplification from whole blood and crude soil samples. *Nucleic Acids Research* 37:e40.

Kovaleva, O. L., Merkel, A. Y., Nivikov, A. A., Baslerov, R. V., Toshchakov, S. V., & Bonch, E. A. (2015). *Tepidisphaera mucosa* gen. nov., sp. nov., miembro moderadamente termofílico de la clase Phycisphaerae en el filo Planctomycetes , y propuesta de una nueva familia, Tepidisphaeraceae fam. nov., y un nuevo orden, Tepidisphaerales ord. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 65:549-555.

Klindworth, A.; Pruesse, E.; Schweer, T.; Peplies, J.; Quast, C.; Horn, M.; Glickner, F.O. (2013). Evaluation of General 16S Ribosomal RNA Gene PCR Primers for Classical and Next-Generation Sequencing-Based Diversity Studies. *Nucleic Acids Res* 41, 1– 11.

Krupa, & Dommergues. (1981). *Ecology of root pathogens; 2a edición*. Usa: Elsevier scientific publishing company.

Lammel, D. R., Azevedo, L. C., Paula, A. M., Armas, R. D., Baretta, D., & Cardoso, E. J. (2015). Microbiological and faunal soil attributes of coffee cultivation under different management systems in Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 75(4) pag. 894-905.

Larios, G. R., Salmerón, M. F., & García, C. L. (2014). Fertilidad del suelo con prácticas agroecológicas y manejo convencional en el cultivo de café. *La Calera*, 14(23) pag, 67-75. doi: <https://doi.org/10.5377/calera.v14i23.2660> .

León, M., Liza, L., Soto, I., Cuadra, D. L., Patiño, L., & Soto, R. (2007). . Actinomicetes bioactivos de sedimento marino de la costa central del Perú. *Revista Peruana de Biología*. 14 (2):259-270. *Revista Peruana de Biología*, 14 (2):259-270.

Martínez, E., Fuentes, J. P., & Acevedo, E. (2008). CARBONO ORGÁNICO Y PROPIEDADES DEL SUELO. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 68- 96.

Ma de Lourdes. (1991). *Fitopatología*. México: Limusa.

McDonald, D., Price, M. N., Goodrich, J., Nawrocki, E. P., DeSantis, T. Z., Probst, A. et al. (2012). An improved green genes taxonomy with explicit ranks for ecological and evolutionary analyses of bacteria and archaea. *The ISME Journal* 6, 610 – 618.

- Mocalli, S., & Benedetti, A. (2010). Exploring research frontiers in microbiology: the challenge of metagenomics in soil microbiology. *Research in Microbiology* 161: 497-505., 161: pag, 497-505.
- Morell, P. F., & Jiménez, H. A. (2008). Degradación de las propiedades agrobiológicas de los suelos Ferralíticos rojos lixiviados por la influencia antrópica y su respuesta agroproductiva al mejoramiento. *Agron. Trop*, 58: pag,335-343.
- NRC, N. R. (2007). The New Science of Metagenomics: Revealing the secrets of our microbial planet. *National Academies Press, Washington, DC, 158 pp.*, 158 pp.
- Olembó, R. (1991). Importance of microorganisms and invertebrates as components of biodiversity. In: D.L. Hawksworth (ed.). The biodiversity of microorganisms and invertebrates: Its role in sustainable agriculture. *Redwood Press, Melksham, UK.*, pp. 7-15.
- Riesenfeld, C. S., Scholoss, P. D., & Handelsman, J. (2004). Metagenomics: Genomic Analysis of Microbial Communities. *Annual Review of Genetics* 38: 525-552., 38: pag.525-552.
- Rodríguez, F. C., & Maldonado, A. L. (1996). Overview of past, current and potential uses of mesquite in Mexico. En Felker R, Moss J (Eds.) Prosopis: Semiarid Fuel wood and Forage Tree Building Consensus for the Disenfranchised. Center for Semi-arid Forest Resources. *Texas A&M University. Washington,DC,EEUU*, pp.6.41-6.52.

Seipke, R., Barke, R., & Brearley, C. (2011). A single *Streptomyces* symbiont makes multiple antifungals to support the fungus farming ant *Acromyrmex octospinosus*. *PLoS ONE*, 6:e22028.

Servilla, G. E. (2007). *De la sociología rural a la agroecología*. Barcelona España: Icaria Editores.

Stewart, W. D. (1991). *The importance to sustainable agricultura of biodiversity among invertebrates and microorganisms. pp. 3-5. In: D.L.Hawksworth. .* (ed.). *The biodiversity of microorganisms and invertebrates: Its role in sustainable agriculture*. Redwood Press, Melksham, UK.

Subba, N. S. (1997). *Soil Microbiology. IBH Publ. Oxford*, 120.

Tate, R. L. (1995). *Soil microbiology*. New York, USA: John Wiley y Sons.

Tielborger, K., & Kadmon, R. (2000). . Indirect effects in a desert plant community: Is competition among annuals more intense under shrub canopies? *Plant Ecol. 150: 53-63.*, 150:pag, 53-63.

Toledo, V. (2012). LA AGROECOLOGIA EN LATINOAMERICA: TRES REVOLUCIONES, UNA MISMA TRANSFORMACION. *Agroecología*, 6. 37-46.

Vázquez-Baeza, Y., Pirrung M., González A., & Knight R. (2013). EMPeror: a tool for visualizing high-throughput microbial community data. *Gigascience* 2, 16.

Vaarst, M., Escudero, A., Chappell, M., Brinkley, C., Niibroek, R., Arraes, N., & Halberg, N. (2017). Exploring the concept of agroecological food systems in

a city-region context. *Agroecology and Sustainable Food Systems.*, (just-accepted). <http://dx.doi.org/10.1080/21683565.2017.1365321>.

Venter, J. C., Remington, J. F., Heidelberg, A. L., Halern, D., Rusch, J. A., Eisen, D., . . . Smith, H. O. (2004). Environmental genome shotgunsequencing of the Sargasso Sea . *Science*, 304: pag. 66-74.

Vitousek, P. M., Gerrish, G., Turner, L., Walker, R., & Mueller, D. (1995). Litter fall and nutrients cycling in four Hawaiian montane rainforest . *J.Trop.Ecol*, 11:189-203.

Weiss, S., Xu Z.Z., Peddada S., Amir A., Bittinger K., González A., Lozupone C., Zaneveld J. R., Vázquez-Baeza. Y., Birmingham A., et al. (2017). Normalization and microbial differential abundance strategies depend upon data characteristics. *Microbiome* 5, 27.

Whitfort, W. G. (2002). Ecology of desert systems. *Academic Press.London,UK*.

Wolfe, B. E., & Klinomoros, J. N. (2005). Breaking new ground: Soil communities and exotic plant invasion. *Bioscience*, 55:477-487.

Yoon, S. H., Ha, S. M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H. et al. (2017). Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and wholegenome assemblies. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 67, 161.

Zhang J., Kobert, K., Flouri, T. y Stamatakis, A. (2014). PEAR: a fast and accurate IlluminaPaired-End read merger. *Bioinformatics* 30, 614 – 620.

Zhang, Y., Zhou, Z., Ma, X., & Jin, G. (2010). Foraging ability and growth performance of four subtropical tree species in response to heterogeneous nutrients environments. *J.Forest.Res*, 15: p 91-98.