

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGÍA



Microbioma rizosférico bacteriano de mezquite, efecto de la orientación cardinal

Por:

Suyevi Yenire Escalante López

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN AGROECOLOGÍA

Torreón, Coahuila, México

Diciembre 2023

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

Microbioma rizosférico bacteriano de mezquite, efecto de la orientación cardinal

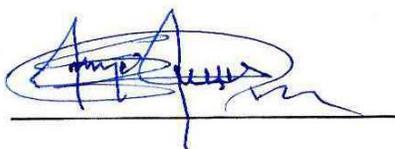
Por:

Suyevi Yenire Escalante López

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

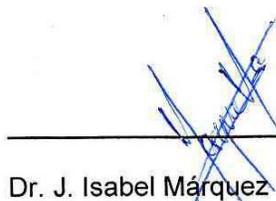


M.C. Gerardo Zapata Sifuentes

Vocal



Dra. Alejandra Cabrera Rodríguez



Dr. J. Isabel Márquez Mendoza

Coordinador de la División de Carreras Agronómicas



Torreón, Coahuila, México
Diciembre 2023

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

Microbioma rizosférico bacteriano de mezquite, efecto de la orientación cardinal

Por:

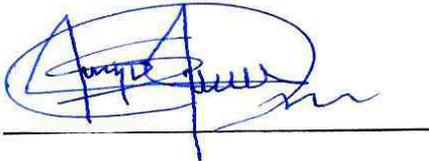
Suyevi Yenire Escalante López

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROECOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Jesús Vásquez Arroyo

Asesor



M.C. Eduardo Blanco Contreras

Coasesor



Dra. Alejandra Cabrera Rodríguez

Coasesor



Dr. J. Isabel Márquez Mendoza

Coordinador de la División de Carreras Agronómicas



Torreón, Coahuila, México
Diciembre 2023

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a dios por permitirme llegar hasta donde estoy, por acompañarme y darme fuerzas cuando yo ya no podía, darme salud y perseverancia para poder terminar este proyecto.

Valoro principalmente a mis padres por todo el apoyo, cariño y amor que me brindaron todos estos años de carrera, por los sacrificios que tuvieron que hacer y que pase a la distancia estuvieron para mí siempre. A mis hermanos por sus consejos y ánimos dados que fueron un pilar para mí cuando estaba a punto de rendirme.

A mis amigos por brindarme su amistad y compañía. Por acompañarme en momentos difíciles fuera de casa, por sus consejos y palabras de aliento.

A mis maestros por guiarme y asesorarme en todo el transcurso de la carrera, por animarme a ser mejor profesionista y compartirme mucho de sus enseñanzas. Pero agradezco principalmente al Dr. Jesús Vásquez Arroyo por la paciencia, apoyo incondicional, por los consejos y ánimos que me ayudaron para poder llevar a término este proyecto.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por abrirme las puertas de sus instalaciones y así llevar a cabo mi formación académica, poder superarme y adquirir conocimientos que llevare conmigo siempre.

DEDICATORIA

Mis padres

Francisco Escalante Barrios

Mariolinda Carolina López Roblero

Esta tesis va dedicado a mis padres, gracias por todo el apoyo brindado, por ayudarme a salir adelante, por darme todo el amor del mundo, por ser el motor de todo lo que hacía, la ayuda recibida de ustedes fue incondicional. Mi madre con todo el amor que me brindo me hizo seguir adelante y mi padre con cada uno de sus consejos me hicieron recapacitar y ser mejor persona.

Mis hermanos

William Romeo Escalante López

Francisco Adrián Escalante López

Heydi Flavia Escalante López

Nayeli Berenice Escalante López

Cada uno de ustedes ayudo para que hoy en día sea la persona que soy, todos los consejos que me dieron, apoyo, cariño, amor y regaños hicieron que todos estos años valieran la pena, el amor que tengo hacia ustedes es enorme y les agradezco de todo corazón todo lo que me han dado.

Especialmente a mi hermano **Francisco Adrián Escalante López**, tú fuiste un apoyo demasiado grande, estaré eternamente agradecida por todo lo que has hecho por mí.

Este logro no es solo mío, es de todos ustedes familia.

RESUMEN

El desarrollo del mezquite se ha dado en las zonas áridas y semiáridas de México, colocándola como una de las pocas plantas que pueden sobrevivir por si sola. Además de ser una planta en la que se encuentran la mayor cantidad de nutrientes y de microorganismos. El objetivo del estudio fue identificar las comunidades bacterianas que se encuentran en el microbioma de suelos con siembra mezquites. El siguiente trabajo se realizó en huertas de mezquites, 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 con diversas características: mala producción de vainas (MP), buena producción de vainas (BP) y en suelos sin vegetación (S); teniendo en cuenta tres sitios de muestreo; A) bosque juvenil con manejo de alrededor de 20 años, (MP Y BP) y B) bosque añoso sin manejo mayor a 40 años. Se utilizó el MGlinux 1.46 para obtener los resultados, encontrando un total de 17 Phyla, 55 clases y 638 géneros; de éstos sobresalieron principalmente: *Tepidisphaera*, *Sphingomonas*, *Geodermatophilus*, *Microvirga*, entre otros. Los análisis de diversidad α no presentaron diferencias estadísticas significativas entre grupos, no obstante, fue en la diversidad β donde resultaron diferencias altamente significativas ($P=0.002$) y se constata por los análisis de componentes principales. Se puede decir que la abundancia de las bacterias es diferente por el manejo que estos reciben, ya que se mantiene el capital natural constante.

Palabras clave: rRNA 16S, Mezquite, Microbioma, Suelo

INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIA	ii
INDICE DE CUADROS	vi
INDICE DE FUGURAS.....	vii
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 . Objetivo general	3
1.1.1 Objetivos particulares	3
1.2. Hipótesis	3
CAPÍTULO II	4
REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1 Antecedentes de la agroecología.....	4
2.2 La agroecología como base de la sustentabilidad	4
2.3 Ecosistemas áridos.....	5
2.4 Mezquite (<i>Prosopis spp.</i>).....	6
2.5 Ecología del mezquite	7
2.6 Rizosfera.....	8
2.7 Microorganismos del suelo	8
2.8 Metagenómica de suelos.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1 Ubicación del área de estudio.....	10
3.2 Toma de muestras.....	12
3.3 Extracción de DNA del microbioma del suelo	12
3.3 Análisis físico químico del suelo	13
3.4 Secuenciación masiva de siguiente generación.....	13
3.5 Análisis bioinformático.....	13
CAPÍTULO IV.....	16
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
4.2 Mapas de calor para las familias y géneros de los suelos analizados	24

4.3 Taxa biomarcadores	27
DISCUSION.....	29
CONCLUSIÓN.....	32
LITERATURA CITADA	33

ANEXO

DERECHO DE AUTOR.....	41
-----------------------	----

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Secuencias del microbioma bacteriano en los suelos de mezquite (M1- N= Mala producción con orientación al norte, con 4 repeticiones B1- N= Buena producción con orientación al norte, con 4 repeticiones; S1-N= suelo desnudo con orientación al norte, con 3 repeticiones.....	18
Cuadro 2. Géneros predominantes de cada una de las muestras analizadas.	25
Cuadro 3. Resultados obtenidos por el método PERNOVA.....	26

INDICE DE FUGURAS

Figura 1. Vías de modernización y transición agroecológica campesina, hacia una sociedad rural campesina sostenible (tomado de Altieri y Toledo, 2010).	5
Figura 2. Usos de los componentes del mezquite (tomado de Flores, 1993).....	7
Figura 3. Ubicación del sitio de muestreo (A 1-4), imagen recuperada de google maps, noviembre 2022.	10
Figura 4. Ubicación del sitio de muestreo (B 1-4), imagen recuperada de Google maps, noviembre 2022.	11
Figura 5. Ubicación del sitio de muestreo (C 1-3) imagen recuperada de Google maps, noviembre 2022.	11
Figura 6. Contenido de carbono orgánico (COS, Mg Ha ⁻¹) y materia orgánica del suelo (MOS, Mg Ha ⁻¹) de los sitios de muestreo (M: mala producción, B: buena producción, S: Suelo desnudo).....	16
Figura 7. Conductividad eléctrica (CE) y pH del suelo, de los sitios de muestreo (M: mala producción, B: buena producción, S: Suelo desnudo).....	17
Figura 8. Número de secuencias por el número de OTUs para cada muestra de suelo sin rarificar (M: mala producción, B: buena producción, S: Suelo desnudo).	19
Figura 9. Abundancia relativa % de los principales phyla de bacterias que existen por muestra de suelo rizosférico, (M1-N, M2-S, M3-E, mezquite de mala producción, con orientación cardinal (B1-N, B2-S, B3-E, B4-O) mezquite con buena producción con orientación cardinal y (S1-N, S2-S, S3-E) suelo desnudo con orientación cardinal...)	20
Figura 10. abundancia relativa % de las principales clases de bacterias que existen por muestra de suelo rizosférico, (M1-M3 mezquite de mala producción, (B1-B4) mezquite con buena producción y (S1-S3) suelo desnudo.	22

Figura 11. Abundancia relativa % de los principales órdenes de bacterias que existen por muestra de suelo rizosférico, (M1-M3 mezquite de mala producción, (B1-B4) mezquite con buena producción y (S1-S3) suelo desnudo.	23
Figura 13. Mapa de calor de las familias bacterianas del conjunto de muestras de suelo cuya abundancia relativa fue mayor a 0.01.....	24
Figura 12. Mapa de calor de los generos bacterianos del conjunto de muestras de suelo cuya abundancia relativa fue mayor a 0.01.	24
Figura 14. Visualización de grupos de muestras utilizando PCoA.	27
Figura 15. Taxa biomarcadores predominantes representativo de los resultados LEfSe.	28
Figura 16. Clandograma representativo de los resultados LEfSe.	29

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Con el paso de los años la problemática contemporánea de la producción ha tomado otro camino y se transformó de una dimensión técnica a una dimensión más social, económica, política, cultural y por supuesto ambiental. Es decir, que hoy en día la preocupación principal es que la agricultura sea más sustentable (Altieri y Nichols, 2000).

De acuerdo con Abbona y Sarandón (2014), para poder lograr una agricultura sustentable se necesita mantener el capital natural constante, así como también la calidad de los recursos, esto como responsabilidad que tenemos con las siguientes generaciones. Lo anterior implica que, en el caso del suelo, si queremos que se mantenga su productividad debemos de ser constantes en la cantidad y la calidad de los nutrientes. Para que esto se logre es importante estudiar el ciclo y flujo de nutrientes con un enfoque sistémico, que nos ayude a comprender los procesos principales que suceden y el efecto que las distintas formas de agricultura y el uso tienen sobre ellos.

En el suelo se encuentran diferentes comunidades microbianas que se hospedan y nutren del mismo, tales como hongos, bacterias, algas, protozoos actinomicetes nematodos, etc., estos microorganismos son muy importantes en el ciclado de nutrientes, conversiones biológicas, formación de humus, mantenimiento de ecosistema y otras actividades enfocadas en la vida y productividad de las plantas. La interacción que tiene los microorganismos de las plantas con el suelo, ayuda a poder conservar la agricultura sostenible. Los microorganismos benéficos que habitan la zona de la rizosfera entre los que se encuentran fijadores de nitrógeno, solubilización de fosforo, incremento del crecimiento, agentes de biocontrol, transportadores de nutrientes y estabilizadores del suelo, son importantes para poder conservar las producciones (Jaizme, 2012).

De Bashan, *et al.* (2013), señalan que el cambio climático en el que nos encontramos es uno de los factores importantes que llegan a afectar a la zona desértica, principalmente a las plantas, ya que, tanto las altas temperaturas, como la falta de agua son factores determinantes. A pesar de ello, se encuentran microorganismos, como las bacterias y los hongos, que viven y ayudan tanto en la formación del suelo, como en el establecimiento de las plantas.

Como se ha dicho anteriormente, gracias a los microorganismos las plantas tienen un mejor desarrollo, porque estos mismos le dan aporte nutricional, así como también ayudan al suelo a tener una mejor agregación de partículas, como resultado se tiene un incremento en la retención del suelo, la porosidad, control de la erosión y control de agua. Es por todos estos beneficios que el estudiar más a fondo la diversidad microbiana sería de mucha importancia, porque se llegaría a definir sistemas de deforestación o algo mucho mejor que sería recuperar zonas destruidas (Olalde y Aguilera, 1998).

Las bacterias junto a algunas plantas ayudan a la reforestación de ciertas zonas áridas por sus múltiples funciones, tal es el caso del mezquite el cual cuenta con gran cantidad de N total, esto porque son especies de plantas de leguminosas, además de que cuenta con N acumulado en los microorganismos del suelo, lo que hace que sea de gran utilidad para las zonas áridas (García, 2015).

Dicho por palabras de Valenzuela, *et al.*, (2015), el que hoy en día la tecnología este mucho más avanzada y existan estudios que nos digan que microorganismos encontramos en los suelos, hace que nos permita comprender este tipo de sistemas, ejemplo claro de eso es el gen ARNr 16S quien nos ayuda a identificar las bacterias presentes en diferentes espacios.

1.1. Objetivo general

Identificar los impactos del manejo de suelos agrícolas sobre el microbioma en agroecosistemas semiáridos del noreste de México.

1.1.1 Objetivos particulares

1.- Conocer la cantidad de microorganismos que se encuentran en suelos de mezquite.

2.- Describir e identificar la diversidad de microorganismos existentes en huertas de mezquite y en suelo desnudo.

1.2. Hipótesis

Existen diferencias en cuanto a la variedad y cantidad de microorganismos presentes en diferentes suelos de mezquite

Existen diferencias en cuanto a la variedad de microorganismos que se encuentran en los suelos de mezquite con respecto a la posición del sol.

CAPÍTULO II

REVISION DE LITERATURA

2.1 Antecedentes de la agroecología

La agroecología inicia a finales del siglo XX, exactamente en las décadas de los 80s y 90s, para ese entonces la revolución verde (RV) ya estaba en progreso, entonces la agroecología siendo una disciplina científica le ofrece alternativas, ya que, para estudiar los agroecosistemas y llegar al desarrollo de la agricultura, tiene que movilizar elementos de la ecología, así como también los sistemas agrícolas tradicionales (Figura 1). Para los inicios del siglo XXI, la agroecología toma más fuerza, ya que para esa década diversos autores se mueven a otras escalas, y empiezan a notar que la agroecología va más allá de todo, porque forma parte tanto de los productores como de los consumidores y, por ende, en el sistema alimentario (Astier, *et al.*, 2017).

Desde el punto de vista de Rosset y Altieri (2018), el lugar donde la agroecología tuvo un desarrollo más rápido fue en América Latina, puesto que organizaciones no gubernamentales (ONGs), estaban intranquilos con lo que la RV estaba haciendo, es decir, que los pequeños productores eran los que menos se beneficiaban, es ahí donde la agroecología es adoptada por la (ONGs).

2.2 La agroecología como base de la sustentabilidad

Martínez, (2002), plantea como buena opción para lograr la sustentabilidad, a la agroecología, dado que incluye un enfoque de la agricultura más unido a la sociedad y al entorno natural, donde los fenómenos ecológicos que pasan en el campo de cultivo estén integrados.

En otras palabras, que todos los elementos que forman los agroecosistemas lleguen a unirse (cultivos, animales, árboles y suelos). Que todo esté integrado, que las interacciones temporales y espaciales que existan entre los elementos tengan como resultado los derivados de fuentes internas, reciclaje de nutrientes y por supuesto materia orgánica, esto también incluye a las relaciones tróficas, es decir, las relaciones de dependencia alimentaria que existe entre las plantas, insectos y patógenos, nos lleven a los mecanismos de control biológico. De este modo ayudamos a aumentar la producción del agroecosistema en general y no solo enfocarnos en maximizar a una sola (Gutiérrez, *et al.*, 2008).

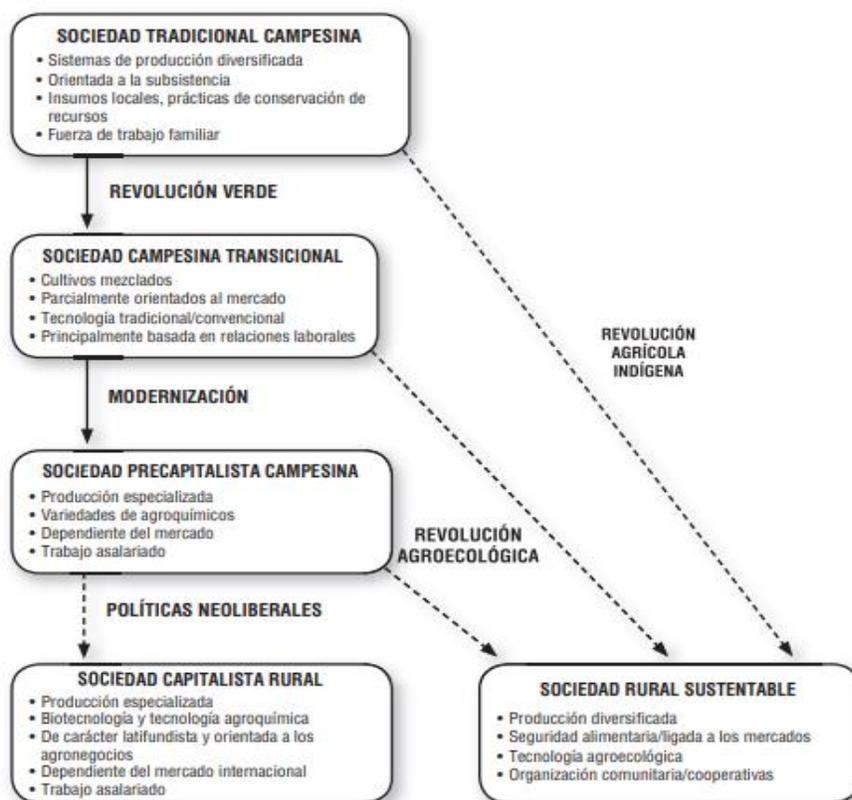


Figura 1. Vías de modernización y transición agroecológica campesina, hacia una sociedad rural campesina sostenible (tomado de Altieri y Toledo, 2010).

2.3 Ecosistemas áridos

Los ecosistemas áridos y semiáridos ocupan casi la mayor parte de la superficie terrestre aproximadamente el 41%. Como principal característica de estos

ecosistemas es su escasa disponibilidad de agua, lo que implica que haya una limitación en cuanto a dos procesos importantes que están relacionados, la cual sería la producción primaria y el ciclado de nutrientes (Cabello y Castro, 2012).

Como afirma Juárez *et al.*, (2001), para este tipo de zonas que tiene condiciones extremas, uno de los géneros que más se adapta es el *Prosopis*, que incluye varias de las especies de importancia en los ecosistemas áridos y semiáridos de México, debido a que se aprovecha como mejorador de suelos.

2.4 Mezquite (*Prosopis spp.*)

El mezquite es una de las especies vegetales que pertenecen al género *Prosopis*, es el nombre común con el que se le conoce a esta planta en México, que es proveniente del náhuatl *mizquitl* (mezquite), entonces posiblemente este nombre fue otorgado por los aztecas. En las regiones áridas y semiáridas de Norte y Sudamérica, África y Asia, este género llega a tener un poco más de 40 especies nativas. Los individuos llegan a tener alturas desde los 0.40 m hasta los 20 m, pueden tolerar temperaturas máximas superiores a 40 °C, así como también desarrollarse en zonas con lluvias menores a los 100 mm anuales (De la Torre, *et al.*, 2009).

El mezquite como tal, tiene grandes propiedades que al ser humano y al ecosistema le beneficiaría demasiado, gracias a las condiciones en las cuales se puede llegar a desarrollar. El mezquite teniendo un lugar en el cual pueda llegar a establecerse, llega a tener un excelente beneficio ya sea agropecuario o forestal (Trucíos, *et al.*, 2011).

Rodríguez, *et al.*, (2014), describe al mezquite como una de las especies más importantes de las zonas áridas, beneficiando tanto social como naturalmente en cuanto a algunos de sus usos como, por ejemplo, madera para combustible, para construcción de cercas, las vainas como alimento y como forraje para los animales; producción de resina que se usa en la fabricación de pegamentos, barnices y las flores utilizadas en la producción miel (Figura 2).

2.5 Ecología del mezquite

En cuanto al papel ecológico que desempeña el mezquite, tenemos que es un excelente fijador de nitrógeno, lo que hace que mejore la fertilidad del suelo; fomenta el crecimiento de matorrales que son asociados a ella, ayuda a retener la humedad gracias a su sistema radicular y previene la erosión del suelo. Además, genera un microambiente bajo su cubierta foliar que sirve para que los animales silvestres y domésticos puedan utilizar para sombra o refugio y esto mismo ayuda a la diversidad y abundancia de mamíferos, también es una valiosa fuente de alimento (Armijo, *et al.*, 2019).

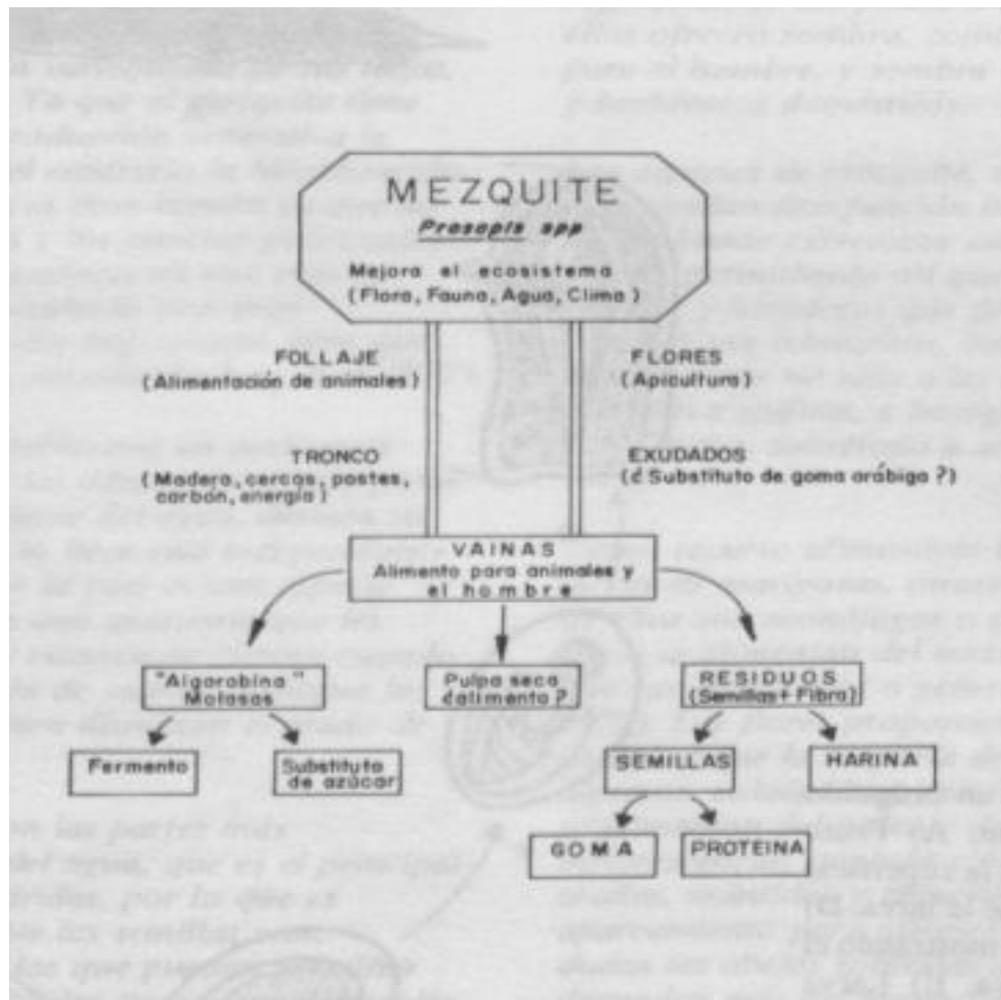


Figura 2. Usos de los componentes del mezquite (tomado de Flores, 1993).

2.6 Rizosfera.

La primera persona que le dio una definición como tal al término rizosfera fue Hiltner en 1904. El suelo ha sido investigado fuertemente durante los últimos años; ya que es importante reconocer al suelo como un ejemplo de equilibrio ecológico, por las diferentes interacciones que en ella se realizan, un ejemplo claro sería entre la flora microbiana y las raíces de las plantas, esto se debe a las relaciones biológicas de tipo sinérgico o comensalismo (Pérez, *et al.*, 2002).

La rizosfera es la cantidad de volumen del suelo, la cual está en presencia de las raíces de una planta, el espacio o superficie que ocupa depende de muchos factores, por ejemplo, del tipo de suelo, especie de la planta y su edad (Calvo, *et al.*, 2008). Por otro lado, Velasco *et al.*, (2020), la definen como la región del suelo que está en contacto con las raíces de las plantas, extendida a pocos milímetros de la superficie radicular

Así mismo, Reyes (2011), define que la rizosfera es aquel espacio del suelo en la cual las raíces de las plantas ocupan un lugar, ahí se encuentran y se desarrollan una extensa comunidad microbiana que realiza procesos que hacen que haya diferencias del resto del suelo en sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Algunos ejemplos son los procesos relacionados con el agua, nutrición mineral, intercambio de cationes y producción de exudados.

2.7 Microorganismos del suelo

Dicho con palabras de Julca *et al.* (2006), la diversidad de formas biológicas que se encuentran en el suelo es inmensa, cada uno con diferentes características como virus, bacterias, hongos, algas, nematodos y, desde luego las raíces vivas de las plantas superiores.

Estos microorganismos ayudan a la sustentabilidad del ecosistema en general realizando múltiples funciones, ya que son los principales agentes del ciclo de los

nutrientes, teniendo como resultado el crecimiento de las especies vegetales, degradación de la materia orgánica, secuestro de carbono, la emisión de gases de efecto invernadero, la estructura del suelo y la retención de agua, entre otras (Correa, 2013).

2.8 Metagenómica de suelos

Hernández *et al.*, (2010), argumentan que el total de ADN de una muestra ambiental es la definición de la metagenómica. Las investigaciones que se han realizado hasta el día de hoy son metagenomas de distintos ambientes y en esos también entran en cuenta los acuáticos, minas, suelos agrícolas y forestales, entre otras más.

Esta tecnología en los últimos años ha transformado el estudio de la diversidad microbiana, la obtención de metabolitos y la capacidad de poder comprender la dinámica de las poblaciones microbianas (Cortés *et al.*, 2014).

Como expresa, Rivera, *et al.* (2021), existen dos clases en la cual la metagenómica se divide: la metagenómica funcional y la metagenómica estructural. La primera se basa en la búsqueda de genes con una función definida ayudándose en el tamizado de una biblioteca metagenómica y la segunda se basa es la secuenciación de ADN metagenómico, en la cual se realizan análisis bioinformáticos para poder resolver dos preguntas clave ¿Qué microorganismos están presentes? y ¿Qué hace cada uno de ellos?

Gracias a esto se pueden investigar comunidades microbianas en el cual se logran adquirir cantidades de datos mayores a procesar y con esto estudiar más a fondo la ecología microbiana y las interacciones que estos tienen, puesto que son todos los organismos que existen en dicho ambiente (Cadena, *et al.*, 2016).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del área de estudio

La unidad experimental se llevó a cabo en huertas de mezquite ubicadas en el municipio de San Pedro, Coahuila de Zaragoza, México. En el cual se utilizó un muestreo completamente al azar de tres tratamientos, las muestras colectadas fueron las siguientes: bosque juvenil con manejo de alrededor de 20 años, con mala producción de vainas y coordenadas $25^{\circ}40'55.7''\text{N}$ $102^{\circ}54'48.3''\text{W}$ (Muestra A 1-4, figura 3); bosque juvenil con manejo de alrededor de 20 años, con buena producción de vainas y coordenadas $25^{\circ}40'57.9''\text{N}$ $102^{\circ}54'53.9''\text{W}$ (Muestra B 1-4, figura 4) y suelo desnudo sin mezquite, con coordenadas $25^{\circ}40'54.2''\text{N}$ $102^{\circ}54'50.6''\text{W}$; $25^{\circ}43'24.2''\text{N}$ $103^{\circ}01'19.7''\text{W}$, $25^{\circ}43'24.1''\text{N}$ $103^{\circ}01'19.8''\text{W}$, (Muestra C 1-3; Figura 5).



Figura 3. Ubicación del sitio de muestreo (A 1-4), imagen recuperada de google maps, noviembre 2022.



Figura 4. Ubicación del sitio de muestreo (B 1-4), imagen recuperada de Google maps, noviembre 2022.

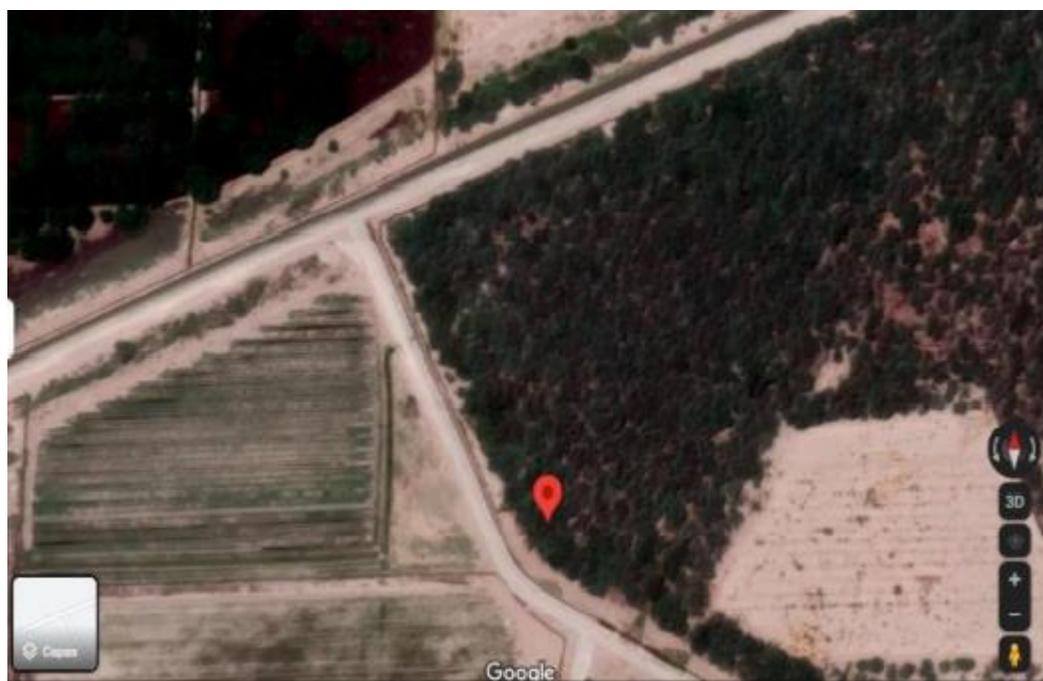


Figura 5. Ubicación del sitio de muestreo (C 1-3) imagen recuperada de Google maps, noviembre 2022.

3.2 Toma de muestras

Las muestras de suelo se tomaron en cuatro sitios diferentes (Norte, Sur, Este y Oeste) a una distancia de aproximadamente un metro del tallo y a una profundidad del suelo de 10 cm, utilizando una barrena suelera estándar tipo (SP06505 Modelo J), para microorganismos del suelo y con un cilindro de bronce para densidad aparente. Se colocaron en bolsas estériles Whirlpak™ con capacidad para 710 mL. Se mezcló la muestra de suelo tomó aproximadamente 100 mg para la extracción de DNA, con pinzas de disección esterilizadas por esterilización con calor usando alcohol al 96% e incinerando por 2 minutos y manteniendo en solución de alcohol al 70%, hasta su uso posterior. Las bolsas (Whirlpak) se mantuvieron en hielera y conservaron en refrigeración.

3.3 Extracción de DNA del microbioma del suelo

El DNA de la muestra de suelo (100 mg) se extrajo con la utilización de un kit DNA MiniPrep de Zymo Research™, una vez extraído se procedió a la medición del DNA mediante un fluorómetro marca NanoQ. Para efectuar la amplificación de las regiones V3-V4 del gen 16S rARN se hizo uso de los primers propuestos por Klindworth *et al.*, (2013): S-D-Bact-0341-b785-a-A-21, 5´CCTACGGGNGGCWGCAG-3´ y S-D-Bact-0785-a-A-21, 5´-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3´, el cual genera un amplicón de ~460 pb. Las secuencias fueron enviadas a sintetizar con los adaptadores “overhang” del protocolo de Illumina (2017a) teniendo como resultado lo siguiente: 5´TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3´ y 5´GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3´ (amplicón de ~550 pb). Se empleó el protocolo de PCR Illumina (2017a) suministrando 12.5 µl de MyTaq™ Ready Mix 1X (Bioline®), 1 µl de cada primer (10 µM), 5 µl de DNA (50 ng totales) y 5.5 µl de H₂O grado molecular; Se manejó el siguiente ciclo: 95 °C por 3 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 situó 1 µl de los productos de PCR en un chip de Bioanalyzer DNA 1000 para la verificación del tamaño del amplicón (~550 pb). Se

efectuó la purificación de los amplicones con perlas Agencourt® AMPure® XP al 0.8%. Posteriormente, los amplicones se etiquetaron utilizando el Nextera XT Index Kit™ para la creación de las bibliotecas, con ayuda del protocolo de Illumina (2017b), aplicando 25 µl de MyTaq™ Ready Mix 1X (Bioline®), 5 µl de cada primer (N7xx y S5xx), 5 µl de DNA y 10 µl de H₂O grado molecular; se empleó el siguiente ciclo: 95 °C por 3 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 efectuó la purificación de las bibliotecas con perlas Agencourt® AMPure® XP al 1.2%.

3.3 Análisis físico químico del suelo

Los parámetros fisicoquímicos que se tomarán en cuenta serán el pH, conductividad eléctrica (μScm^{-1}), contenido de materia orgánica (%) y carbono orgánico (%). Las determinaciones se realizarán en el Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias-Relación Agua Suelo Planta Atmósfera (CENID-RASPA), de Gómez Palacio.

3.4 Secuenciación masiva de siguiente generación

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.

3.5 Análisis bioinformático

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 asíntota); 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/>.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la siguientes graficas se muestran los resultados que se obtuvieron de las muestras de suelo (mala producción de mezquite, buena producción de mezquite y como testigo suelo desnudo).

En la Figura 6 se puede observar que tanto la acumulación de materia orgánica (MOS, Mg ha^{-1}) como la de carbono orgánico (COS, Mg ha^{-1}), fue mayor en suelo desnudo.

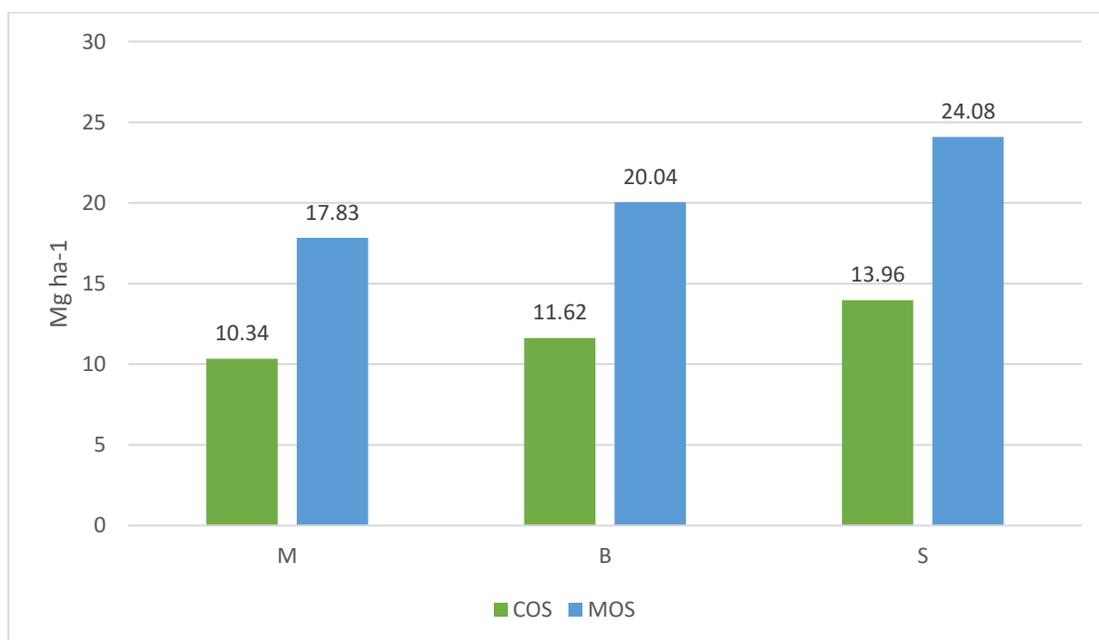


Figura 6. Contenido de carbono orgánico (COS, Mg Ha^{-1}) y materia orgánica del suelo (MOS, Mg Ha^{-1}) de los sitios de muestreo (M: mala producción, B: buena producción, S: Suelo desnudo).

En la Figura 7 se puede observar que la CE es más baja en el mezquite con buena producción mientras que en el mezquite silvestre es más alta, por el contrario, el mezquite con buena producción tiene el pH más alto que el mezquite silvestre.

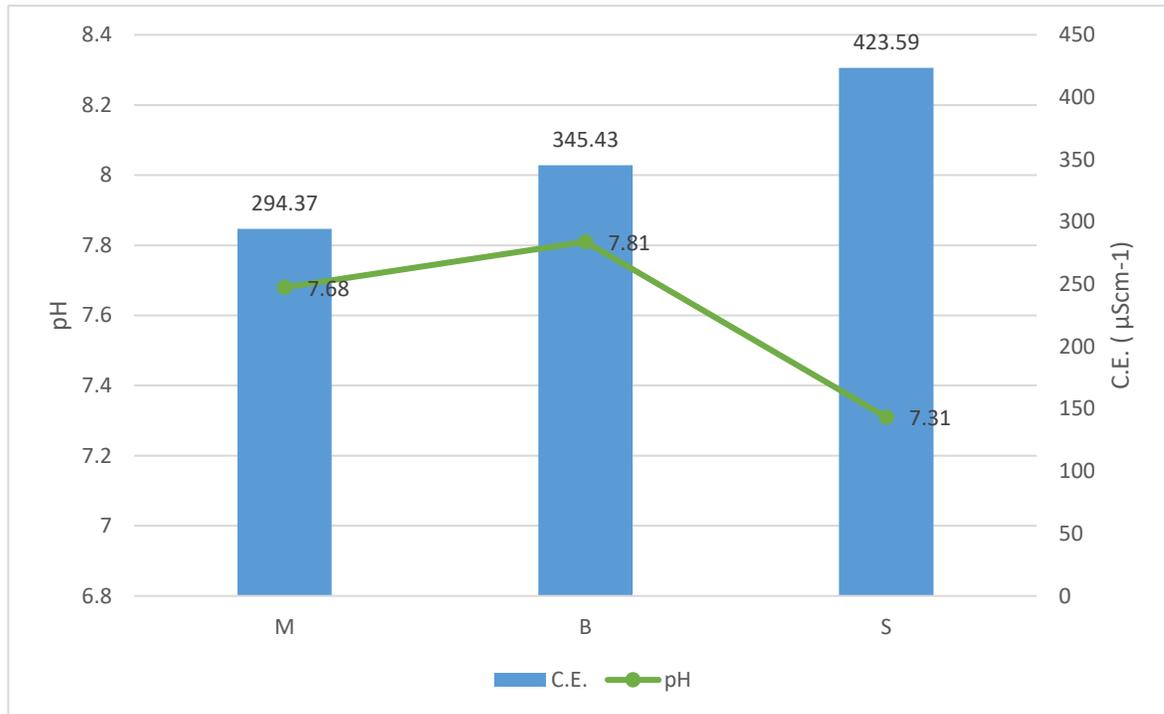


Figura 7. Conductividad eléctrica (CE) y pH del suelo, de los sitios de muestreo (M: mala producción, B: buena producción, S: Suelo desnudo).

3.6 Análisis del microbioma rizosférico del mezquite

En el cuadro 1 se presenta los resultados de las medias obtenidas de las secuencias totales antes del ensamblaje, las secuencias ensambladas, las secuencias descartadas, de secuencias en FASTA, las secuencias quiméricas eliminadas, las secuencias de calidad después de la eliminación de quimeras, las secuencias bacterianas después de la asignación taxonómica y las secuencias bacterianas después de la eliminación de los singletons.

Cuadro 1. Secuencias del microbioma bacteriano en los suelos de mezquite (M1- N= Mala producción con orientación al norte, con 4 repeticiones B1- N= Buena producción con orientación al norte, con 4 repeticiones; S1-N= Suelo desnudo con orientación al norte, con 3 repeticiones.

Muestra	ST	SE	D	FASTA	Q	SC	SB	SBSS
M1- N	93,773	48,247	45,526	48,059	735	47,324	41,686	22706
M2- S	98,256	47,003	51,253	46,844	525	46,319	39,144	17678
M3- E	112,028	53,055	58,973	52,844	474	52,370	45,712	22942
M4- O	110,372	41,786	68,586	41,656	359	41,297	30,890	6570
Media	103,607	47,523	56,085	47,351	523	46,828	39,358	17474
B1-N	105,292	53,379	51,913	53,172	723	52,449	46,995	26886
B2- S	103,819	47,157	56,662	46,990	357	46,633	36,247	8329
B3- E	487,228	255,304	231,924	254,382	28,350	226,032	175,753	54425
B4- O	116,000	51,444	64,556	51,251	557	50,694	43,626	18776
Media	203,085	101,821	101,264	101,449	7,497	93,952	75,655	27104
S1- N	101,748	48,233	53,515	48049	331	47,718	42,482	19026
S2- S	125,666	49,985	75,681	49787	675	49,112	42,793	21258
S3.- E	87,330	30,795	56,535	30681	199	30482	26,389	8373
Media	104,915	43,004	61,910	42839	401.667	42,437	37,221	16219

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 singletons.

Se presentó una buena profundidad de cobertura referente al número de OTUs bacterianos obtenidos de las muestras, dado que las curvas tendieron a la asíntota (Figura 8).

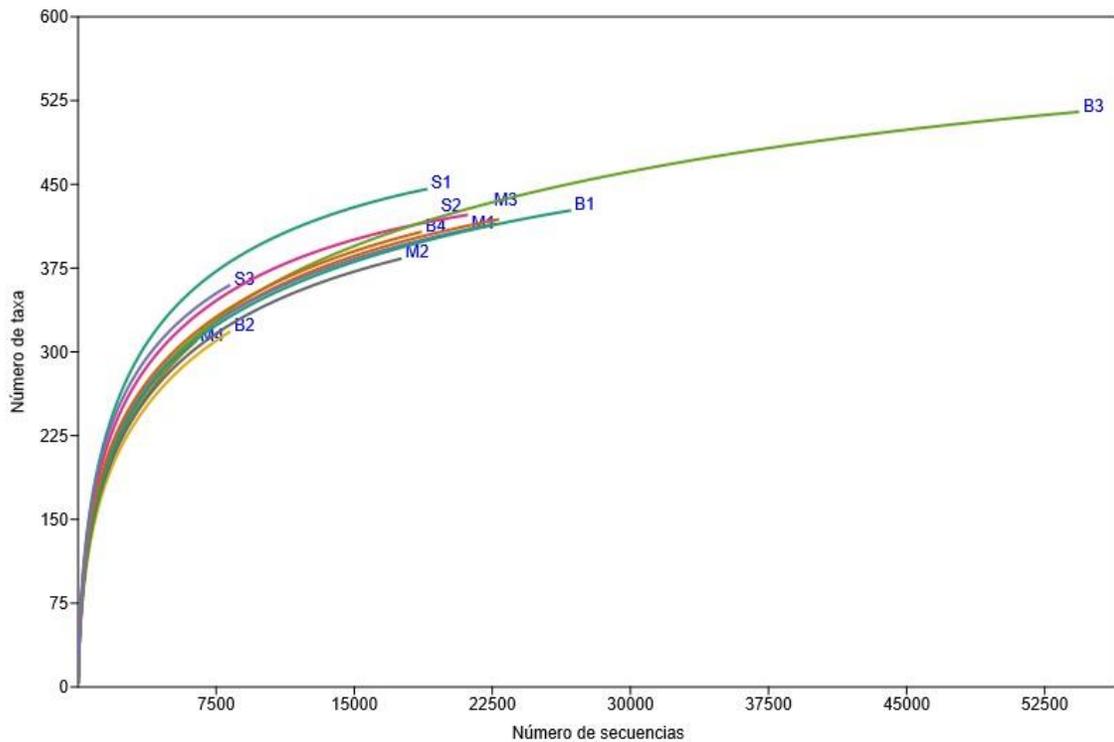


Figura 8. Número de secuencias por el número de OTUs para cada muestra de suelo sin rarificar (M: mala producción, B: buena producción, S: Suelo desnudo).

En el siguiente estudio se reportaron 17 phyla, donde los más abundantes para el mezquite de mala producción fueron los siguientes, M1, M2 y M3 respectivamente fueron Actinobacteria ($\bar{x} = 39, 39$ y 46%), Proteobacteria ($\bar{x} = 30, 28$ y 30%) Chloroflexi ($\bar{x} = 13, 16$ y 10%) Planctomycetes ($\bar{x} = 1, 15$ y 12%) Acidobacteria ($\bar{x} = 3,3$ y 3%) y Saccharibacteria_TM7 que obtuvo 1% para las tres muestras. Para el mezquite de buena producción se encontró B1, B2, B3 y B4 respectivamente Actinobacteria ($\bar{x} = 42, 42, 42$ y 45%) Proteobacteria ($\bar{x} = 27, 28, 24$ y 26%) Chloroflexi ($\bar{x} = 14, 15, 13$ y 17%) Planctomycetes ($\bar{x} = 14, 12, 16$ y 10%) Acidobacteria ($\bar{x} = 2, 2, 3$ y 2%) y Saccharibacteria_TM7 que obtuvo 1% para las tres muestras y para la muestra de

suelo desnudo fueron S1, S2 y S3 respectivamente Actinobacteria ($\bar{x} = 43, 37$ y 42%) Proteobacteria ($\bar{x} = 39, 32$ y 42%) Chloroflexi ($\bar{x} = 9, 12$ y 7%) Planctomycetes ($\bar{x} = 5, 13$ y 4%) Acidobacteria ($\bar{x} = 2, 4$ y 2%) y Saccharibacteria_TM7 ($\bar{x} = 1, 0$ y 2%) (Figura 9).

A nivel phylum podemos encontrar en cuanto a la orientación cardinal, las bacterias como Actinobacteria, Proteobacteria y Planctomycetes que estuvieron más presentes en el lado Este y a Chloroflexi en el lado Oeste.

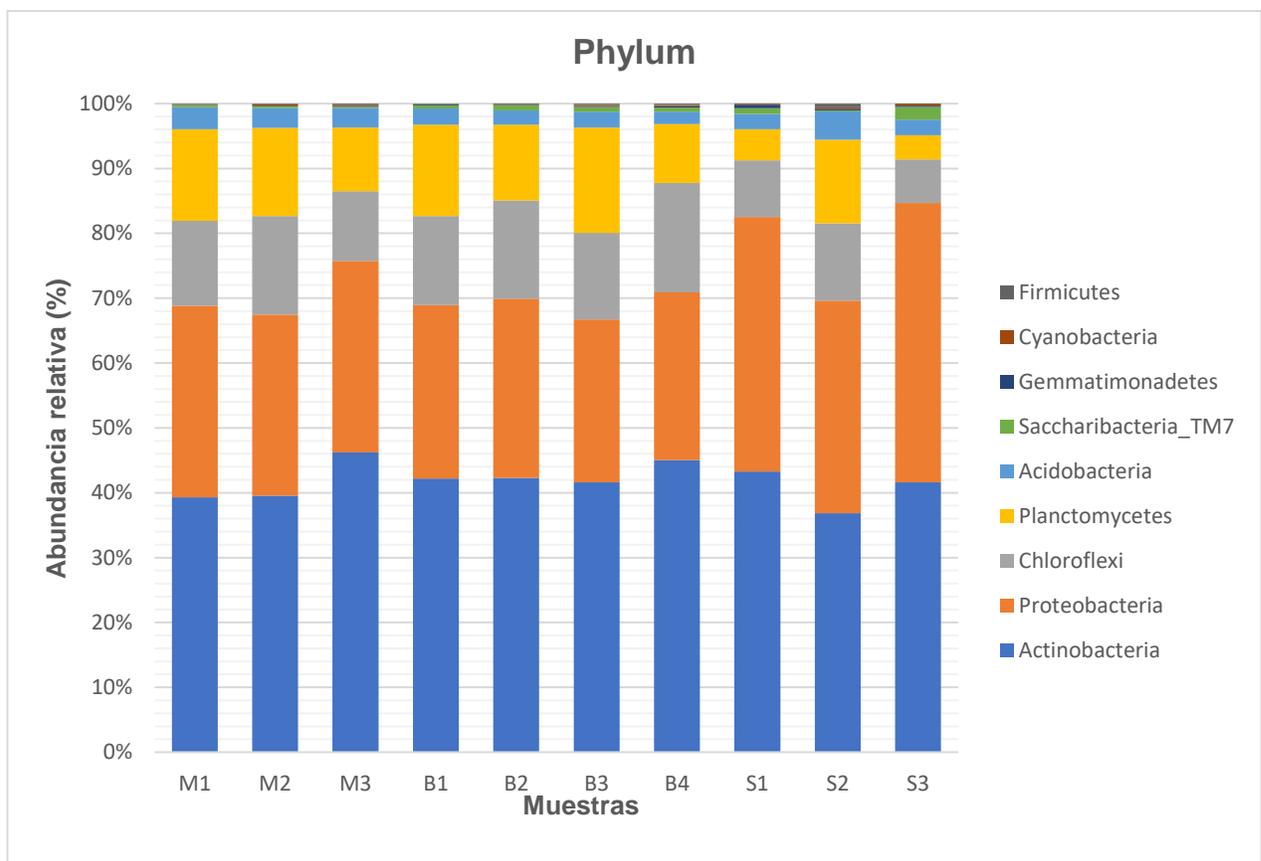


Figura 9. Abundancia relativa % de los principales phyla de bacterias que existen por muestra de suelo rizosférico, (M1-N, M2-S, M3-E, mezquite de mala producción, con orientación cardinal (B1-N, B2-S, B3-E, B4-O) mezquite con buena producción con orientación cardinal (S1-N, S2-S, S3-E) suelo desnudo con orientación cardinal.

Se reportaron 55 clases donde los más abundantes para las muestras M1, M2 Y M3 que pertenecen al suelo de mala producción fueron Actinobacteria_c (\bar{x} = 34, 33 y 41%) Alphaproteobacteria (\bar{x} = 31, 30 y 31%) Phycisphaerae (\bar{x} = 12, 12 y 8%) Acidimicrobiia (\bar{x} = 7, 8 y 8%) GQ396871_c (\bar{x} = 4, 5 y 3 %) Thermomicrobia (\bar{x} = 4, 4 y 2%) Chloroflexia (\bar{x} = 3, 4 y 3%) Planctomycetia (\bar{x} = 3, 2 y 2%) y Solibacteres que para las tres muestras se obtuvo un 3%. Para el suelo de buena producción los más abundantes para B1, B2, B3 y B4 respectivamente fueron Actinobacteria_c (\bar{x} = 39,38, 36 y 41%) Alphaproteobacteria (\bar{x} = 28, 29, 26 y 27%) Phycisphaerae (\bar{x} = 12, 11, 16 y 8%) Acidimicrobiia (\bar{x} = 5, 6, 7 y 7%) GQ396871_c (\bar{x} = 5, 8, 7 y 8 %) Thermomicrobia (\bar{x} = 3, 3, 2 y 4%) Chloroflexia (\bar{x} = 4, 3, 3 y 2%) Planctomycetia (\bar{x} = 3, 1, 2 y 2%) y Solibacteres que para las cuatro muestras se obtuvo 1% y para las ultimas muestras del suelo desnudo fueron Actinobacteria_c (\bar{x} = 41, 32 y 41%) Alphaproteobacteria (\bar{x} = 41, 35 y 45%) Phycisphaerae (\bar{x} = 4, 10 y 3%) Acidimicrobiia (\bar{x} = 5, 7 y 3%) GQ396871_c (\bar{x} = 4, 5 y 4%) Thermomicrobia (\bar{x} = 1, 2 y 1%) Chloroflexia (\bar{x} = 1, 2 y 1%) Planctomycetia (\bar{x} = 1, 4 y 1%) y Solibacteres (\bar{x} = 2, 3 y 1%). (Figura 10).

A nivel clase encontramos a bacterias más presentes en el Este como Actinobacteria_c, Alphaproteobacteria y Phycisphaera.

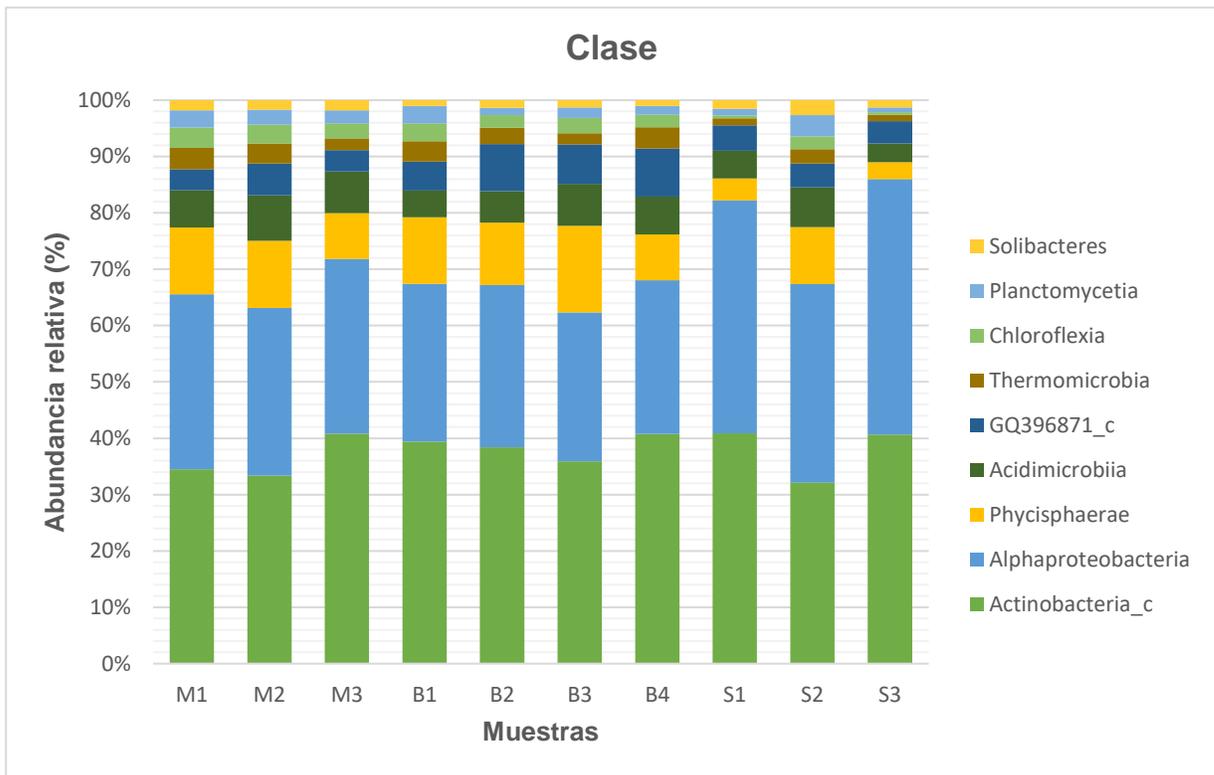


Figura 10. abundancia relativa % de las principales clases de bacterias que existen por muestra de suelo rizosférico, (M1-M3 mezquite de mala producción, (B1-B4) mezquite con buena producción y (S1-S3) suelo desnudo.

Se registró un total de 94 órdenes donde los más abundantes para las muestras de suelo de mala producción fueron (M1-M3), Rhizobiales ($\bar{x} = 13, 14$ y 13%) Frankiales ($\bar{x} = 14, 12$ y 21%) Rhodospirillales ($\bar{x} = 19, 15$ y 18%) Phycisphaerales ($\bar{x} = 16, 15$ y 10%) Sphingomonadales ($\bar{x} = 8, 8$ y 7%) PAC002290_o ($\bar{x} = 8, 13$ y 9%) Acidimicrobiales ($\bar{x} = 9, 11$ y 10%) GQ396871_o ($\bar{x} = 5, 7$ y 5%) y Micrococcales ($\bar{x} = 8, 5$ y 7%). Para el suelo con buena producción fueron (B1-B4), Rhizobiales ($\bar{x} = 13, 13, 12$ y 12%) Frankiales ($\bar{x} = 20, 15, 13$ y 9%) Rhodospirillales ($\bar{x} = 13, 13, 10$ y 10%) Phycisphaerales ($\bar{x} = 16, 14, 19$ y 11%) Sphingomonadales ($\bar{x} = 9, 8, 9$ y 12%) PAC002290_o ($\bar{x} = 9, 11, 11$ y 18%) Acidimicrobiales ($\bar{x} = 6, 8, 9$ y 10%) GQ396871_o ($\bar{x} = 7, 10, 9$ y 12%) y Micrococcales ($\bar{x} = 7, 8, 8$ y 6%) y con el suelo desnudo fueron

(S1-S3) Rhizobiales (\bar{x} = 22, 18 y 25%) Frankiales (\bar{x} =18, 9 y 11%) Rhodospirillales (\bar{x} =15, 18 y 11%) Phycisphaerales (\bar{x} =6, 14 y 5%) Sphingomonadales (\bar{x} =17, 11 y 26%) PAC002290_o (\bar{x} =2, 7 y 1%) Acidimicrobiales (\bar{x} =7, 10 y 5%) GQ396871_o (\bar{x} =7, 6 y 6%) y Micrococcales (\bar{x} =6, 7 y 10%). (Figura 11).

En cuanto al orden las bacterias más presentes en el lado Este fueron Rhizobiales, Frankiales y Spingomonas.

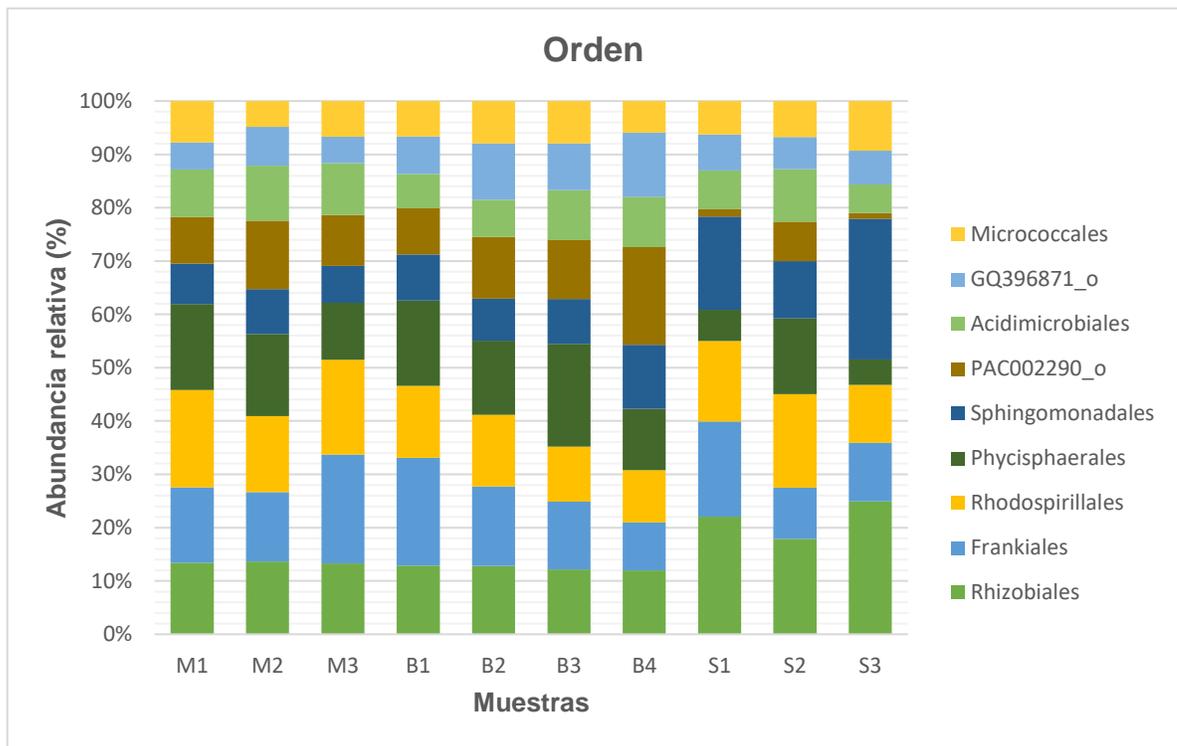


Figura 11. Abundancia relativa % de los principales órdenes de bacterias que existen por muestra de suelo rizosférico, (M1-M3 mezquite de mala producción, (B1-B4) mezquite con buena producción y (S1-S3) suelo desnudo.

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

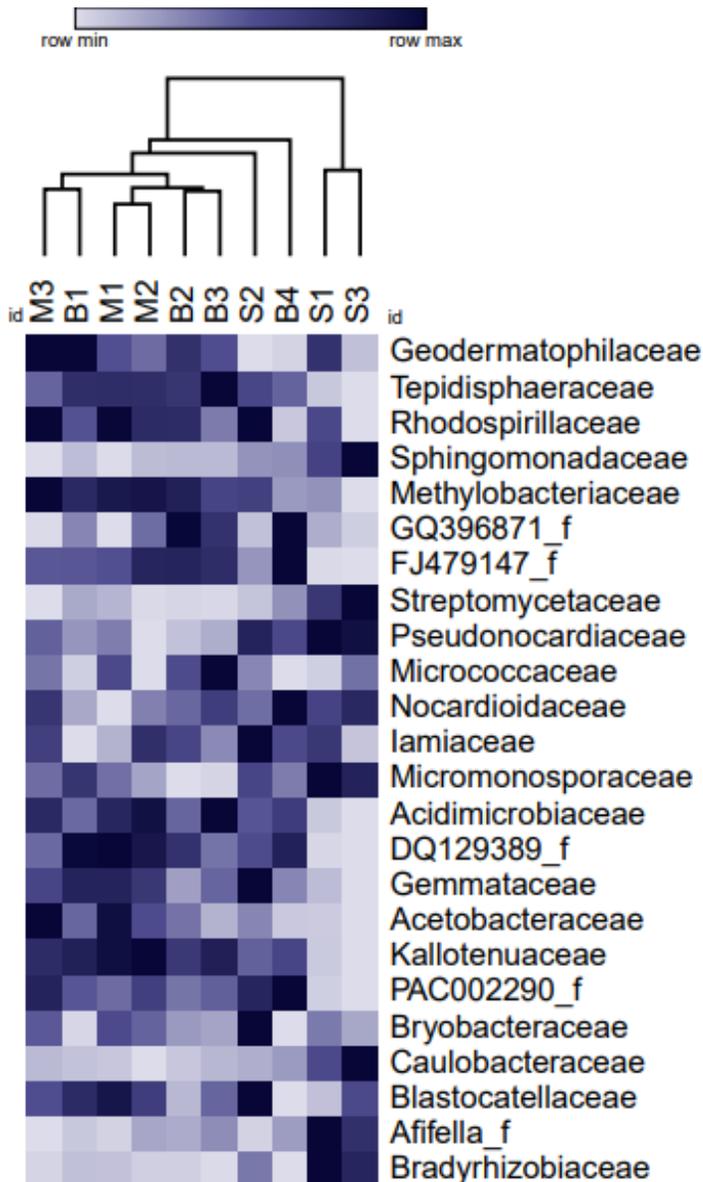


Figura 12. Mapa de calor de las familias bacterianas del conjunto de muestras de suelo cuya abundancia relativa fue mayor a 0.01.

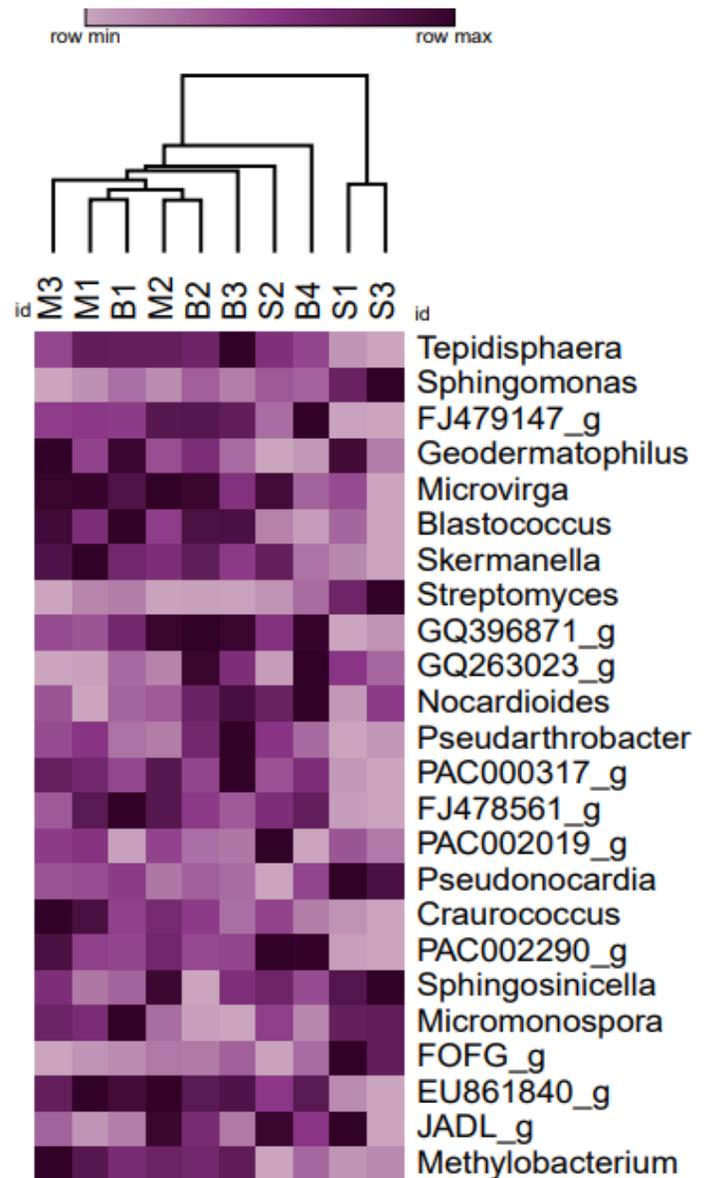


Figura 13. Mapa de calor de los generos bacterianos del conjunto de muestras de suelo cuya abundancia relativa fue mayor a 0.01.

De acuerdo a la orientación cardinal, algunas bacterias a nivel género que estuvieron más presentes en el lado Este fueron Tepidisphaera, Spingomonas Streptomyces, el Geodermatophilus estuvo presente tanto en el Este como en el Norte, en el caso de la microvirga esta bacteria bacteria estuvo más presente en el Sur y en el Este, aunque con un poco menos de abundancia.

A continuación, se muestra un cuadro con los principales géneros encontrados en las muestras de suelo en el cual tiene similitud entre sí, mostrándose los principales de mayor a menor presencia.

Cuadro 2. Géneros predominantes de cada una de las muestras analizadas.

MALA PRODUCCION	BUENA PRODUCCION	Suelo sin plantas
<i>Tepidisphaera</i>	<i>Tepidisphaera</i>	<i>Sphingomonas</i>
<i>FJ479147_g</i>	<i>FJ479147_g</i>	<i>Streptomyces</i>
<i>Skermanella</i>	<i>Blastococcus</i>	<i>Tepidisphaera</i>
<i>Microvirga</i>	<i>Sphingomonas</i>	<i>Geodermatophilus</i>
<i>Geodermatophilus</i>	<i>Geodermatophilus</i>	<i>Microvirga</i>
<i>Blastococcus</i>	<i>Microvirga</i>	<i>Blastococcus</i>
<i>Sphingomonas</i>	<i>Skermanella</i>	<i>Skermanella</i>
<i>GQ396871_g</i>	<i>GQ396871_g</i>	<i>GQ263023_g</i>
<i>Streptomyces</i>	<i>GQ263023_g</i>	<i>GQ396871_g</i>
<i>PAC000317_g</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>Nocardioides</i>
<i>Craurococcus</i>	<i>Nocardioides</i>	<i>Pseudonocardia</i>
<i>Pseudarthrobacter</i>	<i>Pseudarthrobacter</i>	<i>PAC002019_g</i>
<i>FJ478561_g</i>	<i>PAC000317_g</i>	<i>FOFG_g</i>
<i>Nocardioides</i>	<i>FJ478561_g</i>	<i>Sphingosinicella</i>
<i>PAC002019_g</i>	<i>PAC002290_g</i>	<i>Devosia</i>
<i>GQ263023_g</i>	<i>Pseudonocardia</i>	<i>Pseudarthrobacter</i>
<i>PAC002290_g</i>	<i>EU861840_g</i>	<i>Pseudolabrys</i>
<i>EU861840_g</i>	<i>PAC002019_g</i>	<i>Lentzea</i>
<i>Methylobacterium</i>	<i>Rubellimicrobium</i>	<i>Micromonospora</i>
<i>Sphingosinicella</i>	<i>FOFG_g</i>	<i>FJ479147_g</i>
<i>Micromonospora</i>	<i>Craurococcus</i>	<i>Actinomadura</i>
<i>Pseudonocardia</i>	<i>Micromonospora</i>	<i>JADL_g</i>

<i>Kocuria</i>	<i>Methylobacterium</i>	<i>FJ478561_g</i>
<i>JADL_g</i>	<i>JADL_g</i>	<i>PAC002290_g</i>

Se utilizó el método PERNOVA con la prueba estadística pseudo-F, para poder observar si hay o no diferencia significativa entre las muestras (Cuadro 3), teniendo como resultado que si hay diferencia significativa entre las muestras de suelo de mezquite.

Se observaron las muestras de suelo de mezquite de mala producción (M1-M3), de buena producción (B1- B4) y de suelo desnudo (S1-S3) donde se utilizó análisis de coordenadas principales (PCoA) donde claramente se puede observar la distancia entre los grupos (Figura 14).

Cuadro 3. Resultados obtenidos por el método PERNOVA.

Nombre del método	PERMANOVA
<i>Nombre de la prueba estadística</i>	Pseudo-F
<i>Tamaño de muestra</i>	10
<i>Numero de grupos</i>	3
<i>p-value</i>	0.002
<i>Numero de permutaciones</i>	999

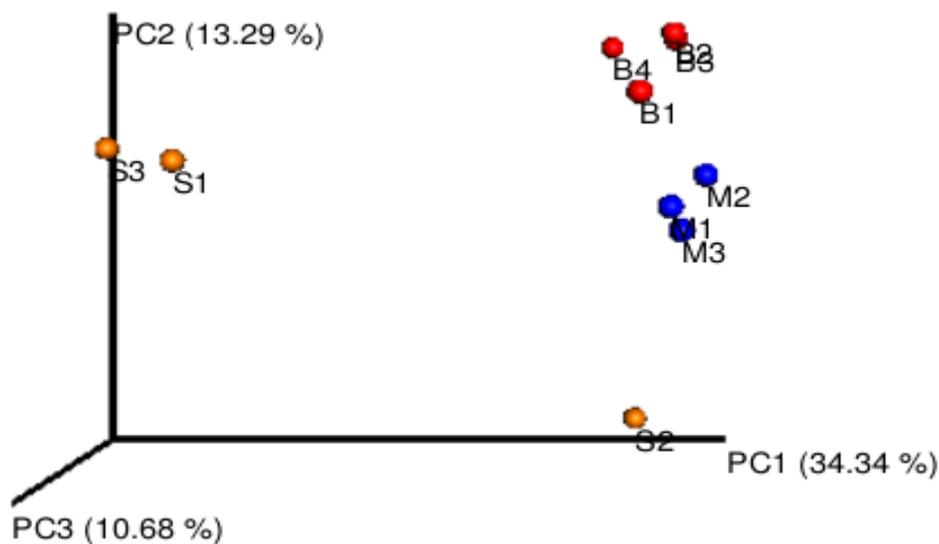


Figura 14. Visualización de grupos de muestras utilizando PCoA.

4.3 Taxa biomarcadores

Para analizar más a fondo la estructura de la comunidad bacteriana de la rizosfera e identificar cuáles taxones fueron responsables de las diferencias significativas entre ellas, se utilizó una gráfica de barras para un análisis discriminante (Figura 15) y un cladograma para representar los resultados obtenidos mediante el análisis LEfSe para hacer una comparación de clases de alta dimensión con un enfoque taxa biomarcadores (Figura 15).

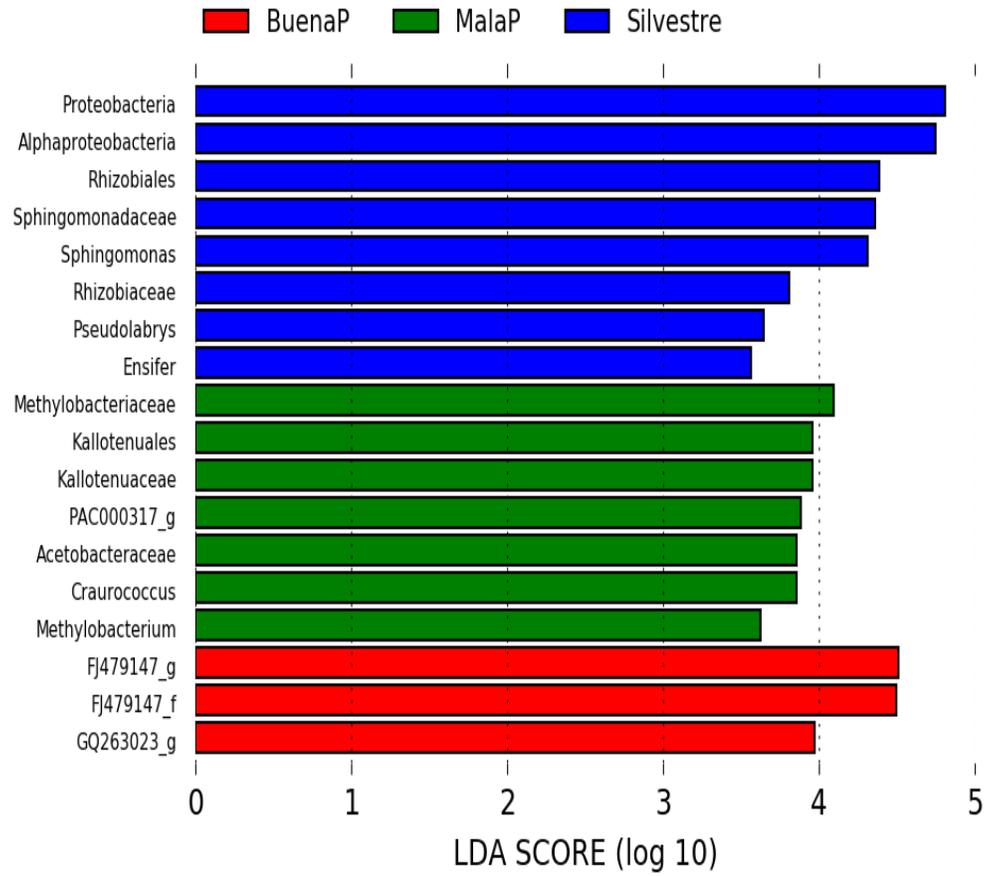


Figura 15. Taxa biomarcadores predominantes representativo de los resultados LEfSe.

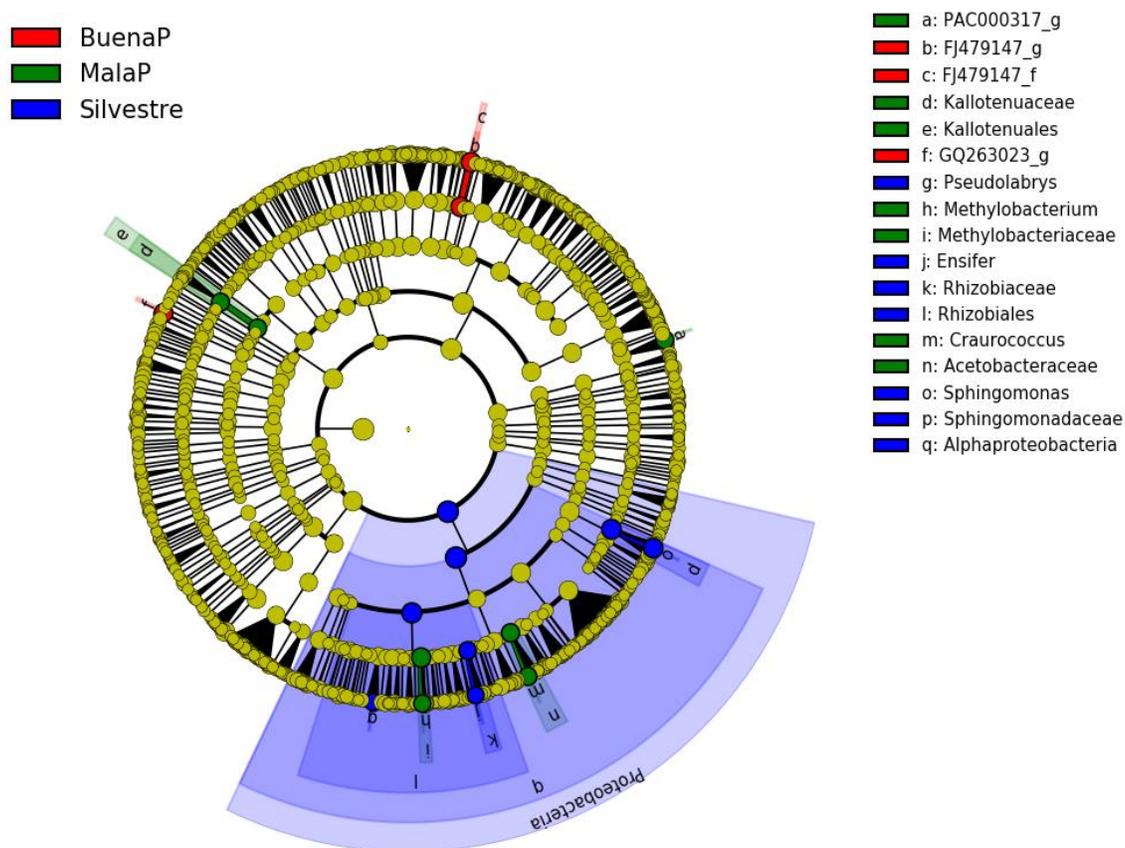


Figura 16. Cladograma representativo de los resultados LEfSe.

DISCUSIÓN

Los contenidos tanto de materia orgánica (MOS) como de carbono orgánico (COS) fueron encontrados en menor cantidad en los suelos de mezquite de mala y buena producción, mientras que en los de suelo desnudo fueron mucho más altos, desde el punto de vista de Pastor *et al.*, (2015) al ser zonas áridas donde las condiciones climáticas como la baja disponibilidad de humedad y las altas temperaturas predominan, hace que el proceso de mineralización del carbono orgánico sea más fuerte, trayendo como consecuencia que se fije muy poco y al mismo tiempo que la materia orgánica se agote. Además, el manejo de los ecosistemas áridos por el hombre, alteran el equilibrio de los procesos del suelo. Montañó *et al.*, (2006) menciona que tanto la materia orgánica como el carbono orgánico son mayores en lugares donde hay más cobertura vegetal.

De igual manera la C.E. fue mayor en el suelo desnudo y menor en el mezquite con buena producción, la conductividad eléctrica se ve afectado gracias a que, en el norte de México, el calcio (Ca), magnesio (Mg) y sulfato se encuentran en el agua de riego a altos niveles, esto provoca el incremento en la salinidad (Noguez, 2020). Por el contrario, el mezquite con buena producción tiene el pH más alto y el suelo desnudo lo tiene más bajo, esto gracias a que la MO está en mayor cantidad, eso quiere decir que a mayor cantidad de MO menor pH se obtendrá Flores, *et al.*, (2007).

En la Figura 9, Actinobacteria fue el phylum más abundante para todas las muestras, pero con un poco más de presencia en los suelos de mezquite de buena producción, como afirma Vásquez-Arroyo *et al.* (en prensa), estas bacterias tienen un efecto positivo en el crecimiento de las plantas por lo que mejoran la disponibilidad de los nutrientes regulando así el crecimiento vegetal, también ayuda en el proceso de degradación de la materia orgánica. Este podría ser la razón del por qué se encuentra en todas las muestras y con más abundancia en los suelos de buena producción.

Los géneros bacterianos más abundantes que se obtuvieron en las muestras analizadas fueron *Tepidisphaera*, *Sphingomona*, *Streptomyces*, *Skermanella*, y *Blastococcus*.

El género de *Tepidisphaera* fue el más abundante para los suelos de baja y alta producción y fue el tercero para el suelo desnudo. Al ser un género moderadamente termófilo, es decir que pueden soportar temperaturas altas, es apto para las zonas áridas del estado de Coahuila López, *et al.*, (2022). Así mismo, se ha reportado que predomina en suelos que tiene un manejo agroecológico como lo reporta Vásquez-Arroyo *et al.* (2023).

Para el suelo sin vegetación, el género que más prevaleció fue el *Sphingomonas*, estas son degradadoras de contaminantes que tienen una estructura muy estable químicamente y son resistentes a ataques de microorganismos. También toleran metales como Cd, Cu, Pb, Zn y Ni (López, *et al.*, 2015).

Pasando al análisis LEfSe, las gráficas que se obtuvieron identificaron cuales taxones fueron los responsables de las diferencias significativas entre las muestras, para el caso de los suelos sin vegetación fue en mayor abundancia la Proteobacteria, de acuerdo con Vásquez, *et al.*, (en prensa), este tiene un crecimiento rápido ya que, participa en la liberación de compuestos orgánicos simples, aminoácidos, carbohidratos, entre otros, además, es importante para que el ciclo del N, C y S tengan un buen funcionamiento.

Para los suelos de mala producción se encontró en mayor abundancia a *Methylobacteriaceae*, esta familia se encuentra en mayor abundancia en aquellos lugares en donde se registran carencias de nitrógeno (Yazaki, *et al.*, 2021)

En el suelo de buena producción se encontraron bacterias que no han sido registradas y solo se pueden observar con claves.

CONCLUSIÓN

Cada una de las muestras que se analizaron tuvieron una gran variedad de bacterias, acorde a los resultados obtenidos una de las razones principales es el manejo que cada una de ellas lleva, ejemplo claro es la cantidad de materia orgánica que se encontró en el suelo desnudo, ya que, al tener mucho tiempo de no tener un manejo, hizo que la materia orgánica se acumulara, teniendo así mayor incidencia de bacterias. Respuesta clara del por qué el pH del suelo desnudo es más bajo que en las otras muestras.

En el suelo de mezquite de buena producción, se llegó a tener con un poco más de abundancia el phylum Actinobacteria, aunque la diferencia fue mínima, las funciones que esta trae al suelo son importantes, desde mejorar la disponibilidad de nutrientes hasta ayudar en la degradación de la materia orgánica.

La Tepidisphaera al encontrarse en ambientes con temperaturas extremadamente altas hace que se presente en los tres tipos de suelos.

Cada una de las muestras analizadas lleva consigo bacterias importantes, con funciones diferentes, el realizar estudios como este ayudan a poder identificarlos y saber que benéficos trae tanto al suelo como a la planta. Saber si el manejo que se le está dando es el adecuado o si es necesario hacer cambios.

Basándonos en los resultados obtenidos en cuanto a que bacterias se encontraban con mayor abundancia dependiendo de la orientación cardinal, se encontró que a nivel género la Tepidisphaera, Spingomonas y Streptomyces estuvieran más presentes en el lado Este. Teniendo en cuenta que estas bacterias se encuentran en lugares con extremas temperaturas.

LITERATURA CITADA

- Abbona, E. A., & Sarandon, S.J. (2014).** Manejo de nutrientes en los agroecosistemas. En S. J. Sarandon & C. C. Flores. (Eds). *Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables*. Editorial de la universidad de la plata. Buenos Aires Argentina. Pp. 211–234.
- 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.
- Altieri, M. A., & Toledo, V. M. (2010).** La revolución agroecológica de América Latina: Rescatar la naturaleza, asegurar la soberanía alimentaria y empoderar al campesino. *El otro derecho*. Instituto Latinoamericano para una Sociedad y un Derecho Alternativos ILSA. (42), 1–41: <http://biblioteca.clacso.edu.ar/Colombia/ilsa/20130711054327/5.pdf>
- Armijo, M. G., Moreno, A., Blanco, E., Borroel, V. J., & Reyes J. L. (2019).** Vaina de mezquite (*Prosopis spp.*) alimento para el ganado caprino en el semidesierto. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(1), 113–122.
- Astier, C. M., Argueta, Q., Orozco, Q., González, S. M. V., Morales, H. J., Gerritsen P. R. W., Escalona, M., Rosado, F. J., Sánchez, J., Martínez, T. S. S., Sánchez C. D. Arzuffi, B. R., Castrejón, A. F., Morales, H., Soto, P. L., Mariaca, M. R., Ferguson, B., Rosset, P., Ramírez, T. H. M., ... Ambrosio, M. (2017).** Historia de la agroecología en México. En M. A. Altieri (Ed). *Historia de la agroecología en América Latina y España*. Sociedad Científica Latinoamericana de Agroecología. Berkeley, California. Pp. 9 –17.
- Beals, E.W. (1984).** Bray-Curtis ordination: an effective strategy for analysis of multivariate ecological data. *Advances in Ecological Research*, 14, 1– 55.

- Cabello, J., & Castro, A. J. (2012).** *Estado y tendencia de los servicios de los ecosistemas de Zonas Áridas de Andalucía*. Centro Andaluz para la evaluación y seguimiento del cambio global (CAESCG). Universidad de Almería.
- Cadena, J. D., Martínez, M. D., Guzman, L. F., & Arteaga R. I. (2016).** Aplicación de secuenciación masiva para el estudio y exploración de diversidad microbiana y su aprovechamiento biotecnológico. *Agroproductividad*, 9(2), 70 – 83.
- Calvo, P., Reymundo, L., & Zúñiga, D. (2008).** Estudio de las poblaciones microbianas de la rizósfera del cultivo de papa (*solanum tuberosum*) en zonas altoandinas. *Ecología aplicada*, 7(1,2), 141 – 148.
- 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.
- Correa, O., S. (2013).** Los microorganismos del suelo y su rol indiscutido en la nutrición vegetal. *Aportes de la microbiología a la producción de los cultivos*. Editorial de la Facultad de Agronomía. Buenos Aires, Argentina, 1–11.
- Cortés, N., Montor, J., Olvera, C., Peña, J., & Del Moral, S. (2014).** Metagenómica: una ventana de oportunidad a nuevos genes y genomas microbianos. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(7), 45 – 58.
- De Bashan, L. E., Vázquez, P., Romero, B. E., Moreno, M., Hernández, J. P., Bacilio, M., Leyva, L. A., & Bashan, Y. (2013).** Los pequeños y los grandes: Una historia de cómo los micro-organismos pueden ayudar a las plantas. En J. L. León-De La Cruz, M. C. Blázquez-Moreno y A. Ortega-Rubio. (Eds). *¿Qué se mueve en el desierto?: historias del matorral Sarcocaulis*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., La Paz, B.C.S., México. Pp 47 – 54.
- De La Torre, R., Cota, F. M., García, J. L., Campos, L. E., & San Martín, F. (2009).** Etiología de la muerte descendente del mezquite (*Prosopis laevigata* L.) en la

reserva de la biosfera del valle de Zapotitlán, México. *Agrociencia*, 43(2),197 – 208.

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

Flores, E., Frías, J., Olalde, V., Figueroa, J. D., Valdivia, A., & García E. (2007). Efecto del gatuño sobre la fertilidad del suelo y la biomasa herbácea en pastizales del centro de México. *Terra Latinoamericana*, 25(3), 311 – 319.

Flores, F. J. (1993). Atributos ecológicos y aprovechamiento del mezquite. *Investigación y Ciencia: de la Universidad autónoma de Aguascalientes*, (9), 24 – 30.

García, D. E. (2015). *Estructura, diversidad y perfil fisiológico de la comunidad bacteriana del suelo en las islas de recursos de mezquite amargo (prosopis articulata S. Watson) en relación con la diversidad de plantas.* [Tesis de maestría, centro de investigaciones biológicas del noroeste, S.C.] Repositorio institucional CIRBOR.
<http://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1001/658>

Gutiérrez, J. G., Aguilera, L. I., & González, C.E. (2008). Agroecología y sustentabilidad. *Convergencia: Revista de ciencias sociales*. 46, 51 – 87.

Hammer, Øyvind, Harper, David A.T., and Paul D. Ryan, 2001. Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4, 1-9 http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.

Hernández, L. R., Velázquez, I., Orozco, M. C., & Santoyo, G. (2010). Metagenómica de suelos: grandes desafíos y nuevas oportunidades biotecnológicas. *Phyton*, 79 (2), 133-139.

Illumina. (2017a). 16 S Metagenomic sequencing library preparation, Preparing 16S ribosomal RNA gene amplicons for the Illumina MiSeq system. Recuperado el

10 de agosto, 2017 de:
https://support.illumina.com/content/illumina/support/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16smetagenomica-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

Jaime-Vega, M. C. (2012). La vida en el suelo. Papel de los microorganismos en la agroecología. En Alfonso – Carrillo, J. (Ed). *Agricultura en canarias: conciliando tradición y ciencias*. Instituto de estudios hispánicos de canarias. Puerto de la Cruz, Tenerife. Pp. 145–172.

Juarez, J. R., Alvarado, M., & Valdez, R.D. (2001). esscarificación de semillas de mezquite (*Prosopis laevigata*) para aumentar la eficiencia en la germinación. Fecha de consulta. 23 de agosto del 2023. Disponible en:
https://www.researchgate.net/profile/Ricardo-Valdez-Cepeda/publication/242387085_ESCARIFICACION_DE_SEMILLAS_DE_MEZQUITE_Prosopis_laevigata_PARA_AUMENTAR_LA_EFICIENCIA_EN_LA_GERMINACION/links/55ee029808ae0af8ee19e427/ESCARIFICACION-DE-SEMILLAS-DE-MEZQUITE-Prosopis-laevigata-PARA-AUMENTAR-LA-EFICIENCIA-EN-LA-GERMINACION.pdf

Julca, A., Meneses, L., Blas, R., & Bello, S. (2006). La materia orgánica, importancias y experiencias de su uso en la agricultura. *Idesia*, 24(1), 49 – 61.

Klindworth, A.; Pruesse, E.; Schweer, T.; Peplies, J.; Quast, C.; Horn, M.; Glöckner, 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.

López, I., López, M., Morales, E. M., Blanco, E., Zapata, G., Cabrera A., García, C., & Vásquez, J. (2022, 1 y 2 de diciembre). Evaluación de tres inoculantes en el rendimiento de maíz criollo (*Zea mays*) mediante el análisis molecular y bioinformático del microbioma rizosférico bacteriano. [Congreso]. Recursos bióticos de zonas áridas. Universidad Autónoma Chapingo. <https://congresorebiza.mx/wp-content/uploads/2022/12/REBIZA22.pdf>

López, M., Argumedo, R., Sánchez, G., Hernández, A. A. (2015). Biolixiviación metálica de rejillas colectoras de un panel fotovoltaico obsoleto por *Sphingomonas* y *Pseudomonas*. Fecha de consulta. 14 de Julio del 2023. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/288832970_Biolixiviacion_met_alica_de_rejillas_colectoras_de_un_panel_fotovoltaico_obsoleto_por_Sphingomonas_y_Pseudomonas#fullTextFileContent

Martínez, R. (2002). Agroecología: Atributos de la sustentabilidad. *InterSedes*, 3(5), 25 – 45.

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.

Montaño, N. M., García, R., Ochoa, G., & Monroy, A. (2006). Relación entre la vegetación arbustiva, el mezquite y el suelo de un ecosistema semiárido en México. *Terra Latinoamericana*, 24(2), 193 – 205.

- Noguez, A. (2020).** *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) M.C. Johnst en suelos regados con aguas residuales del Estado de Hidalgo. Tesis de maestría, Universidad Autónoma Chapingo.
- Olalde V. & Aguilera L. I. (1998).** Microorganismos y biodiversidad. *Terra Latinoamericana*, 16(3), 289 – 292.
- Pastor, J., Martínez, A., Rivas, W., Maseda, C., Muñoz B., Lemus, L., Colmenares, M., & Campos, Y. (2015).** Carbono orgánico como indicador del proceso de desertificación en suelos agrícolas al norte de Venezuela. *Suelos Ecuatoriales*, 45(1), 24 – 30.
- Pérez, J., García, G., & Esparza, F. (2002).** Papel ecológico de la flora rizosférica en fitorremediación. *Avance y perspectiva*, 21, 1 – 5.
- Reyes, I. (2011).** La micorriza arbuscular (MA) centro de la rizosfera: comunidad microbológica dinámica del suelo. *Contactos*, 81, 17 – 23.
- Rivera, A., Vazquez, D., Fernández, J. L., Rosete, M., Cesa, C., Morales, E., Muñoz, J., & Quintero, V. (2021).** Aportes y dificultades de la metagenómica de suelos y su impacto en la agricultura. *Acta Biológica Colombiana* 26(3), 449 – 461.
- Rodríguez, E. N., Rojo, G. E., Ramírez, B., Martínez, R., Cong, M. C., Medina, S. M., & Piña, H. H. (2014).** Análisis técnico del árbol del mezquite (*prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. ex Willd.) en México. *Ra Ximhai*, 10 (3), 173 – 193.
- Rosset, P., & Altieri, M. (2018).** *Agroecología ciencia y política*. La paz, Bolivia. Fundación Tierra.
- Trucíos, R., Valenzuela, L. M., Estrada, J., Rosales, R., & Martínez, M. (2011).** Áreas potenciales para desarrollo y aprovechamiento de mezquite. En J. C. Ríos, R. Trucíos, L. M. Valenzuela, G. Sosa & R.

Rosales. (Eds). *Importancia de las poblaciones de mezquite en el norte-centro de México*. CENID-RASPA, Gómez Palacio, Dgo. Pp 173 – 194.

Valenzuela, F., Casillas, R., Villalpando, E., & Vargas, F. (2015). El gen ARNr 16S en el estudio de comunidades microbianas marinas. *Ciencias marinas*, 41(4), 297 – 313.

Vásquez-Arroyo, J., Ramírez-Guajardo, Z.L., Blanco-Contreras, E., Nava-Reyna, E., Zapata-Sigüentes, G., Vaca-Paniagua, F., Díaz-Velázquez, C.E., Valenzuela-Núñez, L.M., García de la Peña, C. (2023). Long-term impact of maize agroecological management on bacterial communities and soil health in the arid north of México. *Trop. Subtrop. Agroec.* 26, 1-17.

Vásquez-Arroyo, J., López-Astudillo, M., Delgado-Castro, Y., Morales-Martínez, E. M., Blanco-Contreras, E., Zapata-Sifuentes, G., Cabrera-Rodríguez, A., Guillen-enriquez, R. R., Moreno-Reséndez, A., y García de la Peña, C. Microbioma rizosférico de bacterias en maíz criollo de grano: impacto sobre el rendimiento bajo transición agroecológica. *Terra Latinoamericana*. En prensa.

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

Velasco, A., Castellanos, O. Acevedo, G., Clarenc, R., & Rodríguez, A. (2020). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 333 – 345.

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.

Yazaki, W., Shimasaki, T., Aoki, Y., Masuda, S., Shibata, A., Suda, W., Shirasu, K., Yazaki, K., & Sugiyama, A. (2021). Nitrogen Deficiency-induced Bacterial Community Shifts in Soybean Roots. *Microbes Environ*, 36(3), ME21004.

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.

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: **“MICROBIOMA RIZOSFÉRICO BACTERIANO DE MEZQUITE, EFECTO DE LA ORIENTACIÓN CARDINAL”**. D. C. ©



Suyevi Yenire Escalante López



Dr. Jesús Vázquez Arroyo

Torreón, Coahuila a 5 de Diciembre del 2023