



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA

ECOLOGÍA

**Estudio de la microbiota asociada al tracto digestivo de
Nasutitermes nigriceps en parcelas con diferente estado
sucesional**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

JULISSA OCAMPO CASTILLO

TUTOR PRINCIPAL: DRA. NANCY CALDERÓN CORTÉS

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD
MORELIA. UNAM**

COMITÉ TUTOR: DRA. ESPERANZA MARTÍNEZ ROMERO

CENTRO DE CIENCIAS GENÓMICAS. UNAM

DR. LUIS SERVÍN GARCIDUEÑAS

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD
MORELIA. UNAM**

MORELIA, MICHOACÁN, MARZO, 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA

ECOLOGÍA

**Estudio de la microbiota asociada al tracto digestivo de
Nasutitermes nigriceps en parcelas con diferente estado
sucesional**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

JULISSA OCAMPO CASTILLO

TUTOR PRINCIPAL: DRA. NANCY CALDERÓN CORTÉS

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD
MORELIA. UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. ESPERANZA MARTÍNEZ ROMERO

CENTRO DE CIENCIAS GENÓMICAS. UNAM

DR. LUIS SERVÍN GARCIDUEÑAS

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD
MORELIA. UNAM

MORELIA, MICHOACÁN 2021

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA

OFICIO CPCB/095/2021

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Biología Experimental, y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **23 de noviembre de 2020** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Ecología** de la estudiante **OCAMPO CASTILLO JULISSA** con número de cuenta **517025822** con la tesis titulada "**Estudio de la microbiota asociada al tracto digestivo de *Nasutitermes nigriceps* en parcelas con diferente estado sucesional.**", realizada bajo la dirección del **DRA. NANCY CALDERÓN CORTÉS**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. EK DEL VAL DE GORTARI
Vocal: DRA. YUNUEN TAPIA TORRES
Secretario: DR. LUIS EDUARDO SERVÍN GARCIDUEÑAS
Suplente: DR. VÍCTOR ARROYO RODRÍGUEZ
Suplente: DRA. PATRICIA BALVANERA LEVY

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 05 de febrero de 2021

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Unidad de Posgrado, Edificio D, 1º Piso. Circuito de Posgrados, Ciudad Universitaria
Alcaldía Coyoacán. C. P. 04510 CDMX Tel. (+5255)5623 7002 <http://pbiol.posgrado.unam.mx/>

Agradecimientos Institucionales

Al **Posgrado de Ciencias Biológicas de la UNAM** por el apoyo y las facilidades para poder realizar mi Maestría.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por la beca que me otorgó con la cual pude realizar mis estudios de Maestría (**No. Apoyo 819917**).

Al programa de **Apoyo a la ciencia básica de CONACYT <<No. De proyecto 253420>>**

Al programa de **Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica DGAPA-PAPIIT IA200918**.

Al Fondo Sectorial **SEP-CONACYT, Proyecto CB 2015/253420: “Origen y evolución de los mecanismos endógenos de digestión de celulosa en insectos”** y del proyecto IA200918 DGAPA-PAPIIT-UNAM **“Implicaciones del cambio global sobre la diversidad y funciones ecológicas de las termitas en un bosque tropical caducifolio”** otorgados a la Dra. Nancy Calderón, con la cual se realizó el financiamiento de esta investigación.

A mi tutora la Dra. Nancy Calderón Cortés por haberme aceptado como su alumna de Maestría.

Al Dr. Luis Servín y a la Dra. María Esperanza Martínez Romero por formar parte de mi comité tutor, por todos sus valiosos consejos y sugerencias para la realización de este trabajo.

Agradecimientos a título personal

Quiero agradecer en primer lugar a mi familia mis padres Macaria Castillo Pascual y Cuauhtémoc Ocampo Melchor, por apoyar desde siempre mi formación que, aunque no es necesariamente el camino que ellos deseaban que tuviera me han apoyado incondicionalmente. Agradezco su paciencia, amor y cuando ha sido necesario sus llamados de atención para poder reencaminar la dirección. A mis hermanos Jesús, Cuauhtémoc y Alondra a quienes amo y con los cuales he compartido los mejores momentos de mi vida y quienes muchas veces me han enseñado de la vida a pesar de ser más jóvenes que yo.

Quiero agradecer al origen de todo esto, mi principio y mi fin, alguien que conocí hace apenas unos meses 6 para ser exactos, un pequeño ser que ha llegado a mi vida para cambiarla en todos los aspectos, un ser a quien infinitamente amo con todo mi corazón y gracias al cual hasta ahora, mi vida ha tomado todo el sentido de mi existencia su nombre es Marco Aurelio hijo mío; este trabajo y los posteriores son el ejemplo de que debes hacer lo que te apasione en la vida y defender tú pasión aun por encima del camino escabroso que en algún momento se te pueda presentar.

Muchas gracias a mi actual familia mi pareja Marcos Carmona, muchas gracias por tu apoyo, por ayudarme a conseguir mis sueños, aunque muchas veces no comprendas del todo mi mundo y que yo muchas veces tampoco entienda el tuyo, amas lo que haces y eso es de admirarse tú y Marco Aurelio ahora son parte de nuestra pequeña familia.

A mis amigos, colegas y compañeros Robert y Mario, en verdad mil gracias a ambos unos expertos con los scripts, a Arturo Ramírez muchas gracias por tu apoyo y a tú papá del mismo nombre, por enseñarme a hacer las disecciones de termitas, mil gracias tú y él; dos grandes biólogos.

A todos los miembros del laboratorio de Ecología Molecular, Chucho muchas gracias a la señora Clau mil gracias por su apoyo y su amistad, a todos los chicos que apoyaron en campo Carlitos, Lalo, Mario, Richie. Los doctores Luis Escalera y Rafael Guzmán, muchas gracias a todos ustedes por los apoyos en campo y al doctor Luis muchas gracias por su apoyo en los análisis estadísticos.

A el Laboratorio de Ecología Molecular de la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad Morelia de la UNAM donde se realizó el presente trabajo.

A la Estación Biológica de la UNAM en Chamela Jalisco, así como al proyecto RESERBOS por las facilidades y apoyo.

A los miembros del Jurado de Tesis: Dra. Ek del Val, Dra. Patricia Balvanera, Dra. Yunuen Tapia, Dr. Víctor Arroyo y Dr. Luis Servín por su valioso apoyo en la revisión de la tesis.

Finalmente quiero agradecer a una persona que me ayudó mucho en mi formación quiero que sepa que la persona que entró a su laboratorio no es la misma que está terminando esta etapa, que todos aquellos momentos de retroalimentación de enseñanza de rectificación hicieron un efecto y que este proyecto es el fruto de su trabajo y de la valiosa oportunidad que me dio para ser su alumna de maestría, mil gracias a la Dra. Nancy Calderón , o simplemente Nancy como a ella le gusta que le digan, la admiro mucho y siempre le estaré agradecida por esta oportunidad y por ser un asesor y de los mejores ejemplos académicos y de trabajo que he tenido.

Índice

Resumen	1
Abstract	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES	5
2.1 Deforestación y cambio de uso de suelo de los bosques tropicales secos	5
2.2 Sucesión ecológica	6
2.3 Diversidad y evolución de termitas	10
2.4 Funciones ecológicas y servicios ecosistémicos de las termitas	12
2.5 Estructura general del tracto digestivo de termitas	15
2.6 La dinámica al interior del tracto digestivo de termitas	18
2.7 Composición de los grupos bacterianos en termitas arbóreas	20
3. JUSTIFICACIÓN	24
4. OBJETIVOS	26
Objetivo general	26
Objetivos específicos	26
5. HIPÓTESIS	26
6. METODOLOGÍA	27
6.1 Área de Estudio	27
6.1 Sitios de Estudio	28
6.2 Colecta	29
6.3 Identificación taxonómica	30
6.4 Disección del tracto digestivo	33
6.5 Extracción de ADN de la microbiota asociada al segmento P3	34
6.6 Preparación de la librería y secuenciación	35
6.7 Análisis de datos	35
6.8 Análisis de biodiversidad	36
6.9 Análisis filogenético de secuencias representativas	37
7. RESULTADOS	38
7.1 Secuenciación	38
7.2 Diversidad α	39
7.3 Diversidad β	43
7.4 Composición de la comunidad procariótica	44

7.5 Análisis Filogenético	47
8. DISCUSIÓN	48
9. CONCLUSIONES	54
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

Índice de tablas

Tabla 1. Tasas de mineralización de carbono y nitrógeno por especies de termitas en ecosistemas tropicales.	13
Tabla 2. Abundancias relativas de la microbiota presente en el segmento P3 de especies de termitas bajo diferentes tipos de dieta.	22
Tabla 3. Localización y descripción de los sitios de estudio.....	28
Tabla 4. Estadísticas de los datos crudos de la obtención de secuencias	38
Tabla 5. Estadísticas del procesamiento y filtrado de secuencias.....	39
Tabla 6. Análisis de varianza multivariado, con base en permutaciones de dos factores (PERMANOVA) aplicado a los diferentes estadios sucesionales.	44
Tabla 7. Abundancia relativa de los principales filos de bacterias encontrados en <i>Nasutitermes nigriceps</i> organizados por familia, representados en los diferentes sitios de estudio en cada estadio sucesional.....	46

Índice de figuras

Figura 1. Distribución del bosque tropical seco en los años 2015 y 1900.	6
Figura 2. Diagrama simplificado que ilustra los patrones sucesionales en los ensamblajes de plantas y animales a través del tiempo	8
Figura 3. Anatomía del tracto digestivo de termitas y hábitats microbianos importantes en diferentes grupos de hospederos.....	16
Figura 4. Estructura general de las termitas superiores e inferiores	17
Figura 5. Intestino posterior de <i>Nasutitermes costalis</i>	18
Figura 6. El intestino posterior de las termitas que se alimentan de madera es un biorreactor microbiano que fermenta la lignocelulosa a acetato y metano.	19
Figura 7. Localización de la Estación de Biología Chamela en la costa de Jalisco y ubicación del estado de Jalisco en México.....	27
Figura 8. Parcelas con diferente estadio de abandono que representan los diferentes estadios sucesionales del bosque tropical seco, en la región de Chamela Jalisco, México.	29

Figura 9. Termiteros de <i>Nasutitermes</i> en el sendero interpretativo de Calandria junio del 2014, en la Estación Biológica de la UNAM.	30
Figura 10. Soldado colectado en un termitero dentro de la Estación Biológica de Chamela Jalisco, dentro del sendero “Tejón 2”, correspondiente al bosque maduro.....	31
Figura 11. Obrero de <i>Nasutitermes</i>	32
Figura 12. Tracto digestivo de una termita (<i>Nasutitermes nigricipes</i>) colectada previamente en uno de los sitios de estudio en Chamela Jalisco..	34
Figura 13. Curvas de rarefacción de la microbiota intestinal de <i>Nasutitermes nigriceps</i> por estadio sucesional.....	40
Figura 14. Curvas de rarefacción de la microbiota intestinal de <i>Nasutitermes nigriceps</i> por sitio.....	40
Figura 15. Diversidad α de la microbiota intestinal de <i>Nasutitermes nigriceps</i> en diferentes estadios sucesionales del bosque tropical seco.....	42
Figura 16. Análisis de correspondencia y disimilitud (DCA)..	43
Figura 17. Abundancia relativa de la microbiota intestinal de <i>Nasutitermes nigriceps</i>	45
Figura 18. Árbol filogenético de máxima verosimilitud de la región hipervariable V3-V4 de las secuencias representativas de los filos encontrados en <i>Nasutitermes nigriceps</i>	47

Resumen

Las termitas *Nasutitermes nigriceps* (Blattodea: Termitoidae), son insectos importantes en los ecosistemas tropicales, por las funciones de fijación y mineralización de C y N, que realizan, así como la descomposición de la materia orgánica, reciclaje ecológico. Las funciones que este grupo provee en los ecosistemas han sido interrumpidas por actividades antrópicas en los últimos años, una de estas causas ha sido la deforestación y el cambio de uso de suelo. Dado este panorama, el objetivo de este estudio fue evaluar los cambios en la abundancia, la diversidad y la composición de la comunidad procariótica asociada al segmento P3 del tracto digestivo de termitas a través de un gradiente sucesional para determinar si el cambio de uso de suelo de bosque a pastizal afecta la comunidad microbiana. Los experimentos se realizaron en la Estación Biológica de Chamela Jalisco (México) donde se colectaron cuatro muestras de termitas en parcelas con diferente estadio sucesional (maduro, avanzado, joven e inicial). Las muestras fueron secuenciadas amplificando la región V3 – V4 del gen ribosomal 16S en una placa MiSeq a través de la plataforma Illumina. Los resultados de los análisis de diversidad alfa de microorganismos basados en el índice de Shannon e índice de equitatividad indicaron que los estadios sucesionales joven e inicial presentaron menores valores diversidad comparados con el estadio avanzado y el maduro, sin embargo, las diferencias estadísticamente significativas se observan solo entre el estadio maduro y el inicial. Los análisis de diversidad beta basados en composición taxonómica (DCA) no mostraron cambios claros en la composición de la comunidad microbiana, sin embargo, se observó una separación que indica cambios en la estructura y composición de la comunidad procariótica entre los primeros estadios sucesionales y los estadios sucesionales finales. Estos resultados indican que el cambio de uso de suelo tiene un efecto negativo sobre la comunidad procariótica del tracto digestivo de *N. nigriceps*, pero que esta comunidad se reestablece en los estadios sucesionales avanzados posiblemente por los cambios de vegetación asociados al proceso de sucesión secundaria del bosque. Las Proteobacterias, Actinobacterias y Firmicutes mostraron mayor abundancia relativa en los estadios sucesionales iniciales y los grupos que disminuyeron drásticamente en estos estadios sucesionales fueron Fibrobacteres y Espiroquetas, grupos procarióticos que participan activamente en la descomposición de lignocelulosa y fijación de nitrógeno tanto en simbiosis como en vida libre. La fijación de nitrógeno y descomposición de materia orgánica son esenciales para el funcionamiento de los ecosistemas y mantenimiento de la biodiversidad, por lo cual es necesario considerar los resultados de estudios como el presente en planes de conservación y manejo de los ecosistemas.

Abstract

The termites *Nasutitermes nigriceps* (Blattodea: Termitoidae), are important insects in tropical ecosystems, due to the functions of fixation and mineralization of C and N, as well as the decomposition of organic matter, ecological recycling. The functions that this group provides in ecosystems have been interrupted by anthropic activities in recent years, one of these causes has been deforestation and land use change. Given this scenario, the objective of this study was to evaluate changes in the abundance, diversity and composition of the prokaryotic community associated with the P3 segment of the digestive tract of termites through a successional gradient. The experiments were carried out at the Biological Station of Chamela Jalisco (Mexico) where four termite samples were collected in plots with different successional stages (mature, advanced, young and initial). The samples were sequenced by amplifying the V3 - V4 region of the 16S ribosomal gene on a MiSeq plate using the Illumina platform. The results of alpha diversity analyses of microorganisms based on Shannon index and equitability index indicated that the young and early successional stages presented lower diversity values compared to the advanced and mature stages, however, statistically significant differences were observed only between the mature and early stages. Beta diversity analyses based on taxonomic composition (DCA) showed no clear changes in microbial community composition, however, a separation was observed indicating changes in prokaryotic community structure and composition between the early successional and late successional stages. These results indicate that land use change has a negative effect on the prokaryotic community of the digestive tract of *N. nigricipes*, but that this community is reestablished in the advanced successional stages possibly due to vegetation changes associated with the process of sequential succession of the forest. Proteobacteria, Actinobacteria and Firmicutes showed higher relative abundance in the initial successional stages, and the groups that drastically decreased in these successional stages were Fibrobacteres and Spirochaetes, prokaryotic groups that actively participate in the decomposition of lignocellulose and nitrogen fixation both in symbiosis and in free life. Nitrogen fixation and decomposition of organic matter are essential for the functioning of ecosystems and maintenance of biodiversity, for which it is necessary to consider the results of studies such as the present one in conservation plans and management of ecosystems.

1. INTRODUCCIÓN

Las termitas (Blattodea: Termitoidae) son uno de los grupos más importantes en los ecosistemas tropicales y subtropicales, ya que representan entre el 60-95% de la biomasa total de la macrofauna del suelo en los ecosistemas tropicales (Donovan et al. 2007). Este grupo de insectos juega un papel fundamental en los procesos ecosistémicos como la descomposición de materia orgánica, reciclaje ecológico, mineralización de C, fijación de N, así como la modificación de las propiedades del suelo; funciones que permiten reconocer su papel clave como ingenieros del ecosistema (Donovan et al. 2007, Dahlsjo et al. 2014).

Las termitas han desarrollado estrategias ecológicas que han derivado en adaptaciones fisiológicas que les permiten interactuar en simbiosis con otros organismos. Las relaciones simbióticas que presentan son de tipo transitorio u obligado (Lo et al. 2011 en Bignell et al. 2011). Gran parte de las funciones que las termitas desempeñan en los ecosistemas tropicales están determinadas por simbiontes intestinales que incluyen tanto a protistas del tipo flagelados como bacterias y hongos. En términos evolutivos, las termitas filogenéticamente basales tienen un tracto digestivo simple y una asociación estrecha con flagelados y una bacteria (*Blattabacterium* spp.). A diferencia de lo anterior, las termitas filogenéticamente derivadas presentan un sistema digestivo complejo y muy modificado con asociaciones simbióticas exclusivas con procariotas asociadas con el consumo de madera y materia orgánica del suelo (Brune y Ohkuma, 2011).

El tracto digestivo de termitas es considerado un microhábitat y la diversidad en su microbiota simbiótica está determinada principalmente por la afiliación filogenética de la especie de termita (Brune y Dietrich, 2015; Colman et al. 2012). Sin embargo, una porción importante de la microbiota intestinal puede presentar cambios como consecuencia de la interacción de las termitas con el ambiente, específicamente con cambios en el forrajeo y cambios de dieta de las termitas (Lo y Eggleton, 2011). Lo anterior podría indicar que las comunidades de la microbiota intestinal de termitas pueden ser afectadas por alteraciones en el hábitat, como son el cambio de uso de suelo y procesos de deforestación, que desafortunadamente se presentan en tasas cada vez más alarmantes a nivel mundial.

Los efectos de las perturbaciones antropogénicas sobre la diversidad de insectos se han estudiado ampliamente (DeFries et al. 2004; Newbold et al. 2015). Sin embargo, se sabe poco sobre los cambios de la microbiota entre las especies huésped y su respuesta a las perturbaciones antropogénicas (Cariveau et al. 2014).

Estudios recientes que evaluaron las consecuencias del cambio climático en simbioses de insectos, señalan que los cambios de temperatura están asociados a la pérdida de algunos simbioses (Prado et al. 2010; Kikuchi et al. 2016), y que el cambio en la vegetación asociada al uso de suelo con fines agrícolas afecta la microbiota de las abejas melíferas con consecuencias directas sobre la salud y sobrevivencia a patógenos de estos insectos (Zheng et al. 2017).

En las termitas, cada grupo de simbioses intestinales desempeña funciones metabólicas específicas (e.g. las Espiroquetas realizan la degradación de fibras, los Fibrobacteres la degradación de celulosa, los Clostridiales y Bacteroidetes consumen humus y tierra; (Hongoh et al. 2005; Mikaelyan et al. 2017). Por lo anterior, es posible que los cambios en las comunidades microbianas intestinales puedan verse reflejados a través de una cronosecuencia, por lo que evaluar el efecto del cambio de uso de suelo en la microbiota intestinal de termitas es de vital importancia ante un escenario de cambio global. Sin embargo, no existen estudios que analicen los cambios en la abundancia y estructura de la comunidad de bacterias en el tracto digestivo de termitas, que se encuentran inmersas en un proceso de regeneración sucesional.

Por lo anterior, en el presente proyecto se evaluó el cambio en la microbiota del tracto digestivo de las termitas *Nasutitermes nigricipes* (Nasutitermitinae) colectadas en parcelas con diferente tiempo de abandono en el bosque tropical seco en la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala. El género *Nasutitermes* pertenece al grupo de Ciores y representa uno de los géneros más abundantes de la familia Termitidae. Las termitas de este género poseen hábitos arbóreos y son un grupo extremadamente diverso y heterogéneo en términos biogeográficos y morfológicos (Boulogne et al. 2016), por lo que representan un excelente modelo de estudio. Aunado a lo anterior, existe un análisis metagenómico previo del tracto digestivo en este género (Warnecke et al. 2007) que provee una línea de información base para comparar la microbiota intestinal de especies del mismo género.

2. ANTECEDENTES

2.1 Deforestación y cambio de uso de suelo de los bosques tropicales secos

La deforestación puede ser ocasionada de forma intencional por las actividades antrópicas o fenómenos naturales como los huracanes. Dentro de las actividades provocadas por el hombre está el cambio de uso de suelo en áreas que han sido deforestadas previamente, este cambio es variable y busca satisfacer necesidades de consumo humano, por lo que en general está asociado con el uso de tierra agrícola y ganadería. Es por ello que el cambio climático y el uso de suelo se reconocen como los principales impulsores del cambio global para los suelos de los bosques tropicales secos (Jaramillo, 2019).

En la actualidad se sabe que más del 50% de los bosques tropicales han sido convertidos a otros usos de tierra a nivel mundial (Neef, 2020). En el caso de América del Norte y Central, el 72 % de los bosques se han convertido a usos urbanos y agrícolas y sólo 804 km² (0.4%) se beneficia de algún tipo de protección (Portillo-Quintero Sánchez-Azofeifa, 2010). Debido a la deforestación generalizada y a la conversión de bosques del planeta para la agricultura, solo el 44% de estos bosques se mantiene en comparación con las estimaciones de cobertura del año 1900 (Hurt et al. 2011) que comprende un área estimada de entre 1,048,700 km² (Miles et al. 2006) y 1,079,000 km² (Bastin et al. 2017), aunque todavía existe un grado de incertidumbre con respecto a esta reciente estimación (Schepaschenko et al. 2017).

En el caso de México, un estudio en el año 2000 reveló que sólo el 27% de la cobertura de bosque tropical seco permaneció prístina en 1990, y que a nivel local se perdió cerca del 60% de la vegetación original y sólo el 19% permanecía hasta ese entonces en una condición boscosa (Trejo y Dirzo, 2000). La pérdida del bosque tropical seco de Chamela en el municipio de la Huerta Jalisco registró una pérdida de 16 ha de bosque inicial, lo que representó el 98% de su pérdida total de bosque inicial en el municipio durante este período (GWF 2020). La cobertura más densa de BTS ocurre en regiones de América del Sur y la península de Yucatán en México con cantidades variables de cobertura forestal en otros lugares (Fig. 1).

Distribución de BTS

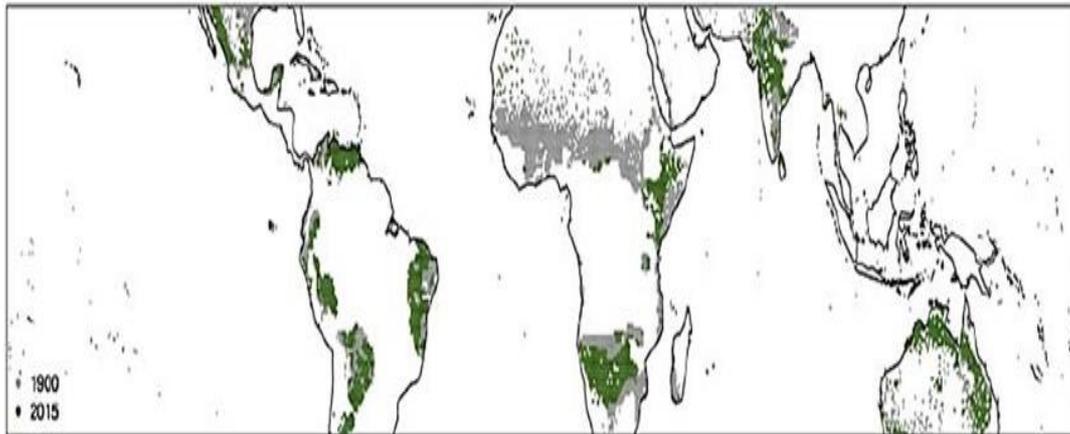


Figura 1. Distribución del bosque tropical seco en los años 2015 (verde) y 1900 (gris); los mapas incluyen tanto tropical seco bosques y bosques secos, siguiendo la distribución de Bastin et al. 2017. Modificado del original en inglés y tomado de Jaramillo y Murray-Tortarol, 2019.

En un estudio reciente, el 60% de los cambios en cobertura de la tierra se atribuye a actividades humanas directas, donde el área de pérdida neta de copas de árboles más grande ocurre en el BTS, seguido del bosque tropical caducifolio húmedo (Song et al. 2018). En una extensa revisión de la ecología de BTS, se identificó una preferencia humana por los lugares donde existen BTS y se sugirieron razones ecológicas para tales preferencias (Murphy y Lugo, 1986). Por lo tanto, la explotación humana de BTS es más alta que otros bosques tropicales e incluye obtención de leña, prácticas de tala y quema para agricultura, pastoreo y extracción de tallos delgados como estacas de soporte de plantas para cultivos, por ejemplo, para proporcionar apoyo a los tomates (Rendón-Carmona et al. 2009). Finalmente, el abandono de la tierra que se utiliza con fines agrícolas ha dado como resultado un mosaico de bosques secundarios, en diferente estadio sucesional en todo el mundo, los cuales podrían o no ser restaurados desde sus propiedades y funciones del suelo (Powers y Marin-Spiotta, 2017).

2.2 Sucesión ecológica

La sucesión ecológica ocurre después de alguna perturbación. Se reconocen dos tipos de sucesión: primaria y secundaria. La sucesión primaria consiste en el proceso que involucra el desarrollo de un ecosistema en superficies áridas donde se han producido graves perturbaciones

o ha sido eliminada la mayoría de los vestigios de la actividad biológica (Walker y Del Moran, 2003). La sucesión secundaria hace referencia a la recuperación de un ecosistema después de que ha sido destruido parcialmente. Esa recuperación se ve reflejada en cambios en la estructura de la comunidad en un tiempo determinado (Chang y Turner, 2019). Dentro de los ejemplos de sucesión secundaria encontramos tierras agrícolas abandonadas o el restablecimiento de la vegetación después de talas, incendios, huracanes y tormentas (Prach y Walker, 2011).

En cuanto a la sucesión secundaria en bosques tropicales secos después de una perturbación, se activan ciertos mecanismos de regeneración que puede estar sujeta a tres mecanismos que son tolerancia, inhibición y facilitación propuestos por Connell y Slatyer (1977), los cuales explican el reemplazo de especies a través de la sucesión. Otros factores que intervienen en la recuperación de un ecosistema son los eventos aleatorios, como fuertes sequías o lluvias intensas, que tienen efectos sobre los sitios donde se desarrolla la sucesión, además de otros factores involucrados (e.g. historia de uso del suelo, disponibilidad de especies, recambio de especies) determinaran hasta cierto punto la regeneración de la comunidad. Lo anterior podría incluso considerarse un filtro ambiental de acuerdo a la “teoría de las reglas de ensamblaje” dando así forma a la estructura y las trayectorias de las comunidades vegetales a través del recambio sucesional (Diamond 1975, Hobbs y Norton, 2004).

En general, los cambios sucesionales a lo largo del tiempo muestran que la composición de especies es diferente entre los estadios sucesionales iniciales y finales, sin embargo, la complejidad del paisaje, así como la diversidad de especies es mayor en los estadios sucesionales avanzados (Falcão et al.2018). En este sentido la alta diversidad en los estadios sucesionales avanzados puede llegar a ser alta debido a la heterogeneidad ambiental Ricklefs (1977), ya que al estar justamente en medio entre los estadios sucesionales iniciales y maduros, las especies adaptadas a estos dos estadios sucesionales convergen y la diversidad de especies aumenta (Kalacska et al.2004, Almazán-Núñez et al.2012) (Fig. 2). Sin embargo, la recuperación de los bosques tropicales se puede ver frenada por el efecto de dominancia de algunas especies (e.g pastizales), en los cuales la diversidad y las funciones ecosistémicas se ven amenazadas, ya que se interrumpe el proceso natural de sucesión (Nepstad et al. 1990, Aide y Cavelier, 1994, Sarmiento,1997).

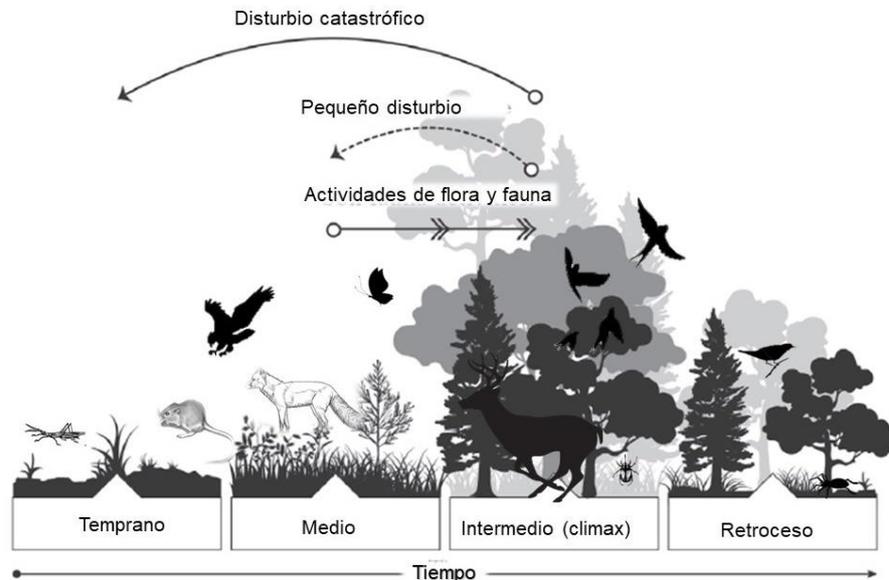


Figura 2. Diagrama simplificado que ilustra los patrones sucesionales en los ensamblajes de plantas y animales a través del tiempo. Modificado de Nielsen, ONU (2019).

Así mismo, la recuperación de un sitio, no sólo depende del desarrollo aislado de estos factores y mecanismos; las rutas que puede seguir la recuperación de una comunidad, o de un ecosistema pueden ser variadas, así como los factores y los mecanismos que intervienen en su recuperación (Gleason, 1926). Entonces, la regeneración de un sitio no solamente dependerá del tipo de disturbio inicial, sino también de la vegetación original en el sitio y de los factores físico- ambientales (e.g. suelo, topografía, matriz del paisaje), entre otros factores propios de los sitios. Considerando todo lo anterior, las vertientes que puede tomar el desarrollo sucesional de un sitio se vuelven más complejas y diversas (Heil, 2004).

En el caso de los bosques tropicales secos los factores que intervienen directamente en la regeneración natural son la disponibilidad de agua en el suelo (recurso limitante) y la radiación solar (McLaren y McDonald, 2003, Ceccon et al. 2006, Vieira et al. 2006, Lebrija-Trejos et al. 2010^a) que originan ambientes con estrés hídrico, dadas las altas tasas de evapotranspiración (Camargo y Kapos, 1995). Estos factores influyen de manera directa en los mecanismos de regeneración que existen en los bosques tropicales secos, para los cuales la formación de rebrotes es el mecanismo más importante y no el reclutamiento de plántulas a partir de semillas (Ceccon et al. 2003, Ceccon et al. 2006, Vieira et al. 2006). Además, es posible que la formación de rebrotes sea más importante en sitios perturbados, en donde los grandes claros ocasionan una mayor radiación y altas temperaturas provocando una baja disponibilidad de agua en el suelo, lo cual limita la regeneración a partir de las semillas (Lebrija-Trejos et al. 2011). El establecimiento de plántulas requiere de ciertas exigencias ambientales (e.g

condiciones de luz, temperatura, nutrientes y humedad del suelo) además de la generación de sus propias fuentes de energía (e.g. la fotosíntesis) (Knox y Clarke 2005, Vieira y Scariot 2006). Mientras que en la formación de rebrotes depende de los recursos almacenados en el tallo y raíces de las plantas, en el vestigio de la planta madre (Grime 1979, Hoffmann 1998). Además, de los requerimientos ambientales la germinación y el establecimiento de plántulas dependen fuertemente de la época de lluvias (Bullock 1995, Ceccon et al.2006, Vieira y Scariot 2006). Estudios realizados en la estación de biología en Chamela, Jalisco sugieren que aun cuando la presencia de semillas de especies herbáceas es importante en los bosques maduros, no se han registrado especies (herbáceas, arbustivas o arbóreas) que estuviesen en el banco de semillas a lo largo de la cronosecuencia (Miller, 1999); Maza- Villalobos, 2011, Martínez-Ramos et al. 2021).

Los mecanismos de regeneración propuestos por Connell y Slatyer (1977), pueden aplicarse a sitios que se encuentran en diferente estadio sucesional en un bosque tropical caducifolio, se sugiere que el ensamblaje de comunidades de arbustos y árboles a lo largo de la sucesión es el resultado de una combinación de procesos de filtrado abiótico, que operan principalmente en plántulas (seleccionando principalmente especies leguminosas tolerantes a la sequía), y procesos de filtrado biótico, que operan principalmente en rebrotes (Martínez-Ramos et al.2021).

En el bosque tropical seco de Chamela es posible distinguir tres especies de plantas tolerantes a condiciones hídricas estresantes. Estos grupos pueden ser análogos a los que se encuentran en los bosques tropicales húmedos (Denslow, 1987 en Maza-Villalobos, 2012). Los grupos que se identifican son: 1) especies con un nivel de tolerancia alto; presentes al inicio de la sucesión (e.g *M.arenosa*, *Mimosa acantholoba*, *Piptadenia flava*, 2) especies con un nivel de tolerancia intermedio, con presencia a lo largo de toda la sucesión (e.g *Coccoloba liebmanii*, *Jacquinia pungens*, *Zapoteca formosa*), y 3) especies con nivel de tolerancia cero, presentes en los estadios sucesionales avanzados (e.g *Spondias purpurea L.*, *Apoplanesia paniculata*, *Jacaratia mexicana*) (Camargo-Ricalde et al.2004, Maza-Villalobos, 2012).

En este mismo sitio se pueden observar ejemplos que desencadenan el mecanismo de facilitación durante la regeneración de los sitios que se encuentran en diferentes estadios sucesionales, como es el caso de la dispersión de semillas; las cuales pueden proceder de semillas que se producen por plantas foráneas, encontradas en vegetación aledaña (matriz), que llegan al sitio por medio de agentes de dispersión a través de viento (entre el 33 y 63 %) o a través de sus propios mecanismos de dispersión, y solo una pequeña fracción es dispersada por

animales (Justiniano y Fredericksen, 2000). Sin embargo, este tipo de actividades tienen un perfil de recambio, ya que conforme avanza el tiempo en la sucesión son distintos los agentes de dispersión, se sabe por ejemplo que la actividad de murciélagos y aves que dispersan semillas, aumenta con forma a la edad sucesional, sobre todo después de los primeros cinco años de abandono (Ávila-Cabadilla et al. 2009).

Existen otros casos en este tipo de ecosistemas del bosque seco donde habitan grupos (e.g orugas) particularmente sensibles a los cambios en la estructura de la vegetación, ya que requieren de condiciones específicas para poder completar sus ciclos de vida (e.g disponibilidad del hospedador, calidad de la planta, microclima). Estas condiciones suelen ser estables en los bosques tropicales húmedos, no así en los bosques tropicales secos, por lo tanto, estas especies deben adaptarse a condiciones extremas, adaptándose al mecanismo de tolerancia (Connell y Slatyer, 1977), y como condición extra, a los sitios que presentan algún tipo de disturbio. Con respecto a lo anterior al parecer las orugas pueden persistir a través de cronosecuencias de 8 años, que abarcan los bosques primarios y secundarios, de ahí la importancia de conservar estos sitios (Boege et al. 2019).

En otros estudios también se han encontrado cambios en la composición comunitaria de la microbiota entre las etapas sucesionales tempranas y finales en diversos hábitats, incluyendo desiertos, dunas y diferentes bosques que han sido convertidos en plantaciones agrícolas o praderas, se ha registrado una menor diversidad en las etapas sucesionales tempranas que en las tardías (Yeager et al. 2004, Ahman et al. 2013, Williams et al. 2013, Lozano et al. 2014, Guo et al. 2016). Esto indica que los factores y mecanismos que operan en el proceso de sucesión microbiana podrían ser los mismos que los que operan en otros taxones biológicos como los animales y las plantas (Zhou et al. 2017).

2.3 Diversidad y evolución de termitas

Las termitas son consideradas insectos sociales debido a que mantienen una división compleja de labores dentro de las colonias, donde cada uno de los individuos está organizado en castas reproductivas (reinas, reyes y alados), obreros y soldados (Roisin, 2000; Eggleton y Tayasu, 2001; Eggleton et al. 2011). Las termitas mantienen una estrecha relación con las cucarachas, ya que comparten un ancestro común llamado *Cryptocercus*. Anteriormente las termitas se clasificaban en el orden Isoptera dentro del grupo Dytioptera, que incluía a las cucarachas (Blattaria) y a las mantis religiosas (Mantodea) (Eggleton y Tayasu, 2001; Inward et al. 2007). Sin embargo, estudios taxonómicos y sistemáticos recientes demostraron que las termitas y las

cucarachas constituyen un solo orden denominado Blattodea (Evangelista et al. 2019) en el cual las termitas se clasifican en el grupo taxonómico Termitoidea (Cristaldo et al.2015).

A la fecha se han descrito aproximadamente 2600 especies de termitas (Kambhampati y Eggleton, 2000). Sin embargo, se sabe que aún faltan por describir de 200 - 500 especies según la más reciente clasificación (Engel et al. 2009). Dentro de las siete familias que se reconocen en Termitoidea se encuentran las familias: Mastotermitidae, una familia de la cual sobrevive sólo una especie *Mastotermes darwiniensis* y que tuvo una distribución mundial hasta hace algunos pocos millones de años (Wang et al. 2016); Stolotermitidae con 14 especies; Hodotermitidae con 40 especies; Archotermopsidae con 12 especies; Kalotermitidae con 544 especies; Serritermitidae con 3 especies distribuidas en África y Sudamérica; Rhinotermitidae con 364 especies de hábitos generalmente subterráneos (GBIF Secretariat,2019); y Termitidae. De estas familias, Termitidae representa la familia más diversa con 1,900 especies de las 2,600 especies descritas (Nickle y Collins, 1992).

La evolución de las termitas de insectos omnívoros a consumidores de compuestos celulósicos, ocurrió hace aproximadamente 150 millones de años y estuvo asociada a cambios en el tracto digestivo, incluyendo la adquisición de protistas de tipo flagelado en termitas filogenéticamente basales: Mastotermitidae, Stolotermitidae, Hodotermitidae, Archotermopsidae, Kalotermitidae, Serritermitidae y Rhinotermitidae (Brune y Dietrich, 2015). Los protistas de tipo flagelado simbioses de termitas basales, han tenido un papel coevolutivo clave durante la degradación de materia orgánica asociada a madera, sin embargo, esta asociación cambió con la aparición de termitas filogenéticamente derivadas hace aproximadamente 50 millones de años, y dio lugar a una microbiota enteramente de tipo procariota asociada a termitas de la familia Termitidae (Brune y Ohkuma, 2011; Bourguignon et al.2015).

La familia Termitidae está conformada por termitas de tipo apical. Este taxón representa el 85% de todos los géneros de termitas (Krishna et al. 2013) y exhibe cambios evolutivos que permitieron su diversificación como grupo en muchos aspectos que incluyen: tipos de dieta, distribución y la diversidad de comunidades que habitan el interior de los compartimentos del tracto digestivo posterior de estos insectos (Brune y Dietrich, 2015). Esta familia comprende un grupo monofilético relativamente reciente en el Mioceno (Engel et al. 2009) y se compone por las subfamilias: Macrotermitinae, Sphaerotermitinae, Apicotermitinae, Syntermitinae, Termitinae y Nasutitermitinae, que presentan una amplia distribución en los ecosistemas tropicales del mundo (Bignell, 2006).

2.4 Funciones ecológicas y servicios ecosistémicos de las termitas

La función ecológica principal que realizan las termitas es descomponer la materia orgánica asociada a madera (Bignell y Eggleton, 2000). Casi todas las especies de termitas, son descomponedores de materia vegetal (e.g. madera muerta, mantillo, pasto seco y sustratos de suelo), se clasifican en grupos funcionales que consumen materia orgánica en distintos grados de descomposición o humificación (Eggleton y Tayasu, 2001; Inward et al. 2007; Dahlsjo et al. 2014).

El papel de las termitas en la descomposición de la materia orgánica es importante en los ecosistemas tropicales, subtropicales, áridos y semiáridos (Wood y Sands 1978; Collins 1981; Breznak y Brune, 1994; Bignell y Eggleton, 2000). Las tasas de descomposición por termitas van desde la descomposición de materia orgánica leñosa producida, reportando tasas de descomposición de 27.8 - 30.8 g/ m², que representan hasta un 60% de la madera anual producida en algunos ecosistemas (Buxton, 1981; Collins, 1981; Schuurman et al. 2005). Asimismo, se estima que la mineralización de carbono por termitas en bosques tropicales secos corresponde al 11.2%, mientras que la tasa de fijación de nitrógeno por termitas y bacterias a simbióticas corresponde al 6.6 % (Yamada et al. 2008) (Tabla 1).

Tabla 1. Tasas de mineralización de carbono y nitrógeno por especies de termitas en ecosistemas tropicales.

Taxón	Mineralización de N (mg/g/kg)	Mineralización C (%)	Tipo de ecosistema	Fuente autores
<i>Amitermes laurensis</i> (Mjoberg)		4-10%	Semi-arido	Holt, 1987
Kalotermitidae Rhinotermitidae Termitidae/Termitinae Termes-Capritermes group Macrotermitinae Nasutitermitinae		11.20%	Bosque seco de hoja perenne	Yamada et al.,2005
Nasutitermitinae		8.30%	Bosques húmedos semi-caducifolios secundarios	Bignell et al. 1997; Eggleton et al. 1999
<i>Macrotermes malaccensis</i> <i>M.carbonarius</i> <i>Dicuspitermes nemorosus</i>		7.50%	Selva tropical de tierras bajas	Abey Matsumoto 1979
<i>Microcerotermes crassus</i> <i>Globitermes sulphureus</i>	0.21 0.28		Bosque caducifolio seco Bosque seco perenne	Yamada et al.,2006
<i>Ancistrotermes cavithorax</i> <i>Odontotermes n. pauperans</i>		11.30%	Tres tipos de savanas (herbáceas, arbustivas y leñosas).	Konaté et al., 2003
<i>Reticulitermes flavipes</i>	15-3 mg N log-1 día-1		Barrera de islas, lagunas costeras	Curtis y Waller, 1998
<i>Nasutitermes corniger</i>	0.25-1.0 mg /colonia/año		Bosque tropical, Costa Rica	Prestwich y Bentley, 1981

Además de su papel en la descomposición de materia orgánica, estudios recientes reportan funciones ecológicas adicionales para las termitas, por ejemplo, elaboración de bioestructuras (montículos, galerías, revestimientos), biogénesis, pedogénesis, transporte de sedimentos y materia orgánica, y su participación en el reciclaje ecológico (Mujinya et al. 2010; Jouquet et al. 2011; Lamoureux et al. 2012; Kristensen et al. 2015; Ali et al. et al. 2016; Jouquet et al. 2016; Kandasami et al. 2016). En estudios previos se ha reportado que la actividad de las termitas incrementa significativamente la disponibilidad de nutrientes como el P, Ca, K, N, Mg, Mn, Na y iones intercambiables en el suelo (Ackerman et al. 2007; Ernakovich et al. 2016; Schaefer et al. 2016; Lima et al. 2018; Mcauliffe et al. 2018; Myer et al. 2018), así como la concentración de nueve micronutrientes (B, Fe, Mn, Ni, Cu, Zn, Se, Mo y Cd) en termiteros (Sako et al. 2009). Otros estudios también reportan que la construcción de nidos aumenta la diversidad vegetal debido a un mayor reclutamiento de plántulas, lo anterior, debido a que los nidos de las termitas representan islas de fertilización con un mayor contenido de nutrientes que mejora la germinación y crecimiento de las plantas (Ackerman et al. 2007; Siebers et al. 2015; Kaiser et al. 2017; Nyirenda et al. 2019), modificando así el patrón de distribución de la vegetación (Sileshi et al. 2010; Muller et al. 2013).

En términos de procesos metabólicos las termitas desempeñan funciones como la descomposición o hidrólisis de lignocelulosa la cual se lleva a cabo mediante un proceso enzimático que requiere tanto de la participación de enzimas (celulasas, hemicelulasas, lacasas, etc) producidas por las termitas, como por los microorganismos intestinales que incluyen Spirochaetes, Bacteroidetes y Fibrobacteres principalmente (Tokuda et al. 2004; 2005; 2018; Tokuda y Watanabe, 2007; Warnecke et al. 2007; He et al. 2013, Sharon y Banfield, 2013; Kundú et al. 2019). Los genes procarióticos que codifican enzimas hidrolíticas involucradas en la degradación de celulosa y xilano que se han identificado a la fecha mediante análisis metagenómicos incluyen 45 familias diferentes de enzimas Glicosil Hidrolasas (GHF), nueve relacionados con celulasas (GHF1, GHF3, GHF5, GHF8, GHF9, GHF44, GHF45, GHF51 y GHF74), y por lo menos 3 familias relacionadas con xilanasas (GHF5, GHF10 y GHF11) (Warnecke et al. 2007). El metagenoma revela que los genomas de los Fibrobacteres codifican para diversos genes de celulasas y más genes de hemicelulasas que el número promedio en otras bacterias celulolíticas, y que el género *Treponema* comprende numerosos genes que codifican celulasas putativas que pertenecen a varias familias (Warnecke et al. 2007, He et al. 2013, Sharon y Banfield, 2013). De igual manera, la abundancia de genes clostridiales que codifican xilanasas en el metagenoma y el metatranscriptoma de una especie de termita

(*Amitermes wheeleri*), sugiere que los linajes clostridiales en las termitas que se alimentan del suelo juegan un papel importante en la digestión de polisacáridos residuales de lignocelulosa (He et al. 2013).

Por otro lado, la fijación de nitrógeno en insectos, proceso ecosistémico importante (Higashi et al. 1992, Nardi et al. 2002), es llevado a cabo exclusivamente por la microbiota intestinal, particularmente por algunas especies de Archaea, Spirochaetes (p.ej. *Treponema* spp.), Bacteroidetes y Proteobacterias de las familias Bradyrhizobiaceae, Hyphomicrobiaceae, Phyllobacteriaceae y Rhizobiaceae (Ohkuma, 1996, Ohkuma et al. 1999, Yamada et al., 2007, Warnecke et al. 2007, Lilburn, 2014, Sapountzis et al. 2016), algunos de los cuales, como el rizobio *Ensifer adherens* se han aislado del tracto digestivo de termitas (Frohlich et al. 2007).

La fijación de N₂ por el microbiota de termitas es llevada a cabo por el gen (*nifH*) que codifica la enzima nitrogenasa, la cual se utiliza como marcador de identificación para detectar la presencia de microbios fijadores de N₂ (Zehr et al. 2003). La diversidad de homólogos del gen *nifH*, es un indicador del potencial diazotrófico que existe en el microbiota del tracto digestivo de termitas (Noda et al. 1999; 2002, Yamada et al. 2007, Inoue et al. 2015). En las termitas inferiores, los simbiosomas de tipo flagelado parecen jugar un papel importante en la fijación y/o asimilación del nitrógeno (Desai y Brune 2012, Hongoh et al. 2009, Hongoh et al. 2008). En general, la diversidad de genes *nifH* se ha relacionado con la diversidad de la microbiota presente en el tracto digestivo de termitas (ej. Espiroquetas, Clostridios, Bacteroidetes y posiblemente Fibrobacteres) (Lilburn et al. 2002, Warnecke et al. 2007, Yamada et al. 2007, Hongoh et al. 2008), pero solo parece expresarse un subconjunto de estos homólogos (Noda et al. 1999, Desai y Brune, 2012). Las secuencias del gen *nifH* que se han obtenido del tracto digestivo de termitas forman varios grupos únicos y parálogos en el árbol filogenético de *nifH* (Noda et al. 1999; 2002, Ohkuma et al. 1999, Lilburn et al. 2001, Yamada et al. 2007).

2.5 Estructura general del tracto digestivo de termitas

Las termitas poseen un plan corporal básico que comparten con las cucarachas (Fig.3), que comprende un intestino anterior, un intestino medio y un intestino posterior. El intestino anterior transporta y procesa el alimento. El procesamiento del alimento comienza con la acción de las mandíbulas, que al ser fuertes y puntiagudas permiten procesar materiales tan duros como la madera, y partículas de suelo. Después de que el alimento es triturado en el proventrículo, este pasa al intestino medio donde es digerido por un sistema complejo de

enzimas secretadas por el intestino. Los productos de la digestión son reabsorbidos por el epitelio del intestino medio y el ciego gástrico. Los túbulos de malpighi funcionan como el sistema excretor y osmoregulador (Brune y Dietrich, 2015).

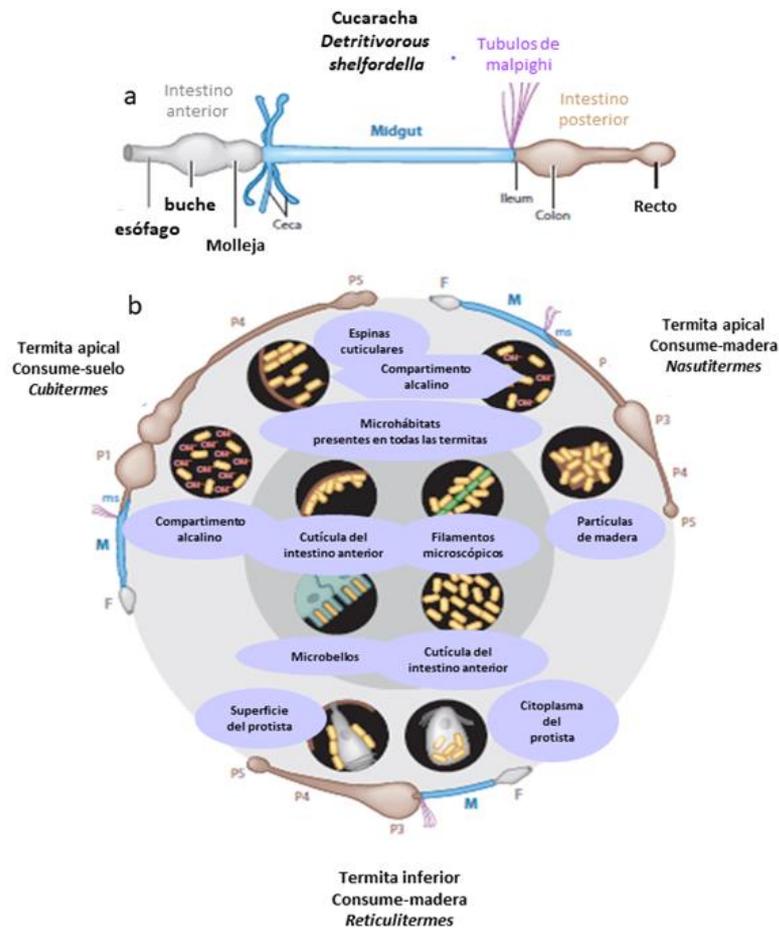


Figura 3. Anatomía del tracto digestivo de termitas y hábitats microbianos importantes en diferentes grupos de hospederos. (a) El plan básico del tracto digestivo diferenciado de una cucaracha. (b) Los tractos digestivos de las termitas se derivan del mismo plan básico, pero mientras que el intestino anterior (F) y el intestino medio (M) se reducen en relación con los de las cucarachas, el intestino posterior es cada vez más alargado y puede diferenciarse en un segmento mixto (ms) y varios compartimentos proctodeales (P1-P5), que proporcionar microhábitats adicionales para la colonización microbiana (modificada de Brune y Dietrich, 2015).

La presencia o ausencia de bacterias en el caso de las termitas superiores y de protistas del tipo flagelado en el caso de las termitas inferiores, parecen ser las únicas dos opciones para diferenciarlas, sin embargo, recientemente se ha demostrado que son varias características sumadas a esta principal las que distinguen a ambos tipos de termitas que involucran diferencias en la morfología y fisiología del tracto digestivo (Brune y Dietrich, 2015) (Fig. 4).

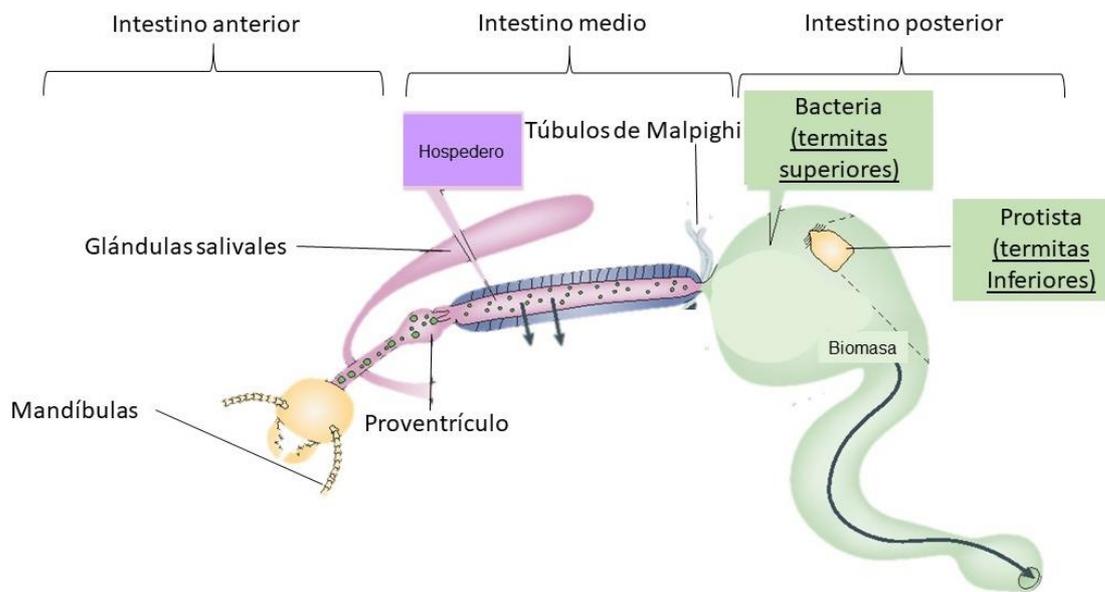


Figura 4. Estructura general de las termitas superiores e inferiores (Modificado de Brune, 2014).

Las características que se suman a la estructura general de una termita superior son además de la presencia de procariontas, la complejidad del intestino posterior el cual se compartimentaliza en diferentes segmentos (Fig. 5). En el caso del segmento P3 es un segmento mixto rico en condiciones ideales para albergar una mayor diversidad de microorganismos al interior de la termita, y finalmente el segmento P5 que también alberga una gran cantidad de microbiota intestinal, y participa en la eliminación de iones y agua que se liberan a través de la digestión en forma de heces (Eggleton, 2010).

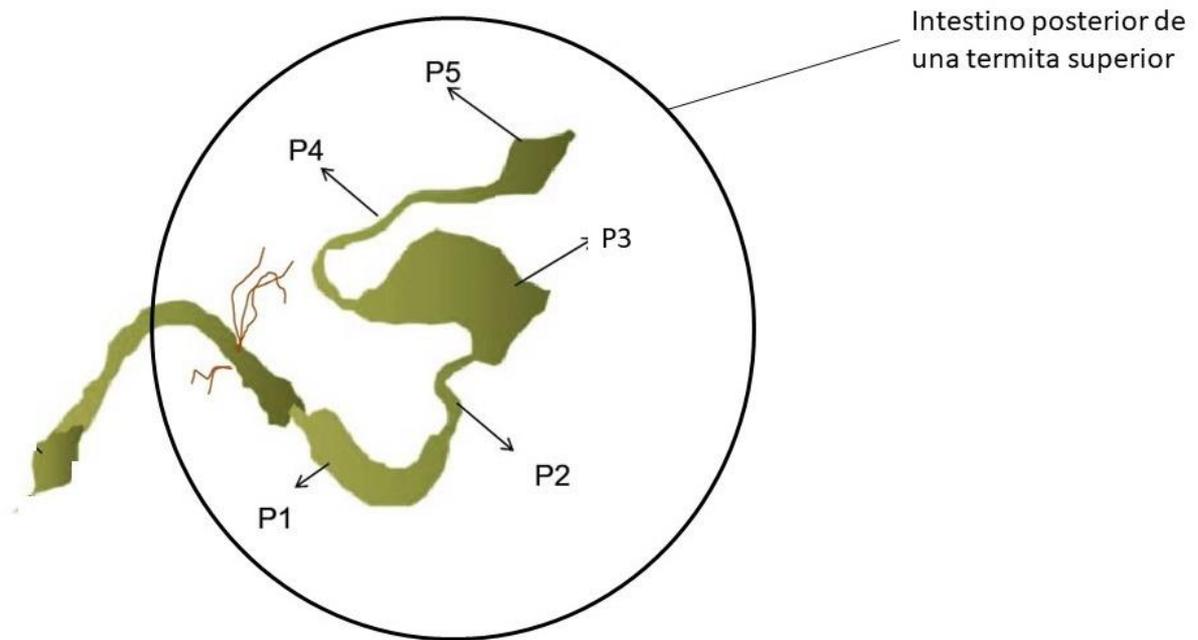


Figura 5. Intestino posterior de *Nasutitermes costalis* cada una de las secciones que consisten en: un P1= íleon, P2= válvula entérica, P3 y P4= colon, P3= segmento mixto P5= (Modificado de Sun y Zhou, 2013).

2.6 La dinámica al interior del tracto digestivo de termitas

El tracto digestivo posterior de las termitas ha evolucionado de un tipo de dieta basada exclusivamente en el consumo de suelo o de madera a diversificarse por completo, dando como resultado la modificación y diferenciación del proctodeo o intestino posterior (Brune y Dietrich, 2015). Los protistas de tipo flagelado han jugado un papel clave durante la degradación de lignocelulosa, y así han ayudado al éxito ecológico de las termitas filogenéticamente basales, sin embargo, estos microorganismos fueron sustituidos por una microbiota enteramente procariota, dando lugar a la aparición de las termitas de tipo apical hace aproximadamente 50 millones de años en el EocenoE (Brune y Ohkuma 2011, Bourguignon et al. 2015).

En décadas recientes el avance de la tecnología y de las técnicas analíticas como el uso de microinyectores y microsensors para estudiar el interior del tracto digestivo de termitas, han permitido conocer con mayor nitidez lo que ocurre en los segmentos al interior del tracto digestivo termitas principalmente de tipo arbóreo, cuyas actividades y procesos definen este sistema como un biorreactor (Ohkuma, 2002, Brune y Pester, 2005, Schramm, 2006). A partir

de estos estudios se conoce que cada sección del tracto digestivo posterior en termitas superiores representa un nicho, ya que presenta condiciones físico-químicas específicas, donde el hidrógeno es el principal intermediario durante la degradación de celulosa (Pester y Brune, 2007). Además, se han registrado gradientes en las concentraciones de oxígeno para cada sección del tracto digestivo, así como la cohabitación de microorganismos que lo requieren para realizar de sus funciones (Brune et al. 1995).

Debido a que cada sección del tracto digestivo de termitas presenta condiciones fisiológicas particulares, las funciones que realiza la microbiota de termitas se pueden en listar en las siguientes: metabolismo de carbohidratos, consumo de oxígeno como aceptor de electrones, metabolismo del N, la fijación de nitrógeno, hidrogenénesis, desmetilación, desacetilación y descarboxilación de polímeros aromáticos y humificación adicional de materia orgánica (Fig. 6).

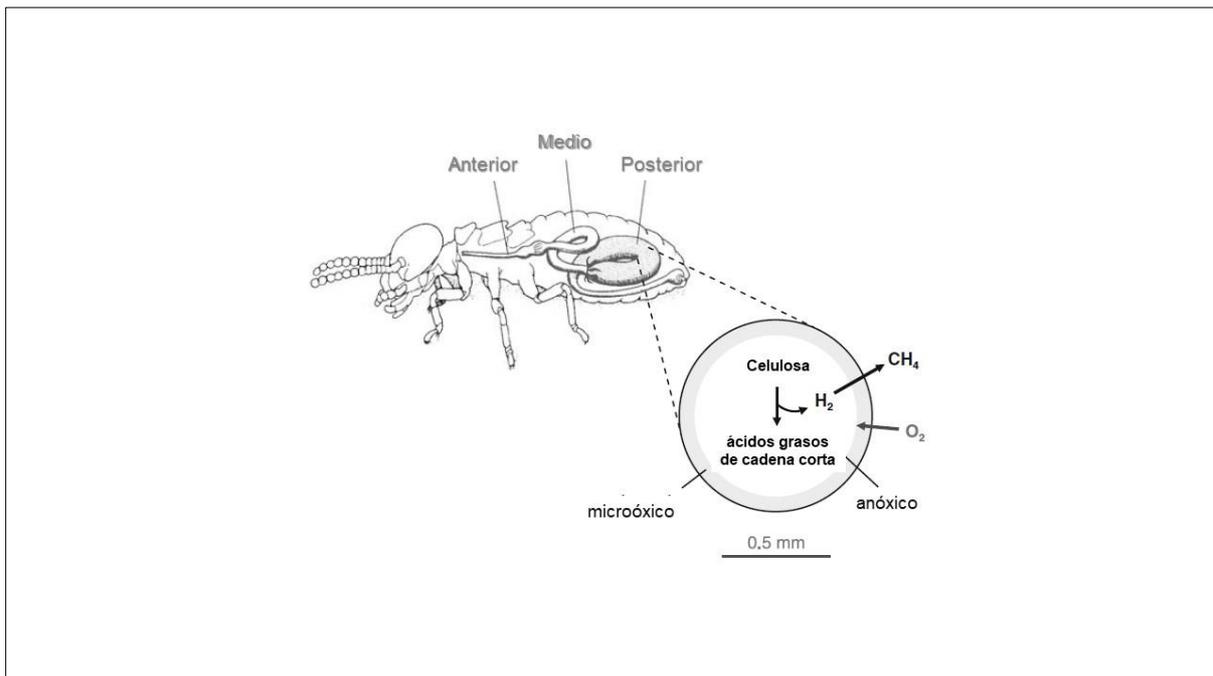


Figura 6. El intestino posterior de las termitas que se alimentan de madera es un biorreactor microbiano que fermenta la lignocelulosa a acetato y metano. Los productos de fermentación del microbiota intestinal anaerobia son las principales fuentes de carbono y energía para el huésped. Sin embargo, un intestino de termitas no es puramente anóxico-fermentador. La entrada constante de oxígeno a través del epitelio intestinal afecta fuertemente los procesos microbianos dentro del intestino (Brune y Ohkuma, 2010).

El proceso de digestión implica que los microorganismos ingeridos a través de la dieta sean retenidos en sustratos al interior del tracto digestivo. En el caso de las termitas filogenéticamente basales, la retención de flagelados resulta más sencilla dado el tamaño de estos organismos. Sin embargo, para los hospederos procariotas permanecer dentro del tracto digestivo resulta más complicado. En el caso de las termitas arbóreas, los microorganismos se adhieren a las fibras de madera, y dado que el proceso de digestión es más lento, las bacterias se mantienen adheridas a las fibras (Eggleton, 2011).

En el caso particular de la estructura del tracto digestivo de la familia Termitidae: la sección P1 generalmente presenta una alta alcalinidad (Bignell y Eggleton, 1995, Brune y Kuhl, 1996) con periodos anóxicos, a pesar de un suministro continuo de oxígeno a través del epitelio intestinal (Kappler y Brune, 1999). El P2 o válvula entérica es el sitio de transición donde disminuye el pH (Sands, 1988, Brune 1995). El P3 corresponde la región mixta en las termitas superiores presenta condiciones con baja alcalinidad, y con un mayor contenido de microbiota, además de una alta tasa de consumo de oxígeno; se sabe que en el caso de *Nasutitermes corniger* el 45% de la actividad de celulasas se concentra en esta región (Kappler y Brune, 1999, Mikaelyan et al. 2014). Actualmente, se sabe que para el género *Nasutitermes*, la biomasa microbiana que habita en esta sección se encuentra fuertemente asociada a las fibras de madera, que son un consumo exclusivo de este grupo de termitas (Mikaelyan et al. 2014). Entre el P3 y P4 se encuentra una atmósfera con una alta producción de hidrógeno, es aquí donde ocurre la metanogénesis y la acetogénesis, el acetato que se genera ayuda a la conservación de energía, ésta es reabsorbida por el huésped y se restaura el equilibrio redox general (Brune, 2006). El último segmento P5, corresponde al recto (Noroit, 2001).

2.7 Composición de los grupos bacterianos en termitas arbóreas

Las termitas arbóreas que corresponden a la familia Termitidae, se clasifican en bacterias de tipo transitorio, obligado y facultativo (Nalepa, 2001). De tal manera que posterior a los estudios que han analizado la estructura de la microbiota en los compartimentos del tracto digestivo de estas termitas, han surgido nuevas investigaciones que buscan explicar el papel funcional de los linajes microbianos a nivel individual durante la digestión simbiótica.

Las tecnologías de secuenciación de última generación para estudiar la diversidad microbiana en insectos han utilizado marcadores moleculares (e.g. rRNA 16S) (Dietrich et al. 2014, Otani

et al. 2014, Rahman et al. 2015). En algunos casos se estudia la comunidad completa, es decir el metagenoma, en otros casos se estudian fracciones de la comunidad utilizando primers específicos lo cual permite entender situaciones que responden a cuestiones complejas y particulares que incluyen identificar a grupos dentro de una misma especie (e.g por distribución geográfica y hábitos alimenticios) (Lefebvre et al. 2009).

La investigación de Warnecke et al. (2007) figura entre las primeras investigaciones que realizaron un análisis metagenómico para conocer la diversidad de la microbiota asociada al tracto digestivo de *Nasutitermes*. En este trabajo se concentraron en estudiar el segmento P3, el cual estaba dominado por diversas especies de *Treponema* (Spirochaetes) y Fibrobacteres. Así mismo encontraron que muchos de los genes provenientes de estos grupos de bacterias expresaban actividades de celulasas en los ensayos *in vitro*, todo ello relacionado con la degradación de la lignocelulosa intestinal. Este estudio además proporcionó nuevos conocimientos como el metabolismo de H₂, la acetogénesis reductora de CO₂ y la fijación de N₂, todos estos procesos contenidos en 1 mL de contenido luminal.

En general, varios análisis metagenómicos realizados han permitido conocer la composición de la microbiota en termitas de tipo arbóreo, conocer principalmente a las bacterias no cultivables, especialmente utilizando las regiones hipervariables V3-V4 del gen ribosomal 16S, donde se ha registrado que los principales grupos de bacterias dominantes son Espiroquetas, Fibrobacteres, Firmicutes, Proteobacterias, y Bacteroidetes (Köhler et al. 2012; Hussin et al. 2018). En estos estudios, se han encontrado diversos grupos que participan activamente en la degradación de lignocelulosa, así mismo se sabe que las bacterias que participan en estas actividades se encuentran en las siguientes proporciones: Espiroquetas (77.23%), seguido por Firmicutes (4.3%), Fibrobacteres (3.98%), Bacteroidetes (2.63%), y Candidato_phylum_TG3 (2.31%) de (He et al. 2013; Liu et al. 2019).

Las termitas de la familia Termitidae han diversificado su distribución, así como las rutas metabólicas de degradación de compuestos, es decir no se concentran únicamente en la degradación de celulosa, sino que también participan en la degradación de otros compuestos orgánicos, los cuales pueden estar asociados a un tipo de bacteria en particular, por ejemplo en las termitas consumidoras de mantillo *Cornitermes cumulans* y *Syntermes dirus* (Syntermitinae), el filo de bacterias más abundante fue Firmicutes; en termitas consumidoras de humus como *Cyrlilotermes strictinasus* (Syntermitinae), *Grigiotermes bequaerti* (Apicotermitinae), y *Orthognathotermes mirim* (Termitinae) el filo más abundante fue

Proteobacteria; mientras que en las especies consumidoras de madera como *Nasutitermes aquilinus* y *Nasutitermes jaraguae* (Nasutitermitinae), Firmicutes y Spirochaetes fueron los filos más abundantes (Grieco et al. 2019).

Otros estudios también han reportado que la abundancia relativa y el porcentaje de bacterias dominantes cambia de acuerdo a los hábitos de forrajeo de termitas superiores. A continuación, se mencionan el tipo de termita el porcentaje de dominancia de bacterias (Tabla 2).

Tabla 2. Abundancias relativas de la microbiota presente en el segmento P3 de especies de termitas bajo diferentes tipos de dieta.

<i>Microbiota asociada a la sección P3</i>	Madera		Mantillo	Humus	
	<i>Microcerotermes parvus</i>	<i>Nasutitermes corniger</i>	<i>Cornitermes sp.</i>	<i>Neocapritermes taracua</i>	<i>Termes hospes</i>
<i>Actinobacteria</i>	2.49	0.6	0.83	2.82	0.88
<i>Bacteroidetes</i>	4.41	4.33	7.25	14.44	11.95
<i>Fibrobacteres</i>	8.86	13.59	1.24	0.04	0.09
<i>Firmicutes</i>	3.41	4.54	16.2	47.16	40.23
<i>Proteobacteria</i>	2.78	2.5	3.99	8.22	12.05
<i>Espiroquetas</i>	70.24	66.22	54.82	16.65	21.92
<i>Filo TG3</i>	5.81	6.02	11.61	0.09	0.14

Información tomada de Rossmassler et al. 2015.

El grupo de bacterias TG3 ha sido de particular interés desde su descubrimiento. La mayoría de las bacterias que residen en el tracto digestivo de termitas son bacterias no cultivables, en su mayoría desconocidas, que han sido asignadas a filos nombrados como “Termite Group” (TG); TG1, TG2 y TG3 (Ohkuma y Kudo, 1996, Hongoh et al. 2003a, 2005, 2006^a, Yang et al. 2005). Las bacterias del tipo TG1 son particularmente abundantes en termitas basales, y en cuanto a las que corresponden al filo TG3 son abundantes en termitas de hábitos arbóreos, donde cada uno puede representar más del 10% de las células bacterianas dentro del tracto digestivo de termitas (Eggleton et al. 2011).

Finalmente existe también un registro de taxa bacterianos que ocurre en porcentajes menores como las Arqueas (que representan el 10% de la microbiota de termitas) , Clostridiales alcalófilos y Planctomicetos (Thongaram et al. 2003, Brune, 2006, Köhler et al, 2008), pero que se encuentran asociados a segmentos específicos que presentan condiciones fisicoquímicas particulares (e.g pH elevado para los clostriales alcalófilos) necesarias para que estos microorganismos lleven a cabo sus funciones metabólicas. Sin embargo, no existen estudios que relacionen estos cambios en la composición de la comunidad de bacterias con factores que actúan a nivel del ambiente externo de las termitas, como es el caso de la deforestación por cambio de uso de suelo y la regeneración de bosques tropicales a través de la sucesión secundaria.

3. JUSTIFICACIÓN

Los bosques tropicales secos se consideran importantes dado el gran número de endemismos que se registran, una alta diversidad β , así como su resiliencia (Pennington et al. 2009). Sin embargo, este tipo de bosques también se encuentra entre los bosques más amenazados por la deforestación y cambio de uso de suelo, ocupando el tercer lugar a nivel mundial en la pérdida neta de cobertura forestal (Hansen et al. 2010). Dadas las condiciones ambientales adversas y diversos factores tanto económicos como sociales (Downing, 2019), es común que se presente un abandono de campos agrícolas y ganaderos, generando un mosaico con fragmentos de bosque de distinto estadio sucesional, que es importante estudiar. Particularmente, porque aun cuando estos bosques, exhiben resiliencia al disturbio natural y pueden recuperar la diversidad y funciones ecosistémicas a través del proceso de sucesión natural, se desconoce si esto se presenta en grupos de organismos como la microbiota asociada al tracto digestivo, particularmente de insectos.

De manera general los insectos presentan condiciones particulares en su interior, es decir microhábitats cuyas condiciones físicas y químicas particulares contribuyen al cambio en la composición de la microbiota (Engel y Moran, 2013, Yun et al. 2014). Es por ello que las modificaciones en los ecosistemas derivadas de las actividades antropogénicas y a través del proceso de sucesión natural podrían estar ocasionando cambios en la composición de la microbiota, ya que algunos estudios que se han realizado reportan que distintos niveles en la digestión de celulosa y cambios de dieta alteran la microbiota intestinal de algunas especies de termitas (Boucias et al. 2013, Mikaeylan et al. 2015).

El conocimiento que se tiene actualmente respecto a la microbiota de termitas es amplio, va desde su biología, taxonomía, morfología funcional, diversidad, estructura y evolución (Bignell et al. 2011). Sin embargo, el conocimiento que se tiene sobre la interacción entre la microbiota de termitas y diferentes escalas espaciales, se limita a la generación de algunas probables hipótesis. En el caso particular de algunas termitas de tipo apical y hábitos arbóreos las investigaciones que nos indican probables cambios, están relacionadas con los hábitos de forrajeo en las termitas (Boucias et al. 2013, Rossmassler et al. 2015, Su et al. 2016, Mikaelyan et al. 2017). El conocimiento que se tiene sobre los efectos de la fragmentación del hábitat (e.g., cambio de uso de suelo) sobre la microbiota en termitas es limitado; cuya contribución ecológica en los ecosistemas terrestres es importante para el correcto funcionamiento de los mismos. Actualmente se ha descubierto que las termitas contribuyen a disminuir los efectos de

los desastres naturales, que modifican los ciclos naturales en el ecosistema, las termitas mantienen y regulan estos procesos (Ashton et al. 2019). En este sentido, se sabe que todos estos procesos los realizan con la ayuda de su microbiota. Por lo tanto, es importante confirmar si los patrones sucesionales reportados para otros grupos de organismos como plantas y animales pueden observarse en la estructura de la comunidad de bacterias que residen en el tracto digestivo de termitas, y de esta manera confirmar si el cambio de uso de suelo puede afectar las funciones ecológicas de las termitas en los ecosistemas alterados a través de la modificación de la microbiota intestinal y esas comunidades se reestablecen a lo largo de un gradiente sucesional. Esto es importante para proponer estrategias de conservación que mitiguen la pérdida de procesos y de funciones ecosistémicas importantes para los bosques tropicales, particularmente los bosques tropicales secos.

4. OBJETIVOS

Objetivo general

Analizar cambios en la comunidad de microorganismos procarióticos asociados al tracto digestivo de *Nasutitermes nigriceps* en parcelas con diferente estadio sucesional para determinar el efecto del cambio de uso de suelo en la abundancia y composición de esta comunidad.

Objetivos específicos

- Analizar la microbiota asociada al tracto digestivo de termitas en parcelas permanentes con diferente tiempo de abandono.
- Evaluar los cambios en la abundancia, la diversidad y la composición de la comunidad procariótica asociada al tracto digestivo de termitas a través de un gradiente sucesional.
- Confirmar que los taxa identificados en el tracto digestivo de *N. nigriceps* corresponden a los principales phyla reportados para termitas del género *Nasutitermes* mediante un análisis filogenético.
- Determinar si cambio de uso de suelo de bosque a pastizal tiene un efecto sobre la microbiota del segmento P3 del tracto digestivo de termitas.

5. HIPÓTESIS

Los cambios de la vegetación y condiciones ambientales de sitios a lo largo de un gradiente sucesional que resultan del cambio de uso de suelo pueden afectar a algunos miembros de la comunidad que residen en el tracto digestivo de las termitas, por lo que comunidades microbianas de termitas en parcelas con diferente tiempo de abandono presentaran cambios en la estructura y diversidad a lo largo de un gradiente sucesional.

6. METODOLOGÍA

6.1 Área de Estudio

Esta investigación se realizó en la Estación de Biología Chamela (EBCh), la cual forma parte de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, ubicada en la provincia fisiográfica de la Sierra Madre del Sur (Fig.7). La EBCh, comprende un área de 3319 hectáreas, la mayor extensión conservada de bosque tropical seco en México; sus coordenadas geográficas son 19°29'-19°34'N y 104°58'-105°04'W (Cotler et al. 2002).

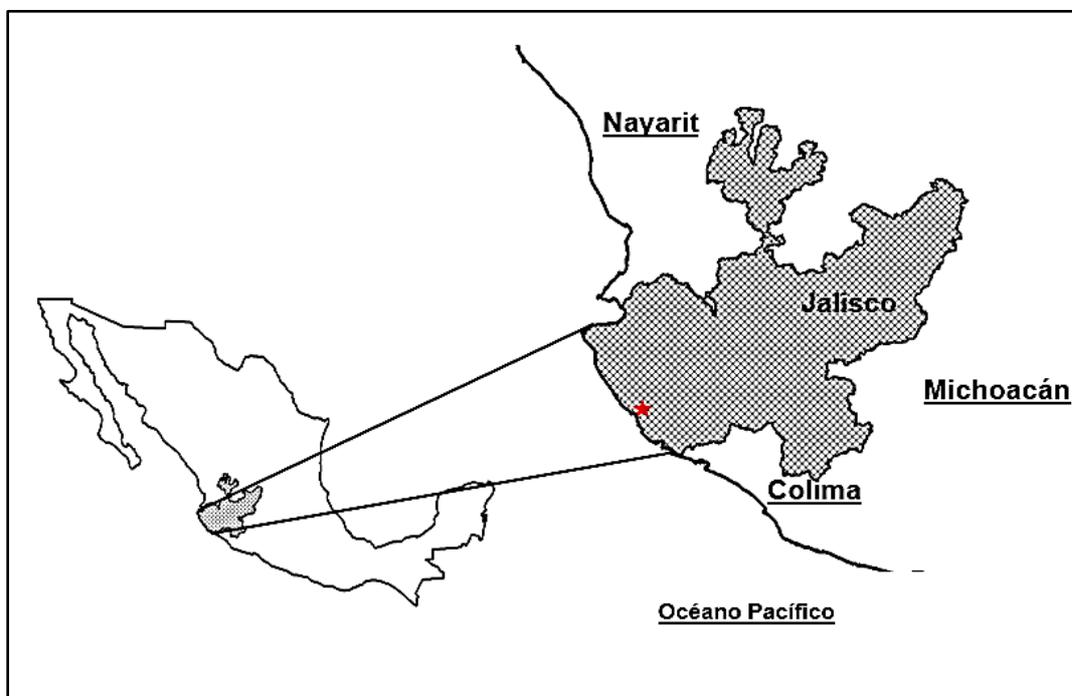


Figura 7. Localización de la Estación de Biología Chamela: (estrella roja) en la costa de Jalisco (derecha) y ubicación del estado de Jalisco en México (izquierda) (Ocampo-Castillo, 2016).

La región de Chamela presenta un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano (AW01), temperatura media anual de 24.6°C con una máxima promedio de 30.3°C, y precipitación media anual de 731 mm. Una época seca muy marcada ocurre de noviembre a junio, algunas veces interrumpida por lluvias ligeras en diciembre o enero (Ayala, 2016). La vegetación en la EBCh está compuesta por dos principales tipos de bosque tropical, la selva baja caducifolia y la selva mediana subcaducifolia (Rzedowski, 1981), los cuales se pueden distinguir por sus características fenológicas y estructurales (Bullock y Solis-Magallanes, 1990).

6.1 Sitios de Estudio

Se realizó un muestreo dirigido en 15 parcelas que representaban diferentes estadios sucesionales durante la época de lluvias en el mes de agosto del 2017. Los sitios de colecta donde están representados cuatro estadios sucesionales del bosque que son: inicial, joven, avanzado y maduro, (Tabla 3, Fig. 8). se ubicaron en: 8 parcelas que forman parte de un programa de investigación a largo plazo (iniciado en 2004) denominado Sucesión Secundaria en Bosques Tropicales: recuperando la biodiversidad, servicios y funciones del ecosistema (ReserBos); 2 sitios de estadio sucesional maduro dentro de la Estación de Biología de la UNAM; 3 pastizales y 1 sitio de estadio sucesional inicial y 1 sitio de bosque avanzado en regiones aledañas a la Reserva de la Biosfera Chamela- Cuixmala.

Tabla 3. Localización y descripción de los sitios de estudio

ID de los sitios	Ubicación de los sitios de colecta		Estadio sucesional	Años de abandono
	Latitud	Longitud		
BE	19° 28' 43.50"	105° 1' 58.15"	Inicial	0-3
RE	19° 35' 41.32"	105° 0' 37.16"	Inicial	0-3
ZE	19°23'16.70"	104°56'51.80"	Inicial	0-3
C1	19°28'39.45"	104°56'7.02"	Joven	16-18
RA	19°36'51.26"	105°1'14.45"	Joven	16-18
SC	19°36'2.63"	105°2'37.09"	Joven	16-18
RJ	19°36'55.72"	105° 1'17.76"	Joven	16-18
PE	19°35'56.17"	105° 02'43.10"	Avanzado	21-25
C2	19°28'3.49"	104°56'12.99"	Avanzado	21-25
RV	19°35'31.93"	105°0'32.75"	Avanzado	21-25
SP	19°35' 57.52"	105° 02' 48.68"	Avanzado	21-25
T2	19°30'32.13"	105°2' 25.68"	Maduro	>50
T1	19°30' 3.93"	105°2' 35.22"	Maduro	>50
AR	19°30'30.60"	105° 02' 13.41"	Maduro	>50
CH	19°29' 48.11"	105° 02' 33.62"	Maduro	>50



Figura 8. Parcelas con diferente estadio de abandono que representan los diferentes estadios sucesionales del bosque tropical seco, en la región de Chamela Jalisco, México.

6.2 Colecta

La colecta de termitas de la especie *Nasutitermes nigricipes* se llevó a cabo durante la temporada de lluvias en Julio del 2017, para lo cual se realizó una búsqueda de termitas en termiteros característicos de la especie presentes en el bosque, ya que *N. nigricipes* es la única especie que construye termiteros arbóreos de gran volumen de la región (Fig. 9). En las parcelas donde no fue posible coleccionar termitas directamente del termitero, se realizaron en búsquedas en el suelo superficial, bases superiores en los árboles, entre las raíces y contrafuertes, el interior de troncos muertos, ramas y ramitas, debajo de troncos podridos, montículos y láminas de cartón. Una vez que se localizaron los soldados que presentan un nasute negro característico, se coleccionaron los obreros y un pequeño número de soldados para su identificación taxonómica. Para evitar la muerte de las termitas se dispuso que estuvieran adheridas a restos de su microhábitat y en algunos casos se coleccionaron fragmentos del nido los cuales fueron transportados en contenedores plásticos dentro de los cuales se mantuvo la temperatura y la

humedad. Durante los días posteriores, las termitas se separaron de su sustrato en tubos de centrifuga de 1.5 mL y se colocaron las muestras frescas en un ultra congelador a -80 °C.



Figura 9. Termiteros de *Nasutitermes* en el sendero interpretativo de Calandria junio del 2014, en la Estación Biológica de la UNAM.

6.3 Identificación taxonómica

Las termitas se identificaron de acuerdo a la clasificación de Haldeman (1853), revisado en Nickle & Collins (1988). Los caracteres diagnósticos son los siguientes: los soldados de *Nasutitermes* son nasutiformes, presentan un nasute cónico y mandíbulas vestigiales con puntos superiores pequeños pero distintos; la forma de la cabeza detrás del nasute es piriforme de color marrón oscuro a negro (Fig. 10). Respecto a los obreros (Fig. 11), la cabeza del imago es ligeramente ovalada con protuberantes ojos grandes y ocelos. La fontanela tiene una forma de hendidura, más o menos bifurcada anteriormente. Las espuelas tibiales tienen una dentición mandibular y la venación de las alas son útiles en el reconocimiento general. Este género pantropical tiene la mayoría de las especies y la mayor abundancia de colonias grandes de cualquier género de termitas. Probablemente, gran parte del éxito de este grupo está asociado con la eficacia de la estrategia de defensa de los soldados que poseen mandíbulas muy desarrolladas con glándulas que repelen a través de chorros de secreción que actúan tanto

mecánica como químicamente contra los posibles depredadores, y con la adaptación por parte de las castas de soldados que conforman hasta el 30% de la población total del nido. Los nidos son frecuentemente arbóreos, a menudo en forma de grandes estructuras marrones hechas de cartón, que consisten en madera modificada y secreciones de los trabajadores. Un nido principal grande puede estar conectado con nidos subsecuentes más pequeños en árboles cercanos a través de un sistema de caminos cubiertos, y muchas especies hacen un túnel subterráneo extenso. En el área de Chamela, se han reportado cuatro especies del género *Nasutitermes* perteneciente a las termitas arbóreas, de las cuales solo se conocen a los alados y clasificación taxonómica de los individuos corresponden a la especie *Nasutitermes nigriceps*.



Figura 10. Soldado colectado en un termitero dentro de la Estación Biológica de Chamela Jalisco, dentro del sendero “Tejón 2”, correspondiente al bosque maduro.



Figura 11. Obrero de *Nasutitermes* A). Con la cabeza más grande, sub-globular, de color marrón pulida y pálida, fontanela como hendidura. B) Línea delantera e intermedia impresionada; Antena 14-articular. Longitud 1 1/2 línea. C) Gran cantidad de setas dispuestas densamente cubriendo toda la cabeza desde la base, cabeza notablemente alargada. D) El margen anterior del pronoto tiene una hendidura medial menos pronunciada.

Para confirmar la especie mediante métodos moleculares se utilizó la amplificación de dos pares de oligonucleótidos: el primero dirigido a amplificar el gen COII con los oligonucleótidos COII Flue y COII R-lys, y el segundo par dirigido a realizar un PCR anidado con los oligonucleótidos internos COII 2a y CPOO 9b reportados por Mugleston et al. (2013). Para ello se purificó ADN de un soldado y de un obrero de manera independiente, utilizando el sistema comercial DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN), siguiendo las instrucciones del fabricante. La integridad del ADN purificado se determinó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con el fluoróforo SYBR Safe (Invitrogen). 20 ng del ADN purificado fueron utilizados para llevar a cabo las reacciones en cadena de la polimerasa (PCR). La reacción de PCR fue preparada con 10 μ L de buffer 2X, 1 μ L de cada primer a una concentración de 10 pmol, y 0.3 μ L de la enzima Terra Polimerasa (Clontech). El PCR se llevó

a cabo en un termociclador Mastercycler® nexus gradient. Las condiciones del PCR fueron: desnaturalización inicial a 98 °C por 2 min, 30 ciclos de elongación a 98 °C alineamiento a 52 °C por 30 s, extensión a 68°C por 1 min, segunda extensión a 68°C por 30 s, extensión final a 10° C.

Los productos de amplificación se sometieron a un paso de limpieza con la resina Sephacryl-300 Merck y se secuenciaron con el sistema BigDye terminator v3.1 sequencing standard kit (Applied Biosystems) y un analizador genético 3500 (Applied Biosystems) en el Laboratorio de Ecología Molecular de la ENES Unidad Morelia, de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Posteriormente se realizó el alineamiento y el ensamble de las secuencias de avance y la reversa, utilizando el programa ambas complementarias para obtener la secuencia consenso, posteriormente se realizó una búsqueda en BLAST del GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, Altschul et al.1990, Gish y States 1993). La secuencia del fragmento del gen COII analizado confirmó que las termitas colectadas pertenecen a la especie *Nasutitermes nigriceps*, mostrando un 97% de similitud a secuencias previamente reportadas en el Genbank.

6.4 Disección del tracto digestivo

El material colectado se enjuaga con alcohol al 96% y glicerina para humectar los ejemplares, facilitar la disección y evitar la ruptura del tracto digestivo de la termita. La disección de 25 individuos obreros por muestra se realizó en una caja de Petri que contenía alcohol al 96%, se colocó debajo de la lupa estereoscópica y se procedió a realizar la disección tomando a la termita por el extremo anterior de su cabeza y jalando en sentido contrario el extremo posterior, extrayendo a partir de la parte posterior anal el tracto digestivo completo, el paso anterior se sugiere que sea en un solo movimiento para evitar perder parte del tracto digestivo al momento de manipular el ejemplar (Fig. 12).



Figura 12. Tracto digestivo de una termita (*Nasutitermes nigricipes*) colectada previamente en uno de los sitios de estudio en Chamela Jalisco. El segmento P3 rodeado de un círculo rojo.

6.5 Extracción de ADN de la microbiota asociada al segmento P3

La extracción de ADN se realizó a partir de las muestras del segmento P3 conservadas en la solución PBS, para lo cual se utilizó el kit de extracción DNeasy Blood & Tissue Kit® (Qiagen) siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante, excepto durante la lisis celular. La homogenización de tejido se realizó con un pistilo de plástico, se tomaron 15 individuos de los que se tomó un segmento del tejido P3 por muestra (estadio sucesional), las células bacterianas suspendidas en PBS 1x fueron centrifugadas durante 5 min a 13,000 rpm a una temperatura de 4°C, posteriormente se re suspendió la pastilla bacteriana en 360 µl de buffer de extracción ATL. Para el paso de lisis celular se transfirieron las células bacterianas resuspendidas en Buffer ATL a un tubo con microperlas de zirconio, y se homogenizaron las células en un homogeneizador TissueLyser (Qiagen)® con 3 ciclos de 45 s, a una frecuencia de 30 Hz. En el paso de incubación, se agregaron 20 µl de Proteinasa K e incubaron las muestras a 56°C durante 20 min, y se continuo con los pasos siguientes del protocolo (Qiagen) ®.

La calidad del ADN en las muestras se determinó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con SYBR Safe (Invitrogen) a través de un fotodocumentador BIO RAD®. La pureza se determinó mediante la estimación de los cocientes 260/280 y 260/230 utilizando el espectrofotómetro Nanodrop-1000 Spectrophotometer, mientras que la concentración del ADN se determinó mediante el método fluorométrico utilizando un Fluorómetro Qubit™.

6.6 Preparación de la librería y secuenciación

Se realizó la secuenciación de la región V3-V4 del gen 16S rRNA. La preparación de librerías y la secuenciación de las muestras se realizó a través de un servicio de secuenciación externo (Macrogen, Inc). En total se prepararon y secuenciaron 15 librerías (1 por sitio) a partir de muestras compuestas que contenían el DNA extraído a partir de (25 individuos para capturar tanto una mayor diversidad como variación de la microbiota asociada al tracto digestivo de las termitas por librería de muestra secuenciada. Específicamente se secuenciaron tres librerías para estadio inicial y cuatro librerías para cada uno de los estadios sucesionales restantes (joven, avanzado y maduro). Las librerías se secuenciaron con la tecnología Illumina MySeq con un total de un millón de lecturas pareadas de 300pb por muestra.

6.7 Análisis de datos

Para el análisis de datos se utilizó un paquete de análisis de microbiomas Quantitive Insights Into Microbial Ecology 2 programa (QIIME2, ver. 2018.8.0, <https://qiime2.org/>).

Para la limpieza de secuencias, agrupación y asignación taxonómica de OTUs, se recibieron los archivos crudos de las lecturas pair-end sin emparejar en formato fastQ, y se importaron a Qiime2. Las lecturas se desmultiplexaron, es decir se dividieron en archivos fastQ individuales por muestra. Se eliminaron los cebadores y adaptadores de las lecturas. Posteriormente se utilizó el algoritmo DADA2 (Callahan, 2016) como herramienta para inspeccionar los perfiles de calidad de lectura llevando a cabo los siguientes pasos: 1) se utilizó un valor de corte de calidad Phred para ambas cadenas de 20 y “trimming” a los 290 nucleótidos, posición en la cual se observó una disminución en la calidad por debajo de 20; 2) se realizó un consenso de calidad de todas las lecturas y se eliminó el ruido detectando diferentes tasas de error; 3) se realizó la inferencia de muestras verdaderas a partir de las secuencias únicas por muestra; 4) se realizó la fusión (merge) de las lecturas “forward” y “reverse” para construir las secuencias

fusionadas “contig”, 5) se construyó una tabla de secuencias de variantes de amplicones (ASV), con una mayor resolución que la tabla número de OTUs tradicional; 6) se construyó una matriz a forma de tabla de secuencias donde las filas correspondían al sitio donde se habían colectado las muestras y las columnas correspondían a las variantes de las secuencias conocidas como OTUs, a la cual se le llama tabla .biom; 7) se realizó la remoción de quimeras; 8) se hizo una verificación final de la cantidad de lecturas que completaron los pasos anteriores; 9) finalmente se realizó la asignación taxonómica de Otus, y se agruparon con base en Greengenes 13_8 99% Unidades operacionales taxonómicas (OTU) ([http:// greengenes.secondgenome.com/](http://greengenes.secondgenome.com/)).

Para llevar a cabo los análisis de diversidad microbiana asociada al tracto digestivo de *N nigriceps*. es necesario generar dos “artefactos nuevos” como se les conoce en la plataforma Qiime, estos son: una tabla de características similar a la que se obtiene en el paso 6) de DADA2, con la diferencia de que esta tabla contiene información biológica asociada a la muestra y sobre cuántas secuencias están asociadas con cada muestra y con cada característica (e.g variables cualitativas y cuantitativas) del estudio. El segundo artefacto es la obtención de un árbol filogenético, que se generó con base en la base de datos pre entrenada en Qiime2 de SILVA (Bokulich, 2020), este árbol se utilizó para calcular diversos análisis de diversidad filogenética.

6.8 Análisis de biodiversidad

Los análisis de biodiversidad se realizaron utilizando la función de Qiime2 llamada core-metrics-phylogenetic, para lo cual se llamaron los artefactos anteriores que son la tabla de secuencias generada en el paso 6) de DADA2 y el árbol filogenético; como archivo de entrada para el análisis se utilizó también la tabla de características. Las métricas de diversidad que se calcularon fueron diversidad alfa expresada en número de OTUs observados, índice de Shannon e índice faith (diversidad filogenética). Los resultados de diversidad se analizaron mediante una prueba pareada no paramétrica de Kruskal-Wallis para detectar diferencias significativas. Con este programa también se elaboraron curvas de rarefacción alfa, a partir de la estimación de OTUs.

En el apartado de diversidad beta se empleó un análisis de Detrended Correspondence Analysis (DCA) basado en una matriz de disimilitud de Bray Curtis el cual se hizo a través de Phyloseq (McMurdie y Holmes, 2013), y finalmente se utilizó un análisis de varianza multivariado, con base en permutaciones (PERMANOVA) de dos factores, para evaluar si existían diferencias

entre los sitios de los estadios sucesionales de la matriz DCA. Se eligió el análisis DCA, ya que este es recomendado para datos que provienen de un diseño experimental sobre gradientes ambientales que a menudo presentan sucesión de especies (Borcard, et al. 2018). Para los análisis taxonómicos y de composición se utilizaron los pluggins (<https://github.com/qiime2/q2-featureclassifier>), taxa (<https://github.com/qiime2/q2-taxa>) y composición (Mandal et al. 2015). Se utilizó la herramienta EMPPeror para la visualización de las gráficas.

6.9 Análisis filogenético de secuencias representativas

Se realizó una selección de tres secuencias representativas por cada uno de los filos bacterianos importantes. Con esas secuencias se realizó un análisis filogenético que incluyera los vecinos más cercanos en el servidor Silva ACT: Alineamiento, clasificación y servicio de árbol (<https://www.arb-silva.de/aligner/>) (Pruesse, Peplies, y Glöckner, 2012). Posteriormente, se realizaron búsquedas con la herramienta BLAST del GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, Altschul et al.1990, Gish y State,s 1993). Las secuencias se alinearon con el programa MEGA version 6 (Tamura, Stecher, Peterson, Filipski, y Kumar 2013). El alineamiento se procesó a través de Gblocks v.0.9.1.b (Castresana 2000, Talavera y Castresana 2007) para seleccionar bloques conservados y eliminar las posiciones no alineadas. La construcción del árbol filogenético se realizó mediante un análisis de máxima verosimilitud, para ello se utilizó el programa RAxML-HPC BlackBox en el servidor Cipres (Miller et al. 2010), empleando una matriz de sustitución WAG y la estimación de la proporción de sitios invariables (GTR GAMMA + I). La visualización y edición del árbol se realizó a través del sitio web iTOL (Letunic y Bork, 2019).

7. RESULTADOS

7.1 Secuenciación

A partir de la secuenciación de la región hipervariable V3-V4 del gen ribosomal 16S se obtuvieron entre 359,916 y 492,810 lecturas totales, de las cuales más del 73.94% presentó valores de calidad Q30 en la escala Phred y más del 82% con valores Q20 (Tabla 4).

Tabla 4. Estadísticas de los datos crudos de la obtención de secuencias Illumina paired-end.

Nombre de la muestra	Bases totales (Pb)	Lecturas totales	GC (%)	AT (%)	Q20 (%)	Q30 (%)
BE	126,270,704	419,504	51.1	48.9	82.13	73.94
RE	132,964,944	441,744	51.14	48.86	82.4	74.03
ZE	111,179,166	369,366	56.135	43.87	86.158	78.435
C1	131,189,646	435,846	53.48	46.52	92.18	84.24
RA	137,460,680	456,680	52.02	47.98	85.51	77.2
SC	143,055,668	475,268	51.79	48.21	84.76	76.38
RJ	108,334,716	359,916	56.229	43.77	85.122	77.258
PE	133,835,436	444,636	56.75	43.25	91.53	82.52
SP	118,549,452	393,852	55.548	44.45	86.621	79.063
RV	126,976,850	421,850	56.82	43.18	92.14	83.63
C2	147,797,020	491,020	54.67	45.33	91.44	83.39
T1	137,640,076	457,276	56.021	43.98	86.039	78.404
T2	109,849,950	364,950	55.4	44.6	93.51	85.61
AR	135,173,080	449,080	56.88	43.12	90.98	81.96
CH	148,335,810	492,810	52.66	47.34	91.18	83.5

Como resultado del procesamiento de secuencias (filtración, “denoising”, empalme y remoción de secuencias quiméricas)) se obtuvieron entre 10,803 y 39,920 lecturas por muestra, con un total de 355,795 lecturas de alta calidad en un total de 15 muestras (Tabla 5).

Tabla 5. Estadísticas del procesamiento y filtrado de secuencias.

ID- muestra	Secuencias de entrada	Secuencias filtradas	Secuencias sin ruido	Secuencias fusionadas	Secuencias no quiméricas
BE	209752	135877	135877	26582	19798
RE	220872	144688	144688	26407	20048
ZE	246405	206033	206033	35607	27805
C1	217923	188572	188572	33864	28917
RA	228340	165068	165068	33506	26563
SC	237634	167646	167646	31115	26040
RJ	179958	138277	138277	15835	13056
PE	222318	191919	191919	37291	31284
SP	196926	158349	158349	19076	16375
RV	210925	183427	183427	33556	29570
C2	245510	206717	206717	43509	37626
T1	228638	181367	181367	18711	16578
T2	182475	162449	162449	14811	11412
AR	224540	191147	191147	45653	39920
CH	184683	145715	145715	14762	10803

7.2 Diversidad α

El número total de OTUs que se identificaron fue de 4,624, de los cuales 2,759 tuvieron asignación taxonómica con base en Greengenes 13.8 con un 99% de confiabilidad. Las curvas de rarefacción obtenidas muestran que todas las muestras alcanzaron la asíntota para todos los estadios sucesionales (Fig. 13) y para todos los sitios de muestreo, excepto el sitio T2 (Fig. 14). Las curvas de rarefacción por estadio sucesional (Fig.13) indican que el estadio sucesional avanzado presentó el mayor número de OTUs (~ 750), seguido del estadio maduro (~ 570), el estadio joven (~ 245) y el estadio inicial con el menor número de OTUs (~ 65) (Fig. 13).

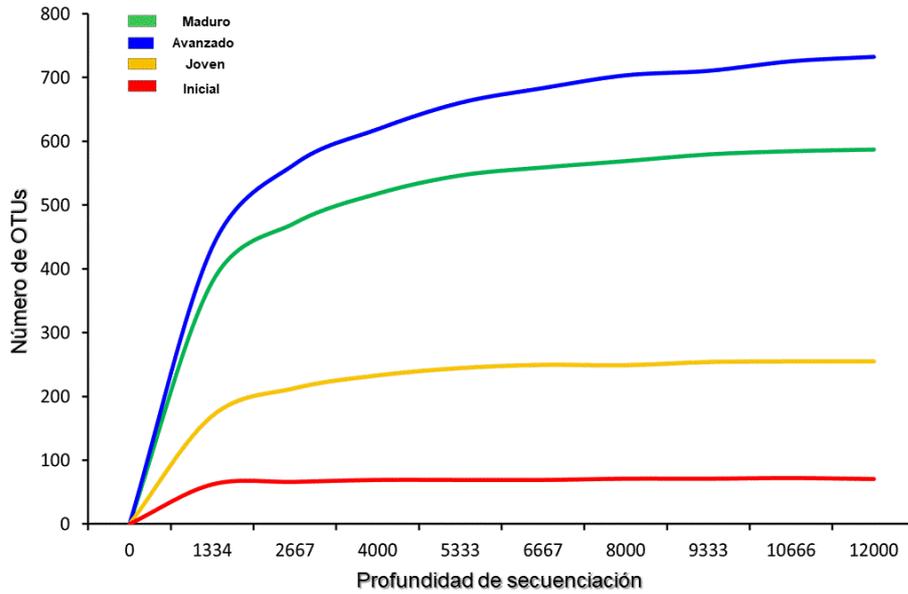


Figura 13. Curvas de rarefacción de la microbiota intestinal de *Nasutitermes nigriceps* por estadio sucesional. La curva de rarefacción se generó en QIIME2 utilizando la estimación del número de OTU por etapa sucesional.

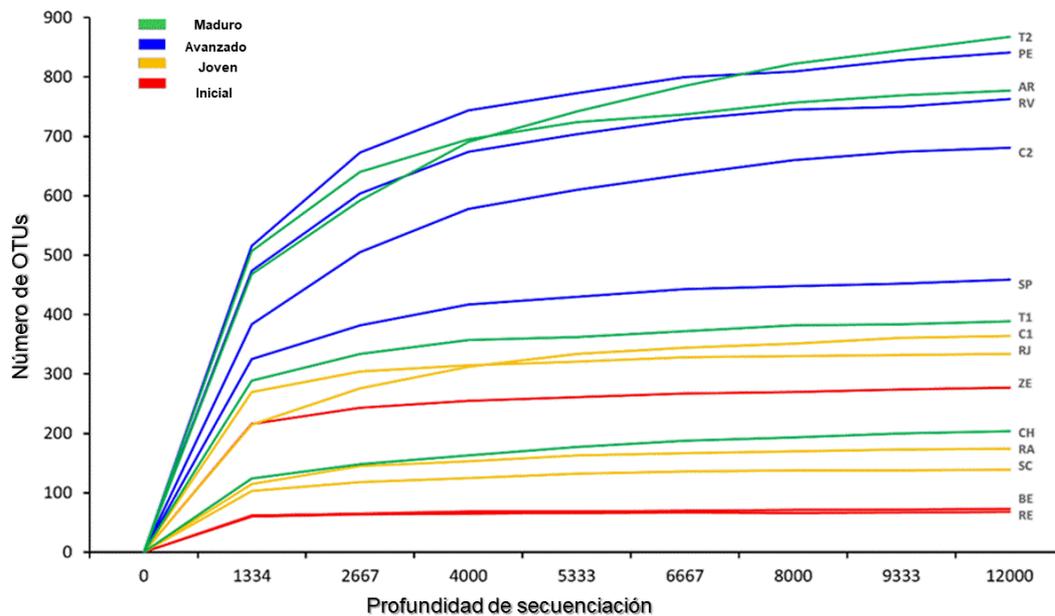


Figura 14. Curvas de rarefacción de la microbiota intestinal de *Nasutitermes nigriceps* por sitio. La curva de rarefacción se generó en QIIME2 utilizando la estimación del número de OTU por sitio en cada estadio sucesional. Las etiquetas al final de cada línea representan los identificadores de los sitios muestrados.

Los análisis de diversidad alfa basados en el índice de Shannon e índice de equitatividad o de Pielou también indicaron que el estadio joven e inicial presentaron menores valores diversidad microbiana asociada al tracto digestivo de *N. nigriceps*. comparados con el estadio avanzado y el estadio maduro (Fig. 15 A: el índice de Pielou mostró el mismo patrón que el índice de Shannon, por lo cual solo se muestran los resultados del índice de Shannon). Sin embargo, sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el estadio maduro y el inicial ($H=4.5$, $P=0.033$), y entre el estadio avanzado y el inicial ($H=4.5$, $P=0.033$) (Fig. 15 A). Por su parte, el análisis de diversidad filogenética también indica que el estadio maduro y el avanzado presentan los valores de diversidad filogenética más altos, pero en este caso el análisis sólo mostró diferencias estadísticamente significativas entre el estadio avanzado y el joven ($H=4.5$, $P=0.03$), y entre el estadio avanzado y el inicial ($H=4.5$, $P=0.03$) (Fig. 15 B).

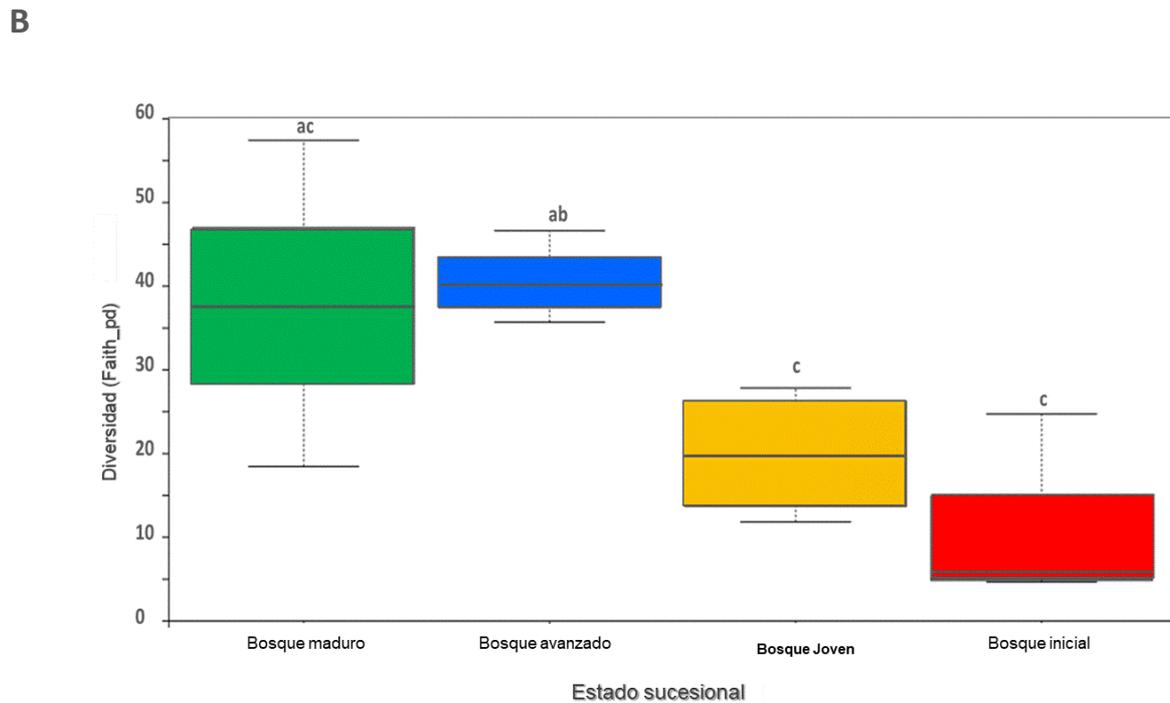
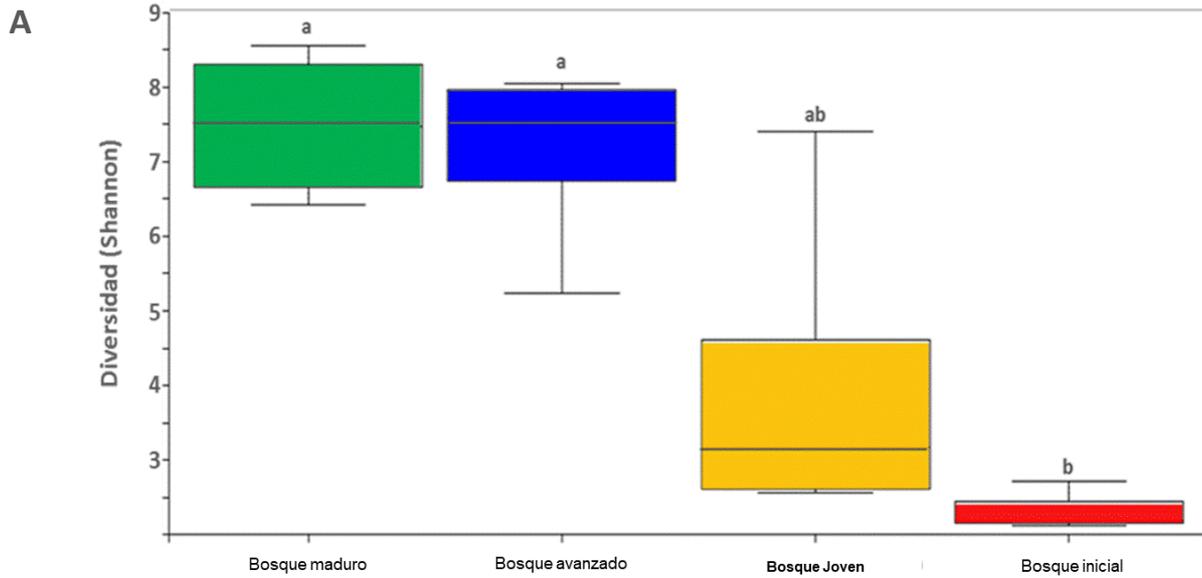


Figura 15. Diversidad α de la microbiota intestinal de *Nasutitermes nigriceps* en diferentes estadios sucesionales del bosque tropical seco. A. Diversidad basada en índice de Shannon; B. Diversidad filogenética basada en la estimación `faith_pd` en QIIME2. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando comparaciones pareadas en Kruskal-Wallis. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

7.3 Diversidad β

Los análisis de diversidad beta microbiana asociada al tracto digestivo de *N nigriceps*. basados en composición taxonómica (DCA) no mostraron cambios claros en la composición de la comunidad de la microbiota debido a la alta variación dentro cada uno de los estadios sucesionales del bosque, sin embargo, las comunidades procarióticas de la mayoría de los primeros estadios sucesionales (estadio inicial y joven) tienden a agruparse a lo largo del eje DCA1 que explica el 45.1% de la variación, al igual que las comunidades de la mayoría de los sitios del estadio maduro y avanzado, las cuales forman un segundo cluster (Fig. 16), indicando cambios en la estructura y composición de la comunidad procariótica entre los primeros estadios sucesionales y los estadios sucesionales finales.

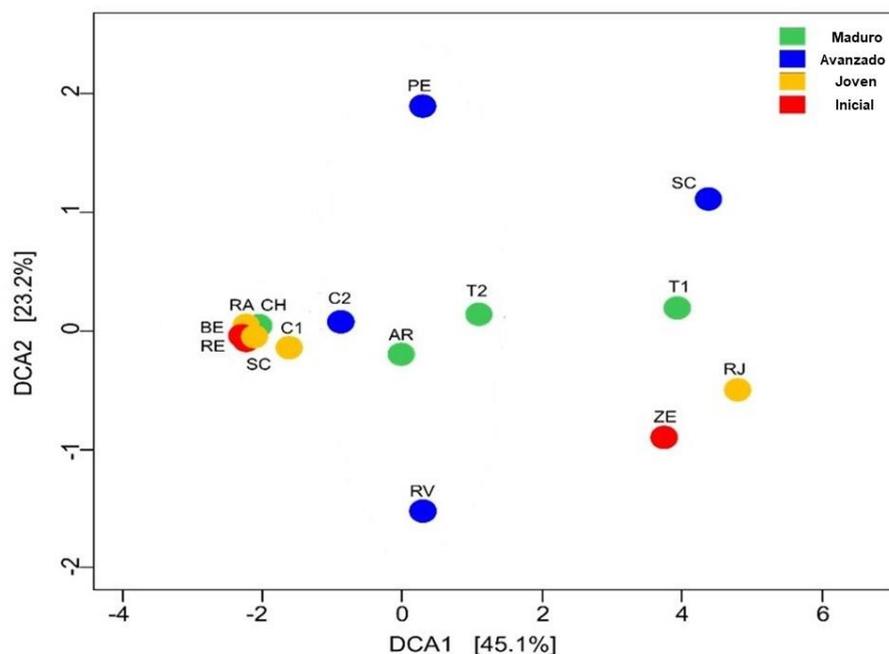


Figura 16. Análisis de correspondencia y disimilitud (DCA). El análisis se realizó sobre la base de una matriz de disimilitud de Bray-Curtis utilizando el paquete Phyloseq (plataforma Bioconductor).

Sin embargo, el análisis de varianza multivariado, con base en 999 permutaciones por muestra que comparó los cuatro estadios sucesionales de forma pareada, mostró que existen diferencias estadísticamente significativas en la composición de las comunidades sólo entre el estadio maduro y el inicial ($F= 3.622, P=0.02$) y entre el estadio avanzado e inicial ($F=3.644, P=0.03$) (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis de varianza multivariado, con base en permutaciones de dos factores (PERMANOVA) aplicado a los diferentes estadios sucesionales.

<i>Contraste</i>	<i>N</i>	<i>Permutaciones</i>	<i>pseudo-F</i>	<i>valor-p</i>
Maduro vs Avanzado	8	999	1.028	0.415
Maduro vs Joven	8	999	1.803	0.100
Maduro vs Inicial	7	999	3.622	*0.023
Avanzado vs Joven	8	999	1.762	0.099
Avanzado vs Inicial	7	999	3.644	*0.031
Joven vs Inicial	7	999	1.410	0.270

7.4 Composición de la comunidad procariótica

Con respecto a la abundancia relativa de los taxa procarióticos identificados en el segmento P3 de *N. nigriceps*, los resultados indican que las Proteobacterias y las Espiroquetas son los filos más abundantes seguidos de los Fibrobacteres y los Bacteroidetes, mientras que el resto de filos como Firmicutes, y Actinobacterias presentan una abundancia menor (Fig. 17). Sin embargo, la abundancia relativa de los grupos varía entre estadios sucesionales. En general, las Espiroquetas y Fibrobacteres muestran mayor abundancia relativa en los estadios sucesionales finales (avanzado y maduro), mientras que las Proteobacterias, Actinobacterias y Firmicutes muestran mayor abundancia relativa en los primeros estadios sucesionales (inicial y joven) (Fig. 17).

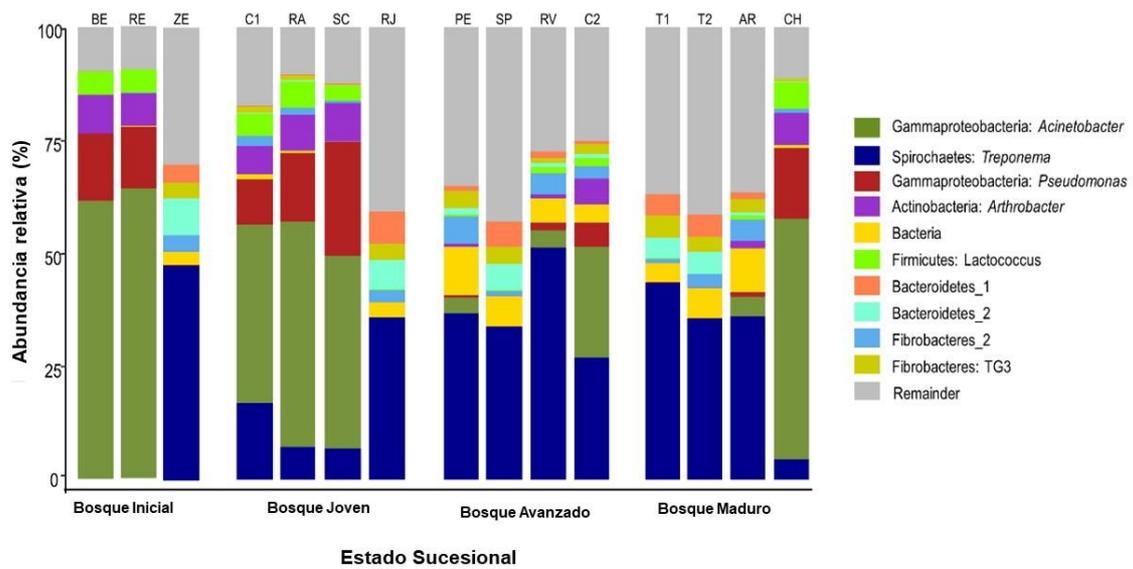


Figura 17. Abundancia relativa de la microbiota intestinal de *Nasutitermes nigriceps*. La abundancia relativa se estimó en base a los OTU identificados en el segmento P3 de las termitas colectadas en diferentes estadios sucesionales del bosque seco tropical de Chamela, México. El análisis se llevó a cabo utilizando el paquete Phyloseq (plataforma Bioconductor).

De acuerdo a la comparación de abundancia relativa de las familias de bacterias que estuvieron presentes en >50% de los sitios de cada grupo de estadios sucesionales, las familias de bacterias con la mayor abundancia relativa en los primeros estadios sucesionales fueron: Micrococcaceae, Streptococcaceae, Moraxellaceae, Pseudomonadaceae, mientras que las familias Fibrobacteraceae, M1PL1-46, Ruminococcaceae, Mogibacteriaceae, Pirellulaceae, Desulfobivibrionaceae, Spirochaetaceae, Dethiosulfobivibrionaceae, tuvieron mayor abundancia relativa en los últimos estadios sucesionales. Finalmente, las familias Exiguobacteraceae, Aeromonadaceae, Shewanellaceae estuvieron presentes en todos los estadios sucesionales, pero con menor abundancia (Tabla 7).

Tabla 7. Abundancia relativa de los principales filos de bacterias encontrados en *Nasutitermes nigriceps* organizados por familia, representados en los diferentes sitios de estudio en cada estadio sucesional.

Bacteria	Bosque inicial			Bosque joven			Bosque avanzado			Bosque maduro						
	BE	RE	ZE	C1	RA	SC	RJ	PE	C2	RV	SP	T1	T2	AR	CH	
Phylum	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	
Acidobacteria	Familia															
	Holophagaceae	0	0	0	1	0	0	2	2	1	2	0	1	1	1	0
Bacteroidetes	Micrococaceae	10	9	0	8	10	0	0	1	8	1	0	0	0	3	8
	Porphyromonadaceae	0	0	2	0	0	0	10	1	1	0	2	7	2	1	0
Fibrobacteres	Fibrobacteraceae	0	0	5	2	2	1	4	8	3	6	2	4	1	6	1
	MIP1-46	0	0	5	1	1	0	5	5	3	2	6	5	7	4	1
Planctomycetes	Exiguobacteraceae	0	2	0	1	2	1	0	1	1	1	0	0	0	0	2
	Streptococcaceae	0	5	0	5	6	3	0	1	2	2	0	0	0	1	6
Proteobacterias	EtOH8	0	0	1	0	0	0	2	1	0	1	1	1	1	1	0
	Lachnospiraceae	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0
Spiroquetas	Ruminococcaceae	0	0	8	1	0	0	9	7	2	4	17	12	10	8	0
	Mogibacteriaceae	0	0	1	0	0	0	2	3	1	2	3	3	2	2	0
Synergistetes	Pirellulaceae	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0
	Desulfobacteriaceae	0	0	4	1	0	1	4	3	1	3	5	4	5	4	0
Espiróguetas	Aeromonadaceae	2	2	0	4	2	2	0	1	1	1	0	0	0	2	4
	Shewanellaceae	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1
Synergistetes	Enterobacteriaceae	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
	Moraxellaceae	63	66	0	42	51	44	0	5	30	5	0	0	0	6	55
Synergistetes	Pseudomonadaceae	16	15	0	12	16	27	0	3	9	3	0	0	0	3	17
	Spirochaetaceae	0	0	67	18	8	7	52	52	32	63	54	57	63	50	5
Synergistetes	Deftiosulfobirionaceae	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	1	1	2	1	0

Los acrónimos BE, RE, ZE, C1, RA, SC, RJ, PE, C2, RV, SP, T1, T2, AR y CH indican los diferentes sitios de estudio para cada estadio. Los números resaltados en negro indican una mayor abundancia del grupo taxonómico en este estadio sucesional.

8. DISCUSIÓN

Los insectos son el grupo de organismos más diverso y abundante a nivel mundial tanto en el número de especies, como en hábitos ecológicos y en biomasa (Basset et al. 2012). La diversidad y el éxito evolutivo en insectos se debe en gran parte a las relaciones que han mantenido con microorganismos benéficos que ayudan a mejorar las condiciones nutricionales, fisiológicas e inmunológicas al interior de su tracto digestivo (Dillon et al. 2005, Kikuchi et al. 2012, Engel y Moran, 2013). Uno de los mayores éxitos evolutivos que existen entre microorganismos benéficos e insectos es el de las termitas, ya que su tracto digestivo es considerado un microecosistema conformado por una variedad de microhábitats que difieren mucho en su entorno tanto biótico como abiótico, los cuales favorecen la colonización microbiana (Brune y Dietrich, 2015). La microbiota de termitas proporciona beneficios directos al insecto contribuyendo a la degradación de alimento compuesto principalmente de lignocelulosa, suelo, materia orgánica, por lo que su estudio adquiere importancia, particularmente el estudio de los factores que pueden alterar la comunidad de estos microorganismos al interior del tracto digestivo de las termitas (Bignell, 2016 en Hurts).

En este sentido, y en concordancia con la hipótesis planteada, los resultados de este estudio muestran que la comunidad microbiana en el tracto digestivo de la termita *N. nigriceps* presenta cambios a lo largo del gradiente sucesional generado como consecuencia del cambio de uso. Estos resultados también indican que el cambio de uso de suelo de bosque maduro a pastizal tuvo un efecto negativo sobre la diversidad y abundancia de algunos miembros de la comunidad de procariontes que residen en el tracto digestivo de las termitas. Específicamente, se encontró una disminución en la diversidad alfa (número de OTUs, diversidad basada en índice de Shannon, diversidad basada en índice de equitatividad o Pielou y diversidad filogenética) y cambios en la estructura de la comunidad (diversidad beta) entre el primer estadio sucesional: inicial (0-3 años de abandono) y los estadios sucesionales finales: avanzado (21 a 25 años de abandono) y maduro (sin perturbación antropica). No obstante, la composición de la comunidad de procariontes asociadas al tracto digestivo de *N. nigriceps*, no mostró una diferencia estadísticamente significativa entre el estadio sucesional avanzado y maduro, lo cual indica que existe una recuperación de la comunidad, es decir, que a partir de los estados sucesionales avanzados, que en este caso llevan 21 a 25 años de haber sido abandonados, la comunidad presenta una composición similar a la encontrada en termitas del bosque maduro, indicando que las comunidades procarioticas de esta especie de termita presentan un proceso de sucesión natural.

La estructura de la comunidad de microorganismos en termitas, está determinada por diversos factores, por ejemplo, la herencia, los hábitos de forrajeo y el comportamiento. El mecanismo de transmisión a través de la trofalaxis proctodeal disminuye el azar al garantizar una transferencia confiable de simbioses de una generación a otra y permite una mutua adaptación para crear una especificidad con el hospedero y eventualmente dar origen a una coespeciación (Dietrich et al. 2014, Otani et al. 2014, Rahman et al. 2015). Se ha encontrado por lo tanto que la composición y diversidad de la microbiota presente en las termitas responde a varios factores y no a uno sólo de ellos.

En el caso de la presente investigación, se encontró que los principales grupos procarióticos en el segmento P3 de *N. nigricipes* representados por Espiroquetas, Firmicutes, Fibrobacteres y Actinobacterias (presentes en al menos una muestra de todos los estadios sucesionales y presentes en más del 70% de las muestras), corresponden a las comunidades procariotas anteriormente reportadas para otras especies del género *Nasutitermes* que incluyen a Fibrobacteres, filo del TG3 y algunas Espiroquetas reportadas para las termitas *N. corniger* y *N. takasagoensis* (Mikaelyan et al. 2014, 2015), y Espiroquetas, Firmicutes, Actinobacteria, y Bacteroidetes para la especie *Nasutitermes arborum* (Diouf et al. 2018), lo cual indica que la comunidad procariota de *N. nigricipes* coincide con la estructura de la comunidad esperada de acuerdo a su posición filogenética, lo cual fue confirmado mediante el análisis filogenético del presente estudio. Sin embargo, aun cuando los grupos principales de procariontes se encuentran presentes en la comunidad microbiana, el cambio de uso de suelo de bosque a pastizal generó cambios importantes en la presencia y/o abundancia de algunos miembros de la comunidad. Específicamente, la microbiota de termitas del estadio sucesional inicial presentó una disminución de la abundancia relativa de los grupos principales de Espiroquetas, Bacteroidetes y Fibrobacteres que comúnmente se encuentran en termitas superiores arbóreas (Warnecke et al. 2007).

En algunas investigaciones se ha señalado el cambio de dieta como uno de los principales factores que altera la comunidad de microorganismos del tracto digestivo de termitas (Boucias et al. 2013, Benjamino et al. 2018). Por ejemplo, en las especies de termitas como *Macrotermes* spp, *Odoterms* spp asociadas al consumo de hongos, la microbiota intestinal está dominada por Bacteroidetes y Firmicutes, (Liu et al. 2013), mientras que la microbiota intestinal de las especies *Microcerotermes parvus*, *Nasutitermes corniger* y *Trinervitermes* sp. más fuertemente asociadas al consumo de madera está dominada por Espiroquetas, Fibrobacteres, candidatos al

filo TG3 (Hongoh, et al. 2005-2006, Warnecke et al. 2007). En el caso de las termitas consumidoras de mantillo y consumidoras de suelo como el género *Syntermitinae*, la microbiota intestinal está dominada por Firmicutes y Bacteroidetes (Mikaelyan et al. 2017, Su et al. 2017, Moreira et al., 2018).

En el caso del presente estudio, el cambio en la estructura de la vegetación a lo largo de un gradiente sucesional podría verse reflejado también como una causa en la modificación de la dieta de termitas, debido a que existen cambios importantes en la composición de la vegetación y por tanto en los recursos alimenticios disponibles para las termitas en los diferentes estadios sucesionales (Maza- Villalobos et al. 2011). Un estudio previo reporta que las parcelas de los primeros estadios sucesionales en Chamela se caracterizan por una mayor presencia de pastos, arbustos y por la permanencia de algunas hierbas no nativas; en el caso de los bosques jóvenes se presenta una mayor abundancia de las plantas leñosas que no exceden los 5 m de altura; mientras que los estadios sucesionales avanzados y el bosque maduro están dominados por árboles con alturas mayores a 10 m de altura (Avila-Cabadilla et al. 2009), los cuales presentan una mayor riqueza y diversidad (Quesada et al. 2009).

El incremento en la abundancia de grupos bacterianos como las Proteobacterias y Firmicutes en el segmento P3 de *N. nigripes* colectadas en los primeros estadios sucesionales podría estar indicando que las termitas tienen un acceso limitado a una dieta rica en lignocelulosa debido a la poca abundancia de especies leñosas en estos estadios (Almazán-Núñez et al. 2012, Su et al. 2017), mientras que una mayor abundancia de Fibrobacteres y Espiroquetas (grupos procarióticos asociados con el consumo de madera) en los sitios más conservados, podrían indicar una dieta que consiste en madera (Warnecke et al. 2007, He et al. 2013), debido que los estadios avanzados y maduros presentan una vegetación dominada por especies leñosas que proveen madera seca la cual es preferida por termitas del género *Nasutitermes* (Tokuda et al. 2018, Chaves, 2006).

El cambio en los factores ambientales asociados a los primeros estadios sucesionales también pueden afectar a la comunidad microbiana de termitas (Bardgett y Caruso, 2020). Lo anterior debido a que los bosques son convertidos en pastizales para ganado presentan diferencias en los factores abióticos como la radiación, la temperatura y la humedad (Rodrigues et al. 2012, Tian et al. 2018, Sepulveda y Moeller, 2020). En el caso de los bosques tropicales secos, dadas las condiciones áridas y semiáridas que ahí se presentan, la temperatura y la disponibilidad de agua ejercen un fuerte control sobre las comunidades microbianas del suelo (Stres et al. 2008,

Pasternak et al. 2013, Nielsen y Ball, 2015, Armstrong et al., 2016, Zhao et al. 2016). Por un lado, estos bosques presentan una mayor transpiración y evaporación con respecto a la lluvia que reciben anualmente convirtiéndose en sitios que presentan estrés hídrico, en mayor medida durante las estaciones secas (Camargo y Kapos, 1995).

El estado hídrico, el pH del suelo y conductividad en los bosques tropicales secos recrean un escenario único para albergar un grupo particularmente diverso y adaptado a condiciones específicas, tanto los microbios que encuentran al aire libre, como los microorganismos que dependen de un huésped para su sobrevivencia como la microbiota de termitas (Liao et al. 2018). En suelos afectados por la agricultura se ha registrado mayor abundancia de géneros bacterianos pertenecientes a las Acidobacterias (Lacerda-Júnior et al. 2019), lo cual concuerda con los datos de abundancia relativa de este taxa encontrados para *N. nigricipes* en este estudio.

El cambio climático ha sido también un factor determinante que ha contribuido a modificar u obligar a la adaptación y recambio de la microbiota de insectos, que se encuentra cada vez más expuesta a los cambios drásticos en el medio ambiente lo cual eventualmente desencadena en estrés y pérdida de diversidad o de grupos de bacterias claves para el insecto (Lemoine et al. 2020). El estrés puede afectar de manera significativa las condiciones fisiológicas del tracto digestivo de insectos sociales, como se ha demostrado para las abejas (Even et al. 2012). En el caso del bosque tropical seco de Chamela, es posible que las termitas de los bosques convertidos a pastizales experimenten mayor estrés debido a las condiciones extremas de temperatura y estrés hídrico que presentan estos sitios, lo cual podría explicar en conjunto con los cambios en la dieta los cambios en la composición de la comunidad observados. Otro de los factores que pueden regular la presencia de la comunidad microbiana en el tracto digestivo de termitas, está representado por las mismas condiciones fisiológicas en los compartimentos del tracto digestivo, como son: altos niveles de pH, producción de lisosomas e hidrolasas que pueden provocar la ruptura de la pared bacteriana (Daffre et al. 1994, Hultmark, 1996, Dubreuil et al. 2001). Sin embargo, no existen estudios que relacionen estos factores que operan a nivel fisiológico con factores que actúan a nivel del ambiente externo de las termitas. Estudios futuros como el análisis de transcriptomas o expresión diferencial de genes podrían proveer información al respecto.

En cuanto a las diferencias entre las comunidades de procariontes entre los diferentes estadios sucesionales no se observaron cambios claros en la composición de un estadio sucesional a otro en el gradiente, lo cual indica que algunos de los miembros de la comunidad procariótica

del tracto digestivo de *N. nigriceps* se comparten entre estadios sucesionales continuos. Este patrón coincide con el patrón sucesional reportado en otros estudios de comunidades microbianas del suelo (Zhao et al. 2019, Yeager et al. 2004, Ahman et al. 2013, Williams et al. 2013, Lozano et al. 2014, Guo et al. 2016). Este patrón sucesional de las comunidades microbianas del suelo se atribuye principalmente a los cambios en la vegetación y en las condiciones ambientales que se presentan durante la sucesión ecológica (Heijden et al. 2018, Hortal, 2013, Krishna, 2020), lo cual corresponde con los factores que pueden determinar la composición de la comunidad procariótica en el tracto digestivo de termitas discutidos anteriormente.

Es importante resaltar que los resultados presentados en este estudio, indican que las comunidades microbianas asociadas al tracto digestivo de *N. nigricipes* que se establecen a lo largo de un gradiente sucesional, ejemplifican parte de lo que sucede en la teoría macroecológica de la sucesión formulada a partir de estudios de plantas y animales en diferentes ecosistemas. Esta teoría postula que los organismos pioneros (estrategas r) que se establecen en los procesos de sucesión primaria recrean las condiciones ideales para abrir paso al establecimiento de nuevas especies (estrategas k) (Jurburg et al. 2017, Shade et al. 2018). En este sentido, existen estudios que han clasificado a diferentes grupos de bacterias como estrategias k o r con base en sus características de historia de vida y funcionales (Stenstrom et al. 2001, van Elsas et al. 2007, Fierer et al. 2007, Malý et al. 2009). Por ejemplo, respecto a las bacterias que habitan el suelo, las Gammaproteobacterias y Acidobacterias son reconocidas por incluir diversas especies estrategias r de rápido crecimiento en condiciones de limitación de nutrientes y condiciones ambientales limitantes que pueden ser abundante en varios tipos de suelos, mientras que las Betaproteobacterias, Bacteroidetes, Firmicutes y Actinobacterias incluyen diversas especies reconocidas como estrategias k que generalmente se establecen en sitios que presenten una mayor ventaja en termino de recursos medioambientales, mayor disponibilidad de nutrientes, menor variación ambiental, con poblaciones estables y mayor ventaja competitiva en condiciones sin limitación de recursos (Fierer et al. 2007). En este estudio, las Gammaproteobacterias (Moraxellaceae y Pseudomonaceae) y Acidobacterias (Micrococcaceae) fueron unos de los grupos bacterianos con mayor abundancia en el tracto digestivo de termitas colectadas en los primeros estadios sucesionales, mientras que las Actinobacterias y Firmicutes se presentaron en todos los estadios sucesionales. Estos dos últimos phyla bacterianos desempeñan funciones muy importantes para los insectos al auxiliar en la degradación de lignocelulosa y brindar protección contra patógenos, por lo que no resulta

extraño que se encuentren asociadas al tracto digestivo de las termitas colectadas en todos los estadios sucesionales. Por otro lado, aun cuando no existen estudios que permitan clasificar a Fibrobacteres y Spirochaetes como estrategias *k* o *r*, es posible que estos grupos procarióticos cuya abundancia disminuye considerablemente en los primeros estadios iniciales, representen estrategias *k* que requieren condiciones fisiológicas y de disponibilidad de nutrientes específicas para establecerse en el tracto digestivo de las termitas, lo cual explicaría los patrones de cambios en la abundancia observados. Sin embargo, se requieren estudios futuros que analicen cambios sucesionales en comunidades microbianas asociadas al tracto digestivo de insectos para confirmar las tendencias encontradas y generar un marco teórico sobre sucesión ecológica en estas comunidades de microorganismos.

Finalmente, los cambios en la comunidad procariota de termitas asociados a los diferentes estadios sucesionales pueden tener consecuencias importantes a nivel del ecosistema, que pueden incluir una disminución en la tasa de descomposición de materia orgánica en los estadios sucesionales iniciales, así como la eficiencia con la que se realiza el reciclaje ecológico y la fijación de nitrógeno a través de los microorganismos del tracto digestivo de insectos. Estos procesos son esenciales para el funcionamiento de los ecosistemas y mantenimiento de la biodiversidad, por lo cual es necesario considerar los resultados de estudios como el presente en planes de conservación y manejo de los ecosistemas.

9. CONCLUSIONES

- A partir de la secuenciación de la región 16S de la microbiota asociada al tracto digestivo de *N. nigriceps* colectadas en parcelas con diferente estadio sucesional (inicial, joven, avanzado y maduro), se identificaron 4,624 OTUs de los cuales 2,759 fueron asignados taxonómicamente a los Phyla: Fibrobacteres, Spirochaetes, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria, Plantomycetes y Synergistetes.
- Los Phyla procarióticos identificados presentan relación filogenética con los principales grupos de microorganismos procarióticos reportados para termitas del género *Nasutitermes*.
- En general, la diversidad alfa en cualquiera de las métricas utilizadas (número de OTUs, índice de Shannon e índice de equitatividad o de Pielou, e índice de diversidad filogenética) fue significativamente menor en los primeros estadios sucesionales (inicial y joven) en comparación con los estados finales del gradiente sucesional (avanzado y bosque maduro).
- La estructura de la comunidad (diversidad β) no mostro cambios estadísticamente significativos en la transición de un estadio sucesional a otro, indicando un gradiente sucesional en la composición de la comunidad de la microbiota. Sin embargo, se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre el estadio inicial y el bosque maduro, y entre el estadio inicial y el estado avanzado.
- Spirochaetes y Fibrobacteres disminuyeron en abundancia en los primeros estadios sucesionales (inicial y joven), mientras que las Acidobacterias y Gammaproteobacterias aumentaron en abundancia en estos estados sucesionales.
- Estos resultados indican que existe un proceso de sucesión ecológica en la comunidad de procariontes que residen en el tracto digestivo de termitas, y que el cambio de uso de suelo de bosque maduro a pastizal tiene un efecto negativo sobre la diversidad de la comunidad y sobre la abundancia de grupos procarióticos importantes para las termitas como Fibracteres y Spirochaetes, los cuales llevan a cabo funciones ecosistémicas importantes como degradación de materia orgánica y fijación de nitrógeno.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aa, J., Thomsen, K. J., Murray, A. S., Buylaert, J., Jain, M., & Breuning-madsen, H. (2015). Quaternary Geochronology Quanti fi cation of termite bioturbation in a savannah ecosystem : Application of OSL dating. *Quaternary Geochronology*, 30, 334–341. <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2015.02.026>
- Ackerman, I. L., Teixeira, W. G., Riha, S. J., Lehmann, J., & Fernandes, E. C. M. (2007). The impact of mound-building termites on surface soil properties in a secondary forest of Central Amazonia. *Applied Soil Ecology*, 37, 267–276. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2007.08.005>
- Ali, I. G., Ahmed, B. M. S., Sheridan, G., & French, J. R. J. (2016). The Effect of Termite Activity on Soil Profile in a Laboratory Test Tank. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 9(12), 97–108. <https://doi.org/10.9790/2380-09120297108>
- Allison, S. D., & Martiny, J. B. H. (2008). Resistance , resilience , and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(September 2008), 11512–11519. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801925105>
- Almazán-Núñez R. Carlos, del Coro Arizmendi María, E. E. y L. C. P. (2012). Changes in composition , diversity and structure of woody plants in successional stages of tropical dry forest in southwest Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83, 1096–1109. <https://doi.org/10.7550/rmb.30403>
- Altschup, S. F., Gish, W., Pennsylvania, T., & Park, U. (1990). Basic Local Alignment Search Tool. *J. Mol. Biol.*, 215, 403–410.
- Alvarez-Añorve, M. Y., Quesada, M., Sánchez-Azofeifa, G. A., Avila-Cabadilla, L. D., & Gamon, J. A. (2012). Functional regeneration and spectral reflectance of trees during succession in a highly diverse tropical dry forest ecosystem. *American journal of botany*, 99(5), 816-826.
- Ashton, L. A., Griffiths, H. M., Parr, C. L., Evans, T. A., Didham, R. K., Hasan, F., ... Eggleton, P. (2019). Termites mitigate the effects of drought in tropical rainforest. *Tropical Ecology*, 177(January), 174–177.
- Ayala-Orozco Bárbara, E. Gavito Mayra, Mora Francisco, Siddique Ilyas, Balvanera Patricia, J.Jaramillo Victor, cotler Helena, R.-D. P. L. y M.-M. E. (2016). Resilience of soil properties to land-use change in a tropical dry forest ecosystem. *Land Degradation & Development*, 52(443), 315–325. <https://doi.org/10.1002/ldr.2686>
- Aydogan, E. L., Moser, G., Müller, C., Kämpfer, P., & Glaeser, S. P. (2018). Long-term warming shifts the composition of bacterial communities in the phyllosphere of Galium album in a permanent grassland field-experiment. *Frontiers in microbiology*, 9, 144.
- Balvanera, P., E. Lott, G. Segura, C. Siebe y A. Islas. 2002. Patterns of β -diversity in a Mexican tropical dry forest. *Journal of Vegetation Science*. 13: 145–158.
- Bardgett, R. D., Caruso, T., & Bardgett, R. D. (2020). Soil microbial community responses to climate extremes : resistance , resilience and transitions to alternative states. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 375(1794). <https://doi.org/https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0112>

- Basset, Y., Cizek, L., Cuénoud, P., Didham, R. K., Missa, O., Novotny, V., ... Leponce, M. (2012). Supplementary Materials for Arthropod Diversity in a Tropical Forest. *Science*, 338(6113), 1481–1484. <https://doi.org/10.1126/science.1226727>
- Bastin, J., Berrahmouni, N., Grainger, A., Maniatis, D., Mollicone, D., Moore, R., ... Mamane, B. (2017). The extent of forest in dryland biomes. *Forest Ecology*, 638(May), 635–638.
- Benjamino, J., Lincoln, S., Srivastava, R., & Graf, J. (2018). Low-abundant bacteria drive compositional changes in the gut microbiota after dietary alteration. *Microbiome*, 6(1), 1–13.
- Bignell, D. E. (2006). Termites as soil engineers and soil processors. In *Intestinal microorganisms of termites and other invertebrates* (pp. 183-220). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Bignell, D. E. (2016). The role of symbionts in the evolution of termites and their rise to ecological dominance in the tropics. In *The Mechanistic Benefits of Microbial Symbionts* (pp. 121-172). Springer, Cham
- Bignell, D. E., Eggleton, P., Nunes, L., & Thomas, K. L. (1997). Termites as mediators of carbon fluxes in tropical forest: budgets for carbon dioxide and methane emissions. *Forests and insects*, 109-134.
- Bignell, D. E., Roisin, Y., & Lo, N. (2010). *Biology of termites: a modern synthesis* (Springer S).
- Borcard, D., Gillet, F., & Legendre, P. (2018). *Numerical ecology with R*. Springer.
- Bordier, C., Suchail, S., Pioz, M., Devaud, J. M., Charreton, M., Conte, Y. Le, & Alaux, C. (2016). Stress response in honeybees is associated with changes in task-related physiology and energetic metabolism. *Journal of Insect Physiology*. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.11.013>
- Boucias, D. G., Cai, Y., Sun, Y., Lietze, V. U., Sen, R., Raychoudhury, R., & Scharf, M. E. (2013). The hindgut lumen prokaryotic microbiota of the termite *Reticulitermes flavipes* and its responses to dietary lignocellulose composition. *Molecular Ecology*, 22(7), 1836–1853. <https://doi.org/10.1111/mec.12230>
- Boulogne, I., Constantino, R., Amusant, N., Rodrigues, A. M. S., & Houe, E. (2016). Ecology of termites from the genus *Nasutitermes* (Termitidae: Nasutitermitinae) and potential for science-based development of sustainable pest management programs. *Journal of Pest Science*, 90, 19–37. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0796-x>
- Bourguignon, T., Drouet, T., Jan, Š., & Hanus, R. (2015). Influence of Soil Properties on Soldierless Termite Distribution. *PLoS ONE*, 10(8), e0135341. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135341>
- Breznak, J. a, & Brune, A. (1994). Role of microorganisms in the digestion of lignocellulose by termites. *Annual Reviews of Entomology*, 39.
- Brune, A. N. D. R. E. A. S. (2006). Symbiotic associations between termites and prokaryotes. *Prokaryotes*, 1, 439-474

- Brune, A., & Dietrich, C. (2015). The Gut Microbiota of Termites: Digesting the Diversity in the Light of Ecology and Evolution. *Annual Review of Microbiology*, 69(1), 145–166. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155715>
- Brune, A., & Kühl, M. (1996). pH profiles of the extremely alkaline hindguts of soil-feeding termites (Isoptera: Termitidae) determined with microelectrodes. *Journal of Insect Physiology*, 42(11–12), 1121–1127. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(96\)00036-4](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(96)00036-4)
- Brune, A., & Ohkuma, M. (2010). Role of the termite gut microbiota in symbiotic digestion. In *Biology of termites: a modern synthesis* (pp. 439–475). Springer, Dordrecht.
- Brune, A., & Ohkuma, M. (2011). Role of the Termite Gut Microbiota in Symbiotic Digestion. In *Biology of termites: a modern synthesis* (Springer, pp. 439–475). <https://doi.org/10.1007/978-90-481-3977-4>
- Brune, A., & Pester, M. (2005). In situ measurements of metabolite fluxes: microinjection of radiotracers into insect guts and other small compartments. *Methods in enzymology*, 397, 200–212.
- Brune, A., Emerson, D., & Breznak, J. A. (1995). The termite gut microflora as an oxygen sink: Microelectrode determination of oxygen and pH gradients in guts of lower and higher termites. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(7), 2681–2687.
- Bullock, S. H. y J. A. Solis-Magallanes. 1990. Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica*. 22: 22–35.
- Butterly, C. R., Phillips, L. A., Wiltshire, J. L., Franks, A. E., Armstrong, R. D., Chen, D., ... Tang, C. (2016). Soil Biology & Biochemistry Long-term effects of elevated CO₂ on carbon and nitrogen functional capacity of microbial communities in three contrasting soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 97, 157–167. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.03.010>
- Buxton, R. D., Ecology, A., & Road, S. P. (1981). Termites and the Turnover of Dead Wood in an Arid Tropical Environment. *Oecologia*, 51, 379–384.
- Callahan, B. J., Mcmurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Camargo J.L.C., Kapos, V. (1995). Complex edge effects on soil-moisture and microclimate in Central Amazonian. *Journal of Tropical Ecology*, 11(2), 205–221. <https://doi.org/10.1017/S026646740000866X>
- Cariveau, D. P., Powell, J. E., Koch, H., Winfree, R., & Moran, N. A. (2014). Variation in gut microbial communities and its association with pathogen infection in wild bumble bees (*Bombus*). *The ISME Journal*, 2369–2379. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.68>
- Castillo Alicia, Vega rivera H. Jorge, Pérez-Escobedo Marcela, Romo Díaz Gbriela, L.-C. G. y A.-O. B. (2018). Linking social – ecological knowledge with rural communities in Mexico : lessons and challenges toward sustainability. *Ecosphere*, 9(10), e02470. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2470>

- Castresana, J. (2000). Selection of Conserved Blocks from Multiple Alignments for Their Use in Phylogenetic Analysis. *Molecular Biology and Evolution*, 17(4), 540–552.
- Ceballos, G., A. Székely, A. García, P. Rodríguez y F. Noguera. 1999. Programa de manejo de la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala. Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAP. México. 130 pp.
- Chao, Y., Liu, W., Chen, Y., Chen, W., Zhao, L., Ding, Q., ... Qiu, R. (2016). Structure, Variation, and Co-occurrence of Soil Microbial Communities in Abandoned Sites of a Rare Earth Elements Mine. *Environmental Science & Technology*, 50(21), 11481–11490.
- Collins N.M. (1981). The Role of Termites in the Decomposition of Wood and Leaf Litter in the Southern Guinea Savanna of Nigeria. *Oecologia*, 51, 389–399.
- Colman, D. R., Toolson, E. C., & Takacs-Vesbach, C. D. (2012). Do diet and taxonomy influence insect gut bacterial communities? *Molecular Ecology*, 21(20), 5124–5137. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05752.x>
- Cotler, H., E. Durán y C. Siebe. 2002. Caracterización morfo-edafológica y calidad de sitio de un bosque tropical caducifolio. In: Noguera, F. A., J. H. Vega Rivera, A. N. García Aldrete y M. Quesada-Avenidaño (eds.). Historia natural de Chamela. Instituto de Biología, UNAM. México. pp. 17–79.
- Curtis, A. D., & Waller, D. A. (1998). Seasonal patterns of nitrogen fixation in termites. *Functional Ecology*, 12(5), 803–807.
- Daffre, S., Kylsten, P., Samakovlis, C., & Hultmark, D. (1994). The lysozyme locus in *Drosophila melanogaster*: an expanded gene family adapted for expression in the digestive tract. *Molecular and General Genetics MGG*, 242(2), 152–162.
- Dahlsjö, C. A. L., Parr, C. L., Malhi, Y., Rahman, H., Meir, P., Jones, D. T., ... Eggleton, P. (2014). of Tropical Ecology: First comparison of quantitative estimates of termite biomass and abundance reveals strong intercontinental differences. *Journal of Tropical Ecology*, 30(02), 143–152. <https://doi.org/10.1017/S0266467413000898>
- Dahlsjö, C. A. L., Parr, C. L., Malhi, Y., Rahman, H., Meir, P., Jones, D. T., ... Eggleton, P. (2014). First comparison of quantitative estimates of termite biomass and abundance reveals strong intercontinental differences. *Journal of Tropical Ecology*, 30(02), 143–152. <https://doi.org/10.1017/S0266467413000898>
- DeFries, R., Hansen, A., Newton, A. C., & Hansen, M. C. (2005). Increasing isolation of protected areas in tropical forests over the past twenty years. *Ecological applications*, 15(1), 19-26.
- Desai, M. S., & Brune, A. (2012). Bacteroidales ectosymbionts of gut flagellates shape the nitrogen-fixing community in dry-wood termites. *The ISME Journal*, 6(7), 1302–1313. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.194>
- Dietrich, C., Köhler, T., Brune, A., Dietrich, C., Köhler, T., & Brune, A. (2014). The Cockroach Origin of the Termite Gut Microbiota: Patterns in. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(7), 2261–2269. <https://doi.org/10.1128/AEM.04206-13>

- Dillon R.J., Vennard, A. B. and C. A. K. (2005). Diversity of locust gut bacteria protects against pathogen invasion. *Ecology Letters*, 8(12), 1291–1298. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00828.x>
- Diouf, M., Miambi, E., Mora, P., Frechault, S., Robert, A., & Rouland-lef, C. (2018). Variations in the relative abundance of Wolbachia in the gut of Nasutitermes arborum across life stages and castes. *FEMS Microbiology Letters*, 365(February), 1–9. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny046>
- Donovan, S. E., Griffiths, G. J., Homathevi, R., & Winder, L. (2007). The spatial pattern of soil-dwelling termites in primary and logged forest in Sabah, Malaysia. *Ecological Entomology*, 1, 1–10. Retrieved from <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2006.00856.x>
- Downing, T. E. (Ed.). (2019). *Development Or Destruction: The Conversion Of Tropical Forest To Pasture In Latin America*. Routledge.
- Eggleton Paul, Bignell D. E., Sands W.A., Waites B., Wood T.G., and L. J. H. (2013). The species richness of termites (Isoptera) under levels of forest disturbance in the differing Mbalmayo Forest Reserve, southern Cameroon. *Journal of Tropical Ecology*, 11(1), 85–98.
- Eggleton, P. (2010). An introduction to termites: biology, taxonomy and functional morphology. In *Biology of termites: a modern synthesis* (pp. 1-26). Springer, Dordrecht.
- Eggleton, P., & Tayasu, I. (2001). Feeding groups, lifetypes and the global ecology of termites. *Ecological Research*, 16(5), 941–960. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1703.2001.00444.x>
- Eggleton, P., Homathevi, R., Jones, D. T., Macdonald, J. A., Jeeva, D., Bignell, D. E., ... Jeeva, D. (1999). Termite assemblages, forest disturbance and greenhouse gas fluxes in Sabah, East Malaysia. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 354(1391), 1791–1802. <https://doi.org/10.1098/rstb.1999.0521>
- Engel, P., & Moran, N. A. (2013). The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 699–735. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12025>
- Ernakovich, J. G., Evans, T. A., Macdonald, B., & Farrell, M. (2016). The effect of ecosystem engineers on N cycling in an arid agroecosystem. *Agriculture & Food*, (December), 3–6.
- Estaki, M., Jiang, L., Bokulich, N. A., Mcdonald, D., González, A., Kosciolk, T., ... Bolyen, E. (2020). QIIME 2 Enables Comprehensive End-to-End Analysis of Diverse Microbiome Data and Comparative Studies with Publicly Available Data. *Current Protocols in Bioinformatics*, 70(1), e100. <https://doi.org/10.1002/cpbi.100>
- Evangelista, D. A., Wipfler, B., Be, O., Donath, A., Fujita, M., Kohli, M. K., ... Simon, S. (2019). An integrative phylogenomic approach illuminates the evolutionary history of cockroaches and termites (Blattodea). *Proceedings of the Royal Society B*, 286(1895), 20182076.
- Fehling-fraser, T. C., & Ceccon, E. (2015). Macropropagation of Erythrina americana in a greenhouse: a potential tool for seasonally dry tropical forest restoration. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 21(Apa 6), 5–16. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2014.04.016>

- Fierer, N., Bradford, M. A., & Jackson, R. B. (2007). Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 88(6), 1354-1364.
- Forest, D., & Finn, D. R. (2019). Land Use and Seasonal Effects on the Soil Microbiome of a Brazilian. *Frontiers in Microbiology*, 10(April), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00648>
- Gerischer U (editor). (2008). *Acinetobacter Molecular Biology* (1st ed. edición). Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-20-2.
- Grieco, M. B., Lopes, F. A. C., Oliveira, L. S., Tschoeke, D. A., Popov, C. C., Souza, W. De, & Thompson, F. L. (2019). Metagenomic Analysis of the Whole Gut Microbiota in Brazilian Termitidae Termites *Cornitermes cumulans* , *Cyrtillitermes strictinatus* ,. *Current Microbiology*, 0(0), 0. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01662-3>
- Group, I. B. (2005). Marked variations in patterns of cellulase activity against crystalline- vs carboxymethyl-cellulose in the digestive systems of diverse, wood-feeding termites. *Physiological Entomology*, 30, 372–380. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2005.00473.x>
- Hammer, T. J., Janzen, D. H., Hallwachs, W., Jaffe, S. P., & Fierer, N. (2017). Caterpillars lack a resident gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(36), 9641–9646. <https://doi.org/10.1073/pnas.1707186114>
- Hansen, M. C., Stehman, S. V., & Potapov, P. V. (2010). Quantification of global gross forest cover loss. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(19), 8650–8655. <https://doi.org/10.1073/pnas.0912668107>
- Harrington Nyirenda, E. P. S. A., P. W. C., C. G., F. W. N. (2019). The effect of land use change and management on the vegetation characteristics and termite distribution in Malawian Miombo woodland agroecosystem. *Agroforestry Systems*, 93(6), 2331–2343. <https://doi.org/10.1007/s10457-019-00358-8>
- He, S., Ivanova, N., Kirton, E., Allgaier, M., Bergin, C., Scheffrahn, R. H., ... Hugenholtz, P. (2013). Comparative Metagenomic and Metatranscriptomic Analysis of Hindgut Paunch Microbiota in Wood- and Dung-Feeding Higher Termites. *PLoS ONE*, 8(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061126>
- Higashi, M., Abe, T., & Burns, T. P. (1992). Carbon—nitrogen balance and termite ecology. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 249(1326), 303–308.
- Hkuma, M. O., Oda, S. N., Ongoh, Y. H., & Udo, T. K. (2002). Diverse Bacteria Related to the Bacteroides Subgroup of the CFB Phylum within the Gut Symbiotic Communities of Various Termites. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 66(1), 78–84.
- Hoekstra, J. M., & Ricketts, T. H. (2005). Confronting a biome crisis: global disparities of habitat loss and protection. *Ecology Letters*, 8(1), 23–29. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00686.x>
- Holt, J. A. (1987). Carbon mineralization in semi-arid northeastern Australia: the role of termites. *Journal of Tropical Ecology*, 3(3), 255–263.

- Hongoh, Y., Deevong, P., Hattori, S., Inoue, T., Noda, S., Noparatnaraporn, N., ... Ohkuma, M. (2006). Phylogenetic Diversity, Localization, and Cell Morphologies of Members of the Candidate Phylum TG3 and a Subphylum in the Phylum Fibrobacteres, Recently Discovered Bacterial Groups Dominant in Termite Guts □ †. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(10), 6780–6788. <https://doi.org/10.1128/AEM.00891-06>
- Hongoh, Y., Deevong, P., Inoue, T., Moriya, S., Trakulnaleamsai, S., Ohkuma, M., ... Kudo, T. (2005). Intra- and Interspecific Comparisons of Bacterial Diversity and Community Structure Support Coevolution of Gut Microbiota and Termite Host Intra- and Interspecific Comparisons of Bacterial Diversity and Community Structure Support Coevolution of Gut Micro. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(11), 6590–6599. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.6590>
- Hongoh, Y., Sato, T., Noda, S., Ui, S., Kudo, T., & Ohkuma, M. (2007). Brief report Candidatus Symbiothrix dinenymphae : bristle-like Bacteroidales ectosymbionts of termite gut protists. *Environmental Microbiology*, 9(10), 2631–2635. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01365.x>
- Hultmark D. Insect lysozymes. *EXS*. 1996;75:87-102. doi: 10.1007/978-3-0348-9225-4_6. PMID: 8765296
- Hurt, G. C., Chini, L. P., Frohling, S., Betts, R. A., Feddema, J., & Fischer, G. (2011). Harmonization of land-use scenarios for the period 1500 – 2100 : 600 years of global gridded annual land-use transitions , wood harvest , and resulting secondary lands. *Climatic Change*, 109, 117–161. <https://doi.org/10.1007/s10584-011-0153-2>
- Hussin, N. A., Zarkasi, K. Z., Hafiz, A., & Majid, A. (2018). Characterization of gut bacterial community associated with worker and soldier castes of *Globitermes sulphureus* Haviland (Blattodea: Termitidae) using 16S rRNA metagenomic. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 21(4), 1268–1274. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2018.10.002>
- Huston, M., & Smith, T. (1987). Plant succession: life history and competition. *The American Naturalist*, 130(2), 168-198.
- Inoue, T., Moriya, S., Ohkuma, M., & Kudo, T. (2005). Molecular cloning and characterization of a cellulase gene from a symbiotic protist of the lower termite , *Coptotermes formosanus*. *Gene*, 349, 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2004.11.048>
- Inward, D., Beccaloni, G., & Eggleton, P. (2007). Death of an order : a comprehensive molecular phylogenetic study confirms that termites are eusocial cockroaches. *Biology Letters*, 2(3), 331–335. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2007.0102>
- Jaramillo, J., & Pe, A. (2007). Structure and diversity of secondary tropical dry forests in Mexico , differing in their prior land-use history. *Forest Ecology and Management*, 253, 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.07.002>
- Jaramillo, V. J., & Murray-Tortarolo, G. N. (2019). Tropical dry forest soils: global change and local-scale consequences for soil biogeochemical processes. In *Developments in Soil Science* (Vol. 36, pp. 109-130). Elsevier.

- Jouquet, P., Guilleux, N., Caner, L., Chintakunta, S., Ameline, M., & Shanbhag, R. R. (2016). Influence of soil pedological properties on termite mound stability. *Geoderma*, 262, 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.08.020>
- Jouquet, P., Traoré, S., Choosai, C., Hartmann, C., & Bignell, D. (2011). Influence of termites on ecosystem functioning. Ecosystem services provided by termites. *European Journal of Soil Biology*, 47(4), 215–222. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2011.05.005>
- Julissa, O.-C. (2016). *Movimiento de semillas por escarabajos coprófagos (Coleoptera : Scarabaeinae) en un bosque tropical seco de México*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Jurburg, S. D., Nunes, I., Stegen, J. C., Le Roux, X., Priemé, A., Sørensen, S. J., & Salles, J. F. (2017). Autogenic succession and deterministic recovery following disturbance in soil bacterial communities. *Scientific Reports*, 7(1), 1-11.
- Kaiser, D., Lepage, M., Konaté, S., & Eduard, K. (2017). Agriculture, Ecosystems and Environment Ecosystem services of termites (Blattoidea : Termitoidea) in the traditional soil restoration and cropping system Zaï in northern Burkina Faso (West Africa). “*Agriculture, Ecosystems and Environment*,” 236, 198–211. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.11.023>
- Kambhampati & Eggleton 2000: Kambhampati, S., & Eggleton, P. (2000). Taxonomy and phylogeny of termites. In *Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology* (pp. 1-23). Springer, Dordrecht
- Kandasami K. Ramesh, Borgues M. Renne, M. T. G. (2016). Effect of biocementation on the strength and stability of termite mounds. *Environmental Geotechnics*, 3(2), 99–113. <https://doi.org/10.1680/jenge.15.00036>
- Kappler, A., & Brune, A. (1999). Influence of gut alkalinity and oxygen status on mobilization and size-class distribution of humic acids in the hindgut of soil-feeding termites. *Applied Soil Ecology*, 13(3), 219–229. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(99\)00035-9](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(99)00035-9)
- Kikuchi, Y., Hayatsu, M., Hosokawa, T., Nagayama, A., & Tago, K. (2012). Symbiont-mediated insecticide resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(22), 8618–8622. <https://doi.org/10.1073/pnas.1200231109> /DCSupplemental.www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1200231109
- Kikuchi, Y., Tada, A., Musolin, D. L., Hari, N., Hosokawa, T., & Fujisaki, K. (2016). Collapse of Insect Gut Symbiosis under Simulated Climate Change. *American Society for Microbiology*, 7(5), 1–8. <https://doi.org/10.1128/mBio.01578-16>.Editor
- Köhler, T., Dietrich, C., Scheffrahn, R. H., & Brune, A. (2012). High-resolution analysis of gut environment and bacterial microbiota reveals functional compartmentation of the gut in wood-feeding higher termites (*Nasutitermes* spp.). *Applied and Environmental Microbiology*, 78(13), 4691–4701. <https://doi.org/10.1128/AEM.00683-12>
- Köhler, T., Stingl, U., Meuser, K., & Brune, A. (2008). Novel lineages of Planctomycetes densely colonize the alkaline gut of soil-feeding termites (*Cubitermes* spp.). *Environmental Microbiology*, 10(5), 1260–1270. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01540.x>

- Koichiro Tamura, Glen Stecher, Daniel Peterson, Alan Filipowski, and Sudhir Kumar (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 2725–2729.
- Kolb, M., Gerritsen, P. R. W., Gardu, G., Chavero, E. L., & Quijas, S. (2018). Land Use and Cover Change Modeling as an Integration Framework: A Mixed Methods Approach for the Southern Coast of Jalisco (Western Mexico) Perceptions Participatory models Mexico. In *Geomatic Approaches for Modeling Land Change Scenarios* (pp. 241–268).
- Konaté, S., Roux, X. L. E., Verdier, B., & Lepage, M. (2003). Effect of underground fungus-growing termites on carbon dioxide emission at the point- and landscape-scales in an African savanna. *Functional Ecology*, 17(1979), 305–314.
- Krishna, K., Grimaldi, D. A., Krishna, V., & Engel, M. S. (2013). Treatise on the Isoptera of the World: Termitidae (Part Two). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 2013(377), 1495–1989.
- Kundu, P., Manna, B., Majumder, S., & Ghosh, A. (2019). Species-wide Metabolic Interaction Network for Understanding Natural Lignocellulose Digestion in Termite Gut Microbiota. *Scientific Reports*, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52843-w>
- Kutalova, K., Rodrigues, B., & Brotha, M. (2015). The nature of alarm communication in *Constrictotermes cyphergaster* (Blattodea : Termitoidea : Termitidae): the integration of chemical and vibroacoustic signals. *The Company of Biologists*, 4, 1649–1659. <https://doi.org/10.1242/bio.014084>
- Lamoureux S., O. M. A. (2018). Effects of termites on soil cover system performance. *Proceedings of the Seventh International Conference on Mine Closure. Australian Centre for Geomechanics*, (September 2012), 433–446.
- Lazos-chavero, E., Zinda, J., Bennett-curry, A., Balvanera, P., Bloomfield, G., & Lindell, C. (2016). Stakeholders and tropical reforestation: challenges, trade-offs, and strategies in dynamic environments. *The Association for Tropical Biology and Conservation*, 48(6), 900–914.
- Lebrija-trejos, E., Meave, J. A., Poorter, L., Pérez-garcía, E. A., & Bongers, F. (2010). Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics Pathways, mechanisms and predictability of vegetation change during tropical dry forest succession. *Journal of PPEES Sources*, 12(4), 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2010.09.002>
- Lebrija-Trejos, E., Pérez-García, E. A., Meave, J. A., Bongers, F., & Poorter, L. (2010). Functional traits and environmental filtering drive community assembly in a species-rich tropical system. *Ecology*, 91(2), 386–398.
- Lefebvre T., Miambi E., Pando A. Diouf M., R.-L. C. (2009). Gut-specific actinobacterial community structure and diversity associated with the wood-feeding termite species , *Nasutitermes corniger* (Motschulsky) described by nested PCR-DGGE analysis. *Insectes Sociaux*, 56(3), 269–276. <https://doi.org/10.1007/s00040-009-0020-6>
- Lemoine, M. M., Engl, T., & Kaltenpoth, M. (2020). ScienceDirect Microbial symbionts expanding or constraining abiotic niche space in insects. *Current Opinion in Insect Science*, 39, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2020.01.003>

- Letunic, I., & Bork, P. (2019). Interactive Tree Of Life (iTOL) v4 : recent updates and. *Nucleic Acids Research*, 47(April), 256–259. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz239>
- Liao, Y., Chen, H., Lu, S., Xie, Y., & Zhang, D. (2018). The complete mitochondrial genome of drywood termite, *Incisitermes minor* (Isoptera : Kalotermitidae). *Mitochondrial DNA Part B: Resources*, 3(1), 324–325. <https://doi.org/10.1080/23802359.2017.1422397>
- Lilburn, T. G. (2014). Nitrogen fixation by symbiotic and free-living spirochetes. *Science*, 292(5526), 2495–2498. <https://doi.org/10.1126/science.1060281>
- Lima, S. S. De, Pereira, M. G., Lopes, G., Pontes, R. D. M., & Diniz, A. R. (2018). Soil Physical and Chemical Properties in Epigeal Termite Mounds in Pastures. *Floresta e Ambiente*, 25(1), 1–8.
- Linares-palomino, R., Oliveira-filho, A. T., & Pennington, R. T. (2006). Neotropical Seasonally Dry Forests : Diversity , Endemism , and Biogeography of Woody Plants. In *Seasonally dry tropical forests* (Island Pre, pp. 3–21). <https://doi.org/10.5822/978-1-61091-021-7>
- Linares-Palomino, R., Oliveira-Filho, A. T., & Pennington, R. T. (2011). Neotropical seasonally dry forests: diversity, endemism, and biogeography of woody plants. In *Seasonally dry tropical forests* (pp. 3-21). Island Press, Washington, DC.
- Liu, N., Li, H., Chevrette, M. G., Zhang, L., Cao, L., Zhou, H., ... Wang, Q. (2019). Functional metagenomics reveals abundant polysaccharide- degrading gene clusters and cellobiose utilization pathways within gut microbiota of a wood-feeding higher termite. *The ISME Journal*, 104–117. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0255-1>
- Liu, N., Zhang, L., Zhou, H., Zhang, M., Yan, X., Wang, Q., ... Zhou, Z. (2013). Metagenomic Insights into Metabolic Capacities of the Gut Microbiota in a Fungus-Cultivating Termite (*Odontotermes yunnanensis*). *PLoS ONE*, 8(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069184>
- Lohbeck, M., Poorter, L., Paz, H., Pla, L., Breugel, M. Van, Martínez-ramos, M., & Bongers, F. (2012). Perspectives in Plant Ecology , Evolution and Systematics Functional diversity changes during tropical forest succession. *Journal of PPEES Sources*, 14(2), 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2011.10.002>
- Lott, E. J. 1993. Annotated checklist of the vascular flora of the Chamela bay region, Jalisco, Mexico. Occasional Papers of the California Academy of Sciences. 148: 1–60.
- Lott, E. J. 2002. Lista anotada de las plantas vasculares de Chamela- Cuixmala. In: Noguera, F. A., J. H. Vega Rivera, A. N. García Aldrete y M. Quesada-Avendaño (eds.). Historia natural de Chamela. Instituto de Biología, UNAM. México. pp. 199–136.
- Lott, E. J., S. H. Bullock y J. A. Solis-Magallanes. 1987. Floristic diversity and structure of upland and arroyo forests of coastal Jalisco. *Biotropica*. 19: 228–235.
- Lott, E. J., y T. H. Atkinson. 2002. Biodiversidad y fitogeografía de Chamela-Cuixmala, Jalisco. In: Noguera, F. A., J. H. Vega Rivera, A. N. García Aldrete y M. Quesada-Avendaño (eds.). Historia natural de Chamela. Instituto de Biología, UNAM. México. pp. 83–98.

- Malý, S., Královec, J., & Hampel, D. (2009). Effects of long-term mineral fertilization on microbial biomass, microbial activity, and the presence of r- and K-strategists in soil. *Biology and fertility of soils*, 45(7), 753-760.
- Mandal, S., Treuren, W. Van, White, R. A., Eggesbø, M., Peddada, S. D., Mandal, S., ... Eggesbø, M. (2015). Analysis of composition of microbiomes: a novel method for studying microbial composition. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26(1), 27663. <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.27663>
- Martí, A., Balvanera, P., Pe, D., & Rendo, H. (2009). Forest Ecology and Management Selective cutting of woody species in a Mexican tropical dry forest : Incompatibility between use and conservation. *Forest Ecology and Management*, 257, 567–579. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.09.031>
- Matsumoto, T. A. and T. (1979). Studies on the distribution and ecological role of termites in a lowland rain forest of west Malaysia:(3) Distribution and abundance of termites in Pasoh Forest Reserve. *The Ecological Society of Japan*, 29, 337–351.
- Maza-villalobos, S., Balvanera, P., & Mart, M. (2011). Early Regeneration of Tropical Dry Forest from Abandoned Pastures : Contrasting Chronosequence and Dynamic Approaches. *Biotropica*, 43(6), 666–675.
- Mcauliffe, J. R., Hoffman, M. T., Mcfadden, L. D., Bell, W., Jack, S., King, M. P., ... Africa, S. (2018). Landscape patterning created by the southern harvester termite , *Microhodotermes viator* : Spatial dispersion of colonies and alteration of soils. *Journal of Arid Environments*, 3(July), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2018.11.010>
- Mcmurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq : An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE*, 8(4), e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Michael Pester. (2006). *Hydrogen metabolism in the hindgut of lower termites*. Philipps-Universität Marburg.
- Mikaelyan, A., Dietrich, C., Köhler, T., Poulsen, M., Sillam-Dussès, D., & Brune, A. (2015). Diet is the primary determinant of bacterial community structure in the guts of higher termites. *Molecular Ecology*, 24(20), 5284–5295. <https://doi.org/10.1111/mec.13376>
- Mikaelyan, A., Köhler, T., Lampert, N., Rohland, J., Boga, H., Meuser, K., & Brune, A. (2015). Classifying the bacterial gut microbiota of termites and cockroaches: A curated phylogenetic reference database (DictDb). *Systematic and Applied Microbiology*, 38(7), 472–482. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2015.07.004>
- Mikaelyan, A., Meuser, K., & Brune, A. (2017). Microenvironmental heterogeneity of gut compartments drives bacterial community structure in wood- and humus-feeding higher termites. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(1), fiw210. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw210>
- Mikaelyan, A., Strassert, J. F. H., Tokuda, G., & Brune, A. (2014). The fibre-associated cellulolytic bacterial community in the hindgut of wood-feeding higher termites (*Nasutitermes* spp.). *Environmental Microbiology*, 9, 2711–2722. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12425>

- Miles, L., Newton, A. C., Defries, R. S., Ravilious, C., May, I., Blyth, S., ... Gordon, J. E. (2006). A global overview of the conservation status of tropical dry forests. *Journal of Biogeography*, 33(3), 491–505. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2005.01424.x>
- Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2011). Creating the CIPRES Science Gateway for Inference of Large Phylogenetic Trees. *2010 Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*.
- Moreira, E. A., Alvarez, T. M., Persinoti, G. F., Antonio, D., Paixão, A., Menezes, L. R., ... Tiago, L. (2018). Microbial Communities of the Gut and Nest of the Humus- and Litter-Feeding Termite *Procornitermes araujoi* (Syntermitinae). *Current Microbiology*, 75(12), 1609–1618. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1567-0>
- Mugleston, J. D., Song, H., & Whiting, M. F. (2013). Molecular Phylogenetics and Evolution A century of paraphyly: A molecular phylogeny of katydids (Orthoptera : Tettigoniidae) supports multiple origins of leaf-like wings. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69(3), 1120–1134. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.07.014>
- Mujinya, B. B., Ranst, E. Van, Verdoodt, A., Baert, G., & Ngongo, L. M. (2010). Geoderma Termite bioturbation effects on electro-chemical properties of Ferralsols in the Upper Katanga (D.R.Congo). *Geoderma*, 158(3–4), 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2010.04.033>
- Murphy, P. G. (1986). ECOLOGY OF TROPICAL DRY. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17(1), 67–88.
- Murray-tortarolo, G. N. (2019). Tropical dry forest soils: global change and local-scale consequences for soil biogeochemical processes. In *Developments in Soil Science* (Vol. 2). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63998-1.00007-0>
- Myer, A., & Forschler, B. T. (2018). Evidence for the Role of Subterranean Termites (Reticulitermes spp .) in Temperate Forest Soil Nutrient Cycling. *Ecosystems*. <https://doi.org/10.1007/s10021-018-0291-8>
- Nalepa, C. A., Bignell, D. E., & Bandi, C. (2001). Detritivory , coprophagy , and the evolution of digestive mutualisms in Dictyoptera. *Insectes Sociaux*, 48, 194–201.
- Nardi, J. B., Mackie, R. I., & Dawson, J. O. (2002). Could microbial symbionts of arthropod guts contribute significantly to nitrogen fixation in terrestrial ecosystems? *Journal of Insect Physiology*, Vol. 48, pp. 751–763. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(02\)00105-1](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(02)00105-1)
- Neef, A. (2020). Bosques tropicales perdidos por acaparamiento de tierras. *Nature Geoscience* , 13 (7), 460-461.
- Newbold, T., Hudson, L. N., Hill, S. L. L., Contu, S., & Lysenko, I. (2015). Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. *Nature*, 520(7545), 45–50. <https://doi.org/10.1038/nature14324>
- NICKLE, D. A., & COLLINS, M. S. (1988). The termite fauna (Isoptera) in the vicinity of Chamela, State of Jalisco, Mexico. *Folia Entomologica Mexicana*, (77), 85-122.

- Nielsen N. Uffe, B. A. B. (2015). Impacts of altered precipitation regimes on soil communities and biogeochemistry in arid and semi-arid ecosystems. *Global Change Biology*, 21, 1407–1421. <https://doi.org/10.1111/gcb.12789>
- Nobles, S., & Jackson, C. R. (2020). Effects of Life Stage, Site, and Species on the Dragonfly Gut Microbiome. *Microorganisms*, 8(2), 183.
- Nobre, N. I. A., Hansen, L. H., Otani, S., & Mikaelyan, A. (2014). Identifying the core microbial community in the gut of fungus-growing termites. *Molecular Ecology*, 23(18), 4631–4644. <https://doi.org/10.1111/mec.12874>
- Noda, S., Ohkuma, M., Usami, R. O. N., & Horikoshi, K. (1999). Culture-Independent Characterization of a Gene Responsible for Nitrogen Fixation in the Symbiotic Microbial Community in the Gut of the Termite *Neotermes koshunensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(11), 4935–4942.
- Noguera, F.A., J.H. Vega-Rivera, N. García-Aldrete y M. Quesada-Avenidaño. 2002. Geología y geofísica de la costa de Jalisco. In: Noguera, F. A., J. H. Vega Rivera, A. N. García Aldrete y M. Quesada-Avenidaño (eds.). Historia natural de Chamela. Instituto de Biología UNAM. México. pp. 11–17.
- Noirot, C. (2001). The gut of Termites (Isoptera) comparative anatomy, systematics, phylogeny. II. Higher Termites (Termitidae). In *Annales de la Société entomologique de France* (Vol. 37, No. 4, pp. 431-471).
- Oda, S. A. N., Hkuma, M. O. O., & Udo, T. O. K. (2002). Nitrogen Fixation Genes Expressed in the Symbiotic Microbial Community in the Gut of the Termite *Coptotermes formosanus*. *Microbes and Environments*, 17(3), 139–143.
- Ohkuma, M., & Kudo, T. (1996). Phylogenetic Diversity of the Intestinal Bacterial Community in the Termite *Reticulitermes speratus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(2), 461–468.
- Ohkuma, M., Noda, S., & Kudo, T. (1999). Phylogenetic Diversity of Nitrogen Fixation Genes in the Symbiotic Microbial Community in the Gut of Diverse Termites. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(11), 4926–4934.
- Ohkuma, M., Noda, S., Usami, R. O. N., & Horikoshi, K. (1996). Diversity of Nitrogen Fixation Genes in the Symbiotic Intestinal Microflora of the Termite *Reticulitermes speratus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(8), 2747–2752.
- Pal, L., Mrkonji, M., Resman, L., Leskovec, S., Hacin, J., Stopar, D., ... Mandic-mulec, I. (2008). Influence of temperature and soil water content on bacterial, archaeal and denitrifying microbial communities in drained fen grassland soil microcosms. *FEMS Microbiology Ecology*, 66, 110–122. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00555.x>
- Park, C., At, W., York, N. E. W., Engel, M. S., Grimaldi, D. A., & Krishna, K. (2009). Termites (Isoptera): Their Phylogeny , Classification , and Rise to Ecological Dominance. *American Museum Novitates*, (3650), 1–27.

- Pasternak, Z., Al-ashhab, A., Gatica, J., Gafny, R., Avraham, S., & Minz, D. (2013). Spatial and Temporal Biogeography of Soil Microbial Communities in Arid and Semiarid Regions. *PLoS ONE*, 8(7), e69705. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069705>
- Pennington, R. T., Lavin, M., & Oliveira-filho, A. (2009). Woody Plant Diversity, Evolution, and Ecology in the Tropics: Perspectives from Seasonally Dry Tropical Forests. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 437–457. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120327>
- Pester, M., & Brune, A. (2007). Hydrogen is the central free intermediate during lignocellulose degradation by termite gut symbionts. *ISME Journal*, 1(6), 551–565. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.62>
- Peters, M. K., Hemp, A., Appelhans, T., Becker, J. N., Behler, C., Classen, A., ... Kuzyakov, Y. (2019). Climate–land-use interactions shape tropical mountain biodiversity and ecosystem functions. *Nature*, 568(7750), 88–92. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1048-z>
- Portillo-Quintero A.C., Y. S.-A. G. A. (2010). Extent and conservation of tropical dry forests in the Americas. *Biological Conservation*, 143(1), 144–155. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.09.020>
- Powers, J. S., & Mar, E. (2017). Ecosystem Processes and Biogeochemical Cycles in Secondary Tropical Forest Succession. *Annual Review Of Ecology, Evolution, and Systematics*, (August), 497–519.
- Prado, S. S., Hung, K. Y., Daugherty, M. P., & Almeida, R. P. P. (2010). Indirect Effects of Temperature on Stink Bug Fitness , via Maintenance of Gut-Associated Symbionts. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(4), 1261–1266. <https://doi.org/10.1128/AEM.02034-09>
- Prestwich, G. D., & Bentley, B. L. (1981). Nitrogen fixation by intact colonies of the termite *Nasutitermes corniger*. *Oecologia*, 49(2), 249–251. <https://doi.org/10.1007/BF00349197>
- Pruesse, E., Peplies, J., & Glöckner, F. O. (2012). SINA: accurate high-throughput multiple sequence alignment of ribosomal RNA genes. *Bioinformatics*, 28(14), 1823–1829.
- Pruesse, E., Peplies, J., Glöckner, F. O., Editor, A., & Wren, J. (2012). SINA : Accurate high-throughput multiple sequence alignment of ribosomal RNA genes. *Bioinformatics*, 28(14), 1823–1829. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts252>
- Rahman, N. A., Parks, D. H., Willner, D. L., Engelbrekton, A. L., Goffredi, S. K., Warnecke, F., ... Hugenholtz, P. (2015). A molecular survey of Australian and North American termite genera indicates that vertical inheritance is the primary force shaping termite gut microbiomes. *Microbiome*, 3(5), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0067-8>
- Raymann, K., Moran, N. A., & States, U. (2018). The role of the gut microbiome in health and disease of adult honey bee workers. *Current Opinion in Insect Science*, 26, 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.02.012>
- Rodrigues, J. L. M., Pellizari, V. H., Mueller, R., Baek, K., Jesus, C., & Paula, F. S. (2013). Conversion of the Amazon rainforest to agriculture results in biotic homogenization of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(3), 988–993. <https://doi.org/10.1073/pnas.1220608110>

- Roisin, Y. (2000). Diversity and evolution of caste patterns. In *Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology* (pp. 95-119). Springer, Dordrecht.
- Rossmassler, K., Dietrich, C., Thompson, C., Mikaelyan, A., Nonoh, J. O., Scheffrahn, R. H., ... Brune, A. (2015). Metagenomic analysis of the microbiota in the highly compartmented hindguts of six wood- or soil-feeding higher termites. *Microbiome*, 3, 56. <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0118-1>
- Rutz-López, M., & Núñez-Cornú, F. J. (2004). Sismotectónica del norte y oeste del bloque de Jalisco usando datos sísmicos regionales. *Geos*, 24(1), 2-13.
- Rzedowski, J. 1981. Vegetación de México. Editorial Limusa. México. 432 pp. Saatkamp, A., P. Poschlod y D. L. Venable. 2014. The functional role of soil seed banks. In: Fenner, M. (ed.). Seeds: The ecology of regeneration in plant communities. CABI. Reino Unido. pp. 215–236.
- Sako, A., Mills, A. J., & Roychoudhury, A. N. (2009). Geoderma Rare earth and trace element geochemistry of termite mounds in central and northeastern Namibia : Mechanisms for micro-nutrient accumulation. *Geoderma*, 153(1–2), 217–230. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2009.08.011>
- Sands, W. A. (1998). *The identification of worker castes of termite genera from soils of Africa and the Middle East*. Cab International.
- Sapountzis, P., de Verges, J., Rousk, K., Cilliers, M., Vorster, B. J., & Poulsen, M. (2016). Potential for nitrogen fixation in the fungus-growing termite symbiosis. *Frontiers in Microbiology*, 7(DEC), 1–5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01993>
- Schaefer, C. E. G. R., & Marins, A. (2016). Termite Role in Soil Nutrient Cycling in Ironstone Rupestrian Grasslands (Canga) in Carajás , Brazilian Amazonia. In *Ecology and Conservation of Mountaintop grasslands in Brazil* (Springer, pp. 379–391). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-29808-5>
- Schepaschenko, D., Shvidenko, A., Usoltsev, V., Lakyda, P., Luo, Y., Vasylyshyn, R., ... Obersteiner, M. (2017). Data Descriptor : A dataset of forest biomass structure for Eurasia. *Nature Publishing Group*, 4, 1–11. <https://doi.org/10.1038/sdata.2017.70>
- Schramm, A. (2006). Microsensors for the study of microenvironments and processes in the intestine of invertebrates. In *Intestinal microorganisms of termites and other invertebrates* (pp. 463-473). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Schuurman, G. (2005). DECOMPOSITION RATES AND TERMITE ASSEMBLAGE COMPOSITION IN SEMIARID AFRICA. *Ecology*, 86(5), 1236–1249.
- Segura, G., P. Balvanera, E. Duran y A. Pérez. 2003. Tree community structure and stem mortality along a water availability gradient in a Mexican tropical dry forest. *Plant Ecology*. 169: 259–271.
- Sepulveda, J., & Moeller, A. H. (2020). The Effects of Temperature on Animal Gut Microbiomes. *Frontiers in Microbiology*, 11(March), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00384>

Sharon, I., & Banfield, J. F. (2013). No Title. *Genomes from Metagenomics*, 1057. <https://doi.org/10.1126/science.1247023>

Siebers, N., Martius, C., Eckhardt, K. U., Garcia, M. V. B., Leinweber, P., & Amelung, W. (2015). Origin and alteration of organic matter in termite mounds from different feeding guilds of the Amazon rainforests. *PLoS ONE*, 10(4), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123790>

Song, X., Hansen, M. C., Stephen, V., Peter, V., Tyukavina, A., Vermote, E. F., & Townshend, J. R. (2018). Global land change from 1982 to 2016. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0411-9>

Stenström, J., Svensson, K., & Johansson, M. (2001). Reversible transition between active and dormant microbial states in soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 36(2-3), 93-104.

Stoner, K. E., Quesada, M., Sanchez-azofeifa, G. A., Alvarez-an, M., Avila-cabadilla, L., Calvo-alvarado, J., ... Sanchez-montoya, G. (2009). Forest Ecology and Management Succession and management of tropical dry forests in the Americas: Review and new perspectives. *Forest Ecology and Management*, 258, 1014–1024. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.06.023>

Stres, B., Danevčič, T., Pal, L., Fuka, M. M., Resman, L., Leskovec, S., ... & Mandic-Mulec, I. (2008). Influence of temperature and soil water content on bacterial, archaeal and denitrifying microbial communities in drained fen grassland soil microcosms. *FEMS microbiology ecology*, 66(1), 110-122.

Su, L., Yang, L., Huang, S., Li, Y., Wang, E. T., & Song, A. (2017). Variation in the Gut Microbiota of Termites (*Tsitermes ampliceps*) Against Different Diets. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, (93), 32–47. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2197-2>

Sun, Q., & Zhou, X. (2013). Corpse Management in Social Insects. *International Journal of Biological Sciences*, 9. <https://doi.org/10.7150/ijbs.5781>

Talavera, G., & Castresana, J. (2007). Improvement of Phylogenies after Removing Divergent and Ambiguously Aligned Blocks from Protein Sequence Alignments. *Systematic Biology*, 56(4), 564–577. <https://doi.org/10.1080/10635150701472164>

Thongaram, T., Kosono, S., Hongoh, Y., & Trakulnaleamsai, S. (2003). Gut of Higher Termites as a Niche for Alkaliphiles as Shown by Culture-Based and Culture-Independent Studies. *Microbes and Environments*, 18(3), 152–159. <https://doi.org/10.1264/jsme2.18.152>

Tian, J., He, N., Kong, W., Deng, Y., Feng, K., Green, S. M., ... Yu, G. (2018). Deforestation decreases spatial turnover and alters the network interactions in soil bacterial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 123(May), 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.05.007>

Tokuda, G., & Watanabe, H. (2007). Hidden cellulases in termites: revision of an old hypothesis. *Biology Letters*, 3(3), 336–339. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2007.0073>

Tokuda, G., Lo, N., Watanabe, H., Arakawa, G., Matsumoto, T., & Noda, H. (2004). Major alteration of the expression site of endogenous cellulases in members of an apical termite lineage. *Molecular Ecology*, 13(10), 3219–3228. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02276.x>

- Tokuda, G., Mikaelyan, A., Fukui, C., Matsuura, Y., Watanabe, H., & Fujishima, M. (2018). Fiber-associated spirochetes are major agents of hemicellulose degradation in the hindgut of wood-feeding higher termites. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *115*(51). <https://doi.org/10.1073/pnas.1810550115>
- Trejo, I., & Dirzo, R. (2000). Deforestation of seasonally dry tropical forest : a national and local analysis in Mexico. *Biological Conservation*, *94*, 133–142.
- Valens, M., Berchtold, M., Kuhnigk, T., Hertel, H., Maheshwari, D. K., & Ko, H. (2007). Occurrence of rhizobia in the gut of the higher termite *Nasutitermes nigriceps*. *Systematic and Applied Microbiology*, *30*(1), 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2006.03.001>
- van Elsas JD, Torsvik V, Hartmann A, Øvreås L, Jansson JK (2007) The bacteria and archaea in soil. In: van Elsas JD, Jansson JK, Trevors JT (eds) *Modern soil microbiology*, 2nd edn. CRC Press, Boca Raton, FL, pp 83–105
- Wang, Y., Engel, M. S., Rafael, J. A., Wu, H., Rédei, D., Xie, Q., ... Bu, W. (2016). Fossil record of stem groups employed in evaluating the chronogram of insects (Arthropoda : Hexapoda). *Nature Publishing Group*, (April), 1–12. <https://doi.org/10.1038/srep38939>
- Warnecke, F., Luginbühl, P., Ivanova, N., Ghassemian, M., Richardson, T. H., Stege, J. T., ... Leadbetter, J. R. (2007). Metagenomic and functional analysis of hindgut microbiota of a wood-feeding higher termite. *Nature*, *450*(7169), 560–565. <https://doi.org/10.1038/nature06269>
- West, DC, Shugart, HH y Botkin, DF (Eds.). (2012). *Sucesión forestal: conceptos y aplicación* . Springer Science & Business Media.
- Wood & Sands 1978, Wood, T. J, and WA gauds. 1978. *The role of termites in ecosystems. Production ecology of ants and termites*, Cambridge University Press, Baltimore, 245-325.
- Yamada, A., Inoue, T., Noda, S., Hongoh, Y., & Ohkuma, M. (2007). Evolutionary trend of phylogenetic diversity of nitrogen fixation genes in the gut community of wood-feeding termites. *Molecular Ecology*, *16*(18), 3768–3777. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03326.x>
- Yamada, A., Inoue, T., Wiwatwitaya, D., Ohkuma, M., Kudo, T., Abe, T., & Sugimoto, A. (2005). Carbon mineralization by termites in tropical forests , with emphasis on fungus combs. *Ecological Research*, *20*(4), 453–460. <https://doi.org/10.1007/s11284-005-0062-9>
- Yang, H., Schmitt-wagner, D., Stingl, U., & Brune, A. (2005). Niche heterogeneity determines bacterial community structure in the termite gut (*Reticulitermes santonensis*). *Environmental Microbiology*, *7*(7), 916–932. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00760.x>
- Yolotl, M., An, A., Avila-cabadilla, L. D., & Stoner, K. E. (2009). Composition , structure and diversity of phyllostomid bat assemblages in different successional stages of a tropical dry forest *Forest. Ecology and Management*, *258*(September), 986–996. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.12.011>
- Yun, J., Roh, W., Whon, W., Jung, M., Kim, M., Park, D., & Yoon, C. (2014). Insect Gut Bacterial Diversity Determined by Environmental Habitat , Diet , Developmental Stage , and

Phylogeny of Host. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(17), 5254–5264.
<https://doi.org/10.1128/AEM.01226-14>

Zehr, J. P., Jenkins, B. D., Short, S. M., & Steward, G. F. (2003). Minireview Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: a cross-system comparison. *Environmental Microbiology*, 5(7), 539–554.

Zhao, F. Z., Bai, L., Wang, J. Y., Deng, J., Ren, C. J., Han, X. H., ... & Wang, J. (2019). Change in soil bacterial community during secondary succession depend on plant and soil characteristics. *Catena*, 173, 246-252.

Zheng, H., Powell, J. E., Steele, M. I., Dietrich, C., & Moran, N. A. (2017). Honeybee gut microbiota promotes host weight gain via bacterial metabolism and hormonal signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(18), 4775–4780.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1701819114>