



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

Análisis de la comunidad microbiana del suelo en claros
en distintas etapas de regeneración del bosque tropical
perennifolio

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

CÉSAR FROYLÁN RODRÍGUEZ FERNÁNDEZ



DIRECTORA DE TESIS:
M. en C. Martha América Baleón Sepúlveda
Ciudad Universitaria, CDMX, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Agradecimientos

Académicos

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Ciencias por nutrir mi interés por aprender y compartir el conocimiento.

Agradezco al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), por el proyecto con clave IN-232320, titulado “Estudio de la comunidad microbiana en una cronosecuencia dentro del bosque tropical perennifolio”, el cual me apoyó económicamente para concluir mis estudios.

Agradezco al laboratorio de Ecología del suelo, en especial a la M. en C. Martha América Baleón Sepúlveda por recibirme y aceptarme como su primer tutorado, a la coordinadora, la Dra. María Guadalupe Barajas Guzmán, a la Dra. Irene Sánchez Gallen, al Dr. Francisco Javier Álvarez Sánchez y al M. en C. Juan Carlos Peña Becerril, quienes guiaron mis intereses académicos, me asesoraron y brindaron su apoyo para finalizar mis estudios.

Agradezco a mis sinodales por darme la posibilidad de mejorar mi trabajo y darse el tiempo de leerme: Al Dr. Johnattan Hernández Cumplido, a la M. en B. Ana Lidia Sandoval Pérez, a la M. en C. Martha América Baleón Sepúlveda, al M. en C. Juan Carlos Peña Becerril y al Dr. Francisco Javier Álvarez Sánchez.

A Práxedes Sinaca Colín y a la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas”, del Instituto de Biología, por su apoyo con el muestreo en campo.

Al Laboratorio Nacional de Innovación Ecotecnológica para la Sustentabilidad (LANIES) por las facilidades prestadas para el desarrollo de la metodología.

A la Unidad de Servicios Bibliotecarios y de Información (USBI) de la Universidad Veracruzana, porque gracias a quienes trabajan en estas instalaciones pude avanzar en mi trabajo. Agradezco especialmente a la Lic. Paola y el Lic. Raúl por brindarme su comprensión, amabilidad y apoyo, sin ustedes la USBI no sería la misma.

Personales

Dedico este esfuerzo a mis padres: Neira Fernández y Froylán Rodríguez. A mi madre, por enseñarme la resiliencia en mente, a mantenerme en movimiento y por mostrarme que todo en la vida requiere de constancia, creatividad, organización, dedicación, tiempo y esfuerzo. Lo logramos Doña Tutu.

A mi padre, por compartirme de su gran corazón y su apoyo incondicional, por mostrarme que otras realidades son posibles, por enseñarme que en la vida hay que ser empático, crítico y reflexivo, pero que también hay que reírse y seguirse esforzando. ¡¡Nos volveremos a ver jarochito!! Por el momento te mando un fuerte abrazo hasta donde estés.

A mis hermanos mayores Ani y José, por acompañarme desde los inicios en esta travesía de vida, por enseñarme a no tener miedo de explorar otras realidades con creatividad, seguridad y espontaneidad.

A mi madrina Lulu, gracias por ser una segunda madre para mí, por acompañarme en todo momento y siempre darme de su cariño y amor incondicional.

A mi asesora de tesis, América, mil gracias por brindarme tu confianza, por apoyarme a mejorar mi trabajo a lo largo de este proyecto, agradezco por tomarte el tiempo de leerme, corregirme y creer en mí, lo logramos.

Dedico esta tesis a Ginetta, mi Besto Brotha, the greatest of all time (GOAT). Mi Nakama, gracias porque a pesar de la distancia y el tiempo que nos separa, siempre me siento acompañado por tu apoyo y amor incondicional, te agradezco por todas las porras y por compartirme de tu maravillosa y única energía, se logró mi Brotha.

A las amistades maravillosas que me dio la Facultad de Ciencias, a Michiru (ciudadina virtuosa, sol de intenso fulgor), Fernanda, Pris, Marisol, Karlita, Galicia, Sofía (mi socia), Liz (Teresa), Amín (Guapa) y Mario (Tipo), Denis, Paola, Ceci (mi amix la más guerrera) y a Lupita. Muchas gracias porque sus palabras y recuerdos me motivaron y llenaron de buena vibra a lo largo de este proyecto.

A la Mtra. Paty Revilla y a Katherine Valencia, por reunir semillas impacientes de conocimiento y brindar un espacio cultural y científico en el que más biolímpicos compartimos una parte de nuestras experiencias y sueños. Gracias por nutrir mi interés por la biología y la ecología. Agradezco que me hayan compartido su pasión por la enseñanza con tanto humor, sencillez y escepticismo.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 6 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 7 |
| 1.1. Dinámica de los bosques tropicales perennifolios | 7 |
| 1.2. Regeneración natural en el bosque tropical perennifolio | 8 |
| 1.3. Variaciones ambientales tras la apertura de un claro | 9 |
| 1.4. El suelo como hábitat de comunidades microbianas | 10 |
| 1.4.1. Hongos del suelo | 11 |
| 1.4.2. Comunidades bacterianas del suelo | 13 |
| 1.4.3. Comunidades microeucarióticas del suelo | 15 |
| 1.5. Atributos que modifican a la comunidad microbiana del suelo..... | 15 |
| 1.5.1 Potencial de hidrógeno | 16 |
| 1.5.2 Humedad en el suelo | 17 |
| 1.5.3 Materia orgánica del suelo | 17 |
| 1.6. Cuantificación de la biomasa microbiana del suelo | 18 |
| 2. OBJETIVOS | 20 |
| 2.1. Objetivo general | 20 |
| 2.2. Objetivos particulares | 20 |
| 3. HIPÓTESIS | 20 |
| 4. MÉTODO | 22 |
| 4.1. Sitio de estudio..... | 22 |
| 4.1.1. Clima | 22 |
| 4.1.2. Vegetación..... | 23 |
| 4.1.3. Suelo | 24 |
| 4.2. Diseño experimental..... | 24 |
| 4.3 Determinación de variables del suelo | 26 |
| 4.3.1 Humedad del suelo | 26 |
| 4.3.2 Materia orgánica del suelo | 26 |
| 4.3.3 pH..... | 26 |
| 4.3.4 Extracción y cuantificación de ácidos grasos de la CMS..... | 27 |
| 4.4. Análisis de datos | 29 |
| 5. RESULTADOS | 30 |

| | |
|--|-----------|
| 5.1. Biomasa de la comunidad microbiana del suelo | 30 |
| 5.2. Biomasa por grupo funcional | 30 |
| 5.3. Correlaciones | 33 |
| 5.4. Analisis Multivariado de Redundancia (RDA) | 36 |
| 6. DISCUSIÓN | 38 |
| 6.1. Cambios en los factores abióticos tras la apertura de claros | 38 |
| 6.2. Cambios en la estructura de la comunidad microbiana del suelo | 39 |
| 7. CONCLUSIONES | 42 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA | 43 |
| 9. ANEXOS | 63 |

RESUMEN

Los claros son espacios en el dosel formados por la caída de ramas grandes o árboles que forman parte del ciclo de regeneración natural del bosque tropical perennifolio. En ellos ocurren una serie de cambios en las condiciones y recursos que favorecen el recambio de las comunidades en un tiempo y espacio definido. El estudio de la regeneración se ha enfocado en las variaciones ambientales y cambios en las comunidades sobre el suelo, sin embargo, poco se sabe del efecto de este proceso en la estructura de la comunidad microbiana del suelo. El objetivo de este trabajo fue analizar la dinámica de la biomasa de bacterias Gram⁺, bacterias Gram⁻, actinobacterias, hongos saprótrofos, hongos micorrizógenos arbusculares y microeucariontes en claros de distintas etapas de regeneración. El trabajo se realizó durante la temporada de lluvias en la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz, México. Se seleccionaron 15 claros, clasificados en tres etapas de regeneración, por cada claro se seleccionó un sitio de dosel cerrado como referencia. Se tomaron muestras de los primeros 20 cm del suelo, se determinó la humedad, el pH y la materia orgánica y se cuantificó la biomasa microbiana, a partir de la extracción de ácidos grasos.

Se encontraron cambios en la estructura de la CMS entre las distintas etapas de regeneración natural, la mayor biomasa se encontró en los claros de regeneración intermedia, etapa que presentó el porcentaje más alto de MOS, un factor abiótico que provee energía y nutrientes disponibles para la CMS. Tanto la humedad y la MOS se relacionaron positivamente con la biomasa de las bacterias Gram⁺, bacterias Gram⁻, hongos saprótrofos, HMA y microeucariontes. Mientras que las actinobacterias fueron el único grupo que mostró relaciones negativas con todas las variables edáficas evaluadas. Los resultados de este trabajo demuestran que la comunidad microbiana del suelo es sensible a los cambios derivados por la apertura de claros en el bosque tropical perennifolio.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Dinámica de los bosques tropicales perennifolios

El bosque tropical perennifolio (BTP) (Rzedowski, 2006) es uno de los ecosistemas más diversos; concentra más del 50% de las especies que existen en el planeta (Dirzo et al., 2009). En México cubre menos del 11% del territorio nacional y se distribuye en zonas intertropicales donde la disponibilidad de luz y agua son constantes (Rzedowski, 2006). Se caracteriza por una alta producción y descomposición de la materia orgánica y un alto ciclaje de nutrientes (Horwath, 2015).

El BTP como cualquier otro ecosistema terrestre se compone por dos subsistemas interrelacionados: el epigeo o superficial, que reúne todo lo que está por encima del suelo; y, por otra parte, el subsistema hipogeo o subterráneo que abarca todo lo que está debajo del suelo (Wardle et al., 2004). Ambos subsistemas se relacionan por su entrada y salida de carbono, el intercambio de nutrientes, así como por las interacciones entre las raíces y la biota del suelo (Wardle et al., 2004; Kivlin y Hawkles, 2016; Coleman et al., 2018). Para ejemplificar esta interrelación, el subsistema epigeo aporta hojarasca que mediante un proceso de transformación se incorpora y forma parte de la materia orgánica del suelo (MOS) la cual se procesa física y metabólicamente hacia distintos almacenes como resultado de la actividad de la biota del suelo (Álvarez et al., 2003). Esto determina la disponibilidad de nutrientes en el suelo y favorece indirectamente la productividad y el crecimiento de las plantas (Setälä y Huhta, 1991; Moore et al., 2003). Otro ejemplo lo representa la biota del suelo, la cual que se asocia con las raíces y tiene un efecto directo en la calidad, el sentido y la dirección del flujo de energía y ciclaje de nutrientes entre subsistemas (Wardle et al., 2004; Bardgett y Van Der Putten, 2014).

La interrelación entre ambos subsistemas puede modificarse por disturbios naturales, como la apertura de claros en el dosel del BTP (Yih et al., 1991; Lodge et al., 2014). Un claro se define como un espacio en el dosel que se forma por la caída

de ramas grandes o árboles completos. Los claros forman parte del ciclo de regeneración natural del BTP (Denslow, 1980; Goulamoussène et al., 2017).

1.2. Regeneración natural en el bosque tropical perennifolio

La regeneración natural se promueve por la apertura de espacios en el dosel conocidos como claros, en donde ocurren una serie de cambios en las condiciones y los recursos ambientales (Chazdon y Fetcher, 1984; Denslow, 1987) que favorecen el desarrollo de la biomasa vegetal y el establecimiento de nuevos individuos a partir de los bancos de semillas y plántulas, este último proceso se conoce como reclutamiento (Norden, 2014; Zuleta y Bravo, 2019). El reclutamiento permite el dinamismo y el ensamble de nuevas comunidades vegetales que modifican la estructura del BTP en términos de su composición, riqueza y diversidad de especies (Zuleta y Bravo, 2019; Martínez-Ramos, 2022).

La estructura del BTP cambia conforme los árboles crecen, mueren y otros individuos vegetales los reemplazan, a nivel regional esto forma un mosaico compuesto por diferentes fases regenerativas que suceden de manera cíclica (Martínez-Ramos, 1994). Las diferentes fases regenerativas pueden clasificarse desde la apertura de un claro hasta su cierre. Dentro de esta clasificación se reconocen tres categorías: fase de claro, fase de construcción y fase de madurez (Figura 1) (Brokaw, 1985; Martínez-Ramos, 1994).

La fase de claro se caracteriza por abundantes ramas y árboles caídos en el suelo que provocan un nuevo aporte de materia orgánica (Álvarez-Sánchez et al., 2002), asimismo, la mayor luz sobre el suelo asociado con la materia orgánica y la constante humedad del suelo del BTP, hacen a los claros sitios con alta disponibilidad de nutrientes (Fetcher et al., 1985; Denslow, 1987). Esto estimula una mayor germinación de semillas, el rebrote y desarrollo de la comunidad de plantas (Norden, 2014; Zuleta y Bravo, 2019). Por su parte, la fase de construcción se caracteriza por el recambio y desarrollo de las comunidades vegetales hasta el establecimiento de árboles con largos ciclos de vida. Mientras que, en la fase de

madurez dominan los árboles persistentes, aquellos que cierran el dosel del bosque (Swaine y Whitmore, 1988; Whitmore, 1989; Martínez-Ramos, 1994).



Figura 1. Fases regenerativas del bosque tropical perennifolio. La caída de árboles y ramas provoca la apertura de claros (fase de claro), sitios abiertos caracterizados por una mayor disponibilidad de nutrientes en el suelo, lo cual favorece el desarrollo y rebrote de las comunidades vegetales (fase de construcción) hasta el cierre del dosel por parte de árboles con largos ciclos de vida (fase de madurez).

1.3. Variaciones ambientales tras la apertura de un claro

La apertura de un claro tiene como consecuencia una serie de cambios ambientales, como el incremento de los recursos lumínicos, la temperatura del aire y del suelo (Chazdon y Fetcher, 1984; Fetcher et al., 1985; Denslow, 1987). Estas variaciones

pueden provocar la disminución de la humedad del suelo (Mark y Ashton, 1992; Ediriweera et al., 2011). Además, los claros acumulan mayor materia orgánica en el suelo (MOS) debido a que están conformados por toda la biomasa vegetal caída: troncos, ramas, y un cúmulo de hojas de diferentes especies, que en conjunto forma un sustrato heterogéneo (Álvarez-Sánchez et al., 2002; Lodge et al., 2014). El aumento de MOS recupera la capacidad amortiguadora e incrementa el pH de suelos ácidos (Bot y Benites, 2005). Como resultado de la suma del incremento de MOS, las constantes lluvias y las altas temperaturas del aire y del suelo, los claros son sugeridos como espacios con alta disponibilidad de nutrientes (Denslow, 1987). Estas condiciones también favorecen la mineralización de la MOS, la acidificación del suelo y disminuyen el pH (USDA, 2014). El conjunto de los cambios en la estructura de la comunidad vegetal del BTP y las alteraciones espacio temporales en las propiedades físicas y químicas que ocurren en el suelo pueden provocar alteraciones en sus comunidades microbianas (Fierer, 2017).

1.4. El suelo como hábitat de comunidades microbianas

Los suelos refugian la mayor diversidad microbiana (Banerjee et al., 2022). En un gramo de suelo es posible observar cientos de virus y miembros de los tres dominios de la vida (Fierer, 2017); en específico, un gramo de suelo concentra de 10^{10} - 10^{11} bacterias (~6000-50,000 spp.) (Curtis et al., 2002; Horner-Devine et al., 2003) 200 m de hifas fúngicas (Leake et al., 2004) y 10^7 - 10^9 partículas virales (Williamson et al., 2005). Entre las comunidades microbianas del suelo, es común que sea mayor la biomasa de bacterias y hongos en comparación con la biomasa de protistas, arqueas, microfauna y virus del suelo (Fierer, 2017; Bar-On et al., 2018). Sin embargo, la abundancia de una comunidad microbiana en un momento dado puede atribuirse a la variabilidad espacial del suelo, así como las características específicas del sitio de muestreo (Fierer, 2017).

Las comunidades microbianas del suelo (CMS) son la base en el funcionamiento, la integridad y el bienestar de todos los ecosistemas terrestres

(O'Brien et al., 2016; Banerjee et al., 2022) debido a que son los principales responsables en la descomposición de residuos orgánicos, la mineralización de nutrientes, la dinámica y formación de MOS estable, la transformación y secuestro de carbono, así como la modificación de la estructura del suelo (van der Heijden et al., 2008; Schmidt et al., 2011; O'Brien et al., 2016; Banerjee et al., 2022). Gran parte de las actividades que realiza la CMS se deben a su diversidad enzimática y fisiológica, lo cual permite que intervengan en diferentes acervos, flujos y procesos del ecosistema, tales como los ciclos de carbono (C), nitrógeno (N), fósforo (P) y azufre (S) (Álvarez y Naranjo, 2003; Bardgett y Van Der Putten, 2014; Banerjee et al., 2022). Dentro de los organismos que conforman la comunidad microbiana del suelo destacan las bacterias, hongos y otros microeucariontes (Fierer, 2017; Campo et al., 2020).

1.4.1. Hongos del suelo

Los hongos son un grupo muy diverso de organismos eucariontes con morfología unicelular y multicelular (Tedersoo et al., 2014; Taylor y Sinsabaugh, 2015); concentran más de 100,000 especies descritas, sin embargo, se estima que su diversidad supera más del millón de especies (Blackwell, 2011). En este sentido, describir a la composición de hongos del suelo en términos funcionales permite evaluar sus relaciones ecológicas, por esto, la comunidad fúngica del suelo puede dividirse en hongos saprótrofos de vida libre, hongos simbiotes asociados con raíces y hongos patógenos (Chen et al., 2019).

Los hongos del suelo desempeñan un papel importante en la integridad de los ecosistemas tropicales, puesto que se asocian con la producción, descomposición y secuestro de materia orgánica, asimismo pueden realizar la mineralización y el ciclaje de nutrientes (Tedersoo et al., 2014; Taylor y Sinsabaugh, 2015; Chen et al., 2019). Las comunidades de hongos forman redes de hifas filamentosas con las que pueden crecer en nuevos sustratos y transportar nutrientes a distancias del suelo que van de los centímetros a los metros; al mismo tiempo,

secretan enzimas capaces de penetrar hojas y raíces muertas con el fin de acceder al material orgánico (Chapin, 2011).

Los hongos cumplen más funciones en el suelo, como ser patógenos de plantas, animales e incluso otros hongos (Moore et al., 2020), también son agentes que modifican la estructura del suelo (Tschinkel y Seal, 2016) y en último lugar, son una fuente de alimento para la biota del suelo, en particular de la microfauna (Darby y Neher, 2016). A pesar de su relevancia en la integridad y funcionalidad en los ecosistemas, muchos grupos fúngicos que habitan en suelos tropicales permanecen aún desconocidos (Tedersoo et al., 2014).

1.4.1.1 Hongos saprótrofos del suelo

Los hongos saprótrofos de vida libre son un grupo caracterizado por obtener carbono a través de la descomposición de materia orgánica (Chen et al., 2019). Tienen un papel esencial en el ecosistema por su amplia gama de procesos metabólicos, entre los que destacan la secreción de enzimas extracelulares dirigidas a la descomposición y la biotransformación de restos insolubles o de alta complejidad química, tales como: la lignocelulosa, hemicelulosa, pectinas, quitina y lignina, por esta razón estos organismos son de suma importancia en el ciclaje de nutrientes (Heredia et al., 2008; Varnai et al., 2014).

1.4.1.2 Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)

Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) pertenecen al subphylum Glomeromycotina (Spatafora et al., 2016; Genre et al., 2020). Los HMA forman una asociación con las raíces; donde la planta provee carbohidratos y el hongo iones minerales como ortofosfatos (PO_4^-), amonio (NH_4^+) y nitratos (NO_3^-) disueltos en la solución acuosa del suelo (Johnson, 2010). Esta asociación favorece la salud de las plantas al incrementar la resistencia a patógenos e insectos herbívoros (Johnson, 2010; Smith y Read, 2010), contribuir a la formación de agregados del suelo (Rilling

et al., 2016), reducir la pérdida de nutrientes al ampliar la zona de intercepción de la raíz después de eventos de lixiviación inducidos por la lluvia (Cavagnaro et al., 2015). Del mismo modo, los HMA son capaces de producir celulasas que les permiten acceder a las raíces de las plantas y participar en la ruptura de la MOS (Chapin, 2011).

1.4.2. Comunidades bacterianas del suelo

Las bacterias son organismos procariontes microscópicos (0.5 a 3 μm) que pueden formar esporas y presentar diversas formas, como esferas, barras, filamentos curvados y helicoidales (Onyenwoke et al., 2004). Las bacterias representan el grupo más abundante de microorganismos en el suelo, así como el de mayor riqueza de especies (Curtis et al., 2002; Horner-Devine et al., 2003; Banerjee et al., 2022).

Las comunidades bacterianas habitan en la rizosfera, en redes de hifas fúngicas y en los diferentes micro y macro ambientes del suelo (Fierer, 2017); pueden encontrarse en modo de vida libre, en biopelículas o asociadas a otros organismos del suelo como las raíces, hongos y fauna edáfica (Chapin, 2011; Lladó et al., 2017). En conjunto, las comunidades bacterianas del suelo (CMS) contribuyen a un rango esencial de procesos como: el ciclaje de nutrientes; la fijación de nitrógeno, la producción de la hormona de crecimiento vegetal y la represión de patógenos vegetales (Oh et al., 2012; Lladó et al., 2017).

Una clasificación bacteriana importante es la desarrollada con base en las diferencias morfológicas de la pared celular bacteriana; las bacterias con paredes celulares externas gruesas (20-80nm) son las Gram⁺, mientras que las bacterias que tienen una pared celular más delgada (<10nm) y una membrana externa con múltiples poros y apéndices son las Gram⁻ (Mai-Prochnow et al., 2016). Estas diferencias en la envoltura celular confieren respuestas a factores externos, tales como la disponibilidad de nutrientes y el pH (Baleón-Sepúlveda, 2021). Algunos grupos bacterianos abundantes en suelos tropicales son: Acidobacteria,

Actinobacteria, Alphaproteobacteria y Beta/Gammaproteobacteria (Tripathi et al., 2012; Zhou et al., 2018).

Las clases Alphaproteobacteria (α -bacteria), Betaproteobacteria (β -bacteria) y Gammaproteobacteria (γ -bacteria) pertenecen al filo Proteobacteria, son en su mayoría bacterias de tipo Gram⁻ (Samac y Graham, 2007). En conjunto, son microorganismos ubicuos con roles diversos en el suelo actuando como patógenos, microsimbiontes o transformadores procariontes de ciclos biogeoquímicos (Campbell et al., 2006; Swift et al., 2012). Dentro de las clases (α -bacteria y β -bacteria) se encuentran las bacterias fijadoras de N₂, conocidas colectivamente como Rhizobia, las cuales interactúan con plantas leguminosas de la familia Fabaceae y del género *Parasponia*. En particular, Rhizobia induce la diferenciación de un nuevo órgano vegetal conocido como nódulo radical, en donde se convierte el N₂ en NH₃ (Wang et al., 2017; Poole et al., 2018). Rhizobia y otras bacterias Gram⁻ del suelo simbiotes de raíces de las plantas son un grupo bacteriano muy conocido por su práctico aislamiento y susceptibilidad a estudios genéticos (Francis et al., 2010). Estas bacterias del suelo también pueden encontrarse en un modo de vida libre empleando diversas fuentes de carbono y nitrógeno (Chapin et al., 2011; Poole et al., 2018).

Por otro lado, las bacterias Gram⁺ del suelo asociadas a plantas son menos conocidas y se clasifican con base en su contenido genómico de citosina y guanina (C+G) en dos filos, Firmicutes (bajo C+G) y Actinobacteria (alto C+G), ambos grupos tienen representantes que llevan a cabo actividades de biocontrol, biorremediación o que promueven el crecimiento vegetal (Francis et al., 2010).

El filo Actinobacteria representa uno de los grupos más diversos de microorganismos saprótrofos (van Bergeijk et al., 2020). Una gran parte de su ciclo de vida ocurre como esporas en latencia, especialmente bajo nutrientes limitados (Mayfield et al., 1972). Presentan un amplio rango de morfologías que van desde los unicelulares cocos y bacilos, hasta las complejas formas multicelulares de los géneros *Amycolatopsis*, *Frankia* y *Streptomyces* que se pueden asemejar a micelios y habitar suelos tropicales ácidos (Suela et al., 2013; Barka et al., 2016). Las actinobacterias realizan diferentes procesos en el suelo como: la fijación de N₂ (van

der Heijden et al., 2008), la degradación de lignina y otros sustratos recalcitrantes que forman parte del humus (Chapin et al., 2011; Anandan et al., 2016); asimismo producen antibióticos (Lewin et al., 2016; van Bergeijk et al., 2020).

1.4.3. Comunidades microeucarióticas del suelo

Los microeucariontes son organismos microscópicos que presentan núcleo y son mayoritariamente unicelulares. Esta definición excluye plantas, animales, hongos y algas macroscópicas (Campo et al., 2020). Los microeucariontes del suelo abarcan distintos organismos muy diminutos, pero con diversos papeles funcionales: productores primarios (Chlorophyta y Stramenopiles); saprótrofos (hongos unicelulares); depredadores (como los protistas Alveolata y Cercozoa); parásitos (*Nematoda*) (Murase et al., 2014).

La clasificación de microeucariontes proviene de que no todos los eucariontes del suelo pueden ser aislados e identificados por métodos de cultivo, por lo cual todo organismo eucarionte no especificado es asumido parte del grupo de los microeucariontes, y han sido asignados en esta categoría tanto por el estudio de sus ácidos grasos como por métodos moleculares (Mitchell et al, 2010; Murase et al., 2014; Shi et al., 2015; Krashevaska et al., 2018).

1.5. Atributos que modifican a la comunidad microbiana del suelo

La biomasa de la comunidad microbiana del suelo (CMS) puede constituir del 1 al 3% del carbono orgánico del suelo, sin embargo, es a través de este pequeño porcentaje de microorganismos donde todo el material orgánico que entra al suelo debe pasar (Martens, 1995).

La estructura de la CMS se regula principalmente por factores abióticos, como el pH, la cantidad y calidad de almacenes de MOS, así como la disponibilidad de agua y nutrientes en el suelo (Lauber et al., 2009; Docherty et al., 2015; Banerjee

et al., 2022). Todos estos factores abióticos están sujetos a los cambios espaciales y temporales que ocurren en el ecosistema y en los diferentes hábitats del suelo (Smith et al., 2013; Shi et al., 2019; Flores et al., 2020; Banerjee et al., 2022). En el mismo sentido, la composición de la CMS ha sido explicada por la identidad de especies de plantas, que con sus aportes de hojarasca o exudados de la raíz moldean el microhábitat del suelo y modifican directa o indirectamente a la CMS (Barberán et al., 2015; Scheibe et al., 2015; Kivlin y Hawkes, 2016). Sin embargo, el efecto de los factores abióticos ha sido más reportado para determinar la estructura de la CMS (Lauber et al., 2009; Docherty et al., 2015; Fierer, 2017).

Por ejemplo, las bacterias dominan en suelos perturbados de pH neutro a básico, con alta disponibilidad de nutrientes y bajos contenidos de MOS. Mientras que los hongos dominan en suelos ácidos menos perturbados con baja disponibilidad de nutrientes y alto contenido de MOS (van der Heijden et al., 2008). Por otra parte, las actinobacterias incrementan su abundancia en suelos neutros o alcalinos ricos en materia orgánica y habitan en la superficie o incluso a dos metros de profundidad (Goodfellow y Williams, 1983). El crecimiento de las actinobacterias se favorece con bajo contenido hídrico; cuando aumenta la disponibilidad de agua su crecimiento se ve limitado o detenido (Barka et al., 2016). Por último, la estructura de la comunidad de microeucariontes se ve regulada principalmente por el pH del suelo (Shi et al., 2022). Sin embargo, aún falta reconocer más factores que regulen su composición (Fell et al., 2006; Murase et al., 2014; Sun et al., 2014; Shi et al., 2015).

1.5.1 Potencial de hidrógeno

El potencial de hidrógeno (pH) del suelo es un factor que regula múltiples reacciones químicas y se vincula con la actividad metabólica y el crecimiento de los hongos y las bacterias del suelo (Brady y Well, 2008; Rousk y Bååth, 2011; Baleón, 2017; Peto-Barrios, 2021). El crecimiento bacteriano se encuentra favorecido en suelos con rangos de pH neutro a básico (>7), mientras que el crecimiento fúngico se

favorece en rangos de pH ácido (4-6) (Goodfellow y Williams, 1983; van der Heijden et al., 2008; Rousk et al., 2009).

1.5.2 Humedad en el suelo

La humedad en el suelo es un factor importante que regula el crecimiento y la actividad enzimática de la CMS (Lovieno y Bååth, 2008; Rousk y Bååth, 2011). En una escala global, la disponibilidad de agua es el mejor predictor de la biomasa microbiana del suelo total; los ecosistemas húmedos, tales como los bosques tropicales perennifolios, típicamente concentran enormes cantidades de biomasa microbiana (Serna-Chavez et al., 2013). De forma local, se conoce que a mayor porcentaje de humedad en el suelo el crecimiento bacteriano incrementa, mientras que el efecto que tiene en el crecimiento fúngico es variable (Lovieno y Bååth, 2008; Rousk y Bååth, 2011).

1.5.3 Materia orgánica del suelo

La materia orgánica del suelo (MOS) es todo material proveniente de seres vivos, el cual regresa al suelo y pasa por un proceso de degradación (Chenu et al., 2015). En el transcurso de formación de la MOS, los compuestos orgánicos se depositan, desintegran y se transfieren a diferentes almacenes con base en diversos factores a nivel regional y local, tales como la estructura de la comunidad desintegradora, la composición y calidad química del material orgánico y los factores ambientales (Cornwell et al., 2008). Los diferentes almacenes de C y nutrientes son aprovechados por la CMS (Smith et al., 2014; Chenu et al., 2015, Peto, 2021).

La biomasa microbiana del suelo puede superar los 1000 kg de C por hectárea (Fierer, 2017) cifra por la cual toda la materia orgánica pasa y es transformada por la actividad de la CMS. Por este motivo la cuantificación de la biomasa microbiana y su identificación a un nivel taxonómico toma importancia para

establecer relaciones entre la comunidad microbiana del suelo y los diferentes factores abióticos y bióticos.

1.6. Cuantificación de la biomasa microbiana del suelo

La biomasa microbiana puede cuantificarse por métodos directos o indirectos; los primeros reúnen a los métodos microscópicos, mientras que los segundos tienen que ver con la medición de procesos fisiológicos (como la respiración) o sustancias específicas, tales como los componentes celulares y moleculares (Martens, 1995; Frostegård y Bååth, 1996).

Uno de los métodos indirectos más utilizados para cuantificar la biomasa microbiana es la identificación de ácidos grasos, componentes estructurales presentes en todas las membranas celulares de organismos procariontes y eucariontes (Frostegård et al., 1996). En este sentido, la composición química de cada ácido graso es identificada por cromatografía de gases, esta técnica se ha utilizado incluso para reflejar relaciones evolutivas (Abel et al., 1963; García et al., 1996; Janse, 1997).

Los ácidos grasos pueden dividirse en fosfolípidos (PLFA's) y neutros (NLFA's) (Olsson et al., 1995; Frostegård et al., 2011). Los PLFA's se degradan fácilmente después de la muerte de la biota del suelo, por este motivo, los PLFA representan a la CMS viable (Zelles, et al., 1999; Fernandes et al., 2013). Por otro lado, los NLFA's sirven como reserva de energía en muchos eucariontes, entre ellos los hongos y la microfauna del suelo (Larsen y Bødker, 2001).

La nomenclatura de ácidos grasos propuesta por la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), establece indicar el número de carbonos, cantidad y posición de los dobles enlaces (si existen), el tipo de isomería geométrica de los dobles enlaces (Zelles, 1999, Valenzuela, 2008). Por ejemplo, la notación 18:0 denota un ácido graso de 18 carbonos con ausencia de enlaces dobles, mientras que 18:2 indica presencia de dos enlaces dobles. La letra griega omega (ω) se usa a menudo para indicar qué tan lejos está un enlace doble partiendo del

grupo metilo terminal como número 1, esta variante en nomenclatura es conocida como sistema ω .

Se han identificado biomarcadores específicos por cada grupo funcional de la microbiota del suelo. Por ejemplo, el ácido graso neutro 16:1 ω 5 es utilizado como bioindicador de los HMA, debido a su abundancia en las estructuras de almacenamiento, como esporas y vesículas (Olsson et al., 1999; Zelles, 1999; Fernandes et al., 2013; Ravnskov et al., 2020). Además, este ácido graso se correlaciona de manera directa con el nivel de colonización de la raíz (Olsson et al., 1995; Larsen et al., 1998; Gavito et al., 2003). En el caso de los hongos saprótrofos, se ha utilizado el marcador 18:2 ω 6 para la caracterización de este grupo (Frostegård y Bååth, 1996; Larsen et al., 1998; Zelles, 1999; Krashevskaja et al., 2018; Wang et al., 2019). En el caso de las bacterias, la utilización de biomarcadores es más diversa, para las bacterias Gram⁻ se han ocupado los marcadores 16:0 2OH, 17:0 ciclo y 19:0 ω 8, mientras que para las bacterias Gram⁺ se han utilizado los ácidos grasos 13:0 i; 14:0 i; 15:0i; 15:0a; 16:0i; 16:0a; 17:0i; 17:0a (Fernandes et al., 2013; Tejada et al., 2015; Cycoń, et al., 2016; Krashevskaja et al., 2018; Liu et al., 2019; Wang et al., 2019; Flores et al., 2020). Para el caso de las actinobacterias algunos de los marcadores para su identificación son los 17:010-me; 18:010-me; 18:1 ω 7c11-me (Cycoń, et al., 2016; Liu et al., 2019; Wang et al., 2019; Flores et al., 2020). Por último, para la identificación de microeucariontes se utiliza el marcador 20:4 ω 6,9,12,15 (Krashevskaja et al., 2018).

El estudio de los ácidos grasos que caracterizan a los microorganismos del suelo permite establecer relaciones de cambio en esta comunidad a diferentes escalas de tiempo y espacio, por lo que resultan una herramienta útil para el estudio de la comunidad hipogea en procesos dinámicos como la regeneración natural en bosques tropicales.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Analizar la estructura de la comunidad microbiana del suelo en claros en distintas etapas de regeneración natural.

2.2. Objetivos particulares

- ❖ Determinar la estructura de la comunidad microbiana del suelo en claros de distintas etapas de regeneración natural del BTP.
- ❖ Describir los cambios en el pH, la humedad y la materia orgánica del suelo tras la apertura de claros y su relación con la biomasa microbiana del suelo.
- ❖ Relacionar la biomasa por grupo funcional del suelo en función de la etapa de regeneración y sus factores abióticos.

3. HIPÓTESIS

En los claros ocurren una serie de cambios en las condiciones y los recursos del suelo que pueden modificar la comunidad microbiana del suelo (CMS), por lo tanto:

1. La biomasa de la CMS se incrementará conforme avance la regeneración en claros; los claros de apertura reciente tendrán menor biomasa de la CMS y será predominantemente de la comunidad bacteriana, puesto que son microorganismos que dominan en suelos perturbados con pH neutro o básico y con bajo contenido de MOS; por su parte, los claros de mayor tiempo de regeneración tendrán mayor biomasa de la CMS, en donde también se registrará un incremento de la biomasa fúngica, ya que estos organismos dominan en suelos ácidos de menor grado de perturbación.

2. El pH será un factor regulador de la biomasa microbiana del suelo. En los claros de apertura reciente se incrementará el pH puesto que el aumento de materia orgánica (MO) recupera la capacidad amortiguadora e incrementa el pH de suelos ácidos, esto tendrá un efecto positivo sobre la biomasa bacteriana; mientras que, en los claros de mayor tiempo de regeneración, el efecto acumulado de la lluvia y la elevada temperatura habrá intensificado los procesos de lixiviación y mineralización de la MO, en consecuencia, se acidificará y disminuirá el pH del suelo, lo cual tendrá un efecto favorable para la biomasa de la comunidad de hongos.

3. La humedad será un factor regulador de la biomasa microbiana del suelo. Los claros de apertura reciente tendrán menor humedad del suelo, puesto que la alta incidencia lumínica y la elevada temperatura del suelo favorecen la evaporación del suelo, esto tendrá un efecto negativo con la CMS y disminuirá su biomasa; mientras que, los claros de mayor tiempo de regeneración tendrán más humedad del suelo debido a que se reduce la temperatura del suelo; a mayor disponibilidad de agua en el suelo incrementará la biomasa de la CMS.

4. La materia orgánica del suelo (MOS) será un factor regulador de la biomasa de la CMS. Los claros de apertura reciente tendrán menor MOS puesto que la materia orgánica está acumulada en forma de hojarasca y aún no es incorporada al suelo, esto resultará en una menor biomasa de la CMS; mientras que, los claros de mayor tiempo de regeneración contendrán mayor MOS puesto que habrá sido procesada y transformada por la actividad metabólica de la biota del suelo, lo cual incrementará la biomasa de la CMS.

4. MÉTODO

4.1. Sitio de estudio

La zona de estudio es en la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas (EBTLT) que pertenece al Instituto de Biología de la UNAM. Las coordenadas geográficas son: 95° 04' – 95° 09' de longitud oeste y a 18° 34' – 18° 36' de latitud norte en la porción suroeste del estado de Veracruz (IBUNAM, 2017).

4.1.1. Clima

El clima de la región es cálido-húmedo Am(f), con una temperatura media anual máxima de 27.3°C y mínima de 21.5°C y una precipitación media anual de más de 4,500 mm (IBUNAM, 2017). Lluve durante todo el año, pero se logra distinguir una época húmeda que se extiende de junio a febrero y una seca entre marzo y mayo (Figura 2), el mes más seco es abril y los más lluviosos van desde julio hasta noviembre (Guevara et al., 1999).

Durante los meses de septiembre a febrero ocurre un desplazamiento de masas de aire frío provenientes del norte que “cargan” humedad a su paso por el Golfo de México (IBUNAM, 2017). Los vientos resultantes, conocidos localmente como “nortes”, se desplazan a velocidades de hasta 80 a 100 km/h y aportan cerca del 15% de la precipitación anual (Guevara et al., 1999).

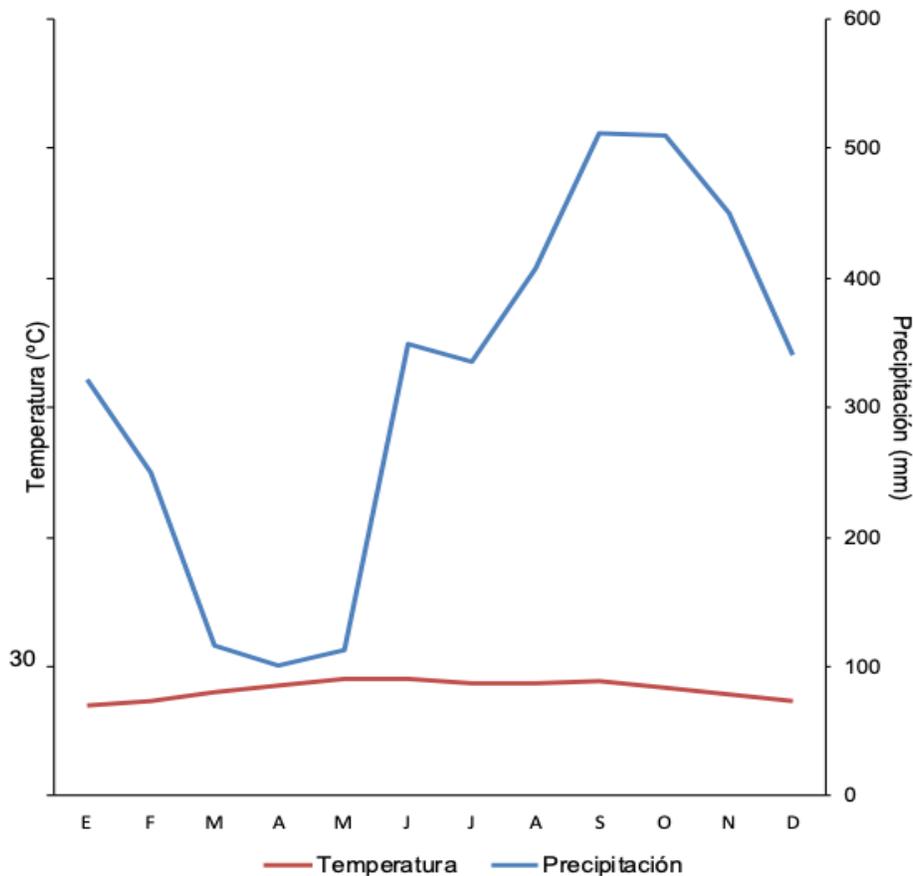


Figura 2. Diagrama ombrotérmico. Datos obtenidos de la Estación Climatológica de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, 1996-2015. La línea roja representa la temperatura y la línea azul la precipitación (Tomado de Baleón-Sepúlveda, 2021).

4.1.2. Vegetación

La Estación se encuentra inmersa en un mosaico antrópico, sin embargo, la vegetación dominante dentro de su núcleo sigue siendo bosque tropical perennifolio (Rzedowski, 2006), también conocido como selva alta perennifolia (Miranda y Hernández-X, 1963). En esta región se han reportado 940 especies, 543 géneros y 137 familias, siendo los géneros más abundantes *Epidendrum* (16 especies), *Ficus* (15), *Piper* (13), *Eupatorium* (11), y *Psychotria* (11), en donde se logran identificar distintas formas de crecimiento vegetal, tales como árboles, herbáceas, epífitas, lianas, trepadoras, arbustos y parásitas (Ibarra y Sinaca, 1995).

4.1.3. Suelo

El macizo volcánico de Los Tuxtlas consta de un relieve de grandes llanuras y abundantes pantanos de origen fluvial, también alberga 276 estructuras formadas por erupciones volcánicas (Coll de Hurtado, 1970). Los suelos dominantes en las partes altas de La Estación son los andisoles y los alfisoles representan a las partes más bajas; el sustrato geológico de estos suelos está constituido por rocas basálticas y andesíticas mezcladas con cenizas volcánicas. Los suelos originados de ceniza volcánica presentan alto contenido de materia orgánica en capas superficiales (5 a 20%), concentraciones de nitrógeno total de 0.2 a 0.7%, valores de pH de 4 a 6.5 (Flores et al., 1999). Entre los afloramientos de materiales volcánicos se encuentran rocas sedimentarias, como calizas, arcillas y areniscas (Salvador-Flores, 1971).

4.2. Diseño experimental

Se seleccionaron 15 claros dentro de La Estación de Biología Tropical (Figura 3). Los claros se clasificaron en tres etapas de regeneración con base en criterios observados en campo. La selección de los sitios se realizó bajo la asesoría del parataxónomo Praxedis Sinaca Colín.

- a) 5 claros de apertura reciente (CR) (≤ 5 años): mayor apertura del dosel e incidencia de luz; abundante materia orgánica acumulada en el suelo; individuos de especies de plantas en estadios tempranos de desarrollo.
- b) 5 claros de regeneración intermedia (CI) (≤ 10 años): moderada apertura del dosel e incidencia de luz; menor materia orgánica acumulada en suelo; mayor desarrollo en las especies de plantas.
- c) 5 claros de mayor tiempo de regeneración (CM) (≤ 15 años): menor apertura del dosel y disponibilidad de luz; menor materia orgánica acumulada; mayor desarrollo en las especies de plantas.

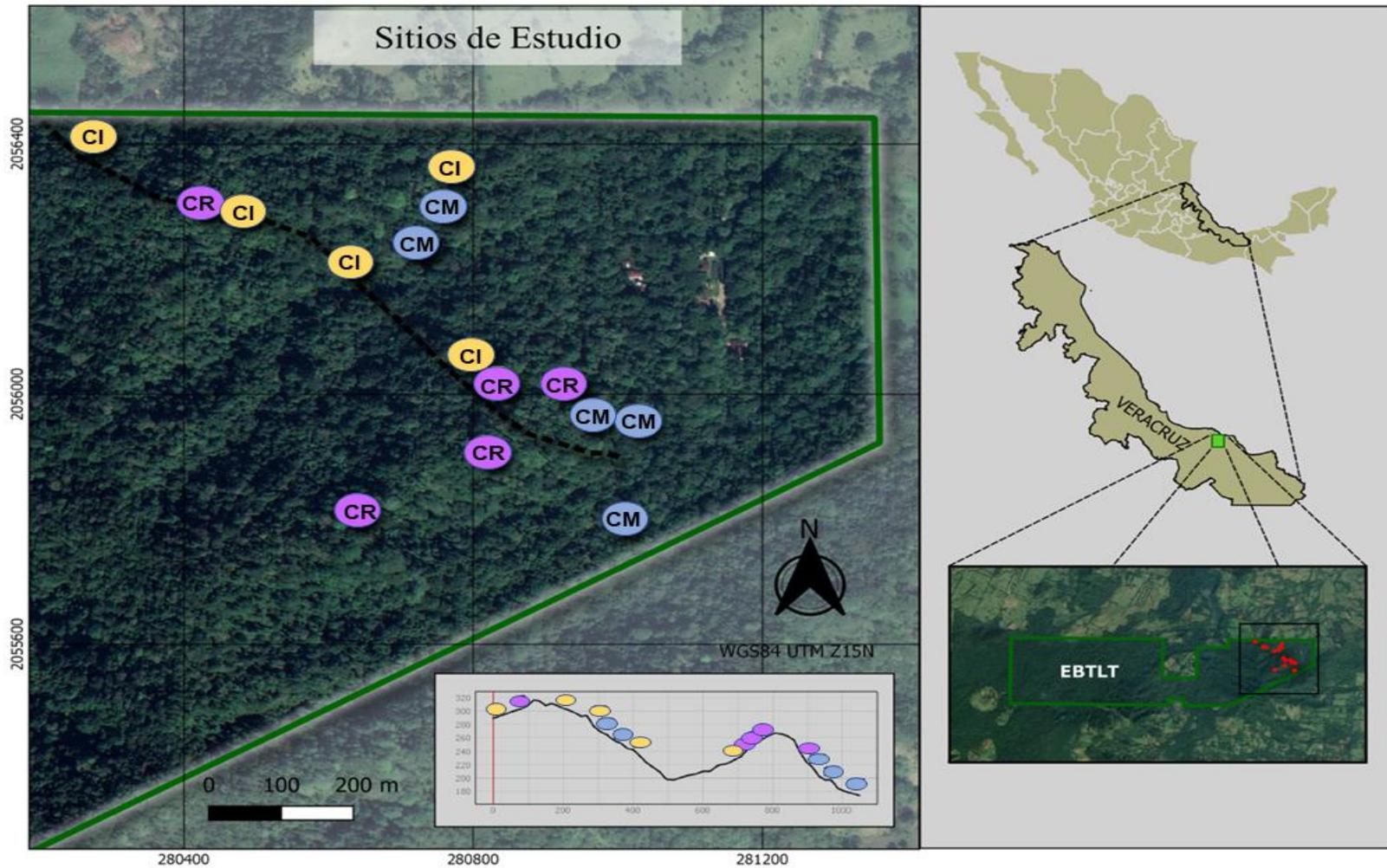


Figura 3. Sitios de estudio en la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” (EBTLT), Veracruz. Los círculos morados corresponden a claros de apertura reciente (R), los amarillos a claros de regeneración intermedia (I) y los azules a claros de mayor tiempo de regeneración (M) (modificado de Baleón-Sepúlveda, 2021).

El muestreo se realizó en septiembre de 2020 correspondiente a la temporada de lluvias. Cada etapa de regeneración se representó por cinco claros, por cada claro se seleccionó un sitio de dosel cerrado (bosque maduro) a una distancia de aproximadamente 50 m para usarlo como referencia. En el centro de ambos se marcó un cuadro de 5m x 5m. En la diagonal del cuadro se tomaron muestras del suelo en tres puntos equidistantes de los primeros 20 cm de profundidad, las 90 muestras se almacenaron en bolsas herméticas para después pasarlas por un tamiz con abertura de malla de 2mm, esto con el objetivo de retirar raíces, rocas y romper agregados del suelo, posteriormente fueron refrigeradas, trasladadas y analizadas en el Laboratorio Nacional de Innovación Ecotecnológica para la Sustentabilidad (LANIES).

4.3 Determinación de variables del suelo

4.3.1 Humedad del suelo

La humedad del suelo es la cantidad de agua por volumen de suelo que hay en un área. La medición de la humedad se realizó gravimétricamente, lo cual consiste en registrar el peso de las muestras de suelo antes y después de un proceso de secado, el resultado obtenido es conocido como la concentración de humedad, que es representado como el porcentaje de peso del agua (% W_{agua}) (S.U et al., 2014).

4.3.2 Materia orgánica del suelo

El análisis del porcentaje de materia orgánica del suelo se llevó a cabo por el método de oxidación de Walkey y Black (1947).

4.3.3 pH

El pH del suelo expresa la concentración de iones $[H^+]$ en la solución del suelo. Esta se midió a través de un potenciómetro.

4.3.4 Extracción y cuantificación de ácidos grasos de la CMS

Las muestras del suelo fueron liofilizadas y pulverizadas para posteriormente determinar los ácidos grasos de bacterias Gram⁺, bacterias Gram⁻, actinobacterias, hongos saprótrofos, hongos micorrizógenos arbúsculares (HMA) y microeucariontes (Tabla 2) a partir de 3 g de suelo mediante de la técnica de fraccionamiento de lípidos (neutros y fosfolípidos) modificada por Frostegård et al. (1993) la cual consta de cuatro etapas:

1. Extracción de ácidos grasos del suelo (Bligh y Dyer 1959; White et al, 1979; Frostegård et al 1993). Durante esta etapa se emplea una mezcla monofásica de cloroformo: metanol: buffer de citrato en las muestras de suelo, que lisa a las células y extrae distintos tipos de grasas, entre ellos los ácidos grasos.
2. Fraccionamiento de lípidos (King et al., 1977; Kates, 1986). Se emplean disolventes con diferente polaridad para obtener distintas fracciones de lípidos. Los lípidos neutros se colectan con cloroformo, los glicolípidos se extraen con acetona y la fracción polar de fosfolípidos (PLFA's) se obtienen con metanol.
3. Metanólisis alcalina. Se realiza para obtener una mezcla de los ésteres de ácidos grasos. Los ésteres son fácilmente identificables a través de la cromatografía de gases. En esta etapa se añaden 100 microlitros de estándar interno 19:0 (0.25 µg/µl), el cual es un ácido graso sintetizado artificialmente que sirve como base para estimar la concentración (nmolesg⁻¹) de otros marcadores.
4. Cromatografía de gases. La determinación y cuantificación de ácidos grasos se realizó en un cromatógrafo de gases CG HP6890, se utilizó N como gas acarreador, se utilizó una columna empacada ultra 2HP, Los ácidos grasos

se identifican con base en su tiempo de retención con relación al estándar interno (std) 19:0 utilizando el software de identificación MIDI (Tabla 2).

Tabla 2. Biomarcadores de ácidos grasos por grupo taxonómico (Frostegård y Bååth, 1996; Larsen et al., 1998; Zelles, 1999; Mitchell et al., 2010; Ruess y Chamberlain, 2010; Fernandes et al., 2013; Tejada et al., 2015; Cycoñ, et al., 2016; Krashevskaja et al., 2018; Liu et al., 2019; Wang et al., 2019; Flores et al., 2020; Ravnskov, et al., 2020).

| Grupo funcional | Fracción lipídica | Marcadores |
|--|------------------------------------|---|
| Bacterias Gram ⁺ | <u>Fracción fosfolipídica PLFA</u> | 13:0 i; 14:0 i; 15:0i; 15:0a; 16:0i; 16:0 a; 17:0i; 17:0a |
| Bacterias Gram ⁻ | <u>Fracción PLFA</u> | cy17:0, 16:0 2OH, cy19:0 ω8c |
| Actinobacterias | <u>Fracción PLFA</u> | 17:0 10-Me; 18:0 10-Me; 18:1 w7c 11-methyl |
| Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) | <u>Fracción neutra NLFA</u> | 16:1ω5c |
| Hongos Saprótrofos | <u>Fracción PLFA</u> | 18:3ω6c (6,9,12); 18:1ω9c; 18:2ω6 |
| Microeucariontes | <u>Fracción PLFA</u> | 20:4ω6,9, 12, 15 |

Para cada ácido graso se calculó su abundancia relativa a través de la siguiente relación:

$$\text{Abundancia relativa} = \left(\frac{\% \text{ área del ácido graso}}{\% \text{ área del pico del std.}} \right)$$

Donde:

std = estándar interno

Una vez obtenida la abundancia relativa de cada ácido graso se procedió a calcular su biomasa o concentración absoluta por gramo de suelo (nmoles g⁻¹) con base en el siguiente factor de conversión:

$$Biomasa = \left(\frac{\text{abundancia relativa} * \text{cantidad del std}}{\text{Peso molecular del std}} \right) \left(\frac{\text{Volumen de Cloformo}}{\text{g de la muestra}} \right) = \text{nmolesg}^{-1}$$

4.4. Análisis de datos

Para determinar diferencias entre las etapas de regeneración se evaluó la distribución de la biomasa de cada grupo funcional de la CMS aplicando la prueba de Shapiro Wilk utilizando la función *Shapiro.test* de la paquetería *basic*. Al no cumplir el supuesto de normalidad, se usó estadística no paramétrica. Se empleó la prueba de Kruskal-Wallis mediante la función *kruskal.test* de la paquetería *basic* (p<0.05). Para determinar las diferencias significativas en la biomasa de cada grupo funcional entre las etapas de regeneración se usó la prueba *Post hoc* de los rangos con signo de Wilcoxon, mediante la función *pairwise.wilcox.test* de la paquetería *agricolae*.

Con el objetivo de comparar la biomasa promedio de la CMS entre coberturas se evaluó la distribución de los datos con la función *Shapiro.test*. Al cumplir el supuesto de normalidad, se realizó una prueba de Anova mediante la función *aov* de la paquetería *basic* con un nivel de significancia de p<0.05.

Para determinar la relación entre los grupos funcionales con las variables de pH, humedad y materia orgánica del suelo se realizó una matriz de correlación múltiple y pruebas de correlación de Spearman de la biomasa de mediante la función *cor* de la paquetería *corrplot*. Se ocupó la función *rcorr* de la paquetería *basic*, para generar los valores de p de las correlaciones de Spearman.

Finalmente, para determinar la relación entre la composición de la CMS y las propiedades físicas y químicas del suelo evaluadas, se realizó un análisis multivariado de redundancia mediante la función *rda* de la paquetería *vegan*.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el Software R versión 4.0.4 (R Development Core Team, 2021).

5. RESULTADOS

5.1. Biomasa de la comunidad microbiana del suelo

La biomasa promedio más alta de la CMS se encontró en los claros de regeneración intermedia y en los sitios de referencia, mientras que la menor se encontró en los claros de apertura reciente. La mayor contribución promedio a la biomasa fue la del grupo de las bacterias Gram⁺, seguido de las bacterias Gram⁻, las actinobacterias, los HMA, los hongos saprótrofos y la menor contribución de biomasa fue del grupo de los microeucariontes (Figura 4). No se encontraron diferencias significativas en la biomasa de la CMS entre los claros es distintas etapas de regeneración ($p > 0.05$).

5.2. Biomasa por grupo funcional

La biomasa de todos los grupos funcionales suelo fue mayor en los claros de regeneración intermedia (Figura 5). A continuación, se describe la dinámica de biomasa por grupo de microorganismos:

La biomasa de las bacterias Gram⁺ ($X^2 = 12.369$, $df = 3$, $p = 0.006$; Figura 5a), las actinobacterias ($X^2 = 13.766$, $df = 3$, $p = 0.003$; Figura 5c), los HMA ($X^2 = 16.223$, $df = 3$, $p = 0.001$; Figura 5d) y los hongos saprótrofos ($X^2 = 11.384$, $df = 3$, $p = 0.009$; Figura 5e), fue mayor en los claros intermedios y en los claros de mayor tiempo de regeneración. Así, la menor biomasa de estos grupos se encontró en los claros de apertura reciente. La biomasa de las bacterias Gram⁻ fue mayor en los claros de regeneración intermedia y los sitios de referencia ($X^2 = 10.613$, $df = 3$, $p = 0.014$). La menor biomasa de las bacterias Gram⁻ se encontró en los claros recientes (Figura 5b). La biomasa de los microeucariontes ($X^2 = 7.634$, $df = 3$, $p = 0.005$) fue mayor en los claros de regeneración intermedia. La menor biomasa de los microeucariontes se encontró en los claros de apertura reciente. La biomasa de los microeucariontes en los claros de mayor tiempo de regeneración no fue diferente a la biomasa de claros de apertura recientes y regeneración intermedia (Figura 5f).

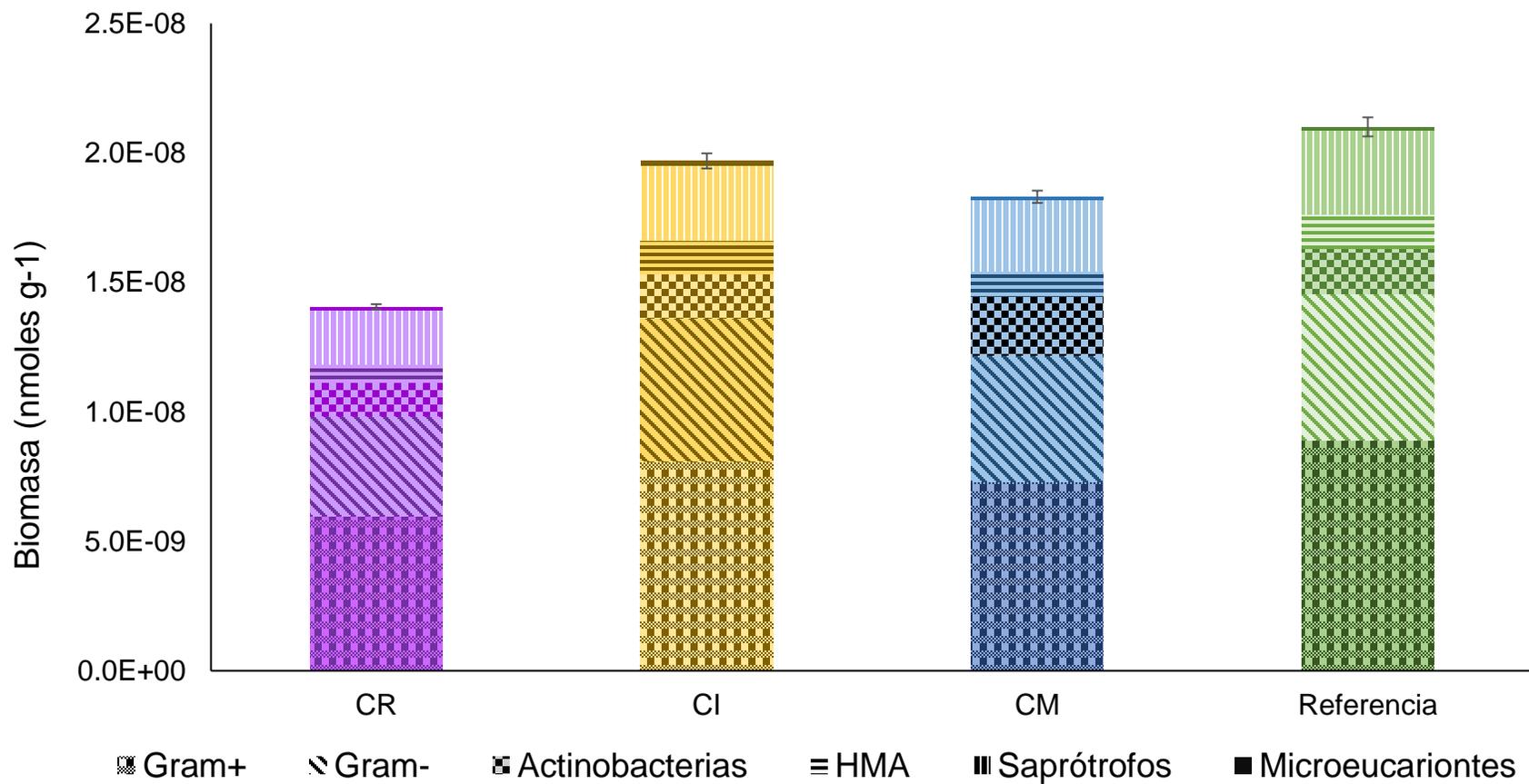


Figura 4. Contribución promedio de la biomasa correspondiente a la CMS en claros de diferentes etapas de regeneración natural. CR: claros de apertura reciente; CI: claros de regeneración intermedia; CM: claros de mayor tiempo de regeneración y en los sitios de referencia, no se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$).

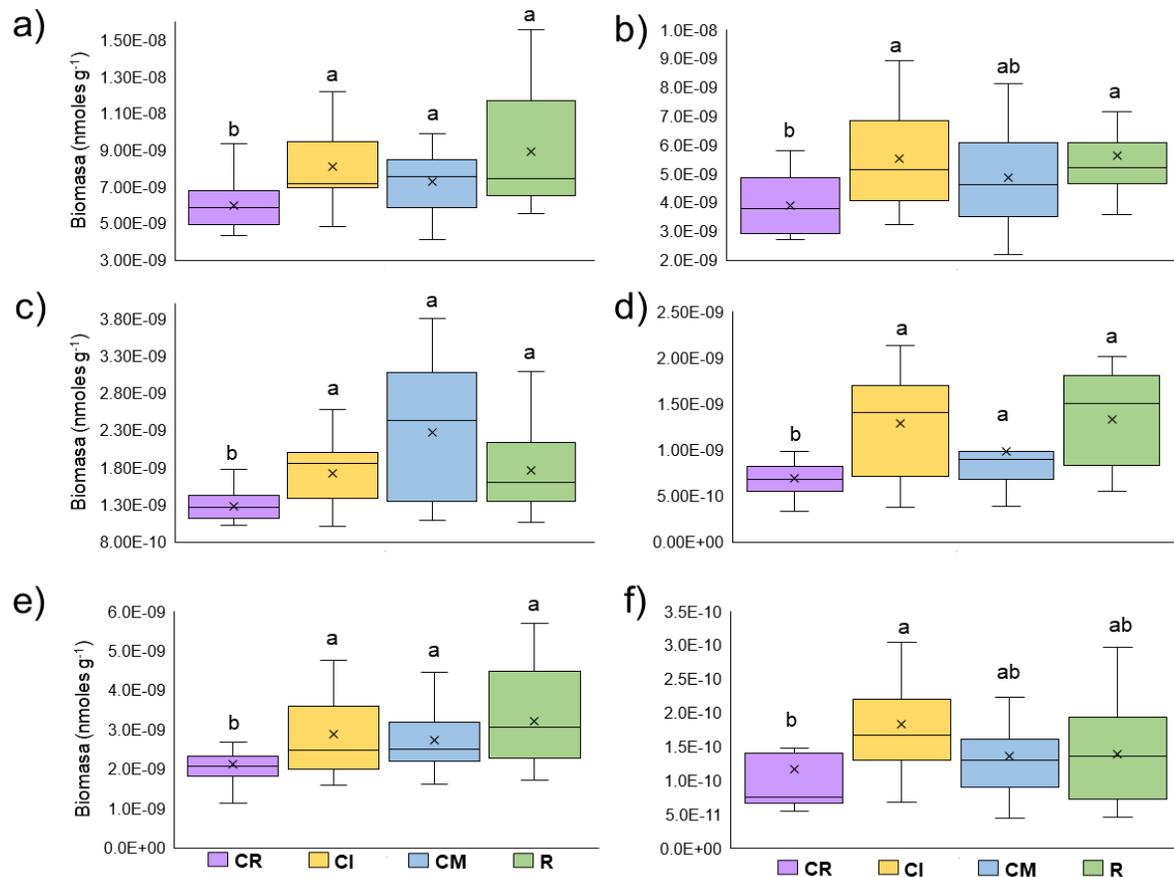


Figura 5. Biomasa por grupo taxonómico, a) bacterias Gram⁺, b) bacterias Gram⁻, c) actinobacterias, d) HMA, e) hongos saprófitos, f) microeucariontes. Los colores representan los distintos estados de regeneración: claros de apertura reciente (morado); claros de regeneración intermedia (amarillo); claros de mayor tiempo de regeneración (azul); sitios de referencia (verde). Las letras distintas indican diferencias significativas con base en la prueba *Post hoc* de los rangos con signos de Wilcoxon ($p < 0.05$)

5.3. Correlaciones

La matriz de correlaciones múltiple (Figura 6) mostró coeficientes de correlación de Spearman (r_s) bajos. La humedad y la MOS tuvieron relaciones positivas con todos los grupos de la CMS, excepto con las actinobacterias, cuyas relaciones fueron negativas. Por otro lado, el pH presentó relaciones negativas con todos los grupos de microbiota del suelo.

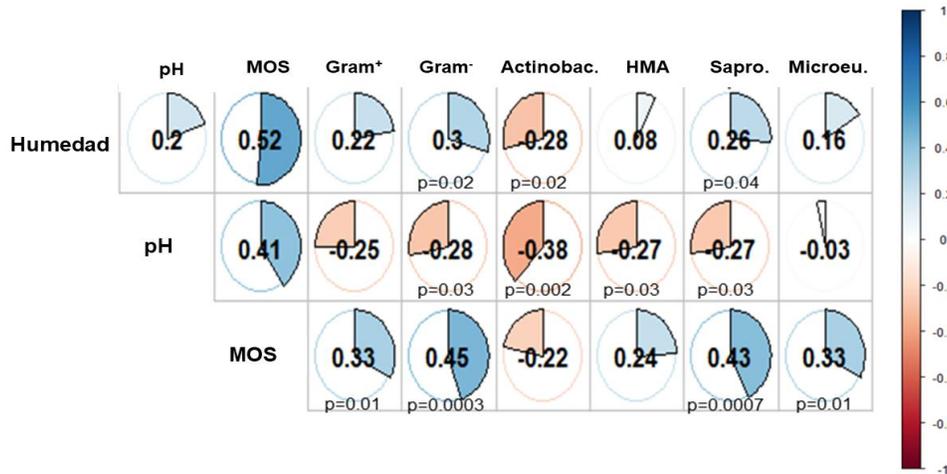


Figura 6. Matriz de correlación de la biomasa por grupo taxonómico con la materia orgánica del suelo (MOS), pH y humedad. La intensidad del color en la matriz indica la fuerza en la relación, los colores rojos indican relaciones negativas, mientras que los colores azules muestran relaciones positivas. Los números en las gráficas de pastel son los coeficientes de correlación de Spearman (r_s), debajo se encuentran los valores de p de las relaciones que fueron significativas. Algunos grupos microbianos se encuentran abreviados: actinobacterias (Actinobac.), hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), hongos saprótrofos (Sapro.), microeucariontes (Microeu.).

La biomasa de las actinobacterias se relacionó negativamente con el porcentaje de humedad en el suelo, el pH y con el porcentaje de MOS (Figura 7). Por otra parte, la biomasa de los hongos saprótrofos se relacionó positivamente con el porcentaje de humedad del suelo; mientras que, la biomasa de las bacterias Gram⁻ se relacionó positivamente con el porcentaje de materia orgánica del suelo (MOS) (Figura 8).

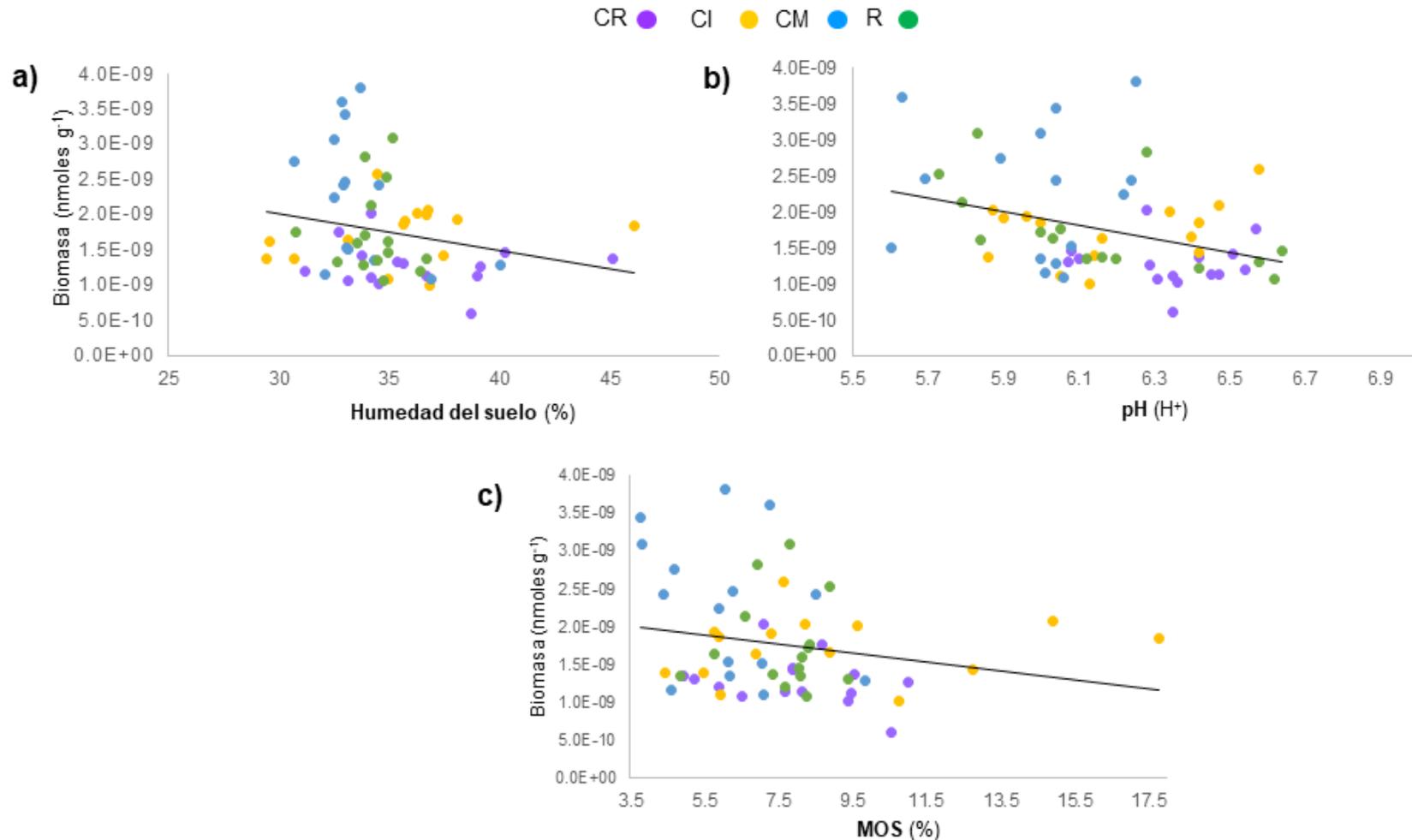


Figura 7. Relaciones negativas de las actinobacterias con el porcentaje de humedad del suelo ($r = -0.28$, $p = 0.022$; Figura 7a), el pH ($r = -0.38$, $p = 0.009$; Figura 7b) y el porcentaje de materia orgánica del suelo (MOS) ($r = -0.22$, $p = 0.014$; Figura 7c). Los colores representan las distintas etapas de regeneración. morado: claros de apertura reciente, amarillo: claros de regeneración intermedia, azul: claros de mayor tiempo de regeneración; verde: sitios de referencia

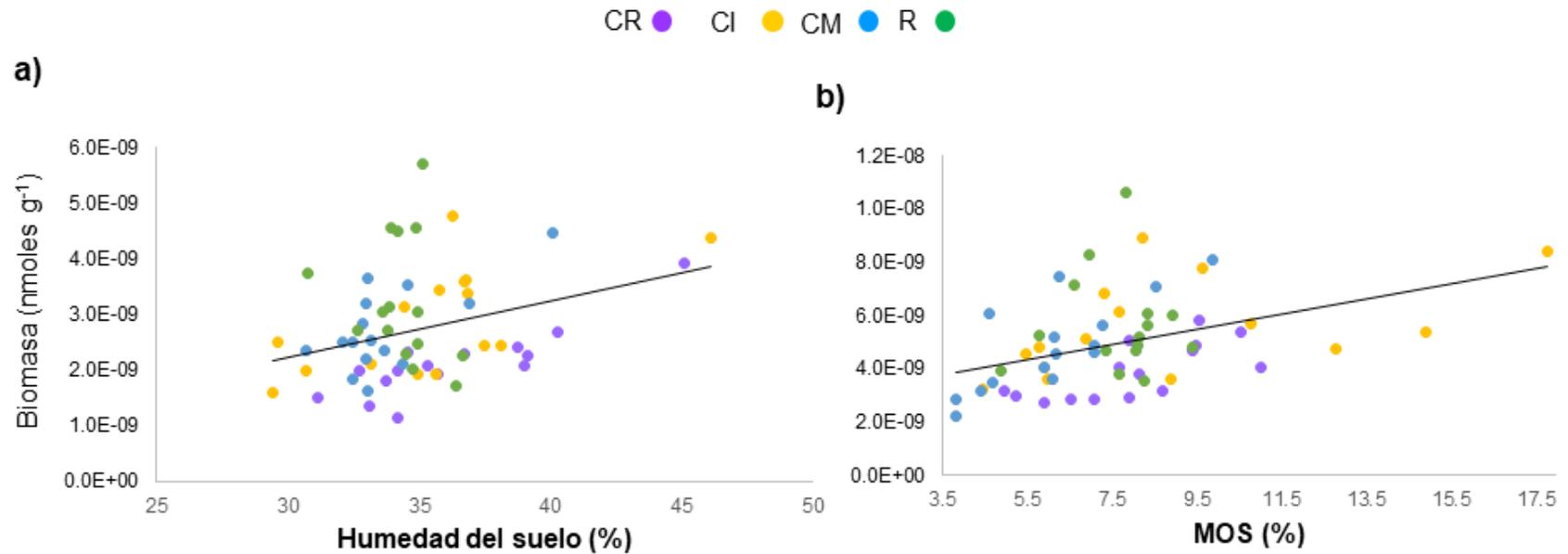


Figura 8. Correlación positiva de la biomasa de hongos saprófitos y el porcentaje de humedad del suelo ($r=0.26$, $p=0.84$). Relación positiva de la biomasa de bacterias Gram⁻ y el porcentaje de materia orgánica del suelo (MOS) ($r=0.45$, $p=0.78$). Los colores representan las distintas etapas de regeneración. morado: claros de apertura reciente, amarillo: claros de regeneración intermedia, azul: claros de mayor tiempo de regeneración; verde: sitios de referencia.

5.4. Analisis Multivariado de Redundancia (RDA)

La variación explicada por los dos primeros ejes del análisis de redundancia (RDA) es de 25.47% (Tabla 3). El eje 1 explica el 22.69% y el eje 2 explica el 2.78% de la variación total. En el caso del primer eje, no se encontró ninguna variable del suelo asociada, pero sí a todos los grupos taxónomicos de microorganismos, a excepción de las actinobacterias. Para el segundo eje, el pH y el porcentaje de humedad contribuyeron a explicar la variación de los datos de manera positiva.

Tabla 3. Valores propios y porcentaje acumulativo de variación en los dos primeros ejes para las propiedades físicas del suelo y los marcadores de la CMS.

| | Eje 1 | Eje 2 |
|-------------------------------------|-------|-------|
| Valores propios | 1.36 | 0.16 |
| Porcentaje de variación acumulativo | 22.69 | 25.47 |
| % Humedad | -0.44 | 0.75 |
| % MOS | -0.65 | 0.66 |
| pH | 0.44 | 0.81 |
| Gram ⁺ | -0.83 | 0.009 |
| Gram- | -1.11 | 0.017 |
| Actinobacterias | -0.13 | -0.66 |
| HMA | -0.81 | -0.15 |
| Hongos saprótrofos | -1.10 | 0.03 |
| Microeucariontes | -0.65 | 0.22 |

En el análisis de redundancia no es posible identificar una tendencia clara de agrupación para los claros con base en su etapa de regeneración (Figura 10). Sin embargo, los sitios que corresponden a los claros de apertura reciente mostraron una tendencia de agrupación en el primer cuadrante, donde el aumento de pH es la propiedad que explica más la variación. Los sitios de referencia se agruparon en su mayoría en el cuarto cuadrante, en donde se encuentran los valores más bajos para todas las variables de suelo.

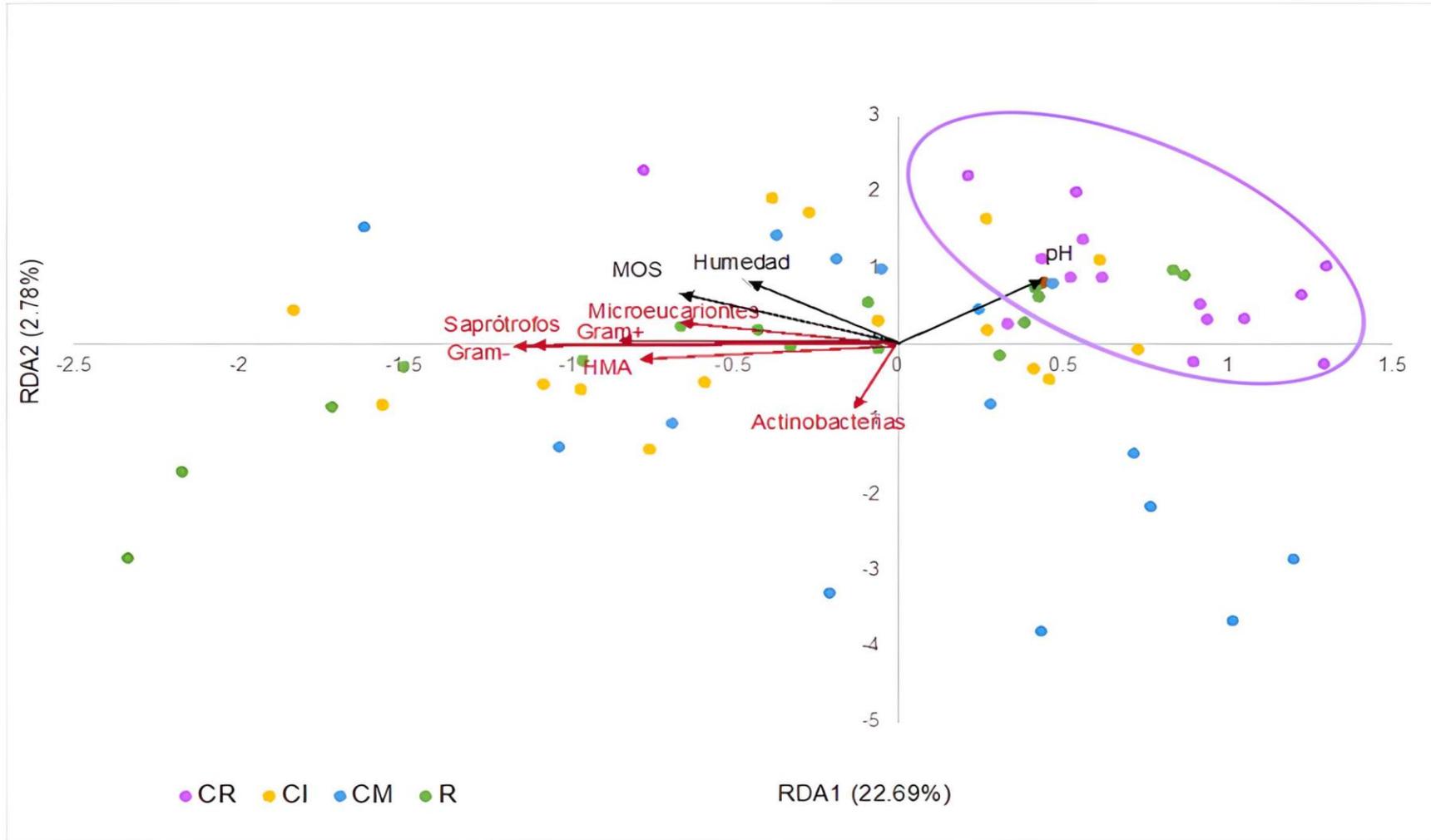


Figura 10. Análisis de redundancia que muestra la biomasa de los grupos funcionales (vectores rojos) y las propiedades del suelo (vectores negros), Los colores representan las distintas etapas de regeneración. morado: claros de apertura reciente, amarillo: claros de regeneración intermedia, azul: claros de mayor tiempo de regeneración; verde: sitios de referencia.

6. DISCUSIÓN

6.1. Cambios en los factores abióticos tras la apertura de claros

La estructura de la comunidad microbiana del suelo está sujeta a los cambios espaciales y temporales de un ecosistema (Smith et al., 2013; Smith et al., 2014; Flores et al., 2020). En este trabajo se encontraron cambios en los factores abióticos y en la estructura de la CMS en claros de distintas etapas en regeneración natural durante la temporada de lluvias.

Entre los factores abióticos está el pH del suelo, el cual se considera el principal regulador de la estructura de las comunidades bacterianas, fúngicas y microeucarióticas (Brady y Well, 2008; Rousk y Bååth, 2011; Shi et al., 2022). Para esta variable se esperaba encontrar valores básicos tras la apertura de claros, puesto que el aumento de materia orgánica del suelo (MOS) recupera la capacidad amortiguadora del suelo e incrementa el pH de suelos ácidos (Bot y Benites, 2005). Mientras que, al avanzar la regeneración, el pH disminuiría producto de la temperatura elevada y la lluvia constante que intensifican los procesos de lixiviación y mineralización de la MOS, lo cual acidifica el suelo (USDA, 2014). Esta hipótesis no se cumplió, sin embargo, los claros de apertura reciente tuvieron un pH ácido más alto (6.34) en comparación con las demás etapas de regeneración.

Otro factor abiótico fue la humedad del suelo, se esperaba que esta variable disminuyera tras la apertura de claros, puesto que la sombra generada por el follaje superior de los estratos arbóreos en un dosel cerrado mantiene la humedad en la superficie a pesar de su evapotranspiración (Mark y Ashton, 1992; Ediriweera et al., 2011), sin embargo, la humedad del suelo fue mayor en los claros de apertura reciente, lo cual puede deberse a una menor carga de transpiración vegetal (Denslow, 1987). En suelos tropicales, el tamaño de los claros se relaciona con el secado del suelo; a mayor tamaño de un claro se favorece la pérdida de agua por evaporación, mientras que en un claro pequeño, la extracción hídrica se da por transpiración vegetal (Marthews et al., 2008).

Finalmente, se esperaba encontrar los valores más altos de MOS en los claros de apertura reciente, debido a que la suma de la biomasa vegetal caída (Álvarez-Sánchez et al., 2002; Lodge et al., 2014), el aumento de la humedad y la temperatura del suelo favorecen la degradación de los residuos vegetales (Lal et al., 2015). Sin embargo, los valores más altos de MOS se encontraron en los claros de regeneración intermedia, lo cual puede indicar que la MOS acumulada sobre el suelo se incorpora de forma gradual antes de pasar al almacén de MOS activa.

6.2. Cambios en la estructura de la comunidad microbiana del suelo

La menor biomasa de la CMS se encontró en los claros de apertura reciente, esto puede deberse a que fueron los sitios de mayor humedad y temperatura del suelo (Denslow, 1987), lo cual estimula la evaporación del suelo, en consecuencia, aumenta la disrupción física de agregados del suelo y la lisis celular microbiana por choque osmótico, esto afecta negativamente la composición de la comunidad microbiana del suelo (Chowdhury et al., 2011; Burns et al., 2013). Los suelos rehumedecidos presentan mayor MOS disponible (Fierer y Schimel, 2002), la cual se incorpora paulatinamente en diferentes almacenes activos (Lal et al., 2015). Con el tiempo la incorporación de la MOS favorece el incremento en la biomasa de la CMS (Smith et al., 2014), esto podría explicar porque la mayor biomasa se concentró en los claros de regeneración intermedia, puesto que presentaron los valores más altos de MOS. Por otro lado, la menor biomasa de la CMS en claros de mayor tiempo de regeneración puede deberse a que estos sitios reducen los almacenes activos de MOS (Lal et al., 2015).

La biomasa de las bacterias Gram⁺ y Gram⁻ se relacionó positivamente con la MOS. En este sentido, la mayor biomasa de ambos grupos se encontró en los claros de regeneración intermedia, etapa que concentró el valor más alto de MOS (8.83%) (Tabla 4). Esto coincide con estudios previos en donde el incremento en la biomasa bacteriana está relacionado con mayor disponibilidad de nutrientes y almacenes de MOS activos (Smith et al., 2014; Fabian et al., 2017). Las bacterias Gram⁻ y Gram⁺ (incluidas las actinobacterias), son organismos que pueden

adaptarse a distintos modos de vida y poseer cierta plasticidad en su actividad metabólica que les permite asimilar y tolerar distintos recursos y condiciones ambientales en tiempos relativamente cortos (Schmidt et al., 2007; Anandan et al., 2016). Por otro lado, la biomasa de las bacterias Gram⁺ y Gram⁻ se relacionó positivamente con la humedad del suelo, esta variable tuvo sus valores más altos en los claros de regeneración reciente e intermedia, de modo que la humedad encontrada en etapas de regeneración tempranas puede jugar un papel crítico en la modificación de la estructura de la CMS (Serna-Chavez et al., 2013).

En el caso de las actinobacterias fueron el único grupo que presentó relaciones negativas con todos los factores abióticos evaluados. Se esperaba que su biomasa incrementara con la humedad del suelo, sin embargo, el crecimiento de las actinobacterias disminuye o se limita con la mayor disponibilidad de agua (Barka et al., 2016). También se esperaba que su biomasa se relacionara de forma débil y negativa con el pH del suelo, puesto que algunos géneros han sido reportados en suelos ácidos (Suela et al., 2013), Por este motivo, tiene mayor peso la hipótesis que plantea el incremento y la abundancia de actinobacterias a valores de pH neutros o alcalinos (Goodfellow y Williams, 1983).

En resumen, toda la biomasa bacteriana mostró una relación negativa con el pH del suelo, lo cual puede deberse principalmente a que el pH mostró únicamente valores ácidos con un rango (≤ 6.34) que no es óptimo para el crecimiento bacteriano, ya que esta comunidad tiene afinidad hacia el pH básico o neutro (Goodfellow y Williams, 1983; van der Heijden et al., 2008; Rousk et al., 2009).

Por otro lado, la menor biomasa de hongos saprótrofos y los HMA en los claros de apertura reciente puede deberse a que estos sitios presentaron los valores más altos de pH (los disturbios pueden aumentar el fósforo disponible) lo cual disminuye la abundancia de estos dos grupos (Rousk y Bååth, 2011; Shi et al., 2019). Los hongos habitan en suelos ácidos con un rango de pH de 4-6 (Brady y Well, 2008; Peto, 2021), que les permite hacer uso de su maquinaria enzimática, la cual es capaz de romper toda clase de compuestos provenientes de las plantas (Kellner y Vandenbol, 2010; Datta, et al., 2017). En este sentido la biomasa de ambos grupos fue mayor en claros de intermedia y mayor regeneración los cuales tuvieron los

valores más ácidos de pH. En otro sentido, los claros de regeneración intermedia tuvieron mayor MOS, la cual promueve la tasa de crecimiento del micelio externo de los HMA (Chapin et al., 2011) e incrementan su biomasa. En términos ecológicos, los hongos poseen una ventaja competitiva en el aprovechamiento y degradación de la MOS puesto que transportan fósforo y nitrógeno aún en entornos con baja concentración de nutrientes en comparación con las bacterias. (Chapin et al., 2011).

Por último, la biomasa de los microeucariontes se relacionó positivamente con la MOS y la humedad del suelo. Mientras que el pH mostró una débil relación negativa con la biomasa de este grupo. De manera general, se considera que el pH es el principal factor abiótico que regula la estructura de este grupo (Wu et al., 2011; Shi et al., 2022). Sin embargo, durante este estudio no tuvo un efecto importante, lo que indica la importancia de explorar estas relaciones puesto que aún son poco conocidos los atributos que modifican la estructura de esta comunidad (Murase et al., 2014). También se debe considerar que los microeucariontes son microorganismos que presentan una enorme diversidad no solo en términos de su composición, sino también funcional y metabólica.

En este estudio, las relaciones entre los factores abióticos y la biomasa de la CMS coinciden con la investigación de Flores y colaboradores (2020), donde concluyen que el pH no es un factor determinante para explicar la variación de la comunidad de hongos, bacterias y protistas que habitan el BTP durante la temporada de luvias; en este sentido, cuando hay mayor disponibilidad de agua en el suelo del BTP, los factores abióticos más relevantes son la MOS, los nitratos y los fosfatos (Flores et al., 2020).

El análisis multivariado de redundancia explicó una baja variación entre sus factores. Sin embargo, se encontró una tendencia de agrupamiento en los claros de apertura reciente explicada principalmente por el pH. Por otro lado, los claros de intermedia y mayor regeneración se agruparon mayormente entre la humedad y la MOS, ambos factores se asociaron positivamente con biomasa de toda la CMS (con excepción de actinobacterias); por lo que, a mayor disponibilidad de agua y nutrientes en el suelo, la biomasa de estos grupos incrementa.

Perspectivas

Analizar a la dinámica de la comunidad microbiana en suelos (CMS) tropicales es un fenómeno multifactorial que debe integrar la variación en los factores abióticos y bióticos. En este estudio se determinó la estructura de la CMS en función de los cambios en el pH, la humedad y la MOS durante la temporada de lluvias del BTP. Los estudios indican que los factores abióticos son los de mayor importancia para determinar la estructura de la CMS, sin embargo, cada vez es más evidente la necesidad de integrar en este tipo de evaluaciones las interacciones bióticas, por lo que sería una contribución interesante en el futuro considerar factores edáficos y vegetales, así como también sus variaciones espacio temporales.

7. CONCLUSIONES

La composición de la CMS a nivel de grupo taxonómico mostró cambios a lo largo de las distintas etapas de regeneración durante la temporada de lluvias del BTP.

La biomasa de bacterias Gram⁺, bacterias Gram⁻, hongos saprótrofos, HMA y microeucariontes se relacionó positivamente con la humedad y la materia orgánica del suelo (MOS).

Las actinobacterias fueron el único grupo que presentó relaciones negativas con las variables edáficas evaluadas (pH, la humedad y la MOS) puesto que abundan en suelos alcalinos o neutros con menor disponibilidad de agua.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abel, K., Deschmertzing, H., y Peterson, J. I. (1963). Classification of microorganisms by analysis of chemical composition I: feasibility of utilizing gas chromatography. *Journal of Bacteriology*, 85(5), 1039-1044.
- Álvarez-Sánchez J. y Naranjo García E. (eds). (2003). Ecología del Suelo en la selva tropical húmeda de México. Instituto de Ecología, A.C., Instituto de Biología y Facultad de Ciencias, UNAM. Xalapa, México, 5-24.
- Álvarez-Sánchez, J., Olivares, J., Caprile, A., Guzmán, L., y Viguera, A. (2002). Meso y macrofauna de la hojarasca en condiciones de dosel cerrado y claros en una selva húmeda tropical. *Folia Entomológica Mexicana*, 41, 105-108.
- Allison, S. D., y Vitousek, P. M. (2004). Extracellular enzyme activities and carbon chemistry as drivers of tropical plant litter decomposition. *Biotropica*, 36(3), 285-296.
- Anandan, R., Dharumadurai, D., y Manogaran, G. P. (2016). An introduction to actinobacteria. En *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*. Intechopen.
- Arias, H. A. (1991). La descomposición de la materia orgánica y su relación con algunos factores climáticos y microclimáticos. *Agronomía Colombiana*, 8(2), 384-388.
- Barberán, A., McGuire, K. L., Wolf, J. A., Jones, F. A., Wright, S. J., Turner, B. L., y Fierer, N. (2015). Relating belowground microbial composition to the taxonomic, phylogenetic, and functional trait distributions of trees in a tropical forest. *Ecology letters*, 18(12), 1397-1405.
- Bar-On, Y. M., Phillips, R., y Milo, R. (2018). The biomass distribution on Earth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(25), 6506-6511.
- Bardgett, R. D., y Van Der Putten, W. H. (2014). Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, 515(7528), 505-511.
- Baleón-Sepúlveda, M. A. (2017). Los ácidos grasos como indicadores de la actividad de la microbiota en suelos derivados en una selva húmeda tropical,

- Los Tuxtlas, Veracruz, México. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 9-54.
- Baleón-Sepúlveda, M. A. (2021). Evaluación de la respuesta de la comunidad microbiana del suelo en la regeneración en claros del bosque tropical perennifolio, Los Tuxtlas, Veracruz, México. Tesis de maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 1-30.
- Barajas-Guzmán, G., y Álvarez-Sánchez, J. (2004). Asignación de recursos e influencia de los cotiledones en el crecimiento de plántulas de *Nectandra ambigens* (Blake) CK Allen (Lauraceae) en una selva tropical húmeda. *Botanical Sciences*, (74), 5-12.
- Barka, E., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau, N., Jacquard, C., Klenk, H., y van Wezel, G. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1-43.
- Banerjee, S., y van der Heijden, M. G. (2022). Soil microbiomes and one health. *Nature Reviews Microbiology*, 1-15.
- Bianciotto, V., Bandi, C., Minerdi, D., Sironi, M., Tichy, H. V., y Bonfante, P. (1996). An obligately endosymbiotic mycorrhizal fungus itself harbors obligately intracellular bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 62(8), 3005-3010.
- Bot, A., y Benites, J. (2005). The importance of soil organic matter: Key to drought-resistant soil and sustained food production (No. 80). *Food & Agriculture Org.*
- Bongers, F., Popma, J., Del Castillo, J. M., y Carabias, J. (1988). Structure and floristic composition of the lowland rain forest of Los Tuxtlas, Mexico. *Vegetatio*, 74(1), 55-80.
- Blackwell, M. (2011). The Fungi: 1, 2, 3... 5.1 million species? *American journal of botany*, 98(3), 426-438.
- Bligh, E. G., y Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911-917.
- Brady, N. C., y Weil, R. (2008). The nature and properties of soils (Vol. 13, pp. 662-710). Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.

- Brokaw, N. (1985). Gap - phase regeneration in a tropical forest. *Ecology*, 66(3), 682-687.
- Burns, R. G., DeForest, J. L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R. L., Stromberger, M. E., Wallenstein, M. D., y Zoppini, A. (2013). Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 58, 216-234.
- Camenzind, T., Hättenschwiler, S., Treseder, K. K., Lehmann, A., y Rillig, M. C. (2018). Nutrient limitation of soil microbial processes in tropical forests. *Ecological Monographs*, 88(1), 4-21.
- Campbell, N., y Reece, J. (2005). *Biology*. 7ma Edición. Estados Unidos.
- Campo, J., Bass, D., y Keeling, P. J. (2020). The eukaryome: diversity and role of microeukaryotic organisms associated with animal hosts. *Functional Ecology*, 34(10), 2045-2054.
- Carney, K. M., y Matson, P. A. (2006). The influence of tropical plant diversity and composition on soil microbial communities. *Microbial Ecology*, 52(2), 226-238.
- Chaer, G., Fernandes, M., Myrold, D., y Bottomley, P. (2009). Comparative resistance and resilience of soil microbial communities and enzyme activities in adjacent native forest and agricultural soils. *Microbial Ecology*, 58(2), 414-424.
- Chapin III, F. S., Matson, P. A., y Vitousek, P. (2011). *Principles of terrestrial ecosystem ecology*. Springer, New York.
- Cavagnaro, T. R., Bender, S. F., Asghari, H. R., y van der Heijden, M. G. (2015). The role of arbuscular mycorrhizas in reducing soil nutrient loss. *Trends in Plant Science*, 20(5), 283-290.
- Chazdon, R. L., y Fetcher, N. (1984). Photosynthetic light environments in a lowland tropical rain forest in Costa Rica. *The Journal of Ecology*, 72, 553-564.
- Chazdon, R. L., y Guariguata, M. R. (2016). Natural regeneration as a tool for large - scale forest restoration in the tropics: prospects and challenges. *Biotropica*, 48(6), 716-730.

- Chen, J., Xu, H., He, D., Li, Y., Luo, T., Yang, H., y Lin, M. (2019). Historical logging alters soil fungal community composition and network in a tropical rainforest. *Forest Ecology and Management*, 433, 228-239.
- Chenu, C., Rumpel, C., y Lehmann, J. (2015). Methods for studying soil organic matter: nature, dynamics, spatial accessibility, and interactions with minerals. En Eldor, A (Ed) *Soil microbiology, ecology and biochemistry* (Fourth Edition). E.U.A: Academic Press.
- Chowdhury, N., Marschner, P., y Burns, R. G. (2011). Soil microbial activity and community composition: impact of changes in matric and osmotic potential. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(6), 1229-1236.
- Coll-Hurtado, A. (1970). Carta geomorfológica de la región costera de los Tuxtlas, Estado de Veracruz. Escala 1:50,000. Boletín del Instituto de Geografía (UNAM), 3:23-28.
- Cornwell, W., Cornelissen, J., Amatangelo, K., Dorrepaal, E., Eviner, V., Godoy, O., y Westoby, M. (2008). Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide. *Ecology letters*, 11(10), 1065-1071.
- Crouzeilles, R., Ferreira, M. S., Chazdon, R. L., Lindenmayer, D. B., Sansevero, J. B., Monteiro, L., y Strassburg, B. B. (2017). Ecological restoration success is higher for natural regeneration than for active restoration in tropical forests. *Science advances*, 3(11), e1701345.
- Curtis, T. P., Sloan, W. T., y Scannell, J. W. (2002). Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(16), 10494-10499.
- Cycoń, M., Borymski, S., Orlewska, K., Wąsik, T. J., y Piotrowska-Seget, Z. (2016). An analysis of the effects of vancomycin and/or vancomycin-resistant *Citrobacter freundii* exposure on the microbial community structure in soil. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1015.
- Darby, B. J., y Neher, D. A. (2016). Microfauna within biological soil crusts. En *Biological soil crusts: an organizing principle in drylands* (pp. 139-157). Springer, Cham.

- Datta, R., Kelkar, A., Baraniya, D., Molaei, A., Moulick, A., Meena, R. S., y Formanek, P. (2017). *Enzymatic degradation of lignin in soil: a review. Sustainability*, 9(7), 1163.
- Dechnik-Vázquez, Y. A., Meave, J. A., Pérez-García, E. A., Gallardo-Cruz, J. A., y Romero-Romero, M. A. (2016). The effect of treefall gaps on the understorey structure and composition of the tropical dry forest of Nizanda, Oaxaca, Mexico: implications for forest regeneration. *Journal of Tropical Ecology*, 32(2), 89-106.
- Denslow, J. S. (1980). Gap partitioning among tropical rainforest trees. *Biotropica*, 47-55.
- Denslow, J. S. (1987). Tropical rainforest gaps and tree species diversity. *Annual Review of ecology and systematics*, 431-451.
- Denslow, J. S., Ellison, A. M., y Sanford, R. E. (1998). Treefall gap size effects on above and below ground processes in a tropical wet forest. *Journal of Ecology*, 86(4), 597-609.
- Dirzo, R., Aguirre, A., y López, J. (2009). Diversidad florística de las selvas húmedas en paisajes antropizados. *Investigación ambiental Ciencia y política pública*, 1(1).
- Docherty, K. M., Borton, H. M., Espinosa, N., Gebhardt, M., Gil-Loaiza, J., Gutknecht, J. L., y Gallery, R. E. (2015). Key edaphic properties largely explain temporal and geographic variation in soil microbial communities across four biomes. *PloS one*, 10(11), e0135352.
- Ediriweera, S., Singhakumara, B. M. P., y Ashton, M. S. (2011). The variation of resource availability within canopy gaps and adjacent understories across elevational gradients of a Sri Lankan rainforest. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, (4), 321-331.
- Ediriweera, S., Singhakumara, B. M. P., y Ashton, M. S. (2008). Variation in canopy structure, light and soil nutrition across elevation of a Sri Lankan tropical rain forest. *Forest Ecology and Management*, 256(6), 1339-1349.
- Egbe, E. A., Chuyong, G. B., Fonge, B. A., y Namuene, K. S. (2012). Forest disturbance and natural regeneration in an African rainforest at Korup

- National Park, Cameroon. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 4(11), 377-384.
- Fabian, J., Zlatanovic, S., Mutz, M., y Premke, K. (2017). Fungal–bacterial dynamics and their contribution to terrigenous carbon turnover in relation to organic matter quality. *The ISME journal*, 11(2), 415-425.
- Fell, J. W., Scorzetti, G., Connell, L., y Craig, S. (2006). Biodiversity of micro-eukaryotes in Antarctic Dry Valley soils with < 5% soil moisture. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(10), 3107-3119.
- Fetcher, N., Oberbauer, S. F., y Strain, B. R. (1985). Vegetation effects on microclimate in lowland tropical forest in Costa Rica. *International Journal of Biometeorology*, 29(2), 145-155.
- Fernandes, M. F., Saxena, J., y Dick, R. P. (2013). Comparison of whole-cell fatty acid (MIDI) or phospholipid fatty acid (PLFA) extractants as biomarkers to profile soil microbial communities. *Microbial Ecology*, 66(1), 145-157.
- Fierer, N. (2017). Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 15(10), 579-590.
- Fierer, N., y Jackson, R. B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(3), 626-631.
- Fierer, N., y Schimel, J. P. (2002). Effects of drying–rewetting frequency on soil carbon and nitrogen transformations. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(6), 777-787.
- Flores, L., Sommer, I., Alcalá, J., y Álvarez, J. (1999). Estudio morfogenético de algunos suelos de la región de Los Tuxtlas, Veracruz, México. *Revista mexicana de ciencias geológicas*, 16(1), 5.
- Flores, D., Sánchez, I., Morales, D., Larsen, J., y Álvarez, J. (2020). Changes in the Abundance and Composition of a Microbial Community Associated with Land Use Change in a Mexican Tropical Rain Forest. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20(3), 1144-1155.

- Francez, L., Carvalho, J., Batista, F., Jardim, F., y Ramos, E. (2013). Influência da exploração florestal de impacto reduzido sobre as fases de desenvolvimento de uma floresta de terra firme, Pará, Brasil. *Ciência Florestal*, 23, 743-753.
- Francis, I., Holsters, M., y Vereecke, D. (2010). The Gram - positive side of plant - microbe interactions. *Environmental Microbiology*, 12(1), 1-12.
- Frostegård, A., y Bååth, E. (1996). The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 22(1-2), 59-65.
- Frostegård, Å., Bååth, E., y Tunlio, A. (1993). Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 25 (6), 723-730.
- Frostegård, Å., Tunlid, A., y Bååth, E. (1991). Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. *Journal of Microbiological Methods*, 14(3), 151-163.
- Frostegård, Å., Tunlid, A., y Bååth, E. (2011). Use and misuse of PLFA measurements in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(8), 1621-1625.
- García de Miranda, E. (1973). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana) (No. QC 981. G37 1973).
- García, S. A., Ibarra, V. F., Carriquiry, J. D., y Wakeham, S. G. (1996). Ésteres de fosfolípidos como indicadores de actividad microbiana en sedimentos marinos del alto Golfo de California, México. *Instituto Nacional de Geoquímica*.
- Gavito, M. E., y Olsson, P. A. (2003). Allocation of plant carbon to foraging and storage in arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Ecology*, 45(2), 181-187.
- Genre, A., Lanfranco, L., Perotto, S., y Bonfante, P. (2020). Unique and common traits in mycorrhizal symbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 18(11), 649-660.
- Goodfellow, M., y Williams, S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 37(1), 189-216.

- Goulamoussène, Y., Bedeau, C., Descroix, L., Linguet, L., y Hérault, B. (2017). Environmental control of natural gap size distribution in tropical forests. *Biogeosciences*, 14(2), 353-364.
- Gruner, D. S. (2004). Attenuation of top down and bottom up forces in a complex terrestrial community. *Ecology*, 85(11), 3010-3022.
- Guevara S., Laborde, J., y Sánchez-Ríos, G. (1999). La Reserva de la Biosfera de los Tuxtlas. Documento de Trabajo No 29, 1999, UNESCO (Programa de Cooperación Sur-Sur) París, Francia.
- Heredía Abarca, G., Arias Mota, R. M., y Gallina, S. (2008). Hongos saprobios y endomicorrizógenos en suelos. Agroecosistemas cafetaleros de Veracruz: diversidad, manejo y conservación. *Instituto de Ecología AC (INECOL) e Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT)*, México, 193-213.
- Hermans, S. M., Buckley, H. L., Case, B. S., Curran-Cournane, F., Taylor, M., y Lear, G. (2017). Bacteria as emerging indicators of soil condition. *Applied and environmental microbiology*, 83(1), e02826-16.
- Holman, R. T. (1964). Nutritional and metabolic interrelationships between fatty acids. En *Federation Proceedings*. 23, pp. 1062-1067.
- Horner-Devine, M.C., Leibold, M.A., Smith, V.H. y Bohannan, B.J.M. (2003). Bacterial diversity patterns along a gradient of primary productivity. *Ecology Letters*, 6(7), 613–622.
- Horwath, W. R. (2015). Carbon Cycling. The Dynamics and Formation of Organic Matter. En Eldor, A. (Ed) *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fourth Edition)*. pp. 339-382. E.U.A: Academic Press.
- Hunter, M. D., y Price, P. W. (1992). Playing chutes and ladders: heterogeneity and the relative roles of bottom-up and top-down forces in natural communities. *Ecology*, 73(3), 724-732.
- Ibarra, G., y Sinaca, C. (1995). Lista florística comentada de la Estación de Biología Tropical "Los Tuxtlas", Veracruz, México. *Revista de Biología Tropical*, 75-115.
- IBUNAM (2017). Estación de Biología Tropical "Los Tuxtlas". Instituto de Biología. Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas. UNAM.

- Janse, J. D. (1997). Fatty acid analysis in the identification, taxonomy and ecology of (plant pathogenic) bacteria. *In Diagnosis and Identification of Plant Pathogens* (pp. 63-70). Springer, Dordrecht.
- Jesus, E., Marsh, T. L., Tiedje, J. M., y de S Moreira, F. M. (2009). Changes in land use alter the structure of bacterial communities in Western Amazon soils. *The ISME Journal*, 3(9), 1004-1011.
- Jia, G. M., Cao, J., Wang, C., y Wang, G. (2005). Microbial biomass and nutrients in soil at the different stages of secondary forest succession in Ziwoulin, northwest China. *Forest Ecology and Management*, 217(1), 117-125.
- Johnson, N. C. (2010). Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales. *New Phytologist*, 185(3), 631-647.
- Kates, M. (1986). Radioisotopic techniques in lipidology. *In Techniques of lipidology*. 2. rev ed. Netherlands: Elsevier.
- Kellner, H., y Vandenbol, M. (2010). Fungi unearthed: transcripts encoding lignocellulolytic and chitinolytic enzymes in forest soil. *PLoS One*, 5(6), e10971.
- King, J. D., White, D. C., y Taylor, C. W. (1977). Use of lipid composition and metabolism to examine structure and activity of estuarine detrital microflora. *Applied and Environmental Microbiology*, 33(5), 1177-1183.
- Kivlin, S. N., y Hawkes, C. V. (2016). Temporal and spatial variation of soil bacteria richness, composition, and function in a neotropical rainforest. *PloS one*, 11(7), e0159131.
- Krashevskaya, V., Malysheva, E., Klarner, B., Mazei, Y., Maraun, M., Widyastuti, R., y Scheu, S. (2018). Micro-decomposer communities and decomposition processes in tropical lowlands as affected by land use and litter type. *Oecologia*, 187(1), 255-266.
- Kuijper, D. P., te Beest, M., Churski, M., y Cromsigt, J. P. G. M. (2015). Bottom-up and top-down forces shaping wooded ecosystems: lessons from a cross-biome comparison. *Trophic Ecology*. Cambridge University Press, Cambridge, 107-133.

- Larsen, J., Olsson, P. A., y Jakobsen, I. (1998). The use of fatty acid signatures to study mycelial interactions between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and the saprotrophic fungus *Fusarium culmorum* in root-free soil. *Mycological Research*, 102(12), 1491-1496.
- Larsen, J., y Bødker, L. (2001). Interactions between pea root inhabiting fungi examined using signature fatty acids. *New Phytologist*, 149(3), 487-493.
- Lauber, C. L., Hamady, M., Knight, R., y Fierer, N. (2009). Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(15), 5111-5120.
- Leake, J., Johnson, D., Donnelly, D., Muckle, G., Boddy, L., y Read, D. (2004). Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Canadian Journal of Botany*, 82(8), 1016-1045.
- Lebrija-Trejos, E., Pérez-García, E. A., Meave, J. A., Poorter, L., y Bongers, F. (2011). Environmental changes during secondary succession in a tropical dry forest in Mexico. *Journal of Tropical Ecology*, 477-489.
- Liang, C., y Balsler, T. C. (2011). Microbial production of recalcitrant organic matter in global soils: implications for productivity and climate policy. *Nature Reviews Microbiology*, 9(1), 75-75.
- Lieberman, D., Lieberman, M., Hartshorn, G., y Peralta, R. (1985). Growth rates and age-size relationships of tropical wet forest trees in Costa Rica. *Journal of Tropical Ecology*, 1(2), 97-109.
- Lewin, G., Carlos, C., Chevrette, M., Horn, H., McDonald, B., Stankey, R., Fox, B., y Currie, C. (2016). Evolution and ecology of Actinobacteria and their bioenergy applications. *Annual Review of Microbiology*, 70, 235.
- Liu, M., Sui, X., Hu, Y., y Feng, F. (2019). Microbial community structure and the relationship with soil carbon and nitrogen in an original Korean pine forest of Changbai Mountain, China. *BMC Microbiology*, 19(1), 1-14.
- Lovieno, P., y Bååth, E. (2008). Effect of drying and rewetting on bacterial growth rates in soil. *FEMS microbiology ecology*, 65(3), 400-407.

- Lladó, S., López-Mondéjar, R., y Baldrian, P. (2017). Forest soil bacteria: diversity, involvement in ecosystem processes, and response to global change. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81(2).
- Lodge, D. J., Cantrell, S. A., y González, G. (2014). Effects of canopy opening and debris deposition on fungal connectivity, phosphorus movement between litter cohorts and mass loss. *Forest Ecology and Management*, 332, 11-21.
- Mahé, F., de Vargas, C., Bass, D., Czech, L., Stamatakis, A., Lara, E., y Dunthorn, M. (2017). Parasites dominate hyperdiverse soil protist communities in Neotropical rainforests. *Nature Ecology & Evolution*, 1(4), 1-8.
- Mai-Prochnow, A., Clauson, M., Hong, J., y Murphy, A. B. (2016). Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. *Scientific Reports*, 6(1), 1-11.
- Mark, P., y Ashton, S. (1992). Some measurements of the microclimate within a Sri Lankan tropical rainforest. *Agricultural and Forest Meteorology*, 59(3-4), 217-235.
- Martens, R. (1995). Current methods for measuring microbial biomass C in soil: potentials and limitations. *Biology and Fertility of Soils*, 19(2-3), 87-99.
- Marthens, T., Burslem, D., Paton, S., Yangüez, F., y Mullins, C. (2008). Soil drying in a tropical forest: three distinct environments controlled by gap size. *Ecological Modelling*, 216(3-4), 369-384.
- Martínez-Ramos, M., Alvarez-Buylla, E., Sarukhan, J., y Pinero, D. (1988). Treefall age determination and gap dynamics in a tropical forest. *The Journal of Ecology*, 700-716.
- Martínez-Ramos y García-Orth. (2007). Sucesión ecológica y restauración de las selvas húmedas. *Boletín de la sociedad Botánica de México*, (80), 69-84.
- Martínez-Ramos, M., Sarukhán, J., y Piñero, D. (1988). Demography of tropical trees in the context of forest gap dynamics. *Plant population ecology*. Blackwell Scientific, Oxford, UK, 293-313.
- Martínez-Ramos, M. (1994). Regeneración natural y diversidad de especies arbóreas en selvas húmedas. *Botanical Sciences*, (54), 179-224.

- Martínez-Ramos, M. (2022). Contexto socioecológico para la restauración en paisajes tropicales modificados por actividades humanas. *Boletín de la Sociedad Científica Mexicana de Ecología*, (2), 14-21.
- Mayfield, C., Williams, S., Ruddick, S., y Hatfield, H. (1972). Studies on the ecology of actinomycetes in soil IV. Observations on the form and growth of streptomycetes in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 4(1), 79-91.
- Mitchell, R. J., Campbell, C. D., Chapman, S. J., y Cameron, C. M. (2010). The ecological engineering impact of a single tree species on the soil microbial community. *Journal of Ecology*, 98(1), 50-61.
- Miranda, F. y E. Hernández-X. (1963). Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Botanical Sciences*, (28), 29-179.
- Moi, D. A., García-Ríos, R., Hong, Z., Daquila, B. V., y Mormul, R. P. (2020). Intermediate disturbance hypothesis in ecology: a literature review. *In Annales Zoologici Fennici*, 57(1-6), 67-78.
- Moore, J. C., McCann, K., Setälä, H., y De Ruiter, P. C. (2003). Top-down is bottom-up: does predation in the rhizosphere regulate aboveground dynamics? *Ecology*, 84(4), 846-857.
- Moore, D., Robson, G. D., y Trinci, A. P. (2020). 21st century guidebook to fungi. *Cambridge University Press*
- Murase, J., Hida, A., Ogawa, K., Nonoyama, T., Yoshikawa, N., y Imai, K. (2014). Impact of long-term fertilizer treatment on the microeukaryotic community structure of a rice field soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 80, 237-243.
- Muscolo, A., Bagnato, S., Sidari, M., y Mercurio, R. (2014). A review of the roles of forest canopy gaps. *Journal of Forestry Research*, 25(4), 725-736.
- Nadkarni, N., y Wheelwright, N. (2014). Monteverde: Ecology and Conservation of a Tropical Cloud Forest-2014 Updated Chapters.
- Norden, N. (2014). De porqué la regeneración natural es tan importante para la coexistencia de especies en los bosques tropicales. *Colombia Forestal*, 17(2), 247-261.
- Lal, R., Negassa, W., y Lorenz, K. (2015). Carbon sequestration in soil. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 15, 79-86.

- Lu, D., Zhu, J., Sun, Y., Hu, L., y Zhang, G. (2015). Gap closure process by lateral extension growth of canopy trees and its effect on woody species regeneration in a temperate secondary forest, Northeast China. *Silva Fennica*, 49(5), 1310.
- O'Brien, S. L., Gibbons, S. M., Owens, S. M., Hampton - Marcell, J., Johnston, E. R., Jastrow, J. D., y Antonopoulos, D. A. (2016). Spatial scale drives patterns in soil bacterial diversity. *Environmental microbiology*, 18(6), 2039-2051.
- Oh, Y. M., Kim, M., Lee-Cruz, L., Lai-Hoe, A., Go, R., Ainuddin, N., y Adams, J. M. (2012). Distinctive bacterial communities in the rhizoplane of four tropical tree species. *Microbial ecology*, 64(4), 1018-1027.
- Olsson, P. A. (1999). Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil. *FEMS microbiology ecology*, 29(4), 303-310.
- Olsson, P. A., Bååth, E., Jakobsen, I., y Söderström, B. (1995). The use of phospholipid and neutral lipid fatty acids to estimate biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Mycological Research*, 99(5), 623-629.
- Onyenwoke, R., Brill, J., Farahi, K., y Wiegel, J. (2004). Sporulation genes in members of the low G+ C Gram-type-positive phylogenetic branch (Firmicutes). *Archives of microbiology*, 182(2), 182-192.
- Peto-Barríos, D. (2021). Respiración microbiana edáfica en claros de un bosque tropical perennifolio en los Tuxtlas, Veracruz, México. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 1-33.
- Peña-Becerril, J. C., Álvarez-Sánchez, J., Barajas-Guzmán, G., y Quiroz-Ayala, A. M. (2015). Growth Traits and the Trade-Offs for Tree Species with Arbuscular Mycorrhizal Fungi in a Tropical Rain Forest Edge at Los Tuxtlas, Mexico. *Open Journal of Forestry*, 5(02), 181.
- Poole, P., Ramachandran, V., y Terpolilli, J. (2018). Rhizobia: from saprophytes to endosymbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 16(5), 291-303.
- Prescott, C. E., y Grayston, S. J. (2013). Tree species influence on microbial communities in litter and soil: current knowledge and research needs. *Forest Ecology and Management*, 309, 19-27.

- Prevost-Boure, N. C., Maron, P. A., Ranjard, L., Nowak, V., Dufrene, E., Damesin, C., y Lata, J. C. (2011). Seasonal dynamics of the bacterial community in forest soils under different quantities of leaf litter. *Applied Soil Ecology*, 47(1), 14-23.
- Quevedo-Rojas, A., Jerez-Rico, M., Schwarzkopf Kratzer, T., y García-Núñez, C. (2015). Distribution of juveniles of tree species along a canopy closure gradient in a tropical cloud forest of the Venezuelan Andes. *iForest-Biogeosciences and Forestry*, 9(3), 363.
- Ramírez-Gerardo, M., Álvarez-Sánchez, J., Chávez, P. G., y Sánchez-Gallén, I. (1997). Estudio de hongos micorrizógenos arbusculares bajo árboles remanentes en un pastizal tropical. *Botanical Sciences*, (61), 15-20.
- Ramos, M. M., y Orth, X. G. (2007). Sucesión ecológica y restauración de las selvas húmedas. *Boletín de la sociedad Botánica de México*, (80), 69-84.
- Ravnskov, S., Cabral, C., y Larsen, J. (2020). Mycorrhiza induced tolerance in *Cucumis sativus* against root rot caused by *Pythium ultimum* depends on fungal species in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Biological Control*, 141, 104133.
- Richards, P.W. (1957). The tropical rainforest. *The tropical rain forest*. 2a. edición. Cambridge: *Cambridge University Press*.
- Richards, P. W. (1996). The tropical rain forest: An ecological study. Cambridge: *Cambridge University Press*.
- Rico-Bernal, F. (1972). Estudio de la sucesión secundaria en la Estación de Biología Tropical de Los Tuxtlas". Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Rillig, M. C., Sosa-Hernández, M. A., Roy, J., Aguilar-Trigueros, C. A., Vályi, K., y Lehmann, A. (2016). Towards an integrated mycorrhizal technology: harnessing mycorrhiza for sustainable intensification in agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1625.
- Rivero, J., Álvarez, D., Flors, V., Azcón - Aguilar, C., y Pozo, M. J. (2018). Root metabolic plasticity underlies functional diversity in mycorrhiza - enhanced stress tolerance in tomato. *New Phytologist*, 220(4), 1322-1336.

- Rodríguez-Morelos, V. H., Soto-Estrada, A., Pérez-Moreno, J., Franco-Ramírez, A., y Díaz-Rivera, P. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi associated with the rhizosphere of seedlings and mature trees of *Swietenia macrophylla* (Magnoliophyta: Meliaceae) in Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico. En *Revista Chilena de Historia Natural*, 87(1), 1-10.
- Rousk, J., y Bååth, E. (2011). Growth of saprotrophic fungi and bacteria in soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 78(1), 17-30.
- Rousk, J., Brookes, P. C., y Bååth, E. (2009). Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(6), 1589-1596.
- Ruess, L., y Chamberlain, P. M. (2010). The fat that matters: soil food web analysis using fatty acids and their carbon stable isotope signature. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(11), 1898-1910.
- Rzedowski, J., 2006. Vegetación de México. 1ra Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, 504 pp.
- Saetre, P., y Bååth, E. (2000). Spatial variation and patterns of soil microbial community structure in a mixed spruce–birch stand. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(7), 909-917.
- Salvador-Flores, J. (1971). Estudio de la vegetación del cerro El Vigía de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Samac, D. A., y Graham, M. A. (2007). Recent advances in legume-microbe interactions: recognition, defense response, and symbiosis from a genomic perspective. *Plant Physiology*, 144(2), 582-587.
- Scharenbroch, B. C., y Bockheim, J. G. (2007). Impacts of forest gaps on soil properties and processes in old growth northern hardwood-hemlock forests. *Plant and soil*, 294(1), 219-233.
- Schmidt, S., Costello, E., Nemergut, D., Cleveland, C., Reed, S., Weintraub, M, y Martin, A. (2007). Biogeochemical consequences of rapid microbial turnover and seasonal succession in soil. *Ecology*, 88(6), 1379-1385.

- Schmidt, M. W., Torn, M. S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I. A., y Trumbore, S. E. (2011). Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 478(7367), 49-56.
- Scheibe, A., Steffens, C., Seven, J., Jacob, A., Hertel, D., Leuschner, C., y Gleixner, G. (2015). Effects of tree identity dominate over tree diversity on the soil microbial community structure. *Soil Biology and Biochemistry*, 81, 219-227.
- Serna-Chavez, H. M., Fierer, N., y Van Bodegom, P. M. (2013). Global drivers and patterns of microbial abundance in soil. *Global Ecology and Biogeography*, 22(10), 1162-1172.
- Setälä, H., y Huhta, V. (1991). Soil fauna increase *Betula pendula* growth: laboratory experiments with coniferous forest floor. *Ecology*, 72(2), 665-671.
- Shi, L., Dossa, G. G., Paudel, E., Zang, H., Xu, J., y Harrison, R. D. (2019). Changes in fungal communities across a forest disturbance gradient. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(12), 1-8.
- Shi, Y., Xu, M., Zhao, Y., Cheng, L., y Chu, H. (2022). Soil pH determines the spatial distribution, assembly processes and co-existence networks of microeukaryotic community in wheat fields of the North China Plain. *Frontiers in Microbiology*, 2276.
- Shi, Y., Xiang, X., Shen, C., Chu, H., Neufeld, J. D., Walker, V. K., y Grogan, P. (2015). Vegetation-associated impacts on arctic tundra bacterial and microeukaryotic communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(2), 492.
- Smith, A. P. (2013). Linking microbial community structure and function with tropical forest recovery (Doctoral dissertation, The University of Wisconsin-Madison).
- Smith, A. P., Marín-Spiotta, E., De Graaff, M. A., y Balsler, T. C. (2014). Microbial community structure varies across soil organic matter aggregate pools during tropical land cover change. *Soil Biology and Biochemistry*, 77, 292-303.
- Smith, S. E., y Read, D. J. (2010). Mycorrhizal symbiosis. *Academic press*.
- Sinsabaugh, R. S. (1994). Enzymic analysis of microbial pattern and process. *Biology and Fertility of soils*, 17(1), 69-74.

- Sousa, M. (1968). Ecología de las leguminosas de Los Tuxtlas, Veracruz. *Anales del Instituto de Biología, UNAM, Serie Botánica*, 1, 121-160.
- Spatafora, J., Chang, Y., Benny, G., Lazarus, K., Smith, M., Berbee, M., y Stajich, J. (2016). A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*, 108(5), 1028-1046.
- Strullu - Derrien, C., Selosse, M. A., Kenrick, P., y Martin, F. M. (2018). The origin and evolution of mycorrhizal symbioses: from palaeomycology to phylogenomics. *New Phytologist*, 220(4), 1012-1030.
- S.U., S. L., Singh, D. N., y Baghini, M. S. (2014). A critical review of soil moisture measurement. *Measurement*, 54, 92-105.
- Suela, M., Naves, A., Teixeira K., Ribeiro D., y Freitas, R. (2013). Brazilian Cerrado soil actinobacteria ecology. *BioMed Research International*, vol. 2013.
- Sun, B., Wang, F., Jiang, Y., Li, Y., Dong, Z., Li, Z., y Zhang, X. (2014). A long - term field experiment of soil transplantation demonstrating the role of contemporary geographic separation in shaping soil microbial community structure. *Ecology and evolution*, 4(7), 1073-1087.
- Swaine, M. D., y Whitmore, T. C. (1988). On the definition of ecological species groups in tropical rain forests. *Vegetatio*, 75(1), 81-86.
- Swift, M. J., Bignell, D. E., Moreira, F. M., y Huising, E. J. (2012). El inventario de la biodiversidad biológica del suelo: conceptos y guía general. *Manual de Biología de suelos tropicales. SEMARNAT, INE*, 29-52.
- Tedersoo, L., Bahram, M., Põlme, S., Kõljalg, U., Yorou, N. S., Wijesundera, R., y Abarenkov, K. (2014). *Global diversity and geography of soil fungi. science*, 346(6213), 1256688.
- Tejada, M., García, C., Hernández, T., y Gómez, I. (2015). Response of soil microbial activity and biodiversity in soils polluted with different concentrations of cypermethrin insecticide. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 69(1), 8-19.
- Tschinkel, W. R., y Seal, J. N. (2016). Bioturbation by the fungus-gardening ant, *Trachymyrmex septentrionalis*. *PLoS One*, 11(7), e0158920.

- Tripathi, B., Kim, M., Singh, D., Lee-Cruz., Lai-Hoe, A., Ainuddin, A., y Adams, J. M. (2012). Tropical soil bacterial communities in Malaysia: pH dominates in the equatorial tropics too. *Microbial ecology*, 64(2), 474-484.
- Urbanová, M., Šnajdr, J., y Baldrian, P. (2015). Composition of fungal and bacterial communities in forest litter and soil is largely determined by dominant trees. *Soil Biology and Biochemistry*, 84, 53-64.
- Uroz, S., Oger, P., Lepleux, C., Collignon, C., Frey-Klett, P., y Turpault, M. P. (2011). Bacterial weathering and its contribution to nutrient cycling in temperate forest ecosystems. *Research in microbiology*, 162(9), 820-831.
- USDA, 2014. Soil Organic Matter. *United States Department of Agriculture*.
- Van Bergeijk, D., Terlouw, B., Medema, M., y van Wezel, G. (2020). Ecology and genomics of Actinobacteria: new concepts for natural product discovery. *Nature Reviews Microbiology*, 18(10), 546-558.
- Van Der Heijden, M. G., Bardgett, R. D., y Van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology letters*, 11(3), 296-310.
- van der Heijden, M. G., Martin, F. M., Selosse, M. A., y Sanders, I. R. (2015). Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist*, 205(4), 1406-1423.
- Valenzuela, A. (2008). Ácidos grasos con isomería trans i: Su origen y los efectos en la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 35(3), 162-171.
- Varnai, A., Mäkelä, M. R., Djajadi, D. T., Rahikainen, J., Hatakka, A., y Viikari, L. (2014). Carbohydrate-binding modules of fungal cellulases: occurrence in nature, function, and relevance in industrial biomass conversion. *Advances in Applied Microbiology*, 88, 103-165.
- Vitousek, P. M., y Denslow, J. S. (1986). Nitrogen and phosphorus availability in treefall gaps of a lowland tropical rainforest. *The Journal of Ecology*, 1167-1178.
- Vitousek, P. M., y Sanford Jr, R. L. (1986). Nutrient cycling in moist tropical forest. *Annual review of Ecology and Systematics*, 17(1), 137-167.

- Wagg, C., Bender, S. F., Widmer, F., y Van Der Heijden, M. G. (2014). Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(14), 5266-5270.
- Wang, M., Fu, S., Zhang, H., Wang, M., Xu, H., y Shi, L. (2019). Nitrogen deposition suppresses fungal biomass and oxidase activity in faeces of the millipede *Spiroboldus formosae* in a temperate forest. *Soil Ecology Letters*, 1(1), 42-49.
- Wang, Q., Yang, S., Liu, J., Terecskei, K., Ábrahám, E., Gombár, A., y Zhu, H. (2017). Host-secreted antimicrobial peptide enforces symbiotic selectivity in *Medicago truncatula*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(26), 6854-6859.
- Wardle, D. A., Bardgett, R. D., Klironomos, J. N., Setälä, H., Van Der Putten, W. H., y Wall, D. H. (2004). Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 304(5677), 1629-1633.
- White, D. C., Davis, W. M., Nickels, J. S., King, J. D., y Bobbie, R. J. (1979). Determination of the sedimentary microbial biomass by extractable lipid phosphate. *Oecologia*, 40(1), 51-62.
- Whitmore, T. (1989). Canopy gaps and the two major groups of forest trees. *Ecology*, 70(3), 536-538.
- Whitmore, T. C. (1984). Tropical rain forests of the Par East. *Oxford. Clarendon Press*.
- Wilkinson, M. T., Richards, P. J., y Humphreys, G. S. (2009). Breaking ground: pedological, geological, and ecological implications of soil bioturbation. *Earth-Science Reviews*, 97(1-4), 257-272.
- Williamson, K. E., Radosevich, M., y Wommack, K. E. (2005). Abundance and diversity of viruses in six Delaware soils. *Applied and environmental microbiology*, 71(6), 3119-3125.
- Wilpiseski, R. L., Aufrecht, J. A., Retterer, S. T., Sullivan, M. B., Graham, D. E., Pierce, E. M., y Elias, D. A. (2019). Soil aggregate microbial communities: towards understanding microbiome interactions at biologically relevant scales. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(14).

- Wu, T., Ayres, E., Bardgett, R. D., Wall, D. H., y Garey, J. R. (2011). Molecular study of worldwide distribution and diversity of soil animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(43), 17720-17725.
- Yih, K., Boucher, D. H., Vandermeer, J. H., y Zamora, N. (1991). Recovery of the rain forest of Southeastern Nicaragua after destruction by hurricane Joan. *Biotropica*, 106-113.
- Zhou, Z., Wang, C., y Luo, Y. (2018). Effects of forest degradation on microbial communities and soil carbon cycling: a global meta - analysis. *Global Ecology and Biogeography*, 27(1), 110-124.
- Zelles, L. (1999). Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterization of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils*, 29(2), 111-129.
- Zuleta, K, y Bravo, S. (2019). Reclutamiento de especies leñosas en bosques tropicales expuestos a incendios: una revisión. *Ecosistemas*, 28(1), 106-117.

9. ANEXOS

Tabla 4. Valores promedio de las propiedades físicas y químicas en los claros de distintas etapas de regeneración: CR: claros de apertura reciente, CI: claros de regeneración intermedia, CM: claros de mayor tiempo de regeneración y sitios de referencia (bosque maduro). Se muestra el promedio y la desviación estándar.

| Sitio | Humedad (%) | pH (H⁺) | MOS (%) |
|--------------------------------|---------------------|---------------------------|--------------------|
| CR | 37.11 | 6.08 | 6.02 |
| CR | 32.56 | 6.54 | 7.49 |
| CR | 33.98 | 6.34 | 8.46 |
| CR | 37.36 | 6.31 | 9.55 |
| CR | 40.28 | 6.45 | 8.45 |
| $\bar{X} CR$ | 36.26 ± 3.04 | 6.34 ± 0.17 | 7.99 ± 1.32 |
| CI | 31.97 | 6.14 | 7.71 |
| CI | 35.81 | 6.43 | 12.20 |
| CI | 36.26 | 6.00 | 5.88 |
| CI | 39.10 | 6.45 | 11.69 |
| CI | 34.23 | 5.88 | 6.65 |
| $\bar{X} CI$ | 35.48 ± 2.63 | 6.18 ± 0.25 | 8.83 ± 2.93 |
| CM | 33.18 | 6.03 | 5.64 |
| CM | 33.01 | 5.64 | 6.86 |
| CM | 37.19 | 6.05 | 8.50 |
| CM | 33.05 | 6.24 | 5.45 |
| CM | 32.08 | 5.98 | 4.10 |
| $\bar{X} CU$ | 33.70 ± 2.00 | 5.99 ± 0.22 | 6.11 ± 1.66 |
| R | 35.49 | 6.47 | 7.89 |
| R | 34.29 | 6.40 | 8.39 |
| R | 34.35 | 5.94 | 6.90 |
| R | 33.39 | 5.97 | 7.37 |
| R | 34.23 | 5.98 | 7.63 |
| $\bar{X} R$ | 34.35 ± 1.43 | 6.15 ± 0.30 | 7.64 ± 1.18 |

Tabla 5. Atributos generales de los claros en diferentes etapas de regeneración. Claros de apertura reciente (CR); claros de regeneración intermedia (CI); claros de mayor tiempo de regeneración (CM).

| Etapa | Área (m ²) | Altitud (ms.n.m) | Orientación (°) | Pendiente (°) | Vegetación |
|-------|------------------------|------------------|-----------------|---------------|---|
| CR | 78.25 | 246 | 205 | 35 | <i>Astrocaryum mexicanum</i> , <i>Guarea glabra</i> , <i>Psychotria chiapensis</i> y <i>Vitis tiliifolia</i> Abundancia de <i>Pleuranthodendron lindenii</i> , |
| CR | 310.22 | 272 | 327 | 80 | <i>Astrocaryum mexicanum</i> con <i>Chamaedorea pinnatifrons</i> y <i>Polypodium sp.</i> Abundancia de <i>Omphalea oleifera</i> |
| CR | 85.67 | 297 | 340 | 70 | <i>Astrocaryum</i> , <i>Chamaedorea pinnatifrons</i> , <i>Costus Scaber</i> y <i>Omphalea oleifera</i> Abundancia de <i>Rhodospatha</i> , <i>Polypodium</i> y <i>Licaria</i> |
| CR | 93.74 | 211 | 279 | 25 | <i>Astrocaryum</i> , <i>Cecropia</i> , <i>Heliocarpus</i> , <i>Spatiphyllum</i> , <i>Spondias</i> |
| CR | 235.62 | 323 | 275 | 70 | <i>Astrocaryum</i> , <i>Calatola</i> , <i>Cecropia</i> , <i>Hampea</i> , <i>Licaria</i> , <i>Philodendron</i> , <i>Piper</i> . |
| CI | 155.82 | 207 | 100 | 70 | <i>Astrocaryum</i> , Abundancia de <i>Dieffenbachia</i> , <i>Myriocarpa</i> , <i>Polypodium</i> , <i>Pseudolmedia</i> , <i>Rodospatha</i> |
| CI | 526.39 | 306 | 270 | 73.7 | <i>Cecropia</i> , <i>Cymbopetallum</i> , <i>Licaria</i> , <i>Neurolaena</i> , <i>Paullinia</i> , <i>Trophis</i> , <i>Verbesina</i> |
| CI | 382.02 | 234 | 253 | 10 | <i>Cecropia</i> , <i>Chamaedorea</i> , <i>Inga</i> , <i>Pterocarpus</i> , <i>Siparuna</i> |
| CI | 95.72 | 273 | 315 | 50 | <i>Astrocaryum</i> , <i>Cecropia</i> , <i>Chamaedorea</i> , <i>Faramea</i> . Abundancia de <i>Dendropanas</i> , <i>Polypodium</i> , <i>Trophis</i> , <i>Poulsenia</i> |
| CI | 107.13 | 205 | 160 | 60 | <i>Astrocaryum</i> , <i>Chamaedorea</i> , <i>Trichilia</i> . |
| CM | 220.34 | 186 | 95 | 30 | <i>Astrocaryum</i> , <i>Faramea</i> , <i>Spathiphyllum</i> , <i>Swartzia</i> . |
| CM | 290.28 | 194 | 320 | 40 | <i>Astrocaryum</i> , <i>Poulsenia</i> , <i>Swartzia</i> , <i>Trichilia</i> , <i>Trophis</i> . |
| CM | 284.79 | 197 | 40 | 10 | <i>Astrocaryum</i> , <i>Heliconia</i> , <i>Myriocarpa</i> |
| CM | 115.08 | 202 | 285 | 30 | <i>Astrocaryum</i> , <i>Brosimum</i> , <i>Psychotria</i> . |
| CM | 422.70 | 199 | 298 | 60 | <i>Astrocaryum</i> , <i>Bactris</i> , <i>Casearia</i> , <i>Koanophyllon</i> , <i>Poulsenia</i> , <i>Psychotria</i> |