



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**Influencia del sistema de semillas de maíz analizado con redes
de co-ocurrencia y exclusión en las comunidades bacterianas
de la rizosfera en el municipio de Ocozocoautla de Espinosa,
Chiapas**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGA**

**PRESENTA:
María Guadalupe León Jiménez**

**TUTORA
Dra. Ana Laura Wegier Briuolo**

Ciudad Universitaria, Ciudad de México, 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

Agradecimientos institucionales

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**, la **Facultad de Ciencias**, al taller de **Análisis Integral de Sistemas Socioambientales** y al **Laboratorio de Genética de la Conservación**, por permitirme formar parte de sus comunidades tan diversas, por enriquecer mi aprendizaje y contribuir en mi desarrollo personal y profesional.

A la **Dra. Ana Wegier**, mi tutora, por ofrecerme una solución durante la pandemia y así poder desarrollar esta tesis, por las reuniones donde discutimos mis avances y por orientarme cuando era necesario.

A las colaboradoras del **Proyecto Gund**, por permitirme emplear los datos de comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera de plantas de maíz, los cuales fueron imprescindibles para trabajar en esta tesis. A las **comunidades de Ocozacoautla de Espinosa, Chiapas**, donde se llevaron a cabo los muestreos de suelo rizosférico en las parcelas de plantas de maíz.

Al **Proyecto PAPIIT “Análisis de la evolución adaptativa en hexápodos que interaccionan con plantas con transgenes del complejo silvestre-domesticado de algodón” (IN214719)**, por la beca de Licenciatura/Conclusión de estudios.

A la **M. en C. Nancy Gálvez Reyes**, por brindarme recomendaciones y compartir tutoriales útiles para el análisis de los datos, por atender mis dudas respecto al Proyecto Gund, en el cual fue colaboradora y por apoyarme siempre que lo necesité. A la **M. en C. Olivia Rojo Nava**, por compartirme su proyecto, el cual me ayudó a orientarme sobre el uso de la paquetería *phyloseq*.

A la **Dra. Alejandra Hernández Terán**, por brindarme información sobre las redes de co-ocurrencia y exclusión y compartir recomendaciones sobre su construcción en el software *Cytoscape*. A la **M. en C. Melania Vega**, por leer mi escrito de tesis cuando estaba en desarrollo y por realizar correcciones que contribuyeron a su mejora.

A mis compañer@s del **Laboratorio de Genética de la Conservación**, que mediante los seminarios me brindaron comentarios, sugerencias y correcciones.

A mi comité sinodal: **Dra. Alicia Mastretta Yanes, Dra. Mariana Benítez Keinrad, Dra. Ana Laura Wegier Briuolo, Dr. René Cerritos Flores y M. en C. Valeria Vázquez Barrios**, por revisar mi escrito de tesis y brindarme comentarios muy útiles que me permitieron terminar este trabajo de la mejor manera.

Agradecimientos personales

A mi familia, especialmente a mi hermano **Toño**, por todo el apoyo brindado desde que inicié este camino en la universidad, gracias por confiar en mí y alentarme a seguir estudiando. A mi mamá **Luz Ma.**, mi papá **Antonio** y mi hermana **Laura**, cada un@ de ustedes ha hecho que este camino sea más sencillo de recorrer, agradezco muchísimo su apoyo y cariño incondicional.

A **Oscar**, por ser mi mejor amigo desde que nos conocimos en bioestadística, por todos los momentos felices y divertidos a tu lado, por seguir en mi vida después de tanto tiempo y darme ánimos todos los días. Agradezco tu apoyo y orientación durante los trámites de titulación, muchas veces resolviste mis dudas y eso lo aprecio enormemente.

A **Michu**, por ser una gran amiga desde el primer momento, eres una persona muy linda y especial que llevaré siempre en mi corazón. A **Sofi, Mario, Liz, Froy, Arturo, Mari y Pablo**, por compartir momentos inolvidables en la magnolia.

A **Leonardo**, la persona más increíble y bella que he conocido en mi vida. Gracias por acompañarme durante estos años, por compartir tu vida conmigo y permitirme formar parte de ella, por darme palabras de aliento y ser mi inspiración todos los días. Por ayudarme con R e inglés, dos cosas que te gustan muchísimo. Agradezco tu compañía a todos lados, incluso al realizar mis trámites, por brindarme ese tiempo y aprovecharlo para estar juntos, aunque fuera bajo esas condiciones. También deseo que a donde sea que vayamos siempre estemos juntos <3.

A **José Carlos y Adrián**, por ser una gran compañía en el laboratorio y por haberlos encontrado en el camino. Aunque ahora nuestros caminos sean diferentes, me quedo con los mejores recuerdos y con la alegría de haberme sentido acompañada y apoyada por ustedes.

A **Nancy, Oli, Alejandra y Mel**, por brindarme su apoyo durante el desarrollo de esta tesis, ya que sin ustedes me hubiera encontrado con más dificultades. Todas son científicas admirables y se merecen lo mejor que esta carrera pueda ofrecerles.

ÍNDICE

RESUMEN	6
ABSTRACT	7
1. INTRODUCCIÓN	9
1.1. Importancia y problemáticas asociadas al cultivo de maíz en el estado de Chiapas, México.....	9
1.2. Semillas nativas frente a semillas híbridas.....	12
1.3. Influencia de los sistemas de producción de semillas de maíz sobre la agrobiodiversidad.....	14
1.4. Los sistemas de cultivo (monocultivo/policultivo) de las semillas de maíz influyen en las asociaciones de las comunidades bacterianas.....	16
1.5. Redes de co-ocurrencia y exclusión para conocer la influencia de los sistemas de semillas de maíz sobre las comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera.....	17
2. OBJETIVOS	23
General.....	23
Particulares.....	23
3. MÉTODO	23
3.1. Sitios de estudio.....	23
3.2. Colecta de material biológico.....	25
3.3. Encuestas realizadas en las regiones de estudio del municipio de Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas.....	27
3.4. Trabajo de laboratorio.....	28
3.5. Delimitación de OTUs.....	28
3.6. Flujo de trabajo en R.....	29
3.7. Análisis estadísticos.....	30
3.7.1. Cálculo de diversidad alfa.....	31
3.7.2. Cálculo de diversidad beta.....	31
3.8. Construcción de las redes de co-ocurrencia y exclusión.....	31
3.9. Visualización y manipulación de las redes de co-ocurrencia y exclusión.....	33
3.10. Comparación entre las redes de co-ocurrencia y exclusión asociadas al origen nativo e híbrido de las semillas de maíz.....	33
4. RESULTADOS	34
4.1. Las dos regiones estudiadas son iguales en la diversidad alfa en la semilla nativa e híbrida.....	34
4.2. La composición de las comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera de la semilla híbrida es sensible a la humedad en las regiones, mientras que la semilla nativa no se ve afectada.....	37

4.3. El tamaño de las redes cambia de acuerdo con el origen de la semilla y la humedad presente en las regiones.....	38
4.4. Las comunidades bacterianas de la rizosfera son más estables cuando se asocian a la semilla nativa en ambas humedades.....	42
4.5. Las redes de la semilla nativa presentan mayor complejidad.....	45
4.6. La semilla nativa de maíz asociada a la humedad media presenta las OTUs con el mayor número de conexiones.....	47
4.7. La semilla nativa de maíz presenta más OTUs clave que la semilla híbrida	54
5. DISCUSIÓN.....	54
5.1. Las semillas nativas de maíz mantienen las asociaciones en las comunidades bacterianas de la rizosfera en regiones con diferente humedad	54
5.2. La diversidad beta pero no la alfa de las comunidades bacterianas de la rizosfera presenta diferencias significativas entre las semillas de maíz.....	59
5.3. La semilla nativa de maíz presenta las redes de co-ocurrencia y exclusión más complejas y estables.....	60
5.4. El tipo de semilla de maíz influye sobre la presencia de ciertos grupos bacterianos en la rizosfera.....	61
5.5. Las semillas nativas son importantes para la conservación de la agrobiodiversidad y el conocimiento asociado a su manejo.....	63
6. CONCLUSIONES.....	65
7. PERSPECTIVAS.....	66
8. REFERENCIAS.....	68
9. ANEXO.....	88

RESUMEN

El maíz (*Zea mays ssp. mays*) es una subespecie ampliamente cultivada desde hace aproximadamente 10,000 años y México es considerado su centro de origen, domesticación y diversificación, razones por las cuales es importante abordar las diversas problemáticas asociadas al cultivo de este cereal, entre las cuales destaca el reemplazo de semillas nativas por semillas híbridas. El estado de Chiapas se encuentra entre los principales productores de maíz en México y el reemplazo que ocurre en este estado afecta la conservación de la agrobiodiversidad, entre ella la diversidad bacteriana, la cual es vital para el presente y futuro de la agricultura en un contexto de cambios menos predecibles. Debido a ello, el objetivo de este trabajo fue analizar la influencia del origen nativo e híbrido de la semilla sobre las comunidades bacterianas de la rizosfera de plantas de maíz en el municipio de Ocozocoautla de Espinosa en Chiapas. Se analizaron 42 muestras de suelo rizosférico colectadas en seis ejidos divididos en dos regiones de acuerdo con sus características asociadas: región 1 con humedad baja y región 2 con humedad media. Para describir la diversidad de las comunidades bacterianas de la rizosfera de plantas provenientes de diferentes tipos de semillas se realizaron análisis de diversidad alfa y beta. Posteriormente, se construyeron redes de co-ocurrencia y exclusión entre el origen de la semilla de maíz asociado a las dos regiones con diferente humedad y se compararon con ayuda de parámetros topológicos obtenidos en cada red. Aunque la diversidad alfa no mostró diferencias significativas, la diversidad beta sí, ya que la composición de las comunidades bacterianas en la semilla híbrida se vio afectada. En las redes de co-ocurrencia y exclusión se encontraron cambios entre las semillas nativas e híbridas, particularmente se observó una disminución drástica en el número total de asociaciones cuando la semilla híbrida se asoció a la humedad media. El mayor número de relaciones de co-ocurrencia en la semilla nativa bajo humedades diferentes puede relacionarse con la amplia adaptación de estas semillas a una gama de entornos,

lo cual no ocurre con las semillas híbridas bajo condiciones ambientales adversas, distintas a las de su concepción. Además, las redes de co-ocurrencia y exclusión de las semillas nativas fueron más estables, complejas y presentaron asociaciones con diferentes filos bacterianos. Por lo tanto, observamos que emplear este método fue adecuado para analizar la influencia del origen de la semilla de maíz. Este trabajo de investigación permite señalar que las semillas nativas presentan características únicas que muy probablemente permitirán la conservación de la agrobiodiversidad a largo plazo, junto con los conocimientos que cada familia campesina ha transmitido de generación en generación y que han originado una mayor diversidad debido al desarrollo de las semillas en un contexto cultural y ambiental local.

ABSTRACT

Maize (*Zea mays* spp. *mays*) has been a widely cultivated subspecies for around 10, 000 years and Mexico is considered its centre of origin, domestication and diversification. This is why it is important to approach the associated challenges related to the cultivation of this crop, among which stands out the replacement of landrace seeds by hybrid ones. The state of Chiapas is one of the main producers of maize in Mexico, and the seed replacement that takes place in this state threatens agrobiodiversity conservation, particularly bacterial diversity which is vital for the present and future of agriculture in a context of unpredictable change. Because of this, the objective of this project was to analyze the influence of landrace and hybrid seed origin on bacterial communities of maize rhizosphere in the municipality of Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas. 42 samples of rhizospheric soil were analyzed, which were collected in six ejidos that were divided in two regions according to their associated characteristics: region 1 with low humidity and region 2 with medium humidity. To describe bacterial community diversity of plant rhizosphere from different types of seeds, alpha and beta diversity analysis were carried out.

Afterwards, co-occurrence and exclusion networks were built to compare the maize seed origin associated to the regions of varying humidity. Topological parameters were used to compare the resulting networks. Although alpha diversity didn't show significant differences, beta diversity did since the bacterial community composition in the hybrid seeds was affected. Co-occurrence and exclusion networks showed changes between landrace and hybrid seeds, particularly a sharp decrease in the total number of associations was observed when the hybrid seeds grew in medium humidity. The greatest number of co-occurrence relationships of landrace seeds under varying humidity conditions could be related to the wide adaptation of these seeds to an ample range of environments, which isn't the case for hybrid seeds under hostile environmental conditions that differ to those of their conception. Furthermore, co-occurrence and exclusion networks of landrace seeds were more stable as well as complex and showed associations with different bacterial phyla. Therefore, we observed that using this method was appropriate to analyze the influence of maize seed origin. This research shows that landrace seeds have unique characteristics that will likely allow agrobiodiversity conservation in the long term along with the preservation of knowledge that every farming family has transmitted from generation to generation and has originated greater diversity due to the development of seeds in a local cultural and environmental context.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Importancia y problemáticas asociadas al cultivo de maíz en el estado de Chiapas, México

El maíz (*Zea mays* ssp. *mays*) es una subespecie ampliamente cultivada de manera continua en México desde hace aproximadamente 10,000 años (Kato *et al.*, 2009, CONABIO, 2020). En México se concentra, "muy probablemente, la mayor diversidad del maíz del mundo y aquí han evolucionado y viven sus parientes silvestres, los teocintles, y otro conjunto de gramíneas relacionadas, especies del género *Tripsacum* (maicillos)" (CONABIO, 2020). Es importante considerar que "el uso de semillas locales es una tradición agrícola que mantiene un vínculo con los antepasados, con los pueblos originarios y con la creencia del carácter sagrado de la Tierra. En la selección de semillas por color, tamaño, raza, uso, etcétera; las familias campesinas reproducen los conocimientos agrícolas heredados, dando continuidad y vigencia a los conocimientos ancestrales" (Gómez, 2015). Debido a ello, este país es considerado su centro de origen, domesticación y diversificación (Kato *et al.*, 2009; Serratos, 2009; Delgado *et al.*, 2018).

Este cereal posee una fuerte carga sociocultural, pues ha sido la base de la alimentación hasta nuestros días (Cuevas, 2014). En México, el estado de Chiapas se encuentra entre los principales productores de maíz, ya que ocupa el número ocho de las entidades con mayor producción (Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios [ASERCA], 2018; Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2019). Sin embargo, la producción de este cultivo actualmente presenta diversas problemáticas agrícolas, socioculturales, de conservación genética y socioeconómicas. Entre los problemas agrícolas destaca el uso excesivo de insumos externos (fertilizantes químicos, herbicidas, plaguicidas) y el reemplazo de semillas nativas por semillas híbridas (semillas concebidas en programas de mejoramiento genético) (Delgado

et al., 2018). Por lo tanto, las semillas nativas se cultivan con frecuencia en parcelas vecinas a campos de semillas híbridas (Bellon y Hellin, 2011). Para decidir entre los dos tipos de semillas de maíz, primero se deberían conocer las ventajas y desventajas que cada una presenta y, a partir de eso, tomar una decisión más informada. Además, no todas las familias campesinas cuentan con las mismas oportunidades y condiciones de cosecha (Gómez, 2015).

La selección de la semilla se sustenta principalmente en los siguientes criterios: “i) mayor rendimiento; ii) mayor resistencia a plagas y enfermedades, como gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)) o el complejo mancha de asfalto (*Phyllachora maydis*, *Monographella maydis* y *Coniothyrium phyllachorae*) y iii) mejor precio de venta del grano” (Delgado *et al.*, 2018). No obstante, sería importante considerar otras características para elegir la semilla, por ejemplo, el tipo de consumo y uso que tendrá el maíz de acuerdo con las distintas preferencias culturales y sociales (Bellon *et al.*, 2018) y no sólo preferir aquella que cumpla con los criterios antes mencionados, pues el uso de semillas híbridas puede conllevar consecuencias de más largo plazo, además de que necesitan insumos y cuidados especiales para desarrollarse favorablemente.

Otro aspecto que cobra gran importancia en la selección de la semilla es el papel de los programas gubernamentales agrícolas, ya que estos fomentan la comercialización y adopción de semillas híbridas (Bellon y Hellin, 2011). En Chiapas, la adopción e introducción de estas semillas se vio favorecida por el Programa de Apoyos Directos al Campo (PROCAMPO), así como por el subsidio de semillas financiado por el gobierno. De acuerdo con resultados de Bellon y Hellin (2011), las semillas híbridas serían menos competitivas que las semillas nativas sin las intervenciones del gobierno, ya que las familias campesinas sembrarían por voluntad propia más áreas con semillas nativas de maíz. Sin embargo, existen condiciones cambiantes que conllevan a que las familias

campesinas se adapten a la liberalización del mercado en el sector del maíz, por ejemplo, el precio de las semillas y de los fertilizantes químicos y la competitividad comercial entre los dos tipos de maíz, ya que las semillas híbridas presentan mayores rendimientos y mayor capacidad de respuesta ante la aplicación de fertilizantes (Bellon y Hellin, 2011).

El reemplazo de las semillas nativas también genera problemas socioculturales y de conservación biológica, ya que es un cultivo que en primera instancia es manejado por familias campesinas con integrantes de media a avanzada edad y empleado principalmente para el autoconsumo, por lo que la conservación de las semillas nativas en México depende en buena medida de la edad, ya que, si son más jóvenes, menor será la preocupación por mantener la producción maicera que tenía como principal fin el autoabasto y, por ende, la conservación y el uso de semillas nativas (Eakin y Guadarrama, 2008; en Casanova *et al.*, 2019). Con el envejecimiento de la población dedicada a la agricultura y la migración de algunas familias campesinas, el panorama de este cultivo es preocupante (Lazos y Chauvet, 2012).

La situación de las familias campesinas se ha visto influenciada por dinámicas socioeconómicas como la falta de rentabilidad y apoyo hacia la producción de este cereal, lo cual trae como principal consecuencia el abandono de las tierras. Esto ocurre porque muchas familias campesinas dejan de considerarla una actividad económica redituable (Ramírez *et al.*, 2018). Además, la erosión del tejido social influye negativamente sobre la organización comunitaria y dificulta la búsqueda de alternativas para responder ante dichas situaciones (Perea, 2010; en Lazos y Chauvet, 2012). A pesar de todo el panorama mencionado, las familias campesinas en México continúan produciendo maíz nativo porque es un cultivo multifuncional que tiene una gran importancia cultural y contribuye con

el suministro local y regional de maíz (Bellon *et al.*, 2018; Bellon *et al.*, 2021; Eakin *et al.*, 2014).

1.2. Semillas nativas frente a semillas híbridas

Las variedades nativas o locales de maíz se caracterizan por su diversidad genética, la cual es resultado de la polinización cruzada y de la influencia de nuestros/as antepasados/as, ya que se han cultivado dentro de un complejo de interacciones ecológicas, selección y manejo guiados por prácticas y conocimiento acumulado e intercambiado por miles de años. Están adaptadas a condiciones ecológicas y climáticas propias de cada región geográfica o donde habita cada familia campesina. Asimismo, se generan a partir de semillas que se seleccionan y guardan para la cosecha siguiente (Rivera, 2012; Guevara-Hernández *et al.*, 2019; Gómez, 2019). Dentro de las características que las familias campesinas seleccionan de los distintos maíces nativos se encuentran su calidad, sabor y sobrevivencia a condiciones particulares (climas, suelos, plagas y diversidad de prácticas agrícolas), ya que estas características no siempre se obtienen en las semillas híbridas (Lazos y Chauvet, 2012; Galindo, 2013). Lo anterior permite entender por qué México tiene una gran diversidad dentro y entre cada una de las 64 razas reportadas, de las cuales 59 se consideran nativas (CONABIO, 2020).

Las semillas híbridas, a diferencia de las nativas, se producen mediante el uso de líneas endogámicas y un sistema de hibridación. Las líneas endogámicas se obtienen a partir de la autopolinización repetida de poblaciones de maíz y generan plantas con una configuración genética fija y uniforme, pero que son más pequeñas y menos vigorosas debido a un fenómeno conocido como “depresión endogámica”. Sin embargo, al cruzar dos líneas endogámicas no emparentadas se forma una semilla que presenta vigor híbrido o heterosis y un mayor rendimiento en la siguiente generación (Erickson y Atnaseo, 2011;

MacRobert *et al.*, 2014). Estas semillas son útiles para las familias campesinas debido a su mayor rendimiento (Casanova *et al.*, 2019), pero tienen una producción buena sólo durante un ciclo, ya que de volver a sembrarlas se produce poco y dan mazorcas pequeñas porque se pierde la heterosis (López, 2018), por ello, en cada ciclo de siembra se adquieren nuevas (Gómez, 2019). Aunque también es posible que las acriollen, es decir, algunas familias campesinas usan las semillas híbridas y las mezclan entre cosechas para adaptarlas a sus condiciones ambientales después de algunas generaciones y así fortalecer su semilla nativa de maíz, lo cual es posible bajo el convenio de la UPOV 1978 (Oropeza, 2020).

Las semillas híbridas se han desarrollado en sistemas suplementados con paquetes tecnológicos que incluyen fertilizantes, herbicidas o plaguicidas en condiciones homogéneas, por lo que su capacidad de resistir a condiciones ambientales diversas es menor que las semillas nativas (Gómez, 2015). Además, las semillas híbridas son rentables cuando se reproducen en condiciones similares a las que fueron concebidas (Jaffe y Srivastava, 1994; Zurita *et al.*, 2012; Casanova *et al.*, 2019). El uso de estos paquetes tecnológicos se traduce en cuatro problemas fundamentales: *i)* la resistencia de las plagas y la presencia de vectores de enfermedades por el uso indiscriminado de agroquímicos; *ii)* la dependencia hacia los agroquímicos necesarios para su productividad; *iii)* la pérdida, por causa de los agroquímicos, de la microfauna y la microflora del suelo relacionada con la fertilidad natural y; *iii)* los daños ocasionados a otros cultivos, ya que a su vez provocan el abandono de otras especies que décadas atrás jugaban un papel importante en la dieta local, así como una pérdida de las variedades nativas (Casanova *et al.*, 2019).

1.3. Influencia de los sistemas de producción de semillas de maíz sobre la agrobiodiversidad

La conservación de las semillas nativas tiene gran valor en la agricultura campesina, ya que forman parte de la vida de los pueblos; donde el conocimiento tradicional es el legado de diferentes culturas, de todas las personas, sus antepasados/as y descendientes (Heifer Ecuador, 2011; en Arrobo, 2017). Con la Revolución Verde se impulsó la industria semillera y se promovió el uso de variedades de “alto rendimiento”, lo que provocó que se abandonaran miles de variedades tradicionales (Bravo, 2014; Arrobo, 2017). Sin embargo, también se presentaron algunas ventajas como el aumento en la producción de alimentos para satisfacer la crisis alimentaria que existía en esos momentos (de la Rosa y Salazar, 2022) y se incrementaron los rendimientos, ingresos y utilidades de algunos cultivos (Hernández, 1988; en Martínez-Castro *et al.*, 2019). Aunado a ello, surgieron dos tipos de sistemas de producción de semillas: los sistemas *formales* e *informales*. Los primeros se caracterizan por estar fuertemente regulados por instituciones públicas e industrias privadas; mientras que los segundos dependen del conocimiento de las familias campesinas y no están regulados (McAndrew, 2001; Wattnem, 2016).

Las familias campesinas y los fitomejoradores reconocen que quienes participan en sistemas *informales* de semillas conservan una gran parte de la agrobiodiversidad *in situ* del mundo, entre ella la diversidad microbiana, ya que las semillas que se guardan y plantan generación tras generación tienden a ser más diversas genéticamente debido a los miles de años de selección y se han adaptado a una amplia gama de condiciones ecológicas (Wattnem, 2014). También consideremos que los microorganismos pueden transmitirse horizontalmente mediante el suelo circundante (Fierer, 2017; Compant *et al.*, 2019) o, verticalmente desde la semilla a la siguiente generación y prosperar en las primeras etapas de desarrollo de la raíz (Delitte *et al.*, 2021; Hardoim *et al.*,

2012; Liu *et al.*, 2012). Esta diversidad genética es vital para el presente y futuro de la agricultura en un contexto de cambios cada vez menos predecibles. Por esta razón, los sistemas *informales* son más eficientes que los bancos de semillas, donde la preservación *ex situ* es insuficiente (Wattnem, 2014).

La diversidad genética y metabólica presente en los microorganismos, así como su abundancia y ubicuidad permiten que estos constituyan un patrimonio genético importante (Karimi *et al.*, 2017; Fitter *et al.*, 2005; Nielsen *et al.*, 2011). Están involucrados en los diferentes ciclos biogeoquímicos, ya que participan en su regulación (Guzmán, 2017) y también están asociados a la fertilidad del suelo. Además, características como su tamaño pequeño, corto tiempo de generación y plasticidad genética, les confieren una capacidad de rápida adaptación a los cambios del medio (agua, suelo, aire, sustratos residuales) y pueden actuar como bioindicadores del impacto de perturbaciones ambientales y de la calidad de los ecosistemas, ya que responden a los cambios en las condiciones ambientales mediante modificaciones en la biomasa, estructura/diversidad y actividad (Karimi *et al.*, 2017; Bouchez *et al.*, 2016).

Las bacterias son microorganismos presentes en la rizosfera, la cual es definida como la parte del suelo bajo la influencia directa de las raíces de las plantas y es considerada un punto importante de actividad microbiana (Hiltner, 1904; en Compant *et al.*, 2019). En las plantas de maíz, las raíces exudan pasivamente compuestos orgánicos como azúcares, ácidos orgánicos, nucleósidos, mucílagos y aminoácidos que atraen a microorganismos del suelo y aceleran su crecimiento (Edwards *et al.*, 2015; Gomes *et al.*, 2018) mediante varios mecanismos como la fijación de nitrógeno, la producción de amoníaco, sideróforos y fitohormonas (Sharma *et al.*, 2013; Gomes *et al.*, 2018) y aportan servicios indispensables para el funcionamiento de los agroecosistemas (Secretaría del Convenio sobre la Diversidad Biológica, 2008). Participan en “los

ciclos de nutrientes, regulando la dinámica de la materia orgánica del suelo, la captación de carbono y las emisiones de gases de efecto invernadero, modificando la estructura física del suelo y los regímenes hídricos, aumentando el volumen y eficiencia de la absorción de nutrientes por la vegetación mediante relaciones mutuamente beneficiosas y mejorando la salud vegetal” (FAO, 2015).

1.4. Los sistemas de cultivo (monocultivo/policultivo) de las semillas de maíz influyen en las asociaciones de las comunidades bacterianas

En el monocultivo las plantas son genéticamente homogéneas, se siembran en altas densidades y se encuentran físicamente muy cercanas entre sí (Stukenbrock y McDonald, 2008; Gastélum y Rocha, 2020), por lo que la aparición de enfermedades y plagas plantea un escenario preocupante, ya que se necesita de enemigos naturales que limiten su dispersión y transmisión (Matson *et al.*, 1997; en Gastélum y Rocha, 2020). A diferencia de los policultivos que presentan una mayor diversidad y debido a ello, resulta poco probable que el ataque de una plaga o enfermedad en específico acabe con el cultivo. Esto nos señala las desventajas biológicas relacionadas con los agroecosistemas modernos (Gastélum y Rocha, 2020), donde las asociaciones benéficas de las comunidades bacterianas del maíz podrían verse afectadas ante la presencia de bacterias fitopatógenas.

En un policultivo, como su nombre lo indica, se presentan dos o más cultivos asociados que interactúan fuertemente debido a que se siembran en el mismo espacio, pero su composición depende del periodo de cosecha de cada cultivo y por lo tanto, cambia en el tiempo (CONACyT, 2022; Liebman, 1999). Esto permite que se presenten diversas ventajas como el control natural de plagas y enfermedades; el uso eficiente de luz, agua y nutrientes; la protección y conservación del suelo al reducir el uso de insumos externos y la diversificación de los alimentos disponibles (CONACyT, 2022; Aguilar *et al.*, 2003; CONABIO,

2016). Habitualmente podemos encontrar en asociación con el maíz a la calabaza y al frijol. En esta asociación la calabaza ayuda al maíz y al frijol, ya que cubre el suelo con sus grandes hojas y mantiene la humedad, mientras que el maíz facilita el crecimiento del frijol al proporcionarle soporte para enredarse y el frijol facilita al maíz, ya que al ser una planta fijadora de nitrógeno aporta este nutriente (CONACyT, 2022; Aguilar *et al.*, 2003).

En los policultivos se crea un entorno más heterogéneo, a diferencia de los monocultivos, ya que la diversificación contribuye a que los macro y microorganismos, como las bacterias, aumenten en estos agroecosistemas debido a la presencia de plantas asociadas (Tamayo-Ortiz y Alegre-Orihuela, 2022; Schmidt *et al.*, 2018), las cuales favorecen la presencia de microorganismos con capacidades metabólicas más amplias (Gastélum y Rocha, 2020). Al usar la biodiversidad se minimiza el uso de agroquímicos y se lleva a cabo una gestión natural de la fertilidad del suelo. Por ello, se considera a los policultivos como una alternativa viable para una agricultura sustentable (Tamayo-Ortiz y Alegre-Orihuela, 2022), donde se siembran semillas nativas de maíz como cultivo principal y se permite el crecimiento de otras plantas comestibles populares.

1.5. Redes de co-ocurrencia y exclusión para conocer la influencia de los sistemas de semillas de maíz sobre las comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera

Las asociaciones de las comunidades bacterianas pueden ser estudiadas mediante la ecología microbiana, rama de la ecología que tiene como principal objetivo determinar los patrones e impulsores de la distribución, interacción y ensamblaje de comunidades microbianas (Skillings y Hooks, 2019). Un método que se puede emplear para analizar, visualizar y modelar la comunidad como un sistema interconectado son las redes de co-ocurrencia (Pérez, 2015), las cuales

están compuestas fundamentalmente por nodos y aristas, representados en la **Figura 1** por círculos y líneas, respectivamente. Los nodos representan Unidades Taxonómicas Operativas (OTUs) y las aristas la relación entre las OTUs que conectan (ISME Latin America, 2019).

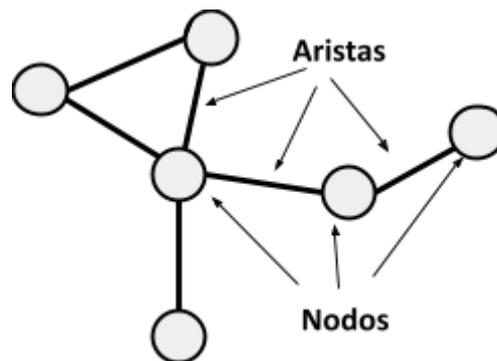


Figura 1. Representación de los elementos fundamentales de las redes de co-ocurrencia y exclusión. Elaboración propia.

El análisis de redes se ha utilizado desde principios del siglo para investigar las relaciones entre especies en los ecosistemas (May, 1974; Bascompte, 2009; en Guseva *et al.*, 2022) y en los últimos 10 años ha experimentado un auge en la investigación ecológica del suelo (Guseva *et al.*, 2022). Se considera una herramienta flexible y valiosa porque permite explorar la complejidad de las relaciones dentro de una comunidad ecológica, así como representar patrones en conjuntos de datos grandes que no serían fáciles de detectar si se utilizaran métricas tradicionales como la diversidad alfa y beta (Proulx *et al.*, 2005; Barberán *et al.*, 2012; Guseva *et al.*, 2022). Sin embargo, también se han encontrado desafíos respecto al manejo de los datos o la selección de la herramienta adecuada para la inferencia de la red (Berry y Widder, 2014; Röttjers y Faust, 2018) y se han hecho críticas por formar parte de una larga lista de análisis descriptivos (Goberna y Verdú, 2022) o por sacar conclusiones inapropiadas, donde la más común es equiparar las co-ocurrencias con

interacciones ecológicas (Barner *et al.*, 2018; Goberna y Verdú, 2022). Esto es muy complejo incluso en el estudio de macroorganismos porque se requiere de observaciones directas y repetidas y una gran comprensión de las mismas (Guseva *et al.*, 2022). Por lo tanto, es importante interpretar cuidadosamente las redes de co-ocurrencia (Guseva *et al.*, 2022) y continuar con este enfoque analítico de las comunidades microbianas desde la complejidad a pesar de sus limitaciones (Goberna y Verdú, 2022; Aderem, 2005; Röttjers y Faust, 2018).

Las redes de co-ocurrencia proporcionan una visión integrada de todas las relaciones positivas o negativas existentes entre los microorganismos en un área determinada (Karimi *et al.*, 2017). Las relaciones presentes pueden ser resultado de evolución conjunta de los microorganismos, es decir, una relación positiva llamada co-presencia o una evolución opuesta, donde la relación es negativa (exclusión mutua). Asimismo, se puede observar una ausencia de relación (Karimi *et al.*, 2017; Gross, 2008). Ying *et al.* (2022) mencionan que para generar una red de co-ocurrencia se necesita conocer la abundancia de cada taxón en muchas muestras, donde la correlación se puede calcular en función de estas abundancias. Berry y Widder (2014) recomiendan un mínimo de 25 muestras para construir redes de co-ocurrencia fiables, sin embargo, existen trabajos donde se han empleado 10 muestras, como el de Khan *et al.*, 2019. En estas redes, una relación de co-presencia es un vínculo entre dos taxones que se establece si una correlación es significativa.

En las redes de co-ocurrencia y exclusión se pueden calcular métricas a nivel de red o nodo, conocidas también como parámetros topológicos, que proporcionan información sobre la topología y organización de las OTUs (Karimi *et al.*, 2017). En el **Cuadro 1** se resumen los parámetros topológicos utilizados en el presente trabajo y se incluye su interpretación ecológica.

Cuadro 1. Parámetros topológicos de las redes de co-ocurrencia y exclusión

Nivel	Parámetro topológico	Descripción	Interpretación ecológica
Red	Nodos	Entidades totales dentro de una red.	Número total de taxones (especies, OTUs o ASV) conectados en una red.
	Aristas	Relaciones o asociaciones significativas entre dos o más nodos.	Asociaciones ecológicas potenciales (copresencias o exclusiones mutuas).
	Conectividad	Número total de relaciones en una red.	Número total de asociaciones ecológicas dentro de una red biológica. Indicador de cohesión comunitaria.
	Densidad o conectancia	Número de enlaces potenciales que se realizan. Mide la complejidad de la red y puede interpretarse como el nivel de organización potencial.	Refleja la incidencia de procesos ecosistémicos, donde una mayor complejidad se interpreta como una actividad más intensa.
	Modularidad	Medida de la fuerza de división de una red en subgrupos. Una alta modularidad significa que dentro de los módulos hay más aristas y menos entre los módulos.	Medida de la estabilidad de la comunidad.
	Módulo	Subgrupo de nodos cuyo patrón de conectividad entre sus miembros es mayor que los patrones de conectividad con nodos fuera de ese subgrupo.	Funciones ecológicas compartidas entre las OTUs presentes, nichos ecológicos, preferencias de hábitat similares.

Nodo	Centralidad de grado	Número de aristas que tiene un nodo con otros nodos.	OTUs con amplia preferencia de nicho porque presentan más asociaciones significativas dentro de la comunidad.
	Centralidad de intermediación	Número de veces que un nodo actúa como un "puente" a lo largo de la ruta más corta entre otros nodos.	OTUs más importantes en la comunicación de la comunidad bacteriana.

Fuentes: elaboración propia con información de Favila *et al.* (2022); ISME Latin America (2019); Pavlopoulos *et al.* (2011); Pérez, 2015; Rebollar *et al.* (2017); Schmidt *et al.* (2019); Velázquez y Aguilar, 2005 y Zhang *et al.* (2017).

En la **Figura 2** se intenta representar de forma sencilla a los parámetros topológicos abordados previamente y se proporciona una idea general de las redes, partiendo de una red con pocos elementos.

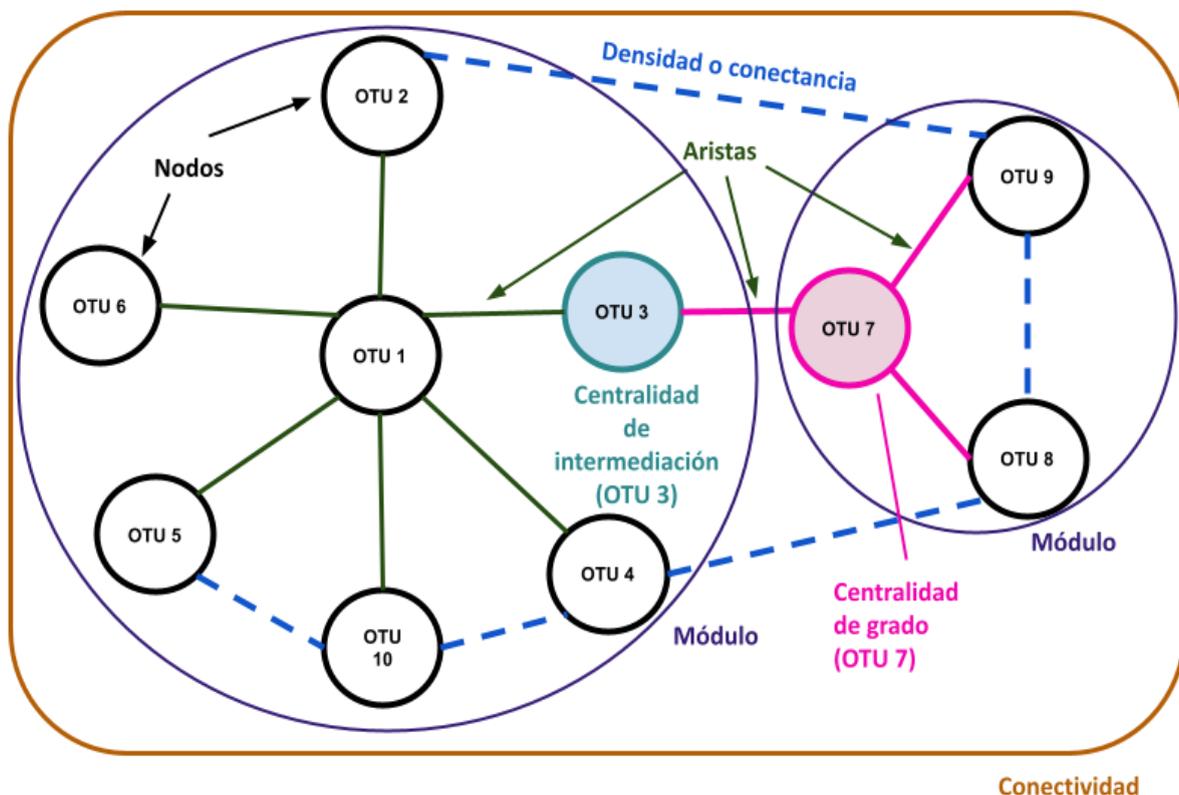


Figura 2. Visualización de los parámetros topológicos de las redes de co-ocurrencia y exclusión en una red con pocos elementos. Los círculos de diferentes colores representan a los **nodos** y las líneas continuas son las **aristas** que conectan a dichos nodos en la red. El rectángulo redondo de color naranja oscuro representa la **conectividad**, ya que incluye al número total de asociaciones dentro de la red. Las líneas no continuas de color azul representan a las posibles asociaciones, mientras que las líneas continuas son las asociaciones existentes y ambas líneas intentan representar al parámetro de **densidad o conectancia**, al señalar el nivel de organización potencial que tendría esta red. Los círculos de color morado oscuro que contienen a un subgrupo de nodos representan a los **módulos** y ambos módulos aquí mostrados contribuyen con el parámetro de **modularidad**, al indicarnos en cuántos subgrupos se dividió esta red. La OTU 7 (círculo color magenta) es el nodo con el mayor número de aristas (asociaciones) y por lo tanto, el nodo con la mayor **centralidad de grado**. Finalmente, la OTU 3 (círculo color cian) es el nodo con la mayor **centralidad de intermediación**, ya que permite que las OTUs 1 y 7 puedan conectarse con los demás nodos, actuando como un “puente” a lo largo de la ruta más corta entre dichos nodos.

De acuerdo con la información anterior, la pregunta de investigación que se planteó fue la siguiente: ¿El origen nativo e híbrido de la semilla puede determinar las asociaciones que se presentan en las comunidades bacterianas de la rizosfera de maíz en Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas? A partir de esta pregunta se pusieron a prueba las siguientes hipótesis:

H₀ = Las asociaciones de las comunidades bacterianas en las semillas de maíz nativo e híbrido se mantienen porque los grupos bacterianos se encuentran conservados entre las plantas de maíz, independientemente del origen de la semilla y del inóculo presente.

H_a = El genotipo y la historia de las semillas de maíz son factores importantes que generan diferencias en las asociaciones de las comunidades bacterianas. Por lo tanto, las semillas de maíz que se han desarrollado en el contexto local, han heredado y mantenido una comunidad bacteriana diferente a la que se asocia a semillas que se cultivan por primera vez y bajo condiciones distintas a las de su

concepción.

2. OBJETIVOS

General

Analizar la influencia del origen nativo e híbrido de la semilla de maíz sobre las comunidades bacterianas de la rizosfera en Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas mediante el uso de redes de co-ocurrencia y exclusión.

Particulares

1. Describir la diversidad de las comunidades bacterianas de la rizosfera de plantas provenientes de semillas nativas e híbridas de maíz en Ocozocoautla de Espinosa.
2. Comparar las redes de co-ocurrencia y exclusión entre el origen nativo e híbrido de la semilla de maíz.
3. Discutir la influencia del sistema de semillas para la conservación de la agrobiodiversidad y el conocimiento asociado al manejo de las semillas en comunidades de Ocozocoautla de Espinosa.

3. MÉTODO

3.1. Sitios de estudio

Los datos utilizados en este trabajo de investigación están relacionados al Proyecto Gund titulado “*Seeds systems and the structuring of biodiversity in maize agroecosystems*” realizado en colaboración con la Universidad de Vermont, el cual se llevó a cabo en campos cercanos a la Reserva de la Biósfera Selva “El Ocote”, en seis ejidos del municipio de Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas, México a 700-1000 m s.n.m. Los ejidos muestreados se dividieron en dos regiones de acuerdo con el clima reportado en los datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (**Tabla 1**). Se consideró a la humedad como diferencia ambiental asociada a los ejidos, pero también pudo tomarse en

cuenta cualquier otro factor ambiental, ya que nuestro principal interés radicó en el origen de la semilla de maíz. En la Región 1 con humedad baja, los ejidos muestreados fueron: El Aguacero, Lázaro Cárdenas y La Esperanza, mientras que los ejidos de la Región 2 con humedad media fueron: San José, Ignacio Zaragoza (El Morro) y Hermenegildo Galeana (Mastretta-Yanes *et al.*, en preparación).

Tabla 1. Número de muestras y características asociadas a los ejidos de estudio

Región	Ejidos	Semilla nativa	Semilla híbrida	Altitud (m s.n.m)	Clima
1. Humedad baja	El Aguacero	3	9	745	Cálido subhúmedo con lluvias en verano, menos húmedo
	Lázaro Cárdenas	7	2	698	
	La Esperanza	X	1	758	
2. Humedad media	San José	2	3	795	Cálido subhúmedo con lluvias en verano, de humedad media
	Ignacio Zaragoza	5	4	834	
	Hermenegildo Galeana	3	3	878	

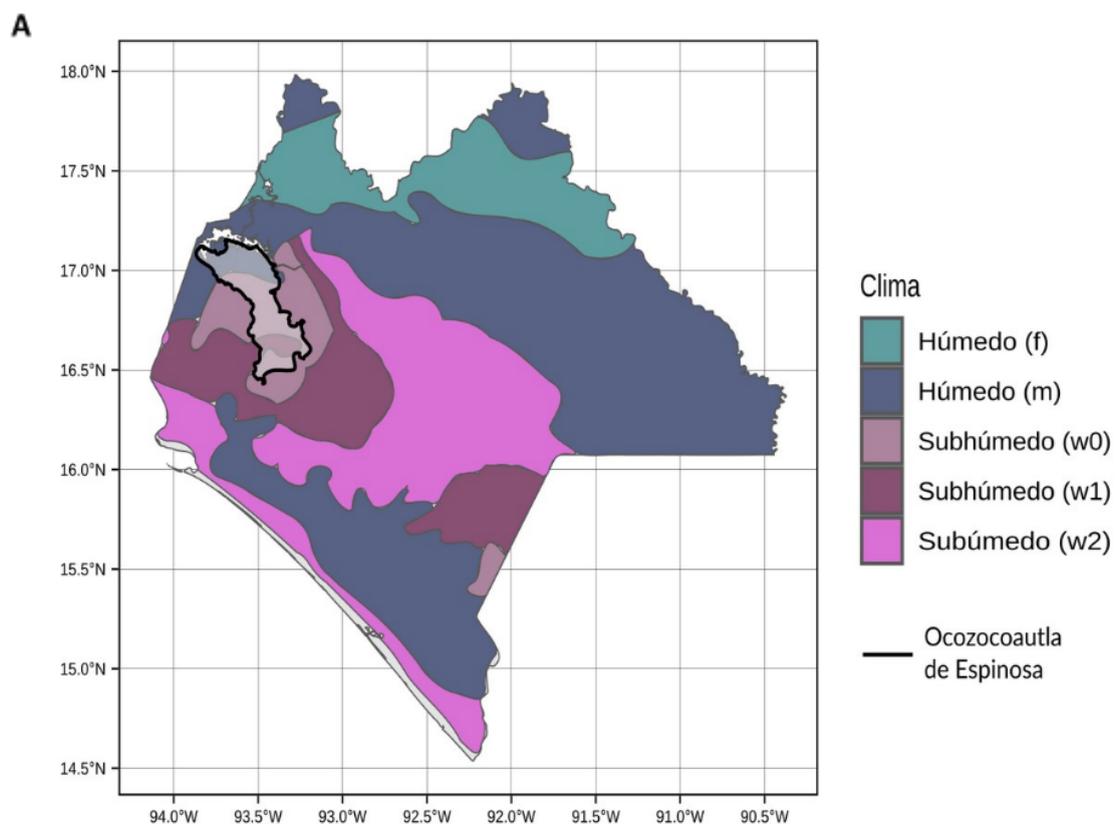
Fuentes: elaboración propia con información de Mastretta-Yanes *et al.*, en preparación y del INEGI

En el presente trabajo se emplearon las variables tipo de semilla de maíz (nativa/híbrida) y humedad presente en las dos regiones de estudio (baja y media), pero los cambios en las comunidades bacterianas de la rizosfera de plantas de maíz también podrían verse afectados por covariables como el uso y

la cantidad de agroquímicos empleados durante su cultivo, el tipo de familia campesina y el manejo agrícola (prácticas, usos y costumbres) en cada tipo de semilla. En el Proyecto Gund se obtuvo más información sobre otros aspectos ecológicos en las regiones de estudio, sin embargo, se omitieron porque no se contaron con ellos. Por lo tanto, existen otras variables que pueden modificar los resultados, pero no fueron consideradas de interés o abordadas a detalle en este trabajo.

3.2. Colecta de material biológico

Los sitios muestreados fueron en total 42 campos de maíz de semillas nativas e híbridas (**Figura 3**). En cada campo se eligieron dos plantas de maíz al azar y se colectaron 5 gramos de suelo de la rizosfera (suelo circundante de la raíz) en la temporada de lluvias (agosto-septiembre) del año 2019 (Mastretta-Yanes *et al.*, en preparación).



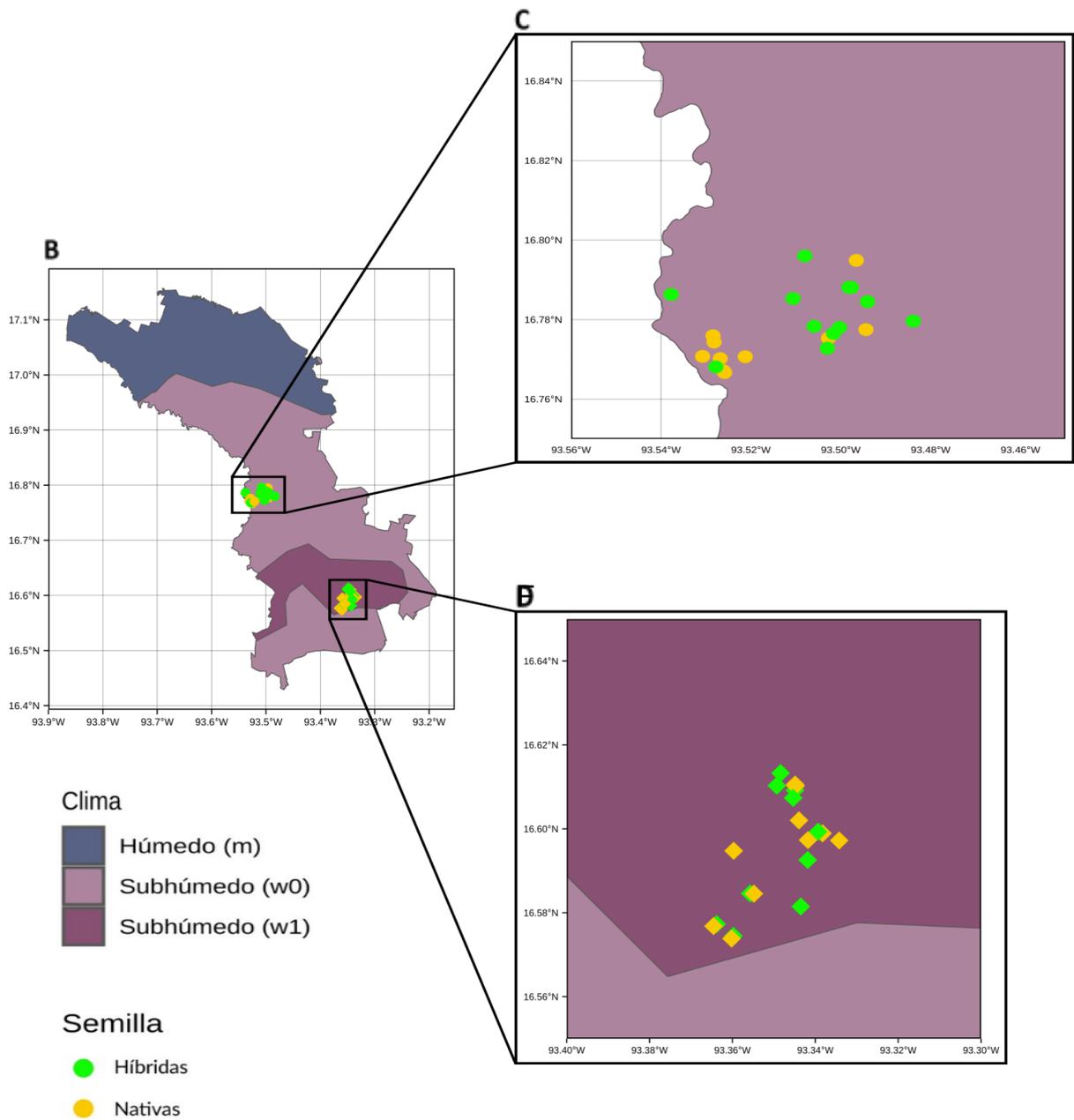


Figura 3. Área de estudio. **A.** Mapa del estado de Chiapas donde se señala el municipio de Ocozacoautla de Espinosa, así como el tipo de clima. **B.** Municipio de estudio con el tipo de clima y el tipo de semilla presente en los sitios muestreados. Las semillas nativas se identifican con color amarillo y las híbridas con color verde. La forma de los caracteres se relaciona con las regiones donde se encuentran los ejidos: Región 1 con círculos y Región 2 con rombos. **C y D.** Zoom del área donde se encuentran los sitios de muestreo. Elaborado por Leonardo Tomás Martínez Trueba.

Para coleccionar la rizosfera se utilizó una pala esterilizada con cloro al 6% y etanol al 95% para desenterrar la planta, cuidando de obtener la raíz como fuera posible. Como colector de base de suelo se utilizó un cuadro de aluminio esterilizado previamente en autoclave y se obtuvo suelo libre de raíces de la planta por la recogida de un núcleo de aproximadamente 1 cm de la raíz de la planta. Cada suelo fue transferido a bolsas de polietileno, las cuales fueron esterilizadas previamente en luz UV. Las muestras se almacenaron dentro del tanque de nitrógeno líquido para su transporte en frío al laboratorio y se almacenaron a -80 °C hasta su procesamiento. Un total de 84 muestras de suelo fueron procesadas independientemente, utilizando kit para extracción de ADN *ZymoBIOMICS*, en el laboratorio de Genética de la Conservación del Jardín Botánico de la UNAM (N. Gálvez, comunicación personal, 14 de noviembre de 2023). Para fines de este trabajo, las muestras se clasificaron de acuerdo con el origen de la semilla de maíz y la región asociada (**Tabla 2**):

Tabla 2. Muestras recolectadas

Región	Semilla nativa	Semilla híbrida
1. Humedad baja	10	12
2. Humedad media	10	10
n=	20	22

Fuente: elaboración propia a partir de Mastretta-Yanes *et al.*, en preparación

3.3. Encuestas realizadas en las regiones de estudio del municipio de Ocozacoautla de Espinosa, Chiapas

Además de los muestreos en campo, las colaboradoras del Proyecto Gund llevaron a cabo 42 encuestas en las regiones de estudio mediante la herramienta *Kobo Toolbox* (datos no mostrados). Para fines de este trabajo de investigación se tomaron solamente los resultados obtenidos con respecto al tipo de cultivo presente en las parcelas, la existencia de otros cultivos además del maíz y qué

cultivos eran. Esto con la finalidad de subrayar la importancia del tipo de semilla de maíz cultivada, así como el manejo asociado a cada una de ellas.

De acuerdo con las encuestas realizadas por las colaboradoras, las semillas de maíz se desarrollaron bajo policultivo (52.38%), monocultivo (35.71%) y milpa (14.29%) (Mastretta-Yanes *et al.*, en preparación) y el maíz se encontró principalmente asociado a cultivos como la calabaza (59.52%), el frijol (21.43%) y el chipilín (19.05%) (datos no mostrados; Mastretta-Yanes *et al.*, en preparación).

3.4. Trabajo de laboratorio

A partir de las muestras tomadas en campo, las colaboradoras del Proyecto Gund pesaron 0.25 gramos de suelo de cada muestra y utilizaron el protocolo del kit *PowerSoil DNA Isolation MO BIO* para la extracción de ADN del suelo (Mastretta-Yanes *et al.*, en preparación). La construcción de la biblioteca metagenómica del suelo rizosférico se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando como marcador molecular al gen 16S rRNA para las regiones V3 y V4. Este gen es el marcador más utilizado porque permite clasificar a las bacterias y arqueas de muestras metagenómicas y mediante su uso se ha analizado la diversidad microbiana (Cortés-López *et al.*, 2020). En cada muestra se incluyó una reacción de control negativo sin plantilla de ADN. Las bibliotecas construidas fueron enviadas a la Universidad de Arizona para su limpieza, etiquetado y secuenciación en un solo carril de *Illumina MiSeq 2 × 300* bp (Mastretta-Yanes *et al.*, en preparación).

3.5. Delimitación de OTUs

La obtención de las OTUs se llevó a cabo mediante la revisión de lecturas sin procesar, la eliminación de ruido, la fusión de pares y el filtrado de calidad. Las lecturas se agruparon con un 97% de similitud con UPARSE, se ejecutó el filtrado

de quimeras y de la tabla OTU. Finalmente, se asignó la taxonomía a cada OTU y se filtraron aquellas que no coincidieron con bacterias (Mastretta-Yanes *et al.*, en preparación).

Las OTUs de comunidades bacterianas muestreadas en suelo rizosférico en parcelas de semillas nativas e híbridas en dos regiones fueron unidas en un archivo titulado *taxonomy.biom*, el cual contiene la tabla OTU con la frecuencia de lectura por muestra, su taxonomía y metadatos asociados (Mastretta-Yanes *et al.*, en preparación).

3.6. Flujo de trabajo en R

Para llevar a cabo la limpieza de la tabla OTU se utilizaron como referencia los scripts del repositorio “*Gund_metabarcoding*” de la Dra. Alicia Mastretta Yanes, el cual se encuentra alojado en la plataforma de desarrollo colaborativo GitHub (https://github.com/AliciaMstt/Gund_metabarcoding). La librería que emplearon para todos los pasos relacionados con la limpieza de la tabla OTU fue *phyloseq*, la cual permitió importar el archivo *biom* y visualizar la tabla OTU, la taxonomía y el resumen de las variables presentes en las muestras. Posteriormente, filtraron las lecturas de control negativo en cada lote de PCR, eliminaron las OTUs que ya no estaban presentes, las muestras que ya no tenían lecturas de control negativo o cualquier muestra fallida y comprobaron que ninguna OTU tuviera una frecuencia de lectura igual a 0. Después transformaron los recuentos de lectura en abundancias relativas y finalmente, filtraron las OTUs muestreadas en suelo, ya que el archivo tipo *biom* también contenía OTUs de comunidades bacterianas asociadas a intestinos de artrópodos (datos no utilizados en el presente trabajo).

Los cambios realizados a los scripts del repositorio “*Gund_metabarcoding*” consistieron principalmente en la adición de filtros para obtener las OTUs

asociadas a plantas provenientes de semillas nativas e híbridas de maíz en las dos regiones de estudio. Además, se agregaron instrucciones para obtener tablas con la abundancia relativa de las OTUs y su taxonomía en formato .csv. Para generar los scripts de este trabajo se siguieron los pasos de la Dra. Alicia Mastretta Yanes y se incluyeron los demás cambios realizados en un nuevo repositorio titulado “Proyecto_Gund_16S” (https://github.com/guadalupele99/Proyecto_Gund_16S).

Con ayuda de los scripts generados se importó el archivo *taxonomy.biom* a R versión 4.2.1 (R Core Team, 2022) para examinar los datos mediante el paquete *phyloseq* versión 1.40.0 (McMurdie y Holmes, 2013) y se realizaron los pasos previamente mencionados. A partir de las OTUs obtenidas, se llevaron a cabo los filtrados correspondientes a las OTUs muestreadas en plantas de maíz provenientes de semillas nativas e híbridas bajo dos regiones para analizar la influencia del origen de la semilla de maíz sobre las asociaciones de las comunidades bacterianas.

3.7. Análisis estadísticos

A partir de la obtención del número de OTUs por muestra, se pueden calcular índices ecológicos como la diversidad alfa (diversidad en una muestra), donde uno de los índices más comunes en los estudios de diversidad microbiana es el índice de Shannon-Weaver (Garza, 2021; Gómez y Guerrero, s.f.). También se puede calcular la diversidad beta como medida del grado de cambio o reemplazo en la composición entre diferentes comunidades (diversidad entre muestras) (Whittaker, 1972; en Moreno, 2000; Gómez y Guerrero, s.f.). Uno de los coeficientes de asociación más usado en estudios de ecología microbiana es Bray-Curtis, método no filogenético que tiene en cuenta la abundancia de OTUs (Garza, 2021; Hernández *et al.*, 2020).

3.7.1. Cálculo de diversidad alfa

Se calculó el índice de Shannon-Weaver como una estimación de la diversidad alfa para los datos de las comunidades bacterianas de la rizosfera de plantas provenientes de semillas nativas e híbridas asociadas a dos regiones, para ello se utilizaron las funciones *estimated richness* y *plot_richness* del paquete *phyloseq*. Posteriormente, se realizó la prueba no paramétrica *U* de Mann-Whitney para los datos que no presentaron distribución normal y una prueba *t* de Student para los datos que sí la presentaron.

3.7.2. Cálculo de diversidad beta

Se realizó un escalado multidimensional no métrico (NMDS) con distancia Bray-Curtis a nivel de OTU con el paquete *phyloseq* para las comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera de plantas provenientes de semillas nativas e híbridas bajo dos regiones. Por otro lado, también se llevó a cabo un análisis de varianza multivariante permutacional (PERMANOVA) para investigar las diferencias estadísticas. El análisis PERMANOVA se realizó con la función *adonis* del paquete *vegan* versión 2.6.2 (Oksanen *et al.*, 2018).

3.8. Construcción de las redes de co-ocurrencia y exclusión

Las redes de co-ocurrencia y exclusión se construyeron en la aplicación *CoNet* versión 1.1.1.beta (Faust y Raes, 2016) utilizando tablas de abundancia relativa de las comunidades bacterianas a nivel de OTU. Se construyeron redes separadas para las comunidades bacterianas asociadas a cada uno de los tipos de planta de maíz (semillas nativas e híbridas) bajo dos regiones (R1/R2). La aplicación es complemento del software *Cytoscape* versión 3.9.0 (Shannon *et al.*, 2003), en ella se cargaron y configuraron las tablas de abundancia relativa obtenidas en la sección “Flujo de trabajo en R”.

Como primer filtro se aplicó el método *row_minocc* para eliminar el ruido de las filas que contenían valores cero. Para las matrices con 10 muestras *row_minocc* se ajustó en 3 y para aquella con 12 muestras en 4. Además, se habilitó *col_norm* para dividir cada entrada de la matriz por la suma de su columna correspondiente. Faust y Raes (2016) mencionan que esto evita la inferencia de enlaces espurios por diferencias en la profundidad de secuenciación.

Por otra parte, las co-ocurrencias y exclusiones se probaron estadísticamente con las pruebas de Pearson, Spearman y Kendall y se consideraron significativas las correlaciones > 0.85 . Las aristas se establecieron cuando las co-ocurrencias y exclusiones estaban respaldadas por al menos dos de las tres pruebas.

A partir de los parámetros antes mencionados se realizó la inferencia de la red y se obtuvo como resultado un multigrafo en el cual se observaron a los nodos conectados por aristas. Dichas aristas se infirieron considerando las correlaciones antes mencionadas. De acuerdo con Faust y Raes (2016), la importancia estadística de las aristas se calcula en dos iteraciones. La primera consiste en generar las distribuciones de permutación para obtener una red intermedia, mientras que en la segunda se generan las distribuciones de *bootstrap* para generar la red final.

La primera iteración consistió en emplear la rutina *edgeScores* junto con *shuffle_rows* como parámetro de remuestreo. Esto alteró el cálculo de las distribuciones de permutación para las medidas de correlación mediante la introducción de un paso de renormalización que mitigó el sesgo de composicionalidad (Faust *et al.*, 2012). La permutación por sí sola es suficiente para establecer los valores p en las aristas, sin embargo, una combinación de permutación y *bootstrap* es más estricta (Faust *et al.*, 2012). En la segunda iteración se obtuvieron las distribuciones de arranque mediante *bootstrap* como

método de remuestreo. Además, en esta etapa se seleccionó *Benjamini-Hochberg* como el método de corrección de pruebas múltiples, ya que ajusta la tasa de descubrimiento falso y de esa forma controla el número esperado de falsos positivos entre todas las relaciones significativas (Faust y Raes, 2016).

3.9. Visualización y manipulación de las redes de co-ocurrencia y exclusión

Las redes obtenidas en CoNet se visualizaron en el software *Gephi* v.0.9.3 (Bastian, Heymann y Jacomy, 2009). Los nodos se rellenaron de un color diferente para identificar los filos bacterianos presentes en cada red. Además, se modificó el color y ancho de las aristas de acuerdo con el tipo de asociación. Las aristas correspondientes a co-presencia se colorearon de negro y las aristas de exclusión mutua de color naranja.

3.10. Comparación entre las redes de co-ocurrencia y exclusión asociadas al origen nativo e híbrido de las semillas de maíz

La comparación de las redes se llevó a cabo para conocer si las asociaciones de las comunidades bacterianas presentes en la rizosfera se ven afectadas por el origen de la semilla de maíz. La forma en que se compararon fue mediante el empleo de parámetros topológicos obtenidos en la herramienta *Analyze Network* (Assenov *et al.*, 2008) del software *Cytoscape*.

El parámetro topológico de modularidad se calculó en el software *Gephi* v.0.9.3 (Bastian, Heymann y Jacomy, 2009). Para llevar a cabo cada cálculo se importaron las redes de co-ocurrencia con formato *graphml*. En el software *Gephi* se cargaron las redes y posteriormente se ejecutó la estadística de Modularidad en *Community Detection*. Dicha estadística se calculó con el algoritmo desarrollado por Blondel y colaboradores (2008). Para visualizar las comunidades obtenidas se rellenaron los nodos de colores diferentes mediante

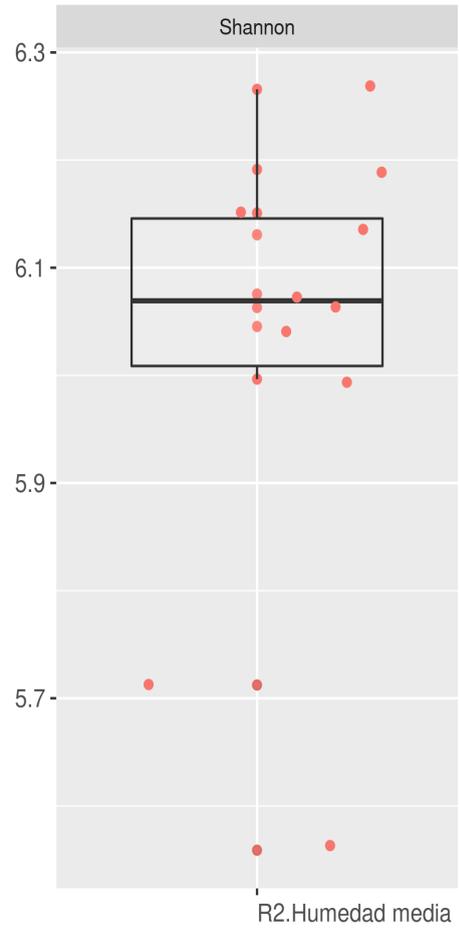
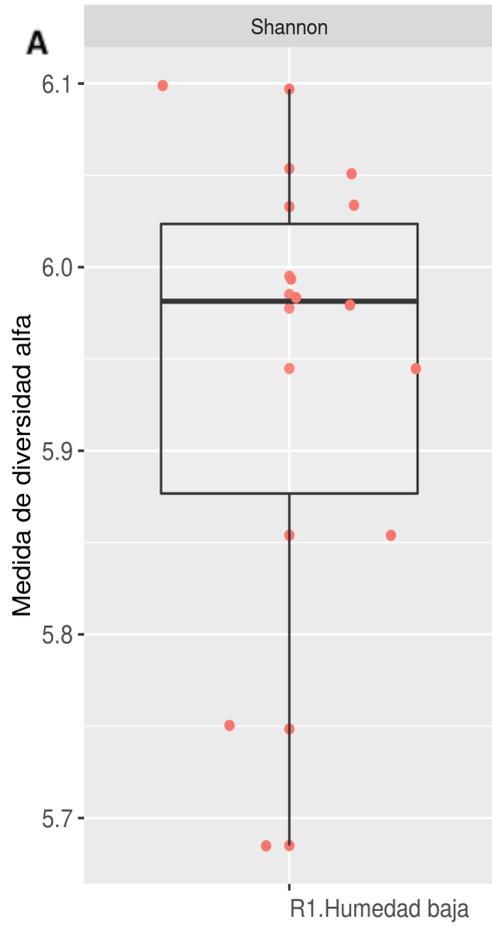
la opción Partición con el atributo de *Modularity Class* y se modificó su tamaño. Además, las redes se ajustaron con la distribución de Fruchterman Reingold.

En la identificación de las OTUs clave se emplearon los parámetros topológicos de centralidad de grado y centralidad de intermediación. Para que las OTUs se consideren clave deben presentar altos valores de centralidad de grado y valores bajos de centralidad de intermediación (Ma *et al.*, 2016; Berry y Widder, 2014). Esto ocurre porque estas OTUs son las que presentan más asociaciones significativas con otras OTUs, pero sus bajos valores de centralidad de intermediación señalan que tienen poca influencia en otras asociaciones en la comunidad, ya que no son consideradas importantes en la comunicación de la red.

4. RESULTADOS

4.1. Las dos regiones estudiadas son iguales en la diversidad alfa en la semilla nativa e híbrida

Para todas las muestras de suelo (N=42) se identificaron 1,329 OTUs. En cuanto a la diversidad alfa calculada con el índice de Shannon-Weaver, la rizosfera asociada a plantas de semillas nativas ($t= 1.0042$, $p= 0.3313$) e híbridas ($W= 38$, $p= 0.1593$) no presentó diferencias significativas en ninguna de las dos regiones. Sin embargo, el valor más alto de diversidad alfa se observó en la Región 2 con humedad media en la semilla nativa (**Figura 4A**).



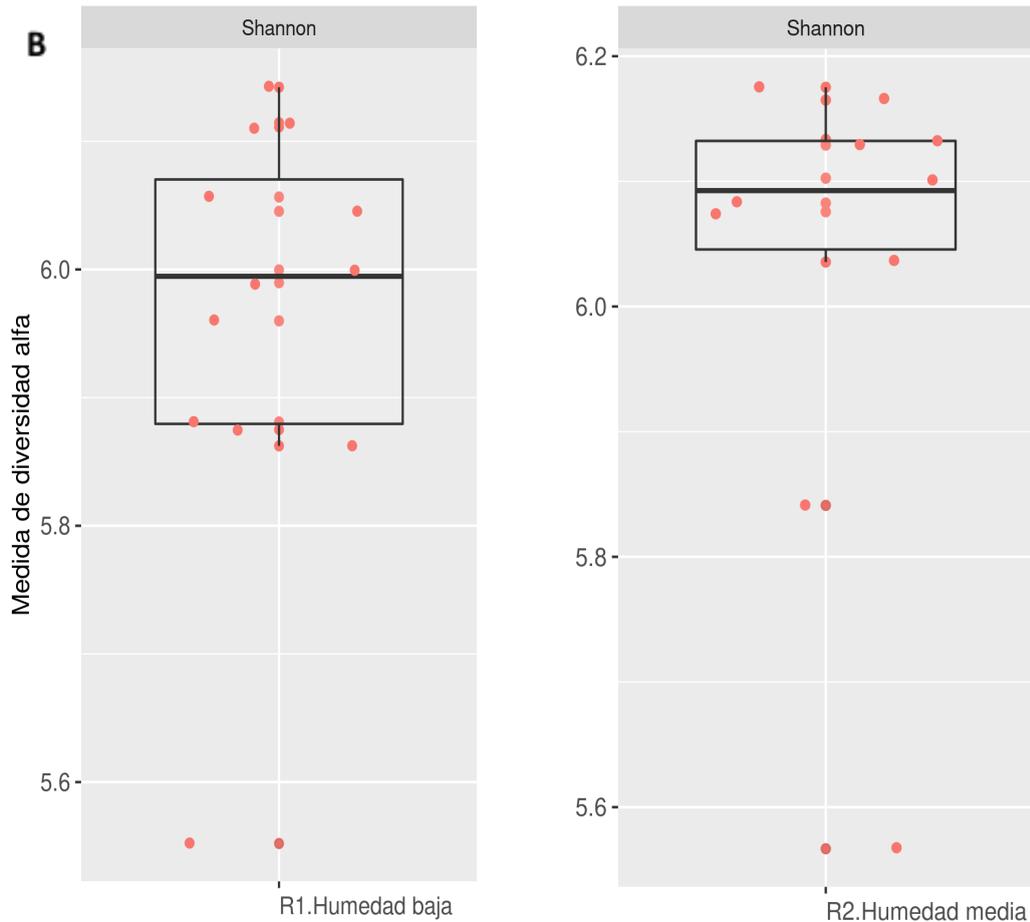
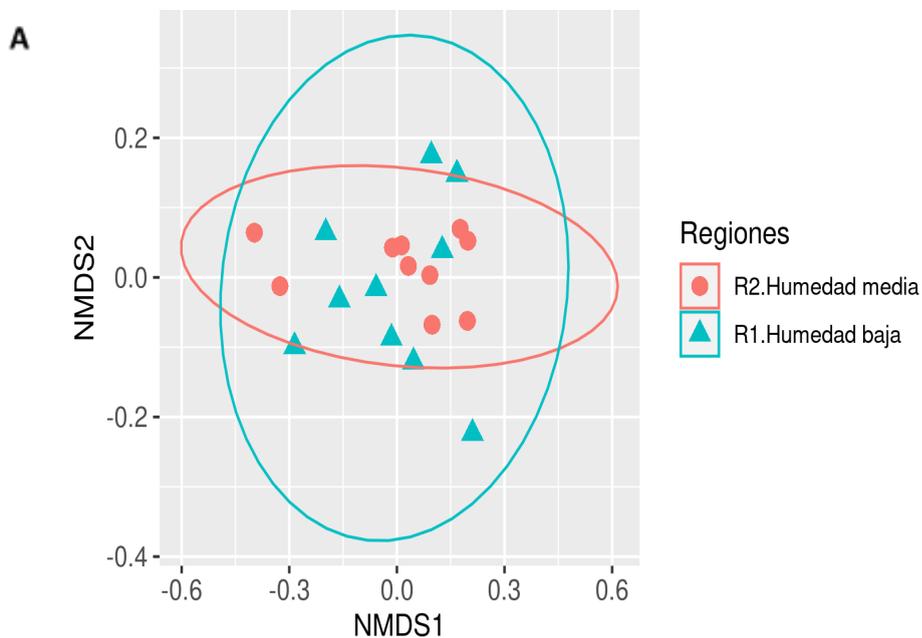


Figura 4. Diversidad de las comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera de plantas provenientes de semillas nativas e híbridas de maíz en dos regiones. Diagrama de caja de estimaciones de diversidad alfa (índice de Shannon-Weaver) de la semilla nativa (A) e híbrida (B). En los diagramas de caja previamente mostrados se identifican las siguientes partes: el **rango intercuartílico (IQR)**, representado por la caja (distancia entre el primer y tercer cuartil (25 y 75%, respectivamente)) y que equivale al 50% de los datos; la **mediana**, representada por la línea en la caja y que nos indica que la mitad de los datos está por debajo de este valor y la otra por encima. La mediana también nos indica si los datos son simétricos (mediana en el centro de la caja) o asimétricos (mediana más cerca de la parte superior o inferior de la caja). Las líneas que se extienden a cada lado de la caja se llaman **bigotes** y contienen los datos más lejanos sin contar los **valores atípicos**, estos últimos se muestran con puntos color rosa que quedan por encima o por debajo de los extremos de los bigotes, ya que se trata de observaciones que están muy distantes del resto de los datos (Minitab, 2023; JMP Statistical Discovery, 2023; R CODER, 2023).

4.2. La composición de las comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera de la semilla híbrida es sensible a la humedad en las regiones, mientras que la semilla nativa no se ve afectada

El análisis de diversidad beta (NMDS) no mostró diferencias significativas en las comunidades bacterianas asociadas a la semilla nativa en las dos regiones (PERMANOVA, $F=2.0077$, $p=0.05^*$) (Figura 5A). Mientras que, el análisis de diversidad beta en las semillas híbridas sí presentó diferencias significativas en la composición de las comunidades bacterianas entre las dos regiones (PERMANOVA, $F= 2.0307$, $p= 0.024^*$) (Figura 5B).



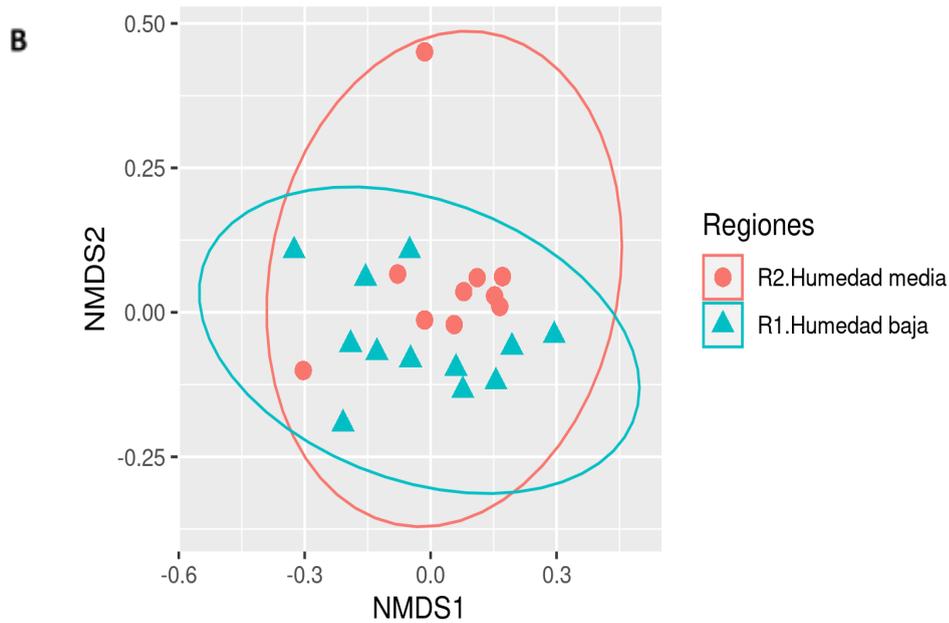


Figura 5. Disimilitud en la composición de las comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera de semillas nativas e híbridas de maíz en dos regiones. NMDS con distancia Bray-Curtis entre las muestras de semilla nativa (A) e híbrida (B).

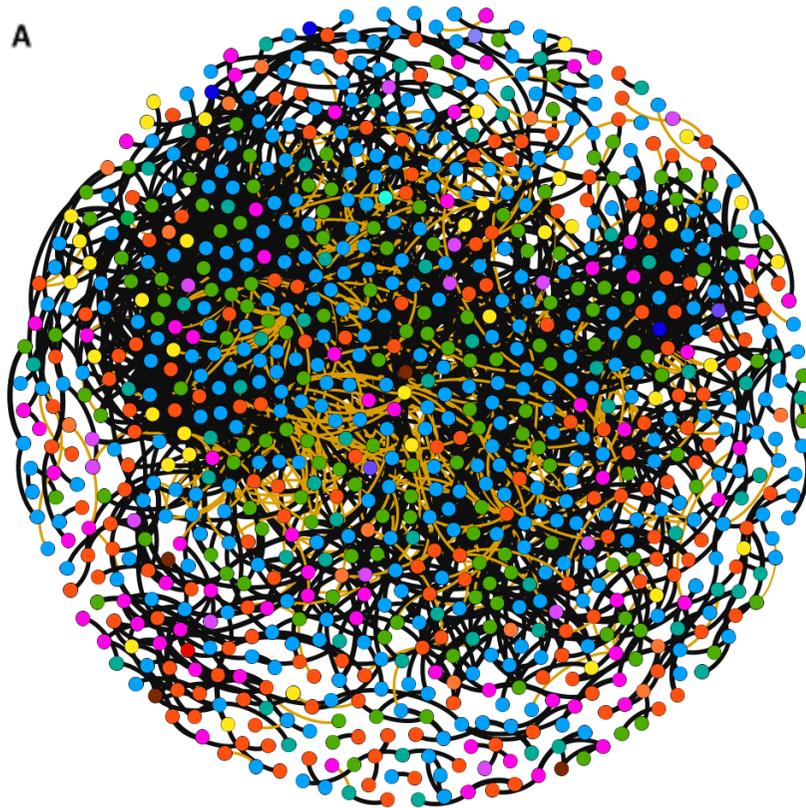
4.3. El tamaño de las redes cambia de acuerdo con el origen de la semilla y la humedad presente en las regiones

Se obtuvieron cuatro redes de co-ocurrencia y exclusión para los dos tipos de semillas de maíz asociados a dos regiones de estudio. Las redes correspondientes a la semilla nativa presentaron un mayor número de OTUs y asociaciones en las dos humedades (baja y media) (Figuras 6A y B), mientras que la semilla híbrida obtuvo un menor número de OTUs en la humedad baja y menos asociaciones en la humedad media (Figura 6C). Si comparamos las redes asociadas a la humedad baja en ambos tipos de semilla podemos observar que no existen cambios drásticos en los parámetros señalados, pero esto cambia cuando observamos la humedad media, ya que la semilla híbrida presenta una red con muy pocas asociaciones (Figura 6D). Esto resulta de interés debido a que esta semilla presentó el menor número de asociaciones de co-presencia (relaciones de co-ocurrencia) en una humedad en particular.

Semilla nativa

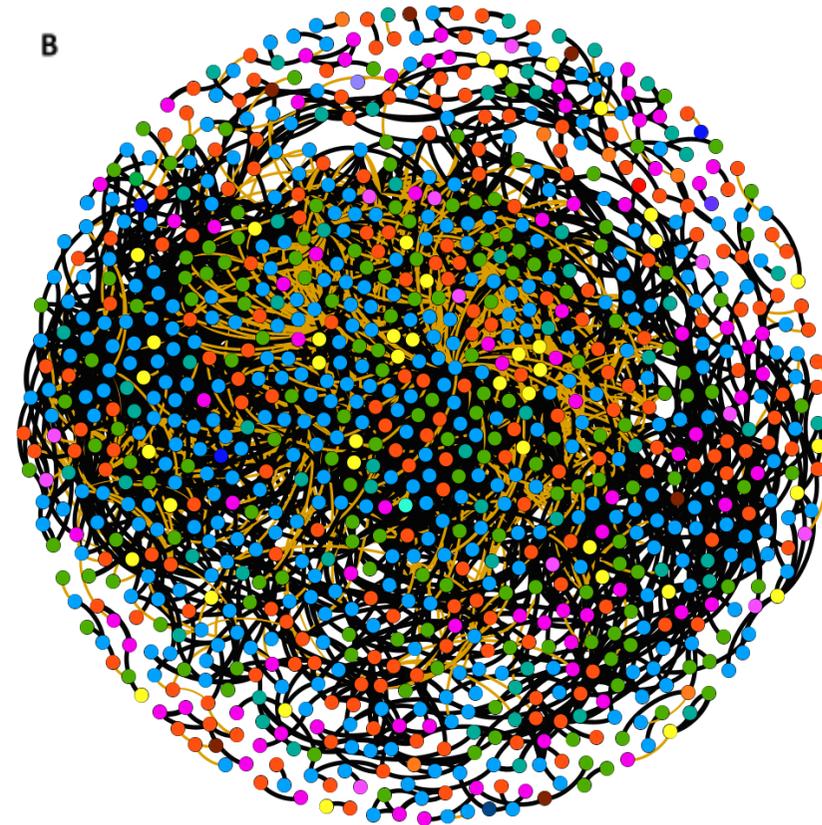
R1. Humedad baja

R2. Humedad media



OTUs= 894

a= 4136



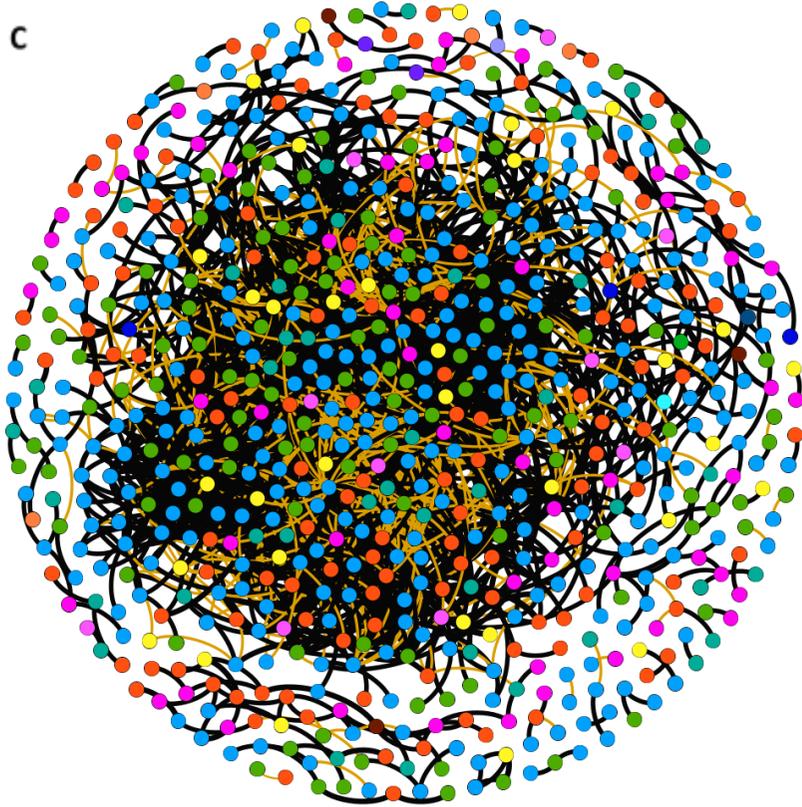
OTUs= 961

a= 7898

Semilla híbrida

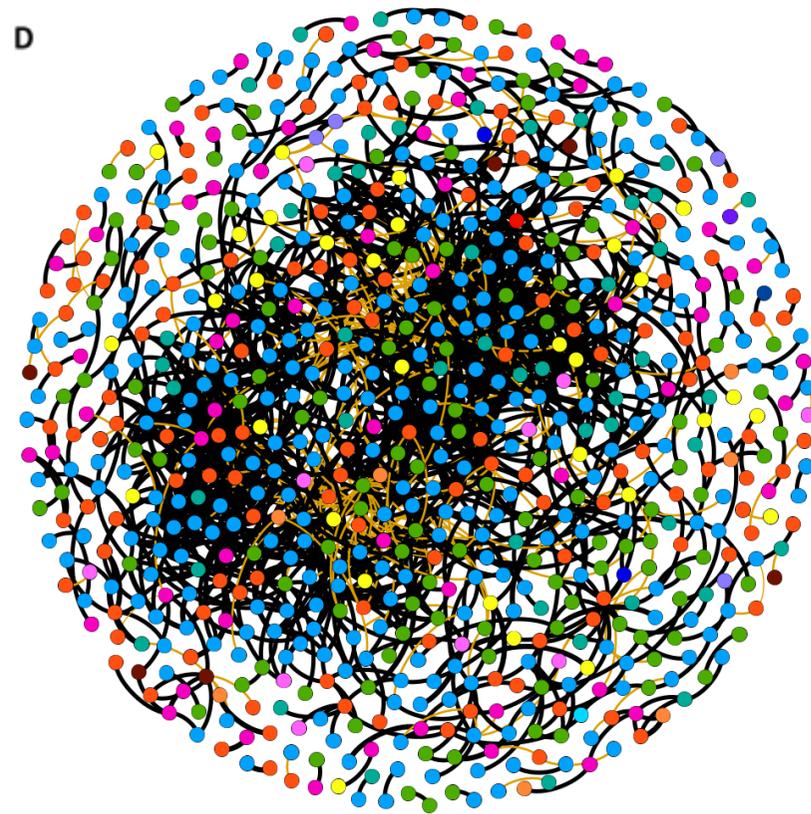
R1. Humedad baja

R2. Humedad media



OTUs= 708

a= 4747



OTUs= 742

a= 1871

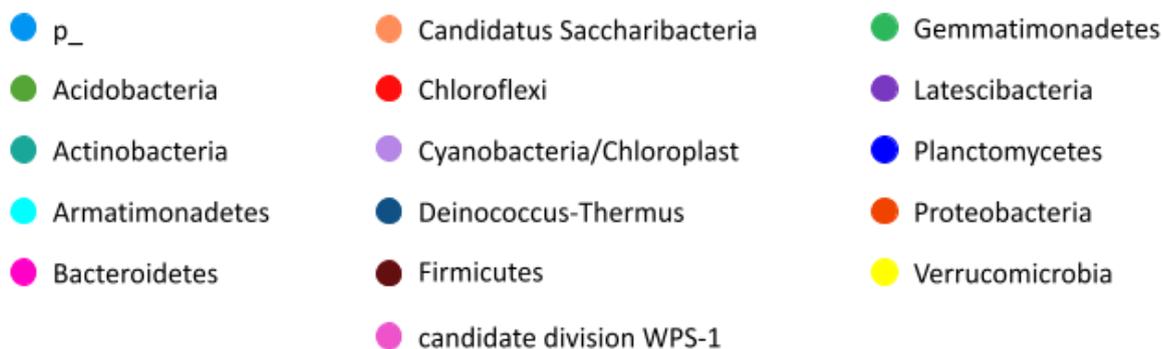


Figura 6. Redes de co-ocurrencia y exclusión de comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera de plantas provenientes de semillas nativas e híbridas de maíz en dos regiones con diferente humedad. Los nodos representan OTUs coloreadas a nivel de *phylum*. Las aristas negras representan relaciones de co-presencia y las naranjas de exclusión mutua.

Los cinco filos bacterianos dominantes en ambos tipos de semilla fueron Proteobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria y Verrucomicrobia. Sin embargo, es importante mencionar el papel de los filos no asignados (p__), ya que estos presentaron mayor abundancia en todas las redes. Los filos asignados que fueron dominantes están asociados a un número diferente de OTUs, donde las mayores abundancias se presentaron en la semilla nativa (**Tablas A1 y A2**).

Por otro lado, también se puede observar la identificación de 15 filos bacterianos en las cuatro redes de co-ocurrencia y exclusión, los cuales presentaron diferencias particulares en cada red. En la semilla nativa, el *phylum* Deinococcus-Thermus se presentó exclusivamente en la humedad media (R2) y en la semilla híbrida la diferencia radicó en la ausencia del *phylum* Gemmatimonadetes, también en la región con humedad media (**Tablas A1 y A2**).

4.4. Las comunidades bacterianas de la rizosfera son más estables cuando se asocian a la semilla nativa en ambas humedades

Al comparar las redes con el atributo de modularidad se observó que la semilla nativa es la que presenta la mayor estabilidad, ya que la red asociada a la humedad media es la que presentó la modularidad más alta (1.233) seguida de la humedad baja (0.977) (**Figuras A1 y A2**). Esto puede corroborarse con las **Figuras 7A y B** y con los valores de modularidad previamente mencionados, donde una alta modularidad nos indica que las redes presentan módulos compartimentados y débilmente conectados, lo cual podría evitar la propagación de perturbaciones locales a otros módulos (**Cuadro A1**).

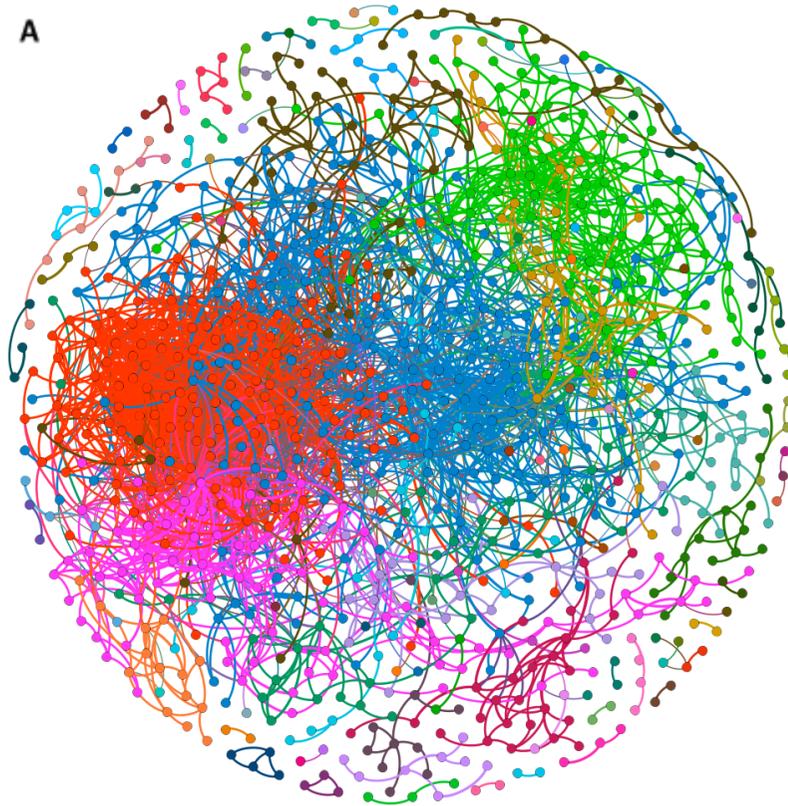
Se tomó en cuenta la interpretación anterior en nuestros resultados porque es la más aceptada en la mayoría de los estudios, sin embargo, existen otros donde se muestra lo contrario. Para Grilli y colaboradores (2016), una estructura no es estabilizadora o desestabilizadora *per se*, sino que lo es bajo ciertas condiciones. La modularidad puede influir en la estabilidad dependiendo de otros parámetros, por ejemplo: la conectividad, la fuerza de interacción media, la varianza, la correlación y el tamaño de los módulos (Grilli *et al.*, 2016; González, 2023). La evidencia de la relación entre modularidad y estabilidad es mixta y es necesario que exista un consenso porque no es tan general como se había pensado (Grilli *et al.*, 2016; González, 2023). Existen múltiples factores que intervienen en esta relación, como el uso de diferentes definiciones y medidas para la estabilidad, y el uso de datos de ecosistemas modelo frente a los datos reales (Landi *et al.*, 2018). Debido a esta controversia, en este trabajo se optó por emplear esta interpretación.

Semilla nativa

R1. Humedad baja

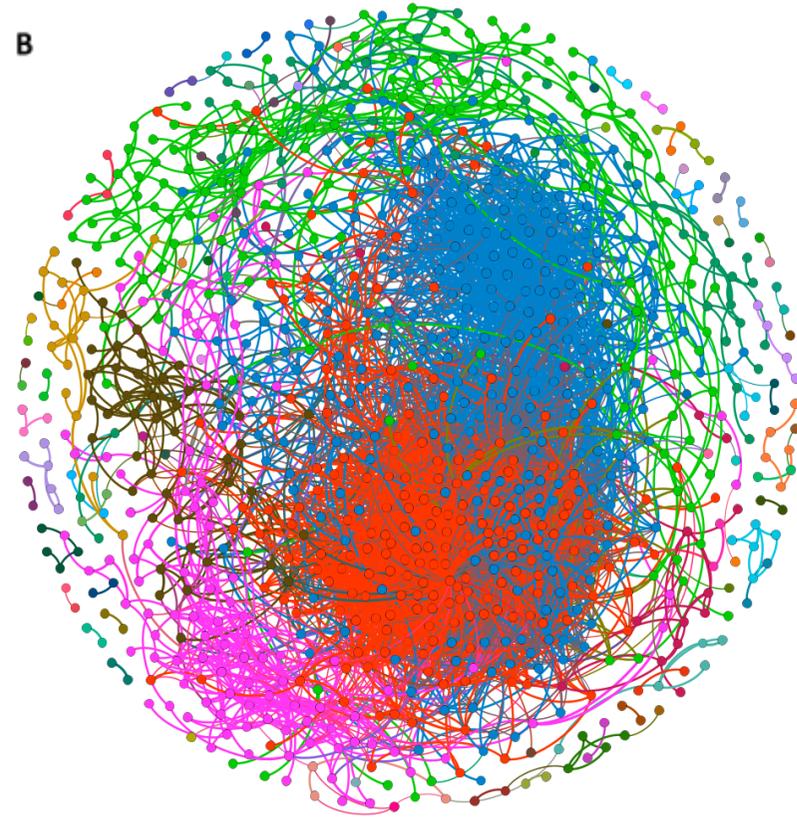
R2. Humedad media

A



Modularidad= 0.977
Módulos= 108

B

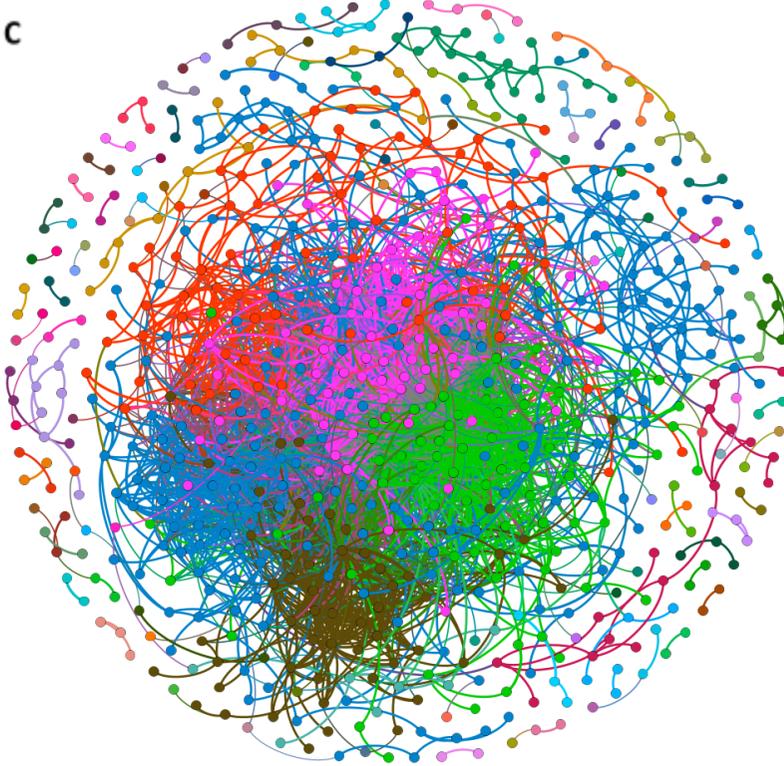


Modularidad= 1.233
Módulos= 91

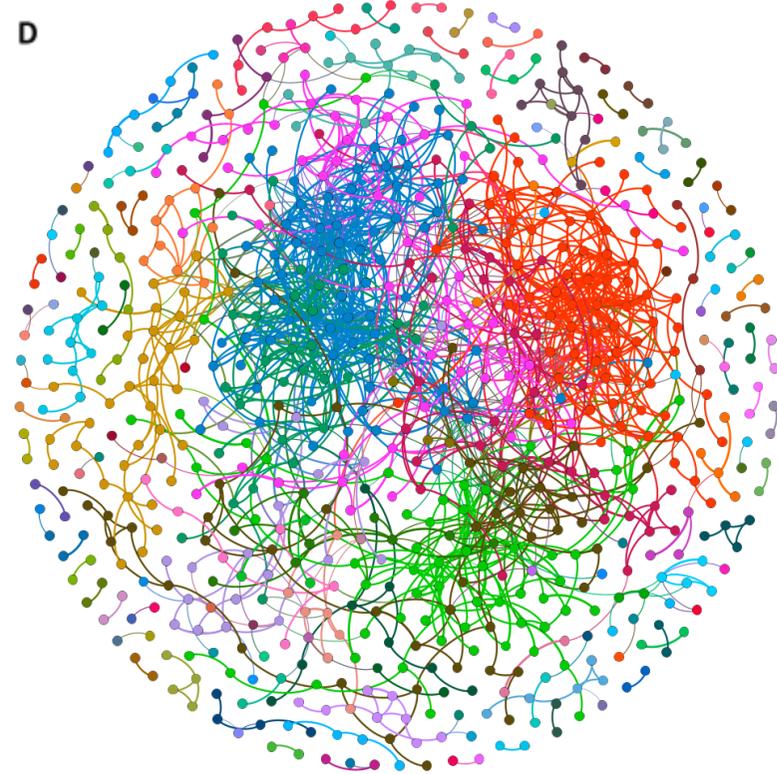
Semilla híbrida

R1. Humedad baja

R2. Humedad media



Modularidad= 0.927
Módulos= 117



Modularidad= 0.963
Módulos= 158

Figura 7. Redes de co-ocurrencia de comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera de plantas provenientes de semillas nativas e híbridas de maíz en dos regiones con el atributo de modularidad. Los diferentes módulos se muestran mediante nodos coloreados, donde cada módulo cuenta con un número diferente de OTUs y filos bacterianos.

A partir de la **Figura 7B** se puede observar que en la red de la semilla nativa con humedad media los módulos fueron más compactos y definidos, a diferencia de la humedad baja donde los módulos fueron más dispersos (**Figura 7A**). Lo anterior nos indica que en la humedad media los módulos consisten en OTUs fuertemente conectadas dentro de estos y débilmente asociadas a otros módulos. Al comparar las cuatro redes llama la atención la red de la semilla híbrida con humedad media debido a que los módulos no están definidos y se encuentran muy dispersos (**Figura 7D**), esta red contó con un mayor número de módulos (158) pero estos fueron más pequeños debido al menor número de OTUs asociadas (**Tabla A4**), en contraste con la humedad baja, donde los módulos fueron más grandes y más interconectados (**Figura 7C; Figuras A3 y A4**).

Los ocho módulos principalmente identificados están presentes en todas las redes, sin embargo, el número de OTUs asociadas a cada uno difiere (**Tablas A3 y A4**). En siete de los ocho módulos se encontraron diferentes filos bacterianos, es decir, en cada módulo hay diferentes miembros que se encontraron conectados. En las cuatro redes los módulos principales son el azul, el naranja, el verde y el rosa, ya que cuentan con el mayor número de nodos.

4.5. Las redes de la semilla nativa presentan mayor complejidad

Los valores de densidad y conectividad asociados a las redes de co-ocurrencia y exclusión de las semillas nativas sugieren que estas son más complejas y con OTUs más interconectadas (**Tabla 3**). Esto también coincide con el número de nodos y aristas en las redes de la semilla nativa, ya que estos parámetros son los

descriptores más simples de la complejidad en una red. Por otro lado, las comunidades bacterianas son menos complejas cuando se asocian a la semilla híbrida, particularmente cuando la humedad es media. Esta red presenta un menor número de OTUs y asociaciones, es más dispersa y sus módulos son menos compactos e interconectados (**Figura 7D**).

La red de la semilla híbrida con humedad baja fue la más densamente conectada (0.027), seguida por las redes de la semilla nativa con humedad media y baja (0.018 y 0.011, respectivamente). El valor de densidad más bajo se asoció a la red de la semilla híbrida con humedad media (0.010), pero dicho valor se encontró muy cerca del asociado a la humedad baja en la semilla nativa. En general, los valores de conectividad obtenidos en las cuatro redes nos indican que se encuentran escasamente conectadas.

El parámetro topológico de conectividad fue mayor en las redes de la semilla nativa (0.340 y 0.308), lo cual se relaciona con el número total de asociaciones dentro de las redes obtenidas. Por lo tanto, estas redes presentaron una mayor cohesión, es decir, las comunidades bacterianas tuvieron una relación más estrecha. Por otro lado, la semilla híbrida presentó el valor más bajo en la humedad media (0.275).

Tabla 3. Parámetros topológicos asociados a las redes de co-ocurrencia y exclusión de las semillas nativas e híbridas de maíz

Parámetro topológico	Semilla nativa		Semilla híbrida	
	Humedad baja	Humedad media	Humedad baja	Humedad media
Nodos	894	961	708	742
Aristas	4136	7898	4747	1871

● co-ocurrencias	3310	5696	3524	1583
● co-exclusiones	826	2202	1223	288
Densidad	0.011	0.018	0.027	0.010
Conectividad	0.308	0.340	0.294	0.275

Fuente: elaboración propia a partir de la herramienta *Analyze Network* en *Cytoscape*

4.6. La semilla nativa de maíz asociada a la humedad media presenta las OTUs con el mayor número de conexiones

Dentro de las cuatro redes de co-ocurrencia y exclusión obtenidas se identificaron a las OTUs con los valores más altos de centralidad de grado, es decir, aquellas que presentaron un mayor número de conexiones con otras OTUs dentro de las redes. En la semilla nativa con humedad media se presentó la OTU con el valor más alto (138), seguido por la semilla híbrida con humedad baja (125). Las redes de la semilla nativa con humedad baja y semilla híbrida con humedad media presentaron los valores más bajos de las cuatro redes, a pesar de identificar a las OTUs con la mayor centralidad de grado (80 y 46, respectivamente). *Los valores entre paréntesis mencionados a lo largo de este apartado corresponden a la centralidad de grado.

Se analizaron los diferentes valores obtenidos en este parámetro topológico y se tomaron los más altos en cada red para conocer a otras OTUs con mayor número de conexiones. En la semilla nativa, las OTUs pertenecen a filos no asignados (p__), así como a tres filos bacterianos distintos. En la humedad baja se identificaron a OTUs sin *phylum* asignado con los valores más altos (80 y 77), seguidas de los filos Acidobacteria (75) y Proteobacteria (72) (**Figura 8A**), mientras que en la humedad media a una OTU sin *phylum* asignado (138) y a Verrucomicrobia (131) (**Figura 8B**). Las diferencias entre ambas humedades radican en los diferentes valores de centralidad de grado y en el cambio de filos bacterianos (Acidobacteria y Proteobacteria vs. Verrucomicrobia). Una vez

identificados los filios con mayor centralidad de grado se analizó con qué otros filios presentaron las conexiones.

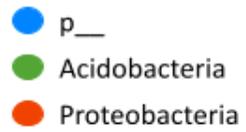
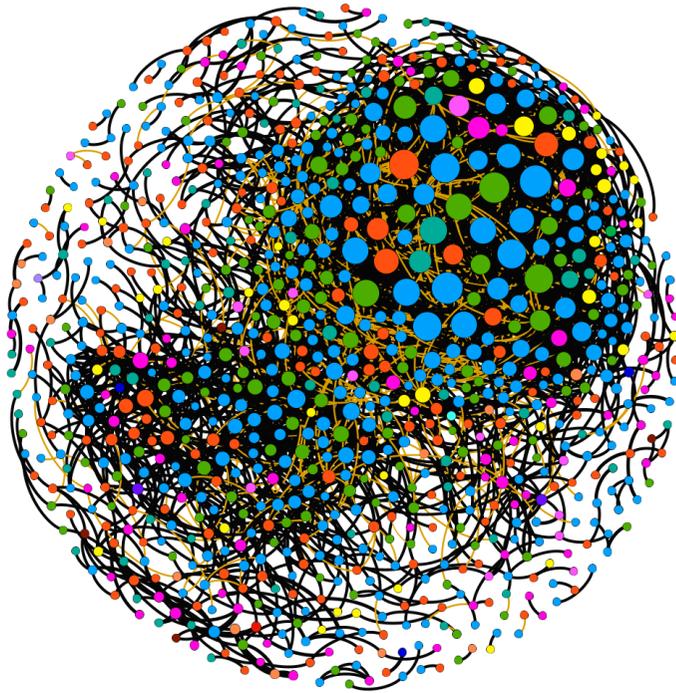
En las redes de la semilla híbrida, las OTUs que se identificaron con el mayor número de conexiones en la humedad baja pertenecen a filios no asignados (125 y 103) y al *phylum* Acidobacteria (100) (**Figura 8C**). En la humedad media solamente se identificaron a filios no asignados (46, 42, 40) (**Figura 8D**), sin embargo, los valores en esta humedad son inferiores si se comparan con las demás redes (**Tabla 5**). Las OTUs con los valores de centralidad de grado más altos en todas las redes corresponden a OTUs sin *phylum* asignado (nodos color azul, **Figura 8**), lo cual está relacionado con la presencia de más OTUs sin asignación en las redes.

Semilla nativa

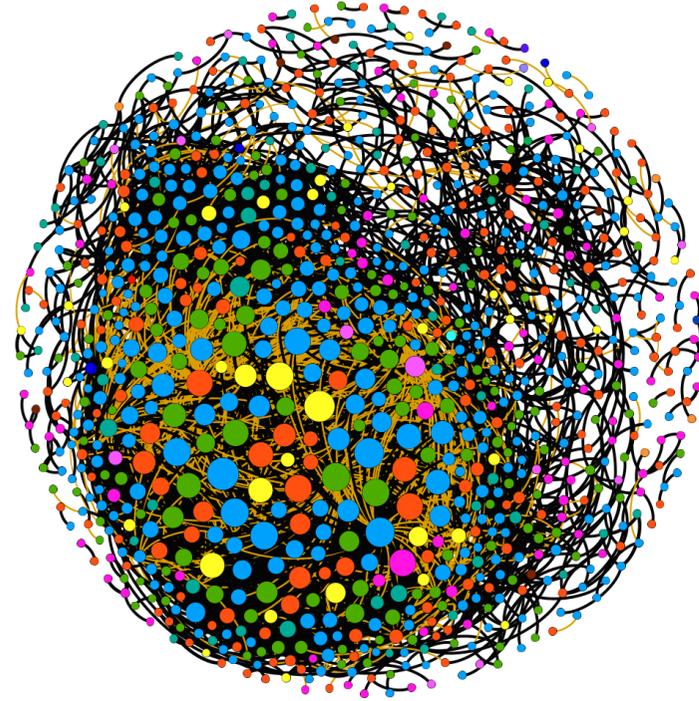
R1. Humedad baja

R2. Humedad media

A



B

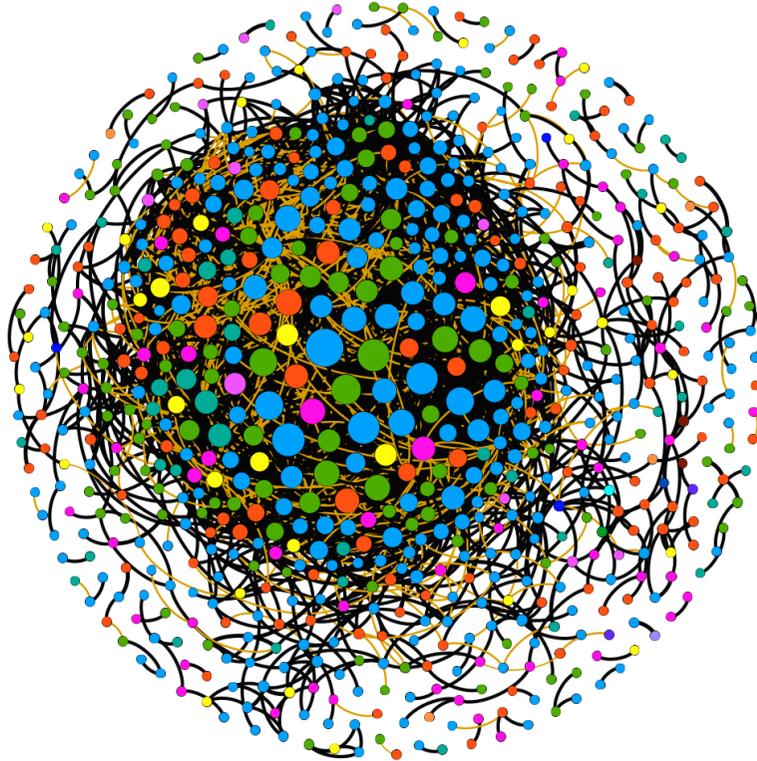


Semilla híbrida

R1. Humedad baja

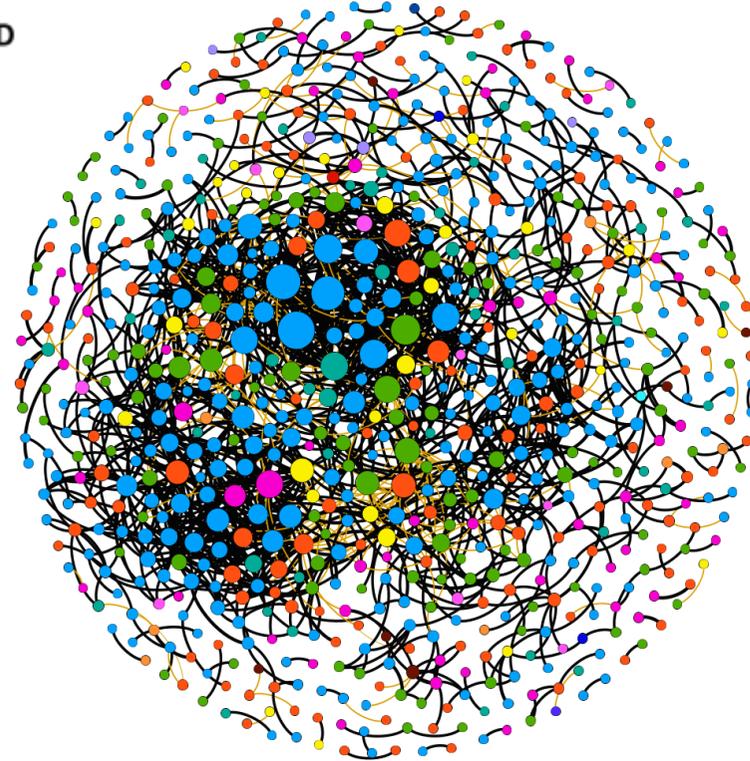
R2. Humedad media

C



● p_
● Acidobacteria

D



● p_
● Acidobacteria

Figura 8. Redes de co-ocurrencia y exclusión de comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera de plantas provenientes de semillas nativas e híbridas de maíz en dos regiones. Los nodos representan OTUs coloreadas a nivel de *phylum* y el tamaño de los nodos está dado por el parámetro topológico de centralidad de grado. Las aristas negras representan relaciones de co-presencia y las naranjas de exclusión mutua.

Las OTUs con mayores conexiones en la semilla nativa con humedad baja presentaron asociaciones con los filos Acidobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes y candidate division WPS-1 (WD2101 soil group, candidate division Wittenberg polluted soil 1 (Schoch et al., 2020)), pero los filos no asignados son los que presentaron mayor porcentaje de asociaciones. Respecto a la humedad media los filos identificados fueron menos, ya que no se encontró asociación con candidate division WPS-1 y los porcentajes de asociación con filos no asignados disminuyeron. En ambas humedades los filos bacterianos coinciden, debido a ello podemos decir que la semilla nativa se asocia a dichos filos bacterianos (Acidobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobia y Bacteroidetes) bajo cualquier humedad (**Tabla 4**).

Tabla 4. Valor de centralidad de grado más altos para cada OTU en las redes de co-ocurrencia y exclusión de las semillas nativas de maíz

Humedad baja			
<i>Phylum</i>	Centralidad de grado	Co-presencia	Exclusión mutua
p__ (OTU sin asignación) (OTU 1469)	80	p__ = 41.25% Acidobacteria= 16.25% Proteobacteria= 8.75% Actinobacteria= 6.25% Verrucomicrobia= 3.75% Bacteroidetes= 2.5% candidate division WPS-1= 2.5%	p__ = 8.75% Acidobacteria= 5% Actinobacteria= 2.5% Bacteroidetes= 1.25% Proteobacteria= 1.25%
Acidobacteria	75	p__ = 45.33%	p__ = 9.33%

(OTU 417)		Acidobacteria = 13.33% Proteobacteria = 9.33% Actinobacteria = 4% Verrucomicrobia = 4% Bacteroidetes = 2.67% candidate division WPS-1= 2.67%	Acidobacteria = 4% Actinobacteria = 2.67% Bacteroidetes = 1.33% Proteobacteria = 1.33%
Proteobacteria (OTU 1170)	72	p__ = 52.78% Acidobacteria = 15.28% Proteobacteria = 5.56% Actinobacteria = 5.56% Verrucomicrobia = 2.78% candidate division WPS-1= 1.38%	p__ = 8.33% Acidobacteria = 2.78% Actinobacteria = 2.78% Bacteroidetes = 1.38% Proteobacteria = 1.38%
Humedad media			
Phylum	Centralidad de grado	Co-presencia	Exclusión mutua
p__ (OTU sin asignación) (OTU 1552)	138	p__ = 20.29% Proteobacteria = 17.39% Acidobacteria = 13.04% Verrucomicrobia = 10.87% Bacteroidetes = 2.17% Actinobacteria = 1.45%	p__ = 13.77% Acidobacteria = 10.14% Bacteroidetes = 3.62% Actinobacteria = 2.9% candidate division WPS-1= 2.9 Proteobacteria = 1.45%
Verrucomicrobia (OTU 1384)	131	p__ = 25.19% Proteobacteria = 16.03% Acidobacteria = 13.74% Verrucomicrobia = 6.1% Bacteroidetes = 1.53%	p__ = 17.56% Acidobacteria = 13.74% candidate division WPS-1= 2.29% Proteobacteria = 1.53% Bacteroidetes = 1.53% Actinobacteria = 0.76%

La **Tabla 5** resume las asociaciones de las OTUs con mayor centralidad de grado en la semilla híbrida y nos permite observar que la humedad baja presentó asociaciones con Acidobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes, Verrucomicrobia y Actinobacteria, mientras que en la humedad media la OTU con el valor de centralidad de grado más alto se asoció con Proteobacteria, Actinobacteria y Acidobacteria. Al igual que en la semilla nativa, los filos no asignados

presentaron los valores más altos de centralidad de grado. Sin embargo, es importante señalar que, en esta semilla, a diferencia de en la nativa, se presentaron cambios en las asociaciones en la humedad, lo cual podría representar que esta semilla no tiene asociaciones establecidas con las comunidades bacterianas o es afectada por la humedad.

Tabla 5. Valor de centralidad de grado más altos para cada OTU en las redes de co-ocurrencia y exclusión de las semillas híbridas de maíz

Humedad baja			
Phylum	Centralidad de grado	Co-presencia	Exclusión mutua
p__ (OTU sin asignación) (OTU 1074)	125	p__ = 32.8% Acidobacteria= 19.2% Proteobacteria= 10.4% Bacteroidetes= 4% Verrucomicrobia= 2.4% Actinobacteria= 2.4%	p__ = 12% Acidobacteria= 7.2% Proteobacteria= 3.2% Verrucomicrobia= 3.2% Bacteroidetes= 1.6% Actinobacteria= 1.6%
Acidobacteria (OTU 145)	100	p__ = 45% Acidobacteria= 18% Proteobacteria= 11% Bacteroidetes= 4% Verrucomicrobia= 3% Actinobacteria= 3%	p__ = 9% Acidobacteria= 2% Proteobacteria= 2% Verrucomicrobia= 1% Actinobacteria= 1% candidate division WPS-1= 1%
Humedad media			
Phylum	Centralidad de grado	Co-presencia	Exclusión mutua
p__ (OTU sin asignación) (OTU 981)	46	p__ = 63.04% Proteobacteria= 8.7% Actinobacteria= 6.52% Acidobacteria= 4.35%	p__ = 6.52% Acidobacteria= 6.52% Proteobacteria= 2.17% Actinobacteria= 2.17%

Fuente: elaboración propia a partir de la herramienta *Analyze Network* en *Cytoscape*. En la humedad baja se excluyen las conexiones de una OTU sin *phylum* asignado y se muestran las correspondientes al *phylum* Acidobacteria.

4.7. La semilla nativa de maíz presenta más OTUs clave que la semilla híbrida

Se realizó un análisis para identificar a las OTUs clave basado en los parámetros topológicos de centralidad de grado y centralidad de intermediación. A partir de esta información y de las redes obtenidas previamente, observamos que las OTUs que obtuvieron los valores más altos de centralidad de grado concuerdan con aquellas OTUs que presentaron valores bajos de centralidad de intermediación, por lo cual, estas OTUs se consideran clave dentro de la comunidad bacteriana asociada a la rizosfera del maíz (**Figura A5**).

Dado que las OTUs clave y con más conexiones dentro de las redes corresponden principalmente a filios no asignados (p__), es importante mencionarlos. Los parámetros topológicos asociados a dichas OTUs nos indican que establecen asociaciones con otros filios bacterianos y que, por lo tanto, podrían realizar funciones relevantes dentro de la rizosfera del maíz en ambos tipos de semillas y humedades.

5. DISCUSIÓN

5.1. Las semillas nativas de maíz mantienen las asociaciones en las comunidades bacterianas de la rizosfera en regiones con diferente humedad

En México, debido a su diversidad de ambientes, el maíz se siembra en una gran variedad de regiones con suelos y climas muy variables (Kato *et al.*, 2009), condiciones que le permiten una constante adaptación (Olivo *et al.*, 2001; en Kato *et al.*, 2009). Aunque en esta investigación se evaluaron dos condiciones de humedad, es importante tener en cuenta que las semillas han surgido, se han transformado y continúan cambiando en condiciones ambientales y culturales muy distintas, producto de procesos complejos de coevolución entre los pueblos y la biodiversidad de los territorios que habitan (Peña-Sanabria *et al.*, 2020).

Las redes de co-ocurrencia y exclusión de la semilla nativa de maíz presentan mayor número de OTUs y asociaciones de co-presencia bajo los dos tipos de humedad, a diferencia de la semilla híbrida. El mayor número de asociaciones de co-presencia bajo humedades diferentes puede relacionarse con la amplia adaptación de las semillas nativas a una gama de entornos, lo cual es reflejo de su naturaleza heterogénea (Hellin *et al.*, 2014). Estas semillas se han cultivado bajo diversas condiciones ambientales, entre ellas, diferente humedad (Guevara-Hernández *et al.*, 2019).

El mayor número de OTUs y asociaciones de co-presencia se encontró en la red de humedad media y semilla nativa de maíz, lo cual concuerda con los requerimientos de humedad para este cultivo, ya que es preferible un ambiente moderadamente húmedo (Ruiz *et al.*, 2013). La relación de estos parámetros topológicos con la semilla nativa permite sugerir que al presentarse los requerimientos climáticos adecuados, las comunidades bacterianas tuvieron la capacidad de mantener sus asociaciones. Las semillas híbridas son desarrolladas en programas de mejoramiento en ambientes proveídos de nutrientes y humedad constantes, lo que se considera un ambiente óptimo para ellas (Brisson *et al.*, 2019) y los ambientes cambiantes podrían resultar estresantes para las plantas de maíz (Evans y Wallenstein, 2012; Tan *et al.*, 2020) e influir en las asociaciones que las bacterias tendrían por primera vez con la rizosfera.

Otro punto importante a considerar sobre las semillas híbridas es la fumigación durante su almacenamiento, ya que es necesario protegerlas de las plagas durante este paso. Una fumigación completa incluye el uso de insecticidas protectores del grano que se aplican de forma directa sobre las semillas o de forma indirecta sobre el exterior de los sacos. Además, el interior del almacén donde se guardarán las semillas debe rociarse para evitar que las plagas las re-infecten (MacRobert *et al.*, 2014). Las semillas que se van a fumigar deben

colocarse en un plástico herméticamente sellado (MacRobert *et al.*, 2014), por lo cual estas semillas llegan sin oxígeno a los lugares donde serán cultivadas. Esto es contrastante con las semillas nativas, ya que posterior a su secado y desgrane en la Troje (lugar donde se almacena la mazorca), se protegen del ataque de plagas y enfermedades usando productos químicos u orgánicos y a veces material inerte como ceniza. Para su envasado se usan principalmente costales o tambos de plástico y se guardan en los espacios destinados en las casas de las familias campesinas (SNICS, 2021). Lo anterior nos muestra las diferencias en el tratamiento de las semillas y cómo esto podría afectar la transmisión de microorganismos como las bacterias.

En la red de la semilla híbrida con humedad media hubo una disminución drástica en las relaciones de co-ocurrencia, lo cual podría deberse a que estas semillas son el resultado de muchas generaciones en ambientes con abundantes insumos externos (paquetes tecnológicos estandarizados con cantidades y concentraciones de fertilizantes, herbicidas, insecticidas) que podrían sustituir las necesidades que brindan las asociaciones microbianas a las semillas. El mejoramiento de cultivos y las prácticas agrícolas de altos insumos, como las requeridas en el cultivo de semillas híbridas, han contrarrestado los sistemas de comunicación mediante los cuales las plantas influyen en el comportamiento de los microorganismos y han resultado en una disminución de la diversidad de asociaciones benéficas de las plantas con los microorganismos, así como también han influenciado en una reducción en la capacidad de establecer asociaciones (Pérez-Jaramillo *et al.*, 2016; Mitter *et al.*, 2016).

En las redes de la semilla nativa observamos que las asociaciones se establecen porque estas semillas a diferencia de las híbridas, no son fumigadas y son almacenadas de maneras tradicionales por las familias campesinas. Por consiguiente, las bacterias pueden ser adquiridas durante el almacenamiento o

provenir del mismo campo donde fueron cosechadas las semillas y permanecer hasta el siguiente ciclo, ya que el componente microbiano de las semillas sanas parece heredarse entre generaciones de plantas (Mitter *et al.*, 2016). Algunos de los microorganismos presentes en la rizosfera son benéficos y juegan un papel vital en el funcionamiento general de las plantas (Mazzola, 2002; Sharma *et al.*, 2020), son esenciales en la metabolización o transformación de los nutrientes y producen fitohormonas que participan en su desarrollo (Vital-López *et al.*, 2015). También se ha sugerido que tienen un impacto significativo en el rendimiento o la salud de las plantas al promover el crecimiento, la tolerancia al estrés y la resistencia a patógenos (Singh y Goodwin, 2022; Sharma *et al.*, 2020). Esto nos permite señalar las funciones vitales que desempeñan los microorganismos del suelo tanto en ecosistemas naturales como en los agrícolas (FAO, 2015).

Los filos bacterianos identificados en las semillas nativas (**Tabla A1**) concuerdan con un estudio previo sobre las comunidades bacterianas en el suelo cercano a la rizosfera en milpas en Tlaxcala, México, donde se encontraron como filos más abundantes a Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Gemmatimonadetes, y Verrucomicrobia (Rebollar *et al.*, 2017). Los estudios de las comunidades bacterianas en la rizosfera de semillas híbridas han reportado que los filos más abundantes son Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes y Actinobacteria (Niu *et al.*, 2017; Gastélum y Rocha, 2020). En nuestros resultados se identificaron a otros filos y se observaron diferentes abundancias entre los dos tipos de semilla (**Tabla A2**), lo que muestra que existen diferencias entre las comunidades asociadas a maíz nativo e híbrido (Gastélum y Rocha, 2020).

Aunque en las cuatro redes de co-ocurrencia y exclusión no se encontraron diferencias significativas respecto al número de filos bacterianos, es importante

mencionar que en ambos tipos de semilla se observó la presencia o ausencia de asociación en determinados filos (**Figura 6**). Esto concuerda con la idea de que las plantas pueden transmitir microorganismos específicos de una generación a otra a partir de las semillas y así reclutar una microbiota central que participe en las asociaciones (Philippot *et al.*, 2013), o también seleccionar microorganismos que se muevan a los diferentes compartimentos de las plantas, como la rizosfera y formar asociaciones complejas con los cultivos (Cordovez *et al.*, 2019; Müller *et al.*, 2016; Xiong y Lu, 2022).

El reclutamiento de los microorganismos que formarán las asociaciones en la rizosfera de las plantas inicia con las semillas, las cuales contienen diversos microorganismos endofíticos que se heredan verticalmente de las plantas madre (Kong *et al.*, 2019; Santoyo, 2022; Rahman *et al.*, 2018). Una vez que la semillas germinan, las raíces entran en contacto con la microbiota del suelo, donde la secreción de exudados radiculares (compuestos orgánicos producidos durante la fotosíntesis) atrae por primera vez a diferentes microorganismos, promoviéndose el reclutamiento de microorganismos benéficos (Compant *et al.*, 2010; Santoyo, 2022). Estos microorganismos prosperan en asociación con las plantas y brindan protección contra los patógenos, estimulan su crecimiento y aptitud mediante la síntesis y excreción de compuestos de diverso origen y función (Hassan *et al.*, 2019; Haney *et al.*, 2015; Santoyo, 2022). Por lo tanto, los compuestos orgánicos influyen fundamentalmente en el reclutamiento gradual de los microorganismos en la rizosfera (Reinhold-Hurek *et al.*, 2015), donde la capacidad de una planta para reclutar microorganismos puede verse restringida por la microbiota nativa del suelo (Bakker *et al.*, 2015; en Santoyo, 2022).

5.2. La diversidad beta pero no la alfa de las comunidades bacterianas de la rizosfera presenta diferencias significativas entre las semillas de maíz

Los análisis más clásicos como los índices de diversidad y que fueron empleados en este trabajo permitieron observar que la diversidad beta se vio afectada entre las semillas nativas e híbridas, este resultado concuerda con un estudio previo donde se analizaron otras variables como diferentes compartimentos del suelo (rizosfera proximal y distal) y diferentes grupos de plantas (teocintle, endogámico e híbrido) (Brisson *et al.*, 2019). Independientemente de la separación por compartimentos y de los diferentes grupos genéticos analizados, es relevante señalar que el grupo genético tuvo efectos sobre la diversidad beta, lo cual podría sugerir un mayor impacto de la producción de semillas mejoradas sobre las comunidades bacterianas (Brisson *et al.*, 2019), ya que al ponerse en contacto con un ambiente distinto al de su concepción, las comunidades bacterianas cambiaron de acuerdo con las condiciones de humedad estudiadas aquí (humedad baja y media).

Por otro lado, el resultado arrojado sobre la diversidad alfa concuerda con el estudio de Rebollar y colaboradores (2017), donde tampoco encontraron diferencias significativas en esta estimación de diversidad (**Figura 4A y B**), por ello mencionan que si bien las estimaciones son útiles para describir comunidades, no siempre brindan información sobre las consecuencias de diferentes tratamientos/condiciones (Rebollar *et al.*, 2017). Por lo tanto, es importante tener en cuenta las limitaciones que se han asociado a estas estimaciones tradicionales. Debido a ello, en este trabajo se emplearon redes de co-ocurrencia y exclusión que permitieron obtener información complementaria (número de asociaciones significativas, la complejidad y estabilidad de las comunidades bacterianas y la identificación de OTUs clave) para evaluar la

influencia del origen de la semilla de maíz sobre la comunidad microbiana (Escolástico y Pérez, 2019).

5.3. La semilla nativa de maíz presenta las redes de co-ocurrencia y exclusión más complejas y estables

Es importante destacar que los resultados nos permiten observar cómo la complejidad de las redes, indicada por el número de OTUs y asociaciones, así como por la densidad tuvo cambios entre los dos tipos de semillas de maíz cultivadas en el municipio de Chiapas, evidenciando que las semillas híbridas presentaron diferencias significativas en la mayoría de los parámetros topológicos asociados a la descripción de las redes (**Tabla 3**). Esto también fue observado en el estudio de Brisson y colaboradores (2019), ya que sus resultados sugieren que el desarrollo de híbridos de maíz afecta significativamente las estructuras de la comunidad microbiana de la rizosfera.

Al considerar los valores de densidad y modularidad más altos, se observó que la semilla nativa mostró una mayor complejidad y estabilidad en comparación con la semilla híbrida, donde solo la humedad baja presentó un valor alto de densidad. Una mayor complejidad se interpreta como una actividad más intensa y por lo tanto, una red compleja sería más resistente en caso de perturbación debido a la incidencia de asociaciones (Elmqvist *et al.*, 2003; Tylianakis *et al.*, 2010; Karimi *et al.*, 2017), lo cual puede ser beneficioso para resistir el estrés de factores bióticos o abióticos (Marasco *et al.*, 2018; Ying *et al.*, 2022). Estos resultados concuerdan con la historia de manejo asociada a las semillas nativas, las cuales han sido adaptadas a condiciones ecológicas y climáticas muy diversas, propias de cada familia campesina.

Respecto a la estabilidad, es importante mencionar que esta mejora en arquitecturas compartimentadas y débilmente conectadas (Landi *et al.*, 2018),

asociadas a altos valores de modularidad como los encontrados en las redes de la semilla nativa (**Figura 7**). Esto permite sugerir que los compartimentos (módulos) podrían amortiguar la propagación de perturbaciones a través de la comunidad, debido a que dichos módulos se encuentran débilmente conectados a otros (Olesen *et al.*, 2007; Landi *et al.*, 2018). Los resultados aquí mostrados se inclinan a que las semillas nativas podrían brindarnos un panorama mejor ante las condiciones tan cambiantes que enfrentamos actualmente y que enfrentaremos en un futuro. Además, se debe tener en cuenta que la producción de semillas híbridas incluye muchos pasos, los cuales podrían ser afectados por cambios en el medio ambiente como la temperatura, la lluvia, el tipo de suelo, etc. (MacRobert *et al.*, 2014).

5.4. El tipo de semilla de maíz influye sobre la presencia de ciertos grupos bacterianos en la rizosfera

En las redes de co-ocurrencia y exclusión de la semilla nativa se observaron OTUs con mayor número de asociaciones, las cuales corresponden a filos bacterianos con preferencias de hábitat distintas. En la semilla nativa con humedad baja se identificó a Proteobacteria como grupo bacteriano copiotrófico, es decir, bacterias que prefieren ambientes ricos en nutrientes (Fierer *et al.*, 2017). En la humedad media se presentó Verrucomicrobia, filo considerado oligotrófico porque prefiere bajos requerimientos en nutrientes (Rebollar *et al.*, 2017), mientras que, la OTU con más asociaciones en la semilla híbrida con humedad baja pertenece a Acidobacteria, un filo bacteriano oligotrófico (Rebollar *et al.*, 2017).

La relevancia de Proteobacteria en la semilla nativa con humedad baja se debe a que son taxones muy heterogéneos desde el punto de vista metabólico, morfológico y ecológico (Kersters *et al.*, 2006), por lo cual, dicha diversidad y heterogeneidad pudo intervenir en las asociaciones en este tipo de semilla de

maíz. Por otro lado, se sabe que Verrucomicrobia se distribuye ampliamente en una variedad de tipos de hábitat (Nixon *et al.*, 2019) y se sugiere que se comportan como estrategias k, con bajas tasas de crecimiento y alta afinidad por los sustratos de nutrientes (Navarrete *et al.*, 2015). La importancia de este *phylum* en la semilla nativa se encuentra respaldada por un estudio realizado por Aguirre-von-Wobeser *et al.* (2018), donde observaron el enriquecimiento de Verrucomicrobia en el suelo adyacente a las raíces del maíz, lo cual refleja la selección de estas bacterias del conjunto microbiano presente en el suelo de la milpa. También mencionan que es posible que Verrucomicrobia haya evolucionado junto con el maíz durante cientos de años.

Por otra parte, el *phylum* Acidobacteria, presente en los dos tipos de semillas en la humedad baja, es uno de los más grandes y abundantes del suelo, además, es filogenéticamente distinto y alberga diversas fisiologías (Kielak *et al.*, 2016; Giguere *et al.*, 2021). Estas bacterias cuentan con mecanismos de tolerancia al estrés como la inanición, que les permiten superar las condiciones ambientales oligotróficas (Kalam *et al.*, 2020). Debido a ello, es un grupo bacteriano que puede asociarse a ambos tipos de semillas de maíz, tal y como se observó en los resultados. Además, está relacionado con servicios ecológicos como la descomposición de la materia orgánica y la desnitrificación, los cuales contribuyen con la estabilidad del carbono (Banerjee *et al.*, 2018; Kalam *et al.*, 2020).

Cabe mencionar que se presenta información sobre estos filios porque son aquellos que se encuentran asignados. Sin embargo, es importante reconocer el papel de los filios no asignados, considerados como “materia oscura microbiana”, ya que en los análisis de las redes de co-ocurrencia y exclusión fueron los que presentaron el mayor porcentaje de asociaciones y se identificaron como OTUs con mayor número de conexiones. Zamkovaya y colaboradores (2021)

observaron que al excluir los fillos no asignados de las redes se generaron cambios drásticos en su estructura, por lo que mencionan que esto ejemplifica la importancia de los taxones desconocidos en el establecimiento de relaciones de co-ocurrencia y en el mantenimiento de la forma general de la red dentro de cada comunidad.

5.5. Las semillas nativas son importantes para la conservación de la agrobiodiversidad y el conocimiento asociado a su manejo

Se observó que la semilla nativa se relacionó con los parámetros topológicos que indican mayor complejidad y estabilidad (**Tabla 3, Figuras 7A y B**), además presentó más OTUs que participaron en un mayor número de relaciones de co-ocurrencia (co-presencias) (**Tabla 3, Figuras 6A y B**). Esto sugiere que las semillas nativas presentan características únicas que permiten la conservación de la agrobiodiversidad a largo plazo, ya que los parámetros antes mencionados indican que existe una menor probabilidad de que una perturbación genere un impacto realmente negativo dentro de las redes de este tipo de semilla. Además, cada elemento en las redes tiene un papel distinto y algunos elementos van a importar más que otros ante algún daño o remoción. Por lo tanto, las semillas nativas se consideran un medio a través del cual se conserva la diversidad genética y son una fuente de genes que permiten su adaptación en ambientes adversos (SNICS, 2021). Estas semillas también mantienen el conocimiento asociado a su manejo porque durante su selección se toma en cuenta la productividad y el uso de los alimentos preparados en cada región, los cuales cambian de acuerdo con las necesidades, cultura y tradiciones (Lozada-Aranda *et al.*, 2018; Gastélum y Rocha, 2020).

La conservación de la agrobiodiversidad es vital para el presente y futuro de la agricultura en un contexto de cambios cada vez menos predecibles, sin embargo, dicha conservación se ve afectada por la pérdida de las variedades de

los cultivos debido a la acelerada sustitución de variedades nativas por variedades mejoradas (FAO, 2016; en Casas, 2019). Esto ocurre en el estado de Chiapas, ya que actualmente se presenta la problemática relacionada con el reemplazo de semillas nativas por semillas híbridas, lo cual podría dificultar su conservación. Por ello es de suma importancia abordar los principales factores que intervienen en el mantenimiento de la agrobiodiversidad en este cultivo tan importante.

De acuerdo con Casas (2019), un paso crucial para planear la conservación (*in situ* o *ex situ*) de la agrobiodiversidad es caracterizar sus funciones ecológicas y su importancia cultural en los sistemas socioecológicos en los que se encuentra inmersa e identificar los riesgos y factores que amenazan su permanencia. Por lo tanto, continuar con el cultivo de semillas nativas de maíz en estados donde su producción es importante tendrá un papel primordial en la conservación de la agrobiodiversidad. Al conservar las semillas se mantendrá la capacidad potencial de continuar generando mayor diversidad (Casas, 2019).

Este trabajo incluye la interacción de componentes importantes que forman parte de la agrobiodiversidad, empezando por las comunidades de bacterias asociadas a la rizosfera de plantas provenientes de dos tipos de semillas de maíz, donde una semilla se ha cultivado durante años bajo prácticas realizadas por familias campesinas de dos regiones. Los resultados sugieren que sin el cultivo de semillas nativas de maíz se perdería un componente importante de la diversidad biológica, así como el conocimiento de distintos grupos que han participado en su cultivo. Además, el maíz es parte de la vida diaria de los campesinos, de su organización y tejido social, pues familias enteras intervienen en la siembra, cuidado y cosecha de este cereal (Salcedo *et al.*, 2014; Santillán, 2014; Gastélum y Rocha, 2020).

6. CONCLUSIONES

El análisis de las comunidades bacterianas de la rizosfera de plantas provenientes de semillas nativas e híbridas mediante redes de co-ocurrencia y exclusión permitió identificar que sí existen diferencias entre las semillas de maíz en dos regiones del municipio de Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas. Por lo tanto, los resultados obtenidos permiten aceptar la hipótesis alternativa, en la cual se planteó que el genotipo y la historia de las semillas de maíz son factores importantes que generan diferencias en las asociaciones de las comunidades bacterianas. Las semillas de maíz que se han desarrollado en un contexto ambiental local, han heredado y mantenido una comunidad bacteriana diferente a la que se asocia a semillas que se cultivan por primera vez y bajo condiciones ambientales adversas, distintas a las de su concepción.

En esta investigación se realizaron análisis de diversidad alfa y beta, lo cual permitió cumplir el objetivo particular 1, ya que se describió la diversidad de las comunidades bacterianas de la rizosfera. Aunque los análisis de diversidad alfa no señalaron diferencias significativas, los análisis de diversidad beta nos dieron indicios de que la semilla híbrida con humedad media presenta diferencias significativas en la composición de las comunidades bacterianas con respecto a la comunidad de la región con humedad baja. Esto nos indicó que emplear las redes de co-ocurrencia y exclusión fue un método adecuado para analizar la influencia del origen de la semilla de maíz, cumpliéndose el objetivo general, así como el objetivo particular 2, ya que al comparar las redes de co-ocurrencia y exclusión con ayuda de los parámetros topológicos, se encontró que la semilla nativa fue la que presentó las comunidades bacterianas más estables y complejas en ambas humedades.

A partir de los resultados aquí mostrados y de la información revisada en la literatura se cumplió el objetivo particular 3, ya que se logró destacar la

importancia de las semillas nativas en la conservación de la agrobiodiversidad, así como el conocimiento asociado a estas semillas. Señalamos que las semillas nativas presentan características únicas que permitirán la conservación de la agrobiodiversidad a largo plazo, junto con los conocimientos que cada familia campesina ha transmitido de generación en generación y que han originado una mayor diversidad debido al desarrollo de las semillas en un contexto ambiental local.

7. PERSPECTIVAS

Sería interesante que en un futuro se continúe con el monitoreo de las comunidades bacterianas asociadas a las semillas nativas e híbridas de maíz en este municipio de Chiapas, con la finalidad de contar con muestreos que nos permitan analizar la situación actual de estos tipos de semillas. Los datos empleados en este trabajo de investigación son parte de un proyecto realizado en el año 2019, por lo que un nuevo muestreo nos permitiría tener un panorama más amplio sobre cómo ha avanzado el reemplazo de semillas nativas por híbridas y las implicaciones que esto tendría sobre la agrobiodiversidad asociada.

El uso de redes de co-ocurrencia y exclusión en este trabajo de investigación y en otros estudios ha demostrado que este método será importante para continuar con estudios que tengan como objetivo analizar cómo las comunidades microbianas se reúnen y responden ante los cambios presentes en su entorno, donde los estudios de diversidad tradicionales presentan limitaciones porque ignoran los patrones de co-ocurrencia existentes.

Por otro lado, sería importante tener en cuenta el papel de los filotaxones no asignados en estudios posteriores, ya que estudios previos y los resultados aquí mostrados reportan que estos filotaxones podrían desempeñar funciones ecológicas

relevantes, que generalmente se dejan sin explorar porque la mayoría de los análisis se enfocan en los taxones conocidos.

Finalmente, sería relevante compartir los resultados obtenidos con los habitantes del municipio de Ocozocoautla de Espinosa y de esa manera comunicarles la importancia de sus bacterias en el cultivo de maíz, ya que ellos y ellas han contribuido durante años a la conservación de la agrobiodiversidad a través de sus conocimientos y prácticas. Una de las principales ideas para compartir esta información es hacer una carta dirigida a los niños y niñas de Ocozocoautla de Espinosa porque en un futuro ellos y ellas serán quienes continúen con el cultivo de este cereal tan importante.

8. REFERENCIAS

1. Aderem, A. (2005). Systems biology: its practice and challenges. *Cell*, 121(4), 511-513.
2. Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios. (2018). Maíz grano cultivo representativo de México. <https://www.gob.mx/aserca/articulos/maiz-grano-cultivo-representativo-de-mexico?idiom=es>
3. Aguilar, J., Illsley, C. y Marielle, C. (2003). Los sistemas agrícolas de maíz y sus procesos técnicos. Sin maíz no hay país, 83-12.
4. Aguirre-von-Wobeser, E., Rocha-Estrada, J., Shapiro, L. y de la Torre, M. (2018). Enrichment of Verrucomicrobia, Actinobacteria and Burkholderiales drives selection of bacterial community from soil by maize roots in a traditional milpa agroecosystem. *PLoS One*, 13(12), e0208852. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208852>
5. Arrobo, J. (2017). *La certificación de semillas y su impacto en la agrobiodiversidad, y en la agricultura indígena y campesina*. Tesis de licenciatura. Universidad Politécnica Salesiana, Sede Quito, Quito, 75 pp. <https://bit.ly/3axxPEE>
6. Assenov, Y., Ramírez, F., Schelhor, S., Lengauer, T. y Albrecht M. (2008). Computing topological parameters of biological networks. *Bioinformatics*. 24(2):282-4. doi: 10.1093/bioinformatics/btm554
7. Bakker, M., Chaparro, J., Manter, D. y Vivanco, J. (2015). Impacts of bulk soil microbial community structure on rhizosphere microbiomes of *Zea mays*. *Plant and Soil*, 392, 115-126.
8. Banerjee, S., Schlaeppi, K. y van der Heijden, M. (2018). Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning. *Nature Reviews Microbiology*, 16(9), 567-576. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0024-1>

9. Barberán, A., Bates, S., Casamayor, E. y Fierer, N. (2012). Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities. *ISME J* 6, 343–351 (2012). <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.119>
10. Barner, A., Coblentz, K., Hacker, S. y Menge, B. (2018). Fundamental contradictions among observational and experimental estimates of non-trophic species interactions. *Ecology*, 99(3), 557–566. doi:10.1002/ecy.2133
11. Bascompte, J. (2009). Disentangling the web of life. *Science*, 325(5939), 416-419.
12. Bastian M., Heymann S. y Jacomy M. (2009). Gephi: an open source software for exploring and manipulating networks. International AAAI Conference on Weblogs and Social Media. <https://gephi.org/>
13. Bellon, M. y Hellin, J. (2011). Planting Hybrids, Keeping Landraces: Agricultural Modernization and Tradition Among Small-Scale Maize Farmers in Chiapas, Mexico. *World Development* 39(8), pp. 1434-1443. 10.1016/j.worlddev.2010.12.010
14. Bellon, M., Mastretta-Yanes, A., Ponce-Mendoza, A., Ortiz-Santamaría, D., Oliveros-Galindo, O., Perales, H., Acevedo, F. y Sarukhán, J. (2018). Evolutionary and food supply implications of ongoing maize domestication by Mexican campesinos. *Proceedings of the Royal Society B*, 285(1885), 20181049.
15. Bellon, M., Mastretta-Yanes, A., Ponce-Mendoza, A., Ortiz-Santa María, D., Oliveros-Galindo, O., Perales, H., Acevedo, F. y Sarukhán, J. (2021). Beyond subsistence: the aggregate contribution of campesinos to the supply and conservation of native maize across Mexico. *Food Security*, 13(1), 39–53. doi:10.1007/s12571-020-01134-8
16. Berry, D. y Widder, S. (2014). Deciphering microbial interactions and detecting keystone species with co-occurrence networks. *Frontiers in microbiology*, 5, 219. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00219>

17. Blondel, V., Guillaume, J., Lambiotte, R. y Lefebvre, E. (2008). Fast unfolding of communities in large networks. *Journal of statistical mechanics: theory and experiment* (10), P10008. DOI:10.1088/1742-5468/2008/10/P10008
18. Bouchez, T., Blieux, A., Dequiedt, S., Domaizon, I., Dufresne, A., Ferreira, S. y Ranjard, L. (2016). Molecular microbiology methods for environmental diagnosis. *Environmental Chemistry Letters*, 14(4), 423-441. DOI:10.1007/s10311-016-0581-3
19. Bravo, E. (2014). En el laberinto de las semillas hortícolas: Una visión desde la ecología política. Quito: Abya Yala-Universidad Politécnica Salesiana. https://www.researchgate.net/publication/281150699_En_el_laberinto_de_las_semillas_horticolas_Una_vision_desde_la_Ecologia_Politica
20. Brisson, V., Schmidt, J., Northen, T., Vogel, J. y Gaudin, A. (2019). Impacts of maize domestication and breeding on rhizosphere microbial community recruitment from a nutrient depleted agricultural soil. *Scientific reports*, 9(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52148-y>
21. Casas, A. (2019). Semillas de agrobiodiversidad. *Agrobiodiversidad y semillas en la agricultura familiar campesina*, 35(2), 5. <http://www.leisa-al.org/web/images/stories/revistapdf/vol35n2.pdf>
22. Casanova, L., Martínez, J., López, S. y Rosales, V. (2019). Mercantilización del maíz en un contexto político y de cambio climático en el trópico subhúmedo mexicano. *Cuadernos de Desarrollo Rural*, vol. 16, núm. 83. <https://bit.ly/3mzHjkY>
23. Compant, S., Clément, C. y Sessitsch, A. (2010). Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and*

Biochemistry, 42(5), 669-678.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.024>

24. Compant, S., Samad, A., Faist, H. y Sessitsch, A. (2019). A review on the plant microbiome: ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *Journal of advanced research*, 19, 29-37
25. CONABIO. (2016). La milpa. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Cd. de México. México. Recuperado de <https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/sistemas-productivos/milpa>
26. CONABIO. (2020). Razas de maíz de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Cd. de México. México. Recuperado de <https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/maices/razas-de-maiz>.
27. CONABIO. (2020). Maíces. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Cd. de México. México. Recuperado de <https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/maices>.
28. CONACyT. (2022). Manejo ecológico integral de arvenses en Mexico. Gaceta informativa Número 15. Recuperado de https://conahcyt.mx/wp-content/uploads/publicaciones_conacyt/boletines_tematicos/MEIA_15_Policultivo_anua.pdf
29. Consorcio Cytoscape. (2001-2018). Instituto Nacional de Ciencias Médicas Generales de los Estados Unidos. *Cytoscape*. <https://cytoscape.org/>
30. Cordovez, V., Dini-Andreote, F., Carrión, V. y Raaijmakers, J. (2019). Ecology and evolution of plant microbiomes. *Annu. Rev. Microbiol*, 73(1), 69-88. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090817-062524>

31. Cortés-López, N., Ordóñez-Baquera, P. y Domínguez-Viveros, J. (2020). Herramientas moleculares utilizadas para el análisis metagenómico. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 11(4), 1150-1173.
32. Cuevas, J. (2014). Maíz: Alimento fundamental en las tradiciones y costumbres mexicanas. *PASOS. Revista de Turismo y Patrimonio Cultural*, vol. 12, núm. 2. Universidad de La Laguna. El Sauzal (Tenerife), España. <https://bit.ly/39KjClv>
33. de la Rosa, C. y Salazar, M. (2022). La Revolución Verde y la soberanía alimentaria como contrapropuesta. *Veredas. Revista del Pensamiento Sociológico*, (42), 105-131.
34. DeBruyn, J., Nixon, L., Fawaz, M., Johnson, A. y Radosevich, M. (2011). Global biogeography and quantitative seasonal dynamics of Gemmatimonadetes in soil. *Applied and environmental microbiology*, 77(17), 6295-6300. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.05005-11>
35. Delgado, F., Guevara, F. y Acosta, R. (2018). Criterios campesinos para la selección de maíz (*Zea mays* L.) en Villaflores y Villa Corzo, Chiapas, México. *Ciencia UAT*. 13(1). <https://bit.ly/34arb30>
36. Delitte, M., Caulier, S., Bragard, C. y Desoignies, N. (2021). Plant microbiota beyond farming practices: A review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 624203.
37. Eakin, H., Perales, H., Appendini, K. y Sweeney, S. (2014). Selling Maize in Mexico: The Persistence of Peasant Farming in an Era of Global Markets. *Development and Change*, 45(1), 133–155. doi:10.1111/dech.12074
38. Edwards, J., Johnson, C., Santos-Medellin, C., Lurie, E., Podishetty, N., Bhatnagar, S., Eisen, J. y Sundaresan, V. (2015). Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112:E911-E920. <https://doi.org/10.1073/pnas.1414592112>
39. Elmqvist, T., Folke, C., Nyström, M., Peterson, G., Bengtsson, J., Walker, B. y Norberg, J. (2003). Response diversity, ecosystem change, and

- resilience. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 1(9), 488-494.
<https://doi.org/10.1890/1540-9295>
40. Erickson, L. y Atnaseo, C. (2011). Transgenic Crops with Producer-Oriented Traits: Development, Application, and Impact. *Comprehensive Biotechnology (Second Edition)*, Vol. 4.
41. Escolástico, C. y Pérez, J. (2019). La actividad agrícola afecta a las interacciones de la comunidad microbiana del suelo. *Revista 100cias, vida científica* N.º12, ISSN: 1989-7189.
http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:revista100cias-2019-12-7120/NOVEDADES_CIENTIFICAS_En_Ciencias_Ambientales.pdf
42. Evans, S. y Wallenstein, M. (2012). Soil microbial community response to drying and rewetting stress: does historical precipitation regime matter?. *Biogeochemistry*, 109(1), 101-116.
<https://doi.org/10.1007/s10533-011-9638-3>
43. Faust, K., Sathirapongsasuti, J., Izard, J., Segata, N., Gevers, D., Raes, J. y Huttenhower, C. (2012). Microbial Co-occurrence Relationships in the Human Microbiome. *PLoS Comput Biol* 8(7): e1002606.
<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002606>
44. Faust, K. y Raes, J. (2016). CoNet app: inference of biological association networks using Cytoscape [version 2; peer review: 2 approved]. *F1000Research* 2016, 5:1519. <https://bit.ly/2ZOoJwH>
45. Favila, N., Madrigal-Trejo, D., Legorreta, D., Sánchez-Pérez, J., Espinosa-Asuar, L., Eguiarte, L. y Souza, V. (2022). MicNet toolbox: Visualizing and unraveling a microbial network. *Plos one*, 17(6), e0259756.
46. Fierer, N., Bradford, M. y Jackson, R. (2007). Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 88(6), 1354-1364.
<https://doi.org/10.1890/05-1839>

47. Fierer, N. (2017). Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nat Rev Microbiol* 15, 579–590. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.87>
48. Fitter, A., Gilligan, C., Hollingworth, K., Kleczkowski, A., Twyman, R., Pitchford, J. y Members of the Nerc Soil Biodiversity Programme. (2005). Biodiversity and ecosystem function in soil. *Functional Ecology*, 19(3), 369-377. <https://doi.org/10.1111/j.0269-8463.2005.00969.x>
49. Galindo, C. (2013). Maíces mexicanos [Cartel]. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Recuperado de https://bioteca.biodiversidad.gob.mx/janium-bin/janium_zui.pl?jzd=/janium/Documentos/ETAPA01/AP/Maices_2013/d.jzd&fn=6775
50. Garza, D. (2021). Análisis de diversidad de la microbiota del polen corbicular y del pan de abeja de *Apis mellifera* en condiciones subtropicales de Yucatán. Tesis de maestría, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.
51. Gastélum, G. y Rocha, J. (2020). La milpa como modelo para el estudio de la microbiodiversidad e interacciones planta-bacteria. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23(1), 1-13. DOI: 10.22201/fesz.23958723e.2020.0.254
52. Giguere, A., Eichorst, S., Meier, D., Herbold, C., Richter, A., Greening, C. y Woebken, D. (2021). Acidobacteria are active and abundant members of diverse atmospheric H₂-oxidizing communities detected in temperate soils. *The ISME journal*, 15(2), 363-376. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00750-8>
53. Goberna, M. y Verdú, M. (2022). Cautionary notes on the use of co-occurrence networks in soil ecology. *Soil Biology and Biochemistry*, 166, 108534. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108534>
54. Gomes, E., Lana, U., Quensen, J., de Sousa, S., Oliveira, C., Guo, J., Guimarães, L. y Tiedje, J. (2018). Root-Associated Microbiome of Maize

- Genotypes with Contrasting Phosphorus Use Efficiency. *APS Publications*, Vol.2, No.3. <https://bit.ly/3pkxVn1>
55. Gómez, E. (2015). Maíz, milpa, milperos y agricultura campesina en Chiapas. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. México. pág. 69. <https://bit.ly/3mx7j0t>
56. Gómez, E. (2019). Mejoramiento del maíz nativo para autoconsumo. En Barradas, P., Cuevas, V. y Baca, J. Guías técnicas para el desarrollo agropecuario. Universidad Autónoma Chapingo. México. pág. 49. <https://bit.ly/3gSIDOR>
57. Gómez, B. y Guerrero, A. (s.f.). Biología computacional: Metagenómica 16S/18S. <https://sites.google.com/a/ciad.mx/bioinformatica/home?authuser=0>
58. González, C. (2023). Evolution of the concept of ecological integrity and its study through networks. *Ecological Modelling*, 476, 110224. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2022.110224>
59. Grilli, J., Rogers, T. y Allesina, S. (2016). Modularity and stability in ecological communities. *Nature communications*, 7(1), 12031.
60. Gross, K. (2008). Positive interactions among competitors can produce species-rich communities. *Ecology letters*, 11(9), 929-936. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2008.01204.x
61. Guevara-Hernández, F., Hernández-Ramos, M., Basterrechea-Bermejo, J., Pinto-Ruiz, R., Venegas-Venegas, J., Rodríguez-Larramendi, L. y Cadena-Iñiguez, P. (2019). Maíces locales; una contextualización de identidad tradicional. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, 51(1), 369-381.
62. Guseva, K., Darcy, S., Simon, E., Alteio, L., Montesinos-Navarro, A. y Kaiser, C. (2022). From diversity to complexity: Microbial networks in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 169, 108604. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108604>

63. Guzmán, S. (2017). Los microbios y la ecología. Revista ciencia, volumen 68, número 2. Recuperado de https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/68_2/PDF/MicrobiosEcologia.pdf
64. Haney, C., Samuel, B., Bush, J. y Ausubel, F. (2015). Associations with rhizosphere bacteria can confer an adaptive advantage to plants. *Nature plants*, 1(6), 1-9.
65. Hardoim, P., Hardoim, C., Van Overbeek, L. y Van Elsas, J. (2012). Dynamics of seed-borne rice endophytes on early plant growth stages. *PloS one*, 7(2).
66. Hassan, M., McInroy, J. y Kloepper, J. (2019). The interactions of rhizodeposits with plant growth-promoting rhizobacteria in the rhizosphere: a review. *Agriculture*, 9(7), 142. <https://doi.org/10.3390/agriculture9070142>
67. Hellin, J., Bellon, M. y Hearne, S. (2014). Maize landraces and adaptation to climate change in Mexico. *Journal of Crop Improvement*, 28(4), 484-501.
68. Hernández, M., Quijada, N., Rodríguez-Lázaro, D. y Eiros, J. (2020). Aplicación de la secuenciación masiva y la bioinformática al diagnóstico microbiológico clínico. *Revista argentina de microbiología*, 52(2), 150-161.
69. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (s.f.). Espacio y datos de México. <https://www.inegi.org.mx/app/mapa/espacioydatos/?t=2>
70. ISME Latin America. (2019). Redes de co-ocurrencia de microorganismos. Centro de Bioinformática y Biología Integrativa, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile. <https://bit.ly/3o0vea4>
71. Jaffe, S. y Srivastava, J. (1994). The Roles of the Private and Public Sectors in Enhancing the Performance of Seed Systems. *The World Bank Research Observer* 9(1): 97-117. DOI:10.1093/wbro/9.1.97

72. JMP Statistical Discovery. (2023). Diagrama de caja. https://www.jmp.com/es_mx/statistics-knowledge-portal/exploratory-data-analysis/box-plot.html
73. Kalam, S., Basu, A., Ahmad, I., Sayyed, R., El-Enshasy, H., Dailin, D. y Suriani, N. (2020). Recent understanding of soil acidobacteria and their ecological significance: a critical review. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 580024. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.580024>
74. Karimi, B., Maron, P., Chemidlin-Prevost Boure, N., Bernard, N., Gilbert, D. y Ranjard, L. (2017). Microbial diversity and ecological networks as indicators of environmental quality. *Environmental Chemistry Letters*, *15*(2), 265-281. DOI:10.1007/s10311-017-0614-6
75. Kato, T., Mapes, C., Mera, L., Serratos, J. y Bye, R. (2009). Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, DF, 116.
76. Khan, M., Bohannan, B., Nüsslein, K., Tiedje, J., Tringe, S., Parlade, E., Barberán, A. y Rodrigues, J. (2019). Deforestation impacts network co-occurrence patterns of microbial communities in Amazon soils. *FEMS microbiology ecology*, *95*(2), fiy230. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy230>
77. Kersters, K., De Vos, P., Gillis, M., Swings, J., Vandamme, P. y Stackebrandt, E. (2006). Introduction to the Proteobacteria. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K., Stackebrandt, E. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/0-387-30745-1_1
78. Kielak, A., Barreto, C., Kowalchuk, G., Van Veen, J. y Kuramae, E. (2016). The ecology of Acidobacteria: moving beyond genes and genomes. *Frontiers in microbiology*, *7*, 744. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00744>

79. Kong, H., Song, G. y Ryu, C. (2019). Inheritance of seed and rhizosphere microbial communities through plant–soil feedback and soil memory. *Environmental microbiology reports*, 11(4), 479-486. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12760>
80. Landi, P., Minoarivelo, H., Brännström, Å., Hui, C. y Dieckmann, U. (2018). Complexity and Stability of Adaptive Ecological Networks: A Survey of the Theory in Community Ecology. *Systems Analysis Approach for Complex Global Challenges*, 209–248. doi:10.1007/978-3-319-71486-8_12
81. Landi, P., Minoarivelo, H., Brännström, Å., Hui, C. y Dieckmann, U. (2018). Complexity and stability of ecological networks: a review of the theory. *Population Ecology*, 60, 319-345. <https://doi.org/10.1007/s10144-018-0628-3>
82. Lazos, E. y Chauvet, M. (2012). Análisis del contexto social y biocultural de las colectas de maíces nativos en México. *Proyecto Global de Maíces, Informe de Gestión, CONABIO*.
83. Liebman, M. (1999). Sistemas de policultivos. En Miguel A. Altieri, *Agroecología: Bases científicas para una agricultura sustentable* (pp. 191-202). Montevideo: Nordan Comunidad.
84. Liu, Y., Zuo, S., Xu, L., Zou, Y. y Song, W. (2012). Study on diversity of endophytic bacterial communities in seeds of hybrid maize and their parental lines. *Arch Microbiol* 194, 1001–1012. <https://doi.org/10.1007/s00203-012-0836-8>
85. López, P. (2018). Cultivo de maíz en Chiapas. Centro de Estudios para el Cambio en el Campo Mexicano. <https://www.ceccam.org/taxonomy/term/19>
86. Lozada-Aranda, M., Yanes, A., Ponce-Mendoza, A., Burgeff, C., Orjuela, M. y Galindo., O. (2018). Milpas de México. *Oikos*, 9, 10-12.
87. Ma, B., Wang, H., Dsouza, M., Lou, J., He, Y., Dai, Z., Brookes, P., Xu, J. y Gilbert, J. (2016). Geographic patterns of co-occurrence network

- topological features for soil microbiota at continental scale in eastern China. *ISME J* 10, 1891–1901. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.261>
88. MacRobert, J., Setimela, P., Gethi, J. y Worku, M. (2014). Manual de producción de semilla de maíz híbrido. México, D.F.: CIMMYT.
89. Marasco, R., Rolli, E., Fusi, M., Michoud, G. y Daffonchio, D. (2018). Grapevine rootstocks shape underground bacterial microbiome and networking but not potential functionality. *Microbiome*, 6(1). doi:10.1186/s40168-017-0391-2
90. Martínez-Castro, C., Ríos-Castillo, M. y Castillo-Leal, M. (2019). La revolución verde y sus consecuencias socioeconómicas en la agricultura mexicana. *Ra Ximhai: revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*, 15(2), 101-116.
91. Mastretta-Yanes, A., Gálvez, N., Wegier, A., Cibrián, A., Ruíz, A., von Wettberg, A. y Chen, Y. (En preparación). Maize agronomic systems structure agrobiodiversity in the center of crop origin.
92. Mastretta-Yanes, A. GitHub: Gund_metabarcoding/data/phyloseq/16s. https://github.com/AliciaMstt/Gund_metabarcoding
93. May, R. (1974). Stability and complexity in model ecosystems (Vol. 1). Princeton university press.
94. Mazzola, M. (2002). Mechanisms of natural soil suppressiveness to soilborne diseases. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81(1/4), 557–564. doi:10.1023/a:1020557523557
95. McAndrew, N. (2001). Coordinating Regional Mechanisms for Facilitating Collaboration and Exchange of Expertise Among Stakeholders Dealing with Seed Production in Latin America and the Caribbean, in Seed Policy and Programmes in Latin America and the Caribbean. En Seed policy and programmes in Latin America and the Caribbean. FAO.
96. McMurdie, P. y Holmes, S. (2013). phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census

- data. PLoS one, 8(4), e61217.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
97. Minitab Statistical Software. (2023). Interpretar los resultados clave para gráfica de caja.
<https://support.minitab.com/es-mx/minitab/21/help-and-how-to/graphs/boxplot/interpret-the-results/key-results/>
98. Mitter, B., Pfaffenbichler, N. y Sessitsch, A. (2016). Plant–microbe partnerships in 2020. *Microbial biotechnology*, 9(5), 635-640.
<https://doi.org/10.1111/1751-7915.12382>
99. Moreno, C. (2000). Métodos para medir la biodiversidad. Volumen 1. Manuales y tesis SEA.
<http://entomologia.rediris.es/sea/manytes/metodos.pdf>
100. Mujakić, I., Piwosz, K. y Koblížek, M. (2022). Phylum Gemmatimonadota and Its Role in the Environment. *Microorganisms*;10(1):151. doi: 10.3390/microorganisms10010151. PMID: 35056600; PMCID: PMC8779627.
101. Müller, D., Vogel, C., Bai, Y. y Vorholt, J. (2016). The plant microbiota: systems-level insights and perspectives. *Annu. Rev. Genet*, 50(1), 211-234.
[10.1146/annurev-genet-120215-034952](https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120215-034952)
102. Navarrete, A., Soares, T., Rossetto, R., van Veen, J., Tsai, S. y Kuramae, E. (2015). Verrucomicrobial community structure and abundance as indicators for changes in chemical factors linked to soil fertility. *Antonie van Leeuwenhoek*; 108:741-752. pmid:26184407
103. Nielsen, U., Ayres, E., Wall, D. y Bardgett, R. (2011). Soil biodiversity and carbon cycling: a review and synthesis of studies examining diversity–function relationships. *European Journal of Soil Science*, 62(1), 105-116. DOI: 10.1111/j.1365-2389.2010.01314.x
104. Niu, B., Paulson, J., Zheng, X. y Kolter, R. (2017). Simplified and representative bacterial community of maize roots. Proceedings of the

- National Academy of Sciences, 114(12), E2450-E2459.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1616148114>
105. Nixon, S., Daly, R., Borton, M., Solden, L., Welch, S., Cole, D., Mouser, P., Wilkins, M. y Wrighton, K. (2019). Genome-Resolved Metagenomics Extends the Environmental Distribution of the Verrucomicrobia Phylum to the Deep Terrestrial Subsurface. *mSphere*; 4(6):e00613-19. doi: 10.1128/mSphere.00613-19. PMID: 31852806; PMCID: PMC6920513.
106. Oksanen, J., Simpson, G., Blanchet, F., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P., O'Hara, R., Solymos, P., Stevens, M., Szoecs, E., Wagner, H., Barbour, M., Bedward, M., Bolker, B., Borcard, D., Carvalho, G., Chirico, M., de Caceres, M., Durand, S., Evangelista, H., FitzJohn, R., Friendly, M., Furneaux, B., Hannigan, G., Hill, M., Lahti, L., McGlenn, D., Ouellette, M., Ribeiro, E., Smith, T., Stier, A., Ter Braak, C. y Weedon, J. (2018). Vegan: community ecology package. Recuperado de <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html>
107. Olesen, J., Bascompte, J., Dupont, Y. y Jordano, P. (2007). The modularity of pollination networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(50), 19891-19896. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706375104>
108. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2015). Suelos y Biodiversidad. <https://www.fao.org/3/i4551s/i4551s.pdf>
109. Oropeza, D. (2020). Maíz criollo, a merced de corporaciones con entrada del T-MEC. TERRITORIOS. Recuperado de <https://piedepagina.mx/maiz-criollo-a-merced-de-corporaciones-con-entrada-del-t-mec/>
110. Pavlopoulos, G., Secrier, M., Moschopoulos, C., Soldatos, T., Kossida, S., Aerts, J. y Bagos, P. (2011). Using graph theory to analyze biological networks. *BioData mining*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/1756-0381-4-10>

111. Peña-Sanabria, K., Bracamontes-Nájera, L., Benítez, M., Cremaschi A., Jönsson, M., Acevedo, F., Tadeo-Robledo, M., Espinosa-Calderón, A., Mora, K., Kleinfel-Ávila, T., Wegier, A., García-Maning, G., Escalona-Aguilar, M., García-Herrera, R., Espinola, C. (2020). Semillas para el bien común. Compendio de experiencias latinoamericanas y herramientas legales para su defensa en México. Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad, Instituto de Ecología, UNAM. Ciudad de México, México.
112. Pérez, S. (2015). Exploring microbial community structure and resilience through visualization and analysis of microbial co-occurrence networks. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad de Columbia Británica, Vancouver, 149 pp. pág. 34. <https://bit.ly/2L330g6>
113. Pérez-Jaramillo, J., Mendes, R. y Raaijmakers, J. (2016). Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. *Plant Mol Biol* 90, 635–644. <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0337-7>
114. Philippot, L., Raaijmakers, J., Lemanceau, P. y Van Der Putten, W. (2013). Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 11(11), 789-799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>
115. Proulx, S., Promislow, D. y Phillips, P. (2005). Network thinking in ecology and evolution. *Trends in ecology & evolution*, 20(6), 345-353.
116. R Core Team. (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
117. R CODER. (2023). Boxplot en R. https://r-coder.com/boxplot-en-r/#Como_interpretar_un_diagrama_de_caja_y_bigotes_en_R
118. Rahman, M., Flory, E., Koyro, H., Abideen, Z., Schikora, A., Suarez, C., Schnell, S. y Cardinale, M. (2018). Consistent associations with beneficial

- bacteria in the seed endosphere of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Systematic and Applied Microbiology*, 41(4), 386-398. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2018.02.003>
119. Ramírez, O., Espinoza, E., González, M. y Hernández, J. (2018). Situación económica del maíz en la Región II Valles Zoque, Chiapas: Jiquipilas y Ocozocoautla. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 43, 31-42.
120. Rebollar, E., Sandoval, E., Roessler, K., Gaut, B., Alcaraz, L., Benítez, M. y Escalante, A. (2017). Seasonal Changes in a Maize-Based Polyculture of Central Mexico Reshape the Co-occurrence Networks of Soil Bacterial Communities. *Frontiers Microbiology*. <https://bit.ly/3krUZzg>
121. Reinhold-Hurek, B., Bünge, W., Burbano, C., Sabale, M. y Hurek, T. (2015). Roots shaping their microbiome: global hotspots for microbial activity. *Annual review of phytopathology*, 53, 403-424.
122. Rivera, H. (2012). Maíz, nuestra herencia y responsabilidad. *Ecofronteras*, 2-5.
123. Röttgers, L. y Faust, K. (2018). From hairballs to hypotheses—biological insights from microbial networks. *FEMS microbiology reviews*, 42(6), 761-780. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy030>
124. Ruiz, J., Medina, G., González, I., Flores, H., Ramírez, G., Ortiz, C., Byerly, K. y Martínez, R. (2013). Requerimientos agroecológicos de cultivos. Segunda Edición. Libro Técnico Núm. 3. INIFAP. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias-CIRPAC-Campo Experimental Centro Altos de Jalisco. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México.
125. Salcedo, S., De La O, A. y Guzmán, S. (2014). El concepto de agricultura familiar en América Latina y el caribe. *Agricultura Familiar En América Latina y El Caribe: Recomendaciones de Política*, 17-34.

126. Santillán, M. (2014). La milpa, tradición milenaria de agricultura familiar. Recuperado de http://ciencia.unam.mx/leer/356/La_milpa_tradicion
127. Santoyo, G. (2022). How plants recruit their microbiome? New insights into beneficial interactions. *Journal of advanced research*, 40, 45-58. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.11.020>
128. Schmidt, R., Gravuer, K., Bossange, A., Mitchell, J. y Scow, K. (2018). Long-term use of cover crops and no-till shift soil microbial community life strategies in agricultural soil. *PloS one*, 13(2), e0192953. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192953>
129. Schmidt, J., Kent, A., Brisson, V. y Gaudin, A. (2019). Agricultural management and plant selection interactively affect rhizosphere microbial community structure and nitrogen cycling. *Microbiome* 7. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0756-9>
130. Schoch, C., Ciufo, S., Domrachev, M., Hottot, C., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., Mcveigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J., Sun, L., Turner, S., Karsch-Mizrachi. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford). 2020: baaa062. PubMed: 32761142 PMC: PMC7408187.
131. Secretaría del Convenio sobre la Diversidad Biológica. (2008). La Biodiversidad y la Agricultura: Salvaguardando la biodiversidad y asegurando alimentación para el mundo. Montreal, pág. 56.
132. Serratos, J. (2009). El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. Universidad Autónoma de la Ciudad de México. En línea: <http://www.greenpeace.org/mexico/global/mexico/report/2009/3/el-origen-y-la-diversidad-del.pdf>

133. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2019). Producción Agrícola. Recuperado de <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
134. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). (2021). Manual para el diseño de sistemas locales de semillas. Recuperado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/632070/Manual_Sistemas_Locales_Semillas.pdf
135. Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N., Wang, J., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., Ideker, T. (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*; 13(11):2498-504. <https://cytoscape.org/>
136. Sharma, S., Sayyed, R., Trivedi, M. y Gobi, T. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springerplus* 2:587. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
137. Sharma, S., Singh, U., Sahu, P., Singh, H. y Sharma, P. (Eds.). (2020). *Rhizosphere Microbes. Microorganisms for Sustainability*. doi:10.1007/978-981-15-9154-9
138. Singh, R. y Goodwin, S. (2022). Exploring the Corn Microbiome: A Detailed Review on Current Knowledge, Techniques, and Future Directions. *PhytoFrontiers*TM, 2(3), 158-175. <https://doi.org/10.1094/PHYTOFR-04-21-0026-RVW>
139. Skillings, D. y Hooks, K. (2019). Microbiomes and holobionts. *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. Encyclopedia of Ecology (Second Edition), Vol. 3*. pág.161. <https://bit.ly/3aLH2tc>

140. Stukenbrock, E. y McDonald, B. (2008). The Origins of Plant Pathogens in Agro-Ecosystems. *Annual Review of Phytopathology*, 46(1), 75–100. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.010708.154114>
141. Wattnem, T. (2014). *Outlawing Informal Seed Systems in the Global South: Seed Laws, Certification, and Standardization*. Tesis de Maestría en Agroecología. Universidad de Wisconsin, Madison, 49 pp. <https://bit.ly/38v6gsY>
142. Tamayo Ortiz, C. y Alegre Orihuela, J. (2022). Asociación de cultivos, alternativa para el desarrollo de una agricultura sustentable. *Siembra*, 9(1). DOI: <https://doi.org/10.29166/siembra.v9i1.3287>
143. Tan, W., Wang, J., Bai, W., Qi, J. y Chen, W. (2020). Soil bacterial diversity correlates with precipitation and soil pH in long-term maize cropping systems. *Sci Rep* 10, 6012. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62919-7>
144. Tylianakis, J. M., Laliberté, E., Nielsen, A. y Bascompte, J. (2010). Conservation of species interaction networks. *Biological conservation*, 143(10), 2270-2279. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.12.004>
145. Velázquez, O. y Aguilar, N. (2005). Manual introductorio al análisis de redes sociales. Recuperado de https://www.academia.utp.ac.pa/sites/default/files/docente/51/topicos_manual_ars.pdf
146. Vital-López, L., Hernández, C., Fernández-Dávila, S. y Mendoza-Herrera, A. (2015). Diversidad bacteriana en raíces de maíz híbrido convencional y genéticamente modificado. *Phyton (Buenos Aires)*, 84(1), 233-243.
147. Wattnem, T. (2016). Seed laws, certification and standardization: outlawing informal seed systems in the Global South, *The Journal of Peasant Studies*. DOI: 10.1080/03066150.2015.1130702

148. Xiong, C. y Lu, Y. (2022). Microbiomes in agroecosystem: Diversity, function and assembly mechanisms. *Environmental Microbiology Reports*, 14(6), 833-849. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.13126>
149. Ying, G., Langqin, Y. y Lei Z. (2022). Ecological networks in agroecosystems: approaches and applications. *Front. Agr. Sci. Eng.* 9(4): 523–535 <https://doi.org/10.15302/J-FASE-2022466>
150. Zamkovaya, T., Foster, J., de Crécy-Lagard, V. y Conesa, A. (2021). A network approach to elucidate and prioritize microbial dark matter in microbial communities. *ISME J* 15, 228–244. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00777-x>
151. Zhang, P., Tao, L., Zeng, X., Qin, C., Chen, S., Zhu, F., Li, Z., Jiang, Y., Chen, W., y Chen, Y. (2017). A protein network descriptor server and its use in studying protein, disease, metabolic and drug targeted networks. *Briefings in bioinformatics*, 18(6). <https://doi.org/10.1093/bib/bbw071>
152. Zurita, M., Léonard, E. y Carrière, S. (2012). Integración mercantil de la milpa campesina y transformación de los conocimientos locales agrícolas. *REVIBEC: Revista Iberoamericana de Economía Ecológica*, Vol. 18, <https://www.raco.cat/index.php/Revibec/article/view/253530>

9. ANEXO

Tabla A1. Filos bacterianos presentes en las redes de co-ocurrencia y exclusión de la semilla nativa asociada a dos tipos de humedad. Los filos se encuentran ordenados de acuerdo a su abundancia.

R1: Humedad baja			R2: Humedad media		
<i>Phylum</i>	Nodos	%	<i>Phylum</i>	Nodos	%
p_ (<i>phylum</i> no asignado)	359	40.16	p_ (<i>phylum</i> no asignado)	375	39.02
Proteobacteria	175	19.57	Proteobacteria	202	21.02
Acidobacteria	151	16.89	Acidobacteria	170	17.69
Bacteroidetes	70	7.83	Bacteroidetes	80	8.32
Actinobacteria	62	6.94	Actinobacteria	61	6.35
Verrucomicrobia	37	4.14	Verrucomicrobia	40	4.16
candidate division WPS-1	14	1.57	candidate division WPS-1	12	1.25
Candidatus Saccharibacteria	13	1.45	Candidatus Saccharibacteria	6	0.62
Firmicutes	4	0.45	Firmicutes	6	0.62
Planctomycetes	3	0.34	Planctomycetes	3	0.31
Latescibacteria	2	0.22	Armatimonadetes	1	0.1
Armatimonadetes	1	0.11	Chloroflexi	1	0.1
Chloroflexi	1	0.11	Cyanobacteria/Chloroplast	1	0.1
Cyanobacteria/Chloroplast	1	0.11	Deinococcus-Thermus	1	0.1
Gemmatimonadetes	1	0.11	Gemmatimonadetes	1	0.1
			Latescibacteria	1	0.1

Tabla A2. Filos bacterianos presentes en las redes de co-ocurrencia y exclusión de la semilla híbrida asociada a dos tipos de humedad. Los filus se encuentran ordenados de acuerdo a su abundancia.

R1: Humedad baja			R2: Humedad media		
<i>Phylum</i>	Nodos	%	<i>Phylum</i>	Nodos	%
p_ (<i>phylum</i> no asignado)	298	42.09	p_ (<i>phylum</i> no asignado)	301	40.57
Proteobacteria	131	18.5	Proteobacteria	141	19
Acidobacteria	123	17.37	Acidobacteria	127	17.12
Bacteroidetes	56	7.91	Bacteroidetes	60	8.09
Actinobacteria	41	5.79	Actinobacteria	48	6.47
Verrucomicrobia	33	4.66	Verrucomicrobia	31	4.31
candidate division WPS-1	10	1.41	candidate division WPS-1	10	1.35
Candidatus Saccharibacteria	4	0.56	Candidatus Saccharibacteria	7	0.94
Firmicutes	3	0.42	Firmicutes	6	0.81
Planctomycetes	3	0.42	Cyanobacteria/Chloroplast	4	0.54
Latescibacteria	2	0.28	Planctomycetes	2	0.27
Armatimonadetes	1	0.14	Armatimonadetes	1	0.13
Cyanobacteria/Chloroplast	1	0.14	Chloroflexi	1	0.13
Deinococcus-Thermus	1	0.14	Deinococcus-Thermus	1	0.13
Gemmatimonadetes	1	0.14	Latescibacteria	1	0.13

Figura A1. Modularidad asociada a la semilla nativa con humedad baja. Algoritmo de Blondel y colaboradores, 2008 y resolución de Lambiotte *et al.*, 2009. Obtenida del software Gephi.

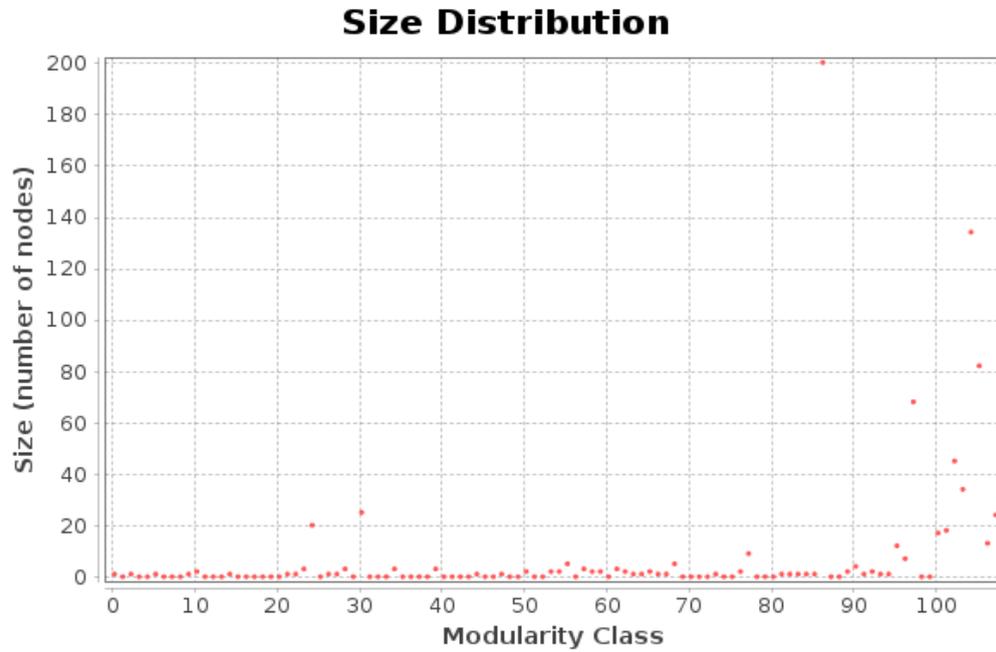


Figura A2. Modularidad asociada a la semilla nativa con humedad media. Algoritmo de Blondel y colaboradores, 2008 y resolución de Lambiotte *et al.*, 2009. Obtenida del software Gephi.

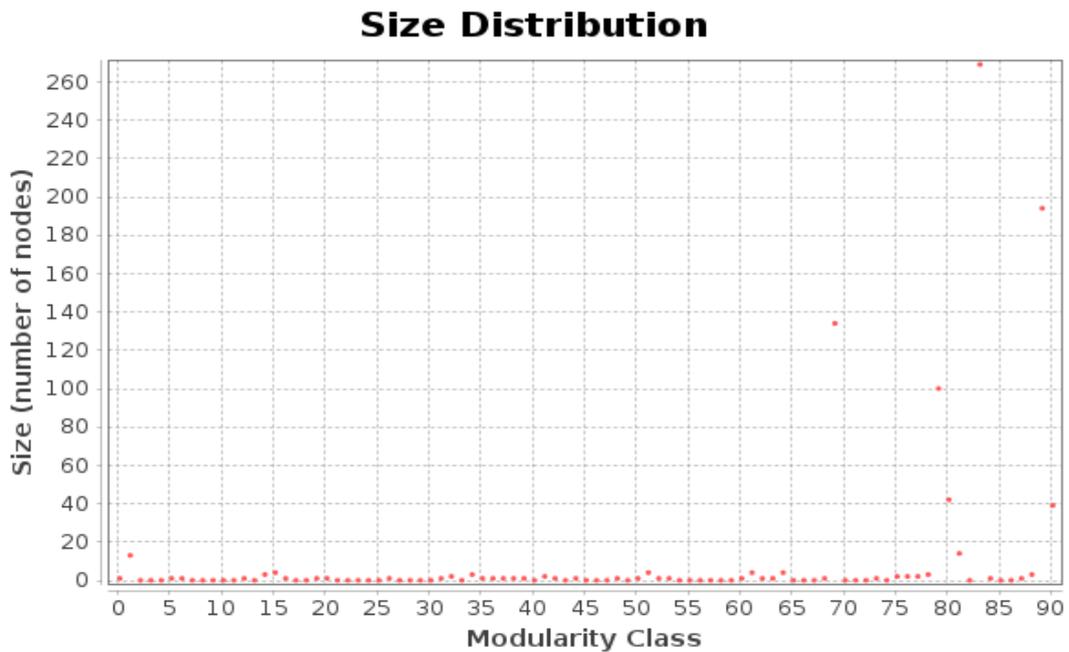


Figura A3. Modularidad asociada a la semilla híbrida con humedad baja. Algoritmo de Blondel y colaboradores, 2008 y resolución de Lambiotte *et al.*, 2009. Obtenida del software Gephi.

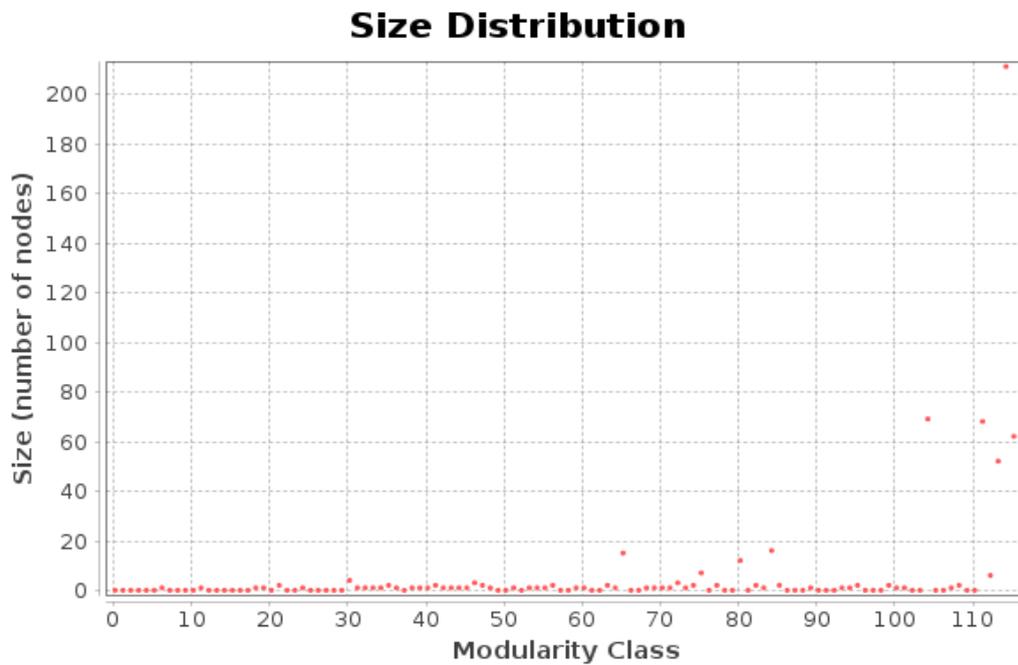


Figura A4. Modularidad asociada a la semilla híbrida con humedad media. Algoritmo de Blondel y colaboradores, 2008 y resolución de Lambiotte *et al.*, 2009. Obtenida del software Gephi.

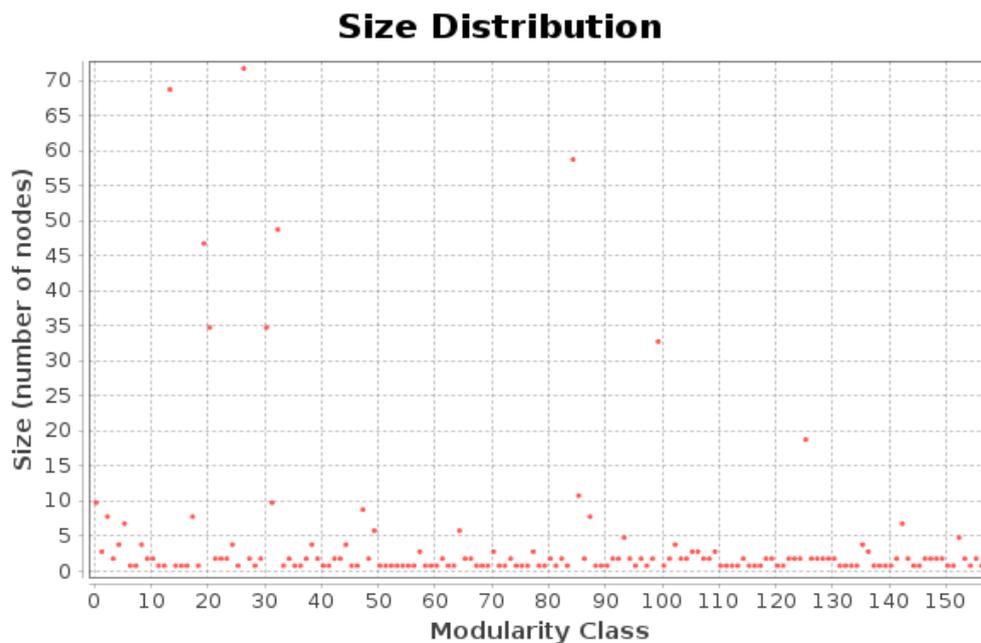


Tabla A3. Principales módulos y filos bacterianos asociados a las redes de la semilla nativa bajo dos tipos de humedad

Humedad				
	Baja	Filos bacterianos	Media	Filos bacterianos
	86 (201)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) candidate division WPS-1 5) Candidatus Saccharibacteria 6) Firmicutes 7) Proteobacteria 8) Verrucomicrobia	83 (270)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) candidate division WPS-1 5) Planctomycetes 6) Proteobacteria 7) Verrucomicrobia
	104 (135)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) candidate division WPS-1 5) Candidatus Saccharibacteria 6) Proteobacteria 7) Verrucomicrobia	89 (195)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Armatimonadetes 4) Bacteroidetes 5) candidate division WPS-1 6) Planctomycetes 7) Proteobacteria 8) Verrucomicrobia
	105 (83)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) candidate division WPS-1 5) Latescibacteria 6) Planctomycetes 7) Proteobacteria 8) Verrucomicrobia	69 (135)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) candidate division WPS-1 5) Proteobacteria 6) Verrucomicrobia
Módulo (no. de nodos)	97 (69)	1) Acidobacteria 2) Bacteroidetes 3) candidate division WPS-1 4) Candidatus	79 (101)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) candidate division WPS-1

	Saccharibacteria 5) Planctomycetes 6) Proteobacteria 7) Verrucomicrobia		5) Candidatus Saccharibacteria 6) Firmicutes 7) Gemmatimonadetes 8) Proteobacteria 9) Verrucomicrobia
102 (46)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) candidate division WPS-1 5) Proteobacteria 6) Verrucomicrobia	80 (43)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) candidate division WPS-1 5) Proteobacteria 6) Verrucomicrobia
103 (35)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Armatimonadetes 4) Bacteroidetes 5) candidate division WPS-1 6) Latescibacteria 7) Proteobacteria	90 (40)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) candidate division WPS-1 5) Candidatus Saccharibacteria 6) Firmicutes 7) Proteobacteria 8) Verrucomicrobia
30 (26)	1) Actinobacteria 2) Bacteroidetes 3) Chloroflexi 4) Firmicutes 5) Proteobacteria 6) Verrucomicrobia	81 (15)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Candidatus Saccharibacteria 4) Verrucomicrobia
107 (25)	1) Actinobacteria 2) candidate division WPS-1 3) Proteobacteria 4) Verrucomicrobia	1 (14)	1) Bacteroidetes 2) Chloroflexi 3) Firmicutes 4) Proteobacteria 5) Verrucomicrobia

Fuente: elaboración propia a partir del software Gephi. El color de las columnas representa el color de los módulos. Los filos bacterianos en color negrita son aquellos que difieren entre los módulos.

Tabla A4. Principales módulos y filos bacterianos asociados a las redes de la semilla híbrida bajo dos tipos de humedad

Humedad				
	Baja	Filos bacterianos	Media	Filos bacterianos
	114 (212)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Armatimonadetes 4) Bacteroidetes 5) candidate division WPS-1 6) Candidatus Saccharibacteria 7) Deinococcus-Thermus 8) Gemmatimonadetes 9) Planctomycetes 10) Proteobacteria 11) Verrucomicrobia	26 (72)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) Candidatus Saccharibacteria 5) Proteobacteria 6) Verrucomicrobia
	104 (70)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) Planctomycetes 5) Proteobacteria 6) Verrucomicrobia	13 (69)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) Proteobacteria 5) Verrucomicrobia
	111 (69)	1) Acidobacteria 2) Bacteroidetes 3) Proteobacteria 4) Verrucomicrobia	84 (59)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) candidate division WPS-1 5) Proteobacteria 6) Verrucomicrobia
Módulo (no. de nodos)	115 (63)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) candidate division WPS-1 5) Proteobacteria	32 (49)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) candidate division WPS-1 5) Proteobacteria

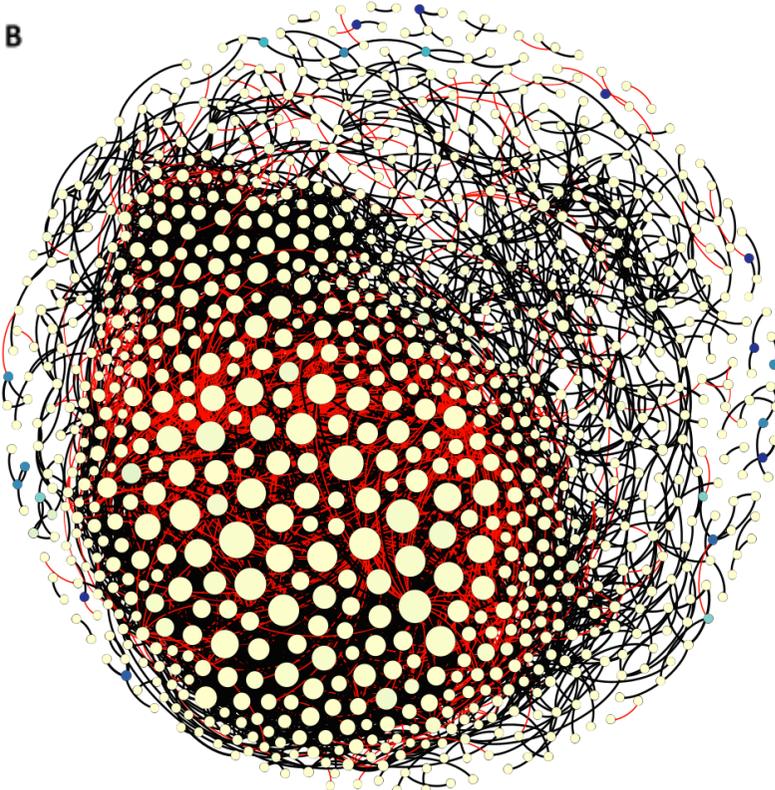
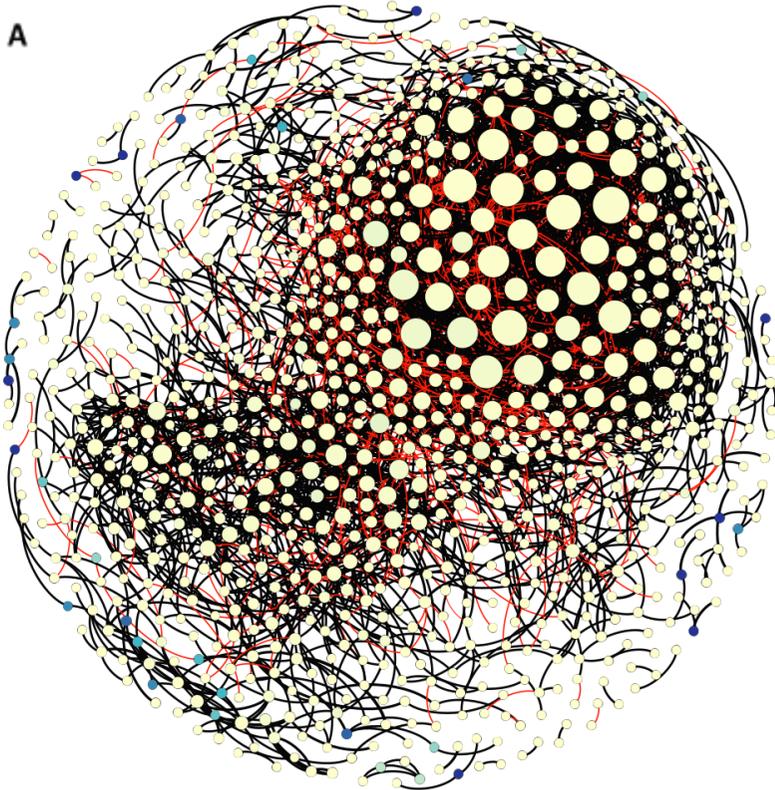
	6) Verrucomicrobia		6) Verrucomicrobia
113 (53)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) Proteobacteria 5) Verrucomicrobia	19 (47)	1) Acidobacteria 2) Bacteroidetes 3) candidate division WPS-1 4) Proteobacteria
84 (17)	1) Actinobacteria 2) Bacteroidetes 3) Firmicutes 4) Proteobacteria 5) Verrucomicrobia	20 (35)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Bacteroidetes 4) candidate division WPS-1 5) Proteobacteria 6) Verrucomicrobia
65 (16)	1) Acidobacteria 2) Bacteroidetes	30 (35)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) candidate division WPS-1 4) Proteobacteria 5) Verrucomicrobia
80 (13)	1) Bacteroidetes 2) Candidatus Saccharibacteria 3) Planctomycetes 4) Proteobacteria 5) Verrucomicrobia	99 (33)	1) Acidobacteria 2) Actinobacteria 3) Armatimonadetes 4) Bacteroidetes 5) candidate division WPS-1 6) Cyanobacteria/ Chloroplast 7) Proteobacteria 8) Verrucomicrobia

Fuente: elaboración propia a partir del software Gephi. El color de las columnas representa el color de los módulos. Los filis bacterianos en color negrita son aquellos que difieren entre los módulos.

Semilla nativa

R1. Humedad baja

R2. Humedad media



Semilla híbrida

R1. Humedad baja

R2. Humedad media

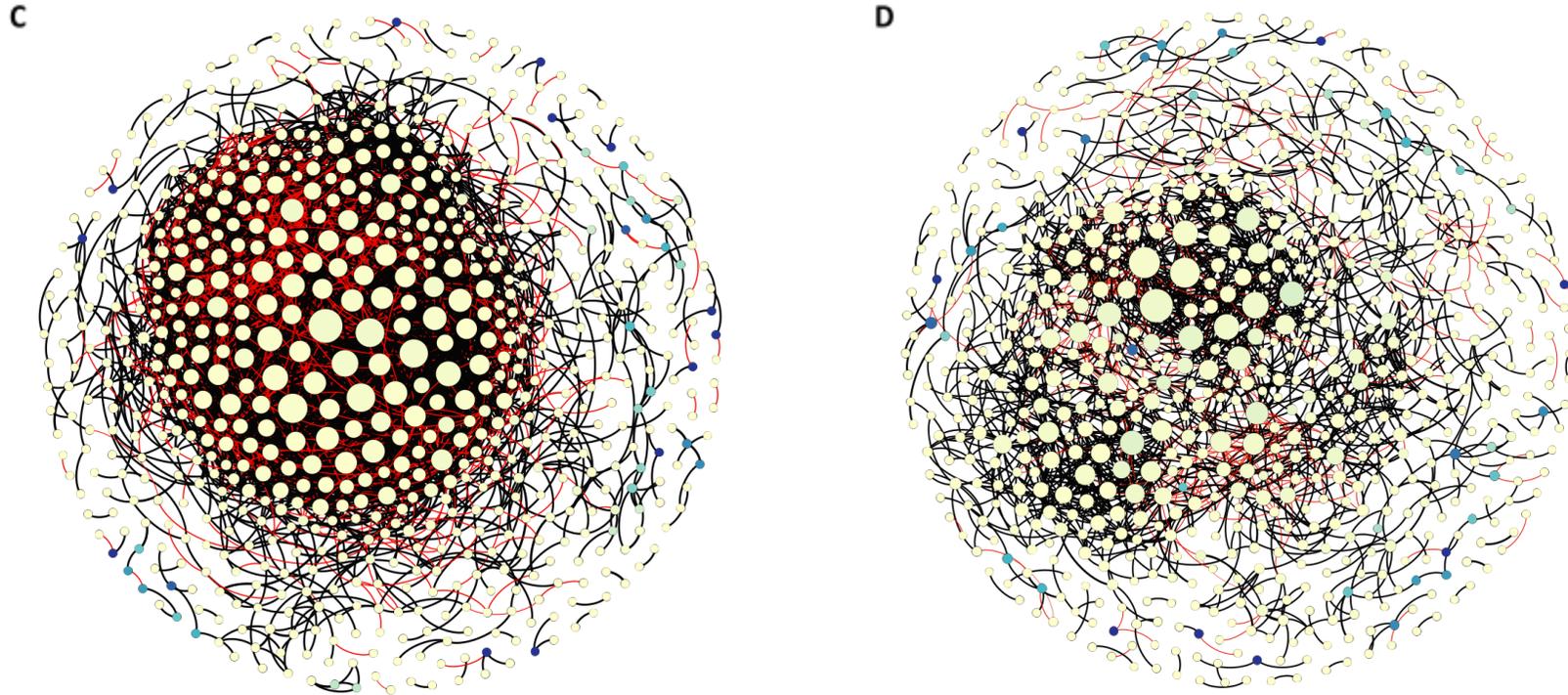


Figura A5. OTUs clave identificadas en redes de co-ocurrencia y exclusión de comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera de semillas nativas e híbridas de maíz en dos regiones con diferente humedad. El tamaño de los nodos está dado por el parámetro topológico de centralidad de grado, mientras que el color de los nodos está determinado por el parámetro de centralidad de intermediación. El color amarillo indica las OTUs con los valores más bajos de centralidad de intermediación y las OTUs azul oscuro aquellas con los valores más altos. Las aristas negras representan relaciones de co-presencia y las rojas de exclusión mutua.