



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DE LA TIERRA
INSTITUTO DE GEOLOGÍA

**DIVERSIDAD MICROBIANA EN LEPTOSOLES RÉNDZICOS DEL SISTEMA KÁRSTICO DEL
NORESTE DE QUINTANA ROO, MÉXICO**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS DE LA TIERRA**

PRESENTA:

JAZMIN DE JESUS SANTILLAN MANJARREZ

TUTOR

**DRA. ROCÍO JETZABEL ALCÁNTARA HERNÁNDEZ
INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM**

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

**DRA. MARÍA SOLEDAD VÁSQUEZ MURRIETA - ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS, IPN**

DRA. SILKE CRAM-HEYDRICH - INSTITUTO DE GEOGRAFÍA, UNAM

MÉXICO, CD. MX., MARZO 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**PROPUESTA UNIVERSITARIA DE INTEGRIDAD Y
HONESTIDAD ACADÉMICA Y PROFESIONAL
(Graduación con trabajo escrito)**

De conformidad con lo dispuesto en los artículos 87, fracción V, del Estatuto General, 68, primer párrafo, del Reglamento General de Estudios Universitarios y 26, fracción 1, y 35 del Reglamento General de Exámenes, me comprometo en todo tiempo a honrar a la Institución y a cumplir con los principios establecidos en el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente con los de integridad y honestidad académica.

De acuerdo con lo anterior, manifiesto que el trabajo escrito titulado: **Diversidad microbiana en leptosoles réndzicos del sistema kárstico del noreste de Quintana Roo, México** que presenté para obtener el grado de Doctorado es original, de mi autora lo realicé con el rigor metodológico exigido por mi programa de posgrado, citando las fuentes de ideas, textos, imágenes, gráficos u otro tipo de obras empleadas para su desarrollo.

En consecuencia, acepto que la falta de cumplimiento de las disposiciones reglamentarias y normativas de la Universidad, en particular las ya referidas en el Código de Ética, llevará a nulidad de los actos de carácter académico administrativo del proceso de graduación.

Atentamente



**Jazmin de Jesus Santillan Manjarrez
302059254**

Agradecimientos institucionales

Agradezco al Posgrado en Ciencias de la Tierra de la UNAM por la formación académica. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante el doctorado a mi nombre Jazmín de Jesús Santillán Manjarrez (CVU 469478). Al PAEP, por el apoyo para presentar un trabajo científico derivado de esta tesis en el World Microbe Forum 2021.

El presente proyecto de tesis fue posible gracias al apoyo del fondo UNAM-PAPIIT IA202518, “*Metabolismos bacterianos en el antropoceno: presencia y diversidad de genes bacterianos para degradación de xenobióticos en sistemas terrestres y acuáticos de México*” otorgado a la Dra. Rocío Jetzabel Alcántara Hernández

Agradezco a Jorge René Alcalá Martínez, Javier Tadeo León, Olivia Zamora Martínez, Lucy Mora Palomino, Maricarmen Salazar Ledesma e Iris Suárez Quijada, por su apoyo técnico en la realización de este proyecto. A el Dr. Rafael Antonio López Martínez, por el apoyo en campo y sus conocimientos de sistemas kársticos. Este trabajo se realizó en coordinación con los siguientes laboratorios: Laboratorio de Genómica y Biotecnología del Instituto de Geología, UNAM; Laboratorio del Cromatografía del Laboratorio Nacional del Geoquímica y Mineralogía (LANGEM); Sección de ICP del Laboratorio Nacional del Geoquímica y Mineralogía (LANGEM), y Laboratorio de Física de Suelos (LANGEM).

Agradecimientos a título personal

A mi tutora Dra. Rocío Jetzabel Alcántara Hernández, que sigue siendo de las mejores académicas que conozco y aún más importante un ser humano

A mi comité tutor, la Dra. María Soledad Vásquez Murrieta y a la Dra. Silke Cram-Heydrich, que estuvieron contribuyendo con su experiencia al proyecto a través de los semestres.

A mi jurado de examen Dra. Christina D. Siebe Grabach, Dra. Rocío Jetzabel Alcántara Hernández, Dra. Silvia Pajares, Dra. Lucy N. Mora Palomino y a la Dra. María Soledad Vásquez Murrieta, por sus comentarios, correcciones y sugerencias para terminar esta tesis.

A mis compañeros del posgrado Priscila Medina Ortega y Rogelio Hernández Vergara, que me ayudaron en varias ocasiones con esta tesis

A mis amigas de laboratorio: Nayeli Vargas Luis, Karina Hernández García, Alba Savín Gámez, Penélope A. Solís Hernández, que son de las mejores personas que he tenido el privilegio de conocer, las tengo en un gran concepto y las quiero un montón. A Eduardo J. Aguilar Rangel, Jesús Torres y Víctor Carrasco, que siempre hicieron más entretenida la estancia en el laboratorio.

A Alfredo Aristide Amaro G. por respetar mi espacio.

Contenido

1.	Resumen	1
2.	Abstract.....	2
3.	Introducción	3
4.	Marco teórico.....	5
4.1.	El karst, suelos kársticos y su distribución a nivel mundial	5
4.2.	El karst en México y sus suelos.....	9
4.2.1	Rendzinas.....	12
4.3.	El karst y los suelos del estado de Quintana Roo.....	13
4.4.	El suelo, agentes formadores y características.....	15
4.5.	Los microorganismos del suelo: funciones y relaciones ecológicas	17
4.6.	Factores fisicoquímicos que afectan la diversidad y composición microbiana	21
4.7.	Los microorganismos de los suelos kársticos.....	22
4.8.	Aproximaciones para el estudio microbiológico de los suelos	24
4.8.1.	Actividad enzimática en suelo.....	24
4.8.2.	Cuantificación y secuenciación de marcadores moleculares (16S rRNA, ITS).....	27
5.	Planteamiento del problema y justificación.....	29
6.	Hipótesis.....	32
7.	Objetivos	33
7.1.	General.....	33
7.2.	Particulares.....	33
8.	Materiales y Métodos.....	34
8.1.	Área de estudio.....	34
8.2.	Sitios de muestro	37
8.3.	Caracterización fisicoquímica y micromorfológica del suelo	41
8.3.1.	Análisis fisicoquímicos	41
8.3.2.	Secciones delgadas de los suelos	42
8.4.	Análisis microbiano	43
8.4.1.	Ensayo enzimático.....	43
8.4.1.1.	Actividad β -GLU, PFO, LIP y FOM.....	43
8.4.1.2.	Actividad deshidrogenasa.....	44
8.4.2.	Extracción DNA	45

8.4.3.	Cuantificación de fragmentos del 16S rRNA e ITS	46
8.4.4.	Amplificación y secuenciación de fragmentos del 16S rRNA e ITS	47
8.4.5.	Análisis de secuencias	47
8.4.6.	Predicción metabólica.....	48
8.5.	Análisis estadístico	48
9.	Resultados	51
9.1.	Caracterización fisicoquímica del suelo.....	51
9.1.1	<i>Análisis fisicoquímicos</i>	51
9.1.2	<i>Microestructura del suelo</i>	54
9.2.	Actividad enzimática	56
9.3.	Abundancia y diversidad microbiana	59
9.4.	Estructura y composición de la comunidad de bacterias y arqueas	61
9.4.1	Predicción funcional de bacterias y arqueas	67
9.5.	Estructura de la comunidad fúngica	69
9.5.1	Rol ecológico de la comunidad fúngica	76
10.	Discusión	77
10.1.	Caracterización fisicoquímica del suelo y su estructura	77
10.2.	Actividad enzimática en suelos kársticos tropicales	79
10.3.	Abundancia y diversidad microbiana	81
10.4.	Estructura y composición de la comunidad de bacterias y arqueas	82
10.5.	Estructura y composición de la comunidad fúngica.....	91
11.	Conclusiones	96
12.	Perspectivas	98
13.	Referencias.....	99
14.	Anexos	123
15.	Artículo publicado.....	147

Relación de figuras

Figura 1. Mapa de zonas con rocas karstificables a nivel mundial.	6
Figura 2. Distribución del karst en la República Mexicana..	10
Figura 3. Perfil de suelo Aktun-Ha del estado de Quintana Roo, México.	15
Figura 4. Mapa del estado de Quintana Roo con los sitios de muestreos para este estudio.	36
Figura 5. Vistas del Sitio 1.	37
Figura 6. Vistas del Sitio 2.	38
Figura 7. Vistas del Sitio 3.	39
Figura 8. Vistas del Sitio 4.	40
Figura 9. Diagramas de cajas y bigotes representando algunas características fisicoquímicas de los suelos.....	52
Figura 10. Mapa de Calor de la correlación entre diferentes variables físicas y químicas de los suelos.....	53
Figura 11. PCA basado en las características fisicoquímicas de los sitios muestreados.....	54
Figura 12. Láminas delgadas de la estructura del suelo.	55
Figura 13. Actividad enzimática determinada para los suelos por sitio muestreado.....	56
Figura 14. Análisis de Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS) mostrando la relación entre actividades enzimáticas y las propiedades fisicoquímicas del suelo en estudio.	58
Figura 15. Número de copias de genes por gramo de suelo húmedo.	59
Figura 16. Indicadores de diversidad y riqueza suelos provenientes del estado de Quintana Roo.....	60
Figura 17. PCoA considerando todos los taxa de procariontes, no ponderado.	61
Figura 18. PCoA considerando solo los taxa >0.1% de procariontes, ponderado.....	62
Figura 19. PCoA con los ASVs de procariontes seleccionados por el análisis de SIMPER	63
Figura 20. Abundancia relativa de procariontes a nivel Filo encontrada en las muestras estudiadas.....	64
Figura 21. Análisis de Correlación Canónica (CCA) de la relación entre las actividades enzimáticas y las estructura de la comunidad procariótica.	66
Figura 22. Mapa de calor de la abundancia relativa de diferentes metabolismos procarióticos basado en la predicción metabólica inferidos por el gen 16S rRNA con el programa Tax4Fun2.....	67

Figura 23. Abundancia relativa enzimática predicha por Tax4Fun para los subsitios muestreados.	68
Figura 24. Abundancia relativa enzimática de fosfatasas predicha por Tax4Fun para los subsitios muestreados.	68
Figura 25. Abundancia relativa enzimática de fosfatasas, glutamina sintetasa y ureasa predicha por Tax4Fun para los subsitios muestreados.	69
Figura 26. PCoA no ponderado considerando todos los taxa para Fungi encontrados con fragmentos ITS.	70
Figura 27. PCoA ponderado considerando solo los taxa >0.1% para Fungi.	71
Figura 28. PCoA ponderado considerando los taxa de Fungi con mayor contribución, de acuerdo con el análisis de SIMPER ($n=11$).	72
Figura 29. Abundancia relativa de hongos a nivel a nivel Filo encontrada en las muestras estudiadas.	73
Figura 30. Análisis de Correlación Canónica (CCA) de la relación entre las actividades enzimáticas y las estructura de la comunidad fúngica.	75
Figura 31. Mapa de calor de la abundancia relativa de los modos tróficos fúngicos predichos por FUNGuild para los suelos en estudio.	76

1. Resumen

Las regiones kársticas representan del 7 al 25% de la superficie terrestre, donde se estima que vive cerca del 25% de la población humana. Los suelos de estas áreas son un soporte vital para la vegetación y el primer horizonte de biotransformación en la zona crítica. La península de Yucatán es la plataforma emergida de carbonatos más grande en América continental, y aunque se han realizado varios estudios sobre su edafo- y pedodiversidad, son pocos las investigaciones sobre su microbiota. Los estudios en suelos kársticos subtropicales sugieren que la microbiota de este tipo de suelos se relaciona altamente con las características fisicoquímicas del suelo como valores de pH moderadamente/fuertemente alcalino, y el contenido de nutrientes como el C_{org} (carbono orgánico) y el N_{tot} (nitrógeno total), entre otros. Sin embargo, a la fecha existen pocos estudios de la microbiota en suelos kársticos tropicales que, además, se complementen con un estudio de caracterización física y química de los mismos. Por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo principal describir la microbiota de leptosoles réndzicos del noreste (NE) de Quintana Roo y establecer sus relaciones con las características fisicoquímicas de los suelos, así como explorar sus roles ecológicos potenciales.

Los suelos de estudio mostraron una heterogeneidad generada principalmente por material vegetal y carbonatos, con una densidad aparente (DA) de 0.38 a 1.03 g/cm, y una composición textural mayormente por arcillas (42-80%) en los suelos sin aparente perturbación. El valor promedio del pH de los suelos fue 8.4, con un contenido en $C_{org} > 17\%$ y una relación $C_{org}:N$ promedio de 13. La actividad enzimática del suelo fue muy heterogénea entre los subsitios y sitios, donde la actividad deshidrogenasa fue mayor a la reportada en otros suelos forestales. El componente microbiano se estimó con el número de copias del gen 16S rRNA para Bacteria/Archaea (2.8×10^7 copias/g de suelo) e ITS para hongos (9.3×10^4 ITS copias/g de suelo). De los filotipos microbianos encontrados, se observó que 1.5% de éstos estaban en al menos el 65% de las muestras, lo cual indica que pocos microorganismos se comparten entre los suelos, y hay alta variabilidad microbiana entre ellos. Los fila más abundantes fueron Acidobacteria, Actinobacteria, Rokubacteria, y Mortierellomycota, los cuales han sido reportados como transformadores efectivos de la materia orgánica (MO). Otros organismos abundantes fueron Thaumarchaeota, *Nitrospira* y *Bradyrhizobium* quienes son importantes dentro del ciclo del N. Las características fisicoquímicas del suelo que correlacionaron significativamente con la estructura de la comunidad procarionte fue el pH, mientras que, para la comunidad fúngica estuvieron el contenido de Na, S, Ca, N_{tot} , Mg, C_{org} , Sr y Zn, así como la conductividad eléctrica (CE), pH, contenido de arena y arcilla, y DA. La predicción funcional en los procariontes sugiere que tienen un alto potencial para el metabolismo del carbono, la biosíntesis de antibióticos y potencial de degradación de contaminantes como sustancias fenólicas y PAHs, así como denotan un potencial para la transformación y solubilización de P. La comunidad de hongos por su parte estuvo compuesta mayoritariamente por hongos saprófitos y simbioses que ayudan a la degradación y transformación de compuestos orgánicos.

Por tanto, la comunidad microbiana que albergan estos suelos heterogéneos es muy diversa, y los procesos que llevan a cabo son muy eficientes con la transformación de MO y fijación de N. Estos procesos incrementan la concentración de C y N en el suelo, que promueve y soporta al bosque tropical en la región.

2. Abstract

Karst regions represent 7 to 25% of the Earth's surface, where it is estimated that nearly 25% of the human population inhabits. The soils in these areas are a vital support for the vegetation and the first horizon of biotransformation in the critical zone. The Yucatán Peninsula is the largest emerged carbonate platform in continental America, and though several studies have reported its edapho- and pedodiversity, its microbiota is barely unknown. Studies in subtropical soils suggest that the microbiota in these types of soils are highly related to the soil physicochemical characteristics, such as moderate/strongly alkaline pH values and nutrient content, such as C_{org} (organic carbon) and N_{tot} (total nitrogen), among others. However, there are no studies about the microbiota in tropical karst soils to date, which also, complement the research with soil physicochemical characterization. Therefore, this study had as objective to describe the microbiota of rendzic leptosols from the northeast of Quintana Roo, establish its relationships with the soil physicochemical characteristics, and to explore its potential ecological roles.

The studied soils showed a heterogeneity mainly due to the vegetal material and carbonates, with a bulk density of 0.38 a 1.03 g/cm, and a texture composition mostly by clays (42-80%) in non-perturbated soils. The soil pH average value was 8.4, with a C_{org} content >17% and a mean $C_{org}:N$ ratio of 13. The soil enzyme activity was heterogeneous among subsite and sites, where dehydrogenase activity was larger than that reported in other forest soils. The microbial component was estimated by the number of the 16S rRNA gene copies for Bacteria/Archaea (2.8×10^7 copies/g of soil) and ITS for fungi (9.3×10^4 ITS copies/g de soil). Of the phylotypes found, it was observed that 1.5% of these were in at least 65% of the samples, suggesting that a few microorganisms are shared among soils, and therefore, there was a high microbial variability among them. The most abundant phyla were Acidobacteria, Actinobacteria, Rokubacteria, and Mortierellomycota, which have been reported as effective organic matter transformers. Other abundant microorganisms were Thaumarchaeota, *Nitrospira* and *Bradyrhizobium*, which are important in the N cycle. The physicochemical characteristics that were significantly correlated with the procaryote community structure was pH, while for the fungi community they included the Na, S, Ca, N_{tot} , Mg, C_{org} , Sr and Zn content, together with the electrical conductivity (EC), pH, clay and sand content, and bulk density. The procaryotic functional prediction suggest that they have a high potential for carbon metabolism, antibiotic biosynthesis, and the potential for pollutant degradation such as phenolic substances and PAHs, together with a potential for the transformation and solubilization of P. The fungal community is mainly composed by saprobes and symbionts that help to the degradation and transformation of organic compounds.

Therefore, the microbial community that harbours these heterogeneous soils is very diverse, and the processes that they carry out are very efficient with the organic matter transformation and N fixation. These processes increase the C and N soil concentration, that promotes and support the tropical forest in the region.

3. Introducción

El karst es un paisaje formado a partir de rocas solubles y representa del 7 al 25% del total de la superficie terrestre. El grado en que las rocas de estos sistemas puedan ser disueltas por agua superficial o subterránea depende de sus propiedades fisicoquímicas, así como de las condiciones geohidrológicas y climáticas de la zona (Columbia, 2003). Estas características hacen que los sistemas kársticos sean ecosistemas muy frágiles y vulnerables *per se*, sin embargo, también existe el riesgo antrópico asociado al cambio de uso de suelo o a la sobreexplotación de sus acuíferos, entre otros (Escolero *et al.*, 2002; Fleury, 2009). Por ello, recientemente se han enfatizado los estudios para conocer estas áreas y catalogar sus características y diversidad (*e.g.* Biagioli *et al.*, 2023; Wei *et al.*, 2023).

La península de Yucatán es la plataforma carbonatada más grande de América continental y cuenta con una gran diversidad de suelos que descansan sobre este karst (Bautista *et al.*, 2011; Krasilnikov *et al.*, 2013). El origen de los diferentes tipos de suelo en esta región ha sido tema de continuo debate, incluyendo la aportación por materiales autóctonos (sedimento marino) y, más recientemente, por diferentes materiales alóctonos (principalmente por deposición) (Sedov *et al.*, 2007, 2008; Cabadas *et al.*, 2010; Bautista *et al.*, 2011). Sin embargo, la pedodiversidad de esta plataforma incluye vertisoles, luvisoles, leptosoles, leptosoles mólicos, fluvisoles, phozems, nitosoles, cambisoles, entre otros (Krasilnikov *et al.*, 2013).

Los leptosoles réndzicos son los suelos mayormente encontrados en la península donde sus características fisicoquímicas han sido estudiadas (Bautista *et al.*, 2011). Contrariamente, existen pocas investigaciones que relacionan estas características con la diversidad y estructura de sus comunidades microbianas (Estrada-Medina *et al.*, 2016; Pajares *et al.*, 2018), las cuales llevan a cabo los procesos biogeoquímicos en el ciclaje de los nutrientes del suelo.

El estudio de las comunidades microbianas del suelo permite tener un acercamiento a su diversidad y posibles roles biogeoquímicos, así como establecer líneas de monitoreo por perturbaciones naturales o antrópicas que continúen sucediendo a futuro. Para poder identificar la actividad microbiana en el suelo, es necesario tomar diferentes acercamientos y técnicas de estudio que acoplen la diversidad microbiana con el estudio de las propiedades fisicoquímicas del suelo (Jansson y Hofmockel, 2018), ya que los componentes bióticos y abióticos del suelo están interrelacionados. El método de análisis de la diversidad microbiana

por técnicas independientes de cultivo (o *metabarcoding*) se ha convertido en el protocolo dominante para el estudio de la diversidad microbiana en los últimos años (Shahsavari *et al.*, 2017). Principalmente, porque provee información sobre la estructura de la comunidad, y permite no sólo conocer la diversidad de microorganismos de bacterias, arqueas y hongos que en éste habitan, sino también su posible función.

A la fecha no existen datos sobre la estructura y diversidad del componente microbiano en suelos desarrollados de sistemas kársticos del estado de Quintana Roo, ni las modificaciones en su estructura. Consecuentemente, el presente proyecto de investigación busca describir este factor biótico microbiano incluyendo hongos, bacterias y arqueas dentro de un contexto físicoquímico. Paralelamente, se inferirá los posibles procesos biogeoquímicos que puede realizar esta biomasa y se comparará con mediciones enzimáticas. Con ello, se pretende llenar un hueco en el conocimiento del funcionamiento de los suelos kársticos tropicales, así como conocer más sobre la diversidad microbiana de los suelos kársticos de la península de Yucatán, en México.

4. Marco teórico

4.1. El karst, suelos kársticos y su distribución a nivel mundial

A nivel mundial, el karst representa entre el 7 y 25% del total de la superficie terrestre (**Fig. 1**), en la cual se concentra hasta un 25% de la población mundial (White, 1988). Esta población depende en gran medida del agua subterránea en el sistema kárstico, existiendo cada día una mayor presión sobre los recursos, tanto superficiales como subterráneos, por lo que se ha vuelto necesario un manejo sustentable del ecosistema (Ford y Williams, 2013).

El karst es un término usado para describir un tipo de relieve con una hidrología distintiva, caracterizado por tener una combinación de rocas con alta solubilidad como lo son las calizas, dolomitas (carbonatos de Ca y Mg), yeso y anhidritas (sulfatos de Ca). La formación de un karst no depende sólo de la solubilidad de las rocas, ya que por sí misma no es suficiente, se necesita una estructura y litología especial en las rocas como rocas masivas, puras y con fracturas grandes. Las rocas solubles con una alta porosidad primaria (30-50%) comúnmente tienen un menor desarrollo de karst. En cambio, cuando las rocas tienen una porosidad primaria menor al 1% despliegan generalmente una porosidad secundaria grande que da soporte a un karst más desarrollado (Ford y Williams, 2013). La alta permeabilidad del karst favorece el paso de agua y materia orgánica (MO) desde la superficie hacia las cavidades subsuperficiales (Mora *et al.*, 2016).

Para el fin de esta tesis, el karst se clasifica en dos tipos: i) la parte subterránea conocida como endokarst, y ii) la parte superficial que se conoce como epikarst. En el endokarst, la disolución de las rocas carbonatadas puede llevar al desarrollo de dolinas, cuevas y sumideros (Waltham y Fookes, 2003; Diabat *et al.*, 2015). En contraste, el epikarst de un karst desarrollado juega un papel preponderante en la captación de agua, al infiltrar y dar pie al almacenamiento de agua. En el epikarst, la descomposición vegetal y el suelo residual forman una base rica para raíces de arbustos y árboles, y para la actividad microbiana (Ford y Williams, 2013; Bakalowicz, 2019)

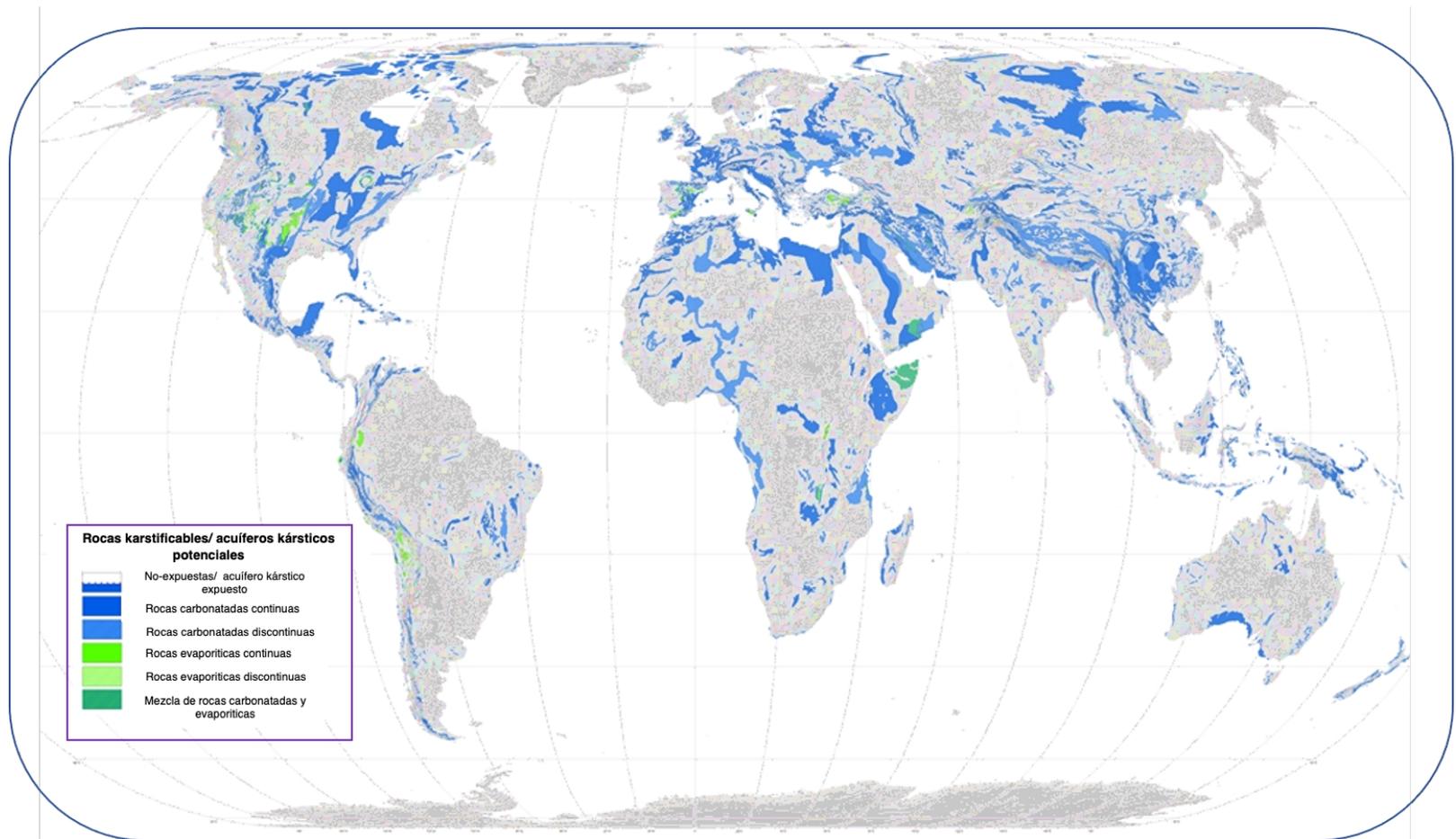


Figura 1. Mapa de zonas con rocas karstificables a nivel mundial.
Modificado de Chen *et al.* (2017).

Existen una gran variedad de estudios sobre la caracterización física y química de los suelos de tipo kárstico a nivel mundial (**Tablas 1 y A1**). Todos estos estudios muestran una variedad de suelos que incluyen aquellos de tipo agrícolas, bosques primarios o secundarios, matorrales y pastizales, con características ambientales y de nutrientes que son variables, así como una flora y fauna distintiva. Los suelos de origen kárstico difieren de los no kársticos en una variedad de aspectos físicos, químicos y biológicos. Por ejemplo, los suelos kársticos muestran alta tasas de infiltración, valores de pH generalmente mayores a 7, y altas concentraciones de cationes de Ca^{2+} y Mg^{2+} .

Tabla 1. Estudios representativos de suelos kársticos y sus aportaciones al conocimiento.

Referencia	Aportaciones del estudio y resultados	País
Zhang <i>et al.</i> , 2015	Determina la concentración de N y P, y su efecto como nutriente limitante en el suelo de bosque primario, bosque secundario, matorral y pastizal. El bosque primario muestra un mayor contenido de nutrientes como C_{org} , N_{tot} , y P_{tot} , pero el P_{dis} tiene una menor proporción que los suelos de pastizal y matorral.	China Karst subtropical
Hu <i>et al.</i> , 2016	Compara la relación C:N en suelos con distintos años de reforestación con <i>Toona sinensis</i> (árbol caoba), reforestado hace 4 años, reforestado hace 12 años y agrícola. Los suelos con mayor tiempo de reforestación tienen mayor cantidad de nutrientes como C_{org} y N_{tot} , y la relación $C_{\text{tot}}/N_{\text{tot}}$ es menor.	China Karst subtropical
Yun <i>et al.</i> , 2016	Evalúa el efecto de la lluvia ácida en suelos de cima de montaña, agrícolas y de bosque. Existe una mayor concentración de C_{org} en el suelo de bosque comparado con el agrícola y de cima de montaña.	China Karst subtropical
Knáb <i>et al.</i> , 2018	Compara suelos al NE y O de Hungría en un leptosol réndzico. En el NE de Hungría el contenido de N_{tot} y CaCO_3 fue más alto, comparado con aquel en el O.	Hungría Karst subtropical
Liao <i>et al.</i> , 2018	Estudio de una cronosecuencia de reforestación de suelo. De suelo agrícola >50 años con <i>Zea mays</i> (maíz) y <i>Ipomea batatas</i> (camote), y suelo reforestado de 5, 10 y 20 años por fresno espinoso. Hubo mayor concentración de nutrientes a mayor tiempo de reforestación como C_{org} , N_{tot} , P_{tot} y S total (S_{tot}), mientras que, el P_{dis} fue más alto en el sistema agrícola. La proporción de C:N fue menor en los suelos con mayor tiempo de reforestación.	China Karst subtropical

Tabla 1. Algunos estudios de suelos kársticos (*Continuación*).

Referencia	Aportaciones del estudio y resultados	País
Pajares <i>et al.</i> , 2018	Compara suelo negro y rojo de un bosque tropical. El suelo negro presentó mayor concentración de C_{org} , N_{tot} y P_{tot} , con una CIC también mayor en comparación con los suelos rojos. Mientras que, la relación C:N fue más pequeña en los suelos negros que en los rojos.	México Karst Tropical
Chen <i>et al.</i> , 2019	Determinación de la concentración de nutrientes en suelo de bosque secundario, matorral, pastizal y agrícola. El bosque secundario, muestra un mayor contenido de nutrientes como C_{org} , N_{tot} , y con una relación C:N más pequeña que los demás sistemas. Sin embargo, el P_{dis} fue mayor en el suelo agrícola.	China Karst subtropical
Xue <i>et al.</i> , 2020	Estudia distintos grados de perturbación en suelo de bosque primario, bosque secundario, reforestado > 6 años y agrícola con cultivo de <i>Brassica napus</i> (canola) y <i>Zea mays</i> (maíz). El bosque primario tuvo mayor contenido de C_{org} , N_{tot} , y P_{tot} . La proporción de C:N fue menor en los suelos de bosque primario en comparación con los reforestados, agrícola y bosque secundario.	China Karst subtropical
Alexakis <i>et al.</i> , 2021	Observa diferencias por la distribución espacial del suelo agrícola, urbano y de humedal. La textura de los tres tipos fue diferente, asimismo, la capacidad de intercambio catiónico (CIC) fue muy variable .	Grecia Karst subtropical
Zhu <i>et al.</i> , 2021	Compara suelos de bosque kárstico y no kárstico. Hay una mayor concentración de C_{org} , N_{tot} , S_{tot} , Ca y Mg en suelo de origen kárstico, pero el P_{dis} y K_{dis} (K disponible) fue mayor en el no kárstico. La relación C:N fue mas baja en el suelo kárstico, al igual que la DA (densidad aparente).	China Karst Tropical

En lo que concierne la caracterización microbiológica de los suelos kársticos, estos estudios han surgido de forma más recientes, donde los suelos kársticos presentan una comunidad microbiana más heterogénea que los suelos de origen no kárstico (Beng y Corlett, 2019). Sin embargo, es necesario continuar con estos esfuerzos para conocer la estructura de la comunidad microbiana y cuáles son los procesos clave que podrán ayudar a entender su historia de vida.

El presente estudio se centra en los suelos kársticos de bosque primario, los cuales se han visto que tienen un mayor contenido de C orgánico (C_{org}), N total (N_{tot}) y P total (P_{tot}) que los suelos no kársticos; sin embargo, el P disponible (P_{dis}) se encuentra en menores proporciones en los suelos kársticos que en los no kársticos. Asimismo, los suelos kársticos de bosque primarios tienen una relación C:N más pequeña (*i.e.*, 10 a 18) en comparación con

otros suelos kársticos (Hu *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2018; Pajares *et al.*, 2018) (**Tabla 1**). Es sabido que la relación C:N puede influir en la tasa de descomposición de la materia orgánica, el ciclo de nutrientes, la estructura del suelo y en la estructura de la comunidad microbiana (Schaetzl y Thompson, 2015; Wan *et al.*, 2015). Esto significa que cuando las proporciones C:N del suelo son de 10 a 18 existe mayor proporción de nitrógeno, lo cual ayuda a que la actividad microbiana sea mayor que en suelos con deficiencia de este nutriente, y por ende los primeros tienden a mostrar una mayor tasa de descomposición de la materia orgánica que aquellos con una relación C:N > 30. Así, la relación C:N con valores 10 a 18 en bosques primarios, se considera adecuada para el desarrollo saludable de los suelos y las plantas, ya que favorece la productividad primaria y la actividad microbiana.

4.2. El karst en México y sus suelos

Gran parte del territorio mexicano se encuentra sobre rocas kársticas que aproximadamente ocupan un área de 391 700 km² (Gunn, 2004), las cuales están conformadas principalmente de calizas y, en menor proporción, yeso (Espinasa-Pereña, 2013). Existen diferentes zonas y edades de formación geológicas del karst en México. Las zonas más antiguas pertenecen al Paleozoico y están ubicadas hacia el noroeste del país, representando una baja proporción de terreno a nivel nacional. El karst del Mesozoico (Jurásico-Cretácico) se encuentra presente en la Sierra madre Oriental, Sierra madre del Sur, Sierra de Chiapas y la Sierra de Juárez y por último, la zona más joven pertenece al Cenozoico (Paleógeno-Cuaternario) y se encuentra en la plataforma de la península de Yucatán (Espinasa-Pereña, 2007; **Fig. 2**).

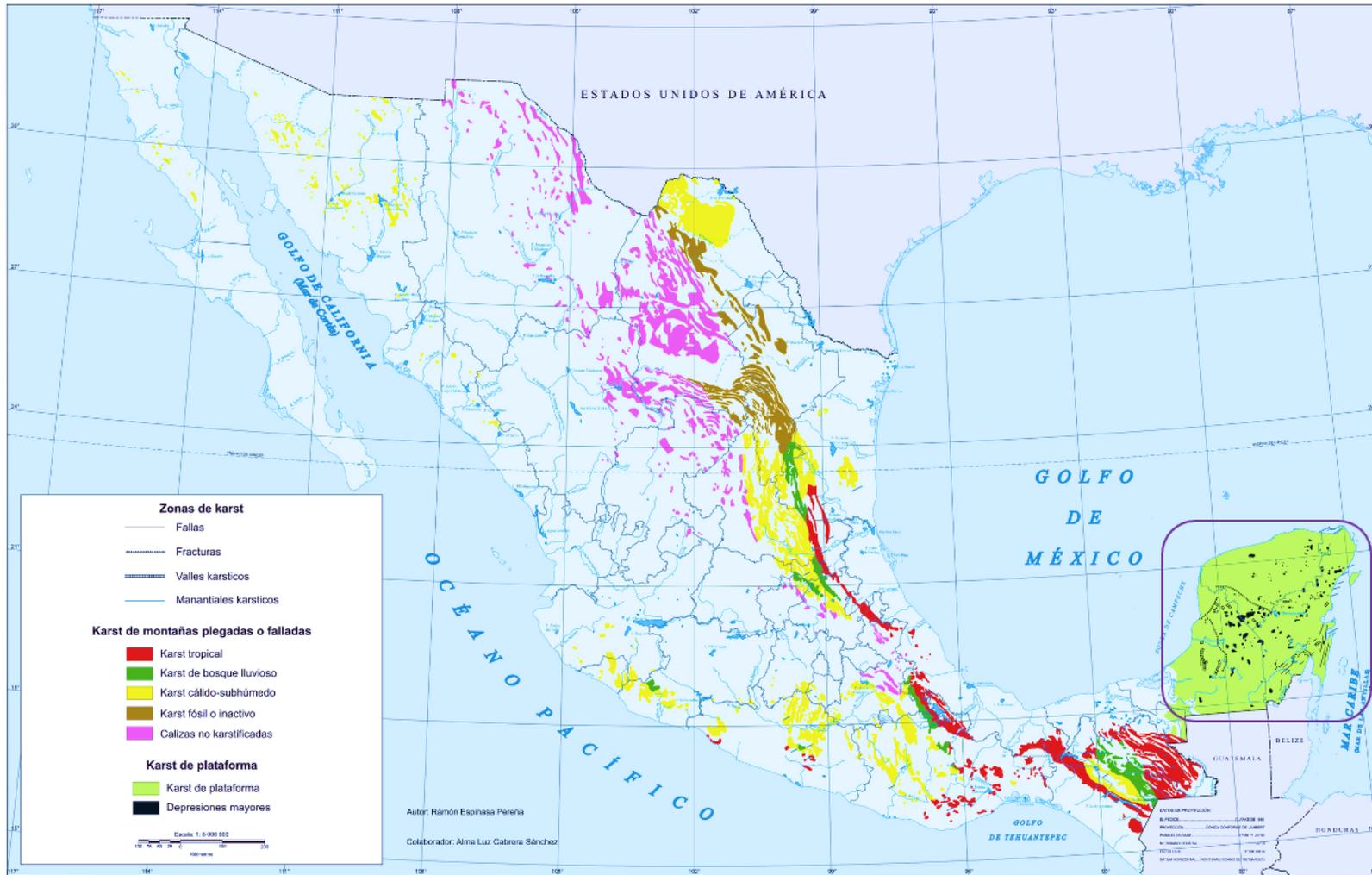


Figura 2. Distribución del karst en la República Mexicana. El rectángulo en morado señala la zona de la península de Yucatán. Tomado y modificado de Espinasa-Pereña, R. (2007).

La península de Yucatán es una plataforma de carbonatos parcialmente emergida, la cual ha sufrido variaciones del nivel del mar desde el Cretácico, siendo visible la superficie actual en el Cuaternario (Lugo y Brown, 1992; Lugo y García, 1999; Padilla y Sánchez, 2007). Se han reportado tres periodos distintivos del levantamiento de la plataforma acotado a tres regiones: i) antigua de 5.3 millones de años, ii) intermedia de 3.6 millones de años, y iii) joven de 18 000 años (Bautista *et al.*, 2011). Esta plataforma se sitúa sobre una estructura sedimentaria Terciaria con algunos depósitos del Cuaternario, compuestos principalmente de calcita, dolomita y yeso (Ordoñez-Crespo y García-Rodríguez, 2010; Fragoso-Servón *et al.*, 2017). La actividad endokárstica y epikárstica pueden dar origen a la formación de dolinas por la disolución de la roca caliza, debido a la infiltración del agua por grietas o fisuras en regiones interiores. En México, a las dolinas colapsadas que contienen agua, se les conoce como cenotes (Aguilar *et al.*, 2016).

El origen del suelo en la península de Yucatán ha sido un tema constante de discusión en las últimas décadas. Aunque el territorio yace principalmente sobre rocas calizas, se ha mencionado que el principal material parental autóctono del suelo es el sedimento marino que emergió junto con la plataforma en el Cuaternario (Cabadas *et al.*, 2010). Más recientemente, se ha propuesto que diferentes materiales alóctonos como residuos volcánicos que contienen ilita, caolinita, esmectita y clorita, así como polvo proveniente del desierto del Sahara también intervienen en el desarrollo del suelo en la península (Sedov *et al.*, 2007; 2008; Bautista *et al.*, 2011). El suelo de la zona también es retroalimentado con el material vegetal de árboles y arbustos, aunado a ello, hay otros factores que intervienen en el intemperismo y formación del suelo como la alta precipitación pluvial de la zona, los cuales que contribuyen a una química particular del suelo del área (Pajares *et al.*, 2016).

En la península de Yucatán, se registran varios tipos de suelos como las rendzinas o suelos negros (aquí mencionados como leptosoles réndzicos), los suelos rojos, los pedosedimentos en bolsas kársticas y los Calcisoles hidrogénicos en humedales (Cabadas-Báez *et al.*, 2010a, 2010b; Sedov *et al.*, 2008; Solleiro-Rebolledo *et al.*, 2011). Los suelos negros de la península de Yucatán están ampliamente distribuidos en el territorio y suelen tener un contenido de MO del 10-20%, y de C_{org} del 79-295 g/kg suelo seco (ss) (Sedov *et al.*, 2007; Delgado-Carranza *et al.*, 2017). El contenido de N_{tot} se ha reportado entre 11-14 g/kg de ss (Estada-Medina *et al.*, 2016; Pajares *et al.*, 2018); por lo que su relación C:N es

de 10 a 45. Asimismo, en el suelo de la península se han reportado valores de P total de 310-830 mg/kg (Estada-Medina *et al.*, 2016; Pajares *et al.*, 2018), mientras que, el P disponible se ha reportado alrededor de 7.35 ppm (Sedov *et al.*, 2007). Conocer el nutriente limitante de estos suelos es tema de debate constante y será discutido más adelante (véase la sección 10.1).

4.2.1 Rendzinas

Dentro de los muchos tipos de suelos que se llegan a entonces desarrollar en los sistemas kársticos, están las rendzinas. Las rendzinas son suelos someros, fértiles y con un alto contenido de carbonatos heredados del material parental (Abakumov, 2023), y su nombre deriva de la clasificación de la FAO (Food and Agricultural Organization). Mientras que, para la WRB (World Reference Base, IUSS), las rendzinas están incluidas dentro de los leptosoles réndzicos cuando éstos no superan los 25 cm de profundidad. Las rendzinas son un tipo de suelo muy común en México, incluyendo sitios como la Sierra Madre Oriental o la península de Yucatán.

En la península de Yucatán, las rendzinas reportadas tienen poco espesor, contienen un alto porcentaje de arcilla de entre 80 a 93 % y presentan un alto grado de meteorización con una matriz completamente lixiviada (Sedov *et al.*, 2008). Algunas otras características de estos suelos incluyen su color al ser oscuros, entre las gamas de café grisáceo a negro, tienen una estructura granular bien desarrollada con alto grado de bioperturbación, un pH neutro a alcalino, un alto contenido de MO (25%), un contenido variable de Fe_d (hierro extraído con ditionito-citrato-bicarbonato) de 0.7 a 5%, y donde se encuentran libres de carbonatos primarios (Schaetzl y Anderson, 2005; Sedov *et al.*, 2008; Cabadas-Báez *et al.*, 2010a). En los análisis micromorfológicos, los suelos réndzicos pueden mostrar gránulos o áreas de pigmento color rojizo por la presencia de óxidos de hierro, abundantes fragmentos de tejido vegetal en diferentes estados de descomposición, presencia de coprolitos y una fracción mineral rica en material fino arcilloso, dominado por arcilla de tipo vermiculita (Krasilnikov *et al.*, 2013; Sedov *et al.*, 2008). El principal factor formador de suelos réndzicos en la península de Yucatán está asociado al régimen de lluvias debido al clima cálido subhúmedo, y su principal proceso pedogenético es la disolución de la caliza (Bautista *et al.*, 2011).

4.3. El karst y los suelos del estado de Quintana Roo

En la península de Yucatán se encuentra el estado de Quintana Roo, el cual posee alrededor de 35 000 km² de áreas kársticas (Kueny y Day, 2002). Las observaciones en la geología, relieve, hidrología y suelos del estado han evidenciado que se trata de un terreno heterogéneo (Fragoso-Servón *et al.*, 2014). Además de esta variabilidad en el territorio, el estado alberga 19 áreas naturales protegidas, que representan aproximadamente un 25% del territorio estatal, acorde a los datos del Sistema Nacional de Áreas Protegidas (SINAP) en el 2018 (<https://www.gob.mx/conanp/>). Consecuentemente, el estado no es solo un sitio de geodiversidad, sino también de biodiversidad (Geekiyanage *et al.*, 2018).

En el estado de Quintana Roo se han descrito seis ambientes geomorfológicos, con diferentes tipos de suelo y vegetación (**Tabla 2**) (Schultz, 2005; Fragoso-Servón *et al.*, 2017; Fragoso-Servón *et al.*, 2019).

Tabla 2. Ambientes geomorfológicos, tipo de suelo y vegetación que se han descrito en el estado de Quintana Roo.

Ambientes geomorfológicos	Suelo	Vegetación
Litoral paludal, pseudopaludal, tectokarst, karst y karst de yeso	Leptosol, gleysol, phaeozem, vertisol, luvisol, cambisol, solonchak, histosol, arenosol, nitisol, calcisol, kastanozem, regosol y fluvisol.	Selva mediana, bosque secundario, tinal, sabana y vegetación acuática

Así, los suelos del estado de Quintana Roo muestran una gran edafodiversidad, sin embargo, su distribución y área de extensión en el estado es de manera diferencial como se observa en la **Tabla 3**. Los suelos del tipo leptosol son los que tienen un mayor predominio con aproximadamente un 48% del área total estatal (Fragoso-Servón *et al.*, 2017), seguidos por los gleysoles y los phaeozems con un 15 y 11%, respectivamente. Así, los leptosoles son los más representativos del estado, por ser los mayormente distribuidos, siendo éstos delgados y pedregosos en este territorio.

Tabla 3. Porcentaje del área ocupada de los tipos de suelos en Quintana Roo (Fragoso *et al.*, 2017).

Tipo de suelo	Área del estado (%)
Leptosol	48.47
Gleysol	15.47
Phaeozem	11.38
Vertisol	7.46
Luvisol	5.50
Cambisol	5.04
Otros	5.86

Los leptoles son un tipo de suelo que se encuentra distribuido alrededor del mundo, tanto en regiones kársticas, como no kársticas. La base mundial de referencia para los recursos del suelo (WRB, por sus siglas en inglés de *World Reference Base for Soil Resources*) define a un leptosol como un suelo somero, con roca continua a ≤ 25 cm de la superficie del suelo. Así, los leptoles son los suelos más comúnmente distribuidos en el mundo, con un 12% y que en México ocupan hasta un 24% del área total del país (UNESCO, 1993; INEGI, 2008), siendo mayormente encontrado en la península de Yucatán.

Los leptoles réndzicos son aquellos que se desarrollan en un material calcáreo, contienen un gran porcentaje de arcillas (80-90%), son de color oscuro, con alto contenido de C_{org} , y un contenido muy variable de Fe (Krasilnikov *et al.*, 2013). A nivel mundial, los principales leptoles réndzicos reportados se encuentran en China o países europeos, es decir, en áreas subtropicales, por lo que su estudio en zonas tropicales ha sido más limitado. Sin embargo, a la fecha, no existe un censo de qué porcentaje del área mundial representan los leptoles réndzicos.

Así, el tipo más frecuente de suelo en el estado de Quintana Roo es el correspondiente al leptosol (**Tabla 3 y Fig. 3**). Este grupo de suelo puede ser encontrado en cinco de los seis ambientes geomorfológicos descritos por Fragoso y colaboradores (2019). Diversos debates se han hecho sobre la formación de suelos en la península de Yucatán, sin embargo, no se ha podido llegar a un consenso general. Se ha observado que estos suelos son ricos en caolinita bien cristalizada (Isphording, 1978), lo que demuestra un alto grado de meteorización.



Figura 3. Perfil de un leptosol representativo del estado de Quintana Roo, México. Se puede observar un horizonte orgánico O, un horizonte A y un horizonte A/C donde se aprecian material rocoso de la roca madre

4.4. El suelo, agentes formadores y características

El suelo es uno de los ecosistemas más diversos y ricos en microorganismos (Bao *et al.*, 2017). Existen varias definiciones de qué es un suelo, y una de las más comunes lo define como la capa superior de la corteza terrestre donde se desarrollan las raíces de plantas. Sin embargo, esta definición es un poco simplista y deja de lado un componente muy importante dentro de estos ecosistemas terrestres que son los microorganismos (Buscot y Varma, 2005). Podemos decir que, el suelo es un componente clave para la regulación de los sistemas terrestres, en el que existe un intercambio de materia y energía constante donde se ven involucrados diferentes ciclos como los del agua, carbono y otros ciclos biogeoquímicos (Luo *et al.*, 2016; Dai *et al.*, 2019).

La formación de suelo actualmente aceptada involucra cinco factores fundamentales que son el relieve, clima, biota, tiempo y material parental, aunque existen otros que pueden llegar a ser relevantes (*e.g.*, factor humano) (Dror *et al.*, 2021).

a) Material parental

El material parental es la base para el desarrollo del suelo, el cual generalmente es una combinación de materiales provenientes de dos fuentes principales: el lecho rocoso meteorizado (material autógeno), y de material geológico transportado (material alóctono) ya sea por agua, viento o gravedad (Dror *et al.*, 2022).

b) Relieve

La pendiente y la dirección del relieve influyen en la intensidad de radiación solar y temperatura en distintos puntos de la pendiente, lo que afecta los procesos químicos y biológicos (Seibert *et al.*, 2007). Asimismo, el efecto que tiene la topografía es más pronunciado en suelos jóvenes con sinuosidad, que en suelos viejos y nivelados.

c) Tiempo

La formación de suelo es un proceso a largo plazo; éste es, la meteorización o degradación que va teniendo el material parental en diferentes condiciones climáticas a través del tiempo geológico (miles de años) (Dror *et al.*, 2017).

d) Clima

La meteorización física que sufre el material parental está dada por el clima, principalmente ligado a la temperatura y precipitación. La precipitación produce además cambios en las propiedades del suelo como el pH, disposición de nutrientes, así como en las propiedades biológicas que determinan en gran parte las reservas de C (Kramer y Chadwick, 2018). Un ejemplo de cómo la precipitación y temperatura influyen en el suelo, es con la productividad primaria neta, la cual puede variar de 300 ha/año en climas áridos a 8000 ha/año en climas húmedos y templados (Doetterl *et al.*, 2015)

e) Biota

El papel de los microorganismos es muy relevante ya que de éstos son los principales responsables de las transformaciones biológicas que se dan en el suelo, así como del almacenamiento de nutrientes como C, N, P y S, entre otros, y que facilitan la sucesión ecológica de plantas. Los microorganismos forman interfases biogeoquímicas con la matriz del suelo moldeando su propio ambiente (Schulz *et al.*, 2013). Así, los procesos biológicos, físicos y químicos están altamente interconectados en la formación del suelo. Para los

microorganismos del suelo, los factores más relevantes que afectan la estructura de su comunidad son: i) a nivel continental el clima (temperatura y régimen de lluvia/humedad), y la composición del material parental y del suelo formado; y ii) a nivel local, se han encontrado factores como el pH, nutrientes, humedad, composición catiónica, la vegetación local, entre otros (Urbanová *et al.*, 2015; Lladó *et al.*, 2018).

Los factores como tipo de material parental, el relieve, y el tiempo –visto como el tiempo geológico de formación del área formación de suelo–, se consideran interzonales. Mientras que, el clima y la biota son zonales, y son más susceptibles a cambios en la escala de tiempo cortas geológicamente hablando; por ejemplo, éstos son altamente susceptibles al cambio climático actual que observamos, al haber cambios de temperatura ambiental o cambios en el régimen de lluvias estacionales (Kimeklis, 2021). Por ello, la parte antrópica está teniendo un mayor o menor impacto en cada uno de estos elementos.

En los suelos kársticos, los procesos de formación de suelo se diferencian altamente de aquellos no kársticos, ya que el intemperismo del material parental (carbonatos) resulta en su disolución, lo cual deja pocas trazas de estos materiales, como lo son impurezas. Así, los agentes formadores del suelo kárstico responden principalmente a la acumulación de material orgánico e inorgánico, como material vegetal, o minerales alóctonos como cenizas o silicatos que arriben por deposición atmosférica. Para los suelos de la península de Yucatán, la génesis de los suelos ha sido tema de constante debate, donde se ha sugerido el papel de la aportación de sedimento marino cuando la plataforma emergió, y más recientemente, cenizas volcánicas por el volcán “El Chichón” y polvo desértico del Sahara (Sedov *et al.*, 2007, 2008; Cabadas *et al.*, 2010; Bautista *et al.*, 2011); además del reciclaje del material vegetal que ocurre constantemente.

4.5. Los microorganismos del suelo: funciones y relaciones ecológicas

El suelo es uno de los ecosistemas más diversos y ricos en microorganismos (Bao *et al.*, 2017). Podemos decir que, el suelo es un componente clave para la regulación de los sistemas terrestres, en el que existe un intercambio de materia y energía constante donde se ven involucrados diferentes ciclos como los del agua, carbono y otros ciclos biogeoquímicos (Luo *et al.*, 2016; Dai *et al.*, 2019).

Todos estos procesos son altamente dependientes de los microorganismos que los regulan, y éstos representan una cantidad importante de biomasa para el ecosistema, además de ser muy activos metabólicamente. En los suelos, la aportación de biomasa y actividad bacteriana es algunas veces superada por la biomasa y actividad fúngica, sobre todo en la descomposición primaria de los componentes principales de las plantas, como la celulosa (Bailey *et al.*, 2002). Sin embargo, en suelos con un alto número de células fúngicas, éstas suelen ser las principales promotoras de la degradación de los polímeros vegetales complejos. Por ejemplo, los hongos suelen formar hifas que se extienden entre los poros del suelo promoviendo la descomposición de los polímeros de las plantas o en otros casos, el intemperismo de rocas y minerales (Fenchel *et al.*, 2012). Por su parte, las bacterias y arqueas cuentan con una mayor diversidad y tasa metabólica, además de que existen ciertos procesos que son exclusivos de los procariontes como la metanogénesis, la oxidación de metano, la fijación de nitrógeno, la nitrificación, entre otras (Falkowski *et al.*, 2008). Estos son procesos clave para los ciclos biogeoquímicos, y en cuestión de capacidad de transformación de materia y energía, llegan a ser a veces más relevantes que aquellos realizados por los microorganismos eucariontes (Fenchel *et al.*, 2012).

Una propiedad importante dentro de las comunidades microbianas, tanto procariontes como eucariontes, son las interacciones que existen dentro de ellas e inclusive con macroorganismos como las plantas. Estas interacciones se suelen clasificar en positivas o negativas (Willey *et al.*, 2011), y otras de tipo neutras. Una de las más importantes y estudiadas es la simbiosis que sostienen las bacterias fijadoras de N₂ con las raíces de plantas leguminosas, donde ambas partes se benefician (Bala *et al.*, 2003). En las interacciones negativas se encuentra la predación, donde algunas bacterias pueden hacer estructuras de anclaje hacia otras células (Wang *et al.*, 2020a), y eventualmente las lisan (**Tabla 4**). Asimismo, el proceso de lisis puede ser por la secreción de metabolitos secundarios en los que se incluye la producción de enzimas líticas, antibiótico, entre otros (Pérez *et al.*, 2016).

Tabla 4. Bacterias del suelo con mecanismos de predación (Pérez *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2020a).

Bacterias predadoras	Clase/Filo
<i>Myxococcales</i>	Deltaproteobacteria/Proteobacteria
<i>Bdellovibrionales</i>	Deltaproteobacteria /Proteobacteria
<i>Herpetosiphonales</i>	Chloroflexia /Chloroflexi
<i>Cytophagaceae</i>	Cytophagia/Bacteroidetes
<i>Stenotrophomonas</i>	Gammproteobacteria /Proteobacteria
<i>Cupriavidus</i>	Betaproteobacteria /Proteobacteria
<i>Ensifer</i>	Epsilonproteobacteria /Proteobacteria
<i>Micavibrio</i>	Alphaproteobacteria /Proteobacteria
<i>Aristabacter</i>	Betaproteobacteria /Proteobacteria
<i>Streptomyces</i>	Actinobacteria /Actinobacteria
<i>Agromyces</i>	Actinobacteria /Actinobacteria

Por su parte, los modos de vida de los hongos se pueden dividir en tres principales: i) simbioses, ii) saprobios y iii) patógenos (**Tabla 5**). Estos modos de vida cumplen diferentes funciones dentro del ecosistema, y están altamente ligadas a factores como la diversidad de plantas del sitio, la humedad y la cantidad de materia orgánica del suelo, entre otros. Por ejemplo, las relaciones simbióticas y patogénicas tienen una relación específica con la especie vegetal, mientras que, las relaciones saprófitas dependen de la cantidad y tipo de material vegetal en descomposición (Nguyen *et al.*, 2016; Liao *et al.*, 2019).

Tabla 5. Ejemplos de funciones y servicios ecosistémicos que proveen los hongos (Quan *et al.*, 2015; Nguyen *et al.*, 2016; Liao, et al., 2019; Zhang *et al.*, 2020a; Del Álamo *et al.*, 2022).

Estilo de vida	Clasificación	Hongos asociados	Filo
Simbionte	- Micorrizas arbusculares	- Glomeromycota	- Glomeromycota
	- Ectomicorrizas	- <i>Tomentella</i> sp. - Pezizaceae	- Basidiomycota - Ascomycota
	- Endófitos de raíz	- Mortierellales	- Mortierellomycota/
	- Líquenes	- <i>Chaetothyriales</i> sp. / <i>Knufia</i> sp.	- Ascomycota
	- Briofitas	- Epibryaceae	- Ascomycota
Saprófito	- Saprófitos de madera	- <i>Mollisia</i> sp. / <i>Coniochaeta</i> sp.	- Ascomycota
	- Saprófitos no definidos	- Mortierellales	- Mortierellomycota
Patógeno	- Patógenos animales	- <i>Aspergillus</i>	- Ascomycota
	- Patógenos plantas	- <i>Alternaria</i> sp., <i>Phoma</i> sp.	- Ascomycota

En las relaciones simbióticas de plantas-hongos, las hifas de éstos últimos tienen mayor acceso a nutrientes y, por lo tanto, intervienen en el ciclaje de los nutrientes del suelo hacia la planta (Frąc *et al.*, 2018). Por ejemplo, la simbiosis más estudiada en hongos es aquella que se forma con las raíces de las plantas mediante una estructura conocida como micorriza. Dependiendo del sitio de interacción del hongo con la raíz de la planta, puede ser considerada como ectomicorriza o endomicorriza. En esta simbiosis, la planta proporciona fotosintatos (compuestos de C) para el hongo, mientras que, el hongo puede obtener agua y/o nutrientes (N y P) para la planta por su red de hifas que están en contacto con un mayor volumen de suelo (Maaroufi *et al.*, 2019).

Los hongos saprófitos degradan activamente MO para obtener C, contribuyendo a la descomposición de materiales orgánicos en el suelo, donde mayormente tienen un carácter de degradación celulolítico y de compuestos aromáticos recalcitrantes. La mineralización de estos compuestos orgánicos está directamente ligada a la dinámica de nutrientes en el suelo (Müller, 2020). Tanto los hongos saprófitos como las micorrizas liberan enzimas hacia el suelo que facilitan la obtención de nutrientes, por lo que se ha sugerido que estos hongos

tienen una competición directa con las ectomicorrizas por los nutrientes del suelo (Maaroufi *et al.*, 2019).

Los hongos patógenos pueden parasitar plantas, animales u otros hongos, por lo que funcionan como reguladores biológicos de las poblaciones. Algunas de las relaciones patogénicas de hongos del suelo se mencionan en la **Tabla 5**. Finalmente, las interacciones de los hongos son muy complejas, por lo que no han podido ser aclaradas del todo. Por ejemplo, algunos hongos pueden llegar a presentar estilos de vida duales como simbiote-saprobio o patógeno-saprobio, e inclusive los tres estilos de vida dependiendo de las condiciones ambientales, lo que vuelve difícil la interpretación correcta de sus funciones ecológicas (Zhang *et al.*, 2020a).

4.6. Factores fisicoquímicos que afectan la diversidad y composición microbiana

En una escala continental, los promotores clave de la composición, diversidad y metabolismo de las comunidades microbianas, son principalmente el tipo de suelo y los parámetros climáticos como la temperatura y la precipitación (humedad de los suelos). Mientras que, a nivel local las propiedades fisicoquímicas del suelo y la vegetación tienen un mayor impacto en la comunidad microbiana. A un nivel todavía más pequeño de apenas centímetros, los exudados de raíces y la heterogeneidad del suelo son fuertes contribuyentes en su distribución espacial y diversidad (Lladó *et al.*, 2018).

El pH es de las propiedades fisicoquímicas del suelo que mayormente que afectan la diversidad y estructura de las comunidades de procariontes y de hongos (Tedersoo *et al.*, 2014; Yun *et al.*, 2016). En suelos kársticos se ha visto que, a nivel local, el pH y la CE se correlacionan negativamente con la diversidad bacteriana y fúngica (Beng y Corlet, 2019; Zhou *et al.*, 2019). Asimismo, los hongos han mostrado una correlación positiva con la diversidad de las plantas (Peng *et al.*, 2019). Mientras que, a una escala más pequeña, es la heterogeneidad del suelo la que determina la diversidad microbiana (Peng *et al.*, 2019). Existen otros factores como el contenido de materia orgánica, carbono orgánico, salinidad, textura, disponibilidad de N, y otros, que pueden influir en la comunidad microbiana (Nacke *et al.*, 2011); sin embargo, serán discutidos más adelante.

Proteobacteria es uno de los grupos más esperados en suelos, ya que no solo tiene numerosos grupos que la componen, si no que estos sus grupos cuentan con una gran diversidad metabólica con procesos como la nitrificación, la oxidación de metano, la

heterotrofia, y la fotosíntesis anoxigénica, y otros (Van Der Heijden *et al.*, 2008; Plante *et al.*, 2015; Kaiser *et al.*, 2016). Otro grupo muy relacionado con el contenido alto de carbono en el suelo es Actinobacteria y Bacteroidetes; ambos grupos son fuertemente heterotróficos (Acosta-Martínez *et al.*, 2008). Contrariamente, Acidobacteria consume materia orgánica menos lábil, por lo que su abundancia disminuye en suelos con alto contenido de carbono lábil. Acidobacteria y Proteobacteria son grupos con alta diversidad dentro de su filo (Kuramae y de Assis-Costa, 2019). Así, en suelos forestales, se espera o se ha visto que dominan grupos bacterianos como Proteobacteria (Alphaproteobacteria y Betaproteobacteria), Acidobacteria y Actinobacteria.

Por su parte los hongos tienen menos representantes a nivel filo, en general Basidiomycota y Ascomycota son los dos grupos dominantes (Tedersoo *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2016). A nivel global su diversidad está influenciada por la latitud, mientras que, a nivel local, se encuentran influenciados por el pH del suelo y el contenido de nutrientes en el suelo, como es el C, N, P, K, así como la vegetación, entre otros. Su modo trófico a nivel global se ha visto que sigue la tendencia de saprobios (40%), mutualistas ectomicorrizas (20%), y patógenos (4%) (Tedersoo *et al.*, 2014).

4.7. Los microorganismos de los suelos kársticos

Existen pocos reportes que involucren a los microorganismos como objeto de estudio en suelos de origen kárstico y, de éstos, la mayoría se centran en ambientes templados. Estudios comparativos entre suelos kársticos y no kársticos sugieren que los primeros albergan una comunidad microbiana diferente, la cual se correlaciona con mayores valores de pH y mayores cantidades de Ca, Mg y P_{tot} (Beng y Corlet, 2019). Además, la estructura de comunidad microbiana de los suelos kársticos muestra mayor variabilidad que la de los no kársticos. Por ello, algunos estudios han determinado que las variaciones en la microbiota de suelos kársticos parecen estar más influenciadas por patrones espaciales y que tiene que ver con limitaciones por dispersión, más que por variaciones ambientales (Song *et al.*, 2018). Aun así, los factores ambientales son primordiales para entender la comunidad microbiana.

Otro factor importante en los suelos kársticos es el contenido C_{org} , el cual se ha visto que puede llegar a afectar a las comunidades microbianas, favoreciendo o disminuyendo la abundancia de ciertos grupos (Li *et al.*, 2018b). Entre otros factores que se han descrito como modificadores en la comunidad microbiana kárstica, se tienen la acidificación del agua (Yun

et al., 2016), la adición de biofertilizantes (Zhou *et al.*, 2019), y la salinización y la recuperación de suelos agrícolas abandonados (Hu *et al.*, 2016). Estos cambios en la estructura de la comunidad microbiana, también se reflejan en los procesos biogeoquímicos, por ejemplo, en la abundancia de genes funcionales asociados al ciclo del N (Li *et al.*, 2018c) y el P (Hu *et al.*, 2018b), entre otros.

En leptosoles réndzicos, luvisoles lépticos y phaeozems lépticos de Hungría se ha visto que los fila más representativos de bacterias estuvieron relacionados con Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi, Cyanobacteria, Acidobacteria, Verrucomicrobia, y Gemmatimonadetes, donde la abundancia de estos grupos se obtuvo a través de métodos de cultivo y moleculares (Knáb *et al.*, 2012, 2018). Otro estudio realizado en suelos de China con métodos de secuenciación masiva, reportaron 11 fila con una abundancia relativa > 1% en procariontes. De los ocho fila antes mencionados, este estudio no detectó a Cyanobacteria, pero si incluyó otros nuevos como Nitrospirae (Bacteria), Latescibacteria (Bacteria) y Thaumarchaeota (Archaea) (Song *et al.*, 2018). En el caso de hongos en suelos kársticos negros de China, se han reportaron como fila dominantes como Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota, Rozellomycota, Mucoromycota y Mortierellomycota (Wang *et al.*, 2021a; Beng y Corlett, 2019).

En México, hay algunos estudios sobre la diversidad microbiana en los suelos de la península de Yucatán. Ortega Fernández (2015) estudió la biomasa microbiana y su relación con el aumento de N, sin embargo, no menciona cuál es la diversidad microbiana de estos suelos. Posteriormente, Estrada-Medina *et al.* (2016) hizo una identificación microbiana con secuenciación masiva, pero este estudio sólo contempla un número limitado de muestras que no permite ver patrones de correlación y abundancia de la microbiota. Existe un reporte más reciente y completo por Pajares *et al.* (2018), donde se describe la abundancia relativa de los principales grupos de bacterias, la diversidad, el número de copias de 16S rRNA y de genes involucrados en el ciclo del N en suelos negros y rojos del estado de Yucatán. En este estudio se concluye que la heterogeneidad de los suelos y la lluvia estacional ejercen una fuerte influencia en la composición microbiana y sus funciones en estos suelos kársticos tropicales, probablemente a través de los atributos del suelo como el contenido de MO y su calidad, así como la disponibilidad del agua. Por lo tanto, es necesario continuar con los estudios de suelos y su microbiología en la península de Yucatán para generar más información y fortalecer el conocimiento de los suelos de este sistema kárstico en México.

4.8. Aproximaciones para el estudio microbiológico de los suelos

4.8.1. Actividad enzimática en suelo

Los componentes poliméricos del C, N y P en el suelo, provenientes de microbios, plantas y animales, son estructuralmente diversos, y romperlos implica una asociación de diferentes microorganismos. La despolimerización de estos compuestos seguida de una mineralización crea una base para las redes tróficas, relacionándose directamente con los ciclos biogeoquímicos del C, N y P (Burns *et al.*, 2013). Todas estas reacciones biogeoquímicas son llevadas a cabo por enzimas, por lo que cuantificar la actividad enzimática es una aproximación a las capacidades de los sistemas celulares de llevar un proceso en específico.

La actividad de las enzimas es comúnmente empleada como un indicador del crecimiento y de actividad microbiana del suelo y agua (Štursová y Baldrian, 2011; Brockett *et al.*, 2012; Velmourougane *et al.*, 2013). Estas enzimas pueden estar presentes o asociadas tanto a células vivas proliferantes como a no proliferantes; también pueden ser intracelulares o extracelulares localizándose en el citoplasma, periplasma, cerca de pared celular o en los restos de la célula. Asimismo, pueden permanecer inmobilizadas temporalmente en arcillas, coloides húmicos e incluso a residuos celulolíticos (Din, 1991). Por lo tanto, cuando se hace algún estudio de actividad enzimática su resultado se debe tomar como el potencial que tiene el suelo para realizar reacciones específicas y no siempre puede ser directamente ligada a la actividad microbiana (Nannipieri *et al.*, 2018).

Se pueden encontrar diferentes grupos de enzimas extracelulares cuya actividad dependerá de las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo (Shukla y Varma, 2010). La actividad de estas enzimas es clave para las funciones bioquímicas del suelo. Por ejemplo, son importantes para catalizar reacciones necesarias para los procesos vitales de los microorganismos, como la descomposición de residuos orgánicos, la formación de MO y el reciclaje de nutrientes (Chróst y Siuda, 2002).

En áreas kársticas se ha reportado que existe una mayor actividad enzimática en suelos de bosques primarios que en bosques secundarios, pastizales o agrícolas (Li *et al.*, 2014). Entre las propiedades del suelo que provocan más variaciones en la actividad enzimática se encuentran la humedad, el contenido de arcilla, N, y MO, así como el manejo de suelo (Pajares *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2017).

Algunas de las enzimas comúnmente estudiadas son: i) las involucradas en la obtención de C como la β -glucosidasa, la lipasa y la polifenol oxidasa, ii) para obtener P asimilable, como la fosfomonoesterasa; iii) la deshidrogenasa, como indicador de la actividad biológica y iv) las relacionadas con la obtención de N como la ureasa (Xiao *et al.*, 2018; Solís-Hernández *et al.*, 2022). A continuación, se describen las generalidades de algunas de estas enzimas y su relevancia en el suelo.

a) β -glucosidasa (β -GLU)

Es una de las enzimas más comunes y predominantes del suelo. Su importancia radica en la obtención de C lábil y fuentes de energía del suelo para las comunidades microbianas. La actividad β -GLU es importante en el ciclo del C ya que esta enzima cataliza el paso final del rompimiento de la celulosa a monómeros de glucosa (Luo *et al.*, 2017). Esta enzima es sensible a los cambios de pH y a las prácticas de manejo del suelo, y su actividad también se puede ver inhibida ante la presencia de metales pesados (Shukla y Varma, 2010). En suelos kársticos se ha observado que la actividad de β -GLU es más alta en bosques primarios que en bosques secundarios, suelos con vegetación de matorral o suelo agrícola abandonado (Guo *et al.*, 2019).

b) Lipasa en butirato (LIP)

Las lipasas catalizan la hidrólisis de triacilgliceroles a glicerol a ácidos grasos libres, y sólo se activan cuando se adsorben a una interfaz aceite-agua, ya que no hidroliza los sustratos en fluidos acuosos. La reacción dependerá mucho entonces del contenido de agua y de la naturaleza del solvente orgánico utilizado (Chowdary y Prapulla, 2002). La actividad de lipasas se ha encontrado en hongos, y bacterias como los actinomicetos (Shukla y Varma, 2010).

c) Polifenol oxidasa (POX)

Esta enzima es una monooxigenasa con un núcleo doble de Cu que cataliza la oxidación de fenoles a quinonas altamente reactivas usando oxígeno molecular (Burton, 2003; Cheema *et al.*, 2015). La inhibición de esta enzima se da por bajas concentraciones de oxígeno, por estar debajo de una humedad óptima para la actividad en el suelo, el aumento de temperatura o por la adición de N y P (Shukla y Varma, 2010; Xiao *et al.*, 2018). La fuente principal de esta

enzima son los hongos, aunque se distribuye también en plantas y bacterias, participando dentro del ciclo del C, obteniendo C lábil de fuentes complejas de carbohidratos. La actividad de esta enzima decrece con la profundidad en la columna de suelo, con el decremento de la biomasa microbiana y el contenido de MO (Mayer, 2006). La actividad reportada para zonas kársticas indica que los bosques primarios pueden tener valores similares a los encontrados en suelo de cultivo con pendiente, y que ambos son más altos a los encontrados en bosques secundarios, áreas de matorral y suelo de cultivo abandonado (Guo *et al.*, 2019).

d) *Fosfomonoesterasa (FOM)*

Esta enzima pertenece a las fosfatasas que catalizan la hidrólisis de ésteres y anhídridos fosfomonoesterasa a fósforo inorgánico, el cual puede ser tomado por diferentes organismos como las plantas (Shukla y Varma, 2010). Dependiendo del pH, se clasifican en ácidas, neutras y alcalinas. Las dos primeras se han detectado en animales, plantas y microorganismos; mientras que, las alcalinas sólo en microorganismos y animales. Esta enzima es importante en el ciclo del P ya que lo rompe la unión éster generando iones fosfato disponible para su asimilación. Las fosfatasas son enzimas ricas en N por lo que se ha observado que un aumento en el N del suelo promueve la actividad de estas enzimas. Por el contrario, el aumento de P_{dis} disminuye la actividad de la FOM (DeForest *et al.*, 2012; Marklein y Houlton, 2012).

e) *Deshidrogenasa.*

Se usa comúnmente como un indicador de la actividad biológica dentro de un suelo, ya que sólo ocurre cuando la célula se encuentra viva y se inactiva rápidamente ante la lisis del organismo (Nannipieri *et al.*, 2018). Esta enzima oxida la MO al transferir protones y electrones de los sustratos hacia aceptores electrónicos. La determinación de la actividad de esta enzima se hace a través del trifeniltetrazolium cloruro (TTC) como sustrato, que en ausencia de oxígeno actúa como receptor de electrones. La determinación de su actividad constituye una medida de actividad microbiana aerobia en el suelo (Alef y Nannipieri, 1995). En experimentos, su actividad enzimática se ha correlacionado directamente con el contenido de la MO, y el contenido de C y N en la masa microbiana (Yang *et al.*, 2019).

4.8.2. Cuantificación y secuenciación de marcadores moleculares (16S rRNA, ITS)

Una parte importante de la microbiología ambiental es conocer qué tipo de microorganismos se encuentran en cierta muestra. Las primeras técnicas para lograr este objetivo fueron mediante el cultivo y aislamiento de microorganismos en medios selectivos o sistemas de enriquecimiento, para luego hacer pruebas bioquímicas o de actividad. Sin embargo, con el advenimiento de la secuenciación del DNA (1970s), se comenzaron a emplear estas secuencias para estimar la filogenia de los microorganismos, la cual ayuda a develar su parentesco con otros. La principal limitante de estos estudios es la capacidad de formular medios y tener las condiciones para cultivar a los microorganismos, ya que se estima que menos del 1% de los microorganismos en el ambiente son cultivables (Torsvik y Øvreås, 2002). Actualmente, se puede estudiar a las comunidades microbianas de muestras ambientales a través de la amplificación y secuenciación de marcadores moleculares, estrategia conocida como *metabarcoding* o *amplicon sequencing*.

Los marcadores moleculares más utilizados son los provenientes del DNA, ya sean fragmentos de secuencias o genes conocidos. Desde la década de los 1970s, trabajos como el de Woese y Fox (1977) demostraron la ventaja de emplear estos marcadores, en específico del gen 16S rRNA. Esta sección ribosomal sirve como clasificador molecular, además de que se comparte entre bacterias y arqueas. Aunque en un principio este marcador se usó en cepas cultivadas, en la actualidad se utiliza para la identificación de procariontes en general, tanto en cepas cultivadas, muestras enriquecidas o muestras ambientales (Case *et al.*, 2007). En el caso de los hongos el marcador molecular principal es el ITS (*Internal Transcribed Spacer*), el cual se ha usado ampliamente en las últimas décadas para su identificación filogenética (Tekpinar y Kalmer, 2019).

Las técnicas de secuenciación que se usaban en la época de Woese (*ca.* 1977) eran de tipo Sanger, también conocida como de primera generación. Este tipo de secuenciación se hacía y se hace, generalmente con secciones relativamente largas de los genes, considerando hasta casi 1000 pb en una secuenciación, aunque los primeros ensayos fueron en secuencias de 100 pb. Su principal desventaja para estudios de diversidad microbiana radica en una baja obtención de secuencias por tiempo, es decir, sólo se puede secuenciar un fragmento al mismo tiempo, lo que implica que es relativamente costoso para estudios de diversidad. Sin embargo, en las últimas dos décadas, se ha implementado la secuenciación de segunda generación, que puede generar cientos de miles de reacciones en paralelo, incrementando el

número de secuencias, sólo que usan secciones más cortas de los genes (~350 pb). La gran cantidad de secuencias que se generan hace que se reduzca al final el costo por secuencia obtenida. Por esta razón, en el caso de genes como el 16S rRNA (~1500 pb), se deben priorizar regiones del gen que den la mejor información filogenética. Dentro de estas regiones, las más recomendadas son las regiones V4, V5 y V6 (Yang *et al.*, 2016). De estas tres regiones, la V4 es la que cuenta con un mayor tamaño (~290 pb) e información variable, por lo que la comparación de secuencias sigue siendo confiable. El otro gran beneficio de este tipo de secuenciación es la cantidad de bases de datos reportadas, la cual ha aumentado exponencialmente (Gifford *et al.*, 2011).

Una de las técnicas moleculares que se apoya en la secuenciación de segunda generación es el *metabarcoding*, que ha sido la técnica predominante para estudiar la diversidad y estructura microbiana (Shahsavari *et al.*, 2016). Existen varias plataformas para llevar a cabo dichos estudios, como Illumina HiSeq y MiSeq, que llevan ventaja sobre otras por su balance entre calidad y costo (Caporaso *et al.*, 2012). De estas dos, MiSeq es una plataforma más amigable para equipos de cómputo no especializados, es capaz de hacer 25 millones de lecturas en secuencias de hasta 300 pb, generando aproximadamente 15 Gb de información en 65 horas (Buermans y Dunnen, 2014), por lo tanto, es la preferida en protocolos para exploración del microbioma, tanto en humanos como en sistemas ambientales, como se ha mencionado en los protocolos del *Earth Microbiome Project* (<https://earthmicrobiome.org/>).

5. Planteamiento del problema y justificación

Planteamiento

La mayor diversidad de organismos vivos en el planeta se encuentra en los microorganismos del suelo, los cuales son un componente clave para los ciclos biogeoquímicos y llevan procesos clave como la degradación de materia orgánica, nitrificación, fijación de nitrógeno, etc., (Kim *et al.*, 2021). En los últimos años, conocer la diversidad y composición de las comunidades microbianas ha ayudado a: i) entender la gran diversidad que albergan los suelos, y ii) que la presencia y abundancia de ciertos microorganismos son indicadores de la actividad del suelo. Por ello, conocer la diversidad genotípica y la asociación taxonómica de los microorganismos de los suelos nos ayuda a entender los procesos que se pueden realizar, como parte del potencial genético y biogeoquímico de estos ecosistemas que sostienen el crecimiento vegetal.

La microbiología de los suelos kársticos tropicales ha sido poco estudiada a nivel mundial. En América, la península de Yucatán representa el terreno kárstico más extenso del continente, donde Quintana Roo es un área con alta actividad turística, que –de acuerdo con la Secretaría de Turismo–, recibe anualmente hasta 3.3 millones de turistas, cuyo tiempo de permanencia es de horas, hasta semanas (Sectur, 2014). En las últimas tres décadas se ha reportado un incremento alto y constante en la densidad poblacional de Quintana Roo, lo que ha llevado a que sus recursos edáficos e hídricos se encuentren en un mayor riesgo cada día. Por ende, la vulnerabilidad de los delgados suelos kársticos se incrementa con las presiones antrópicas derivadas de los cambios en el uso de suelo de la zona. Los leptosoles rednzcicos cubren la mayor área del Estado de Quintana Roo comparando con otros tipos de suelo, siendo los del NE de este estado los más afectados por las actividades antrópicas

Asimismo, el agua se infiltra a través del epikarst a capas subsuperficiales, por lo que en esta zona de transición los procesos microbianos son muy activos. Consecuentemente, el componente microbiano de los suelos kársticos juega un papel importante en los procesos biogeoquímicos, y por ello, en la transformación de los elementos, nutrientes y/o contaminantes de los ecosistemas. Por lo tanto, conocer la composición de esta comunidad microbiana, y cuáles son sus capacidades biogeoquímicas se vuelve vital para entender su importancia en la protección de las funciones del suelo, particularmente en la península de Yucatán. Por ello, la pregunta central a desarrollar en esta tesis de doctorado fue:

- ¿Cuál es la estructura y diversidad microbiana de los leptosoles réndzicos desarrollados en un sistema kárstico tropical y cuáles son los posibles roles que están jugando dentro del ecosistema?

Asimismo, surgen preguntas secundarias como:

- ¿Cuáles son las características fisicoquímicas de los suelos en estudio?
- ¿Qué grupos de bacterias, arqueas y hongos, se encuentran presentes en estos leptosoles réndzicos en sistemas kársticos tropicales y cómo es su diversidad?
- ¿Existirá una distribución de estos grupos que responda a factores fisicoquímicos propios del suelo, *i.e.* C_{org}, textura, MO, pH, metales y metaloides?
- ¿Cuáles son las posibles funciones de la microbiota en estos suelos?
- ¿Cómo se relaciona la comunidad microbiana con la actividad enzimática del suelo?
- ¿Cuáles son los grupos microbianos que podrían estar relacionados con los potenciales nutrientes limitantes?

Para resolver la pregunta central, así como las secundarias, se propone un enfoque multidisciplinario en el que se estudiarán las características físicas, químicas y biológicas de suelos (leptosoles réndzicos) al noroeste del estado de Quintana Roo. Para la determinación de las propiedades fisicoquímicas, se emplearon técnicas establecidas de caracterización de suelos como pH, CE, textura, C_{org}, P_{tot}, N_{tot}, etc. Para el componente biológico se utilizó un estudio de *amplicon-sequencing* empleado los marcadores 16S rRNA e ITS con secuenciación masiva, además de ensayos enzimáticos. Las características físicas, químicas y biológicas se correlacionaron con los atributos de la comunidad microbiana mediante análisis estadísticos.

Justificación

Los suelos originados a partir de carbonatos en regiones mediterráneas y templadas han sido ampliamente estudiados (Beng y Corlett 2019; Knáb *et al.*, 2012, 2018; Li *et al.*, 2018b; Lu *et al.*, 2014; Song *et al.*, 2018;). Sin embargo, los que se encuentran en zonas tropicales no se han podido estudiar tan ampliamente (Sedov *et al.*, 2008). Actualmente existen pocos

datos sobre la diversidad filogenética de las comunidades microbianas de los suelos desarrollados a partir de sistemas kársticos tropicales y su función en los procesos biogeoquímicos y ecológicos. Los suelos de origen kárstico pueden llegar a ser ambientes frágiles (Hu *et al.*, 2016), son vulnerables y se encuentran amenazados por el incremento de la población, lo que ha provocado que sus suelos estén bajo algún tipo de riesgo (Massard-Guilbaud y Mathis, 2017). Por lo tanto, conocer cómo está constituida la comunidad microbiana servirá como un primer acercamiento para saber su funcionamiento biogeoquímico potencial y ecológico del sistema kárstico tropical al NE de Quintana Roo.

6. Hipótesis

1. Los lesoles rendzicos kársticos del NE de Quintana Roo mostrarán una estructura heterogénea al ser suelos de formación geológicamente reciente en la península, lo cual propiciará la variabilidad en su composición microbiana (bacterias, arqueas y hongos) y actividad enzimática entre los sitios y subsitios. Pese a ello, se apreciará que la estructura de comunidad microbiana se determinará principalmente por el pH del suelo, seguido de la cantidad de MO y nutrientes, como se ha observado en suelos kársticos templados.
2. Los suelos de bosques kársticos muestran generalmente altos contenidos de C_{org} y N_{tot} , pero se ha mencionado que el P es el principal nutriente limitante para la microbiota. Consecuentemente, la exploración de los microorganismos de los suelos kársticos de Quintana Roo pondrá de manifiesto grupos clave de esta limitante, mediante un alto potencial genético para la obtención o solubilización de fósforo.
3. Debido a que estos suelos están constituidos por alto contenido de material vegetal, se espera que los microorganismos del suelo tengan un alto potencial metabólico de degradación de formas de C que favorecerán los estilos de vida saprófitos y celulolíticos.

7. Objetivos

7.1. General

- Determinar la estructura y diversidad microbiana en suelos desarrollados en un sistema kárstico tropical al NE de Quintana Roo y sus posibles roles biogeoquímicos y ecológicos en el ecosistema.

7.2. Particulares

- Caracterizar física y químicamente a los suelos muestreados, así como su estructura en láminas delgadas.
- Determinar la estructura y la diversidad del componente microbiano (mediante los marcadores moleculares 16S rRNA e ITS) de los diferentes suelos muestreados.
- Determinar la actividad de enzimas en el suelo y establecer si existe correlación con los parámetros físicos, químicos y biológicos.
- Establecer las relaciones de la estructura de la comunidad microbiana con las características fisicoquímicas del suelo.
- Determinar cuáles son los procesos biogeoquímicos potenciales en la comunidad de bacterias y arqueas, y el rol ecológico de los diferentes grupos de hongos.
- Detectar grupos microbianos que puedan relacionarse con potenciales nutrientes limitantes en el suelo.

8. Materiales y Métodos

Para llevar a cabo este estudio se plantearon una serie de análisis acorde a tipo de pregunta y objetivo a determinar. Esta estrategia se describe en la **Tabla A2**.

8.1. Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el NE del estado de Quintana Roo (México) entre los municipios de Tulum y Solidaridad, en una de las áreas geológicas más jóvenes emergidas de la plataforma de Yucatán (18 Ka). Esta área posee diferentes ambientes geomorfológicos como karst, tectokarst, paludal y litoral (Bautista *et al.*, 2011). La región de estudio se encuentra entre los 5 y 15 m s.n.m., con un clima cálido subhúmedo (Aw2) (Fragoso- Servón *et al.*, 2014), una temperatura promedio de 25 °C, una precipitación de 1200 mm. El área es un bosque tropical principalmente primario y con algunos sitios de bosque secundario, dominado por vegetación de la familia Fabaceae y Polygonaceae (Schultz, 2001, 2005; Sánchez *et al.*, 2007). Asociado a estos bosques, se encuentran áreas dedicadas al esparcimiento y actividades turísticas, localmente llamadas *cenotes*.

Se escogieron cuatro sitios con muestras de suelos asociados a cenotes con actividades turísticas: S1, S2, S3 y S4 (**Tabla 6** y **Fig. 4**). El muestreo se realizó del 27 de abril al 1 de mayo de 2018 en zonas adyacentes a los cenotes (hasta 20 m), sobre la parte aérea y superficial de las cuevas kársticas (*i.e.*, horizonte A) y en donde no se visualizó un impacto antrópico directo severo (*v.g.*, camino o construcción). La vegetación en los sitios de muestreo fue muy similar, dominada por leguminosas, donde la capa de mantillo también tenía una composición y espesor semejante (3 a 5 cm), a excepción de los suelos con signos alteración humana y transporte humano (HAHT por sus siglas en inglés).

Para el muestreo se consideraron dos tipos diferentes de muestras de suelo:

- i) en cilindros sellados herméticamente de 100 cm³ para mantener la estructura intacta del suelo y visualizar su estructura en láminas delgadas, y
- ii) muestras compuestas tomadas con nucleadores y distribuidas en transectos de aproximadamente 10 m por subsitio para los análisis fisicoquímicos y microbiológicos.

Con lo que se siguió un diseño de: 4 sitios (S1, S2, S3 y S4), cada uno con 4 subsitios (total de muestras $n=16$).

Previo a la toma de muestra, se retiró cuidadosamente el mantillo (hojarasca sobre el suelo), y una vez expuesto se tomaron los primeros 10 cm de suelo (horizonte A) con nucleadores metálicos de 8 cm de diámetro. Cada muestra se tomó con los nucleadores y se mezcló en bolsas formando muestras compuestas por subsitio o transecto, juntando cerca de 700 g de suelo húmedo por subsitio.

En la siguiente subsección **8.2** se describen las características de cada sitio muestreado.

Tabla 6. Coordenadas de muestreo y nombre de los cenotes asociados a las muestras de suelo.

Sitio	Coordenadas		Cenote asociado	Altitud
S1	20.51291 N	87.24703 W	Chac-Mol	10 m s.n.m.
S2	20.49968 N	87.26145 W	X'Tabay	11 m s.n.m.
S3	20.27455 N	87.48593 W	Aktun-Ha	15 m s.n.m.
S4	20.18254 N	87.51699 W	Corazón del Paraíso	5 m s.n.m.

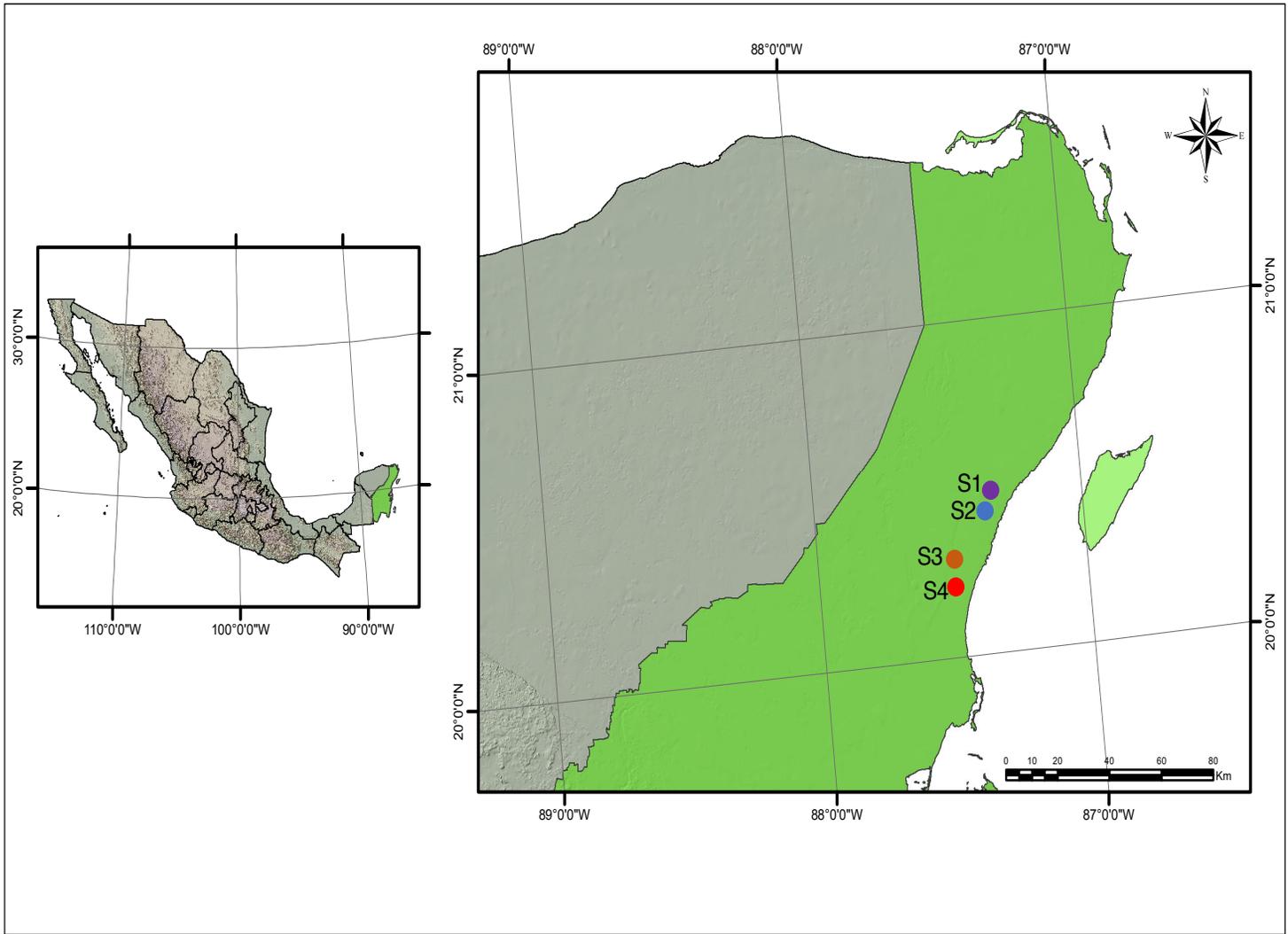


Figura 4. Mapa del estado de Quintana Roo con los sitios de muestreos para este estudio.

8.2. Sitios de muestreo

- Sitio 1 (S1)

El sitio S1 se localiza en el municipio de Solidaridad, a 2.4 km de la línea de costa. Se encuentra a una altitud de 10 m s.n.m. y presenta características de un ambiente geomorfológico de litoral-tectokarst. En este sitio se encontraban dos tipos de suelo divididos por un pequeño camino: el primero, natural y aparentemente sin perturbaciones (S1.1), y un segundo con signos evidentes de alteración, es decir de tipo HAHT, que corresponde a las muestras S1.2, S1.3 y S1.4. La mezcla del suelo original con grava de calizas lleva en el sitio aproximadamente 20 años, acorde a lo mencionado por los dueños. El muestreo se realizó sobre la cueva kárstica entre los 0-20 m de la entrada del cenote (**Fig. 5**).

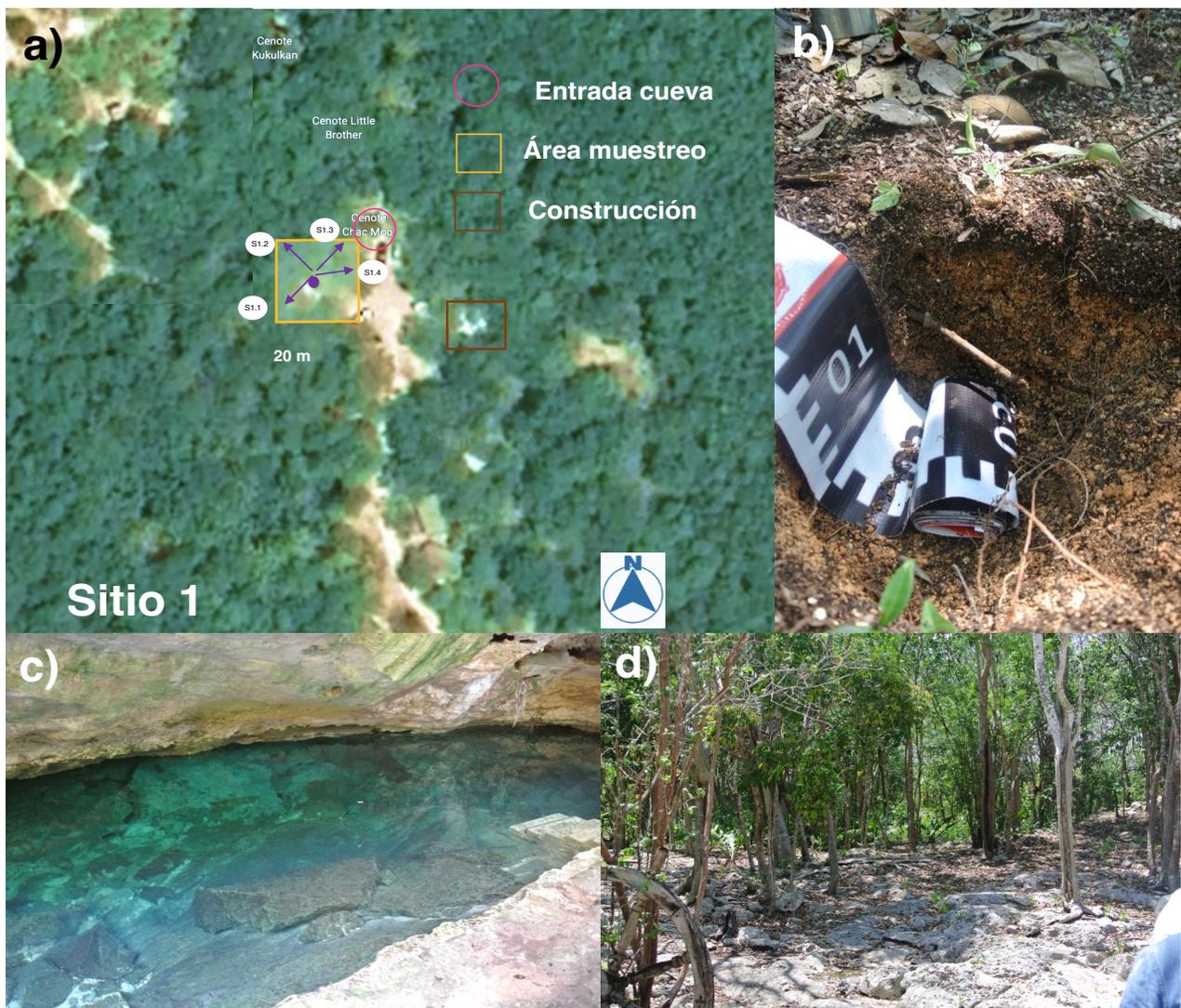


Figura 5. Vistas del sitio 1 de muestreo (S1).
a) Vista satelital; b) suelo HAHT; c) cenote; d) vegetación.

- Sitio S2

El sitio S2 se localiza en el municipio de Solidaridad, a 2.3 km de la línea de costa, se encuentra a una altitud de 11 m s.n.m., y presenta características que corresponden a un ambiente geomorfológico de litoral-tectokarst. El muestreo se realizó sobre la cueva kárstica aproximadamente a 20 m de la entrada del cenote en un cuadrante de 20 x 20 m (**Fig. 6**). En este caso no se observaron signos de perturbación de la zona.



Figura 6. Vistas del sitio 2, S2.
a) Vista satelital; b) y c) suelo; d) cenote; e) vegetación.

- Sitio S3

El sitio S3 se localiza en el municipio de Tulum y es el más lejano a la línea de costa con 8.7 km. Se encuentra a una altitud de 15 m s.n.m. y presenta características de un ambiente geomorfológico de tectokarst. El muestreo se realizó sobre la cueva kárstica aproximadamente a 10 m de la entrada del cenote (Fig. 7).

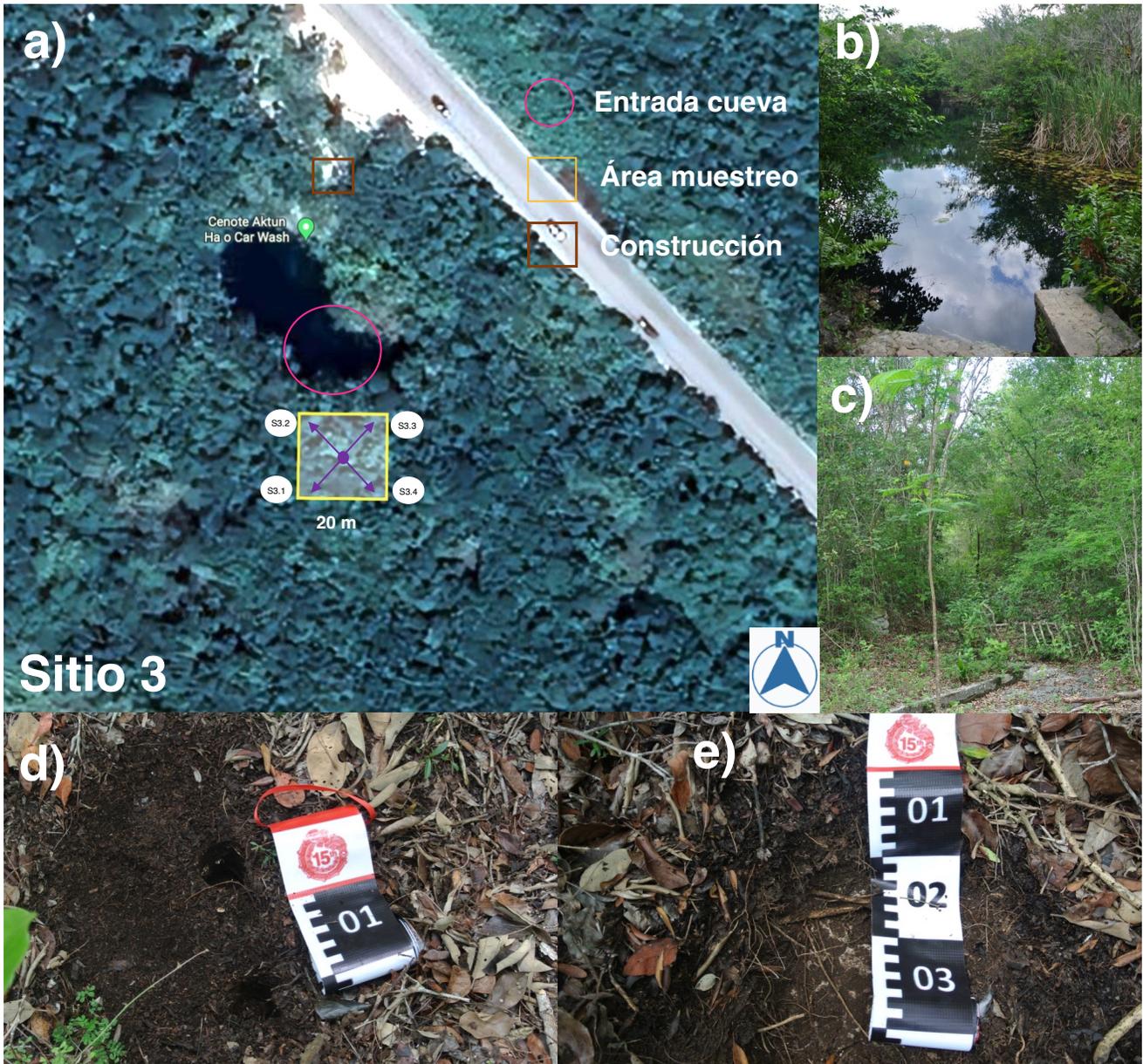


Figura 7. Vistas del sitio 3, S3.
a) Vista satelital; b) cenote; c) vegetación; d) y e) suelo.

- Sitio 4

El sitio S4 se localiza en el municipio de Tulum, a 6.7 km de la línea de costa. Se encuentra a una altitud de 5 m s.n.m. y presenta características que corresponden a un ambiente geomorfológico de transición de paludal-tectokarst. El muestreo se realizó sobre la cueva kárstica a 10 m de la entrada del cenote (Fig. 8).

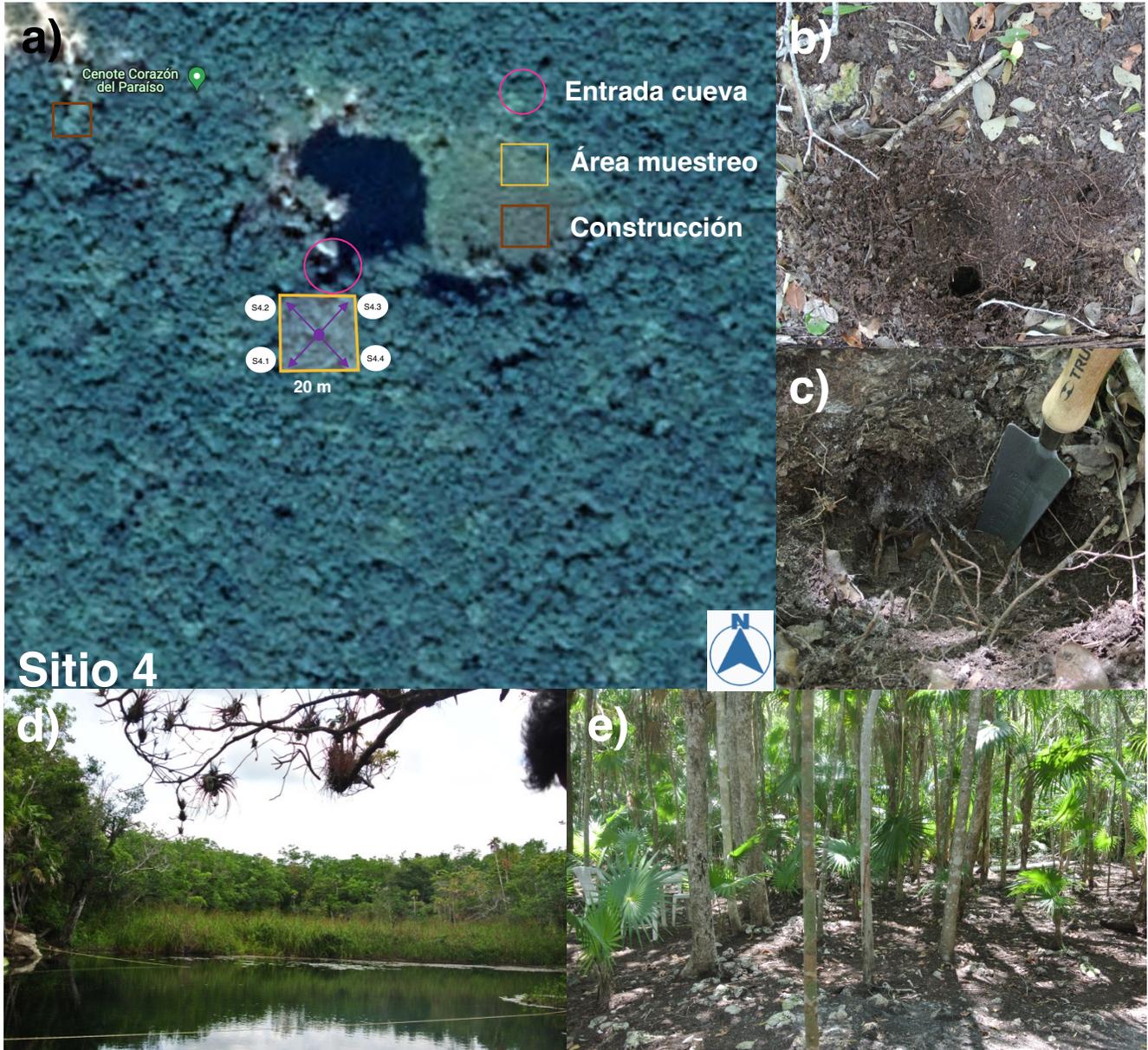


Figura 8. Vistas del sitio 4, S4.
a) Vista satelital; b) y c) suelo; d) cenote; e) vegetación.

8.3. Caracterización fisicoquímica y micromorfológica del suelo

8.3.1. Análisis fisicoquímicos

Para el análisis de textura, pH, CE y humedad, el suelo de cada muestra fue homogenizado y secado al aire por 72 h y tamizado por malla de 2 mm. No se hicieron réplicas de laboratorio de estos análisis. Los análisis se hicieron siguiendo el procedimiento del “Manual de Procedimientos Analíticos del Laboratorio de Física de Suelos” del laboratorio LANGEM anexo al Instituto de Geología de la UNAM con las modificaciones pertinentes y señaladas en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Análisis fisicoquímicos empleados, y sus adaptaciones para este tipo de muestras de suelo.

Análisis	Observaciones
Textura	<p>Método de la pipeta: como los suelos presentaban una gran cantidad de arcilla se agregó 10 mL de hexametáfosfato de sodio al 5% (p/v)</p> <p>Cálculo de las partículas:</p> $\% \text{ Arenas} = (W_{\text{Charola arena}} - W_{\text{Charola}}) \times 100$ $\% \text{ Arcilla} = (((W_{\text{Charola arcilla}} - W_{\text{Charola}}) \times 40^{\dagger}) - (0.513^*)) \times 100$ $\% \text{ Limos} = 100 - (\% \text{ arenas} + \% \text{ arcilla})$ <p>Donde: W_{Charola} = peso de la charola de aluminio $W_{\text{Charola arena}}$ = peso de la charola de aluminio con las arenas secas $W_{\text{Charola arcilla}}$ = peso de la charola de aluminio con las arcillas secas</p> <p>* Concentración del dispersante = 0.513 g/L \dagger Factor conversión</p>
Densidad aparente	<p>Método del cilindro de volumen conocido (100 cm³)</p> <p>Cálculo:</p> $\rho_b = P_{ss} / V_t$ <p>Donde: ρ_b = Densidad aparente P_{ss} = Peso suelo seco V_t = Volumen de la muestra</p>
CE y pH	<p>Método con pasta saturada</p> <p>Medido con potenciómetro HI9125 (HANNA®instruments) y el conductímetro HI9033 (HANNA®instruments)</p>

Estos análisis a su vez se basaron en protocolos reportados en Sparks *et al.* (2020). Para el caso particular de la textura, el análisis de partículas corresponde a la matriz mineral que quedó después de la total destrucción de la MO con H₂O₂ al 30%. Todos los resultados fueron ajustados de acuerdo con la humedad de cada muestra (**Tabla A3**).

Análisis elemental

Para el análisis elemental, referido como el contenido de C_{org} y N_{tot}, las muestras se pasaron adicionalmente por una malla de 180-mesh. Para cada subsitio solo se determinó una muestra representativa, sin réplicas.

- Contenido de C_{org}. Un gramo de suelo por muestra, primero se removieron los carbonatos de las muestras con ácido clorhídrico (HCl) 5N, después se procedió a determinarlo en una forma similar a la del N_{tot}.
- Contenido total de N. Un gramo de suelo se usó para las muestras que se analizaron en un equipo CNHS/O PerkinElmer 2400 series II, calibrado con un material de referencia LECO 185 CNS 2000, mediante combustión seca.

El análisis de otros elementos como Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S, Sb, Se, Si, Sn, Sr, Ti, Tl, V, y Zn se llevó a cabo por espectrometría de emisión óptica e inducción de plasma acoplado. Primero se pesaron 0.5 g de muestra, se adicionaron 9 mL de HNO₃ conc. JT. Baker Instra 69-70% y 3 mL de HCl JT Baker Instra 36.5-38%. Las muestras se prepararon en un horno Anton Paar Multiwave 3000 en un ciclo EPA 3051A. Una vez frías, las muestras fueron filtradas y llevadas a un volumen final de 50 mL con agua Milli Q (agua clase I, 18.2 Mohms de resistividad). Finalmente, las muestras fueron analizadas en un equipo Perkin Elmer ICP-OES Optima 8300 empleando itrio (Y) como estándar interno. Para cada subsitio solo se determinó una muestra representativa, sin réplicas.

8.3.2. Secciones delgadas de los suelos

Para observar las características estructurales de los suelos, se realizaron láminas delgadas para ver las secciones transversales del suelo. Se tomaron muestras inalteradas de poca perturbación para evitar disrumpir la estructura del suelo (1 muestra por sitio, y sólo en el S1 se tomaron 2 muestras para representar a los suelos con rasgos HAHT). Para el muestreo, se

empleó una barrena de muestreo tipo Uhland para obtener muestras inalteradas (diámetro 5 cm, altura 11 cm), las cuales se transfirieron a cilindros metálicos, donde se mantuvieron con cuidado en el muestreo y transporte. Posteriormente, los cilindros fueron impregnados con resina epóxica, dejados solidificar durante 1 semana, para después ser cortados en láminas delgadas. Las láminas fueron depositadas sobre portaobjetos (5 x 7 cm) para la observación de la estructura edáfica, heterogeneidad y características principales. Las láminas delgadas fue una aproximación para observar la composición y estructura de los suelos estudiados, ya que permiten observar y fotodocumentar la estructura inalterada del suelo tal y como se encuentra en cada uno de los sitios. Estas observaciones verifican de forma visual algunas características fisicoquímicas, como la densidad aparente, la distribución de la materia orgánica (con la presencia de material vegetal en descomposición, o coprolitos), la alteración humana (incorporación de carbonatos), y en general, la microheterogeneidad de estos leptosoles.

8.4. Análisis microbiano

8.4.1. *Ensayo enzimático*

El suelo que se utilizó para los ensayos de enzimas fue almacenado a 4 °C hasta su análisis, el cual fue realizado antes de que se cumpliera un mes del muestreo. Se hicieron pruebas para los cuatro sitios con sus subsitios ($n=16$). Se siguió el protocolo de actividad enzimática del laboratorio BIOGEOMI del Instituto de Geología de la UNAM, y el cual se describe a continuación.

8.4.1.1. Actividad β -GLU, PFO, LIP y FOM

Para cuantificar la capacidad de despolimerización de algunas moléculas orgánicas, se hicieron ensayos de actividad extracelular de las enzimas β -GLU, PFO, LIP y FOM. Estos ensayos consistieron en tres réplicas de cada muestra, se tuvo una muestra control (CM) para cada muestra y se emplearon tres controles de sustrato (CS) para cada ensayo de enzima (**Tabla 8**).

Se pesaron 2 g de suelo fresco en tubos cónicos de 50 mL y se le adicionó 30 mL de MUB 1X (modified Universal Buffer) ajustado a pH de 8.4 (promedio de los sitios) y se agitaron horizontalmente por 15 min a 120 rpm. De este homogenizado se tomaron 670 μ L

que se llevan a un tubo cónico de 1.5 mL, y se le agregaron otros 670 µL del sustrato de la enzima a determinar. El CM se preparó con 670 µL del homogenizado con 670 µL de MOB 1X. Por último, se preparó el CS con 670 µL del sustrato de la enzima a determinar y 670 µL de MOB 1X. Todos los tubos se colocaron en una gradilla y se pusieron 2 h en incubación con agitación a 25 °C y 250 rpm. Finalizada la incubación los tubos se centrifugaron a 10,000 rpm durante 2 min. Del centrifugado se tomaron 750 µL y se colocaron en tubos cónicos de 15 mL, se adicionaron posteriormente 3 mL de agua Milli Q y 75 µL de NaOH 1N, después se agitaron por 5 s en vortex. Por último, se colocaron en una celda para su lectura en el espectrofotómetro (DLAB Scientific).

Tabla 8. Sustratos para los ensayos enzimáticos y longitud de onda de determinación.

Enzima	Sustrato	λ
β-GLU	pPN-β-glucopiranososa	410 nm
POX	ABTS	460 nm
LIP	pPN-Butirato	410 nm
FOM	pPN-Fostato	410 nm

Cálculo

$$\mu\text{mol g}^{-1} \text{ h}^{-1} = \frac{\text{..... Abs.neta}}{(\text{Coef}_{\text{ext}} (\mu\text{g mL}) / V_{\text{ens}} (\text{mL})) \times t \times (\text{PR}(\text{g}) / V_{\text{ext}}) \times V_{\text{hom}}(\text{mL})}$$

Donde:

Abs.neta= absorbancia de la muestra – (absorbancia CM + absorbancia CS)

coef_{ext}= pendiente (m) de la curva de 4-nitrofenil

V_{ens}= volumen alícuota de extracción (0.67 mL) + sustrato (0.67 mL) = 1.34 mL

t= tiempo incubación = 2 h

PR= Peso húmedo suelo x (peso seco/peso húmedo)

V_{ext}= volumen de MUB empleado en extracción

V_{hom}= volumen alícuota post incubación = (0.75 mL)

8.4.1.2. Actividad deshidrogenasa

Este es un proceso asociado a la despolimerización de C y a la actividad oxidativa de células. Esta actividad se estimó por la reducción de cloruro de trifenil tetrasodio (TTC) a trifenil formazan (TPF) a 25 °C por 24 h. Para este análisis también se realizaron tres diferentes

preparaciones de muestra distribuidas de la siguiente manera: i) una muestra de suelo con el sustrato de enzima, ii) un CM por cada muestra y iii) tres CS.

Se pesó 1g de suelo por muestra y se colocaron en tubos cónicos de 15 mL forrados con papel aluminio, se agregó 1 mL de la solución TTC (0.1% p/v), se preparó el CM para cada una de ellas con 1 g de suelo y 1 mL de buffer Tris-HCl. Para los tres CS se puso solo 1 mL de la solución buffer Tris-HCl. Posteriormente, los tubos se colocaron en posición horizontal y se dejaron en incubación con agitación durante 24 h a 25 °C y 180 rpm. Pasadas las 24 h se adicionaron 8 mL de acetona concentrada en todos los tubos y se volvió a agitar horizontalmente, pero ahora por 2 h a 25 °C y 250 rpm. Después, los tubos se centrifugaron a 3,000 rpm por 2 min, por último, se vació el sobrenadante en una celda y se procedió a la lectura en el espectrofotómetro a una λ de 546 nm. Se hizo una curva de calibración para TPF, se pipetearon 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 y 4.0 mL de la solución de TPF en matraces volumétricos de 50 mL a los cuales se les adicionaron 8.3 mL del buffer Tris-HCl y se aforaron con acetona.

Cálculo:

$$DHG = TPF (\mu\text{g mL}^{-1}) \times 9 / \text{Peso seco}$$

Donde:

TPF: es la concentración de TTC transformado a TPF con base a la curva de calibración (0, 5, 10, 20, 30, y 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

9 = al volumen de acetona + TTC

Peso seco= es la masa en seco en gramos del suelo

8.4.2. Extracción DNA

Las muestras fueron tomadas de los suelos y directamente almacenadas y transportadas a 4 °C, una vez en el laboratorio se congelaron a -20 °C hasta su procesamiento. La extracción de DNA se llevó a cabo con el kit de PowerSoil® DNA Isolation Kit (Qiagen), empleando ~250 mg de suelo húmedo y siguiendo las instrucciones del fabricante, al final, las muestras de DNA se eluyeron a 100 μL . En total se extrajeron 16 muestras, 4 por cada sitio de muestreo. La concentración del ADN se determinó mediante fluorimetría empleando el equipo Qubit™ 3.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific), con el ensayo de amplia sensibilidad (Qubit dsDNA HS Assay Kit).

8.4.3. Cuantificación de fragmentos del 16S rRNA e ITS

La región V4 del gen 16S rRNA y el fragmento ITS1-ITS2 fueron cuantificados por qPCR con ensayos SYBR GREEN usando 1 ng del DNA metagenómico extraído como templado (S2.2). Para verificar que las condiciones de PCR generaban sólo amplicones del tamaño esperado y sin productos inespecíficos, se hizo una electroforesis en un gel de agarosa al 1.5% teñido con SYBR Safe 1% (Invitrogen) y TAE IX [80V, 30 min, buffer de corrida TAE 0.5X].

Se realizaron las curvas estándar para cada uno de los marcadores con diluciones seriales del producto de PCR purificado de 10^{-1} a 10^{-6} , y se incluyeron los controles negativos, todas las muestras se hicieron por duplicado. Los productos de DNA para las curvas estándar se obtuvieron empleando DNA total de una muestra de suelo kárstico tomada al azar y por el protocolo de amplificación mencionado (gen 16S rRNA y el fragmento ITS1-ITS2) en la sección 8.4.4.

Para la cuantificación se hizo una PCR en tiempo real en el equipo StepOne de 48 pozos (Thermo Fisher Scientific). La reacción (10 μ L) se conformó de la siguiente manera: 1X Premix Ex Taq (Takara Bio inc.), 1X ROX Reference dye, 1 ng de DNA y 0.2 μ mol/L de los primers 515/806R para el 16S rRNA y ITS1f/ITS2 para ITS. La amplificación para el 16S rRNA consistió en una desnaturalización inicial de 94 °C por 1 min, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 s, alineamiento a 55 °C por 30 s, elongación a 72 °C por 30 s y una elongación final de 72 °C por 10 min. Para la amplificación de ITS se hizo lo mismo sólo que son una temperatura de alineación de 52 °C. Se realizó una curva de fundición al terminar el protocolo de amplificación, iniciando en 60 °C e incrementando la temperatura 0.5 °C cada 30 s, hasta alcanzar los 95 °C. Para calcular el número de copias de los genes se usó el software StepOne™ y StepOnePlus™ (Versión 2.3).

Cálculo:

$$NC = PC \text{ (copias/ng)} \times \text{DNA}(\text{ng}) / \text{g Suelo}$$

Donde:

NC: número de copias por gramo de suelo húmedo

PC: copias promedio por 1 ng PCR en tiempo real

DNA: concentración inicial de DNA (ng/ μ l) obtenido

g suelo = gramos de suelo húmedo pesado para la extracción de DNA

8.4.4. Amplificación y secuenciación de fragmentos del 16S rRNA e ITS

El protocolo de amplificación que se adoptó fue apegándose a los principios del *Earth Microbiome Project* (EMP) con la metodología descrita en Caporaso *et al.* (2011; 2012). La amplificación de secuencias 16S rRNA se hizo a partir de DNA metagenómico empleando los primers 515F/806R que flanquean la región V4 de bacterias y arqueas (~290 pb) (Carrillo-Araujo *et al.*, 2015). Para los ITS se usaron los primers ITS1f/ITS2 (~ 300pb) (White *et al.*, 1990).

La mezcla para la PCR (25 μ L) incluyó: 2 μ L de DNA templado (2-20 ng ADN), 1X Takara ExTaq PCR buffer, 200 μ M Takara dNTPs mix, 0.75 μ L de cada primer a 10 μ M y 0.125 U Takara Ex DNA Taq Polimerasa (TaKaRa Corp., Shiga, Japan). La amplificación se llevó a cabo con una desnaturalización inicial de 94 °C por 2 min, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 s, alineamiento a 55 °C (16S rRNA)/52 °C (ITS) por 30 s, elongación a 72 °C por 30 s; y un paso final a 72 °C por 10 min. La presencia de amplicones fue observada mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1% con SYBR Safe DNA gel stain (Invitrogen) en buffer de TAE 1X (Tris-acetato-EDTA). La migración se efectuó a 80 V por 30 min. Los productos se visualizaron en un trasiluminador SmartDoc (Acuris Instruments), para comprobar el tamaño de banda para el 16S rRNA de (~350 pb) y los ITS (~380 pb). La purificación se llevó a cabo por medio de perlas magnéticas mediante el Agencourt AMPure XP PCR purification system (Beckman Coulter, Brea, CA, USA).

Cada primer reverso de PCR para el gen 16S rRNA contenía una secuencia Golay específica, la cual sirvió como identificador de cada muestra amplificada. Los amplicones 16S rRNA obtenidos (~20 ng) fueron secuenciados por la plataforma Illumina MiSeq en Yale, Center for Genome Analysis (CT, USA). Para los fragmentos ITS, el DNA purificado (20-30 ng) se mandó a secuenciar en RTL Genomics (TX, USA).

8.4.5. Análisis de secuencias

Las secuencias obtenidas de 16S rRNA e ITS se analizaron usando el programa QIIME2 versión 2019.7 (Boylen *et al.*, 2019). Se obtuvieron lecturas de extremo (pair-end) de ~250 pb. Las secuencias se demultiplexaron y se filtraron con la entrada “q2-demux plugin”, para después pasar por otro control de calidad con DADA2 (Callahan *et al.*, 2016). Los extremos de las secuencias fueron cortados y se consideraron para la sección *forward* 0-243 pb y

reverse 0-213 pb y una calidad por encima de 30. Las secuencias que pasaron los filtros de calidad (16S rRNA = 388,823; ITS = 475,344) (**Tabla A4**) fueron organizadas en ASVs (*Amplicon Sequence Variants*), es decir, secuencias con una identidad nucleotídica del 100% (Callahan *et al.*, 2016). Los ASVs obtenidos fueron clasificados en diferentes grupos taxonómicos con “q2-feature-classifier” (Bokulich *et al.*, 2018) y se utilizaron dos bases de datos: i) Silva 138.1 (www.arb-silva.de) para el 16S rRNA (Quast *et al.*, 2012; Yilmaz *et al.*, 2014) y ii) UNITE (uso 2019-09-21) para el ITS (Nilsson *et al.*, 2018). Para esta clasificación se emplearon bases de datos pre-entrenadas, las cuales se obtuvieron en <https://docs.qiime2.org/2022.2/data-resources/>.

Los metadatos y las secuencias crudas se encuentran en la base de datos NCBI BioSample (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/biosample/>) con los números de acceso SAMN15369427, SAMN15369428, SAMN15369429, y SAMN15369430 (BioProject PRJNA641882).

8.4.6. Predicción metabólica

La predicción de las funciones microbianas basadas en el 16S rRNA se hizo con el programa Tax4Fun2 usando bases de datos de KEGG (Wemheuer *et al.*, 2020) en un ambiente R (R Core Team, 2018). Para ITS se usó el programa FUNGuild (Nguyen *et al.*, 2016) en un ambiente *phyton* para conocer el tipo preferencial de vida (función ecológica) de los hongos. Para la obtención del estilo de vida preferido por los hongos sólo se consideraron los modos tróficos que calificaban como probables o altamente probables, los demás fueron descartados. Para la visualización de la predicción metabólica de procariontes y el modo trófico preferencial de los hongos se emplearon mapas de calor (*heatmap*) con el Software GraphPad Prism v.8.4.2 (San Diego, California USA, www.graphpad.com).

8.5. Análisis estadístico

Se verificó si existían correlación entre las variables estudiadas mediante una correlación de Pearson además de comprobar que la distribución de los datos fuera normal. Este análisis se visualizó con el programa ‘PerformanceAnalytics’ en un ambiente RStudio (v.1.2.5042) y también se hizo un mapa de calor con el Software con licencia de GraphPad Prism (v.8.4.2) (GraphPad Software, Boston, Massachusetts USA, www.graphpad.com).

Para analizar si existen diferencias en las características fisicoquímicas y la actividad enzimática del suelo entre los cuatro sitios, se realizó un análisis de varianza (ANOVA), seguido de una prueba de Tukey con GraphPad Prism.

Para observar la dispersión de subsitios acorde a sus características fisicoquímicas se hizo un análisis de componentes principales (PCA) empleando los datos escalados con el paquete ‘vegan’ y la función ‘prcomp’. Las variables se agruparon con la función ‘kmeans’ dentro del programa ‘stats’ (Legendre y Legendre, 2012). Las gráficas fueron hechas con el paquete ‘factoextra’. Todos estos paquetes se corrieron en un ambiente de R.

Las tendencias de los parámetros fisicoquímicos y la actividad enzimática dentro de los sitios se graficaron como cajas con bigotes e histogramas con el Software GraphPad Prism. Para conocer si existían relaciones entre las características fisicoquímicas y la actividad enzimática del suelo, se hizo un análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS), con el paquete ‘vegan’ en un ambiente de RStudio.

El análisis de la comunidad microbiana inició con la obtención de las curvas de rarefacción de los fragmentos secuenciados y los ASVs obtenidos para cada muestra (**Figs. A5 y A6**), con la función ‘rarefy’ de ‘vegan’. Posteriormente, se hizo un análisis de diversidad el cual incluyó los índices de Shannon y el inverso de Simpson, con el paquete ‘phyloseq’ (McMurdie y Holmes, 2013). Las diferencias entre la estructura de la comunidad de los sitios (diversidad beta) fueron obtenidas mediante un análisis de coordenadas principales (PCoA) utilizando las distancias UniFrac (Lozupone y Knight, 2005). La dispersión de los grupos fue evaluada mediante una prueba de homogeneidad multivariada con la función ‘betadisper’ y con un análisis de permutación múltiple ANOVA (PERMANOVA) con ‘permutest’, ambas dentro del paquete ‘vegan’.

Al observar una gran dispersión entre los subsitios debido a la estructura de su comunidad, se ensayaron dos posibilidades para mejorar la explicación de los análisis PCoA: i) considerar aquellos taxa con más del 0.1% de abundancia relativa con la función “genefilter_sample” de ‘phyloseq’, y ii) seleccionar los taxa con mayor contribución a la variabilidad con un análisis de SIMPER (Similarity percentage breakdown), que se construye a partir de una matriz de disimilitud y permite obtener los pesos de contribución de las especies (Clarke, 1993).

La relación entre las características ambientales y la estructura de la comunidad microbiana se observó mediante un análisis de correspondencia canónica (CCA), con la

función 'cca', también en 'vegan'. Seguido de eso, se seleccionaron aquellas variables con una significancia de $p\text{-value} < 0.05$ empleando la función 'envfit' en 'vegan'. Por último, se generaron diagramas de Venn para conocer el número de ASVs compartidos entre los sitios y los subsitios, con el paquete 'limma' (Ritchie *et al.*, 2015). Todos estos análisis se corrieron en RStudio.

9. Resultados

9.1. Caracterización fisicoquímica del suelo

9.1.1 *Análisis fisicoquímicos*

En la **Tabla 9** se pudieron observar algunas de las características fisicoquímicas de los suelos por sitio, y en la **Tabla A7** por subsitio. El S1 tenía signos evidentes de suelo tipo HAHT, ya que S1.2, S1.3 y S1.4 mostraron una mezcla con calizas provenientes de otra área, por lo cual tuvo un mayor contenido de arena (58.3%) y una mayor DA (1.03 g/cm) que la del subsitio S1.1. Éste último subsitio tuvo una dominancia de limos y arcillas, con una DA menor (0.59 g/cm). Los sitios S2 y S3 mostraron una mayor proporción de arcillas (> 60%) seguida de limos y poco contenido de arenas (< 5%) y con una DA similar de 0.4 g/cm. Por último, el sitio S4 estuvo dominado por limos (53%), seguido de arcillas (44.5%) y poca arena (2.5%), asimismo fue el suelo que presentó una menor DA con apenas 0.38 g/cm³.

Tabla 9. Análisis fisicoquímicos del suelo. Promedio de los valores obtenidos; sólo el S1.1 y los HAHT (S1.2, S2.2 y S3.3) se encuentran separado por su origen.

	S1		S2	S3	S4
	S1.1	HAHT			
DA (g/cm)	0.59	1.03	0.42	0.4	0.27
Arcilla (%)	42.9	18.2	64	80.5	44.5
Limo (%)	51.3	23.4	33	14.9	53
Arenas (%)	5.7	58.3	2.9	4.6	2.5
pH	8.6	8.3	8.4	8.5	8.1
CE (mS/cm)	1025	798	1325	926	4621

El pH del suelo varió de ligeramente a moderadamente alcalino a alcalino con valores de 7.83 a 8.68 (**Fig. 9a**). El valor de la CE indicó que la mayoría son suelos no salinos, con excepción de los subsitios S4.3 y S4.4, los cuales se colectaron cerca del nivel freático de la costa donde hay influencia del agua marina (**Fig. 8**). Los cuatro sitios tuvieron una alta cantidad de C_{org} que varió de los 119 a los 340 g/kg; el N_{tot} presentó valores de 3 a 23 g/kg, resultando en un promedio de proporción $C_{org}:N_{tot}$ de 13 para los suelos no alterados.

El contenido elemental de las muestras de suelo se puede ver desglosado en la **Tabla A7**; mientras que, en la **Figura 9** se condensan aquellos más relevantes. En el análisis

estadístico se observó que el contenido de C_{org} , N_{tot} , S_{tot} , y Mg tiene la siguiente tendencia: $S1 < S2 \leq S3 < S4$ (**Fig. 9b, c, d y e**). En el caso de Zn y el Pb las concentraciones más bajas las presentan S1 y S4, mientras que, los valores más altos se encuentran en el S3 y son significativamente diferentes (**Fig. 8f y g**). El Ca es significativamente mayor en el S1 en comparación S2, S3 y S4 (**Fig. 8h**). Por último, el Sr también presenta diferencias significativas entre los sitios y sigue la tendencia de: $S1 < S4 \leq S2 \leq S3$ (**Fig. 8i**).

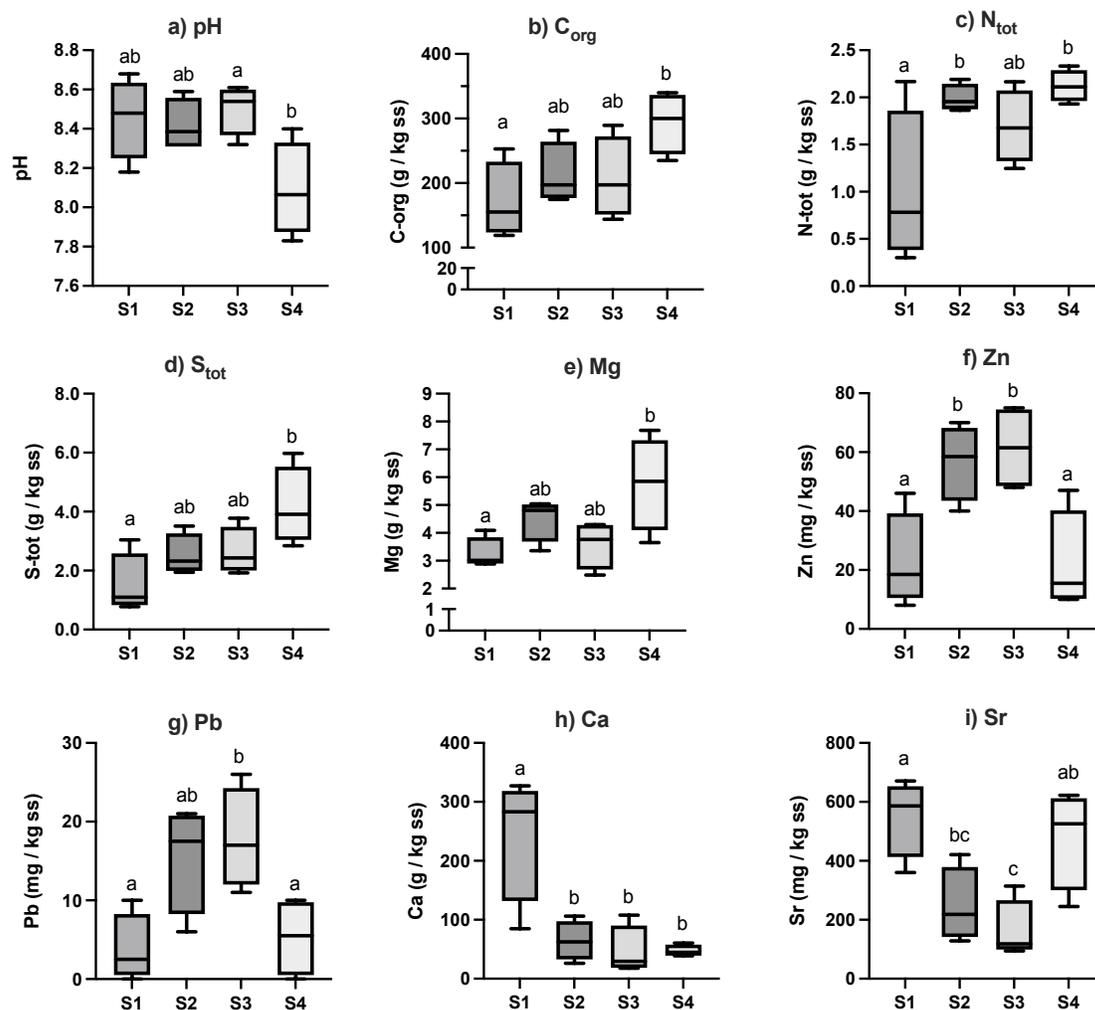


Figura 9. Diagramas de cajas y bigotes representando algunas características fisicoquímicas de los suelos estudiados. a) pH, b) C_{org} , c) N_{tot} , d) S_{tot} , e) Mg, f) Zn, g) Pb, h) Ca, e i) Sr. *ss= suelo seco. **letras diferentes indican diferencias significativas entre sitios (p value < 0.05).

La correlación de Pearson de las variables se muestra en las **Figuras 10 y A8**. Los elementos Al, Fe, Li, Mn, Zn, As, Ba, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Ti y V estuvieron correlacionados positivamente entre ellos, de éstas, la correlación más baja fue de 0.61 entre el Mn y V. El Sr se correlacionó negativamente con Pb, Zn, Fe, Cd, Al, Li, Cr, As, Ti, Ni, Ba, Co, Mn, V, Ca,

K y pH, siendo este último con el que tuvo la correlación más baja (-0.51). El Na y la CE también se correlacionaron positivamente (0.98). El C_{org} se correlacionó positivamente –de mayor a menor– con el S, Mg, Ca y CE, éstos dos últimos con 0.52, y tuvo una correlación negativa débil con el pH (-0.57). Por su parte el Ca tuvo una correlación positiva media con el Sr (0.67), mientras que, tuvo una correlación negativa fuerte con el N_{tot} (-0.83) y débil con otros elementos como S, Pb, Ti, Ba, Li, V, Fe, Mg, Zn, C_{org}, Cd, Ni, As y Cr.

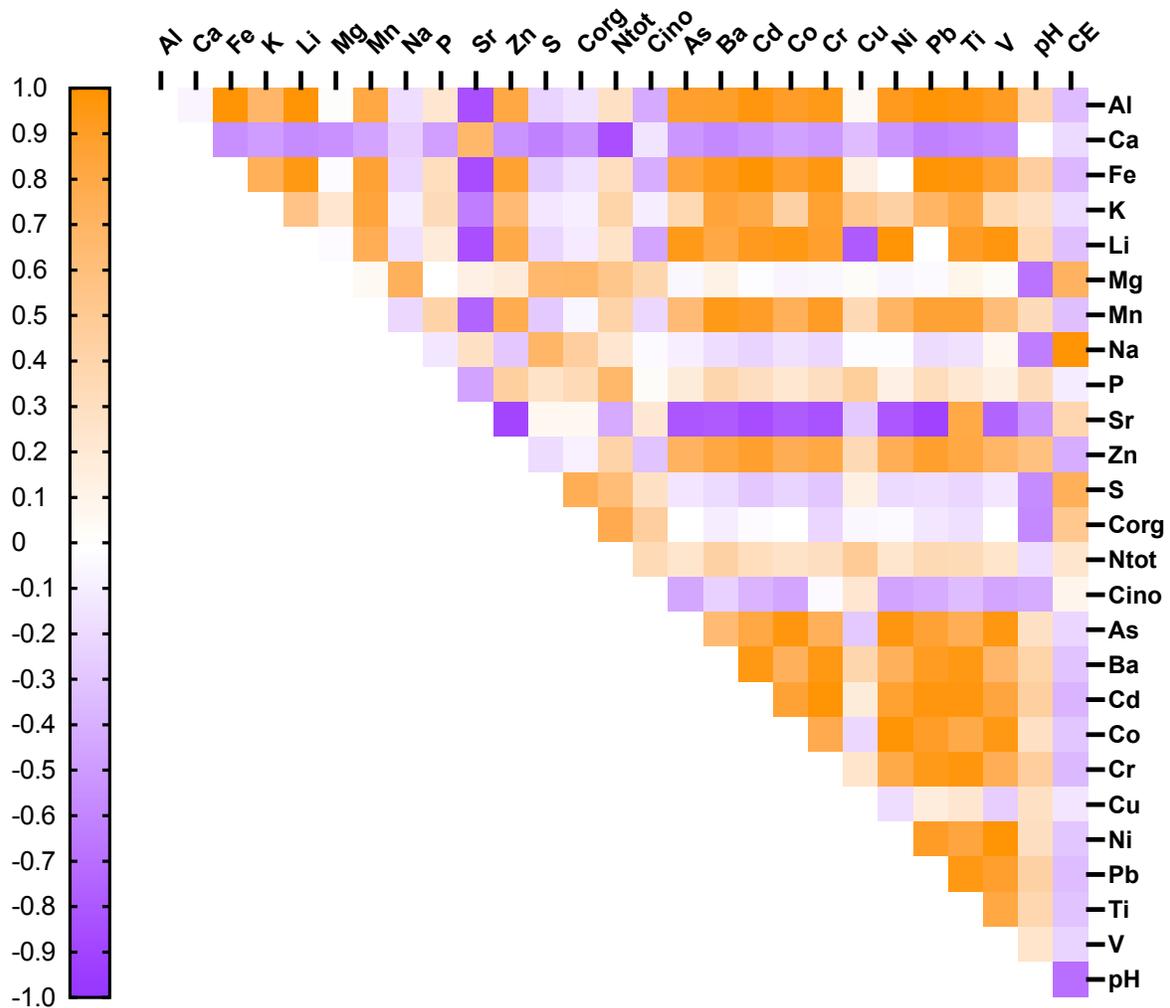


Figura 10. Mapa de Calor de la correlación entre diferentes variables fisicoquímicas de los suelos.

El análisis de PCA mostró que los suelos se agruparon en tres grupos principales acorde a sus características fisicoquímicas (**Fig. 11**): i) los suelos de los subsitios de S1 (HAHT) que estuvieron asociados a un mayor contenido de Ca y Sr; ii) los suelos del sitio S2 y S3 (exceptuando el S2.4), que se relacionaron con un mayor contenido de arcilla y elementos

como Co, Ni, Cd, Li, As, Fe, Cr, Al, Pb, Zn, Ti, Ba, K, Mn, y V; iii) los suelos S2.4 y los del S4, con valores o contenidos mayores de limo, C_{org} , Na, Mg, S y CE.

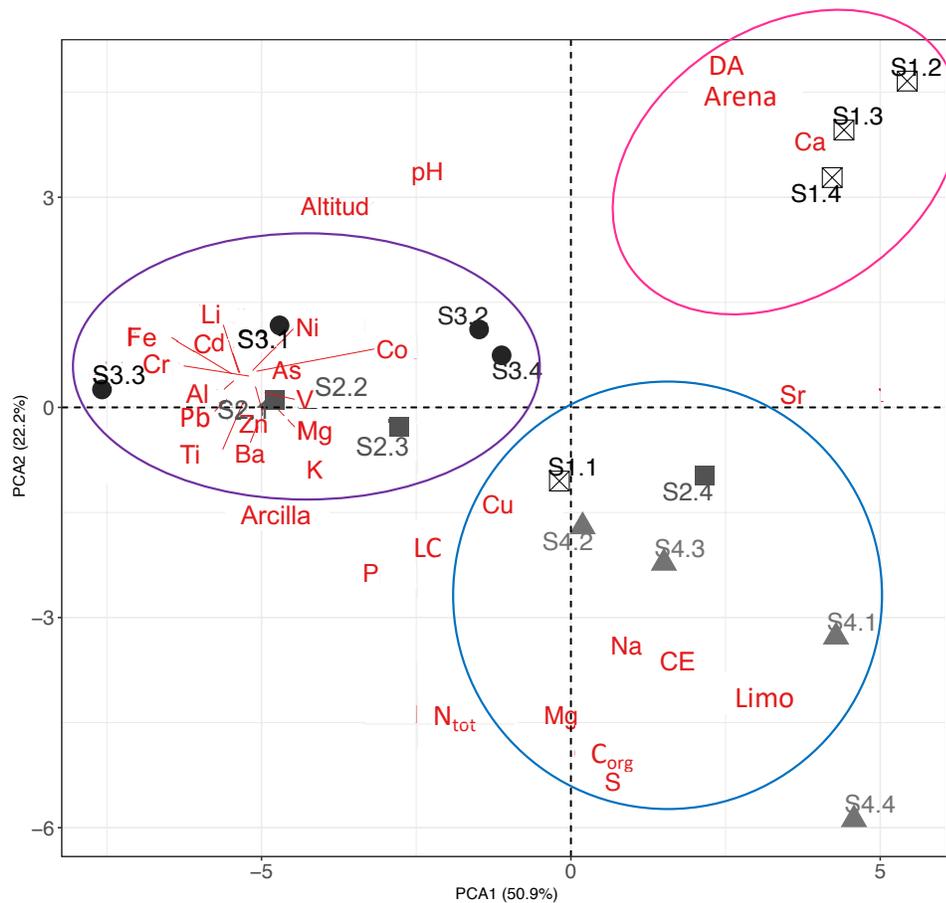


Figura 11. PCA basado en las características fisicoquímicas de los sitios muestreados. Se muestran los tres grupos diferenciados entre subsitios con elipses de colores. Las líneas rojas muestran la posición original de la variable dentro del plano cartesiano, para evitar la aglomeración visual.

9.1.2 Microestructura del suelo

Los suelos muestreados se encuentran en zonas donde estudios previos los clasifican como leptosoles réndzicos (Cabadas *et al.*, 2010; Bautista *et al.*, 2011) y lo cual coincide con lo observado en campo; por lo cual, fueron clasificados como leptosoles réndzicos desarrollados sobre calizas con una profundidad máxima de 10-15 cm para los sitios S1, S2 y S3. En cambio, el S4 fue más profundo y sin evidente contacto con material parental a 20 cm. Sin embargo, en la zona se documenta que estos tipos de suelos no superan los 25 cm de profundidad (Bautista *et al.*, 2011).

En las láminas delgadas se pudo observar la porosidad en el suelo, así como la presencia de canales derivados de la mesofauna en todas las muestras (**Fig. 12**). El sitio S1 exhibió dos tipos de suelo, uno sin perturbar (**Fig. 12a**) y otro alterado (S1 tipo HAHT) (**Fig. 12b**). En el primero se observaron mayormente agregados de MO y suelo, raíces pequeñas, pequeños minerales de carbonatos de Ca, así como poros y canales por actividad de la mesofauna. En contraste, el segundo presenta en su mayoría minerales carbonatados de distintos tamaños, mayoritariamente de > 2 mm, y pocas inclusiones de material vegetal y agregados. En los sitios S2 y S3 se muestran cambios de coloración asociados a óxidos de hierro, así como agregados, partículas de MO, pequeños fragmentos de carbonatos de Ca (principalmente calizas), poros y canales (**Fig. 12c, d, e y f**). A diferencia de los otros suelos, el sitio S4 presenta una mayor cantidad de poros, canales y agregados coprogénicos, así como material vegetal en diferentes estados de descomposición (**Fig. 12g y h**). Todos estos rasgos sugieren que los suelos presentan una gran heterogeneidad de microcomponentes en el espacio.

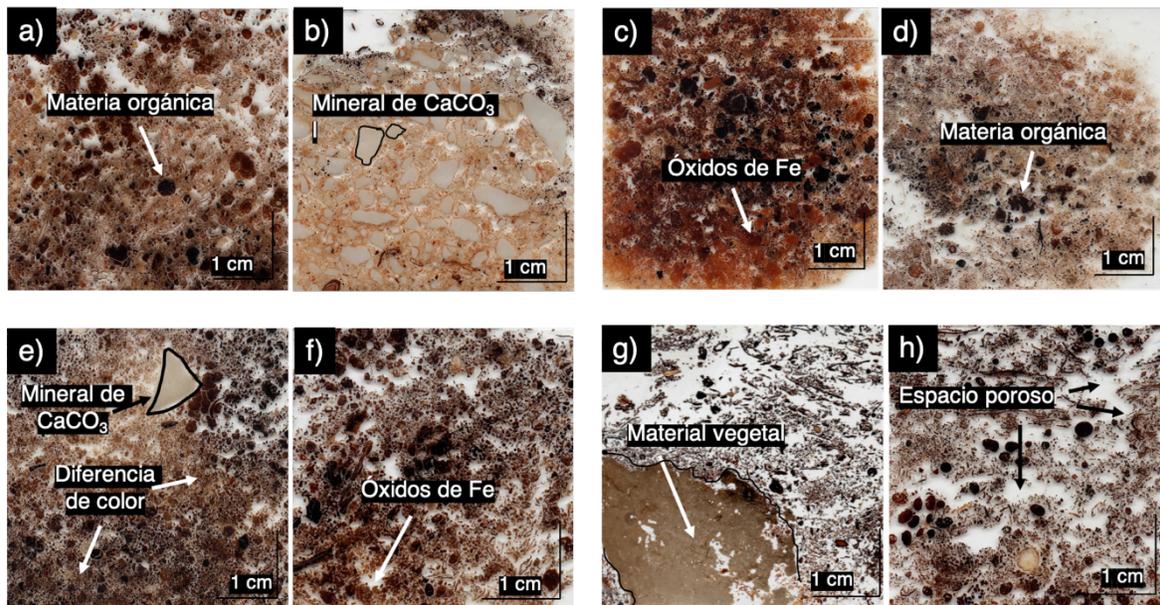


Figura 12. Láminas delgadas de la estructura del suelo.

Las láminas se referencian a una escala de 1 cm. La parte superior corresponde a la parte superior del horizonte muestreado, mientras que, la parte baja, a la inferior del horizonte. a) S1.1, b) S1 tipo HAHT (S1.2, S1.3 y S1.4), c-d) S2, e-f) S3 y g-h) S4.

9.2. Actividad enzimática

La actividad enzimática varió considerablemente entre los sitios y los subsitios (**Fig. 13 y Tabla A9**). Los subsitios presentaron una gran diferencia de valores, por lo que no se observaron patrones claros entre y dentro de los sitios referentes a la actividad de β -GLU, POX, FOM y deshidrogenasa. Por lo tanto, cada subsitio a pesar de su cercanía, podría estar albergando diferentes procesos y una microbiota diferente. Aun así, se puede apreciar pequeñas diferencias entre los sitios S1, S2 y S4 con el S3, donde las actividades de β -GLU, FOM y deshidrogenasa fueron más bajas. Por su parte la actividad de POX mostró valores inferiores en el S1 en comparación a los demás sitios. Solo en la actividad de LIP se encontraron diferencias significativas entre el S3 y S2, siendo S3 el sitio con los valores más pequeños detectados en promedio con $\sim 4.0 \mu\text{mol pNP /g h}$, mientras que, el S2 tuvo de promedio $14.6 \mu\text{mol pNP /g h}$.

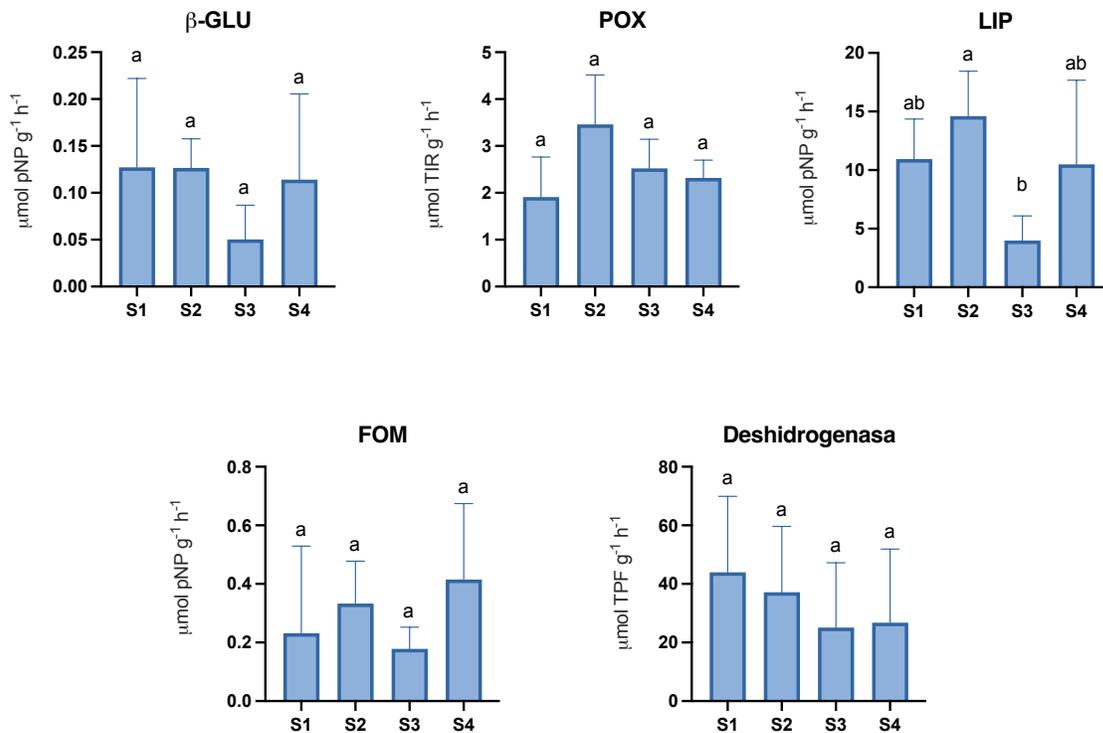


Figura 13. Actividad enzimática determinada para los suelos por sitio muestreado. Letras diferentes indican diferencias significativas entre sitios ($p \text{ value} < 0.05$).

En el análisis NMDS, donde se compararon los elementos metálicos y metaloides con la actividad enzimática, no se encontraron relaciones significativas entre la concentración

total de éstos y las actividades enzimáticas determinadas (**Fig. 14a**). Sin embargo, cuando se compararon con otras propiedades como la humedad, C_{org} , la relación C:N y el pH, existió una relación significativa con las dos últimas propiedades mencionadas. La relación C:N se correlacionó positivamente con la actividad de la enzima FOM y negativamente con el pH; mientras que, el pH mostró una correlación positiva con la actividad de deshidrogenasa y fue negativa con la relación C:N (**Fig. 14b y Tabla A10**). Estos resultados también concuerdan con aquellos realizados el CCA (**Tabla A11**).

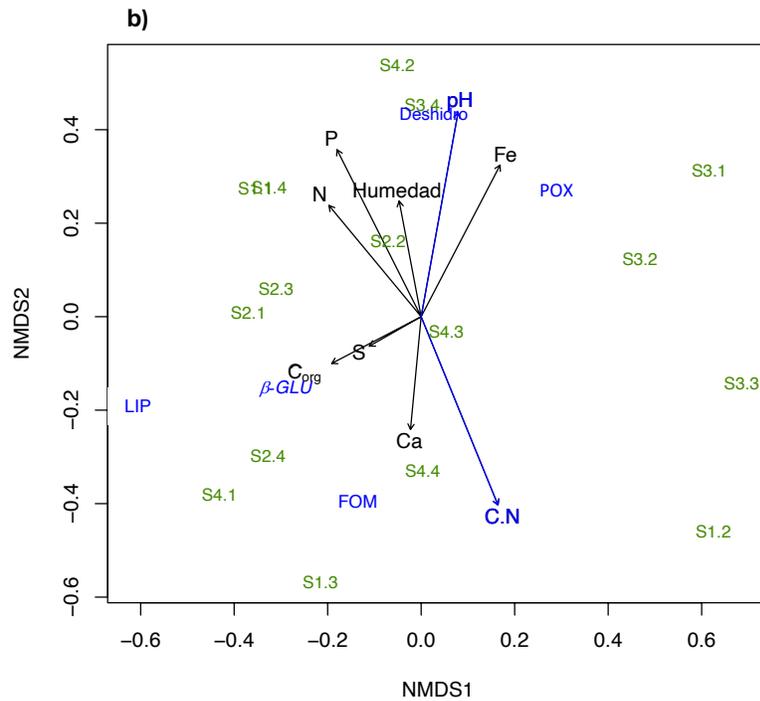
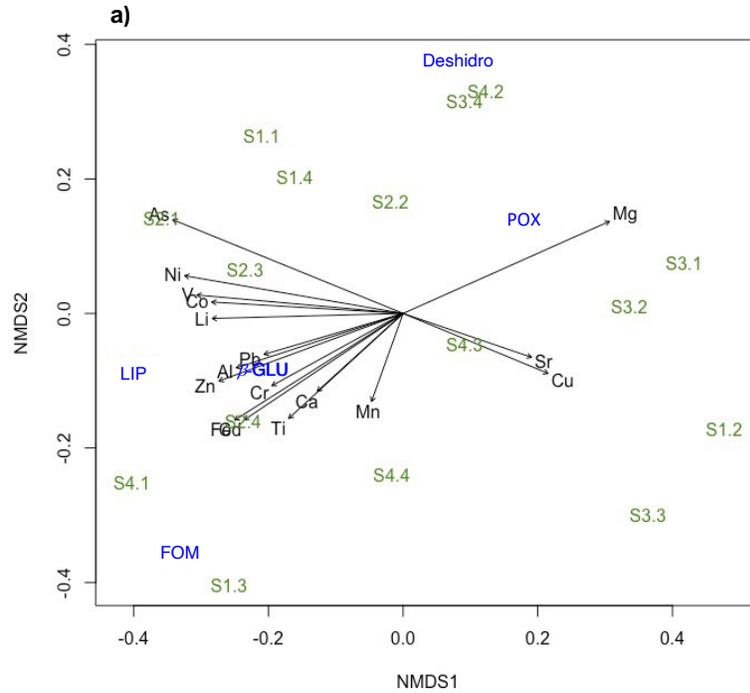


Figura 14. Análisis de Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS) mostrando la relación entre actividades enzimáticas y las propiedades fisicoquímicas del suelo en estudio.

a) Para metales y metaloides. b) Para pH, relación C:N, C_{org} , P, N_{tot} , humedad. Abreviaturas; Deshidro: deshidrogenasa, β -GLU: β -Glucosidasa, FOM: Fosfomonoesterasa, LIP: Lipasa de Butirato, POX: Polifenol oxidasa. Los subsitios se muestran en letras verdes. Los vectores en azul tuvieron un significancia < 0.05 p -value.

9.3. Abundancia y diversidad microbiana

El número de copias génicas del gen 16S rRNA fue en promedio de 2.8×10^7 copias/g de suelo húmedo, donde la curva de calibración tuvo una R^2 de 0.998 y una eficiencia de 92.8%. Mientras que, para los segmentos ITS fue de 9.3×10^4 copias/g de suelo húmedo (R^2 de 0.999 y una eficiencia de 101.5%) (Fig. 15). No existieron diferencias significativas entre los valores de los sitios, por lo que se encontraron cantidades similares de huellas moleculares en los sitios de estudio.

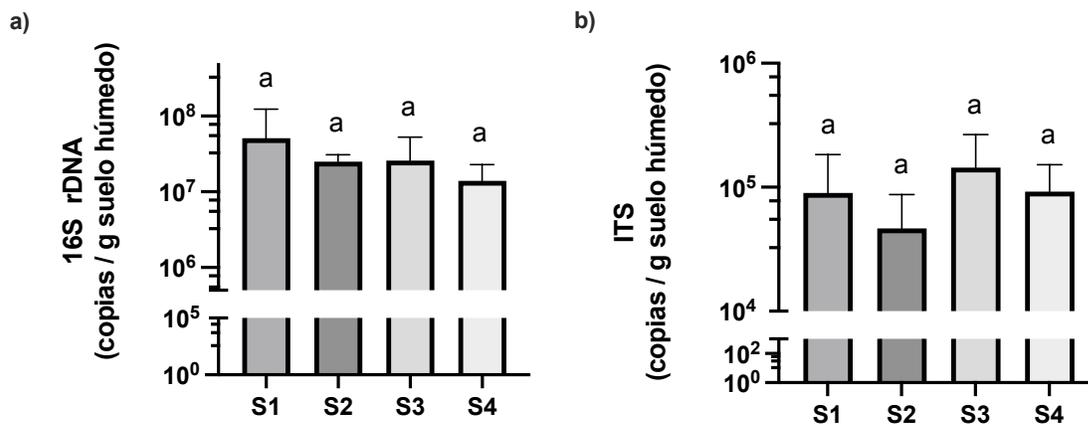


Figura 15. Número de copias de genes por gramo de suelo húmedo.
a) 16S rRNA de procariontes, b) ITS de hongos.

El número de ASVs de las secuencias obtenidas para Bacteria/Arquea ($n = 4,381$) fue mayor al de hongos ($n = 908$), reflejándose asimismo en la diversidad con el índice Shannon y con el índice inverso de Simpson. Esto significa que existe una mayor diversidad de especies en la comunidad de bacterias/arqueas. Entre sitios no se encontraron diferencias significativas para estos índices (Fig. 16).

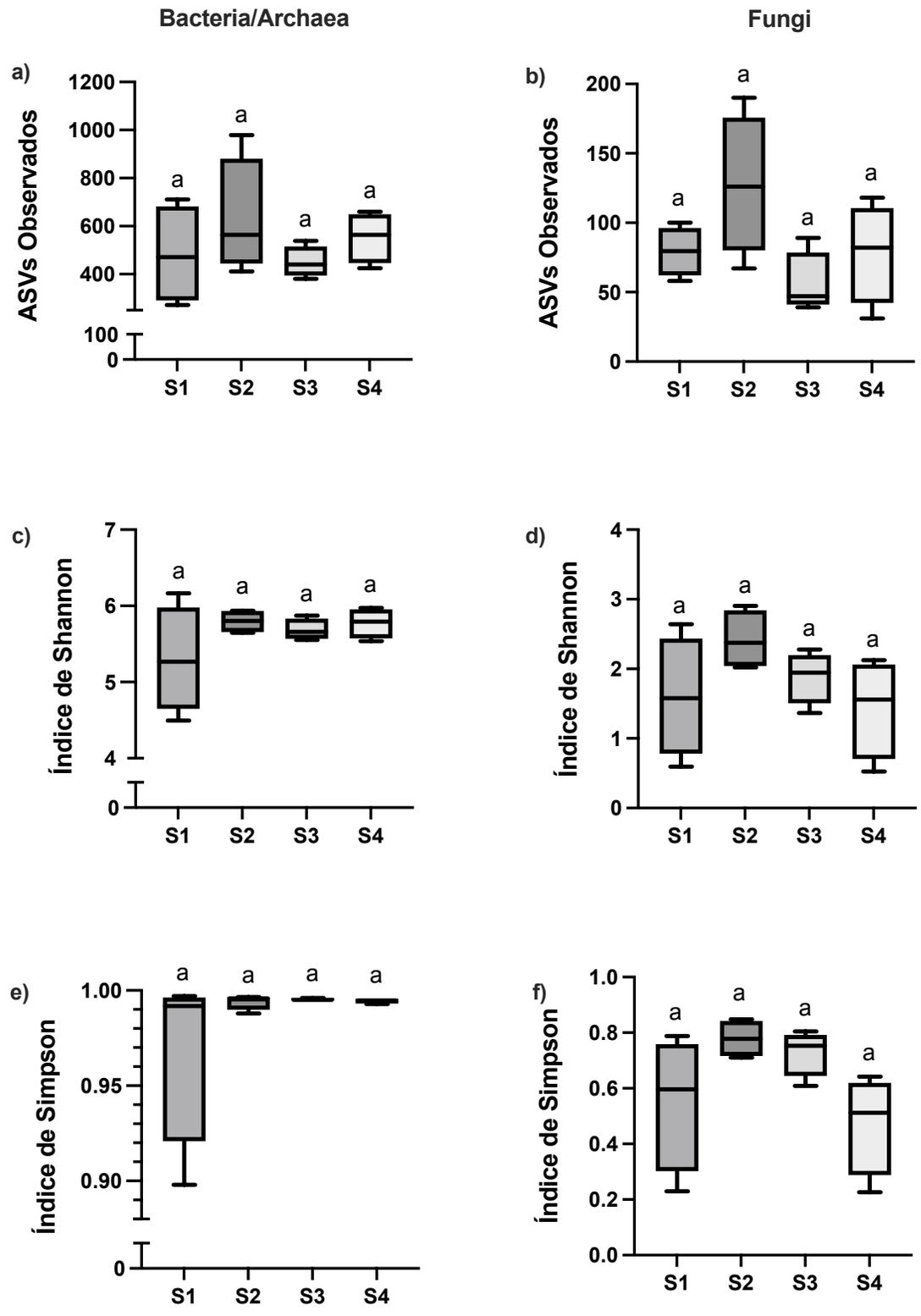
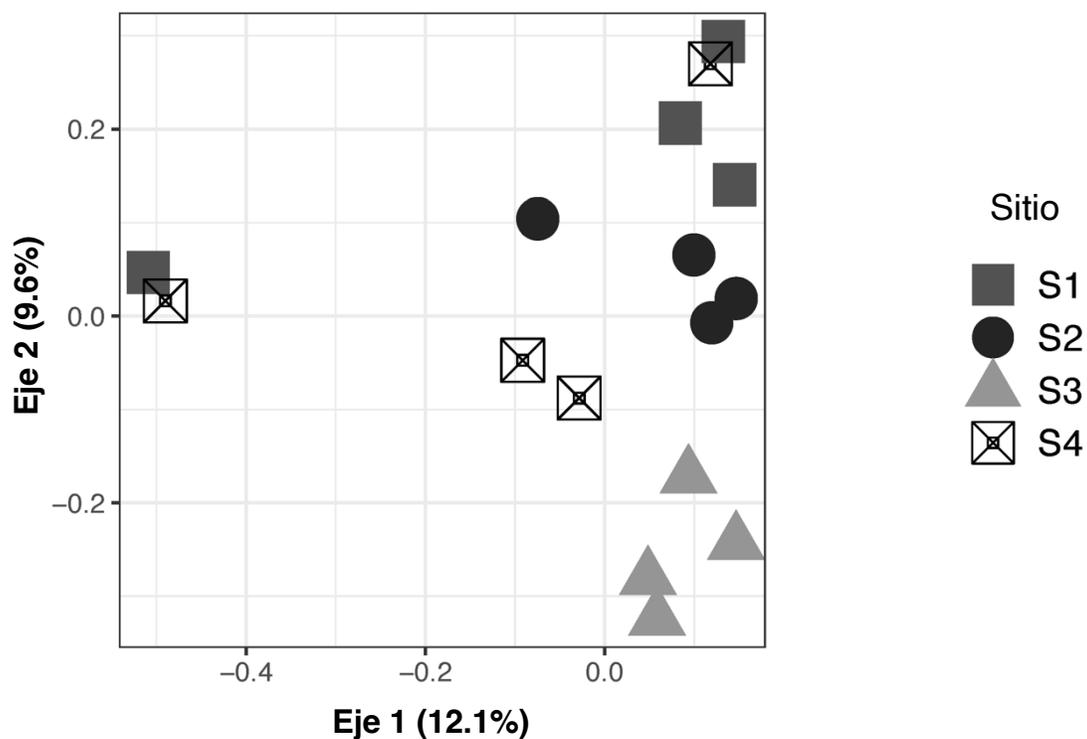


Figura 16. Indicadores de diversidad y riqueza suelos provenientes del estado de Quintana Roo. ASVs obtenidos, Índice de Shannon e Índice inverso de Simpson ($1-D'$). Columna izquierda: Bacterias y arqueas columna derecha: Hongos

9.4. Estructura y composición de la comunidad de bacterias y arqueas

En un primer análisis de PCoA se consideraron todos los ASVs detectados y sus patrones de presencia/ausencia en donde se observó que los subsitios S1.2 y S4.4 se separaron de los demás, sin embargo, la explicación del análisis fue muy baja (21.7%) y sin diferencias significativas entre los sitios (**Fig. 17**).



Valores permutados de p				
Sitio	S1	S2	S3	S4
S1		0.55	0.48	0.99
S2			0.97	0.44
S3				0.22

Figura 17. PCoA Unifrac no ponderado considerando todos los taxa de procariontes, y tabla con los valores permutados de p obtenidos por PERMANOVA, por comparaciones entre sitios (999 permutaciones).

Para entender mejor el comportamiento de los ASVs para estos sitios se hicieron los diagramas de Venn en los que se visualizó que la mayoría de los ASVs son exclusivos de cada subsitio (**Fig. A12**), indicando un alto grado de heterogeneidad entre las muestras. Posteriormente, se hizo un segundo PCoA no ponderado, pero sólo tomando en cuenta los taxa con abundancias $> 0.1\%$, quedando para el análisis una $n = 312$. Esta selección de ASVs más abundantes incrementó el nivel de explicación a 51.1% (**Fig. A13**). Los sitios S3-S4 mostraron una pequeña diferencia ($p\text{-value} = 0.07$), pero no fue significativa (**Tabla A14**).

Finalmente, la explicación del PCoA se incrementó al 74% cuando se ponderó el análisis, con una ligera diferencia entre los sitios S1-S3 y S3-S4 a una $p\text{-value}$ de 0.14 y 0.15 , respectivamente (**Fig. 18 y Tabla A14**).

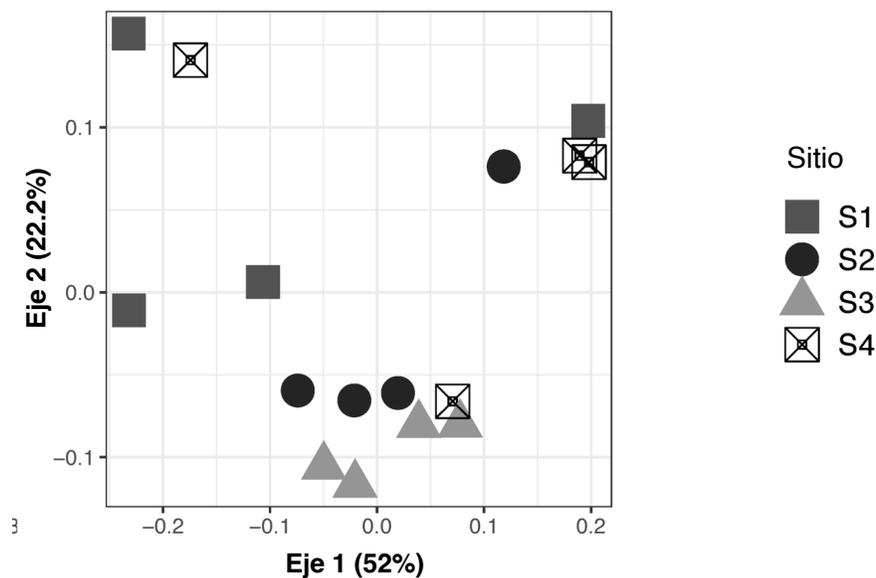


Figura 18. PCoA Unifrac ponderado considerando solo los taxa $> 0.1\%$ de procariontes.

Otro método que puede ayudar a la resolución del PCoA es la selección de ASVs que son principalmente responsables de las diferencias observada entre grupos de muestras, el cual se puede estimar por un análisis SIMPER (Clarke, 1993). Este análisis seleccionó 750 ASVs, con los cuales se observó que sigue habiendo una dispersión similar al análisis donde se consideró solo los ASVs que fueran mayores al 0.1% de abundancia (**Fig. 19 y Tabla A15**). No se encontraron diferencias significativas en la comunidad de procariontes en ninguno de los dos análisis, ya sea empleando los taxa con $> 0.1\%$ de abundancia relativa o aquellas seleccionadas con el análisis SIMPER.

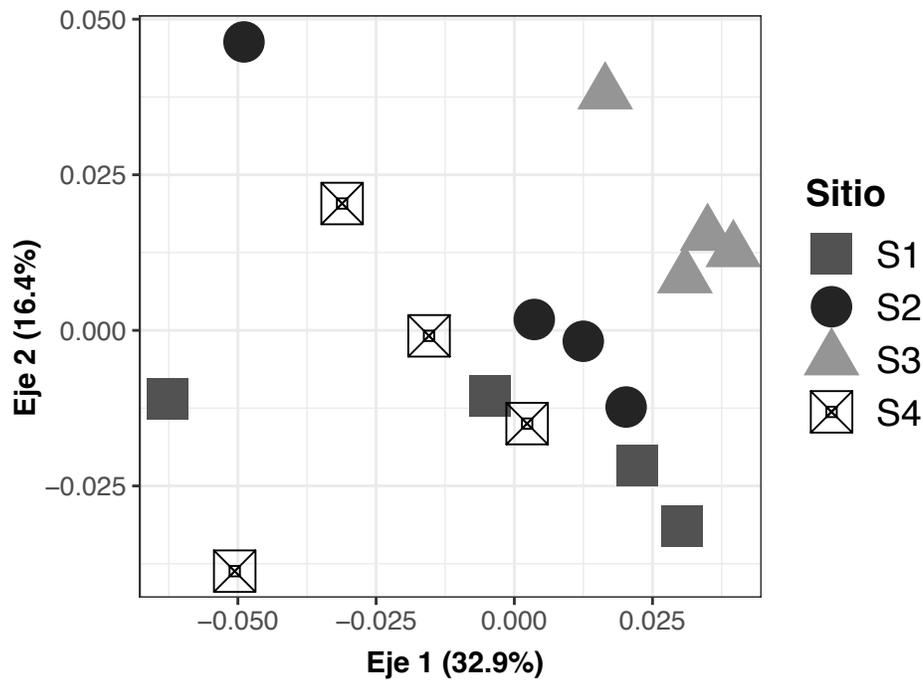


Figura 19. PCoA con los ASVs de procariontes seleccionados por el análisis de SIMPER

Esto sugiere que, de forma general, existe heterogeneidad en las comunidades procariontes entre los subsitios y no presentan una diferencia significativa entre éstas. Sin embargo, parece que hubiera una ligera diferencia entre la composición procarionte del sitio S3 con respecto a los demás, donde S3 se encuentra a una mayor distancia de la línea de costa.

Para bacterias y arqueas, se encontró que más del 95% de la abundancia relativa a nivel filo pertenecía a uno de estos once grupos en Bacteria: Proteobacteria (36%), Actinobacteria (27%), Acidobacteria (14%), Bacteroidetes (3%), Chloroflexi (3%), Verrucomicrobia (3%) Plantomycetes (3%), Firmicutes (2%), Rokubacteria (2%) y Gemmatimonades (1%); mientras que, para Archaea fue Thaumarcheota (3.5%) (**Fig. 20**).

La abundancia de estos filo varió entre las muestras. Por ejemplo, Proteobacteria fue el grupo con mayor abundancia en 12 de los 16 subsitios, exceptuando S2.1, S2.2, S3.1 y S3.2, donde Actinobacteria fue el grupo predominante. Con ello, Actinobacteria fue el segundo filo en abundancia para todas las demás muestras. El tercer filo más abundante fue Acidobacteria para casi todas las muestras, a excepción de S1.3, que fue superado por Bacteroidetes. Thaumarcheota fue un filo relevante y la abundancia relativa de éste fue de las variables que más varió en las muestras S1.3, S2.3, S3.4, S4.1, S4.3, S4.4, donde presentó

menos del 1% en abundancia; mientras que, en S2.4 y S4.2 está por encima del 10%. El quinto filo con mayor abundancia relativa fue Chloroflexi (3.4% promedio), donde la mayoría de los subsitios estuvieron entre un 2 y 4%, y sólo en el S4.4 se observó una abundancia del 8% y en S2.3 el 1%.

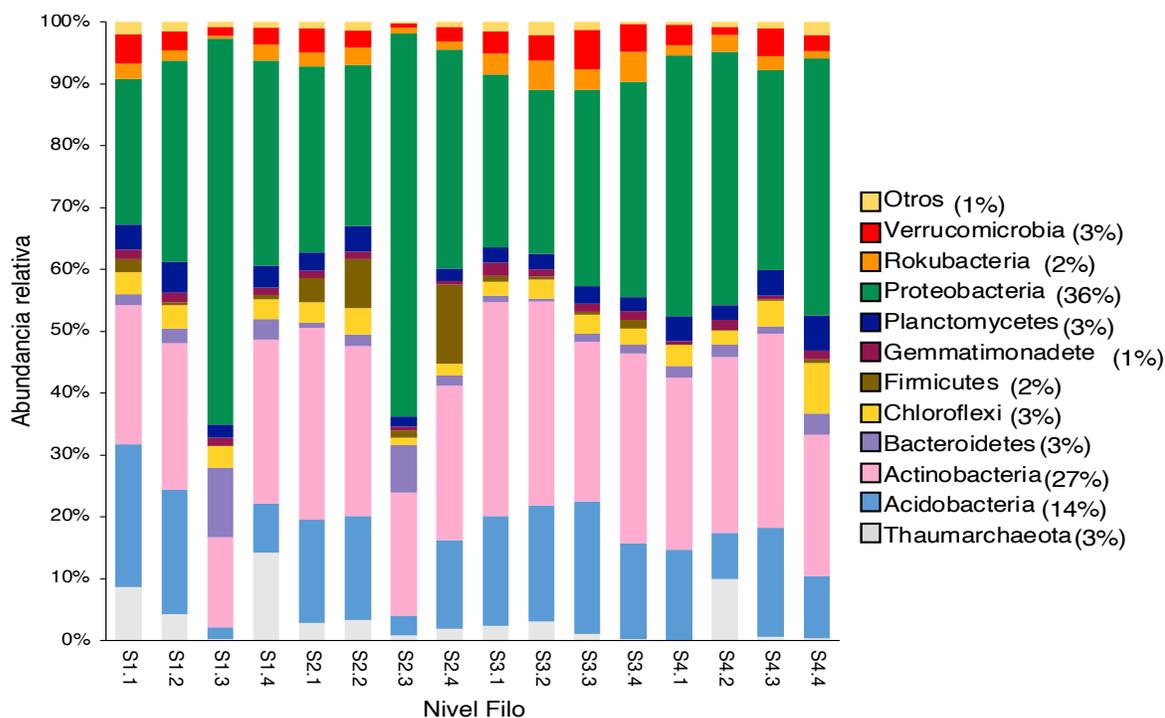


Figura 20. Abundancia relativa de procariontes a nivel Filo encontrada en los subsitios estudiados. El porcentaje que se muestra entre paréntesis es el promedio.

Verrucomicrobia fue el siguiente filo en abundancia, donde la mayoría de sus muestras estuvieron en el rango de 1-4%, aunque en el S3.3 superó el 6% y en la S2.3 fue menor al 1%. Planctomycetes, fue de los más homogéneos en cuanto a su abundancia relativa y la mayoría se encontró en el rango del 2-4%, y sólo el S4.4 presentó un ligero aumento con un 5.5%. El filo Bacteroidetes varió un poco, y la mayoría de las muestras presentaron entre 1-3%, sin embargo, en el S1.3 y S2.3 superaron el 7%, y en S2.1 y S3.2 no llegaron al 1%. El filo Rokubacteria presentó abundancias de 1-3%, con dos subsitios con un 5% (S3.2 y S3.4). El décimo filo en orden de abundancia fue Firmicutes, éste también varió mucho entre las muestras, donde S2.4 tuvo hasta un 13%, S2.2 un 8% y S2.1 un 4%; mientras que, seis presentaron valores de abundancia entre 0.1-0.6% (S1.2, S1.3, S3.2, S4.1, S4.2, S4.5). Finalmente, las otras muestras estuvieron entre el 1-2% de abundancia de Firmicutes.

Gemmatimonadetes que fue el grupo más homogéneo en valores todos entre el 1-2%. Entre los sitios o subsitios no se observaron patrones respecto a su abundancia relativa.

La clasificación a nivel de clase se puede apreciar en la **Tabla A16**. Brevemente, el dominio Archaea presentó cinco clases, siendo Nitrososphaeria (Thaumarcheota) la más abundante. Para el caso de Bacteria se formaron 103 clases donde 20 clases representaron el más del 90% de la abundancia, con Acidobacteriia, Blastocatellia, Subgroup 6, Subgroup 25, Acidimicrobiia, Actinobacteria, Holophagae, Rubrobacteria, Bacteroidia, Anaerolineae, Bacilli, Clostridia, Gemmatimonadetes, Planctomycetacia, Phycisphaerae, Alphaproteobacteria, Deltaproteobacteria, Gammaproteobacteria, NC10 y Verrucomicrobiae. A nivel de orden 22 grupos representaron más del 60% de abundancia relativa, a excepción de la muestra S4:4 en el que fue alrededor de 50% (**Fig. A17**), entre los que destacan Nitrososphaerales (Thaumarcheota), Betaproteobacteriales, Rhizobiales (Proteobacteria), Rokubacteriales (Rukobacteria), Gaiellales y Solirubrobacterales (Actinobacteria), relacionados a principalmente a al ciclo de N y transformación de MO.

La estructura de la comunidad Bacteria/Archaea se relacionó a través de un CCA con diferentes parámetros fisicoquímicos, siendo el pH el único con una correlación significativa (**Tabla 10**).

Tabla 10. Análisis CCA de propiedades fisicoquímicas con la comunidad procarionte. Se muestran los valores del coeficiente canónico (r^2) y del nivel de significancia (p -value).

Factor Ambiental	r^2	p-value
pH	0.5853	0.018 *
CE	0.4239	0.147
Na	0.4076	0.174
Arcilla	0.2371	0.295
Nitrógeno total	0.0689	0.735
Fósforo total	0.0567	0.685
Carbono orgánico	0.0548	0.797

* p -value < 0.05

Cuando se analizó la correlación entre la estructura de la comunidad procariótica y la actividad enzimática, se encontraron correlaciones significativas empleando: i) todos los taxa

o ASVs procarionticos ($n=4605$), y ii) considerando sólo los que tiene $>0.1\%$ de abundancia ($n= 312$) (**Fig. 21**). Las actividades de FOM, LIP y deshidrogenasa, se correlacionaron significativamente con la estructura de la comunidad de procariontes. Donde la explicación de la variabilidad es mayor cuando se consideran los taxa con $>0.1\%$ de abundancia relativa.

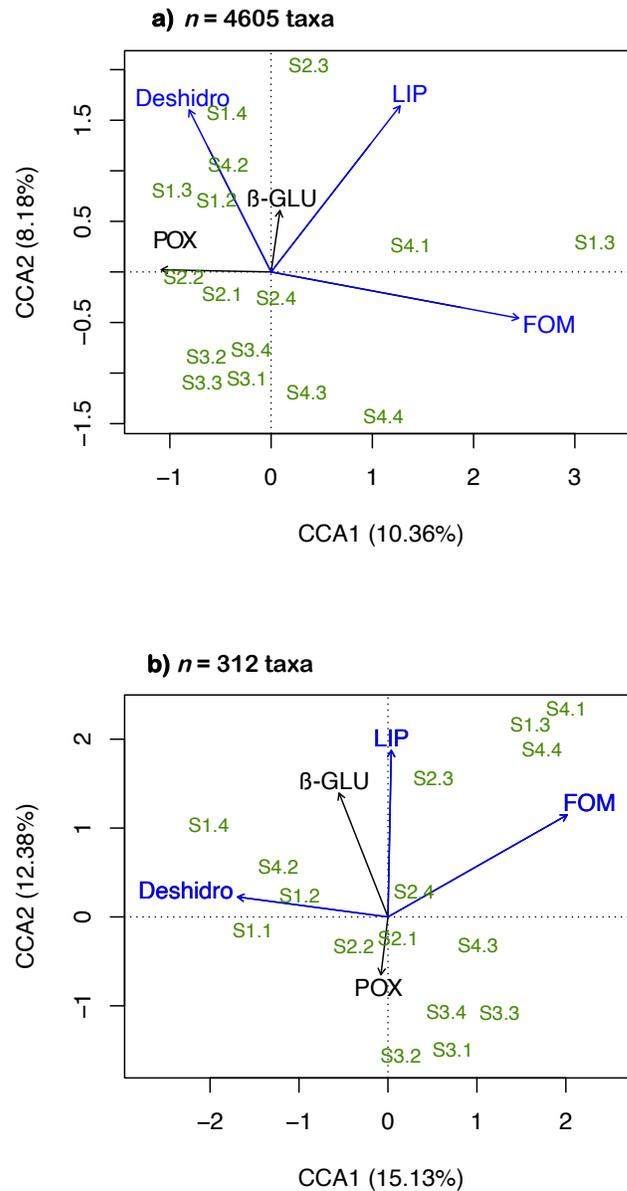


Figura 21. Análisis de Correlación Canónica (CCA) de la relación entre las actividades enzimáticas y las estructura de la comunidad procariontica, a) todos los taxa detectados, y b) con abundancias $> 0.1\%$. Abreviaturas; Deshidro: deshidrogenasa, β -GLU: β -Glucosidasa, FOM: Fosfomonoesterasa, LIP: Lipasa de Butirato, POX: Polifenol oxidasa. Los subsitos se muestran en letras verdes. Los vectores en azul tuvieron un significancia < 0.05 p -value.

9.4.1 Predicción funcional de bacterias y arqueas

Un análisis de metabolismo inferido se hizo con base a las secuencias 16S rRNA de los sitios, considerando aquellos con una abundancia relativa por encima del 0.5%. El análisis muestra que el potencial del metabolismo para la biosíntesis de antibióticos es uno de los mayores en todos los sitios (5%), seguido del metabolismo del C, la biosíntesis de aminoácidos, metabolismo de ácidos grasos, el metabolismo del S, la degradación de compuestos aromáticos, la fosforilación oxidativa, la fijación de C por procariontes, el metabolismo del metano, el metabolismo del N, y por último la fijación de C por fotosíntesis (**Fig. 22**). La predicción metabólica fue bastante homogénea entre los sitios, de igual forma los subsitios obtuvieron un patrón muy similar (**Fig. A18**).

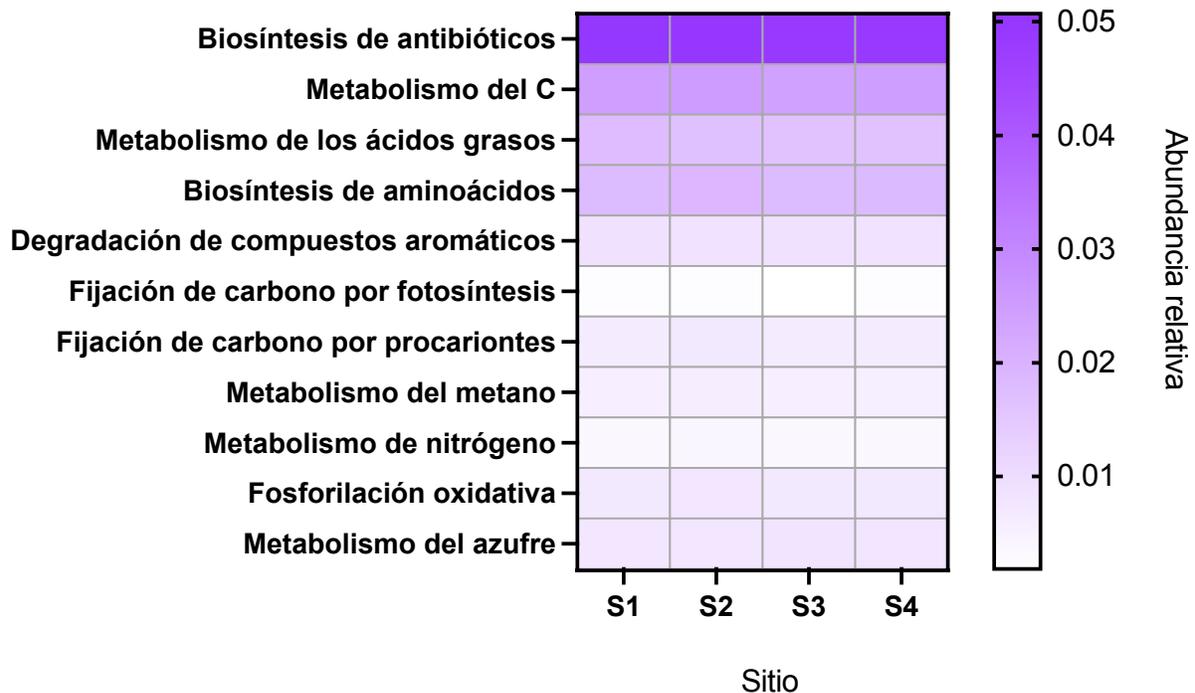


Figura 22. Mapa de calor de la abundancia relativa de diferentes metabolitos procarióticos basado en la predicción metabólica inferidos por el gen 16S rRNA con el programa Tax4Fun2.

Las predicciones funcionales con Tax4Fun2 también pueden estimar la abundancia relativa que se espera de las enzimas (o genes) a partir de la estructura del ensamble procariótico analizado. Para la base de datos generada de los genes 16S rRNA de suelos kársticos de Quintana Roo, se observó que, acorde a las predicciones funcionales, se

muestran ligeras diferencias en las abundancias relativas de todos los subsitios de enzimas como alcohol deshidrogenasa, polifenol oxidasa, fosfatasa, lipasa, y β -glucosidasa (Fig. 23).

Acorde a los resultados, se estima que en estos suelos hay un mayor potencial genético para la actividad de fosfatasa y alcohol deshidrogenasa. Mientras que, las menores actividades esperadas se estiman para lipasa, fenol oxidasa y β -glucosidasa. En este caso, se ven variaciones en la abundancia relativa por subsitios.

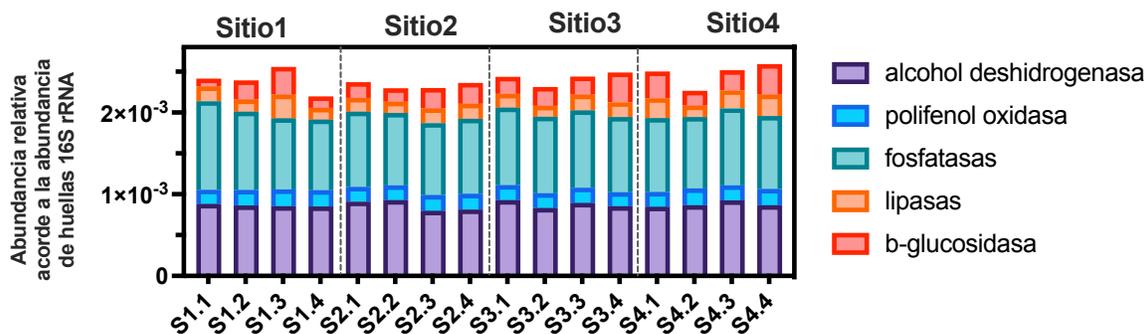


Figura 23. Abundancia relativa enzimática predicha por Tax4Fun para los subsitios muestreados.

Dentro del grupo de las fosfatasa, se encontraron varios potenciales que principalmente pertenecen a las fosfatasa alcalina D (*phoD*). En menor proporción se encontraron las fosfatasa alcalina codificadas por los genes *phoA* y *phoB*. Otras enzimas que pueden tener un potencial relevante fueron la pirofosfatasa inorgánica (*ppa*) y la acilfosfatasa (*acyP*) (Fig. 24).

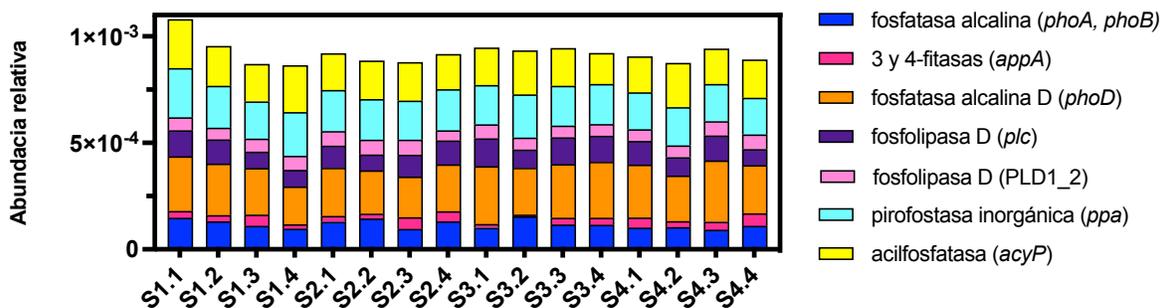


Figura 24. Abundancia relativa enzimática de fosfatasa predicha por Tax4Fun para los subsitios muestreados.

Para poner en perspectiva la abundancia relativa del potencial de las fosfatasa, se compararon con aquellas de la asimilación de NH_4^+ por la ruta GS-GOGAT, la cual comienza la incorporación de N-NH_4^+ a aminoácidos. La enzima clave de este último proceso es la glutamina sintetasa y es codificada por el gen *glnA*. En la **Figura 25** se observa que el potencial de fosfatasa es mayor o casi similar en algunos subsitios a los de la glutamina sintetasa (*glnA*), mientras que, el gen que codifica para la ureasa (*ureC*) es menor.

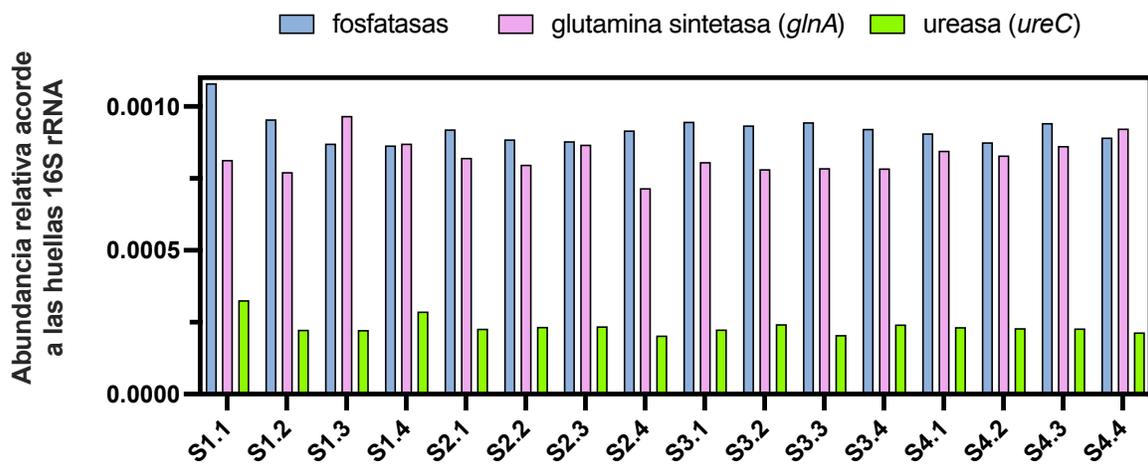


Figura 25. Abundancia relativa enzimática de fosfatasa, glutamina sintetasa y ureasa predicha por Tax4Fun para los subsitios muestreados.

9.5. Estructura de la comunidad fúngica

Para el estudio de la estructura de la comunidad fúngica también se realizaron análisis de PCoA. En un primer acercamiento considerando todos los taxa ($n=908$) y sus patrones de presencia/ausencia (*i.e.*, análisis no ponderado) no se encontraron diferencias significativas entre los sitios y los ejes ofrecieron poca explicación (22.4%) (**Fig. 26**). Esto dado a que la

mayoría de los ASVs de cada subsitio no se compartían (**Fig. A19**). En este caso, el *p-value* menor fue el de la comparación S1-S4 con un 0.226, seguido de S1-S2 con 0.267.

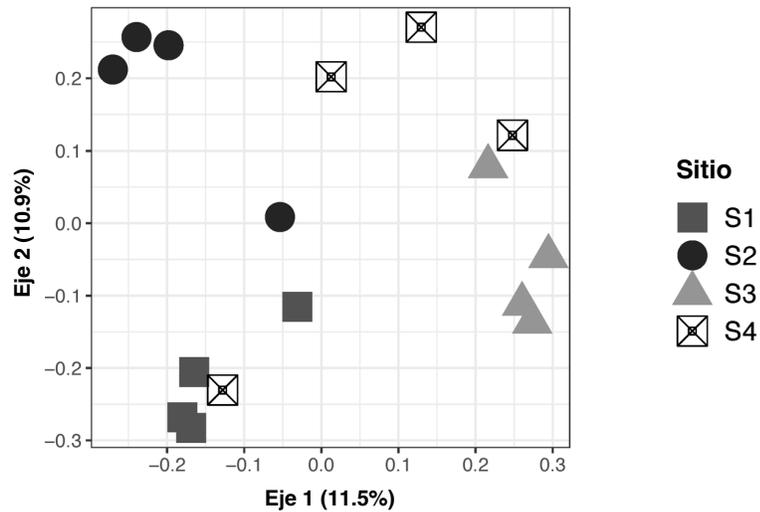


Figura 26. PCoA Unifrac no ponderado considerando todos los taxa para Fungi encontrados con fragmentos ITS.

El porcentaje de explicación de la variabilidad en la estructura de la comunidad fúngica aumentó cuando se consideraron aquellos taxa con una abundancia relativa > 0.1% ($n=22$). Por ejemplo, cuando se consideraron los patrones de presencia/ausencia, se obtuvo una explicación del 61.2% entre ambos ejes, y la diferencia más notoria se observó entre el S1 y el S4 (*p-value* 0.074) (**Fig. A20** y **Tabla A21**). Sin embargo, el PCoA ponderado obtuvo una mayor explicación, con un 79.1% (**Fig. 27**), pero la diferencia entre S1 y S4 es menor con un *p-value* de 0.370, y de 0.679 para S1 con S2.

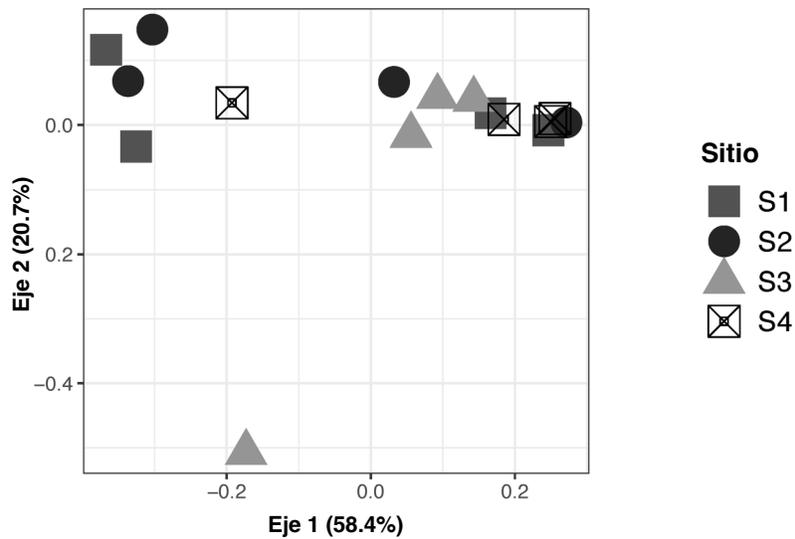


Figura 27. PCoA ponderado considerando solo los taxa >0.1% para Fungi.

Asimismo, se hizo un análisis de SIMPER para conocer cuáles ASVs tenían el mayor peso de contribución en la comunidad fúngica, lo cual resultó en 11 ASVs. Con estos 11 ASVs se realizó igualmente un análisis PCoA ponderado (**Fig. 28**), en el cual se observó una dispersión similar al análisis que tomaba en cuenta sólo el 0.1% de la abundancia relativa (**Fig. 26**). Este análisis SIMPER-PCoA muestra una explicación total del 62.3% en ambos ejes, y no se observaron diferencias significativas entre las comunidades de los sitios ya que los valores p oscilaron entre 0.57 y 0.92 (**Tabla A22**).

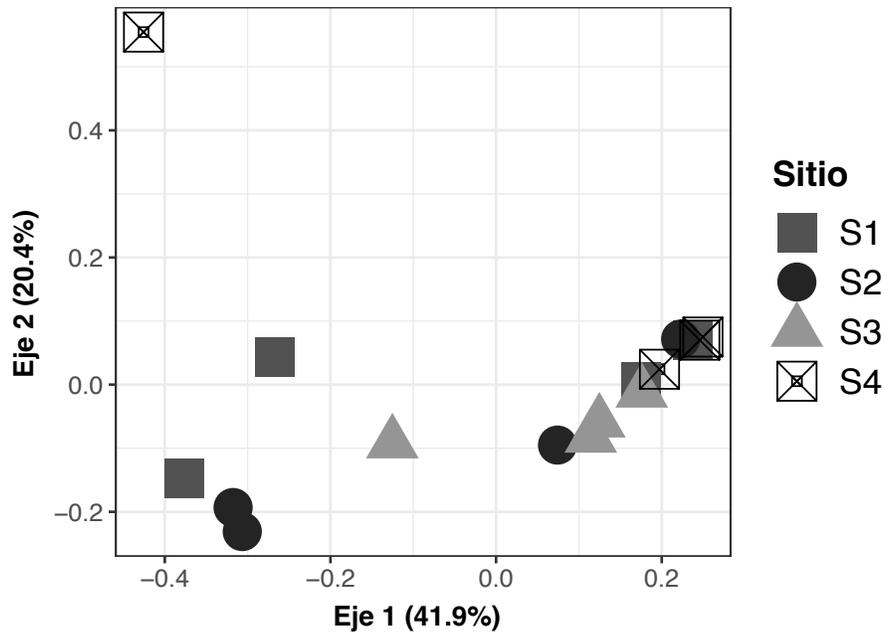


Figura 28. PCoA ponderado considerando los taxa de Fungi con mayor contribución, de acuerdo con el análisis de SIMPER ($n=11$).

En la clasificación taxonómica a nivel filo se distinguió que la mayoría de los ASVs (>95%) se encontraban dentro de los fila Ascomycota (47%), Basidiomycota (10%) y Mortierellomycota (38%). Menos del 5% de los ASVs pertenecieron a Rozellomycota, Mucoromycota, Kickxellomycota y Entomophthoromycota (**Fig. 29**). La abundancia relativa de los fila encontrados para Fungi fueron más heterogéneos entre los subsitios, y de forma similar a los procariontes, no se observaron patrones de distribución en cuanto a su abundancia relativa. El filo más abundante fue Ascomycota, mostrando una mayor abundancia relativa en los subsitios S1.2, S1.3, S1.4, S2.3, S3.2, S3.4 y S4.4. Mortierellomycota dominó en siete muestras (S2.1, S2.4, S 3.1, S3.3, S4.1, S4.2 y S4.3); mientras que, Basidiomycota fue más abundante en los dos subsitios S1.1 y S2.2. Los demás fila tuvieron una abundancia menor al 1% (en promedio) en todos los subsitios, con excepción del filo Rozellomycota, el cual representó casi el 9% en el S1.4. Cabe destacar que hubo muchos hongos que no pudieron ser afiliados a ningún filo (Fungi no identificado) que en algunas muestras representó hasta un 6% del total de las secuencias para cada subsitio.

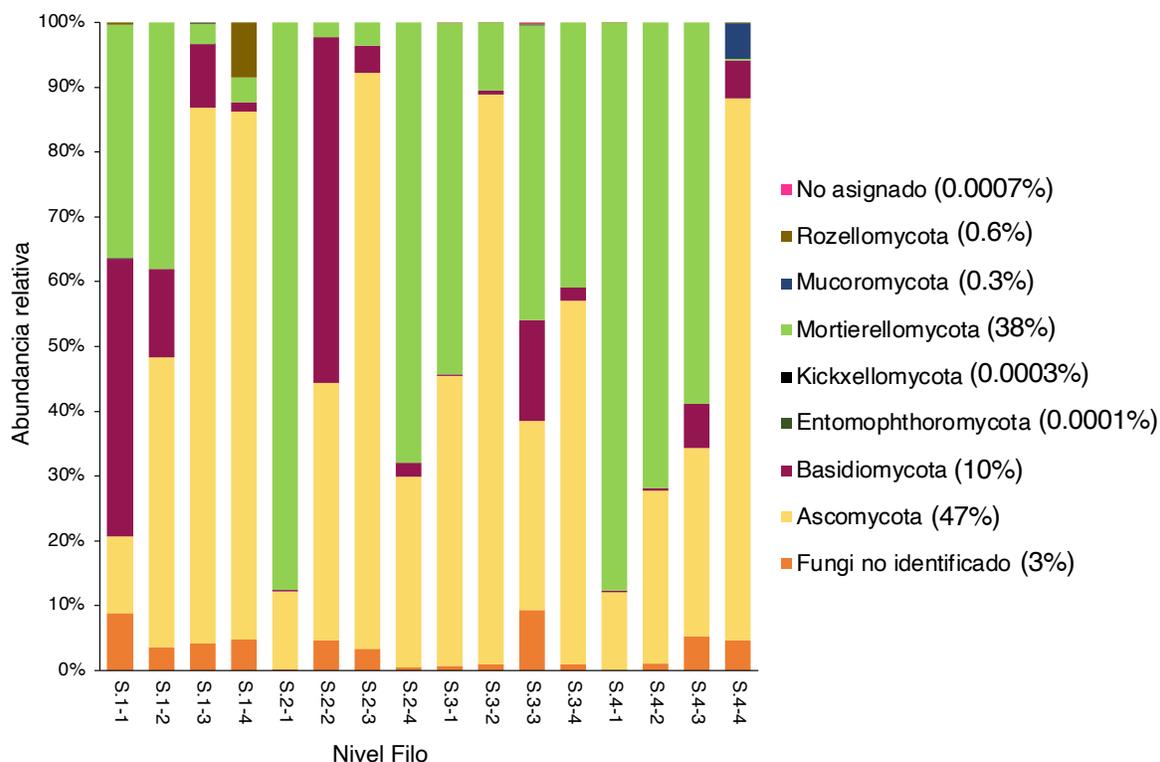


Figura 29. Abundancia relativa de hongos a nivel a nivel Filo encontrada en las muestras estudiadas, en paréntesis se muestra la abundancia relativa promedio.

Dentro de los siete fila mencionados en la **Figura 29**, se obtuvieron 18 clases de hongos. Las clases que mostraron un mayor porcentaje de abundancia fueron Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Sordariomycetes y Leotiomycetes (todos éstos de Ascomycota), Agaricomycetes y Geminibasidiomycetes (de Basidiomycota), y Mortierellomycetes (de Mortierellomycota) (**Tabla A23**). Los órdenes con un mayor porcentaje de abundancia relativa fueron: Mortierellales, el cual además tuvo el mayor número de secuencias, y dominó en abundancia en 10 de los subsitios (S1.1, S1.2, S2.1, S2.4, S3.1, S3.3, S3.4, S4.1, S4.2 y S4.3). El segundo grupo con mayor abundancia fue el de Pleosporales (Ascomycota) que dominó en tres muestras (S1.3, S1.4 y S2.3). Luego, el orden Geminibasidiales (Basidiomycota) fue dominante en S2.2, Coniochaetales (Ascomycota) en S3.2, y por último Onygenales (Ascomycota) en S4.4 (**Fig. A24**). De los nueve órdenes que presentaron una mayor abundancia, cinco pertenecen al filo de Ascomycota, tres a Basidiomycota y uno a Mortierellomycota.

El análisis CCA entre la estructura fúngica y los parámetros fisicoquímicos del suelo indicó que existe una relación significativa (p -value < 0.05) para características como el Na, CE, porcentaje de arena, S, N_{tot}, C_{org}, pH, entre otros (**Tabla 11**).

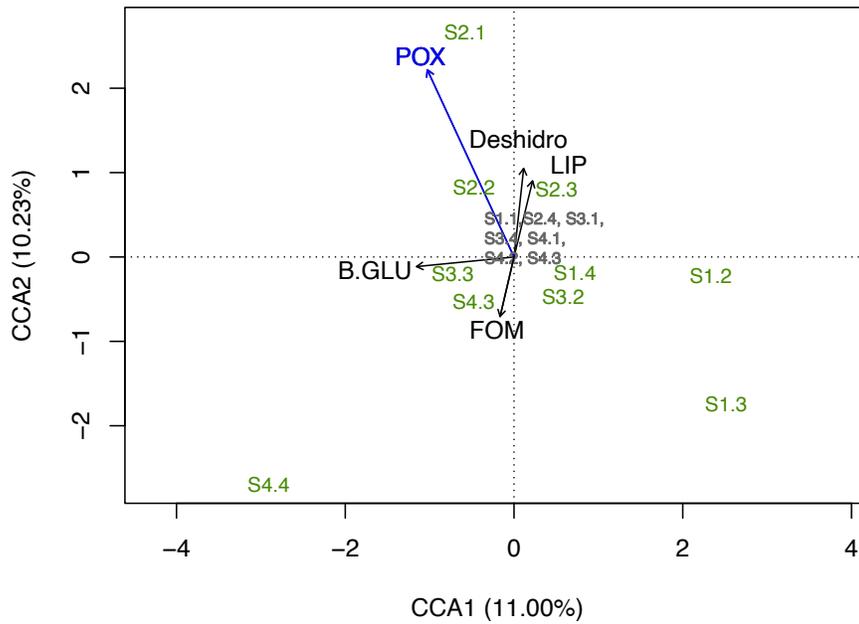
Tabla 11. Análisis CCA de propiedades fisicoquímicas del suelo con la comunidad fúngica. Se muestran los valores del coeficiente canónico (r^2) y del nivel de significancia (p -value).

Factor Ambiental	r^2	p-value
Na	0.9865	0.001 ***
CE	0.9783	0.003 **
% Arena	0.7956	0.002 **
S	0.6302	0.003 **
Ca	0.6252	0.003 **
N _{tot}	0.6241	0.002 **
DA	0.6106	0.002 **
Mg	0.5980	0.006 **
%Arcilla	0.4633	0.006 **
C _{org}	0.4407	0.009 **
pH	0.4115	0.042 *
Sr	0.3693	0.010 **
Zn	0.3542	0.029 *

* p -value < 0.05, ** p -value < 0.01, *** p -value < 0.001

La estructura de la comunidad fúngica también mostró una correlación con la actividad enzimática, siendo significativa para POX cuando se consideran todos los ASVs de la comunidad fúngica ($n=908$) (**Fig. 30a**). En cambio, cuando se consideran los ASVs de abundancia >0.1% ($n=22$), esta correlación significativa se pierde (**Fig. 30b**).

a) $n=908$ taxa



b) $n=22$ taxa

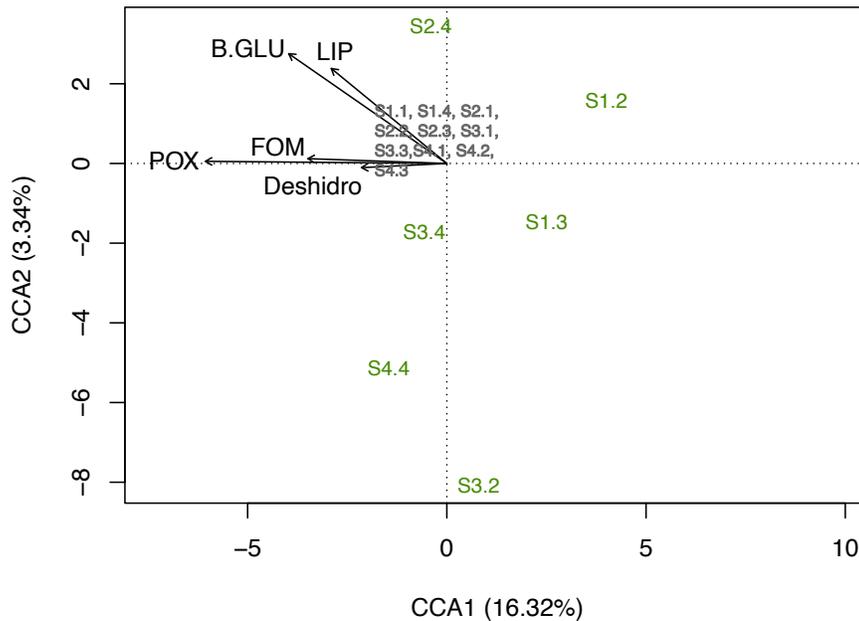


Figura 30. Análisis de Correlación Canónica (CCA) de la relación entre las actividades enzimáticas y las estructura de la comunidad fúngica, a) todos los taxa detectados, y b) con abundancias $> 0.1\%$. Abreviaturas; Deshidro: deshidrogenasa, β -GLU: β -Glucosidasa, FOM: Fosfomonoesterasa, LIP: Lipasa de Butirato, POX: Polifenol oxidasa. Los subsitios se muestran en letras verdes. Los vectores en azul tuvieron un significancia < 0.05 p -value. Suelos S1.1, S2.4, S3.1, S3.4, S4.1, S4.2, S4.3 se ven en gris al centro de la figura a). Suelos S1.1, S1.4, S2.1, S2.2, S2.3, S3.1, S3.3, S4.1, S4.2, S4.3 se ven en gris al centro de la figura b).

9.5.1 Rol ecológico de la comunidad fúngica

Los ASVs fúngicos encontrados se pudieron clasificar dentro de siete categorías tróficas (**Tabla A25**), y para fines subsecuentes de análisis sólo se consideraron aquellos asignados como “probables” y “muy probables”. En la **Figura 31** se muestra un mapa de calor de la preferencia ecológica de acuerdo con la abundancia relativa por sitio. La categoría de saprobio-simbionte fue la que obtuvo un mayor número de ASVs asociados y fue predominante en los sitios S2, S3 y S4. En cambio, para el S1, la categoría principal fue patógeno-saprobio. Seguido de ello, se encontró a la categoría exclusivamente de saprobio, que fue más dominante en S3 y S4. Las categorías de simbioses y patógenos se asociaron con muy pocos o ningún ASV. Cabe mencionar que varias secuencias fueron asociadas a la categoría de “No clasificado” (> 43%), debido a la resolución que aún tienen las bases de datos, tanto de clasificación como de conocimientos de los estilos de vida de los hongos. Sin embargo, sí se denota que en los suelos kársticos estudiados pueden estar favorecidos los procesos de descomposición de MO. Esta misma tendencia se observó cuando se analizaron por subsitios (**Fig. A26**), con una distribución un poco más heterogénea.

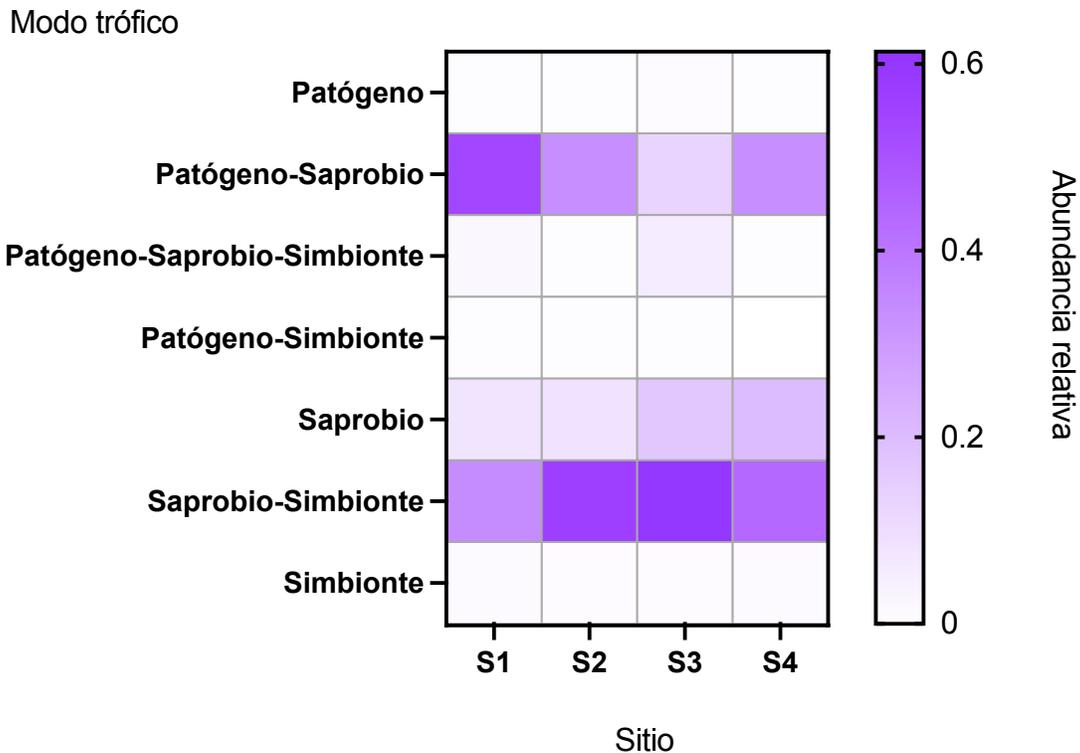


Figura 31. Mapa de calor de la abundancia relativa de los modos tróficos fúngicos predichos por FUNGuild para los suelos en estudio.

10. Discusión

10.1. Caracterización fisicoquímica del suelo y su estructura

Los suelos estudiados se clasificaron como Leptoles Réndzicos, que son suelos que abarcan gran parte de la parte noreste de la península de Yucatán (Bautista *et al.*, 2011), y que descansan sobre rocas carbonatadas del Cuaternario (Lugo-Hulb *et al.*, 1992). Estos suelos réndzicos fueron de color negro, en los cuales se ha encontrado que poseen una mayor cantidad de MO y un menor contenido de óxidos de hierro que las rendzinas de color rojo (Shang y Tiessen, 2003; Cabadas-Báez *et al.*, 2010a). Los valores de C_{tot} (119 a 339 g/kg), N_{tot} (3 a 23 g/kg) y P_{tot} (334 a 848 mg/kg) se encontraron dentro del rango reportado para otros suelos de la península (Shang y Tiessen, 2003; Solís y Campo 2004; Cabadas-Báez *et al.*, 2010a; Delgado-Carranza *et al.*, 2017; Pajares *et al.*, 2018).

Las muestras de los subsitios relacionado a HAHTs (S1.2, S1.3 y S3.4) tuvieron una concentraciones más alta de Ca y Sr que los demás suelos, lo cual puede está relacionado con la incorporación de caliza de origen marino, ya que el CaCO_3 marino tiene una alta afinidad al Sr^{2+} y éste puede sustituir al Ca^{2+} (Brand *et al.*, 1998). Asimismo, estos subsitios HAHT presentaron los valores más bajos de nutrientes como C_{org} , N_{tot} y P, que están relacionados con nutrientes necesarios para el crecimiento vegetal (Karthika *et al.*, 2018). El sitio S4 que se encuentra en una zona geomorfológica de transición de tectokarst-paludal (Fragoso-Servón *et al.*, 2019), se vio mayormente asociado a características relacionadas con la descomposición de MO (*e.g.*, material vegetal en descomposición, presencia de hifas, y residuos coprogénicos) y con la intervención de un ambiente más costero, por estar a una menor altitud que los demás sitios. Como consecuencia, en S4 se encontró una mayor concentración de nutrientes como C_{org} , N_{tot} , y P, las cantidades más bajas de metales pesados como Pb y Cd, pero las más altas de Na y Mg, donde estos últimos elementos se pueden deber a la intrusión del agua marina.

Los sitios S2 y S3 estuvieron asociados a un mayor contenido en metales y metaloides como Al, Fe, Ni, Pb, Zn y Ti (**Fig. 11**). Estos dos sitios presentan varias características como un alto contenido en arcillas y MO, que se asocian a un mayor contenido de metales (Harland *et al.*, 2012). Sin embargo, en estos suelos kársticos la retención más fuerte de metales y metaloides está mayormente asociada a la textura y la CIC que al contenido de MO (Zang *et*

al., 2010; Harland *et al.*, 2012). En suelos kársticos de la península de Yucatán se han encontrado valores de CIC que rondan generalmente entre los 50-100 cmol/kg (Borges-Gómez *et al.*, 2005; Lorenzo-Flores *et al.*, 2017; Pajares *et al.*, 2018), lo que promovería una mayor retención de metales y metaloides que pueden llegar vía deposición atmosférica. Los sitios de estudio se localizan a más de 1 km de la costa y pueden mostrar influencia por la cercanía de carreteras y caminos los cuales se encuentran transitados, siendo el sitio S3 el que tiene mayor cercanía de la carretera, a 30 m aproximadamente. Además, a estos sitios turísticos se tiene acceso con vehículos, que en todas las zonas se encontraban en un radio de 50 m o menor. También existe la posibilidad de que estos metales se encuentren en estos sitios de forma autógena por las arcillas o a la madurez del suelo. Bautista *et al.* (2011) detectaron en leptosoles de la península de Yucatán bohemita, anatasa y hematita que se asocian a altos contenidos de óxidos de Al, Fe y Ti. Asimismo, se ha encontrado que suelos de secciones más antiguas de la península tienen una concentración alta en anatasa (TiO₂) que los más jóvenes, como las de nuestros sitios, debido a la disolución de los carbonatos con su consecuente acumulación relativa de material residual. Esta tendencia también se ha visto para elementos como el Cr y Zn (Isphording, 1980). Por lo tanto, el contenido de metales y metaloides encontrados en el S2 y S3 puede deberse también a un estadio intermedio de madurez del suelo en esas zonas.

En las láminas delgadas para el análisis de la estructura del suelo se observó el color negro del suelo de forma predominante, y la existencia de diferentes materiales como fragmentos de calizas y material vegetal en descomposición (**Fig. 12b, e y g**), así como cambios de coloración por óxidos de Fe (**Fig. 12c y f**). También se visualizaron espacios porosos donde se distinguieron canales principalmente relacionados con la meso fauna y agregados de origen coprogénico (**Fig. 12a-h**), lo cual es consistente con otros estudios leptosoles réndzicos de la península de Yucatán (Sedov *et al.*, 2008). Este espacio poroso y las arcillas de tipo vermiculita y caolinita contribuyen a los valores relativamente bajos de densidad aparente de los suelos no-HAHT estudiados y que son comunes en suelos kársticos de la zona (Cabadas-Báez *et al.*, 2010a). Así, en las láminas delgadas se pudo observar la heterogeneidad de las muestras con una mezcla distinta de material vegetal, gránulos de MO, óxidos de Fe, partículas de carbonatos y un color oscuro para casi todas las muestras. Esta microheterogeneidad es común en los suelos de origen kárstico, lo que probablemente promueve la formación de microambientes y el crecimiento de diversos microorganismos.

Por ejemplo, en los suelos heterogéneos forestales nativos se ha observado una mayor diversidad microbiana en contraste con suelos más homogéneos de pastos no nativos (Curd *et al.*, 2018). Esto puede indicar que una matriz heterogénea promueve la diversidad y divergencia de las comunidades microbianas en suelos kársticos, así como su actividad. En los suelos kársticos, el tipo de suelo negro también puede indicar una mayor diversidad en comparación otro tipo de suelo. Pajares y colaboradores (2018) observaron que los suelos del color negro fueron más diversos que los de color rojo en suelos kársticos de Yucatán, donde en estos últimos se ha observado una menor heterogeneidad del material mineral y orgánico que los conforma.

10.2. Actividad enzimática en suelos kársticos tropicales

La actividad enzimática de los sitios y sus subsitios fue muy heterogénea y, en general, no se encontraron diferencias significativas entre sitios, salvo para la lipasa en butirato (LIP) entre el S2 y S3 (**Fig. 13, Tabla A27**). Esta heterogeneidad en los datos de actividad enzimática nos podría indicar que se están secretando diferencialmente las enzimas de acuerdo con las necesidades de la comunidad microbiana en cada subsitio, lo que concuerda con estudios previos donde se observa este mismo fenómeno (Pajares *et al.*, 2018). Consecuentemente, en estos suelos parecen coexistir microambientes (observables en las láminas delgadas) que propician micrositios diferentes el uno al otro y generan necesidades específicas para su microbiota, lo que también debe fomentar una actividad enzimática diferente.

Varios artículos han encontrado diferentes relaciones entre la actividad de algunas enzimas extracelulares con diferentes propiedades del suelo, como son la cantidad de C_{org} , y los valores de pH (Sinsabaugh *et al.*, 2008; Štursová y Baldrian, 2011). En suelos de origen kárstico también se ha encontrado una relación entre las propiedades del suelo con la actividad enzimática (Chen *et al.*, 2017), como humedad, limos, fósforo total, nitrógeno total y la relación P:N. De acuerdo con el análisis NMDS en este trabajo, se encontraron correlaciones positivas y significativas de la actividad de deshidrogenasa y POX con respecto al pH, mientras que, con la relación C:N hay una correlación negativa de ambas actividades (**Fig. 14**). Por su parte la actividad de la FOM está correlacionada positivamente con la relación C:N y negativamente con el pH del suelo. Esta correlación negativa de FOM con el pH es de esperarse ya que la actividad FOM que se midió en estos ensayos es de fosfomonoesterasa ácida, por lo cual su actividad tiende a disminuir con el aumento del pH

(Fig. 14b y Tabla A9). Asimismo, la actividad de POX se vio correlacionada negativamente con la relación C:N, lo que puede deberse a que al existir una menor cantidad de N en relación al C, la biomasa microbiana, así como su actividad se ven desfavorecidas y los procesos de descomposición de la MO serían más lentos, afectando la actividad de POX. Queda mencionar que las correlaciones encontradas entre la actividad y los parámetros fisicoquímicos del suelo en esta tesis coinciden con reportes de otros suelos (Sinsabaugh *et al.*, 2008; Štursová y Baldrian, 2011), principalmente con el pH. Sin embargo, la actividad enzimática aquí determinada depende de las condiciones previas del suelo y durante la medición del suelo, por lo que los valores obtenidos pueden variar dependiendo de la época del año y de otros factores como el contenido de agua, C, y N, lo cual está vinculado con la secreción de enzimas al suelo (Pajares *et al.*, 2018), recordando que la colecta de suelo se hizo al final de la época de secas e inicio de la de lluvia.

En este estudio no se encontraron relaciones significativas para LIP con los parámetros fisicoquímicos de los suelos. Pese a ello, S3 presentó los valores más pequeños de actividad de LIP respecto a los otros subsitios y con una diferencia significativa con S2. De manera similar, otras actividades del sitio S3 fueron las menores de las determinadas como β -GLU y FOM; y contrariamente la actividad POX fue la mayor comparada con las otras enzimas determinadas, aunque no mostraron diferencias significativas. Esto sugeriría que posiblemente en ese sitio y en ese momento, la comunidad estuviera degradando otras fuentes de carbono como polifenoles.

La actividad de la deshidrogenasa ha sido reconocida como un indicador sensible a la actividad microbiana oxidativa (Alef y Nannipieri, 1995; Serrano *et al.*, 2009). En suelos negros del estado de Yucatán se reportó una actividad significativamente más alta de la deshidrogenasa en comparación con suelos rojos (Pajares *et al.*, 2018). En los suelos de este estudio, la enzima deshidrogenasa mostró valores en promedio de 33 $\mu\text{mol TPF/g h}$, que los sitúa por encima de valores reportados en otros sistemas como bosques y suelos mineros (Gu *et al.*, 2009; Solís-Hernández *et al.*, 2022). Esto significa que el suelo tiene una buena capacidad óxido-reductiva por parte de la biomasa microbiana. Esta actividad pudo ser favorecida por distintos factores como: i) estar en los primeros centímetros del suelo (0-30 cm) donde se ha reportado que existe una mayor actividad de esta enzima, ii) la vegetación de leguminosas donde se ha reportado con niveles más altos de deshidrogenasa que en otros cultivos en sistemas agrícolas, y iii) en climas húmedos se favorece la actividad enzimática

(Velmourougane *et al.*, 2013). Pese a que no se encontró en este estudio una relación directa entre el contenido de C_{org} y la actividad de deshidrogenasa, se pudo observar que en las muestras S2.4, S4.1, S4.4 con alto contenido de C_{org} había una menor actividad de esta enzima, lo cual concuerda con lo reportado por Alrumman y colaboradores (2015). Esto puede relacionarse también con el contenido de MO, el cual puede estar limitando la fuente de carbono orgánico disponible.

10.3. Abundancia y diversidad microbiana

En la abundancia y diversidad microbiana, las muestras no mostraron diferencias significativas entre el número copia de genes y la diversidad alfa. En reportes de suelos kársticos agrícolas se han registrado en promedio de 4×10^{11} 16S rRNA copias/g (Liao *et al.*, 2018) y en suelos kársticos negros del estado de Yucatán de 4×10^{10} 16S rRNA copias/g (Pajares *et al.*, 2018), y en leptosoles réndzicos de Europa se han reportado valores que oscilan entre los 2.4 a los 6.8×10^{10} copias/g (Kimeklis *et al.*, 2021) que son valores mayores a lo encontrado en este estudio que fue de 2.8×10^7 copias/g. Sin embargo, en otros suelos negros (alto contenido MO), se reportaron valores más similares a los reportados en este estudio tanto para el 16S rRNA, como para los de ITS (Zhou *et al.*, 2015; 2016).

El rango de valores en el índice de Shannon varió de 4.6 a 6.2 en procariontes para este estudio y fue similar a los reportados en suelos kársticos (Yun *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2019), negros (Zhou *et al.*, 2015), de bosque de pino (Pec *et al.*, 2017) y de bosques primarios (He *et al.*, 2008). No obstante, se han reportado valores más altos en otros suelos kársticos de bosque (Estrada-Medina *et al.*, 2016; Pajares *et al.*, 2018; Peng *et al.*, 2019) y en leptosoles réndzicos (Kimeklis *et al.*, 2021). Esta diferencia en el índice de Shannon se puede deber principalmente a los programas bioestadísticos empleados, ya se ha visto que unos emplean un logaritmo base natural y otros, base diez, lo que resulta en diferencias en los índices y los vuelve poco comparables a primera vista. Lejos de este sesgo computacional, es importante valorar que hay diferencias en la estacionalidad de la toma de muestra, y puede hacer variar los valores de la diversidad (He *et al.*, 2008).

Un patrón similar se obtuvo en el índice de Shannon para hongos, donde estudios como el de Zhou *et al.* (2019) encontraron valores cercanos a los aquí reportados que oscilaron entre los 0.5-2.9. Asimismo, existen otros reportes con valores de índices promedio por encima de 4.2 (Estrada-Medina *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2016; Beng y Corlett, 2019;

Peng *et al.*, 2019). Estas diferencias pueden ser ocasionadas por las diferencias en los métodos en el análisis, además de la estacionalidad como se mencionó anteriormente. Se pudo también observar que existe una mayor dominancia de algunas especies en comparación con la de procariontes, que coincide con otros estudios de suelo de origen kárstico (Zhou *et al.*, 2016, 2015; Zhou *et al.*, 2019). En este estudio la clase de hongos Mortierellomycetes (Mortierellomycota) y Dothideomycetes (Ascomycota), fueron dominantes sobre las demás clases (**Tabla A23**).

10.4. Estructura y composición de la comunidad de bacterias y arqueas

Los suelos estudiados mostraron heterogeneidad en su estructura edáfica tanto a nivel sitio como a nivel subsitio. Este fenómeno de heterogeneidad se trasladó a la comunidad procariótica, donde primeramente se observó que los ASVs de los genes 16S rRNA detectados son poco compartidos entre todos los sitios o subsitios, y la mayoría son únicos a cada subsitio. En general, se observó que los subsitios de un mismo sitio comparten alrededor del 10% de los ASVs, como se ve reflejado en los diagramas de Venn (**Fig. A12**), y, por ello, los análisis PCoA para la diversidad beta no muestran diferencias significativas entre los sitios (**Tablas A14 y A15**). Cuando se consideraron los taxa con >0.1% de abundancia relativa, se sesgaron los efectos de biosfera rara generados por la heterogeneidad edáfica de los suelos, y se observa un mayor porcentaje de explicación en los ejes del PCoA (**Fig. 18**). De esta forma, cuando se emplean los ASVs más abundantes ($n=312$) o aquellos con una mayor contribución ($n=750$, acorde a un análisis SIMPER), se pueden apreciar pequeñas diferencias entre S1-S3 y S3-S4, lo que podría sugerir que el S3 es el que menos se parece a los otros sitios en su comunidad procarionte. Estas diferencias de S3 pueden ser debido a que es el más alejado de la costa, lo que propicia ligeras diferencias ambientales que no afectan significativamente la estructura de la comunidad. En estudios de otros suelos, como los agrícolas, la diversidad de los subsitios se asocia con la del sitio en general. Sin embargo, aquí la heterogeneidad de los suelos kársticos contribuye a la dispersión de la estructura de la comunidad microbiana, aunado a que las condiciones ambientales son similares en los todos los sitios, por lo que no existe patrones claros acorde a un sitio.

Los suelos estudiados mostraron una composición taxonómica acorde a lo reportado. Los doce fila más abundantes (>1%) en este estudio se han descrito en otros suelos de origen kárstico, y en rendzinas, aunque con variaciones en su abundancia (Estrada-Medina *et al.*,

2016; Yun *et al.*, 2016; Liao *et al.*, 2018; Pajares *et al.*, 2018; Zhou, 2019; Kimeklis *et al.*, 2021).

El filo con mayor abundancia en los suelos fue Proteobacteria (36%), donde se encontraron 10 órdenes con una abundancia relativa >1% en todos los sitios. El más abundante fue Rhizobiales (12%) de clase de Alphaproteobacteria, donde se pueden encontrar algunos géneros asociados a vegetación de leguminosas arbórea (Bala *et al.*, 2003) y que fue común a las zonas de muestreo. Entre las bacterias Rhizobiales destacan los fijadores de N como *Bradyrhizobium* y *Leucaena leucocephala*, géneros encontrados en los sitios de estudio. En estudios previos, se ha detectado que las hojas provenientes de este tipo de árboles tienen un mayor contenido de N y P, en contraste con los no leguminosos de la península de Yucatán (Roa-Fuentes *et al.*, 2015), lo que sugiere el rol de estos organismos como fijadores de N. Consecuentemente, los suelos de bosques tropicales bajo el dosel de árboles leguminosos han mostrado una mayor reserva de N y una tasa de mineralización más alta; lo que sugiere que las bacterias fijadoras son esenciales para incrementar el contenido de N del suelo y promueven el potencial de nitrificación en el mismo (Pajares *et al.*, 2016). El orden Rhizobiales también ha sido ligado a la actividad de la fosfatasa con el gen *phoD* en suelos kársticos. Hu *et al.* (2018b) observó que altas actividades de esta enzima tenían una correlación positiva con el número de copias del gen *phoD*, y el 34% de las secuencias de los genes *phoD* se relacionaron a este orden. Esto es interesante dado que el fósforo es un nutriente limitante en la mayoría de los suelos. Ensayos enzimáticos en los suelos kársticos muestran que la limitación de P es más común que la de N (Chen *et al.*, 2018, 2019). Sin embargo, esta limitante puede estar influenciada por el tipo de vegetación. Por ejemplo, un estudio sugiere que los pastizales están limitados en N en áreas kársticas, mientras que, en bosques primarios y secundarios se limitan por P (Zhang *et al.*, 2015), los cuales son ecosistemas similares a los aquí estudiados. Esta diferencia en la limitante de nutrientes se puede asociar a la demanda nutricional de las plantas y su posible relación con las bacterias fijadoras de N.

Dentro de Proteobacteria el segundo orden más abundante fue el de Myxococcales (4%). Estos microorganismos se han asociados a la predación de otras bacterias, donde su estrategia consiste principalmente en la secreción de enzimas hidrolíticas y antibióticos que lisan a la célula objetivo (Wang *et al.*, 2020). De acuerdo con la predicción de Tax4Fun2, el metabolismo procarionte más abundantes en estos suelos es el de la secreción de antibióticos

(Fig. 22), por lo que este orden podría ser uno de los principales responsables. El siguiente fue Betaproteobacteriales (4%), que se ha reportado como el segundo orden más abundante en suelos kársticos del suroeste de China, superado solo por Rhizobiales (Liao *et al.*, 2021). Sin embargo, en este estudio también fue superado por Myxococcales, Solirubrobacteraceae, Gaiellaceae y Subgrupo 6. El orden Pseudomonadales (3%) es uno de los taxa que influye fuertemente en la movilización de ortofosfatos a partir de diferentes formas de P inorgánico (Tian *et al.*, 2020), lo cual lo convierte en un grupo importante para la movilización de P dentro de los suelos de estudio.

Los Caulobacterales (2%) (Proteobacteria) parecen tener un rol activo en la transformación de la materia orgánica (Eichorst y Kuske, 2012). En experimentos de suelo se ha visto que su abundancia relativa llega a aumentar de 1.5 a un 1.7% cuando hay un incremento de N (Wang *et al.*, 2021b), lo que podría ser otro indicativo de que efectivamente el N no es un nutriente limitante dentro de nuestro sistema. En el orden Steroidobacterales (2%) se encuentran microorganismos aerobios y anaerobios, degradadores de agar y desnitrificantes (Huang *et al.*, 2019). Por su parte, el orden Sphingomonadales (1%) incluye microorganismos aerobios fotótrofos anoxigénicos, que no pueden utilizar únicamente luz como fuente de energía, por lo cual son considerados como fotoheterótrofos (Siddaramappa *et al.*, 2018). Los Xanthomonadales (1%) son un orden fisiológicamente diverso y generalmente están categorizados como degradadores generalistas de hidrocarburos, ya que pueden usar varios sustratos de C como única fuente de energía y biomasa (Gutierrez, 2019). Este orden, así como el de los Caulobacterales, han sido correlacionado con receptores de la familia TOB-dependientes que son facilitadores de metales como Fe, Cu, y Ni a través de la membrana bacteriana (Salas-Leiva *et al.*, 2021). Finalmente, existen otros dos órdenes dentro de Proteobacteria con abundancia relativa mayor al 1% que aún no se conoce bien sobre sus funciones en suelo que son los Dongiales (1%) y Tistrellales (1%). Se puede decir que en el filo de Proteobacteria se encuentran todo tipo de organismos con diversidad de estilos de vida desde los aerobios, anaerobios, simbioses, fotoheterótrofos, entre otros. Consecuentemente, la gran proporción del filo Proteobacteria está relacionada con una alta diversidad metabólica que incluye funciones clave en el suelo como la transformación de la materia orgánica, nitrógeno y adquisición de P, producción de antibióticos, degradación de hidrocarburos, entre otras.

Otro filo relevante en los suelos kársticos y de bosque es Actinobacteria, aquí encontrado en una abundancia relativa del 27%, y conocido por su estilo de vida copiotrófico. La mayoría de los órdenes que componen este filo han sido detectados en los macroagregados del suelo y relacionados con altas concentraciones de C (Davinic *et al.*, 2012). Los órdenes Solirubrobacterales (8.3%) y Gaiellales (5.8%) en los suelos de estudio estuvieron mayormente representados por las familias de Solirubrobacteraceae y Gaiellaceae, respectivamente. Liao *et al.* (2018) reportó que estas familias incrementan su abundancia relativa en suelos kársticos que han sido recuperados después de prácticas agrícolas, donde tras dejar crecer la vegetación nativa incrementa el contenido de C y N. Lo que sugiere que estas dos familias pueden encontrarse asociadas a la recuperación y/o el enriquecimiento de nutrientes en suelo. Corynebacteriales representó un 3% en los suelos de estudio, y es un orden con bacterias aerobias o anaerobias facultativas y quimioorganotróficas, donde existen algunas especies patógenas para humanos y animales (Goodfellow y Jones, 2015). En suelos de bosque subtropicales (pH 5), se ha reportado este orden con una abundancia relativa ~1%, y tienen una relación positiva con el pH, C_{tot} , N_{tot} y C:N (Wang *et al.*, 2021b); por ello, es muy probable que en los suelos kársticos de estudio muestren una abundancia mayor.

Rubrobacterales de Actinobacteria representó un 2% de abundancia promedio en los suelos kársticos de estudio. Este orden se ha encontrado en suelo no kárstico subtropical de México, EUA, y China (pH de 6 a 8) con porcentajes de abundancia más altos que los encontrados aquí (Ceja-Navarro *et al.*, 2010; Davinic *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2016). A diferencia de otros grupos de Actinobacteria, este orden presenta una mayor abundancia cuando hay bajas concentraciones de C (Davinic *et al.*, 2015), por lo cual su baja abundancia puede ser a causa de las altas concentraciones de C_{org} presentes en los suelos estudiados. Pseudonocardiales (2%) está compuesto hasta el momento de una sola familia, Pseudonocardiaceae, la cual está compuesta por bacterias aerobias mayoritariamente quimioorganotróficas (Labeda y Goodfellow, 2015). En Micromonosporales (2%) se encuentran bacterias benéficas para las plantas (Wang *et al.*, 2019), además de que parecen estar relacionadas con el ciclaje de N y P del suelo (Li *et al.*, 2021), se cree que éstas pueden solubilizar fosfatos en el medio ambiente (Inayah y Meryandini., 2022).

Las bacterias del orden Micrococcales (1%) (Actinobacteria) potencialmente tiene la capacidad de ser resistentes a elementos como el Mn, Ni, Cd y Zn, por lo que se ha sugerido que pueden ser buenos candidatos para la adsorción de metales pesados (Zeng *et al.*, 2022),

aunque en estos suelos no se espera toxicidad de metales en el suelo. Sin embargo, los miembros de este orden se han reportado como productores de antibióticos para controlar las poblaciones microbianas (Rojas-Gätjens *et al.*, 2022), lo puede sugerir que miembros de este orden también suman a la presencia de genes con potencial de secreción de antibióticos en el suelo de estudio, y que se observó con bastante potencial.

El último orden de Actinobacteria encontrado en estos suelos pertenece a Microtrichales (1%). Este orden ha presentado una correlación positiva con la disponibilidad del P en el suelo, asimismo, se ha observado que bajo la influencia de químicos (*e.g.* NPK) disminuyen su abundancia casi a la mitad (de 6 a 4%) (Wang *et al.*, 2022). Como los suelos aquí estudiados son sistemas naturales podría suponerse que en las muestras donde los Microtrichales tengan una proporción menor será donde exista una menor cantidad de P disponible y viceversa.

El tercer filo más abundante fue Acidobacteria con 14% de abundancia relativa en promedio. Este es un filo que en varios tipos de suelo puede representar alrededor del 20%, donde gran parte de sus representantes tienen un lento crecimiento por lo que se ha sido relacionado con sistemas de pocos nutrientes disponibles (Naether *et al.*, 2012). La adquisición de C proviene de sustratos complejos como la hemicelulosa, celulosa y quitina, así mismo se ha asociado a la reducción de nitrato, nitrito y posiblemente de óxido nítrico (Ward *et al.*, 2009;). En suelos de bosque y pastizales se ha observado que los Subgrupos 1, 3, 4, 5 y 6 son los más abundantes del filo Acidobacteria, sin embargo, en este estudio el Subgrupo 6 (7.2%) y el Subgrupo 4 con Pyrinomonadales (2.3%), aparecieron con mayor abundancia. Ésto puede deberse a que ambos grupos han sido correlacionados positivamente con el pH, mientras que, los otros subgrupos bien no tienen bien definida una correlación, o ésta es negativa con el pH (Navarrete *et al.*, 2015). Dentro del orden Pyrinomonadales, donde dominan especies heterótrofas aerobias, se ha propuesto que la oxidación de gases traza (*e.g.* H₂) puede ser un mecanismo general que les favorezca en su prevalencia, cuando las condiciones no son las más adecuadas (Greening *et al.*, 2015). También se ha visto que su abundancia está relacionada con los nitratos del suelo siendo favorecida cuando hay más N (Cai *et al.*, 2020; Cangioli *et al.*, 2022).

Por su parte, Blastocatellales (1%) (Acidobacteria) corresponde a bacterias aerobias quimioheterótrofas con tolerancia un amplio rango de pH, pueden usar compuestos proteicos complejos y algunos de sus miembros también degradan formas complejas de C (Huber *et*

al., 2015). Estas bacterias son de lento crecimiento y usan compuestos con bajo contenido de nutrientes. Se ha reportado que en suelos agrícolas tropicales con prácticas orgánicas (Brasil) éste es uno los órdenes que influyen más en el sistema de redes microbianas (Matteoli *et al.*, 2022), asimismo, se ha asociado a la supresión de patógenos en plantas (Cangioli *et al.*, 2022).

El filo Thaumarchaeota (3.5%, domino Archaea) es otro de los fila encontrado en los suelos de estudio, en el cual se encuentra predominantemente el orden Nitrososphaerales (3.4% de abundancia relativa promedio). Se ha encontrado que la abundancia de Thaumarchaeota se incrementa en suelos kársticos de cultivo después de la adición de fertilizantes de N-P-K con enmiendas orgánicas (Zhou *et al.*, 2019). Por lo tanto, grupos oxidadores de amonio pueden enriquecerse en los suelos cuando la cantidad y calidad de N y C se incrementan, como cuando se establece un bosque primario o secundario (Shang y Tiessen, 2003; Hu *et al.*, 2016, 2018a). Además, los suelos de origen kárstico parecen tener un alto contenido en N que puede variar entre 1.9 a 6.7 g/kg (Wen *et al.*, 2016), inclusive para la península de Yucatán, se pueden encontrar valores aún más altos que van desde los 5.6 a los 12.1 g/kg (Pajares *et al.*, 2018) o como los reportados aquí, que variaron de los 3.0 a los 23.3 g/kg. Consecuentemente, el N no parece ser un nutriente limitante dentro de estos suelos con árboles leguminosos, con excepción de las muestras HAHT, que contienen <1% en N, que puede ser consecuencia de ser suelos perturbados y pedogenéticamente menos desarrollados.

Otro filo presente dentro de todos los sitios fue el de Verrucomicrobia con un 3% de abundancia relativa promedio. Este filo se ha encontrado correlacionado al pH y a la relación C:N en suelos de bosque, siendo el orden Chthoniobacterales (3%) el que lo representó mayoritariamente en estas muestras. *Candidatus* Udaeobacter copiosus de Chthoniobacterales ha sido descrito como un organismo oligotrófico que puede usar fuentes de carbono como la glucosa, el piruvato y la quitobiosa, y consecuentemente se ha encontrado en diversas muestras de suelo (Shen *et al.*, 2017). Esta especie candidata se encontró presente en todas las muestras, lo que nos podría indicar que, si bien en general se tiene un suelo rico en C_{org}, no en todos los microambientes estará igualmente disponible este nutriente.

Chloroflexi con 3% de abundancia relativa promedio es un filo que ha sido ligado a ambientes oligotróficos. Dentro de este filo se encontró el orden SBR1031 (1%), el cual parecen estar ligado a promotores de crecimiento en plantas (Li *et al.*, 2022). Los miembros

de SBR1031 promueven el ciclaje del N, acelerando el ciclo del C al producir acetato el cual es precursor de la metanogénesis (Liechty *et al.*, 2020). Por otra parte, KD4-96 (0.5%) en experimentos se ha observado que puede ser un buen degradador de herbicidas a base de sulfonilurea (*e.g.* halosulfurón de metilo) (Wang *et al.*, 2020); así mismo, se ha sido reportado como un componente importante de la microbiota de la rizosfera para ciertos cultivos (Lewin *et al.*, 2021).

Dentro del filo Bacteroidetes (con 3% de abundancia relativa promedio) se encontró al orden Flavobacteriales (1%). Las familias dentro de este orden son principalmente bacterias aerobias estrictas o aerobias facultativas, y quimioorganótrofas (Bernardet, 2015). Por su parte el orden Chitinophagales (1%) son bacterias aerobias o anaerobias facultativas. Este orden junto con Cytophagales (1%) de Bacteroidota, se han propuesto como bioindicadores para altas contracciones de P disponible (Mason *et al.*, 2021).

Dentro del filo Plantomycetes (3%), el orden con mayor abundancia fue el de Pirellulales (1.3%). En este orden se encuentran grupos aerobios, microaerobios y anaerobios facultativos; también son microorganismos quimioheterótrofos que se reportan más abundantes en sistemas acuáticos que en los terrestres (Dedysh *et al.*, 2020). Los Gemmatales (Plantomycetes) (1%), pueden ser un bioindicador del P disponible en el suelo, ya que en suelos con poco P disponible presentan una abundancia relativa de 1%, mientras que, en suelos con una mayor proporción de P disponible aumentaba tres veces su abundancia relativa (Manson *et al.*, 2021). Consecuentemente, la baja abundancia relativa de Chitinophagales, Cytophagales y Gemmatales podría estar sugiriendo que en los suelos de este estudio no hay tanto P disponible y entonces es posiblemente, un nutriente limitante.

El orden Tepidisphaerales (1%) de Plantomycetes es un orden que hasta 2015 consistía en un solo género. En los últimos años ha cambiado se han reportado más secuencias asociadas, sin embargo, no se ha podido en cultivar alguna bacteria dentro de este grupo para conocer mejor sus características. Por ejemplo, este orden se ha descrito en ecosistemas como pantanos templados, turberas boreales y lagos húmicos rodeados de turberas (Dedysh, *et al.*, 2021), por lo que tal vez este grupo se vea favorecido en sitios con grandes cantidades de MO.

Firmicutes fue un filo que se presentó con 2% de abundancia relativa promedio, Dentro de este filo se encuentran principalmente dos órdenes: Clostridia (1%) y Bacillales (1.1%), donde este último ha sido reportado en suelos negros de Yucatán con una abundancia

relativa mayor a la que se encontró aquí (Pajares *et al.*, 2018). Asimismo, este orden ha sido asociados al gen *phoD* que promueve la movilización de P en suelos (Ragot *et al.*, 2015). En suelos de origen kárstico, el orden Bacillales y Pseudomonadales han sido relacionados especialmente con la rizosfera de leguminosas, donde se ha visto que un aumento de fertilizantes con P tiende a disminuir su abundancia (Tian *et al.*, 2020). También es considerado como regulador de bacterias y hongos patógenos (Wang *et al.*, 2019).

Por último, en el filo Rukobacteria (2%), el orden principal y mayoritario fue el de Rokubacteriales. Este orden se han reportado microorganismos capaces de combinar la oxidación anaeróbica del metano con la reducción del nitrito a dinitrógeno (Ivanova *et al.*, 2022).

Respecto a los grupos involucrados en el ciclo del N, se observó que estos suelos tienen un alto potencial de fijación de N, nitrificación y desnitrificación, entre otros. Los suelos estudiados contenían entre 1-2% de N y la relación C:N en promedio fue de 16:1, siendo el S2 y S3 los que tenían una relación más pequeña (**Tabla A28**). Ésto podría sugerir un proceso de mineralización, lo que resulta en la existencia de procesos que incrementan la concentración de NH_4^+ en el suelo (Levičnik-Höfferle *et al.*, 2012), así como la presencia de árboles leguminosos que fomentan la fijación de N. El incremento de la concentración de amonio es consistente con la existencia de grupos oxidadores de amonio, como son los grupos de Nitrososphaeria (Thaumarchaeota), Nitrospira (Nitrospirae), y Nitrosomonadaceae (Proteobacteria) y que fueron encontrados en los leptosoles estudiados.

La estructura de la comunidad procariótica se relacionó de manera significativa con el parámetro del pH de suelo (**Tabla 8**). Esto ha sido consistente con varios estudios donde el pH es un factor principal que moldea las comunidades bacterias del suelo en pastizales y bosques (Kaiser 2016), y bosques kársticos subtropicales (Yun *et al.*, 2016). Sin embargo, no se vio que surgieran relaciones con propiedades del suelo mencionadas para suelos kársticos como la MO (Zhou *et al.*, 2019), lo que sugiere aquí que la comunidad no mostró cambios en su composición acorde a las propiedades fisicoquímicas del suelo aquí determinados. De esta manera, se puede entonces ver que la **hipótesis 1** se cumple para la comunidad de bacterias y arqueas de los suelos estudiados, donde se observa que hay una heterogeneidad en su composición, pero con una relación significativa con el pH.

Asimismo, la estructura de la comunidad procariótica también se correlacionó significativamente con la actividad de FOM, LIP y deshidrogenasa (**Fig. 21**). Aquí es

relevante señalar que cuando se hizo la exploración de genes codificantes para enzimas (**Fig. 23**) se observó que existía un amplio potencial para fosfatasas, principalmente codificadas por *phoD*, lo cual también concuerda con los reportes de genes fosfatasas de suelos kársticos (Hu *et al.*, 2018b), y con los grupos encontrados en este trabajo. En trabajos previos no se ha observado una correlación significativa entre la comunidad microbiana y la actividad (Kivlin y Treseder, 2014; Pajares *et al.*, 2018). Sin embargo, cuando se trata de diferentes tipos de ecosistemas (*i.e.* suelo de bosque *vs.* suelo mineral), sí se ha detectado una relación diferencial entre la actividad enzimática y la comunidad microbiana (Brockett *et al.*, 2012). En suelos kársticos, se han observado diferencias para la fosfatasa ácida acorde al uso de suelo como pastizal, cultivo, matorral o bosque secundario (Chen *et al.*, 2019). Lo que este estudio de los suelos del noreste de Quintana Roo sugiere es que, la comunidad bacteriana tiene un amplio potencial genético para producir fosfatasas. Además, la estructura de su comunidad procariótica se correlaciona significativamente con la actividad de FOM (**Tabla A29**), así como la actividad de LIP y deshidrogenasa. Sin embargo, sería valioso determinar el papel de la calidad de la materia orgánica en estos sitios con otras mediciones de la actividad microbiana.

Con ello, los estudios de las comunidades procarióticas con el gen 16S rRNA aquí realizados, su afiliación taxonómica, predicción funcional y genética, así como los ensayos enzimáticos sugieren que las estrategias de estas comunidades pueden ayudar a sostener la falta de nutrientes. Se observó que la estructura de la comunidad procarionta y sus relaciones de los suelos kársticos estudiados, ponen de manifiesto que haya una limitante de P, comprobando así la **hipótesis 2** de este trabajo de tesis. Esto es consistente, con otros reportes, donde los suelos kársticos parecen estar limitados por fósforo, más que por nitrógeno (Chen *et al.*, 2019). Sin embargo, se necesitarían en un futuro realizar las determinaciones de este elemento en sus diferentes formas para estos suelos para corroborar su carencia.

Finalmente, como se pudo observar anteriormente, entre los grupos mencionados se encuentran microorganismos copiotróficos, oligotróficos, aerobios, anaerobios, fijadores de N y oxidadores de amonio, entre otros. Este hallazgo sustenta la idea de microambientes y diversidad metabólica microbiana. A pesar de esto, en la predicción metabólica los sitios son bastante homogéneos hablando de un consenso funcional que sostiene los procesos claves,

es decir, estos suelos kársticos que podrían estar teniendo una función similar o redundancia metabólica.

10.5. Estructura y composición de la comunidad fúngica

Al igual que en procariontes, para los hongos se encontró que existe una alta variabilidad en la composición fúngica entre los subsitios y sitios, ya que se llegaban a compartir menos del 5% de los ASVs entre subsitios de un mismo sitio (**Fig. A19**), aunque al igual que procariontes no se encontró alguna diferencia significativa entre los sitios en cuanto a los análisis de diversidad beta en los PCoA (**Fig. A20, Tablas A21 y A22**). La tendencia fue muy similar a la mostrada por los procariontes, ya que cuando se atenuó el efecto de la biosfera fúngica rara, se logró una explicación de la variabilidad de hasta el 79.1% en los ejes ($n=22$ ASVs con $>0.1\%$ abundancia relativa), y considerando aquellos ASVs de mayor contribución ($n=11$, análisis SIMPER) un 62.3%. Esto sugiere que considerar hongos más abundantes o de mayor contribución ayuda a revelar los patrones de variabilidad, lo cual puede ser útil en futuros estudios donde se comparen un mayor número de sitios con tratamientos diferentes. Esta heterogeneidad, así como la diversidad alfa parece ser más alta en comunidades fúngicas de suelos kársticos subtropicales en comparación con los suelos no kársticos, que parecen ser más homogéneos en su comunidad (Beng y Corlett, 2019).

Los ASV encontrados en mayor abundancia estuvieron relacionados principalmente a tres fila Ascomycota (47%), Mortierellomycota (38%) y Basidiomycota (10%). Ascomycota y Basidiomycota son los fila dominantes en varios tipos de suelo, incluyendo bosques subtropicales (Weißbecker *et al.*, 2018) y suelos kársticos (Zhou *et al.*, 2016, 2019). De estos fila se encontraron principalmente tres clases: Dothideomycetes (Ascomycota), Sordariomycetes (Ascomycota) y Agaricomycetes (Basidiomycota). Estas tres clases son de las más abundantes en la atmósfera, llegan al suelo por medio de deposición atmosférica (Woo *et al.*, 2018). Dothideomycetes predomina principalmente cuando hay deposición seca, mientras que, Sordariomycetes y Agaricomycetes aumentan su abundancia en época de lluvias (Woo *et al.*, 2018). Esto concuerda con nuestro trabajo que se realizó en época de secas, donde Dothideomycetes fue en promedio 5 veces más abundante que Sordariomycetes y Agaricomycetes.

En el filo de Ascomycota se obtuvieron más filotipos que en Basidiomycota (**Tabla A23 y Fig. A24**), que puede estar relacionado con sus múltiples estrategias tróficas que posee

(i.e. saprófito, simbiote, patógeno), junto con su largo número de genes asociados con el metabolismo de carbohidratos, tolerancia al estrés y estrategias competitivas (Egidi *et al.*, 2019). Consecuentemente, este filo puede ser muy eficiente en la degradación de largas cantidades de MO en suelos kársticos. Uno de los órdenes más grandes, con varios tipos de hábitat son los Pleosporales (26%), su estilo de vida es también diverso pasando por todos los tipos de modo trófico (Zhang *et al.*, 2012). Dentro de este orden uno de los géneros más conocido y que se encontró en los suelos de estudio fue *Alternaria* donde la mayoría de sus especies llegan a ser patógenos de plantas (Pinto y Patriarca, 2017). Por su parte el orden Chaetothyriales (5%) se encuentran principalmente especies endófitas o que presentan algún tipo de simbiosis con las plantas, algas y bacterias; aunque también hay algunas que son saprófitas y también hay patógenas (Chen *et al.*, 2015; Quan *et al.*, 2020). El orden Onygenales (5%), dentro de este orden los hongos también presentan distintas preferencias ecológicas existen algunos que se asocian a las abejas (e.g. *Ascosphaeraceae*) hasta patógenos, y endófitos en donde *Chrysosporium pseudomerdarium* fue un hongo que se encontró en tres de los cuatro sitios este hongo se ha asociado a suelos oligotróficos (Kandemir *et al.*, 2022), en las muestras de suelo en general la proporción C:N es menor a 30 (excepto en S1.2, **Tabla A28**) lo que nos puede sugerir que existen algunos micrositios dentro del suelo donde puede no haber nutrientes disponibles.

En el orden de Coniochaetales (5%) se encuentran hongos con diferentes modos tróficos, aunque con una mayor proporción de endófitos y saprobios. En especial, en el género de *Coniochaeta* se encuentran a degradadores de madera, que pueden degradar compuestos de celulosa, lignina y hemicelulosa (Del Álamo *et al.*, 2022). Este género se encontró en todos los sitios, y en una alta abundancia, por lo que es posible tenga un papel importante en la secreción de enzimas de los suelos de estudio. Por último, organismos del orden Hypocreales (2 %) se encuentran en todo el mundo y en muchos ambientes, y muchos hongos son endófitos o patógenos (Goh *et al.*, 2022), sobre todo en estos últimos, se encuentran varios entomopatógenos específicos que los hace atractivos para control de plagas de insectos (Askary *et al.*, 2021).

El filo de Mortierellomycota ha sido detectado en estudios de suelo y aparentemente su abundancia aumenta en suelos de bosques (Tedersoo *et al.*, 2014). Esta dominancia fue también observada en un estudio microbiano en una plantación de árboles de té donde la abundancia de Mortierellomycota incrementó después de la incorporación de residuos

provenientes de leguminosas (Zhang *et al.*, 2020b). También ha sido reportado como el segundo filo más abundante en suelos kársticos de montaña en China (Zhu, *et al.*, 2022). Dentro del filo Mortierellomycota se encuentra el orden Mortierellales, en el cual la mayoría de sus especies tienen un estilo de vida saprobio (Wagner *et al.*, 2013). Su principal género es *Mortierella*, el cual ha sido reconocido como un saprótrofo ubicuo y endófito, cuando llega a estar en simbiosis con la planta, a la que puede proveer de N y P (Zhang *et al.*, 2020b), también se ha reportado como el tercero más abundante en suelos kársticos (Zhou *et al.*, 2016). *Mortierella* fue entonces que el género que predominó en la mayoría de las muestras, lo que puede indicar que esta es la especie que más contribuye al rol ecológico más abundante que se obtuvieron en los suelos que fue el de saprófitos-simbiontes.

Por último, en el filo Basidiomycota se encontraron dos clases Agaricomycetes y Geminibasidiomycetes con abundancia mayor al 1%. En Agaricomycetes, se distinguen dos grupos que superan el 1% de abundancia relativa promedio a nivel orden, sin embargo, solo uno se pudo clasificar al siguiente nivel que fue el orden de Agaricales (1%). En suelos kársticos del suroeste de China se observó que la abundancia de este orden disminuyó de 5% a menos del 1.6% con la adición de N (She *et al.*, 2018). Esto es consistente con lo encontrado en este estudio ya que este orden fue más abundante en los sitios HAHT, que son los que tienen un menor contenido de N_{tot} en comparación con los demás subsitios. El orden Gemnibasidiales (4%) de Geminibasidiomycetes, está representado por dos géneros, los cuales han sido descritos principalmente como xerófilos (Nguyen *et al.*, 2013; Nasr *et al.*, 2014).

En cuanto al rol ecológico que representan los hongos, éstos son bien conocidos por estar relacionados con procesos del suelo como la solubilización del P e intemperismo biológico de rocas, contribuyendo así a la disolución de carbonatos y al ciclaje de nutrientes en suelos kársticos. En este caso, la mayoría de las secuencias estuvieron asociadas a los procesos saprófitos-simbiontes (**Fig. 31**), representando en algunos sitios más del 60% de la abundancia relativa de los ASVs. En suelos de bosques la mayoría de OTUs (>50%) corresponden a hongos saprobios, seguidos por los que son simbiote, indicando que son altos los procesos de descomposición de MO (Nguyen *et al.*, 2015).

Los factores bióticos, abióticos y espaciales del suelo son los que dan origen a los diferentes grupos taxonómicos y a sus distintas funciones como los saprófitos, simbióticos y patógenos (Weißbecker *et al.*, 2018), implicando posibles interacciones entre los hábitats,

dispersión e historia de vida (Beng y Corlett, 2019). Por lo tanto, este tema debería de ser analizado con mayor profundidad en el futuro. Queda resaltar, que, en este aspecto, la hipótesis número 2 (sección 6) fue encontrada como válida para este estudio, ya que los microorganismos encontrados en este estudio tienen potenciales metabólicos relacionados con la degradación de la MO, incluyendo los estilos de vida saprófitos y celulolíticos; y además la estructura de esta comunidad microbiana estuvo influenciada por el contenido de nutrientes como el C_{org} y el N_{tot} .

En este estudio se encontró que el pH fue relevante para la estructura de la comunidad procarionte, mientras que, el contenido de arena y arcilla, Ca, N_{tot} , C_{org} y pH fueron los principales determinantes en la estructura de la comunidad fúngica (**Tabla 11**). El pH es el principal factor moldeador de las comunidades microbianas en suelo ya sea forestal, de pradera o de bosque en karst (Fierer *et al.*, 2006; Kaiser, 2016; Yun *et al.*, 2016). Comunidades fúngicas similares han sido correlacionadas al pH, nutrientes como C, N, P, y a características relacionadas con las arcillas, como la CIC y el contenido de agua (Weißbecker *et al.*, 2018; Beng y Corlett, 2019). Estas correlaciones entre la comunidad microbiana y las condiciones fisicoquímicas y nutricionales se encuentran especialmente marcadas para la comunidad saprófita (Andrew *et al.*, 2018; Weißbecker *et al.*, 2018), las cuales generalmente dominan en suelos kársticos negros. Los patrones biogeográficos son también cruciales en la estructura de la comunidad fúngica (Andrew *et al.*, 2018). Sin embargo, en este estudio las muestras presentan condiciones ambientales similares, con poca pendiente por consecuencia, solo los factores fisicoquímicos fueron los factores determinantes pese a que se llegan a detectar pequeñas diferencias en la comunidad. Sin embargo, para corroborar estas diferencias más estudios deben ser hechos enfocándose en un muestreo en transecto que se vaya alejando de la costa. Esta variedad de factores ambientales que influyen en la comunidad fúngica se ha observado en otros estudios (Tedersoo *et al.*, 2014; Weißbecker *et al.*, 2018; Beng y Corlett, 2019). Así, para este estudio se valida igualmente que la comunidad fúngica muestra una gran heterogeneidad, y pese a ello, mantiene relaciones significativas con el contenido de arena y arcilla, Ca, N_{tot} , C_{org} y el pH (**hipótesis 1**).

Así mismo, la estructura de la comunidad fúngica mostró correlación significativa con POX cuando se computaron todos los ASVs (**Tabla A29**), lo cual sugiere que el total de la comunidad fúngica da una huella de degradación de compuestos fenólicos a estos suelos.

Los hongos son reconocidos por tener enzimas que degradan material vegetal complejo, incluyendo los compuestos fenólicos polimerizados a los ácidos húmicos (v.g., lignina) (Sinsabaugh, 2010). Además, se ha observado que la actividad de fenol oxidasa y peroxidasa generalmente incrementa con el pH del suelo (Sinsabaugh, 2010). Con ello, podemos decir que los ensayos enzimáticos (POX) y su relación con la comunidad fúngica, así como las predicciones de roles ecológicos que señalan un potencial saprófito, ponen de manifiesto que la comunidad de hongos tiene un rol importante en la degradación de formas complejas de C **(hipótesis 3)**.

11. Conclusiones

En este estudio, encontramos que los suelos kársticos tropicales del NE de Quintana Roo, clasificados como leptosoles rendzicos, poseen una comunidad microbiana (procarionte y fúngica) con una alta diversidad. La comunidad procarionte se relacionó principalmente con el pH; mientras que, existieron más factores fisicoquímicos que afectaron la estructura de la comunidad fúngica, como el Na, S, Ca, N_{tot}, Mg, C_{org}, Sr, Zn, pH, CE, DA, contenido de arena y arcilla. Pese a ello, los suelos mostraron una heterogeneidad en su composición microbiana, pero con redundancia funcional.

Los microorganismos encontrados en estos suelos están relacionados a procesos biogeoquímicos clave que incrementan la cantidad de N en el suelo, muy probablemente mediante la fijación de N; ya que se encontraron bacterias del orden Rhizobiales, que se pueden asociar a los árboles leguminosos de la zona. La nitrificación se puede ver impulsada principalmente por arqueas oxidantes de amonio del orden Nitrososphaeria (Thaumarchaeota), con una menor proporción de bacterias del género *Nitrospira* (Nitrospirae), y la familia Nitrosomonadaceae (Proteobacteria). Con ello, las limitantes de N comúnmente encontradas en el suelo pueden ser compensadas en estos suelos kársticos.

La predicción funcional y genética de la comunidad procariontíca de estos suelos, así como la correlación entre la estructura de la comunidad y la actividad de fosfomonoesterasa, ponen de manifiesto que los procariontes de estos suelos tienen un amplio potencial genético para la adquisición de P; indicando una posible limitante de este elemento.

Existen varios grupos microbianos asociados a la degradación de materia orgánica como *Candidatus Udaeobacter copius* (Verrucomicobia), Solirubrobacterales (Actinobacteria), Caulobacterales y Xanthomonadales (Proteobacteria), y *Mortierella* (Mortierellomycota). Asimismo, se observó una correlación entre la estructura de las comunidades microbianas con la actividad de lipasas para procariontes, y fenol oxidasa para hongos; donde estos últimos mostraron mayormente una preferencial por el estilo de vida saprófito.

Se encontraron microorganismos con potencial de realizar asociaciones benéficas con las plantas como los Rhizobiales, Micromonosporales, Acidiomicrobiales, Bacillales Frankiales, Gemmatimonadales, Sphingomonadales, Nitrosomonadales y Rhodospirillales, varios de los cuales se reportan como promotores de crecimiento. Estos grupos bacterianos

ayudan al crecimiento vegetal y por tanto al desarrollo de un bosque primario en estos suelos delgados.

La heterogeneidad de los suelos kársticos, en concreto los aquí estudiados, podría estar favoreciendo la mayor diversidad microbiana de dichos suelos al promover la generación de diferentes microambientes. Además, varios de los grupos de microorganismos encontrados en este estudio han sido reportados en otros suelos de ambientes subtropicales, por lo cual más estudios deben de hacerse para entender si la microbiota de los bosques tropicales kársticos está llevando a acabo procesos similares.

12. Perspectivas

Los suelos de estudio presentaron altas concentraciones nutrientes esenciales para el crecimiento microbiano como el C_{org} , N_{tot} y P_{tot} sin embargo, habría que analizar si éstos efectivamente están biodisponibles para la comunidad microbiana, en especial el P. Con estas mediciones de P se podría también dar seguimiento a los genes de transformación de fósforo (*phoD*) y ver si grupos como los Rhizobiales, Microtrichales, entre otros, juegan en verdad un rol relevante en la solubilización de este elemento.

Otra perspectiva podría ser ampliar el gradiente de estudio, donde se consideren leptosoles con características ambientales diferentes. Estos estudios se podrían hacer con una perspectiva de muestreo con un gradiente geográfico, que incluyan desde la costa hacia el interior de la península de Yucatán para ver el efecto de las variaciones ambientales sobre la microbiota (precipitación, temperatura ambiental, salinidad, etc.). También podrían incluirse otro tipo de suelos de la península para tener un catálogo más extenso de la biodiversidad o incluso perseguir un catálogo estacional.

También queda como interés estudiar la capacidad degradadora de contaminantes comúnmente encontrados en el área y derivados de las actividades antrópicas, incluyendo el turismo, para conocer el potencial degradador y de resiliencia de estos ecosistemas.

13. Referencias

- Acosta-Martinez, V., Dowd, S., Sun, Y., & Allen, V. I. V. I. E. N. (2008). Tag-encoded pyrosequencing analysis of bacterial diversity in a single soil type as affected by management and land use. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(11), 2762-2770.
- Aguilar, Y., Bautista, F., Mendoza, M. E., Frausto, O., & Ihl, T. (2016). Density of karst depressions in Yucatán state, Mexico. *Journal of Cave and Karst Studies*, 78(2), 51.
- Alef, K., & Nannipieri, P. (1995). β -Glucosidase activity. *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*, 350-352. Academic Pres.
- Alexakis, D. E., Bathrellos, G. D., Skilodimou, H. D., & Gamvroula, D. E. (2021). Spatial distribution and evaluation of arsenic and zinc content in the soil of a karst landscape. *Sustainability*, 13(12), 6976.
- Alrumman, S. A., Standing, D. B., & Paton, G. I. (2015). Effects of hydrocarbon contamination on soil microbial community and enzyme activity. *Journal of King Saud University-Science*, 27(1), 31-41.
- Andrew, C., Halvorsen, R., Heegaard, E., Kuyper, T. W., Heilmann-Clausen, J., Krisai-Greilhuber, I., ... & Kauserud, H. (2018). Continental-scale macrofungal assemblage patterns correlate with climate, soil carbon and nitrogen deposition. *Journal of Biogeography*, 45(8), 1942-1953.
- Askary, H., Ghaffari, S., Asgari, M., & Karimi, J. (2021). Fungal entomopathogens of order Hypocreales. In *Biological Control of Insect and Mite Pests in Iran* (pp. 439-480). Springer, Cham.
- Bailey, V. L., Smith, J. L., & Bolton Jr, H. (2002). Fungal-to-bacterial ratios in soils investigated for enhanced C sequestration. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(7), 997-1007
- Bakalowicz, M. (2019). Epikarst. In *Encyclopedia of caves*. Academic press. (pp. 394-398).
- Bala, A., Murphy, P., & Giller, K. E. (2003). Distribution and diversity of rhizobia nodulating agroforestry legumes in soils from three continents in the tropics. *Molecular ecology*, 12(4), 917-929.

- Bao, Y. J., Xu, Z., Li, Y., Yao, Z., Sun, J., & Song, H. (2017). High-throughput metagenomic analysis of petroleum-contaminated soil microbiome reveals the versatility in xenobiotic aromatics metabolism. *Journal of environmental sciences*, *56*, 25-35.
- Bautista, F., Palacio-Aponte, G., Quintana, P., & Zinck, J. A. (2011). Spatial distribution and development of soils in tropical karst areas from the Peninsula of Yucatan, Mexico. *Geomorphology*, *135*(3), 308-321.
- Beng, Kingsly C., & Richard T. Corlett (2019): Identifying the mechanisms that shape fungal community and metacommunity patterns in Yunnan, China. *Fungal Ecology* *42*, 100862.
- Bernardet, J.-F. (2015). Flavobacteriales ord. nov. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (eds M.E. Trujillo, S. Dedysh, P. DeVos, B. Hedlund, P. Kämpfer, F.A. Rainey and W.B. Whitman).
- Biagioli, F., Coleine, C., Piano, E., Nicolosi, G., Poli, A., Prigione, V., ... & Selbmann, L. (2023). Microbial diversity and proxy species for human impact in Italian karst caves. *Scientific Reports*, *13*(1), 689.
- Bokulich, N. A., Kaehler, B. D., Rideout, J. R., Dillon, M., Bolyen, E., Knight, R., ... & Caporaso, J. G. (2018). Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin. *Microbiome*, *6*(1), 1-17.
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., ... & Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature biotechnology*, *37*(8), 852-857.
- Borges-Gómez, L., Escamilla-Bencomo, A., Soria-Fregoso, M., & Casanova-Villareal, V. (2005). Potasio en suelos de Yucatán. *Terra Latinoamericana*, *23*(4), 437-445.
- Brand, U., Morrison, J. O., & Campbell, I. T. (1998). Strontium in sedimentary rocks. *Geochemistry*. Springer, Dordrecht, *600*, 603.
- Brockett, B. F., Prescott, C. E., & Grayston, S. J. (2012). Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. *Soil Biology and Biochemistry*, *44*(1), 9-20.

- Buermans, H. P. J., & Den Dunnen, J. T. (2014). Next generation sequencing technology: advances and applications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1842(10), 1932-1941.
- Burns, R. G., DeForest, J. L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R. L., Stromberger, M. E., Wallenstein, M. D., ... & Zoppini, A. (2013). Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 58, 216-234.
- Burton, S. G. (2003). Laccases and phenol oxidases in organic synthesis-a review. *Current Organic Chemistry*, 7(13), 1317-1331.
- Buscot, F., & Varma, A. (Eds.). (2005). *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions*, Springer (pp. 139-153).
- Cabadas-Báez, H., Solleiro-Rebolledo, E., Sedov, S., Pi-Puig, T., & Gama-Castro, J. (2010a). Pedosediments of karstic sinkholes in the eolianites of NE Yucatán: A record of Late Quaternary soil development, geomorphic processes and landscape stability. *Geomorphology*, 122(3-4), 323-337.
- Cabadas-Báez H, Solleiro-Rebolledo E, Sedov S, Pi T, Alcalá JR (2010b) The complex genesis of red soils in Peninsula de Yucatan, Mexico: mineralogical, micromorphological and geochemical proxies. *Eurasian Soil Sci* 43:1–19
- Cai, Y., Shen, J. P., Di, H. J., Zhang, L. M., Zhang, C., & He, J. Z. (2020). Variation of soil nitrate and bacterial diversity along soil profiles in manure disposal maize field and adjacent woodland. *Journal of Soils and Sediments*, 20(10), 3557-3568.
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature methods*, 13(7), 581-583.
- Cangioli, L., Mancini, M., Napoli, M., Fagorzi, C., Orlandini, S., Vaccaro, F., & Mengoni, A. (2022). Differential Response of Wheat Rhizosphere Bacterial Community to Plant Variety and Fertilization. *International journal of molecular sciences*, 23(7), 3616.
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., ... & Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of

- millions of sequences per sample. *Proceedings of the national academy of sciences*, 108(Supplement 1), 4516-4522.
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., ... & Gormley, N. (2012). Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME journal*, 6(8), 1621.
- Carrillo-Araujo, M., Taş, N., Alcantara-Hernandez, R. J., Gaona, O., Schondube, J. E., Medellin, R. A., ... & Falcon, L. I. (2015). Phyllostomid bat microbiome composition is associated to host phylogeny and feeding strategies. *Frontiers in microbiology*, 6, 447.
- Case, R. J., Boucher, Y., Dahllorf, I., Holmstrom, C., Doolittle, W. F., & Kjelleberg, S. (2007). Use of 16S rRNA and rpoB genes as molecular markers for microbial ecology studies. *Applied and environmental microbiology*, 73(1), 278-288.
- Ceja-Navarro, J. A., Rivera, F. N., Patiño-Zúñiga, L., Govaerts, B., Marsch, R., Vila-Sanjurjo, A., & Dendooven, L. (2010). Molecular characterization of soil bacterial communities in contrasting zero tillage systems. *Plant and Soil*, 329(1), 127-137.
- Cheema, S., & Sommerhalter, M. (2015). Characterization of polyphenol oxidase activity in Ataulfo mango. *Food chemistry*, 171, 382-387
- Chen, H., Li, D., Mao, Q., Xiao, K., & Wang, K. (2019). Resource limitation of soil microbes in karst ecosystems. *Science of the Total Environment*, 650, 241-248.
- Chen, H., Li, D., Xiao, K., & Wang, K. (2018). Soil microbial processes and resource limitation in karst and non-karst forests. *Functional Ecology*, 32(5), 1400-1409.
- Chen, H., Luo, P., Wen, L., Yang, L., Wang, K., & Li, D. (2017). Determinants of soil extracellular enzyme activity in a karst region, southwest China. *European Journal of Soil Biology*, 80, 69-76.
- Chen, K. H., Miadlikowska, J., Molnár, K., Arnold, A. E., U'Ren, J. M., Gaya, E., ... & Lutzoni, F. (2015). Phylogenetic analyses of eurotiomycetous endophytes reveal their close affinities to Chaetothyriales, Eurotiales, and a new order—Phaeomoniellales. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 85, 117-130.

- Chen, Z., Auler, A. S., Bakalowicz, M., Drew, D., Griger, F., Hartmann, J., ... & Goldscheider, N. (2017). The World Karst Aquifer Mapping project: concept, mapping procedure and map of Europe. *Hydrogeology Journal*, 25(3), 771-785.
- Chowdary, G. V., & Prapulla, S. G. (2002). The influence of water activity on the lipase catalyzed synthesis of butyl butyrate by transesterification. *Process Biochemistry*, 38(3), 393-397.
- Chróst, R. J., & Siuda, W. (2002). *Ecology of microbial enzymes in lake ecosystems*. Marcel Dekker, Inc. New York (pp. 35-72).
- Clarke, K. R. (1993). Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian journal of ecology*, 18(1), 117-143.
- Columbia, B. (2003). *Karst management handbook for British Columbia*. Ministry of Forests.
- Curd, E. E., Martiny, J. B., Li, H., & Smith, T. B. (2018). Bacterial diversity is positively correlated with soil heterogeneity. *Ecosphere*, 9(1), e02079.
- Dai, Y., Shangguan, W., Wei, N., Xin, Q., Yuan, H., Zhang, S., ... & Yan, F. (2019). A review of the global soil property maps for Earth system models. *Soil*, 5(2), 137-158.
- Davinic, M., Fultz, L. M., Acosta-Martinez, V., Calderón, F. J., Cox, S. B., Dowd, S. E., ... & Moore-Kucera, J. (2012). Pyrosequencing and mid-infrared spectroscopy reveal distinct aggregate stratification of soil bacterial communities and organic matter composition. *Soil Biology and Biochemistry*, 46, 63-72.
- Dedysh, S. N., Beletsky, A. V., Ivanova, A. A., Kulichevskaya, I. S., Suzina, N. E., Philippov, D. A., ... & Ravin, N. V. (2021). Wide distribution of Phycisphaera-like planctomycetes from WD2101 soil group in peatlands and genome analysis of the first cultivated representative. *Environmental Microbiology*, 23(3), 1510-1526.
- Dedysh, S. N., Kulichevskaya, I. S., Beletsky, A. V., Ivanova, A. A., Rijpstra, W. I. C., Damsté, J. S. S., ... & Ravin, N. V. (2020). *Lacipirellula parvula* gen. nov., sp. nov., representing a lineage of planctomycetes widespread in low-oxygen habitats, description of the family Lacipirellulaceae fam. nov. and proposal of the orders Pirellulales ord.

- nov., Gemmatales ord. nov. and Isosphaerales ord. nov. *Systematic and applied microbiology*, 43(1), 126050.
- DeForest, J. L., Smemo, K. A., Burke, D. J., Elliott, H. L., & Becker, J. C. (2012). Soil microbial responses to elevated phosphorus and pH in acidic temperate deciduous forests. *Biogeochemistry*, 109(1), 189-202.
- Del Álamo, A. C., Pariente, M. I., Molina, R., & Martínez, F. (2022). Advanced bio-oxidation of fungal mixed cultures immobilized on rotating biological contactors for the removal of pharmaceutical micropollutants in a real hospital wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 425, 128002.
- Delgado-Carranza, C., Bautista-Zúñiga, F., Calvo-Irabien, L. M., Aguilar-Duarte, Y. G., & Martínez-Tellez, J. G. (2017). El carbono orgánico en Leptosols con distribución discontinua en la península de Yucatán. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 4(10), 31-38.
- Diabat, A., Ahmad, F., Hammouri, N., & Obeidat, M. (2015). Karst development related to extensional fracture network at Bany-Kanana area, northern Jordan. *Arabian Journal of Geosciences*, 8(7), 4999-5014.
- Din, N., Gilkes, N. R., Tekant, B., Miller Jr, R. C., Warren, R. A. J., & Kilburn, D. G. (1991). Non-hydrolytic disruption of cellulose fibres by the binding domain of a bacterial cellulase. *Nature Biotechnology*, 9(11), 1096.
- Doetterl, S., Stevens, A., Six, J., Merckx, R., Van Oost, K., Casanova Pinto, M., ... & Boeckx, P. (2015). Soil carbon storage controlled by interactions between geochemistry and climate. *Nature Geoscience*, 8(10), 780-783.
- Dror, I., Yaron, B., & Berkowitz, B. (2021). The human impact on all soil-forming factors during the anthropocene. *ACS Environmental Au*, 2(1), 11-19.
- Dror, I., Yaron, B., & Berkowitz, B. (2017). Microchemical contaminants as forming agents of anthropogenic soils. *Ambio*, 46, 109-120.
- Egidi, E., Delgado-Baquerizo, M., Plett, J. M., Wang, J., Eldridge, D. J., Bardgett, R. D., ... & Singh, B. K. (2019). A few Ascomycota taxa dominate soil fungal communities worldwide. *Nature communications*, 10(1), 1-9.

- Eichorst, S. A., & Kuske, C. R. (2012). Identification of cellulose-responsive bacterial and fungal communities in geographically and edaphically different soils by using stable isotope probing. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(7), 2316-2327.
- Escolero, O. A., Marin, L. E., Steinich, B., Pacheco, A. J., Cabrera, S. A., & Alcocer, J. (2002). Development of a protection strategy of karst limestone aquifers: the Merida Yucatan, Mexico case study. *Water Resources Management*, 16(5), 351-367.
- Espinasa-Pereña, R. (2007). El karst de México. *Coll-Hurtado: Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Report A. coord.*
- Espinasa-Pereña, R. (2013). Karstic phenomena susceptibility map of Mexico. In *AGU Spring Meeting Abstracts* . 2013, NH51B-05.
- Estrada Medina, H., Jiménez Osornio, J. J., Álvarez Rivera, O., & Barrientos Medina, R. C. (2019). El karst de Yucatán: su origen, morfología y biología. *Acta universitaria*, 29.
- Estrada-Medina, H., Canto-Canché, B. B., De los Santos-Briones, C., & O'Connor-Sánchez, A. (2016). Yucatán in black and red: Linking edaphic analysis and pyrosequencing-based assessment of bacterial and fungal community structures in the two main kinds of soil of Yucatán State. *Microbiological Research*, 188, 23-33.
- Falkowski, P. G., Fenchel, T., & Delong, E. F. (2008). The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science*, 320(5879), 1034-1039.
- Fenchel, T., Blackburn, H., King, G. M., & Blackburn, T. H. (2012). *Bacterial biogeochemistry: the ecophysiology of mineral cycling*. Academic press.
- Fierer, N., & Jackson, R. B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(3), 626-631.
- Ford, D., & Williams, P. D. (2013). *Karst hydrogeology and geomorphology*. John Wiley & Sons
- Frać, M., Hannula, S. E., Bełka, M., & Jędrzycka, M. (2018). Fungal biodiversity and their role in soil health. *Frontiers in Microbiology*, 9, 707.
- Fragoso-Servón, P., Pereira-Corona, A., & Bautista, F. (2019). The karst and its neighbors: digital map of geomorphic environments in Quintana Roo, Mexico. *Journal of Cave & Karst Studies*, 81(2).

- Fragoso-Servón, P., Pereira Corona, A., Bautista Zúñiga, F., & Zapata Buenfil, G. D. J. (2017). Digital soil map of Quintana Roo, Mexico. *Journal of Maps*, 13(2), 449-456.
- Fragoso-Servón, P., Pereira, A., Frausto, O., & Bautista, F. (2014). Relación entre la geodiversidad de Quintana Roo y su biodiversidad. *Quivera. Revista de Estudios Territoriales*, 16(1), 97-125.
- Gifford, S. M., Sharma, S., Rinta-Kanto, J. M., & Moran, M. A. (2011). Quantitative analysis of a deeply sequenced marine microbial metatranscriptome. *The ISME journal*, 5(3), 461-472.
- Goh, J., Oh, Y., Park, Y. H., Mun, H. Y., Park, S., & Cheon, W. (2022). Isolation and Characterization of Previously Undescribed Seventeen Fungal Species Belonging to the order Hypocreales in Korea. *The Korean Journal of Mycology*, 50, 2.
- Goodfellow, M., & Jones, A. L. (2015). Corynebacteriales ord. nov. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-14.
- Greening, C., Carere, C. R., Rushton-Green, R., Harold, L. K., Hards, K., Taylor, M. C., ... & Cook, G. M. (2015). Persistence of the dominant soil phylum Acidobacteria by trace gas scavenging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(33), 10497-10502.
- Gu, Y., Wang, P., & Kong, C. H. (2009). Urease, invertase, dehydrogenase and polyphenoloxidase activities in paddy soil influenced by allelopathic rice variety. *European Journal of Soil Biology*, 45(5-6), 436-441.
- Gunn, J. (2004). *Encyclopedia of caves and karst science*. Taylor & Francis.
- Guo, Z., Zhang, X., Green, S. M., Dungait, J. A., Wen, X., & Quine, T. A. (2019). Soil enzyme activity and stoichiometry along a gradient of vegetation restoration at the Karst Critical Zone Observatory in Southwest China. *Land Degradation & Development*, 30(16), 1916-1927.
- Gutierrez, T. (2019). Aerobic hydrocarbon-degrading gammaproteobacteria: xanthomonadales. *Taxonomy, Genomics and Ecophysiology of Hydrocarbon-Degrading Microbes*, 191-205.

- Hartland, A., Fairchild, I. J., Lead, J. R., Borsato, A., Baker, A., Frisia, S., & Baalousha, M. (2012). From soil to cave: Transport of trace metals by natural organic matter in karst dripwaters. *Chemical Geology*, *304*, 68-82.
- He, X. Y., Wang, K. L., Zhang, W., Chen, Z. H., Zhu, Y. G., & Chen, H. S. (2008). Positive correlation between soil bacterial metabolic and plant species diversity and bacterial and fungal diversity in a vegetation succession on Karst. *Plant and Soil*, *307*(1), 123-134.
- Hu, N., Li, H., Tang, Z., Li, Z., Li, G., Jiang, Y., ... & Lou, Y. (2016). Community size, activity and C: N stoichiometry of soil microorganisms following reforestation in a Karst region. *European Journal of Soil Biology*, *73*, 77-83.
- Hu, P., Liu, S., Ye, Y., Zhang, W., He, X., Su, Y., & Wang, K. (2018a). Soil carbon and nitrogen accumulation following agricultural abandonment in a subtropical karst region. *Applied Soil Ecology*, *132*, 169-178.
- Hu, Y., Xia, Y., Sun, Q., Liu, K., Chen, X., Ge, T., ... & Su, Y. (2018b). Effects of long-term fertilization on phoD-harboring bacterial community in Karst soils. *Science of the Total Environment*, *628*, 53-63.
- Huang, J. W., Hu, S. L., Cheng, X. K., Chen, D., Kong, X. K., & Jiang, J. D. (2019). *Steroidobacter soli* sp. nov., isolated from farmland soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *69*(11), 3443-3447.
- Huber, K. J., Pascual, J., Foessel, B. U., & Overmann, J. (2015). B lastocatellales. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-5.
- Inayah, M. N., Lestari, Y., & Meryandini, A. (2022). Community of Soil Actinobacteria in PTPN VI Oil Palm Plantation Jambi (Sumatra, Indonesia) Based on Amplicon Sequencing of 16S rRNA Gene. *HAYATI Journal of Biosciences*, *29*(3), 389-398.
- INEGI, S. (1998). Estadísticas del Medio Ambiente, México, 1997. *México*.
- Isphording, W. C. (1980). *Physical, Chemical and Engineering Properties of Residual Limestone Soils and Clays*. University of South Alabama mobile dept of Geology and Geography.
- Isphording, W.C., 1978. Mineralogical and physical properties of Gulf limestone soils. *Transactions-Gulf Coast Association of Geological Societies XXVIII*, 201–214.

- Ivanova, A. A., Oshkin, I. Y., Danilova, O. V., Philippov, D. A., Ravin, N. V., & Dedysh, S. N. (2021). Rokubacteria in Northern Peatlands: Habitat Preferences and Diversity Patterns. *Microorganisms*, *10*(1), 11.
- Jansson, J. K., & Hofmockel, K. S. (2018). The soil microbiome—from metagenomics to metatranscriptomics. *Current Opinion in Microbiology*, *43*, 162-168.
- Kaiser, K. (2016). *Dependence of soil microbial community structure and function on land use types and management regimes* (Doctoral dissertation, Dissertation, Göttingen, Georg-August Universität, 2016).
- Kaiser, K., Wemheuer, B., Korolkow, V., Wemheuer, F., Nacke, H., Schöning, I., ... & Daniel, R. (2016). Driving forces of soil bacterial community structure, diversity, and function in temperate grasslands and forests. *Scientific Reports*, *6*(1), 33696.
- Kandemir, H., Dukik, K., de Melo Teixeira, M., Stielow, J. B., Delma, F. Z., Al-Hatmi, A., ... & de Hoog, G. S. (2022). Phylogenetic and ecological reevaluation of the order Onygenales. *Fungal Diversity*, *115*, 1-72.
- Karthika, K. S., Rashmi, I., & Parvathi, M. S. (2018). Biological functions, uptake and transport of essential nutrients in relation to plant growth. In *Plant nutrients and abiotic stress tolerance*. Springer, Singapore (pp. 1-49).
- Kim, H. S., Lee, S. H., Jo, H. Y., Finneran, K. T., & Kwon, M. J. (2021). Diversity and composition of soil Acidobacteria and Proteobacteria communities as a bacterial indicator of past land-use change from forest to farmland. *Science of the Total Environment*, *797*, 148944.
- Kimeklis, A. K., Gladkov, G. V., Zverev, A. O., Kichko, A. A., Andronov, E. E., Ergina, E. I., ... & Abakumov, E. V. (2021). Microbiomes of different ages in Rendzic Leptosols in the Crimean Peninsula. *PeerJ*, *9*, e10871.
- Kivlin, S. N., & Treseder, K. K. (2014). Soil extracellular enzyme activities correspond with abiotic factors more than fungal community composition. *Biogeochemistry*, *117*(1), 23-37.

- Knáb, M., Szili-Kovács, T., Márialigeti, K., Móra, J., & Borsodi, A. K. (2018). Bacterial diversity in soils of different Hungarian karst areas. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 65(4), 439-458
- Knáb, M., Szili-Kovács, T., Kiss, K., Palatinszky, M., Márialigeti, K., Móra, J., & Borsodi, A. (2012). Comparison of soil microbial communities from two distinct karst areas in Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 59(1), 91-105.
- Kramer, M. G., & Chadwick, O. A. (2018). Climate-driven thresholds in reactive mineral retention of soil carbon at the global scale. *Nature Climate Change*, 8(12), 1104-1108.
- Krasilnikov, P., del Carmen Gutiérrez-Castorena, M., Ahrens, R. J., Cruz-Gaistardo, C. O., Sedov, S., & Solleiro-Rebolledo, E. (2013). Major Soil Types and Their Classification. In *The Soils of Mexico* (pp. 33-74). Springer Netherlands.
- Kuramae, E. E., & de Assis Costa, O. Y. (2019). Acidobacteria. In *Encyclopedia of Microbiology (Fourth Edition)* (pp. 1-8). Academic Press.
- Kueny, J. A., & Day, M. J. (2002). Designation of protected karstlands in Central America: a regional assessment. *Journal of Cave and Karst Studies*, 64(3), 165-174.
- Labeda, D.P., & Goodfellow, M. (2015). Pseudonocardiaceae. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (eds M.E. Trujillo, S. Dedysh, P. DeVos, B. Hedlund, P. Kämpfer, F.A. Rainey and W.B. Whitman) (pp 1-7).
- Legendre, P. and Legendre, L.F., 2012. Numerical ecology. Elsevier. Great Britain.
- Levičnik-Höfferle, Š., Nicol, G. W., Ausec, L., Mandić-Mulec, I., & Prosser, J. I. (2012). Stimulation of thaumarchaeal ammonia oxidation by ammonia derived from organic nitrogen but not added inorganic nitrogen. *FEMS Microbiology Ecology*, 80(1), 114-123.
- Lewin, S., Francioli, D., Ulrich, A., & Kolb, S. (2021). Crop host signatures reflected by co-association patterns of keystone Bacteria in the rhizosphere microbiota. *Environmental microbiome*, 16(1), 1-18.
- Li, B., Zhang, Q., Chen, Y., Su, Y., Sun, S., & Chen, G. (2021). Different crop rotation systems change the rhizosphere bacterial community structure of *Astragalus*

- membranaceus* (Fisch) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao. *Applied Soil Ecology*, 166, 104003.
- Li, D., Wen, L., Jiang, S., Song, T., & Wang, K. (2018b). Responses of soil nutrients and microbial communities to three restoration strategies in a karst area, southwest China. *Journal of Environmental Management*, 207, 456-464.
- Li, D., Zhang, X., Green, S. M., Dungait, J. A., Wen, X., Tang, Y., ... & Quine, T. A. (2018c). Nitrogen functional gene activity in soil profiles under progressive vegetative recovery after abandonment of agriculture at the Puding Karst Critical Zone Observatory, SW China. *Soil Biology and Biochemistry*, 125, 93-102.
- Li, Q., Liu, C., Wang, X., Jin, Z., Song, A., Liang, Y., ... & Müller, W. E. (2018a). Influence of altered microbes on soil organic carbon availability in karst agricultural soils contaminated by Pb-Zn tailings. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2062.
- Li, Q., Liang, J. H., He, Y. Y., Hu, Q. J., & Yu, S. (2014). Effect of land use on soil enzyme activities at karst area in Nanchuan, Chongqing, Southwest China. *Plant, Soil and Environment*, 60(1), 15-20.
- Li, Y., Li, T., Wang, Z., Wang, S., Qin, X., & Liao, Y. (2022). Plastic film mulch changes the microbial community in maize root-associated compartments. *Plant and Soil*, 470(1), 5-20.
- Liao, H., Zheng, C., Long, J., & Guzmán, I. (2021). Effects of biochar amendment on tomato rhizosphere bacterial communities and their utilization of plant-derived carbon in a calcareous soil. *Geoderma*, 396, 115082.
- Liao, H. L., Bonito, G., Rojas, J. A., Hameed, K., Wu, S., Schadt, C. W., ... & Vilgalys, R. (2019). Fungal endophytes of *Populus trichocarpa* alter host phenotype, gene expression, and rhizobiome composition. *Molecular plant-microbe interactions*, 32(7), 853-864.
- Liao, H., Zheng, C., Li, J., & Long, J. (2018). Dynamics of soil microbial recovery from cropland to orchard along a 20-year chronosequence in a degraded karst ecosystem. *Science of the Total Environment*, 639, 1051-1059.

- Liechty, Z., Santos-Medellín, C., Edwards, J., Nguyen, B., Mikhail, D., Eason, S., ... & Sundaresan, V. (2020). Comparative analysis of root microbiomes of rice cultivars with high and low methane emissions reveals differences in abundance of methanogenic archaea and putative upstream fermenters. *Msystems*, 5(1), e00897-19.
- Lladó, S., López-Mondéjar, R., & Baldrian, P. (2018). Drivers of microbial community structure in forest soils. *Applied microbiology and biotechnology*, 102, 4331-4338.
- Lorenzo-Flores A., Giacomán-Vallejos G., Ponce-Caballero Ma. C., Ghozeisi H. (2017) Adsorption of organophosphorus pesticides in tropical soils: The case of karst landscape of northwestern Yucatan. *Chemosphere*, 166, 292-299.
- Lozupone, C., & Knight, R. (2005). UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and environmental microbiology*, 71(12), 8228-8235.
- Lu, X., Toda, H., Ding, F., Fang, S., Yang, W., & Xu, H. (2014). Effect of vegetation types on chemical and biological properties of soils of karst ecosystems. *European Journal of Soil Biology*, 61, 49-57.
- Lugo, J., & García, M. (1999). El relieve de la península de Yucatán. *Atlas de procesos territoriales de Yucatán*, 159-162.
- Lugo, A. E., & Brown, S. (1992). Tropical forests as sinks of atmospheric carbon. *Forest Ecology and Management*, 54(1-4), 239-255.
- Luo, L., Meng, H., & Gu, J. D. (2017). Microbial extracellular enzymes in biogeochemical cycling of ecosystems. *Journal of Environmental Management*, 197, 539-549.
- Luo, Y., Ahlström, A., Allison, S. D., Batjes, N. H., Brovkin, V., Carvalhais, N., ... & Zhou, T. (2016). Toward more realistic projections of soil carbon dynamics by Earth system models. *Global Biogeochemical Cycles*, 30(1), 40-56.
- Maaroufi, N. I., Nordin, A., Palmqvist, K., Hasselquist, N. J., Forsmark, B., Rosenstock, N. P., ... & Gundale, M. J. (2019). Anthropogenic nitrogen enrichment enhances soil carbon accumulation by impacting saprotrophs rather than ectomycorrhizal fungal activity. *Global Change Biology*, 25(9), 2900-2914.

- Marklein, Alison R., & Benjamin Z. Houlton. (2012). Nitrogen inputs accelerate phosphorus cycling rates across a wide variety of terrestrial ecosystems. *New Phytologist* 193(3), 696-704.
- Mason, L. M., Eagar, A., Patel, P., Blackwood, C. B., & DeForest, J. L. (2021). Potential microbial bioindicators of phosphorus mining in a temperate deciduous forest. *Journal of Applied Microbiology*, 130(1), 109-122.
- Massard-Guilbaud, G., & Mathis, C. F. (2017). A Brief Introduction to the History of Pollution: From Local to Global. In *Microbial Ecotoxicology*. Springer, Cham. (pp. 3-15).
- Mayer, A. M. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. *Phytochemistry*, 67(21), 2318-2331.
- McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS one*, 8(4), e61217.
- Mora, L., Bonifaz, R., & López-Martínez, R. (2016). Unidades geomorfológicas de la cuenca del Río Grande de Comitán, Lagos de Montebello, Chiapas-México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 68(3), 377-394.
- Müller, K., Kubsch, N., Marhan, S., Mayer-Grüner, P., Nassal, P., Schneider, D., ... & Kandeler, E. (2020). Saprotrophic and ectomycorrhizal fungi contribute differentially to organic P mobilization in beech-dominated forest ecosystems. *Frontiers in Forests and Global Change*, 3, 47.
- Naether, A., Foesel, B. U., Naegele, V., Wüst, P. K., Weinert, J., Bonkowski, M., ... & Friedrich, M. W. (2012). Environmental factors affect acidobacterial communities below the subgroup level in grassland and forest soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(20), 7398-7406.
- Nannipieri, P., Trasar-Cepeda, C., & Dick, R. P. (2018). Soil enzyme activity: a brief history and biochemistry as a basis for appropriate interpretations and meta-analysis. *Biology and Fertility of Soils*, 54(1), 11-19.
- Navarrete, A. A., Venturini, A. M., Meyer, K. M., Klein, A. M., Tiedje, J. M., Bohannon, B. J., ... & Rodrigues, J. L. (2015). Differential response of Acidobacteria subgroups to

- forest-to-pasture conversion and their biogeographic patterns in the western Brazilian Amazon. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1443.
- Nasr, S., Souidi, M. R., Nasrabadi, S. M. Z., Nikou, M. M., Salmanian, A. H., & Nguyen, H. D. (2014). *Basidioascus persicus* sp. nov., a yeast-like species of the order Geminibasidiales isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(9), 3046-3052.
- Nguyen, N. H., Song, Z., Bates, S. T., Branco, S., Tedersoo, L., Menke, J., ... & Kennedy, P. G. (2016). FUNGuild: an open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, 20, 241-248.
- Nguyen, H. D., Nickerson, N. L., & Seifert, K. A. (2013). *Basidioascus* and *Geminibasidium*: a new lineage of heat-resistant and xerotolerant basidiomycetes. *Mycologia*, 105(5), 1231-1250.
- Nilsson, R. H., Larsson, K. H., Taylor, A. F. S., Bengtsson-Palme, J., Jeppesen, T. S., Schigel, D., ... & Abarenkov, K. (2019). The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D259-D264.
- Ordoñez-Crespo, I., & García-Rodríguez, M. (2010). Formas kársticas comunes de los cenotes del estado de Quintana Roo (México). *M + A, Revista Electrónica de Medio Ambiente*, (9), 15-35
- Ortega Fernández, Adriana Patricia (2015) Efectos del enriquecimiento con N en la dinámica del C y N en suelos de un bosque tropical estacionalmente seco de Yucatán. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, 90 p.
- Padilla & Sánchez, R. J. (2007). Evolución geológica del sureste mexicano desde el Mesozoico al presente en el contexto regional del Golfo de México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 59(1), 19-42.
- Pajares, S., Campo, J., Bohannon, B. J., & Etchevers, J. D. (2018). Environmental controls on soil microbial communities in a seasonally dry tropical forest. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(17), e00342-18.

- Pajares, S., & Bohannan, B. J. (2016). Ecology of nitrogen fixing, nitrifying, and denitrifying microorganisms in tropical forest soils. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1045.
- Pajares, S., Gallardo, J. F., Masciandaro, G., Ceccanti, B., & Etchevers, J. D. (2011). Enzyme activity as an indicator of soil quality changes in degraded cultivated Acrisols in the Mexican Trans-volcanic Belt. *Land Degradation & Development*, 22(3), 373-381.
- Pec, G. J., Karst, J., Taylor, D. L., Cigan, P. W., Erbilgin, N., Cooke, J. E., ... & Cahill Jr, J. F. (2017). Change in soil fungal community structure driven by a decline in ectomycorrhizal fungi following a mountain pine beetle (*Dendroctonus ponderosae*) outbreak. *New Phytologist*, 213(2), 864-873.
- Peng, W., Zhu, Y., Song, M., Du, H., Song, T., Zeng, F., ... & Zhang, J. (2019). The spatial distribution and drivers of soil microbial richness and diversity in a karst broadleaf forest. *Forest Ecology and Management*, 449, 117241.
- Pinto, V. E. F., & Patriarca, A. (2017). *Alternaria* species and their associated mycotoxins. *Mycotoxigenic Fungi*, 13-32.
- Plante, A. F., Stone, M. M., & McGill, W. B. (2015). The metabolic physiology of soil microorganisms. *Soil microbiology, ecology, and biochemistry*, 245-272.
- Quan, Y., Muggia, L., Moreno, L. F., Wang, M., Al-Hatmi, A., da Silva Menezes, N., ... & de Hoog, S. (2020). A re-evaluation of the Chaetothyriales using criteria of comparative biology. *Fungal Diversity*, 103(1), 47-85.
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., ... & Glöckner, F. O. (2012). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic acids research*, 41(D1), D590-D596.
- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ragot, S. A., Kertesz, M. A., & Bünemann, E. K. (2015). *phoD* alkaline phosphatase gene diversity in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(20), 7281-7289.
- Ritchie, M. E., Phipson, B., Wu, D., Hu, Y., Law, C. W., Shi, W., & Smyth, G.K (2015). limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research*, 43(7), e47.

- Roa-Fuentes, L. L., Templer, P. H., & Campo, J. (2015). Effects of precipitation regime and soil nitrogen on leaf traits in seasonally dry tropical forests of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Oecologia*, 179(2), 585-597.
- Rojas-Gätjens, D., Valverde-Madrigal, K. S., Rojas-Jimenez, K., Pereira, R., Avey-Arroyo, J., & Chavarría, M. (2022). Antibiotic-producing Micrococcales govern the microbiome that inhabits the fur of two-and three-toed sloths. *Environmental Microbiology*.
- Salas-Leiva, J., Salas-Leiva, D. E., Tovar-Ramírez, D., Herrera-Pérez, G., Tarango-Rivero, S., Luna-Velasco, A., & Orrantia-Borunda, E. (2021). Copper oxide nanoparticles slightly affect diversity and metabolic profiles of the prokaryotic community in pecan tree (*Carya illinoensis*) rhizospheric soil. *Applied Soil Ecology*, 157, 103772.
- Sánchez, O. S., Islebe, G. A., & Hernández, M. V. (2007). Flora arbórea y caracterización de gremios ecológicos en distintos estados sucesionales de la selva mediana de Quintana Roo. *Foresta Veracruzana*, 9(2), 17-26.
- Schaetzl, R. J., & Thompson, M. L. (2015). *Soils: Genesis and Geomorphology* Cambridge University Press.
- Schaetzl, R. J., & Anderson, S. (2005). *Soils: Genesis and Geomorphology*. Cambridge University Press.
- Schulz, S., Brankatschk, R., Dümig, A., Kögel-Knabner, I., Schloter, M., & Zeyer, J. (2013). The role of microorganisms at different stages of ecosystem development for soil formation. *Biogeosciences*, 10(6), 3983-3996.
- Schultz, G. P. (2005). Vascular flora of the El Edén Ecological Reserve, Quintana Roo, Mexico¹. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 132(2), 311-322.
- Schultz, G. P. (2001). *Vegetation and floristics of the El Edén Ecological Reserve, Quintana Roo, Mexico*. University of California, Riverside.
- Sedov, S., Solleiro-Rebolledo, E., Fedick, S. L., Pi-Puig, T., Vallejo-Gómez, E., & de Lourdes Flores-Delgadillo, M. (2008). Micromorphology of a soil catena in Yucatán: pedogenesis and geomorphological processes in a tropical karst landscape. In *New trends in soil micromorphology* (pp. 19-37). Springer Berlin Heidelberg.

- Sedov, S., Solleiro-Rebolledo, E., Fedick, S. L., Gama-Castro, J., Palacios-Mayorga, S., & Vallejo Gómez, E. (2007). Soil genesis in relation to landscape evolution and ancient sustainable land use in the northeastern Yucatan Peninsula, Mexico. *Atti della Società Toscana di Scienze Naturali–Memorie Serie A*, 112, 115-126.
- Seibert, J., Stendahl, J., & Sørensen, R. (2007). Topographical influences on soil properties in boreal forests. *Geoderma*, 141(1-2), 139-148
- Serrano, A., Tejada, M., Gallego, M., & Gonzalez, J. L. (2009). Evaluation of soil biological activity after a diesel fuel spill. *Science of the Total Environment*, 407(13), 4056-4061.
- Shahsavari, E., Aburto-Medina, A., Khudur, L. S., Taha, M., & Ball, A. S. (2017). From Microbial Ecology to Microbial Ecotoxicology. In *Microbial Ecotoxicology* Springer, Cham (pp. 17-38).
- Shahsavari, E., Aburto-Medina, A., Taha, M., & Ball, A. S. (2016). A quantitative PCR approach for quantification of functional genes involved in the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated soils. *MethodsX*, 3, 205-211.
- Shang, C., & Tiessen, H. (2003). Soil organic C sequestration and stabilization in karstic soils of Yucatan. *Biogeochemistry*, 62(2), 177-196.
- Shen, C., Ge, Y., Yang, T., & Chu, H. (2017). Verrucomicrobial elevational distribution was strongly influenced by soil pH and carbon/nitrogen ratio. *Journal of Soils and Sediments*, 17(10), 2449-2456.
- Shukla, G., & Varma, A. (Eds.). (2010). *Soil enzymology*. Springer Science & Business Media
- Siddaramappa, S., Viswanathan, V., Thiyagarajan, S., & Narjala, A. (2018). Genomewide characterisation of the genetic diversity of carotenogenesis in bacteria of the order Sphingomonadales. *Microbial genomics*, 4(4).
- Sinsabaugh, R. L., Lauber, C. L., Weintraub, M. N., Ahmed, B., Allison, S. D., Crenshaw, C., ... & Zeglin, L. H. (2008). Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology Letters*, 11(11), 1252-1264.
- Solís, E., & Campo, J. (2004). Soil N and P dynamics in two secondary tropical dry forests after fertilization. *Forest Ecology and Management*, 195(3), 409-418.

- Solís-Hernández, A. P., Chávez-Vergara, B. M., Rodríguez-Tovar, A. V., Beltrán-Paz, O. I., Santillán, J., & Rivera-Becerril, F. (2022). Effect of the natural establishment of two plant species on microbial activity, on the composition of the fungal community, and on the mitigation of potentially toxic elements in an abandoned mine tailing. *Science of The Total Environment*, *802*, 149788.
- Song, M., Peng, W., Zeng, F., Du, H., Peng, Q., Xu, Q., ... & Zhang, F. (2018). Spatial patterns and drivers of microbial taxa in a karst broadleaf forest. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 1691.
- Sparks, D. L., Page, A. L., Helmke, P. A., & Loeppert, R. H. (Eds.). (2020). *Methods of soil analysis, part 3: Chemical methods* (Vol. 14). John Wiley & Sons.
- Štursová, M., & Baldrian, P. (2011). Effects of soil properties and management on the activity of soil organic matter transforming enzymes and the quantification of soil-bound and free activity. *Plant and Soil*, *338*(1), 99-110.
- Tedersoo, L., Bahram, M., Põlme, S., Kõljalg, U., Yorou, N. S., Wijesundera, R., ... & Abarenkov, K. (2014). Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, *346*(6213).
- Tekpinar, A. D., & Kalmer, A. (2019). Utility of various molecular markers in fungal identification and phylogeny. *Nova Hedwigia*, *109*(1-2), 187-224.
- Tian, J., Lu, X., Chen, Q., Kuang, X., Liang, C., Deng, L., ... & Tian, J. (2020). Phosphorus fertilization affects soybean rhizosphere phosphorus dynamics and the bacterial community in karst soils. *Plant and Soil*, *475*, 137–152.
- Torsvik, V., & Øvreås, L. (2002). Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, *5*(3), 240-245.
- UNESCO, F. (1993). World soil resources; an explanatory note on the FAO World Soil Resources Map at 1: 25,000,000 scale. *World Soil Resources Reports*. Van Der Heijden, M. G., Bardgett, R. D., & Van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology letters*, *11*(3), 296-310.

- Velmourougane, K., Venugopalan, M. V., Bhattacharyya, T., Sarkar, D., Pal, D. K., Sahu, A., ... & Singh, R. S. (2013). Soil dehydrogenase activity in agro-ecological sub regions of black soil regions in India. *Geoderma*, 197, 186-192.
- Wagner, L., Stielow, B., Hoffmann, K., Petkovits, T., Papp, T., Vágvölgyi, C., ... & Voigt, K. (2013). A comprehensive molecular phylogeny of the Mortierellales (Mortierellomycotina) based on nuclear ribosomal DNA. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 30(1), 77-93.
- Waltham, A. C., & Fookes, P. G. (2003). Engineering classification of karst ground conditions. *Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology*, 36(2), 101-118.
- Wan, X., Huang, Z., He, Z., Yu, Z., Wang, M., Davis, M. R., & Yang, Y. (2015). Soil C: N ratio is the major determinant of soil microbial community structure in subtropical coniferous and broadleaf forest plantations. *Plant and soil*, 387, 103-116.
- Wang, G., Liu, Y., Cui, M., Zhou, Z., Zhang, Q., Li, Y., ... & Zhou, J. (2021a). Effects of secondary succession on soil fungal and bacterial compositions and diversities in a karst area. *Plant and Soil*, 75(1), 91-102.
- Wang, J., Shi, X., Zheng, C., Suter, H., & Huang, Z. (2021b). Different responses of soil bacterial and fungal communities to nitrogen deposition in a subtropical forest. *Science of the Total Environment*, 755, 142449
- Wang, P., Wang, X., Nie, J., Wang, Y., Zang, H., Peixoto, L., ... & Zeng, Z. (2022). Manure application increases soil bacterial and fungal network complexity and alters keystone taxa. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22(1), 607-618.
- Wang, W., Luo, X., Ye, X., Chen, Y., Wang, H., Wang, L., ... & Cui, Z. (2020). Predatory Myxococcales are widely distributed in and closely correlated with the bacterial community structure of agricultural land. *Applied Soil Ecology*, 146, 103365.
- Wang, X., Li, Q., Sui, J., Zhang, J., Liu, Z., Du, J., ... & Liu, X. (2019). Isolation and characterization of antagonistic bacteria *Paenibacillus jamilae* HS-26 and their effects on plant growth. *BioMed Research International*, 2019, 3638926.

- Wang, Y., Du, L., Liu, H., Long, D., Huang, M., Wang, Y., ... & Jin, D. (2020). Halosulfuron methyl did not have a significant effect on diversity and community of sugarcane rhizosphere microflora. *Journal of Hazardous Materials*, 399, 123040.
- Ward, N. L., Challacombe, J. F., Janssen, P. H., Henrissat, B., Coutinho, P. M., Wu, M., ... & Kuske, C. R. (2009). Three genomes from the phylum Acidobacteria provide insight into the lifestyles of these microorganisms in soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(7), 2046-2056.
- Wei, X., Fu, T., He, G., Cen, R., Huang, C., Yang, M., ... & He, T. (2023). Plant types shape soil microbial composition, diversity, function, and co-occurrence patterns in cultivated land of a karst area. *Land Degradation & Development*, 34(4), 1097-1109.
- Weißbecker, C., Wubet, T., Lentendu, G., Kühn, P., Scholten, T., Bruelheide, H., & Buscot, F. (2018). Experimental evidence of functional group-dependent effects of tree diversity on soil fungi in subtropical forests. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2312.
- Wemheuer, F., Taylor, J. A., Daniel, R., Johnston, E., Meinicke, P., Thomas, T., & Wemheuer, B. (2020). Tax4Fun2: prediction of habitat-specific functional profiles and functional redundancy based on 16S rRNA gene sequences. *Environmental Microbiome*, 15, 1-12.
- Wen, L., Li, D., Yang, L., Luo, P., Chen, H., Xiao, K., ... & Wang, K. (2016). Rapid recuperation of soil nitrogen following agricultural abandonment in a karst area, southwest China. *Biogeochemistry*, 129(3), 341-354.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322.
- White, W.B., 1988. *Geomorphology and hydrology of karst terrains* (No. 551.447 W4).
- Willey, J. M., Sherwood, L., & Woolverton, C. J. (2011). Prescott's microbiology (Vol. 7). New York: McGraw-Hill.
- Woese, C. R., & Fox, G. E. (1977). Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(11), 5088-5090.

- Woo, C., An, C., Xu, S., Yi, S. M., & Yamamoto, N. (2018). Taxonomic diversity of fungi deposited from the atmosphere. *The ISME Journal*, *12*(8), 2051-2060.
- Xiao, W., Chen, X., Jing, X., & Zhu, B. (2018). A meta-analysis of soil extracellular enzyme activities in response to global change. *Soil Biology and Biochemistry*, *123*, 21-32.
- Xue, Y., Tian, J., Quine, T. A., Powlson, D., Xing, K., Yang, L., ... & Dungait, J. A. (2020). The persistence of bacterial diversity and ecosystem multifunctionality along a disturbance intensity gradient in karst soil. *Science of the Total Environment*, *748*, 142381.
- Yang, B., Wang, Y., & Qian, P. Y. (2016). Sensitivity and correlation of hypervariable regions in 16S rRNA genes in phylogenetic analysis. *BMC Bioinformatics*, *17*(1), 1-8.
- Yang, D., Li, M., Yang, Z., xi Wen, S., xu Zhu, G., li Gou, W., & Li, C. (2019). Municipal sewage sludge alters soil chemical properties and enzymes activities in a karst rocky desertification region in southwest China. *Feb-Fresenius Environmental Bulletin*, 7394.
- Yilmaz, P., Parfrey, L. W., Yarza, P., Gerken, J., Pruesse, E., Quast, C., ... & Glöckner, F. O. (2014). The SILVA and “all-species living tree project (LTP)” taxonomic frameworks. *Nucleic Acids Research*, *42*(D1), D643-D648.
- Yun, Y., Wang, H., Man, B., Xiang, X., Zhou, J., Qiu, X., ... & Engel, A. S. (2016). The relationship between pH and bacterial communities in a single karst ecosystem and its implication for soil acidification. *Frontiers in Microbiology*, *7*, 1955.
- Zeng, T., Wang, L., Zhang, X., Song, X., Li, J., Yang, J., ... & Zhang, J. (2022). Characterization of microbial communities in wastewater treatment plants containing heavy metals located in chemical industrial zones. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(11), 6529.
- Zhang, B., Wu, X., Zhang, W., Chen, X., Zhang, G., Ai, X., ... & Dyson, P. (2016). Diversity and succession of Actinobacteria in the forelands of the Tianshan Glacier, China. *Geomicrobiology Journal*, *33*(8), 716-723.
- Zhang, C., Li, Z., Gu, M., Deng, C., Liu, M., & Li, L. (2010). Spatial and vertical distribution and pollution assessment of soil fluorine in a lead-zinc mining area in the Karst region of Guangxi, China. *Plant, Soil and Environment*, *56*(6), 282-287.

- Zhang, K., Bonito, G., Hsu, C. M., Hameed, K., Vilgalys, R., & Liao, H. L. (2020a). *Mortierella elongata* increases plant biomass among non-leguminous crop species. *Agronomy*, *10*(5), 754.
- Zhang, S., Wang, Y., Sun, L., Qiu, C., Ding, Y., Gu, H., ... & Ding, Z. (2020b). Organic mulching positively regulates the soil microbial communities and ecosystem functions in tea plantation. *BMC Microbiology*, *20*(1), 1-13.
- Zhang, W., Zhao, J., Pan, F., Li, D., Chen, H., & Wang, K. (2015). Changes in nitrogen and phosphorus limitation during secondary succession in a karst region in southwest China. *Plant and Soil*, *391*(1), 77-91.
- Zhang, Y., Crous, P. W., Schoch, C. L., & Hyde, K. D. (2012). Pleosporales. *Fungal diversity*, *53*(1), 1-221.
- Zhou, J., Jiang, X., Zhou, B., Zhao, B., Ma, M., Guan, D., ... & Qin, J. (2016). Thirty-four years of nitrogen fertilization decreases fungal diversity and alters fungal community composition in black soil in northeast China. *Soil Biology and Biochemistry*, *95*, 135-143.
- Zhou, J., Guan, D., Zhou, B., Zhao, B., Ma, M., Qin, J., ... & Li, J. (2015). Influence of 34-years of fertilization on bacterial communities in an intensively cultivated black soil in northeast China. *Soil Biology and Biochemistry*, *90*, 42-51.
- Zhou, Z., Gao, T., Van Zwieten, L., Zhu, Q., Yan, T., Xue, J., & Wu, Y. (2019). Soil Microbial Community Structure Shifts Induced by Biochar and Biochar-Based Fertilizer Amendment to Karst Calcareous Soil. *Soil Science Society of America Journal*, *83*(2), 398-408.
- Zhu, G., Zhou, L., He, X., Wei, P., Lin, D., Qian, S., ... & Yang, Y. (2022). Effects of elevation gradient on soil carbon and nitrogen in a typical karst region of Chongqing, southwest China. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, *127*(6), e2021JG006742.
- Zhu, X., Zou, X., Lu, E., Deng, Y., Luo, Y., Chen, H., & Liu, W. (2021). Litterfall biomass and nutrient cycling in karst and nearby non-karst forests in tropical China: a 10-year comparison. *Science of The Total Environment*, *758*, 143619.

Páginas internet consultadas:

Espinasa-Pereña, R., 2007, El Karst de México. Mapa NA III 3, en Coll-Hurtado, A. (coord.), Nuevo Atlas Nacional de México: Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México

http://www.igeograf.unam.mx/Geodig/nvo_atlas/index.html/5_naturaleza_ambiente/3_geo_morfologia/NA_III_3.jpg

Secretaría de Turismo (Sectur) (2014), consultado 16 mayo de 2021

<http://www.sectur.gob.mx/programas/gestion-de-destinos/productos-turisticos/mundo-maya/cancun/>

Sistema Nacional de Áreas Protegidas (SINAP) consultado 16 marzo de 2022

<https://www.gob.mx/conanp/documentos/region-peninsula-de-yucatan-y-caribe-mexicano?state=published>

Software GraphPad Prism : <https://www.graphpad.com/scientific-software/prism/>

14. Anexos

Tabla A1. Características fisicoquímicas de suelos kársticos reportados en el mundo.

País	Características	Referencia
China Karst subtropical	Suelo bosque primario	Zhang <i>et al.</i> , 2015
	-pH: 7.26	
	-C _{org} (g/kg): 80.0	
	-N _{tot} (g/kg): 8.8	
	-P _{tot} (g/kg): 1.66	
	-N _{dis} (mg/kg): 259.2	
	-P _{dis} (mg/kg): 12.44	
	-C _{org} /N _{tot} : 9	
	Suelo bosque secundario	
	-pH: 7.28	
	-C _{org} (g/kg): 63.3	
	-N _{tot} (g/kg): 7.6	
	-P _{tot} (g/kg): 1.59	
	-N _{dis} (mg/kg): 185.2	
	-P _{dis} (mg/kg): 10.22	
-C _{org} /N _{tot} : 8.3		
Suelo matorral		
-pH: 6.78		
-C _{org} (g/kg): 63.4		
-N _{tot} (g/kg): 6.8		
-P _{tot} (g/kg): 1.26		
-N _{dis} (mg/kg): 172.7		
-P _{dis} (mg/kg): 12.44		
-C _{org} /N _{tot} : 9.3		
Suelo pastizal		
-pH: 6.84		
-C _{org} (g/kg): 30.5		
-N _{tot} (g/kg): 2.5		
-P _{tot} (g/kg): 0.77		
-N _{dis} (mg/kg): 91.9		
-P _{dis} (mg/kg): 3.7		
-C _{org} /N _{tot} : 12.2		
China Karst subtropical	Suelo bosque primario	Xue <i>et al.</i> , 2020
	-pH: 6.43	
	-C _{org} (g/kg): 62.0	
	-N _{tot} (g/kg): 5.6	
	-P _{tot} (g/kg): 1.0	
	-C _{org} /N _{tot} : 11	
	Suelo bosque secundario	
	-pH: 7.11	
	-C _{org} (g/kg): 52.1	
	-N _{tot} (g/kg): 3.42	
	-P _{tot} (g/kg): 0.6	
	-C _{org} /N _{tot} : 15.2	
	Suelo sin cultivar < 6 años	
	-pH: 6.82	
	-C _{org} (g/kg): 30.1	
-N _{tot} (g/kg): 2.57		
-P _{tot} (g/kg): 0.7		
-C _{org} /N _{tot} : 11.7		
Suelo agrícola <i>Brassica napus</i> (canola) y <i>Zea mays</i> (maíz)		
-pH: 6.04		

País	Características	Referencia
	-C _{org} (g/kg): 29.5 -N _{tot} (g/kg): 2.4 -P _{tot} (g/kg): 0.8 -C _{org} /N _{tot} : 12.3	
China Karst subtropical	Suelo montaña -pH: 5.2 -C _{org} (g/kg): 12.9 Suelo agrícola -pH: 7.62 -C _{org} (g/kg): 9.7 Suelo bosque -pH: 7.51 -C _{org} (g/kg): 41.1	Yun <i>et al.</i> , 2016
China Karst subtropical	Suelo reforestado 12 años <i>Toona sinensis</i> (árbol caoba) -pH: 6.5 -C _{tot} (g/kg): 59 -C _{org} (g/kg): 17.5 -N _{tot} (g/kg): 1.5 -C:N: 39 Suelo reforestado 4 años <i>Toona sinensis</i> (árbol caoba) -pH: 6.5 -C _{tot} (g/kg): 54 -C _{org} (g/kg): 14 -N _{tot} (g/kg): 1.3 -C:N: 42 Suelo agrícola -pH: 6.5 -C _{tot} (g/kg): 55 -C _{org} (g/kg): 12.5 -N _{tot} (g/kg): 1.2 -C _{tot} / N _{tot} : 45	Hu <i>et al.</i> , 2016
China Karst subtropical	Suelo reforestado con fresno espinoso 20 años -pH: 7.82 -C _{org} (g/kg): 25.0 -N _{tot} (g/kg): 4.18 -P _{tot} (g/kg): 0.69 -S _{tot} (g/kg): 0.43 -P _{dis} (mg/kg): 11.7 -C _{org} /N _{tot} : 8.79 Suelo reforestado con fresno espinoso 10 años -pH: 7.8 -C _{org} (g/kg): 22.8 -N _{tot} (g/kg): 3.51 -P _{tot} (g/kg): 0.59 -S _{tot} (g/kg): 0.35 -P _{dis} (mg/kg): 11.3 -C _{org} /N _{tot} : 7.54 Suelo reforestado con fresno espinoso 5 años -pH: 7.67 -C _{org} (g/kg): 23.53 -N _{tot} (g/kg): 3.25 -P _{tot} (g/kg): 0.60 -S _{tot} (g/kg): 0.28 -P _{dis} (mg/kg): 8.59	Liao <i>et al.</i> , 2018

País	Características	Referencia
	-C _{org} /N _{tot} : 7.25	
	Suelo agrícola >50 años <i>Zea mays</i> (maíz) y <i>Ipomea batatas</i> (camote)	
	-pH: 7.18	
	-C _{org} (g/kg): 15.83	
	-N _{tot} (g/kg): 2.35	
	-P _{tot} (g/kg): 0.53	
	-S _{tot} (g/kg): 0.17	
	-P _{dis} (mg/kg): 13.1	
	-C _{org} /N _{tot} : 6.73	
China Karst subtropical	Suelo agrícola vegetación C3	Li <i>et al.</i> , 2018
	-pH: 5.2	
	-C _{org} (g/kg): 23.01	
	-N _{tot} (g/kg): 0.60	
	-N _{dis} (mg/kg): 97.47	
	-CIC (cmol/g): 8.5	
	-C _{org} /N _{tot} : 38	
China Karst subtropical	Suelo arcillo arenoso	Zhou <i>et al.</i> , 2019
	-pH: 7.53	
	-C _{org} (g/kg): 23.01	
	-N _{tot} (g/kg): 2.25	
	-P _{tot} (g/kg): 0.16	
	-K _{tot} (mg/kg): 11.76	
	-N _{dis} (mg/kg): 140.0	
	-P _{dis} (mg/kg): 10.0	
	-C _{org} /N _{tot} : 10	
China Karst subtropical	Suelo bosque secundario	Chen <i>et al.</i> , 2019
	-pH: 6.75	
	-C _{org} (g/kg): 43.05	
	-N _{tot} (g/kg): 4.76	
	-P _{tot} (g/kg): 0.62	
	-P _{dis} (mg/kg): 5.63	
	-C _{org} /N _{tot} : 9	
	Suelo matorral	
	-pH: 7.14	
	-C _{org} (g/kg): 34.04	
	-N _{tot} (g/kg): 3.74	
	-P _{tot} (g/kg): 0.65	
	-P _{dis} (mg/kg): 5.08	
	-C _{org} /N _{tot} : 9	
	Suelo pastizal	
	-pH: 6.63	
	-C _{org} (g/kg): 28.41	
	-N _{tot} (g/kg): 3.36	
	-P _{tot} (g/kg): 0.37	
	-P _{dis} (mg/kg): 4.46	
	-C _{org} /N _{tot} : 8	
	Suelo agrícola	
	-pH: 7.04	
	-C _{org} (g/kg): 26.79	
	-N _{tot} (g/kg): 3.67	
	-P _{tot} (g/kg): 0.85	
	-P _{dis} (mg/kg): 6.35	
	-C _{org} /N _{tot} : 7	
China Karst Subtropical	Suelo bosque caducifolio y perinnifolio	Peng <i>et al.</i> , 2019
	-pH: 7.45	
	-C _{org} (g/kg): 62.16	
	-N _{tot} (g/kg): 7.38	

País	Características	Referencia
	-P _{tot} (g/kg): 1.54 -N _{dis} (mg/kg): 423.84 -P _{dis} (mg/kg): 5.43 -C _{org} /N _{tot} : 8.4	
Grecia Karst Subtropical	Suelo calcáreo CIC (meq/100g) 17.5 (7.7-40.9) Suelo agrícola -pH 5.0-7.8 -Arcilla: 32.2% -Limo: 38.1% -Arena: 29.8% Suelo urbano -Arcilla: 35.9% -Limo: 36.5% -Arena: 27.8 % Suelo humedal -Arcilla: 49.5% -Limo: 33 % -Arena: 17.5%	Alexakis <i>et al.</i> , 2021
Hungría Karst subtropical	Suelo Leptosol réndzico rendzina negra (NE Hungría) -pH: 6.6 -N _{tot} (g/kg): 4.6 -CaCO ₃ (%): 0.53 Suelo Luvisol léptico, rendzina roja (NE Hungría) -pH: 6.5 -N _{tot} (g/kg): 2.9 -CaCO ₃ (%): 0.04 Suelo Leptosol réndzico, rendzina negra(Oeste Hungría) -pH: 6.7 -N _{tot} (g/kg): 3.0 -CaCO ₃ (%): 1.51 Suelo Phaeozem léptico rendzina café (Oeste Hungría) -pH: 7.6 -N _{tot} (g/kg): 1.1 -CaCO ₃ (%): 4.37	Knáb <i>et al.</i> , 2018
China Karst Tropical	Suelo bosque kárstico y no kárstico Karst -pH: 6.62 -C _{org} (g/kg): 19.47 -N _{tot} (g/kg): 1.8 -S _{tot} (mg/kg): 23 -C _{org} /N _{tot} : 10.8 -Ca (g/kg): 5.6 -Mg (g/kg): 6.7 -P _{dis} (mg/kg): 0.67 -K _{dis} (mg/kg): 95.8 -DA (g/cm ³): 1.32 No karst -pH: 4.51 -C _{org} (g/kg): 12.3 -N _{tot} (g/kg): 1.7	Zhu <i>et al.</i> , 2021

País	Características	Referencia
	<p>-S_{tot} (mg/kg): 20 -C_{org}/N_{tot}: 7.23 -Ca (g/kg): 0.9 -Mg (g/kg): 3.1 -P_{dis} (mg/kg): 3.98 -K_{dis} (mg/kg): 109.7 -DA (g/cm³): 1.46</p>	
China Karst Tropical	<p>Suelo calcáreo -pH: 7.63 -C_{tot} (g/kg): 30.2 -N_{tot} (g/kg): 2.81 -C_{tot}/ N_{tot}: 10</p>	Liao <i>et al.</i> , 2021
México Karst Tropical	<p>Suelo negro bosque tropical época seca -pH: 7.9 -C_{tot}(g/kg): 212.9 -N_{tot} (g/kg): 11.4 -P_{tot} (g/kg): 0.71 -C_{tot}/ N_{tot}: 17.8 -CIC (cmol/kg): 84.7</p> <p>Suelo negro bosque tropical época lluvia -pH: 8.0 -C_{tot}(g/kg): 220 -N_{tot} (g/kg): 11.5 -P_{tot} (g/kg): 0.83 -C_{tot}/ N_{tot}: 18.4 -CIC (cmol/kg): 76</p> <p>Suelo rojo bosque tropical época seca -pH: 7.8 -C_{tot} (g/kg): 75.9 -N_{tot} (g/kg): 5.6 -P_{tot} (g/kg): 0.37 -C_{tot}/ N_{tot}: 13.9 -CIC (cmol/kg): 58.7</p> <p>Suelo rojo bosque tropical época lluvia -pH: 7.8 -C_{tot} (g/kg): 70.1 -N_{tot} (g/kg): 5.9 -P_{tot} (g/kg): 0.43 -C_{tot}/ N_{tot}: 12.1 -CIC (cmol/kg): 42.5</p>	Pajares <i>et al.</i> , 2018

Tabla A2. Tabla de relación entre las preguntas de investigación, objetivos y estrategia metodológica del presente trabajo de investigación.

Pregunta central	Objetivo general	
¿Cuál es la estructura y diversidad microbiana leptosoles réndzicos desarrollados en un sistema kárstico tropical y cuáles son los posibles roles que están jugando dentro del ecosistema?	Determinar la estructura y diversidad microbiana en suelos desarrollados en un sistema kárstico tropical al NE de Quintana Roo y sus posibles roles biogeoquímicos y ecológicos en el ecosistema.	
Análisis propuestos	Análisis propuestos	Análisis propuestos
¿Cuáles son las características físicoquímicas de los suelos en estudio?	Caracterizar físicoquímicamente a los suelos muestreados, así como su estructura en láminas delgadas.	Textura, D.A., C.E. y pH Análisis de elementos totales: Al, As, Ba, C, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, N, Na, Ni, P, Pb, S, Sb, Se, Si, Sn, Sr, Ti, Tl, V, y Zn C _{org} y N _{org} Láminas delgadas de estructura suelo Estadística descriptiva
¿Qué grupos de bacterias, arqueas y hongos, se encuentran presentes en estos leptosoles réndzicos desarrollado en sistemas kársticos tropicales y cómo es su diversidad?	Determinar la estructura y la diversidad del componente microbiano (mediante los marcadores moleculares 16S rRNA e ITS) de los diferentes suelos muestreados.	Obtención DNA total de suelos Amplificación y secuenciación de fragmentos del gen 16S rRNA e ITS. Análisis de secuencias: diversidad alfa y beta, y asignación taxonómica. Análisis estadísticos descriptivos
¿Cómo se relaciona la comunidad microbiana con la actividad enzimática del suelo?	Determinar la actividad de enzimas en el suelo y establecer si existe correlación con los parámetros físicoquímicos y biológicos.	Análisis enzimáticos Análisis estadísticos descriptivos y correlativos
¿Existirá una distribución de estos grupos que responda a factores físicoquímicos propios del suelo, i.e. Corg, textura, MO, pH, metales y metaloides?	Establecer las relaciones de la estructura de la comunidad microbiana con las características físicoquímicas del suelo.	Análisis estadísticos correlativos (p.e. CCA)
¿Cuáles son las posibles funciones de la microbiota en estos suelos?	Determinar cuáles son los procesos biogeoquímicos potenciales en la comunidad de bacterias y arqueas, y el rol ecológico de los diferentes grupos de hongos.	Predicción metabólica mediante Tax4Fun2 (procariontes) FUNGuild (hongos)
¿Cuáles grupos microbianos que podrían estar relacionados con los potenciales nutrientes limitantes?	Detectar grupos microbianos que puedan relacionarse con potenciales nutrientes limitantes en el suelo.	Predicción genética con Tax4Fun2 (procariontes) para N y P

Tabla A3. Promedio de la humedad en el suelo por sitio

	S1	S2	S3	S4
Humedad relativa	39.7 %	57.3 %	60.7 %	65.2 %

Tabla A4. Número de secuencias del gen 16S rRNA y secciones ITS obtenidas para este estudio

	Secuencias crudas	Secuencias filtradas	Secuencias <i>denoised</i>	Secuencias pareadas	Secuencias no quiméricas
<i>16S rRNA</i>					
S1.1	38355	27941	25290	18142	18005
S1.2	34659	30019	27310	17877	17792
S1.3	24423	22104	19980	13514	13460
S1.4	28785	25511	22979	15833	15605
S2.1	39634	34553	32275	23712	23484
S2.2	36551	24105	22314	16555	16442
S2.3	165653	144348	139991	112726	102506
S2.4	30564	25270	23105	16113	16095
S3.1	27731	21168	19195	13380	13160
S3.2	50883	37032	34727	26094	25785
S3.3	43396	37962	35076	25733	25020
S3.4	39700	32384	29822	22109	21635
S4.1	67627	48665	46430	38643	37005
S4.2	97732	32898	30217	22043	21730
S4.3	32963	18416	16714	11051	10928
S4.4	25867	16146	14825	10319	10171
TOTAL	784523	578522	540250	403844	388823
<i>ITS</i>					
S1.1	33819	13265	13107	13025	12843
S1.2	45962	12824	12686	12611	11793
S1.3	35224	27095	27043	26987	26543
S1.4	28896	7680	7564	7499	7235
S2.1	54718	27229	27106	26688	26678
S2.2	52520	40042	39884	39588	39296
S2.3	77226	42895	42672	39972	36555
S2.4	43224	13925	13753	13486	12258
S3.1	106735	76499	76417	76378	75732
S3.2	65311	51990	51899	51749	50618
S3.3	56535	19265	19071	18984	18795
S3.4	49430	15282	15179	15110	14973
S4.1	48506	28710	28621	28495	28402
S4.2	53079	40143	39934	39798	39663
S4.3	48570	41530	41425	41335	41022
S4.4	42681	33986	33844	33658	32938
TOTAL	842436	492360	490205	485363	475344

Figura A5

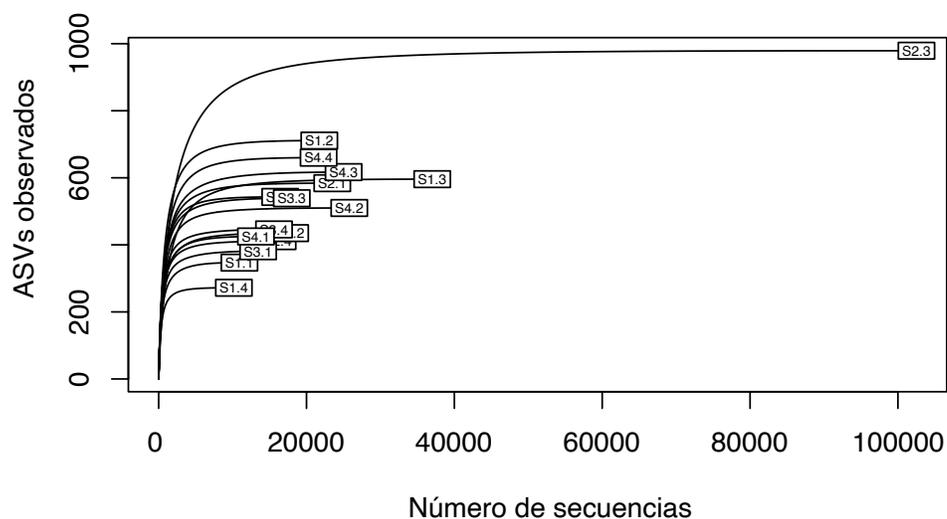


Figura A5. Curva de rarefacción para secuencias 16S rRNA. La gráfica muestra el número de lecturas obtenidas de las secuencias (*eje x*) y el número de ASVs en que se agruparon (*eje y*).

Figura A6

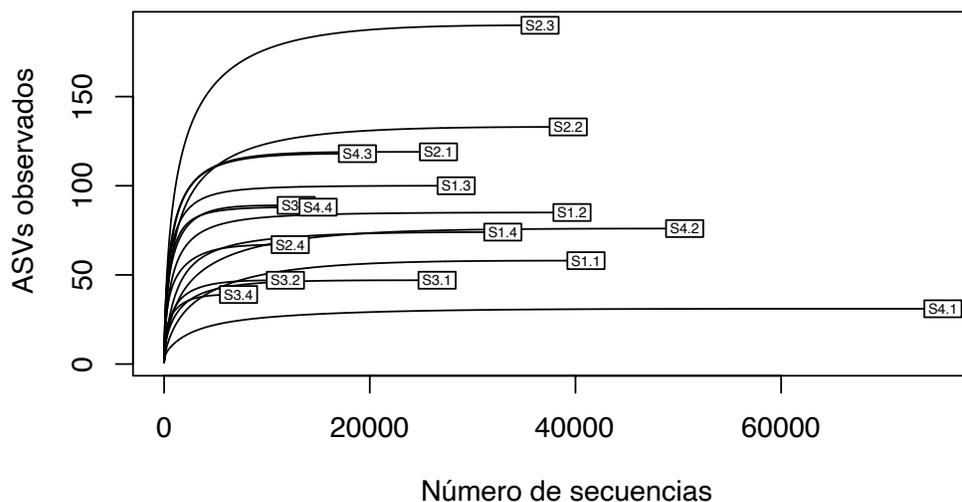


Figura A6. Curva de rarefacción para secuencias ITS. La gráfica muestra el número de lecturas obtenidas de las secuencias (*eje x*) y el número de ASVs en que se agruparon (*eje y*).

Tabla A7

Tabla A7. Análisis elemental de los suelos muestreados del estado de Quintana Roo. Concentración en g/kg (C_{org} y N_{tot}) y mg/kg suelo seco.

	S1				S2				S3				S4			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
pH	8.5	8.2	8.7	8.4	8.6	8.5	8.3	8.3	8.5	8.6	8.3	8.6	8.1	8.4	8.1	7.8
*CE	1025	865	637	892	818	908	1670	1905	966	935	730	1071	2130	1159	2360	12835
C _{org}	252.8	119.1	136.7	183.6	182.6	174.8	211.7	281.6	172.9	144.0	289.3	221.9	339.9	235.0	273.9	326.3
N _{tot}	21.7	3	6.3	9.4	19	18.7	20	21.9	15.5	12.5	21.7	18	21.7	23.3	19.3	20.6
Al	27758	4722	11036	10187	62795	53139	46861	8768	65192	36014	77651	30353	2158	23443	32877	5860
As	2	<LOD	<LOD	<LOD	6	3	5	<LOD	10	6	15	3	<LOD	3	<LOD	1
Ba	115	11	30	35	169	217	141	48	132	70	160	86	22	88	85	29
Ca	84676	327141	292297	273704	26189	53190	71522	106140	20972	37935	17697	107683	40080	60397	38986	49838
Cd	2	1	1	1	4	4	4	1	4	2	5	2	0	2	2	1
Co	4	1	2	2	8	9	7	2	11	7	21	6	1	5	3	1
Cr	66	13	27	24	147	121	107	17	102	55	121	46	3	56	42	9
Cu	14	3	6	5	17	18	11	18	6	8	<LOD	12	7	17	11	6
Fe	17165	2254	7945	6876	30254	27292	25649	4941	27867	16680	35461	17674	1331	13668	13280	3264
K	2008	453	726	796	4329	3477	3616	1220	1597	1145	1881	958	884	1593	1401	898
Li	37	7	14	13	94	79	68	10	118	67	150	49	3	34	45	7
Mg	4091	2922	2885	3104	5043	4963	4649	3363	4238	2484	4296	3283	6256	3650	5442	7684
Mn	765	96	319	268	1378	1742	1189	536	800	286	1543	334	84	944	325	117
Mo	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	2	<LOD	0.4	3
Na	477	409	402	405	794	732	696	607	756	576	718	642	574	421	1003	4478
Ni	8	4	5	4	21	19	16	8	29	17	43	14	3	8	10	4
P	848	179	361	334	461	456	519	486	365	483	539	430	402	728	385	399
Pb	10	<LOD	3	2	21	20	15	6	19	15	26	11	<LOD	10	9	2
Si	1214	824	996	1004	1184	1159	1171	1029	1142	1343	1308	1388	682	1225	1337	920
Sr	360	671	573	600	128	183	254	421	122	114	94	314	467	245	584	622
Ti	228	50	105	90	534	500	429	113	461	245	490	263	42	195	304	82
V	18	4	8	7	34	28	28	5	60	31	78	25	5	14	25	11
Zn	46	8	19	18	70	63	54	40	50	48	75	73	11	46	20	10
S	3046	776	1000	1190	2136	1943	2514	3511	1921	3778	2253	2608	4184	2842	3635	5974

*mS/cm, <LOD, por debajo del límite de detección.

Figura A8

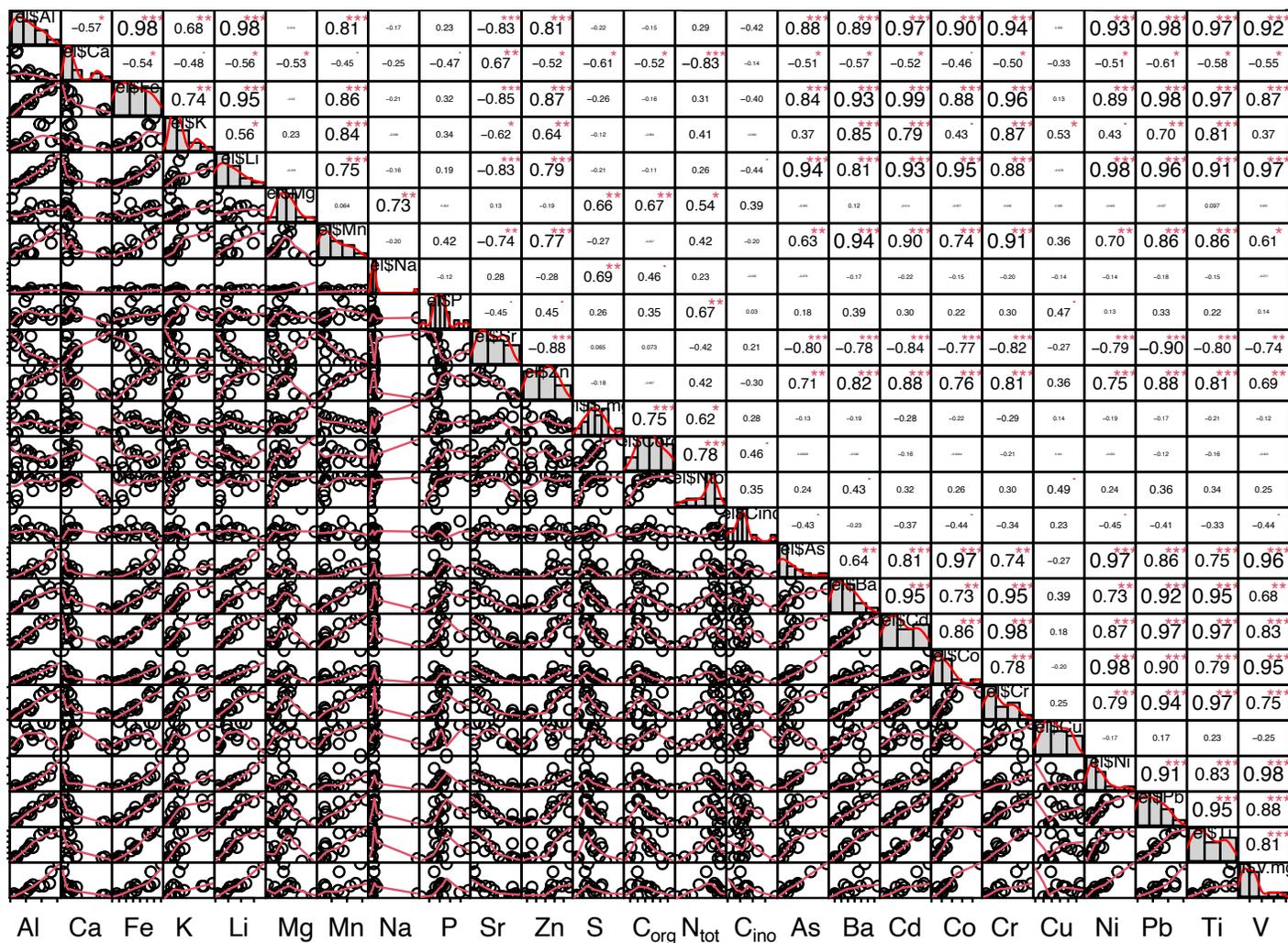


Figura A8. Correlación de Pearson para las variables analizadas. *correlación débil, **correlación moderada, ***correlación alta.

Tabla A9

Tabla A9. Actividad enzimática de los suelos kársticos por sitio

Enzima μmol /g h	S1				S2				S3				S4			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<i>β-glucosidasa</i>	0.24	0.04	0.06	0.18	0.08	0.20	0.14	0.15	0.03	0.04	0.10	0.03	0.19	0.03	0.05	0.19
Polifenol oxidasa	3.1	1.1	1.6	1.8	5.0	3.3	2.9	2.6	2.5	2.1	2.1	3.4	2.2	2.8	2.4	1.9
Lipasa en butirato	10.9	14.7	9.0	11.7	17.2	9.1	17.3	14.9	3.2	4.5	1.7	6.6	21.1	8.2	5.5	7.2
Fosfomonoesterasa	0.12	0.67	0.01	0.12	0.33	0.15	0.34	0.51	0.21	0.20	0.07	0.24	0.69	0.06	0.47	0.43
Deshidrogenasa*	67.7	28.7	15.3	64.1	46.3	40.0	57.2	5.2	9.8	21.5	11.7	57.4	2.4	56.0	39.2	9.5

* μg TPF/g h

Tabla A10

Tabla A10. Análisis de Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS) mostrando la relación entre la actividades enzimática y las propiedades fisicoquímicas del suelo en estudio.

Se muestran los valores del coeficiente canónico (r^2) y del nivel de significancia (p -value).

Parámetro	NMDS1	NMDS2	r^2	p -value
Ca	-0.09413	-0.99556	0.123	0.433
Fe	0.46192	0.88692	0.2796	0.129
P	-0.45007	0.89299	0.335	0.075
S	-0.86928	-0.49432	0.034	0.798
C _{org}	-0.88617	-0.46335	0.0975	0.499
N _{tot}	-0.63822	0.76985	0.2	0.204
pH	0.17767	0.98409	0.4126	0.031*
C:N	0.37759	-0.92597	0.3966	0.021*
Humedad	-0.18678	0.9824	0.1327	0.385

* p -value < 0.05, ** p -value < 0.01, *** p -value < 0.001

Tabla A11

Tabla A11. Análisis CCA de propiedades fisicoquímicas con la comunidad de bacterias y arqueas. Se muestran los valores del coeficiente canónico (r^2) y del nivel de significancia (p -value).

Factor Ambiental	CCA1	CCA2	r^2	p -value
Arena	0.94819	0.31769	0.499	0.499
Arcilla	-0.97611	0.21726	0.2371	0.239
Limo	0.64812	-0.76154	0.1437	0.518
D.A.	0.96450	0.26407	0.0305	0.882
P	-0.84473	-0.53519	0.0567	0.681
S	0.96982	0.24382	0.1107	0.560
C _{org}	0.92412	-0.38209	0.0548	0.779
N _{tot}	0.51799	-0.85539	0.0689	0.710
pH	-0.97267	0.23221	0.5853	0.011 *
EC	0.99798	0.06356	0.4239	0.128
Na	0.98642	0.16426	0.4076	0.152
K	-0.50845	-0.86109	0.3377	0.129
Li	-0.97570	0.21913	0.1919	0.330
Mg	0.89725	-0.44153	0.1925	0.330
Ca	0.99992	-0.01241	0.0476	0.816
Ba	-0.92656	-0.37614	0.2186	0.302
Al	-0.99990	-0.01409	0.1909	0.365
Fe	-0.97412	-0.22603	0.1862	0.388
Mn	-0.80173	-0.59769	0.2101	0.314
Sr	0.99943	-0.03390	0.2601	0.239
Zinc	-0.99971	-0.02403	0.2545	0.240

* p -value < 0.05, ** p -value < 0.01, *** p -value < 0.001

Figura A12

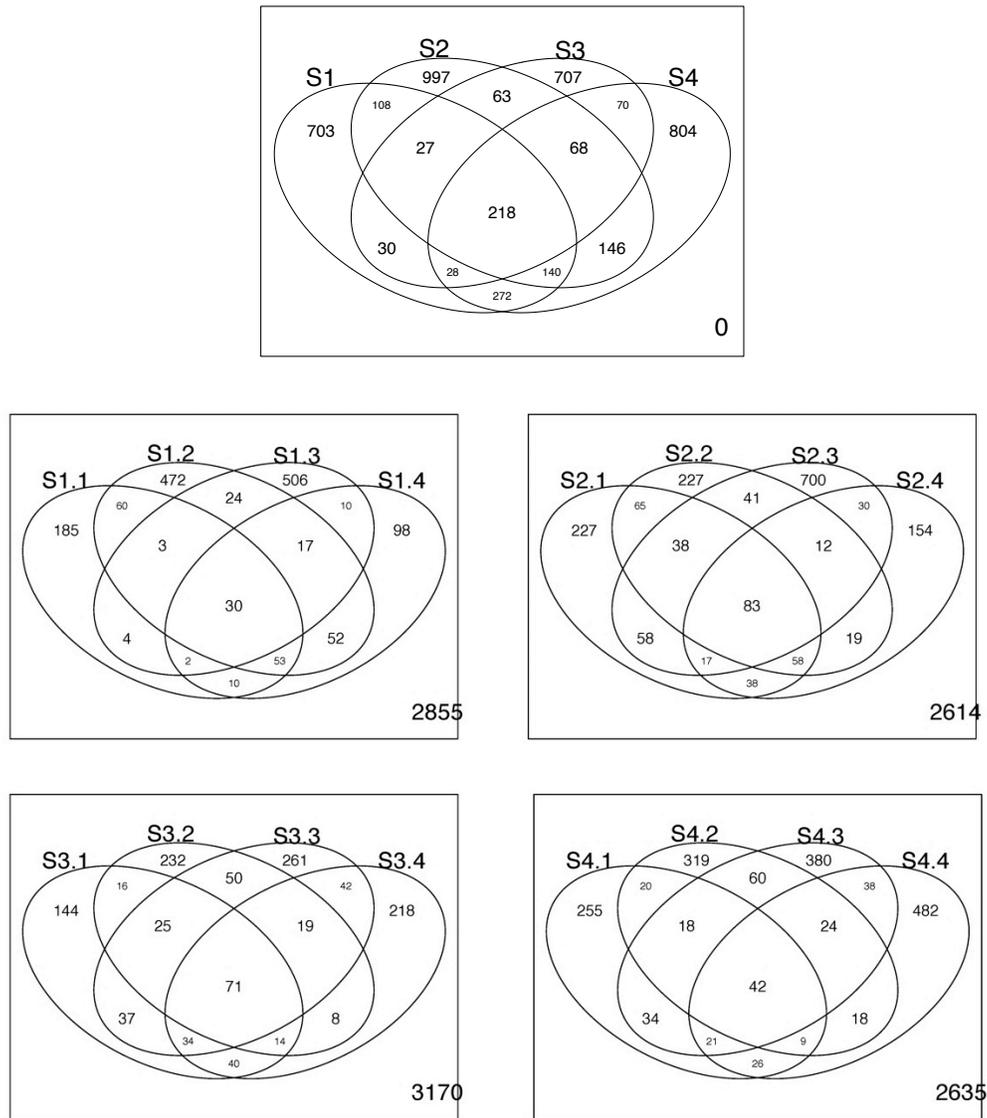


Figura A12. Diagramas de Venn con los ASVs de procariontes obtenido a partir del 16S rRNA de los sitios y subsitios por sitio muestreado. El número fuera de los diagramas corresponden a los ASVs que no se encontraron en el sitio, pero si en alguno de los otros tres.

Figura A13

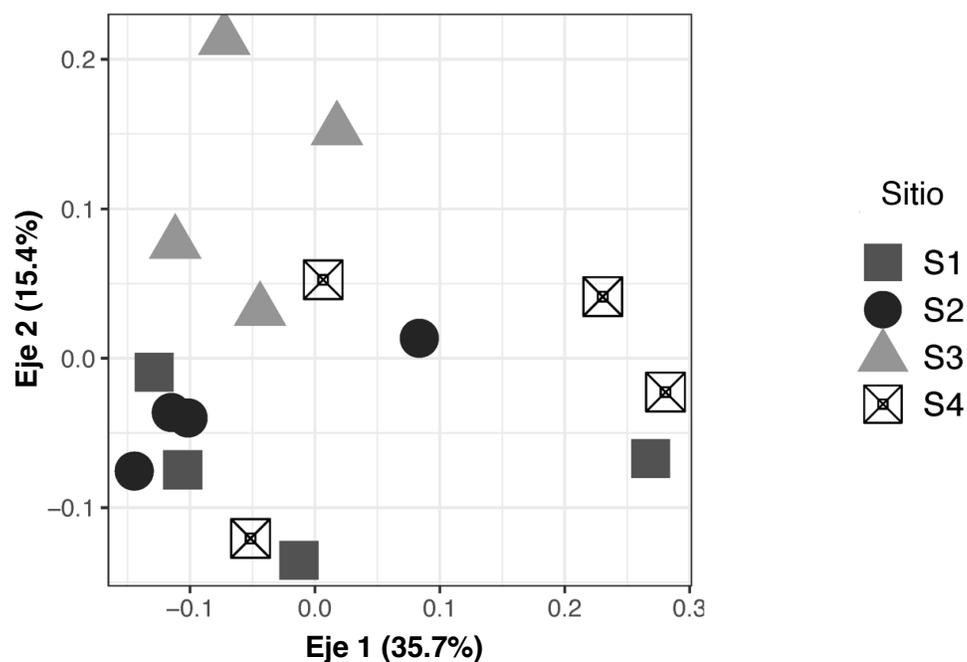


Figura A13. Análisis de coordenadas principales (PCoA). Para procariontas, b) taxa con abundancia de >0.1%, no ponderado

Tabla A14

Tabla A14. Valores *p* calculados para los PCoA de procariontes entre los sitios, considerando el análisis de diversidad beta con 999 permutaciones.

Todos los taxa, no ponderados				Taxa abundancia >0.1%, no ponderado				Taxa abundancia >0.1%, ponderado			
	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
S1	0.533	0.451	0.973	S1	0.593	0.724	0.708	S1	0.186	0.138	0.778
S2		0.973	0.461	S2		0.729	0.207	S2		0.886	0.284
S3			0.213	S3			0.074	S3			0.153

Tabla A15

Tabla A15. *p-values* de la comparación por parejas del análisis PCoA SIMPER. Para procariontes.

	S1	S2	S3	S4
S1		0.74	0.39	0.83
S2	0.71		0.66	0.81
S3	0.37	0.63		0.14
S4	0.81	0.80	0.16	

Tabla A16

Tabla A16. Clasificación a nivel clase de procariontes con la base de datos Silva (v132).

Arquea

Crenarchaeota; Bathyarchaeia
 Euryarchaeota; Methanobacteria
 Euryarchaeota; Methanomicrobia
 Euryarchaeota; Thermoplasmata
 *Thaumarchaeota; Nitrososphaeria

Bacteria

*Acidobacteria; Acidobacteriia	Acidobacteria; Subgroup 9
*Acidobacteria; Blastocatellia (Subgroup 4)	Acidobacteria; Thermoanaerobaculia
Acidobacteria; Holophagae	*Actinobacteria; Actinobacteria
Acidobacteria; Subgroup 11	*Actinobacteria; Acidimicrobia
Acidobacteria; Subgroup 15	Actinobacteria; 0319-7L14
Acidobacteria; Subgroup 17	Actinobacteria; Actinobacteria
Acidobacteria; Subgroup 18	Actinobacteria; Coriobacteriia
Acidobacteria; Subgroup 21	Actinobacteria; MB-A2-108
Acidobacteria; Subgroup 22	Actinobacteria; Rubrobacteria
*Acidobacteria; Subgroup 25	Actinobacteria; Nitriliruptoria
*Acidobacteria; Subgroup 6	Actinobacteria; Thermoleophilia
Armatimonadetes; Armatimonadia	Latescibacteria; Acidobacterium sp.
Armatimonadetes; Chthonomonadetes	Latescibacteria; Desulfuromonadales bacterium
BRC1; uncultured organism	Latescibacteria; Fibrobacteres bacterium
*Bacteroidetes; Bacteroidia	Latescibacteria; Latescibacteria bacterium
Bacteroidetes; Ignavibacteria	Latescibacteria; uncultured Pelobacter sp.
Bacteroidetes; Rhodothermia	Latescibacteria; uncultured bacterium
Calditrichaeota; Calditrichia	Latescibacteria; uncultured soil bacterium PRR-12
Chlamydiae; Chlamydiae	Nitrospirae; 4-29-1
*Chloroflexi; Anaerolineae	Nitrospirae; Nitrospira
Chloroflexi; Chloroflexia	Nitrospirae; Thermodesulfobivibronia
Chloroflexi; Dehalococcoidia	Omnitrophicaeota; Omnitrophia
Chloroflexi; Gitt-GS-136	Omnitrophicaeota; uncultured bacterium
Chloroflexi; JG30-KF-CM66	Patescibacteria; Berkelbacteria
*Chloroflexi; KD4-96	Patescibacteria; Gracilibacteria
Chloroflexi; Ktedonobacteria	Patescibacteria; Parcubacteria
Chloroflexi; OLB14	Patescibacteria; Saccharimonadia
Chloroflexi; P2-11E	Patescibacteria; WWE3
Chloroflexi; SHA-26	Patescibacteria; uncultured
Chloroflexi; TK10	Planctomycetes; BD7-11
Cyanobacteria; Melainabacteria	Planctomycetes; OM190
Cyanobacteria; Oxyphotobacteria	*Planctomycetes; Phycisphaerae
Cyanobacteria; Sericytochromatia	Planctomycetes; Pla3 lineage
Dadabacteria; Dadabacteriia	Planctomycetes; Pla4 lineage
Dependentiae; Babeliae	*Planctomycetes; Planctomycetacia
Elusimicrobia; Elusimicrobia	Planctomycetes; vadinHA49
Elusimicrobia; Lineage IIa	*Proteobacteria; Alphaproteobacteria
Entotheonellaeota; Entotheonellia	*Proteobacteria; Deltaproteobacteria
Fibrobacteres; Chitinivibronia	*Proteobacteria; Gammaproteobacteria
*Firmicutes; Bacilli	*Rokubacteria; NC10
*Firmicutes; Clostridia	Spirochaetes; Spirochaetia
Firmicutes; Negativicutes	*Verrucomicrobia; Verrucomicrobiae
GAL15; uncultured bacterium	WPS-2; hydrothermal vent metagenome
Gemmatimonadetes; AKAU4049	WPS-2; metagenome
Gemmatimonadetes; BD2-11 terrestrial group	WS2; uncultured Firmicutes bacterium
*Gemmatimonadetes; Gemmatimonadetes	Zixibacteria; uncultured bacterium
Gemmatimonadetes; Longimicrobia	WPS-2; hydrothermal vent metagenome

Gemmatimonadetes; S0134 terrestrial group	WPS-2; metagenome
Hydrogenedentes; Hydrogenedentia	WS2; uncultured Firmicutes bacterium
Latescibacteria; Latescibacteria	Zixibacteria; uncultured bacterium
Latescibacteria; metagenome	

* Clases > 1% en promedio de abundancia relativa.

Figura A17

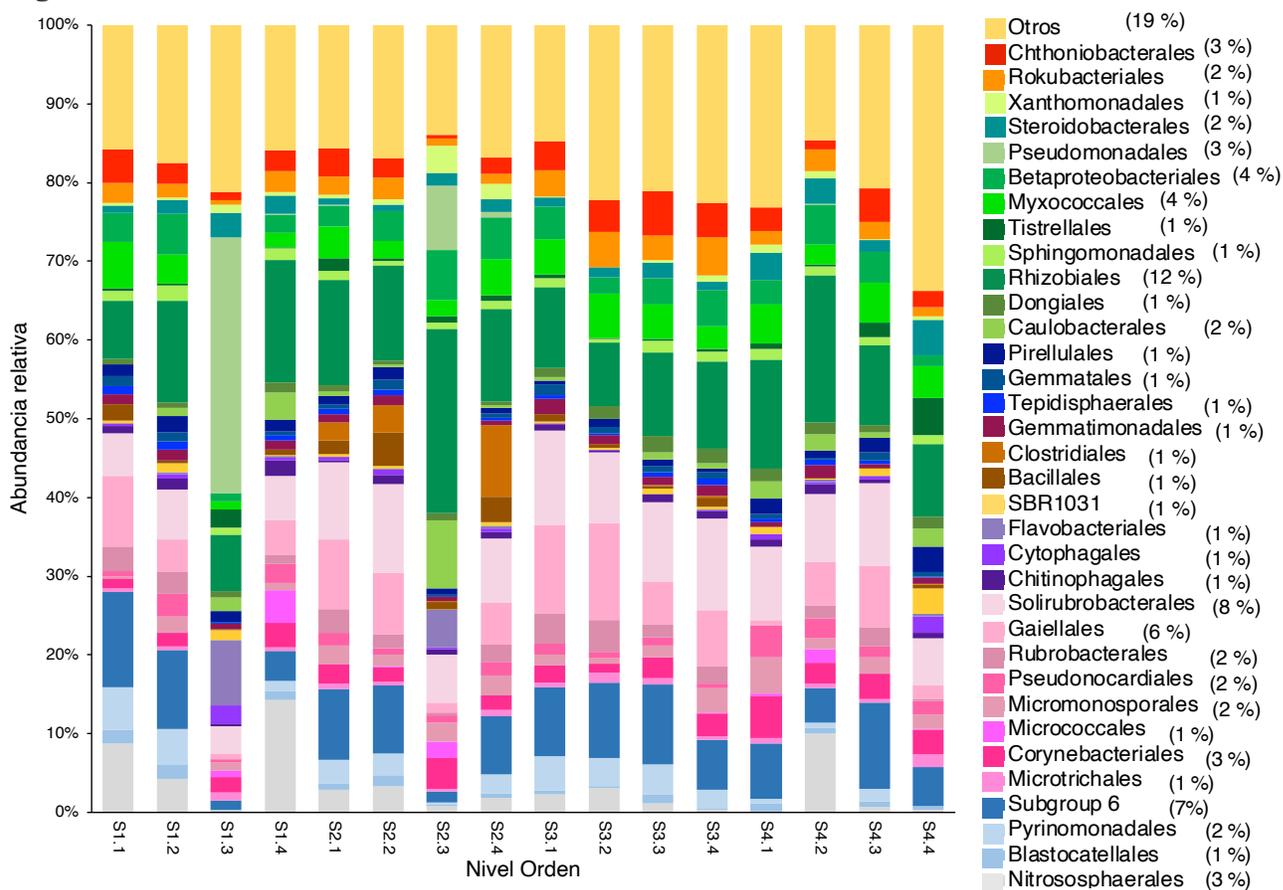


Figura A17. Abundancia relativa de bacterias y arqueas a nivel Orden encontrada en los leptosoles réndzicos estudiados. Entre paréntesis se indica el promedio de la abundancia relativa.

Figura A18

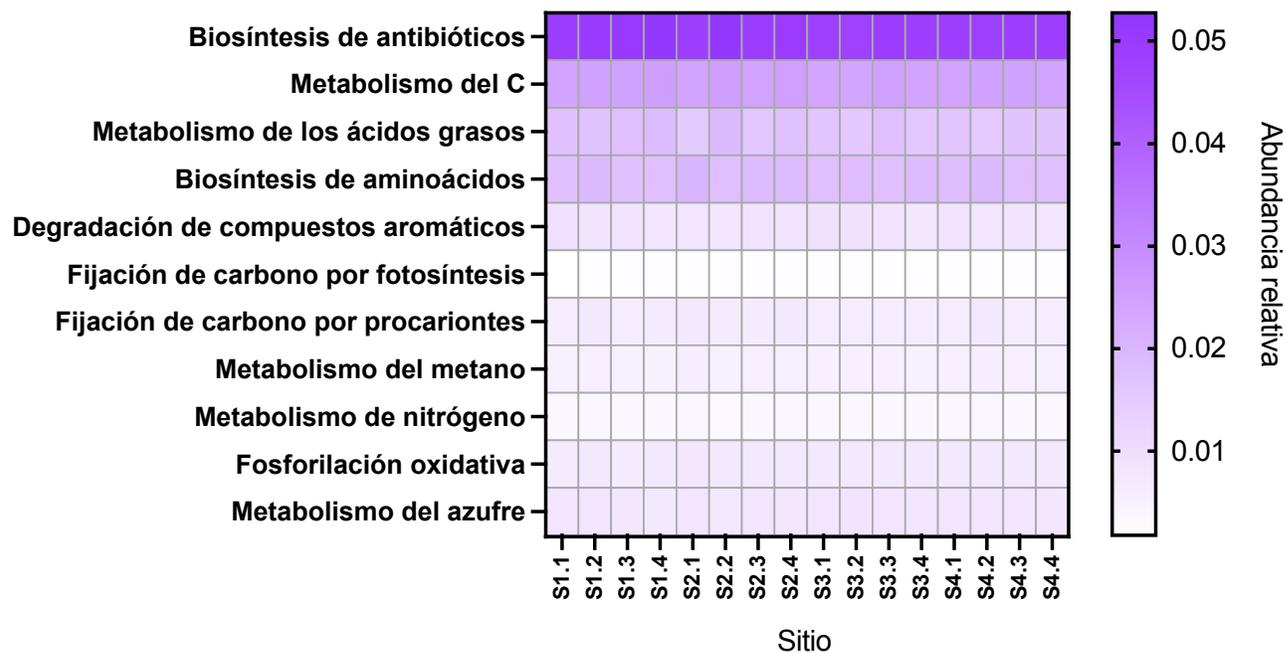


Figura A18. Mapa de calor con abundancia relativa de diferentes metabolismos procarióticos basado en la predicción metabólica inferidos a partir del gen 16S rRNA por subsitio muestreado.

Figura A19

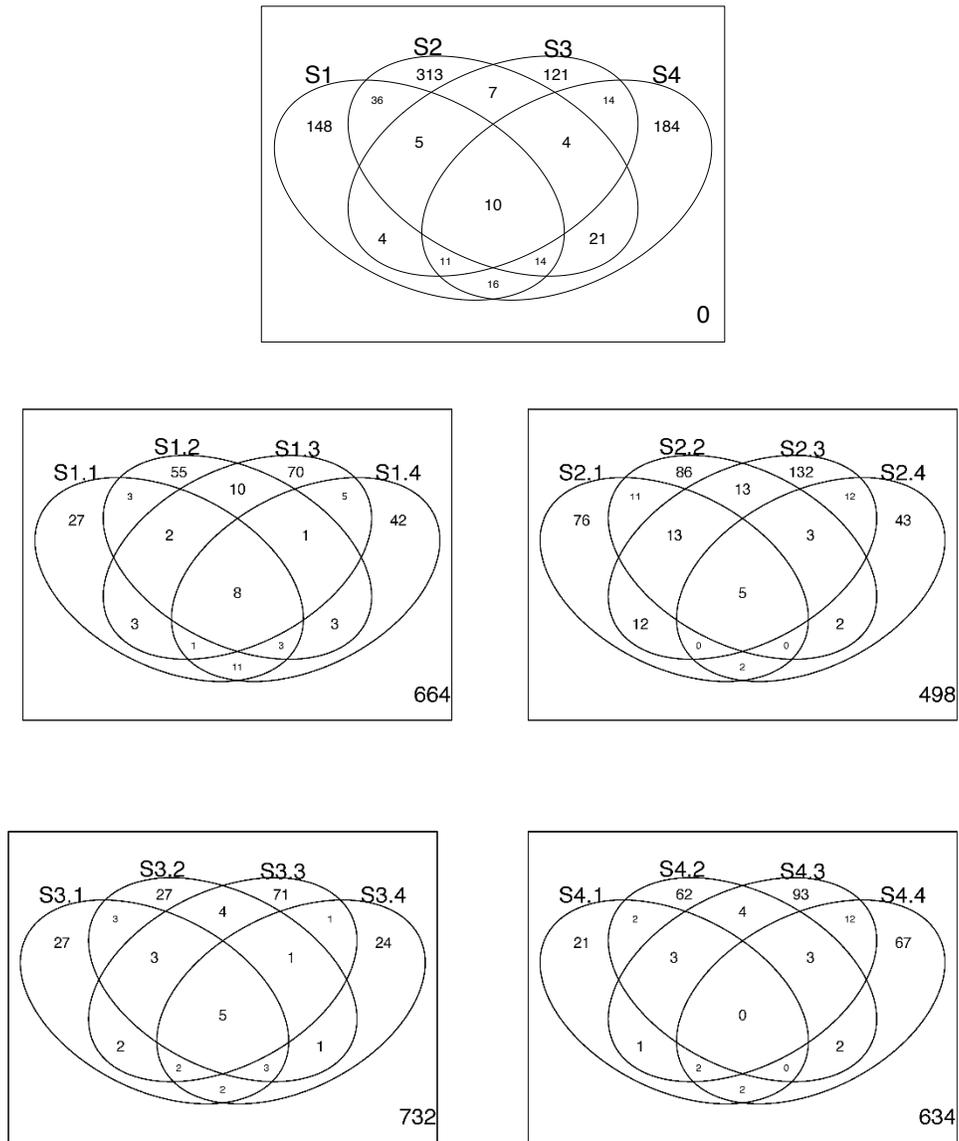


Figura A19. Diagramas de Venn con los ASVs obtenidos a partir de los ITS de hongos de los subsitios por sitio muestreado (S1, S2, S3, S4). El número fuera de los diagramas corresponden a los ASVs que no se encontraron en el sitio, pero si en alguno de los otros tres.

Figura A20

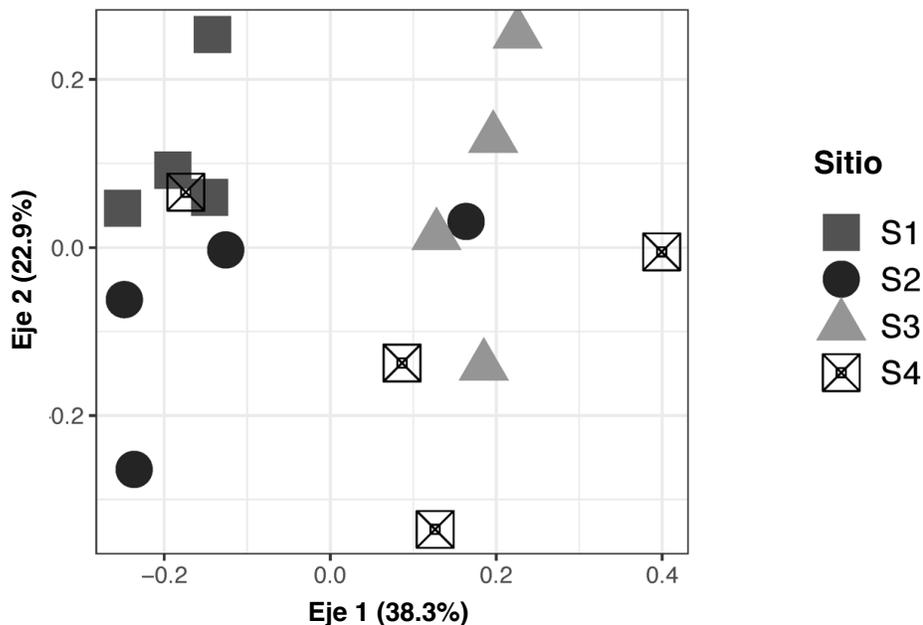


Figura A20. Análisis de coordenadas principales (PCoA). Para Fungi, taxa con abundancia de >0.1%, no ponderado.

Tabla A21

Tabla A21. *p*-values observados entre los sitios, considerando análisis de diversidad beta para la comunidad fúngica (999 permutaciones).

Todos los taxa, no ponderados				Taxa abundancia >0.1%, no ponderado				Taxa abundancia >0.1%, ponderado			
	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
S1	0.267	0.690	0.226	S1	0.4360	0.397	0.074	S1	0.679	0.518	0.370
S2		0.505	0.874	S2		0.717	0.477	S2		0.635	0.489
S3			0.457	S3			0.168	S3			0.827

Tabla A22

Tabla A22. Análisis de dispersión para el PCoA ponderado a partir de los ASVs seleccionados con SIMPER para hongos. *p*-values de la comparación por parejas, 999 permutaciones. Ningún sitio mostró diferencia significativa a *p*-value < 0.05.

	S1	S2	S3	S4
S1		0.681	0.57	0.717
S2	0.68453		0.737	0.877
S3	0.57053	0.73862		0.897
S4	0.70836	0.89152	0.91847	

Tabla A23

Tabla A23. Clasificación de los hongos encontrados en los suelos kársticos de Quintana Roo a nivel clase, con la base de datos UNITE.

Ascomycota; unidentified
 Ascomycota; Archaeorhizomycetes
 *Ascomycota; Dothideomycetes
 *Ascomycota; Eurotiomycetes
 Ascomycota Leotiomycetes
 Ascomycota; Leotiomycetes
 Ascomycota; Pezizomycetes;
 *Ascomycota; Sordariomycetes
 *Basidiomycota; unidentified
 *Basidiomycota; Agaricomycetes;
 *Basidiomycota; Geminibasidiomycetes
 Basidiomycota; Microbotrimycetes
 Basidiomycota; Tremellomycetes
 Entomophthoromycota; Basidiobolomycetes
 Kickxellomycota; Kickxellomycetes
 *Mortierellomycota; Mortierellomycetes
 Mucoromycota; Mucoromycotina
 Mucoromycota; Umbelopsidomycetes
 Rozellomycota; Rozellomycotina
 Rozellomycota; unidentified

* Clases encontrados con > 1% de abundancia relativa en promedio por todos los sitios.

Figura A24

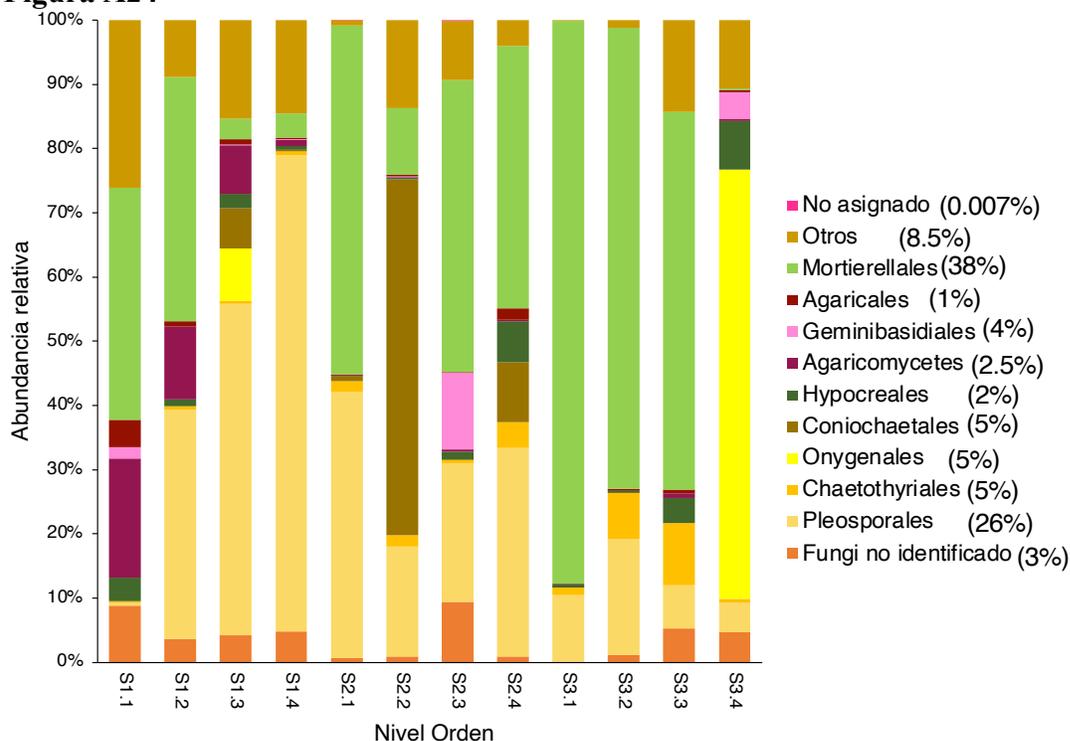


Figura A24. Abundancia relativa de hongos a nivel Orden encontrados en los leptosoles réndzicos estudiados.

Tabla A25

Tabla A25. Número de ASVs de hongos clasificados con UNITE y asociados con algún modo trófico con FUNGuild. Sólo se presentan el número de ASVs que obtuvieron clasificación de “probables” y “muy probables”, los demás ASVs fueron incorporados al rubro de “No clasificado”. La cuenta se especifica para cada uno de los sitios estudiados.

Modo trófico	S1	S2	S3	S4
Patógeno	4	2	5	5
Patógeno-saprobio	31	16	15	24
Patógeno-simbionte	2	2	1	0
Patógeno-saprobio-simbionte	23	4	12	12
Saprobio	54	24	36	39
Saprobio-simbionte	18	8	18	14
Simbionte	6	3	4	8
No clasificado	106	351	85	172
Total de ASVs	244	410	176	274

Figura A26

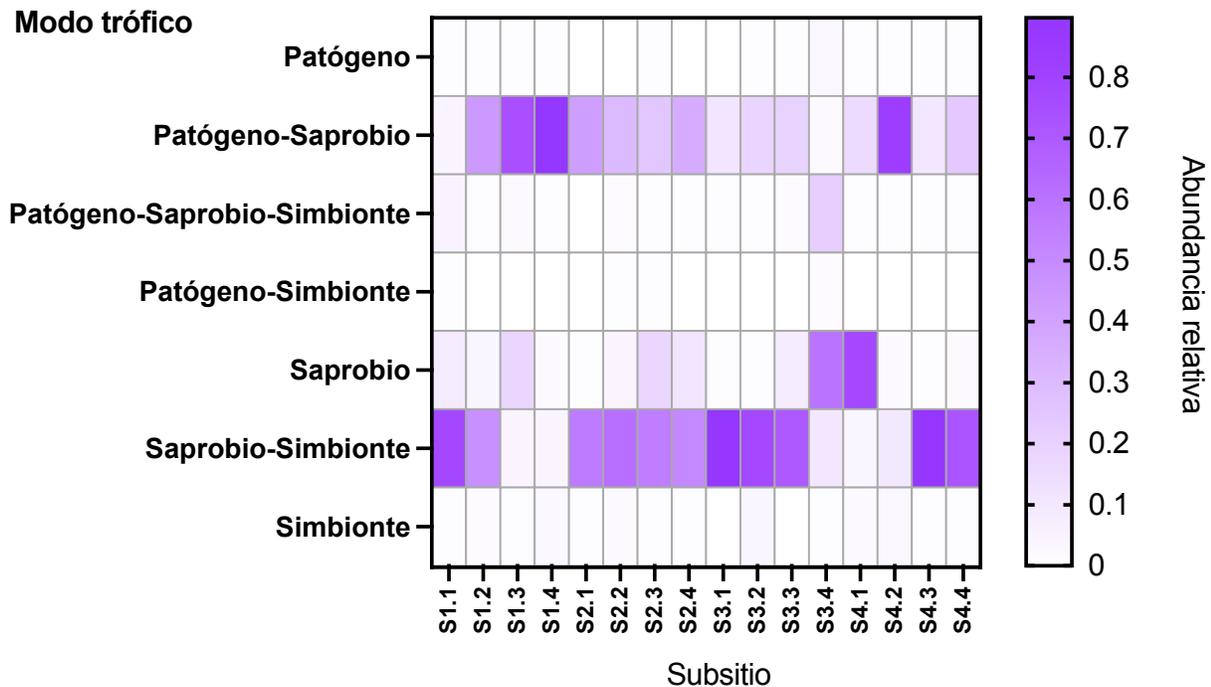


Figura A26. Mapa de calor de la abundancia relativa de diferentes modos tróficos que presentan los hongos por subsitios de estudio.

Tabla A27.

Tabla A27. Valores p para pruebas ANOVA-Tukey de la actividad enzimática entre sitios. En negritas se encuentran los valores $p < 0.05$.

Enzima	p -value	p -value Prueba Tukey					
	ANOVA	S1 vs. S2	S1 vs. S3	S1 vs. S4	S2 vs. S3	S2 vs. S4	S3 vs. S4
β -glucosidasa (β -GLU)	0.3904	>0.9999	0.4405	0.993	0.4474	0.994	0.5899
Polifenol oxidasa (PFO)	0.0793	0.0624	0.685	0.8761	0.3558	0.2102	0.9815
Lipasa en butirato (LIP)	0.0402	0.6708	0.1882	0.999	0.0276	0.589	0.2325
Fosfomonoesterasa (FOM)	0.6555	0.9776	0.6894	0.7447	0.8897	0.9251	0.9996
Deshidrogenasa	0.4354	0.9053	0.9843	0.6283	0.7385	0.9464	0.4304

Tabla A28

Tabla A28. Relación C:N en cada muestra de suelos kársticos de Quintana Roo, México

	S1				S2				S3				S4			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
C:N	12:1	46:1	25:1	20:1	10:1	11:1	12:1	14:1	12:1	12:1	13:1	14:1	19:1	12:1	15:1	17:1
C _{org} :N	12:1	39:1	22:1	19:1	10:1	9:1	11:1	13:1	11:1	12:1	13:1	12:1	16:1	10:1	14:1	16:1

Tabla A29

Tabla A29. Análisis CCA de actividad enzimática con las estructuras de las comunidades procarióticas y fúngicas. Se muestran los valores del coeficiente canónico (r^2) y del nivel de significancia (p -value).

Actividad enzimática	r^2	p-value
<i>Procarionte n=4605</i>		
β-GLU	0.0753	0.629
PFO	0.2363	0.188
LIP	0.5129	0.009 **
FOM	0.7362	0.001 ***
Deshidrogenasa	0.3829	0.044 *
<i>Procarionte n=312</i>		
β-GLU	0.2983	0.125
PFO	0.0571	0.678
LIP	0.4673	0.022 *
FOM	0.7152	0.001 ***
Deshidrogenasa	0.3870	0.032 *
<i>Fúngica n=908</i>		
β-GLU	0.1797	0.282
PFO	0.7963	0.001 ***
LIP	0.1147	0.461
FOM	0.0698	0.683
Deshidrogenasa	0.1484	0.381
<i>Fúngica n=22</i>		
β-GLU	0.1839	0.300
PFO	0.2895	0.133
LIP	0.1111	0.499
FOM	0.0959	0.557
Deshidrogenasa	0.0363	0.896

* p -value < 0.05, ** p -value < 0.01, *** p -value < 0.001

15. Artículo publicado

Santillán J, López-Martínez RA, Aguilar-Rangel EJ, Hernández-García K, Vásquez-Murrieta MS, Cram-Heydrich S, Alcántara-Hernández RJ (2021). Microbial diversity of tropical karst soils in the northeastern Yucatan Peninsula, Mexico. *Applied Soil Ecology*, 165: 103969.