



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Efecto del uso de suelo en la concentración de ácidos grasos de la  
microbiota edáfica en una Selva Húmeda, Los Tuxtlas, Veracruz,  
México**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGA**

**P R E S E N T A :**

**YESENIA MARÍA FLORES GÓMEZ**



**DIRECTOR DE TESIS:  
DR. FRANCISCO JAVIER ÁLVAREZ SÁNCHEZ  
Ciudad Universitaria, CDMX, 2019**



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.

## Hoja de datos del jurado

### 1. Datos del alumno

Flores  
Gómez  
Yesenia María  
5568011573  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
311269619

### 2. Datos del tutor

Dr.  
Francisco Javier  
Álvarez  
Sánchez

### 3. Datos del sinodal 1

Dra.  
Sara Lucía  
Camargo  
Ricalde

### 4. Datos del sinodal 2

Dra.  
Dulce Yaahid  
Flores  
Rentería

### 5. Datos del sinodal 3

Dra.  
Irene  
Sánchez  
Gallen

### 6. Datos del sinodal 4

M. en C.  
Manuel  
Hernández  
Quiroz

### 7. Datos del trabajo escrito

Efecto del uso de suelo en la concentración de ácidos grasos de la microbiota edáfica en una Selva Húmeda, Los Tuxtlas, Veracruz, México  
57 p  
2019

## **Agradecimientos**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Ciencias por formarme profesionalmente.

Al proyecto PAPIIT IN-116814 “Almacenes de carbono en el suelo de una selva húmeda: la contribución de los hongos micorrizógenos arbusculares” por el apoyo en la realización de este trabajo.

Al responsable del proyecto, el Dr. Francisco Javier Álvarez Sánchez, coordinador del Laboratorio de Ecología del Suelo y a los miembros que conforman este grupo de trabajo: Dra. Irene Sánchez Gallen, Dra. Guadalupe Barajas y al M. en C. Juan Carlos Peña Becerril, por su apoyo en la elaboración de esta tesis.

A la Unidad de Análisis Ambiental de la Facultad de Ciencias por las facilidades presentadas durante el desarrollo de este proyecto, a su responsable la Dra. Claudia Alejandra Ponce de León Hill y al M. en C. Manuel Hernández Quiroz.

A la Dra. Dulce Yaahid Flores Rentería y al Biólogo Diego Morales Rojas por el apoyo en el desarrollo de las técnicas de laboratorio.

A los sinodales del jurado integrado por: Dra. Sara Lucía Camargo Ricalde, Dra. Dulce Yaahid Flores Rentería, Dra. Irene Sánchez Gallen, M. en C. Manuel Hernández Quiroz y en especial al Dr. Francisco Javier Álvarez Sánchez por tomarse el tiempo de revisar, corregir y aportar a este trabajo.

A la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” del Instituto de Biología de la UNAM, y a todos sus integrantes por las facilidades proporcionadas.

## Agradecimientos personales

A mis padres, Raúl y Yesenia, por toda la carga de amor, apoyo, paciencia y confianza que me han brindado. También a Raúl y Miguel, mis *broomies* favoritos, por los buenos momentos y recomendar las mejores distracciones.

A toda la familia Flores Terán y Gómez Montes, por los consejos, las carcajadas y el cariño que me han proporcionado desde siempre.

A las primas consentidas: Sam, por acompañarme en la aventura y poner un poco de orden en nuestro caos cotidiano, y Lizbeth, recordarme siempre los mejores momentos en nuestra niñez.

A Mauro, por ser una gran alegría en mi vida, por confiar en mí, apoyarme y alentarme a dar siempre lo mejor. Puede que haya terminado la tesis solo para ponerte en los agradecimientos. Gracias por acompañarme en todo este camino.

A Lupita, Mauro, Tona, Abi, César, Berna, Frank, Ríos, Mariana, Kike y Makis, por las risas, las canciones y hacerme sentir como en casa.

A Dafne, Giovanni, Keny, Jassan y Jonathan, porque no importa el tiempo ni la distancia en nuestra amistad, los amo mucho.

あなたの友情に感謝します。ありがとうございます アクセルさん。Ah vedá, gracias por dejarme ser parte de tu vida, escucharme, apoyarme e intentar darme un poquito de paz siempre.

A Marianna, little tangerine et mon amie, que gran dicha ha sido conocerte, gracias por convertirte en mi hermana de selva y dejarme conocerte un poquito.

A Chore, por todas las pláticas nocturnas y ayudarme a no desistir. Por ayudarme en los momentos de crisis y darme tranquilidad con tu música. Te conocí en el mejor momento

A Vicente, por hacerme sonreír y darme ánimos siempre sin importar la hora, el país o la distancia.

A Moisés, por todo el cariño y el apoyo que me has dado, además de las tardecitas de café y compañía que me hicieron continuar con este trabajo.

A Victoria, por recordarme el entusiasmo y las ganas de cambiar al mundo, eres mi tardígrado y terrologa favorita.

A Marco, Alex, Tania quienes siempre me brindaron su ayuda. Gracias por el cariño y la paciencia, les debo mucho más que fotos, café y helados.

A Javier Álvarez, por las charlas en el laboratorio, las múltiples revisiones y la enorme paciencia que has tenido conmigo en todo este proceso.

A Irene Sánchez, por las pláticas, los consejos, las alegrías, y todas las galletitas que me has dado.

A Juan Carlos Peña, por las conversaciones y compañía en filas interminables, además de toda la buena vibra que transmites.

A todo el equipo *LES*: América, Fernanda, Carlos, Manuel, Isaac, Laura, Irvin, Irma y Vivi por las risas y los pequeños momentos de gordura que hicieron todo más llevadero.

A todo aquel que escuchó, aguantó y no huyó de mis cantos y risas. Gracias por formar parte de esta etapa.

## Índice

|  |          |
|--|----------|
| <b>Resumen</b> .....                                 | <b>8</b> |
| 1. Introducción .....                                | 10       |
| 1.1 <i>Afectaciones a la biota edáfica</i> .....     | 13       |
| 1.2 <i>Hongos micorrizógenos arbusculares</i> .....  | 14       |
| 1.3 <i>Bacterias</i> .....                           | 16       |
| 1.4 <i>Ácidos grasos</i> .....                       | 17       |
| 2. Objetivos .....                                   | 19       |
| 2.1 <i>Objetivo general</i> .....                    | 19       |
| 2.2 <i>Objetivos particulares</i> .....              | 19       |
| 3. Hipótesis .....                                   | 19       |
| 4. Zona de estudio .....                             | 20       |
| 4.1 <i>Ubicación</i> .....                           | 29       |
| 4.2 <i>Clima</i> .....                               | 21       |
| 4.3 <i>Vegetación</i> .....                          | 22       |
| 4.4 <i>Suelo</i> .....                               | 22       |
| 5. Método .....                                      | 26       |
| 5.1 <i>Muestreo en campo</i> .....                   | 26       |
| 5.2 <i>Preparación de suelo</i> .....                | 26       |
| 5.3 <i>Preparación del material</i> .....            | 26       |
| 5.4 <i>Liofilización</i> .....                       | 27       |
| 5.5 <i>Extracción</i> .....                          | 27       |
| 5.6 <i>Cuantificación</i> .....                      | 28       |
| 5.7 <i>Análisis estadístico</i> .....                | 29       |
| 6. Resultados .....                                  | 30       |
| 6.1 <i>Contribución de la microbiota</i> .....       | 30       |
| 6.2 <i>Cuantificación de ácidos grasos</i> .....     | 31       |
| 6.3 <i>Análisis de componentes principales</i> ..... | 34       |

|  |    |
|--|----|
| 7. Discusión .....                                     | 36 |
| 8. Conclusión .....                                    | 39 |
| 9. Literatura Citada .....                             | 41 |
| Anexo 1 .....  | 52 |
| Protocolo de extracción de ácidos grasos totales ..... | 52 |
| Anexo 2 .....  | 55 |
| Espectros de masa de ácidos grasos .....               | 55 |
| Ejemplos de cromatogramas .....                        | 56 |
| Concentración de ácidos grasos .....                   | 57 |



## Resumen

El cambio de uso de suelo no solo transforma los paisajes y modifica la cobertura vegetal, la deforestación, labranza e introducción de animales de pastoreo repercuten en la estructura del suelo y cambios en ella tienen consecuencias en la biota edáfica. Dentro de los grupos a los que el suelo perturbado afecta física, química y biológicamente se encuentran los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y las bacterias.

El objetivo de este trabajo fue estimar la concentración de ácidos grasos de microbiota edáfica en distintos usos de suelo de la selva húmeda de los Tuxtlas, Veracruz, durante la temporada de lluvias.

Para ello se seleccionaron cuatro usos de suelo (selva, acahual, cultivo y potrero), cinco sitios por cada uso y tres réplicas por sitio, obteniendo un total de 60 muestras. Las concentraciones de ácidos grasos se obtuvieron mediante la técnica de extracción de ácidos grasos totales y una vez realizada la extracción se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (donde se identificó mediante la masa molecular y el tiempo de retención a los ácidos grasos correspondientes a hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y bacterias Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup>).

Para determinar si existen diferencias significativas entre los usos de suelo, se realizó un Análisis de Varianza de una vía, y para identificar las diferencias entre grupos se utilizó una prueba post-hoc de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Para los datos que no presentaron una distribución normal, se realizó una prueba Kruskal-Wallis para identificar las diferencias entre los grupos. Además, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) para determinar el comportamiento de las propiedades físico-químicas del suelo con los ácidos grasos de la microbiota.

Se observó una diferencia en la concentración de ácidos grasos de la microbiota entre los usos del suelo, siendo selvas y cultivos aquellos que presentaron una mayor cantidad de ácidos grasos. Los sitios de selva presentaron una mayor cantidad de ácidos grasos correspondientes a HMA, mientras que los cultivos presentaron una mayor cantidad de ácidos correspondientes a bacterias. Para el caso de los HMA se muestran diferencias significativas entre usos de suelo, donde selva y potrero presentaron valores más altos significativamente de ácidos grasos en comparación a los cultivos. Para el caso de bacterias Gram – se encontraron diferencias significativas entre usos de suelo, siendo cultivo el que presenta significativamente mayores valores respecto a los otros usos de suelo; en Gram + no se encontraron diferencias significativas entre usos de suelo.

## 1. Introducción

La cobertura del suelo se define por los atributos de la vegetación sobre la superficie de la tierra y del subsuelo inmediato, incluida la biota, el suelo, la topografía, las aguas superficiales y subterráneas, así como las construcciones humanas (Lambin *et al.*, 2003).

La pérdida de cobertura implica la remoción total o parcial de vegetación en un sitio determinado, lo cual conlleva a modificaciones en el uso natural del terreno. El uso de suelo está definido por las asignaciones derivadas de actividades humanas en un tipo de cobertura, donde la cobertura hace referencia a la descripción del material físico en la superficie de la Tierra (FAO, 2016).

El cambio en el uso del suelo siempre es causado por múltiples factores de interacción, que se originan en los diferentes niveles de organización de los sistemas humanos y ambientales acoplados. Las fuerzas impulsoras del cambio en el uso de la tierra varían según las condiciones específicas del entorno humano (Lambin *et al.*, 2003).

A pesar de que el uso de suelo varía alrededor del mundo, el resultado final es la obtención de servicios a través de la transformación de ecosistemas, ya sea para suministro de recursos o mejorar su calidad de vida. La magnitud de las consecuencias del manejo del suelo dependerán de la frecuencia, magnitud y duración de las actividades que se realicen (Balvanera, 2012). Un ejemplo de estas actividades es la deforestación, que está estrechamente vinculada con el uso del ecosistema. La deforestación se refiere a la eliminación de la cobertura principalmente arbórea, por debajo de un umbral mínimo del 10% del original o al cambio a una cobertura principalmente no arbórea (Lambin *et al.*, 2003). En este caso, el uso de suelo determina la extensión de la deforestación, grado de transformación y el aprovechamiento de la vegetación (Guevara *et al.*, 2004a).

Debido a lo anterior, la manera en que se emplee el suelo influye directamente en la presencia de especies de un sitio y sus alrededores. Por ello el cambio de uso de suelo tiene un impacto en la diversidad biológica y es una de las principales causas de la degradación del suelo (Lambin *et al.*, 2001)

Uno de los ecosistemas más afectados por el cambio de uso de suelo son los bosques. Durante los años noventa los bosques naturales del mundo disminuyeron en promedio 16,1 millones de hectáreas por año (Lambin *et al.*, 2003). En los últimos 25 años, su área ha disminuido un 3.1% y de 1990 a 2015 se ha registrado una pérdida neta de 129 millones de ha (FAO, 2015).

La mayor disminución en el área forestal entre 2000 y 2010 se encontró en los bosques tropicales, también conocidos como selvas húmedas. Se estima que durante este periodo se perdieron 7 millones de hectáreas de selva por año (FAO, 2016). La deforestación se ha incrementado principalmente en países de América Latina, donde prevalece la conversión y colonización de bosques a gran escala para la agricultura y ganadería (Lambin *et al.*, 2003; FAO, 2016).

Actividades humanas como el establecimiento de campos de cultivo, la intensificación de la producción agrícola y ganadera, entre otros, han extendido los cambios en la cobertura por sucesión forestal, modificando los paisajes e, incluso, degradando la complejidad biológica y ecológica de los ecosistemas forestales, en términos de productividad, biomasa, estructura y composición de las especies (Lambin *et al.*, 2001; Foley *et al.*, 2005; Zhai *et al.*, 2015).

México cuenta con aproximadamente 64 millones de hectáreas de bosques de clima templado y selvas que abarcan el 32% del territorio nacional (FAO, 2006). Se estima que las selvas mexicanas cubrían alrededor de un 20% de la superficie nacional y que entre 1976 y 1980 la deforestación anual de éstas fue de 160,000 ha por año, perdiéndose 40% de la superficie restante del trópico húmedo (Velázquez *et al.*, 2002; Guevara *et al.*, 2004a), mientras que durante los años noventa, las selvas comprendían un área de 11.1 millones de hectáreas (Dirzo y García 1992).

La alta tasa de deforestación en México ha reducido entre 80 y 90% la superficie original. Diversas actividades agropecuarias, entre las que destaca la ganadería, han disminuido la cobertura forestal de las selvas, dejando solo una reducida superficie en forma de pequeños fragmentos (Guevara *et al.*, 1999; Guevara *et al.*, 2004b; Zimmermann *et al.*, 2010).

Esta rapidez en la pérdida de la cobertura vegetal se refleja en la tasa de deforestación anual, que en el intervalo de 1972 a 1986 fue de 1.89, en el intervalo de 1986 a 1990, disminuyó a 1.10, y en el intervalo de 1990 a 1993 aumentó hasta 9.42 (Guevara *et al.*, 2004a). A principios del 2000 la media anual predecía para México alrededor de 0.7 ha de cubierta arbolada *per cápita* sin embargo, en 2002 albergaba tan solo 0.5 ha, asimismo se ha estimado una reducción a 0.3 ha para el 2025 (Velázquez, 2002).

La variabilidad en las estadísticas generales se debe, en parte, a que las estimaciones de las tasas de deforestación a escalas locales son extremadamente variables. Además, las diferencias en las tasas de deforestación que presenta México varían ampliamente entre los datos reportados por académicos y los datos derivados de instancias de gobierno (Dirzo y García 1992; Mas *et al.*, 2009).

En nuestro país, la deforestación y el abandono de las selvas surgió con los sistemas agrícolas de roza-tumba y quema, y se han mantenido con los monocultivos de especies introducidas, el cultivo de pastos para la alimentación del ganado y el cultivo tecnificado de grandes extensiones (Guevara *et al.*, 2004a).

Por otra parte, la fragmentación del paisaje es el resultado de la deforestación extensiva y la disminución progresiva de la cubierta vegetal. En Veracruz, los paisajes fragmentados están formados por distintos elementos, entre los que se encuentran manchones de selva, árboles aislados, acahuals (nombre local que se les da a las selvas secundarias), potreros y cultivos ya sea anuales o perennes (Guevara *et al.*, 2004b).

La fragmentación del paisaje afecta a las poblaciones de distintas especies ya que limita su área de distribución, modifica el tamaño de la población y aumenta la tasa de extinción, además la reducción y aislamiento de la vegetación remanente no permite la movilidad de propágulos lo que puede traer consecuencias a la composición vegetal al modificar la población que habita en los fragmentos de los bosques, afectando interacciones bióticas como la polinización y dispersión de semillas (Grez y Bustamante, 1995; Guevara *et al.*, 2004b; Williams-Linera, 2007; Sangabriel-Conde *et al.*, 2010; Zhai *et al.*, 2015).

### *1.1 Afectaciones a la biota edáfica*

El cambio de uso de suelo no sólo transforma los paisajes y modifica la cobertura vegetal de un área, además las actividades asociadas a este cambio de uso producen profundas alteraciones a otros niveles. Por ejemplo, la agricultura intensiva aumenta la erosión y la carga de sedimentos, y filtra nutrientes y químicos agrícolas a las aguas subterráneas, arroyos y ríos, por lo que la calidad del agua a menudo se degrada (Foley *et al.*, 2005).

La deforestación, labranza e introducción de animales de pastoreo repercuten en la estructura del suelo, ya que las pisadas de ganado en un sitio sin vegetación tiene un impacto directo en el suelo al aumentar la densidad aparente y disminuir la porosidad, disminuyendo también las tasas de infiltración (Zimmermann *et al.*, 2010).

Estos cambios en la estructura del suelo derivados de la actividad agrícola y pecuaria tienen consecuencias no sólo en las características fisicoquímicas del suelo, sino también en la biota edáfica, pues se ha observado que, dependiendo del estado de perturbación, las comunidades que componen la macrofauna varían en su composición, abundancia y diversidad (Cabrera, 2012). El uso excesivo de fertilizantes, maquinaria agrícola y agroquímicos favorecen la erosión del suelo, reducen el número de propágulos de hongos, además de que inhiben el establecimiento y la efectividad de la simbiosis entre planta y hongo (Bethlenfalvay, 1992; Sangabriel-Conde *et al.*, 2010).

Las afectaciones de un suelo perturbado recaen también en grupos funcionales de gran importancia ecológica como los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y las bacterias (Varela *et al.*, 2009).

### *1.2 Hongos micorrizógenos arbusculares*

Las micorrizas son la relación simbiótica entre los hongos y las raíces de las plantas (Cuenca, 2015), la cual está regulada por factores ambientales (Entry *et al.*, 2002) así como por las características de la planta huésped. Basándose en su estructura y función, se han descrito cuatro grandes grupos de micorrizas: micorrizas orquideoides, ericoides, ectomicorrizas y micorrizas arbusculares (Brundrett, 1991; Read y Pérez-Moreno, 2003). Las asociaciones micorrízicas se basan en la transferencia bidireccional entre los simbioses, donde la planta provee carbono orgánico y el hongo aumenta la eficiencia en la absorción de nutrimentos del suelo como el nitrógeno y el fósforo (Smith y Read, 2008). Estas asociaciones están presentes en casi todos los ecosistemas, desde desiertos hasta bosques tropicales (Brundrett, 1991).

Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) pertenecen al *phylum* Glomeromycota y forman una asociación simbiótica mutualista con las raíces del 80% de las plantas, conocida como micorriza arbuscular (Smith y Read, 2008). Para el establecimiento de la simbiosis es posible que el hongo se vea obligado a alterar la composición lipídica de su membrana para permitir el intercambio de nutrientes entre la membrana periarbuscular de la planta (Wewer *et al.*, 2014). Los HMA se caracterizan por tener estructuras fúngicas altamente ramificadas llamadas arbusculos, que crecen de manera intracelular en las raíces del hospedero, actuando como estructuras de intercambio de nutrimentos entre planta y huésped (Gaude *et al.*, 2012). Los HMA presentan también hifas intra y extrarradicales las cuales forman redes que permiten la colonización y aumenta significativamente la absorción de fósforo, cobre, zinc y agua (Entry *et al.*, 2002; Smith y Read, 2008). Además, forman esporas, que son estructuras de resistencia y propagación, y vesículas compuestas principalmente por lípidos, que se encuentran conectadas a micelio y cumplen una función de almacenamiento (Smith

y Read, 2008).

En ecosistemas terrestres el mayor grado de colonización por HMA coincide con las etapas en el ciclo de vida de la planta en las que existe una demanda adicional de fósforo. La colonización de los hongos micorrizógenos varía estacionalmente, y se ve influenciada por eventos como la producción de nuevas raíces y crecimiento vegetativo (Bohrer *et al.*, 2004). Se ha observado que los porcentajes más altos de colonización por arbusculos e hifas se presentan en la temporada de lluvias, en contraste con la temporada de secas donde la presencia de vesículas es más alta (Lara-Pérez *et al.*, 2014). Por otro lado, la colonización intrarradical incrementa durante la temporada de lluvias, porque la humedad favorece la germinación de esporas.

Las redes de colonización extrarradical, conformadas por el micelio que crece fuera de la planta, dejan de funcionar en condiciones ambientales adversas como baja humedad y altas temperaturas (Jeffries y Barea, 2001), o debido a alteraciones del suelo como es el caso de la labranza, que interfiere en las redes de micelio y afecta su capacidad para trasladar nutrientes (Jeffries y Barea, 2001; Entry *et al.*, 2002).

La formación de las estructuras fúngicas también puede afectarse debido a las bajas concentraciones de fósforo, como ocurre en los suelos tropicales, en donde se limita el desarrollo de las plantas con las que se establece la asociación (Bagyaraj y Stürmer, 2012). El carbono obtenido por la planta hospedera puede ser asignado a estructuras fúngicas importantes para la planta, los HMA o ambos; de esta manera, la asignación hacia los arbusculos e hifas extraradicales pueden incrementar la absorción de recursos del suelo (Soka y Ritchie, 2014). Algunos estudios mencionan que la abundancia de esporas disminuye con la deforestación debido al costo de su producción, por ello, se ha observado en selvas de Brasil que existe una disminución en la producción de esporas de HMA asociada a las perturbaciones por cambio de uso de suelo debido a que son más costosas de producir que las hifas (Picone, 2000; Stürmer y Siqueira, 2011).



También se ha estudiado que en campos agrícolas se reduce la densidad de esporas e hifas a comparación de aquellos donde no se presenta esta actividad. La labranza afecta la capacidad de establecimiento de las asociaciones micorrízicas, efecto que puede estar asociado con el decremento de la incorporación del fosfato después del arado (Varela *et al.*, 2009; Soka y Ritchie, 2014).

### 1.3 Bacterias del suelo

Las bacterias son componentes integrales y diversos de las comunidades microbianas en el suelo. Estos organismos unicelulares tienen una amplia variedad de formas, tamaños y funciones. Son ubicuas en el suelo, su distribución, diversidad y composición varían ampliamente dependiendo de factores ambientales y bióticos (Andrew *et al.*, 2012). La clasificación de las bacterias se ha basado en un gran número de características, una de ellas es la clasificación mediante la composición de la pared celular que permite separarlas en dos grandes grupos: Gram negativa (Gram -) y Gram positiva (Gram +) (Killham y Prosser, 2015).

Las bacterias son de gran importancia para los ciclos biogeoquímicos (Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016). Algunas participan en ciclo del carbono incorporando la materia orgánica al suelo descomponiendo los sustratos lábiles, como las cadenas de carbono simple, los exudados de las raíces y los residuos de las plantas (Six, *et al.*, 2006; Frey-Klett *et al.*, 2011; Rousk y Frey, 2015) . Su papel es primordial para la nutrición de las plantas, ya que inmovilizan y retienen los nutrientes en sus células, previniendo su pérdida por lixiviación (Warmink, *et al.*, 2009).

Gran parte del nitrógeno que se encuentra disponible en suelos se debe a la actividad de las bacterias nitrificantes (Morris y Blackwood, 2015). Para llevar a cabo la fijación de nitrógeno, bacterias Gram negativa como las pertenecientes al género *Rhizobium* forman una asociación en las raíces de las plantas pertenecientes a la familia Fabaceae; cuando la bacteria y la planta entran en contacto se forma un nódulo, una vez dentro del nódulo la bacteria obtiene compuestos del carbono y

oxígeno de la planta hospedera, a su vez la planta hospedera recibe compuestos nitrogenados producidos por la bacteria a partir del nitrógeno gaseoso de la atmósfera del suelo. Cuando las raíces de la planta hospedera se descomponen, los compuestos nitrogenados quedan disponibles para otros microorganismos y plantas (Long, 1996).

A grandes escalas espaciales la estructura de las comunidades microbianas se correlaciona con las variables edáficas como el pH y el contenido de humedad (Ángel *et al.*, 2010). La actividad bacteriana disminuye con la disminución de la disponibilidad del agua, siendo más sensibles a estos cambios que las comunidades fúngicas, siendo las bacterias Gram - menos resistentes que las Gram + debido al grosor de sus paredes celulares.

Más localmente, las comunidades vegetales afectan a la comunidad microbiana del suelo a través de interacciones dentro de la rizósfera, la región del suelo donde las comunidades microbianas están directamente influenciadas por los sistemas radicales de las plantas (Berg y Smalla, 2009).

Generalmente las bacterias son menos sensibles a la concentración de nutrientes en el suelo, sin embargo, las bacterias encargadas de la transformación de nitritos y nitratos, como las del género *Nitrobacter*, pueden ser inhibidas en altas concentraciones de amonio (Davet, 2004).

#### 1.4 Ácidos grasos

Los ácidos grasos son biomoléculas lipídicas formadas por cadenas hidrocarbonadas con un grupo carboxilo al final. Debido a las diferentes capacidades enzimáticas en el metabolismo de los lípidos, los ácidos grasos presentan una gran diversidad estructural y especificidad biológica (Ngosong *et al.*, 2012).

Hay dos importantes tipos de lípidos encontrados en los organismos: los fosfolípidos como constituyentes de la membrana (PLFA) y los lípidos neutros encargados del almacenamiento en eucariontes (NLFA) (Olsson, 1999). Ambos conforman a los ácidos grasos totales (WCFA).

Los fosfolípidos pueden ser usados como un indicador de la biomasa de los hongos debido a que el volumen y la superficie de las células están relacionados. Los hongos difieren en la composición de ácidos grasos y algunos son específicos para ciertos grupos, por ejemplo, los HMA contienen al marcador de ácido graso 16:1 $\omega$ 5, el cual ha sido utilizado previamente para estudiar la biomasa y el estado nutricional de los HMA en suelo y raíces (Larsen y Bødker, 2001). La cuantificación de ácidos grasos se ha utilizado para estimar la biomasa (Olsson *et al.*, 1995; Frostegård y Bååth, 1996), y la distribución e interacciones de los HMA (Olsson, 1999).

Hay distintos métodos para la estimación cuantitativa de biomasa en la microbiota del suelo y su actividad metabólica basadas en determinación cuantitativa de variables no fisiológicas sencillas como respiración, contenido de ATP y la actividad enzimática. Sin embargo, capturar los cambios rápidos en la comunidad microbiana o en su actividad es una tarea más complicada. En el caso de los marcadores químicos específicos como los ácidos grasos, los cuales están restringidos a ciertas estructuras de la comunidad microbiana, son sensibles a cambios en el ambiente, entonces los análisis de estos marcadores pueden dar información valiosa acerca de la composición de la comunidad (Zelles *et al.*, 1992). La determinación de los ácidos grasos permite identificar las variaciones de la composición de las comunidades fúngicas y bacterianas a nivel temporal y espacial (Fernandes *et al.*, 2013). Por lo tanto, es idónea para analizar los efectos del cambio de uso de suelo en la selva húmeda de México. Este trabajo forma parte del proyecto PAPIIT (IN-116814) “Almacenes de Carbono en el suelo de una selva húmeda: la contribución de los hongos micorrízico arbusculares”.

## **2. Objetivos**

### *2.1 Objetivo general*

Estimar el cambio de la concentración de ácidos grasos de la microbiota edáfica en función de distintos usos de suelo de la selva húmeda de Los Tuxtlas, Veracruz, en la temporada de lluvias.

### *2.1 Objetivos particulares*

Estimar la contribución de ácidos grasos de HMA, bacterias Gram + y Gram - en función de cuatro usos del suelo: selva, acahual, cultivo y potrero.

Identificar las propiedades físico-químicas del suelo que tienen un mayor efecto en la HMA, bacterias Gram+ y Gram- en distintos usos de suelo

## **3. Hipótesis**

Si el estado de la microbiota y sus concentraciones de ácidos grasos varían en función de los nutrientes disponibles en el suelo, entonces:

La concentración de ácidos grasos se relacionará con el grado de perturbación de los sitios, y se encontrará una mayor cantidad en el sistema natural (selva) y en proceso sucesional (acahual), en comparación con sitios manejados como potreros y cultivos.

Debido a que el manejo agrícola afecta negativamente a la microbiota y las propiedades físico-químicas del suelo, los cultivos presentarán una menor concentración de ácidos grasos respecto a los otros usos de suelo.

## 4. Zona de estudio

### 4.1 Ubicación

La Reserva de la Biosfera de Los Tuxtlas está entre los 18° 10' y 18° 45' de latitud norte y los 94° 42' y 95° 27' de longitud oeste, y constituyen el extremo oriental del Eje Volcánico Transversal que atraviesa el país, pero están aislados de otros sistemas montañosos y sus prominencias volcánicas marcan un fuerte contraste morfológico con las extensas planicies costeras que las rodean (Guevara *et al.*, 1999). Dentro de la región se encuentra La Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas (EBTLT), en la parte centro-sur del Estado de Veracruz, a 30 km noreste del poblado de Catemaco. Se ubica entre los 18° 34' y 18° 36' de latitud norte y 95° 04' y 95° 09' de longitud oeste en la porción sur del estado de Veracruz. (IBUNAM, 2017) (Figura 1).

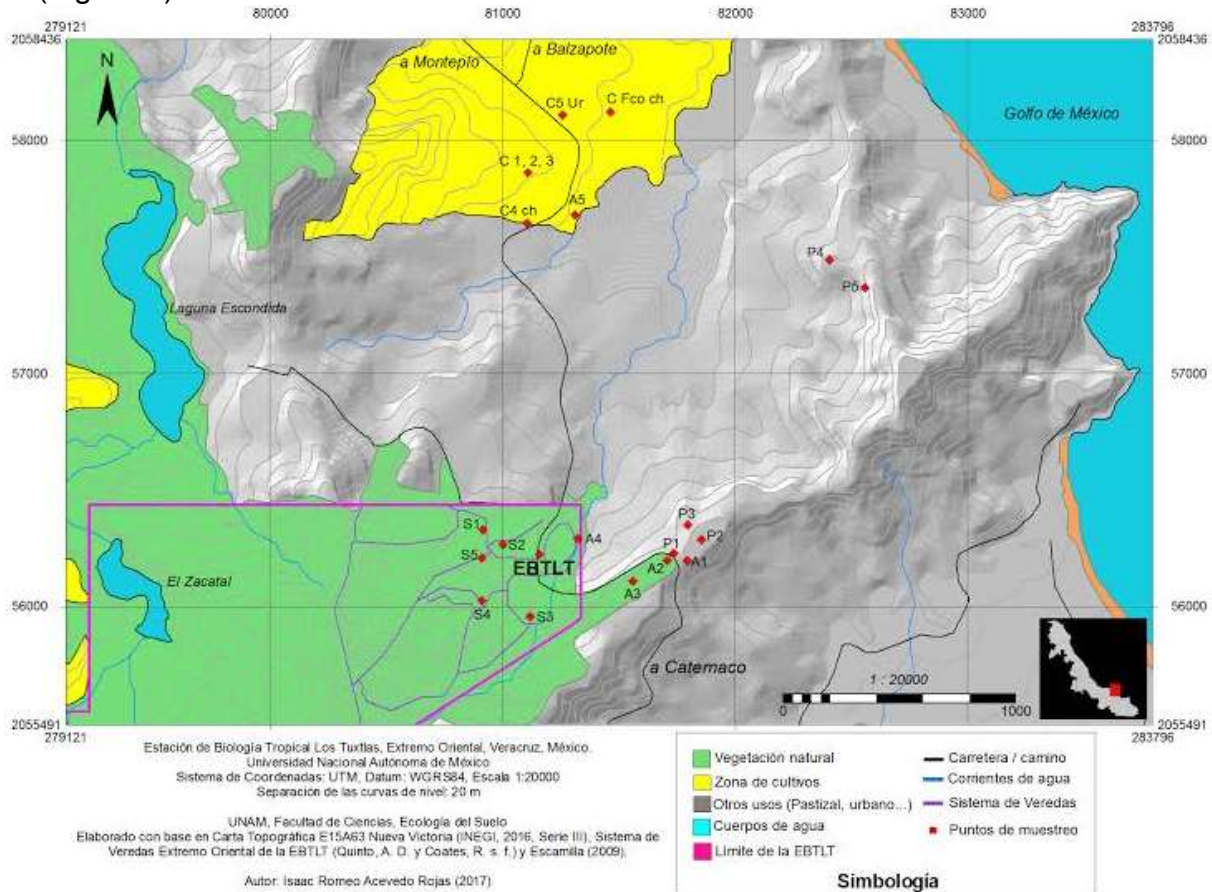


Figura 1. Ubicación del sitio de estudio en la región de Los Tuxtlas y localización de los puntos de muestreo, donde **S** = selva, **A** = acahuales, **P** = potreros y **C** = cultivos (tomada de Acevedo-Rojas, 2017).

## 4.2 Clima

El clima en los Tuxtlas está influenciado por su relieve con altitudes desde el nivel del mar hasta 1 700 msnm (Guevara *et al.*, 1999). Según la clasificación de Köppen, en la región predomina el clima cálido húmedo (Am), se ubica principalmente entre los 50 y 1000 m de altitud y se extiende hasta la costa por el extremo noroeste de la sierra (Soto, 2004). Los vientos húmedos provenientes del Golfo provocan precipitaciones de 3 000 a 4 000 mm al año (Soto, 2004) y a pesar de tener una precipitación constante durante el año, se considera temporada de lluvias de junio a febrero y aun cuando no se presenta una temporada de secas marcada, hay una disminución en la precipitación durante los meses de marzo, abril y mayo (Figura 2).

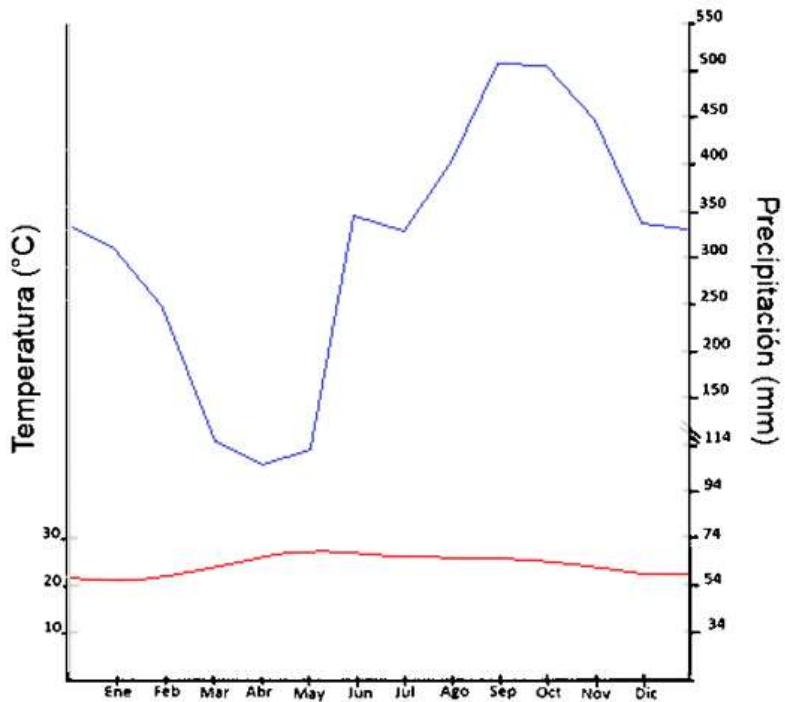


Figura 2. Diagrama ombrotérmico de la zona de estudio, realizado con datos de clima registrados en la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas. La línea azul representa la precipitación promedio mensual y la roja la temperatura promedio mensual (tomada de Baleón-Sepúlveda, 2017).

### 4.3 Vegetación

La heterogeneidad topográfica y edafológica en conjunto con la variabilidad climática de la región, han dado lugar a diferentes tipos de comunidades vegetales, entre ellos la selva húmeda (Guevara *et al.*, 1999).

La selva húmeda también descrita como bosque tropical perennifolio por Rzedowski (1978) y selva alta perennifolia por Miranda y Hernández (1963) crece entre los 700 y 1500 msnm de zonas cálido-húmedas, y tienen los valores más elevados de riqueza de especies que cualquier otro ecosistema terrestre (Challenger y Soberón, 2008), y tiene un papel fundamental en la regulación del cambio climático debido al gran tamaño de sus árboles y a la proporción de la superficie del planeta que ocupa (Dixon *et al.*, 1994).

### 4.4 Suelo

Debido a las condiciones ecogeográficas de la región, en Los Tuxtlas abundan suelos derivados de basalto y andesitas, mezclado con cenizas volcánicas. Entre los grupos más importantes por su extensión en la superficie de la sierra, se encuentran los luvisoles y acrisoles con un 34.2%, los andosoles en 21%, los feozems en 18% y vertisoles en 13% (Campos, 2004). El tipo de suelo que predomina en las cercanías de la EBTLT son los andosoles. En la Tabla 1 se muestran las propiedades físico-químicas y los valores que se encontraron en los usos de suelo utilizados en el presente estudio.

Los sitios de selva (Figura 3a) que se encuentran dentro de la EBTLT fueron seleccionados para este trabajo ya que representan el tipo de vegetación que cubría originalmente la región. Presentan suelos de textura arcillosa (Acevedo-Rojas, 2017) y tienen una estructura vegetal heterogénea. Dentro de la estación los elementos dominantes alcanzan alturas de 30 a 40 metros de altura, siendo las familias Asteraceae, Fabaceae, Moraceae, Rubiaceae las ampliamente representadas; para el caso del sotobosque abundan las palmas, entre ellas *Astrocaryum mexicanum* (la más abundante); las especies de plantas trepadoras

pertenecen principalmente a la familias Araceae, Bignoniaceae, Asteraceae y Asclepiadaceae, mientras que las epifitas más comunes forman parte de las familias Araceae, Bromeliaceae, Orchidaceae y otras pocas a la familia Cactaceae (IBUNAM, 2017).

En las cercanías a la EBTLT se encuentran usos de suelo donde la composición vegetal se encuentra en un proceso de regeneración, estos sitios se conocen como *acahuales* (Figura 3b) y presentan una textura franco-arcillosa (Acevedo-Rojas, 2017). A los acahuales se les denomina *jóvenes* cuando tienen un tiempo de abandono menor o igual a cinco años y en ellos hay especies leñosas secundarias que miden menos de 5 m de altura; se les conoce como *viejos* cuando pasan de los 10 a 15 años y ya tienen un dosel arbóreo cerrado (Guevara *et al.*, 1999).

El uso de suelo de mayor extensión en el trópico húmedo mexicano es el potrero (Figura 3c). Se utiliza principalmente para la crianza de ganado vacuno y cerca de ellos aún hay fragmentos de selva y vegetación secundaria. Existen dos tipos de potrero en Los Tuxtlas: los de pastos nativos (*Paspalum sp.*, *Axonopus sp.*, *Panicum sp.*, *etc*) y los de pastos cultivados, entre los cuales el más común es el pasto estrella (*Cynodon plectostachyus*) o el pasto africano también conocido como “pasto insurgente” *Brachiaria brizantha* (Guevara *et al.*, 1999), siendo este último el más común. La textura del suelo en estos sitios es arcillosa (Acevedo-Rojas, 2017). Generalmente tienen como antecedente inmediato un campo agrícola, que fue abandonado debido al desgaste del sustrato y a la disminución en la producción del cultivo.

En los usos de suelo agrícola de la región Figura (3d), se siembra por temporal: maíz en la época de lluvias y sandía o chile en la época de secas. El suelo tiene una textura arcillosa (Acevedo-Rojas, 2017) y aunque los propietarios optan por usar los sobrantes de la cosecha anterior como fertilizante, en abril de 2015 se encontró evidencia de la utilización de herbicidas como *Velfosato*, *Dragocson* e insecticidas como Sunfire 2 SC (Acevedo-Rojas, 2017).





Figura 3. Usos de suelo en la zona. La imagen 3a corresponde al sitio de selva, la 3b a acahual, 3c, a potreros y 3d a cultivos.

Tabla 1. Propiedades físico-químicas ( $\bar{X} \pm E.E$ ) del suelo de los sitios de estudio (Acevedo-Rojas, 2017).

|  | <b>Selva</b> | <b>Acahual</b> | <b>Potrero</b> | <b>Cultivo</b> |
|--|--------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>pH</b> (H <sub>2</sub> O)                 | 6.09 ± 0.09  | 5.99 ± 0.06    | 5.81 ± 0.06    | 5.40 ± 0.02    |
| <b>Ct</b> (%)                                | 4.99 ± 0.76  | 5.68 ± 0.75    | 3.70 ± 0.29    | 3.49 ± 0.09    |
| <b>M.O.</b> (%)                              | 8.41 ± 1.17  | 9.47 ± 1.23    | 6.31 ± 0.49    | 5.92 ± 0.19    |
| <b>Nt</b> (%)                                | 0.38 ± 0.04  | 0.47 ± 0.04    | 0.31 ± 0.02    | 0.32 ± 0.006   |
| <b>P</b> (mg kg <sup>-1</sup> )              | 3.04 ± 0.74  | 3.48 ± 0.99    | 0.95 ± 0.43    | 0.65 ± 0.28    |
| <b>NO<sub>3</sub></b> (mg kg <sup>-1</sup> ) | 15.79 ± 1.42 | 13.75 ± 0.82   | 6.52 ± 1.43    | 9.19 ± 0.60    |
| <b>NH<sub>4</sub></b> (mg kg <sup>-1</sup> ) | 32.3 ± 3.87  | 30.18 ± 2.74   | 22.48 ± 1.64   | 23.26 ± 1.49   |

## **5. Método**

### *5.1 Muestreo en campo*

El muestreo de suelo se realizó durante la temporada de lluvias en septiembre de 2015. Se seleccionaron cuatro usos del suelo: Selva, Acahual, Cultivo, Potrero y de cada uso de suelo se consideraron cinco sitios.

En cada sitio se estableció una parcela 30 x 35 m y subdividiendo en parcelas de 5 x 5 m; se seleccionaron 5 puntos al azar para tomar las muestras de suelo. Los puntos exactos se seleccionaron por el método de coordenadas al azar. Las muestras de suelo se extrajeron con un nucleador en los primeros 20 cm de la intersección de ambos ejes. Las muestras de suelo se pusieron en bolsas de plástico, se etiquetaron y se mantuvieron en refrigeración mientras se estaba en campo; al llegar a laboratorio, se colocaron en congelador a -20°C.

### *5.2 Preparación del suelo*

Se realizó en el Taller de Ecología y Recursos Naturales de la Facultad de Ciencias. Cada muestra se pesó, se empaquetó en aluminio, se etiquetó y se metió otra vez al congelador para reducir la actividad microbiana.

### *5.3 Preparación del material*

Se realizó en la Unidad de Análisis Ambiental (UNAAMB) de la Facultad de Ciencias.

El método de extracción y cuantificación de ácidos grasos es delicado, por lo que el material manejado debía tener un tratamiento previo a su uso. Por ello tubos de ensaye, tapas, vasos de precipitado, frascos y demás material fue lavado con detergente libre de fosfatos y se enjuagó con agua desionizada, después de dejarlos escurrir por aproximadamente 30 minutos se les dio un baño en 4L de ácido clorhídrico al 10% por 24 horas; posteriormente se volvieron a enjuagar con agua desionizada y después de dejar escurrir otros 30 minutos se esterilizaban en una autoclave a 120°C durante 15 min para después colocarse en un horno a 150°C durante 2 horas..

#### *5.4 Liofilización*

Se realizó en la UNAAMB. La liofilización es un proceso en el cual se separa el agua por medio de sublimación, pasando de un estado sólido (hielo) a gaseoso (vapor) sin pasar por el líquido (agua). Se llevó a cabo de esta manera para no dañar la estructura de la muestra. Se utilizó una liofilizadora modelo FreeZone 4.5 de LABCONCO con una capacidad de 25 frascos, por lo que cada uso de suelo entraba con sus respectivos sitios y réplicas.

Se pesaron entre 12 y 15 g de suelo congelado, dependiendo de la humedad que presentaba la muestra, en frascos etiquetados y se les colocó una tapa hecha de aluminio con unos pequeños orificios para que se pudiera extraer el agua y no se escapara el suelo. Posteriormente las muestras de suelo se colocaron a un congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos y después se metieron a la liofilizadora por 48 horas.

Una vez terminado el proceso de liofilización se pesaron nuevamente las muestras, y se les cambió la tapa de aluminio con orificios por una tapa de plástico de sello hermético, esto para evitar que las muestras de suelo se volvieran a hidratar con la humedad ambiental.

#### *5.5 Extracción*

Se realizó en la UNAAMB mediante la técnica descrita por Sasser (1990), (Anexo 1). Todo el procedimiento se lleva a cabo con 1 g de suelo previamente liofilizado y pulverizado. Para hacer la extracción es necesaria una previa saponificación de las muestras, además de una metilación de sales sódicas de los ácidos grasos. En la extracción, los ésteres metílicos obtenidos en la fase anterior son transferidos de la fase acuosa acídica a la fase orgánica mediante la técnica de extracción líquido-líquido.

## 5.6 Cuantificación

Se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent 5973 acoplado a detector de masas. La columna capilar utilizada fue HP- ultra 2 (25 m x 0.2mm x 0.33 $\mu$ m), se utilizó helio (He) como gas acarreador. De manera manual se inyectó 1  $\mu$ L de muestra y se realizó también en la UNAAMB.

La identificación de los ácidos grasos se realizó mediante la contabilización de su masa molecular y el tiempo de retención que presentaban con relación al estándar interno (19:0 ácido nonadecanoico metil éster) (Olsson *et al.*, 2003; Gavito y Olsson, 2003) reportados en la tabla 2.

Los HMA se identificaron por espectro de masas (EM) y el tiempo de retención (TR) del ácido 16:1 $\omega$ 5, para las bacterias Gram + se utilizó el EM y TR del ácido i17:00, mientras que para el grupo de Gram – se identificó el EM y TR del ácido graso 18:1 $\omega$ 7.

Tabla 2. Tiempos de retención y masas moleculares de cada ácido graso.

| <b>Grupo</b>      | <b>Ácido graso</b> | <b>TR<br/>(min)</b> | <b>PM</b> | <b>Ion 2</b> | <b>Ion 3</b> |
|-------------------|--------------------|---------------------|-----------|--------------|--------------|
| Estándar          | 19:0               | 19.15               | 312       | 281          | 269          |
| HMA               | 16:1 $\omega$ 5    | 13.36               | 268       | 236          | 194          |
| Gram <sup>+</sup> | i17:00             | 17.05               | 284       | 255          | 241          |
| Gram <sup>-</sup> | 18:1 $\omega$ 7    | 14.58               | 296       | 264          | 222          |

Una vez obtenido el cromatograma (ejemplos en Anexo 2), se calculó la concentración de ácidos (Anexo 2) grasos por gramo de suelo ( $\text{nmol g}^{-1}$ ) utilizando la siguiente formula:

$$\left( \frac{\% \text{ área de ácidos grasos}}{\% \text{ área del estándar}} \right) \left( \frac{\text{Concentración del estándar (25}\mu\text{g)}}{\left( \frac{\text{Peso molecular del estándar (312 gMol)}}{1 \text{ g de muestra}} \right)} \right) = \text{nmol g}^{-1}$$

### 5.7 Análisis estadístico

Se hicieron pruebas de normalidad (Shapiro- Wilk) y de homogeneidad de varianzas (Barlett Chi-Sqr) con los datos. Aquellos que no cumplieron con normalidad se transformaron a logaritmo natural. Posteriormente se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existían diferencias significativas en la producción de ácidos grasos, considerando como factor al uso de suelo. Posteriormente se hizo una prueba de *post hoc* de Tukey con un valor de significancia de  $p < 0.05$ . Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para el caso de bacterias debido a que no se normalizaron después de la transformación a logaritmo natural

Se realizó también un análisis de componentes principales (PCA) con datos de propiedades físico-químicas del suelo, pH, Ct(%), Nt (%), M.O.S.(%), P ( $\text{mg kg}^{-1}$ ),  $\text{NH}_4^+$  ( $\text{mg kg}^{-1}$ ),  $\text{NO}_3^-$  ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), y la concentración de ácidos grasos de la microbiota edáfica. Para explicar los componentes, seleccionaron las variables que tuvieran un valor de correlación mayor a 0.7, y éstos fueron usados como vectores en la gráfica final. Los análisis de realizaron con el programa STATISTICA versión 10.

## 6. Resultados

### 6.1 Contribución de la microbiota

Se encontró que la mayor concentración de ácidos grasos corresponde al grupo de HMA (16:1 $\omega$ 5) que predomina en los sitios de selva, acahual y potrero, mientras que los ácidos grasos correspondientes a los grupos de bacterias Gram + (i17:00) y Gram - (18:1 $\omega$ 7) presentan una menor contribución en los mismos sitios; ambos presentan una mayor abundancia en cultivos, donde los HMA presentan los valores más bajos (Figura 4).

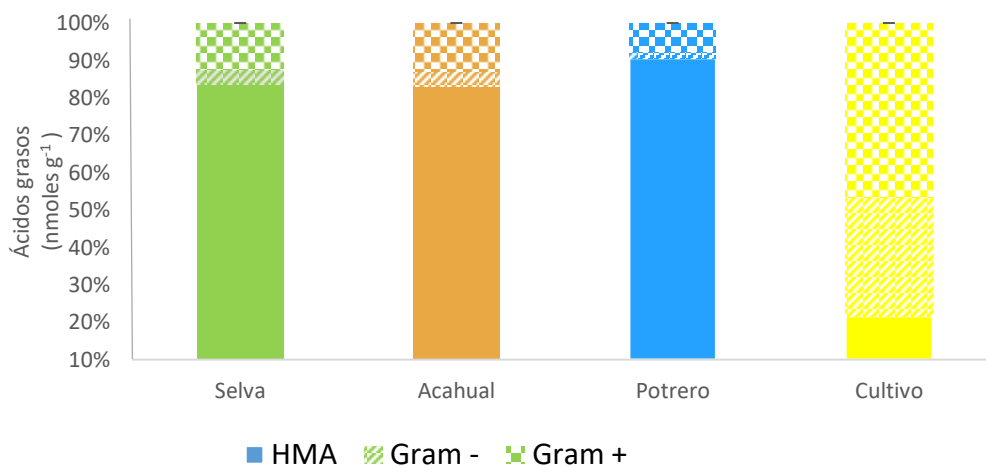


Figura 4. Porcentaje en la contribución de ácidos grasos de la microbiota edáfica en los diferentes usos de suelo.

## 6.2 Cuantificación de ácidos grasos

El análisis de varianza mostró diferencias significativas en la concentración de ácidos grasos en los usos de suelo ( $F_{3,56} = 4.27$ ;  $p=0.008$ ). Se encontró una mayor concentración de ácidos grasos que corresponden a HMA (16:1 $\omega$ 5) en suelos de selva, potrero y acahual en comparación con suelos de cultivos (Figura 5).

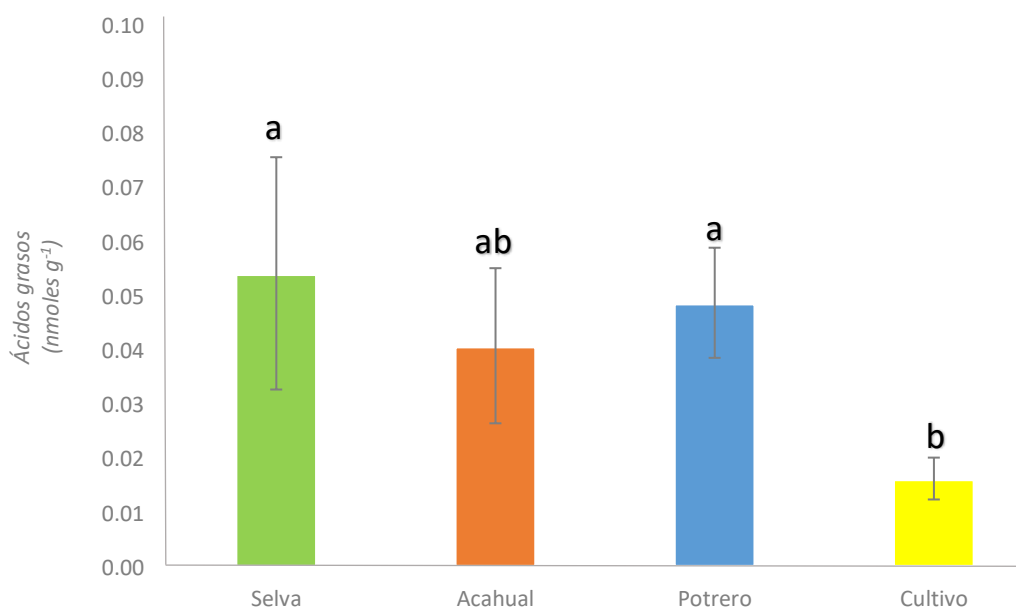


Figura 5. Concentración de ácidos grasos correspondientes a HMA por uso de suelo ( $\bar{X} \pm E.E$ ). Las letras distintas indican diferencias significativas con base en la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).



Para el caso de las bacterias Gram<sup>+</sup> se realizó una prueba de Kruskal-Wallis, donde no se encontraron diferencias significativas en la concentración de ácidos grasos (i17:00) entre usos de suelo en  $\chi^2=5.60$ ,  $gl=3$ ,  $p=0.1328$  (Figura 6).

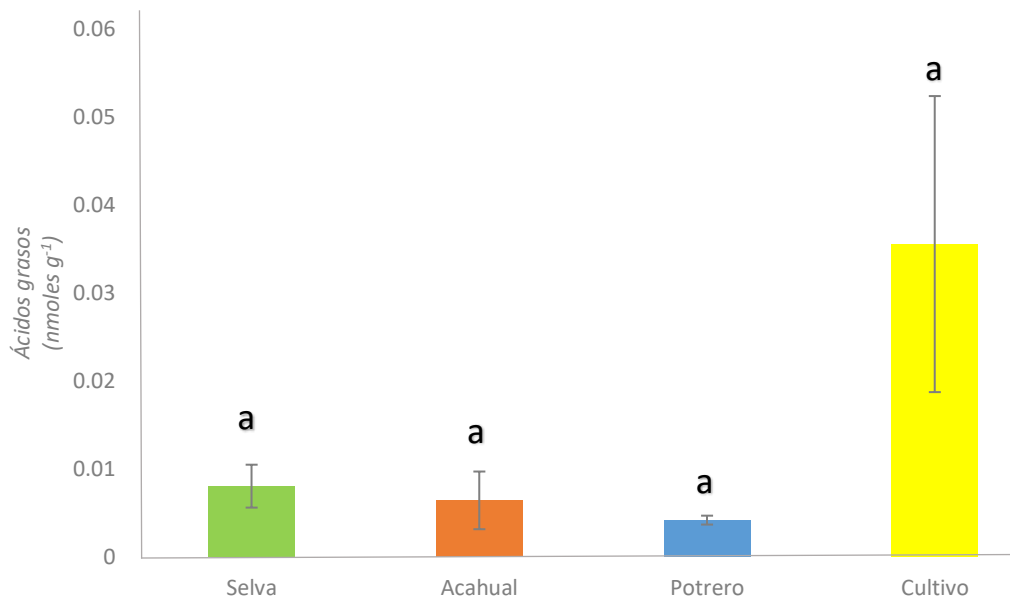


Figura 6. Producción de ácidos grasos correspondientes a bacterias Gram + por uso de suelo ( $\bar{X} \pm E.E$ ). Las letras indican que no se encontraron diferencias significativas.

Para el caso de las bacterias Gram<sup>-</sup> se realizó una prueba de Kruskal-Wallis donde se encontraron diferencias significativas entre usos de suelo ( $\chi^2=13.066$ ,  $gl=3$ ,  $p=0.0045$ ). Los suelos de cultivos presentan una mayor cantidad de ácidos grasos (18:1 $\omega$ 7) en comparación a selvas, acahuals y potreros (Figura 7).

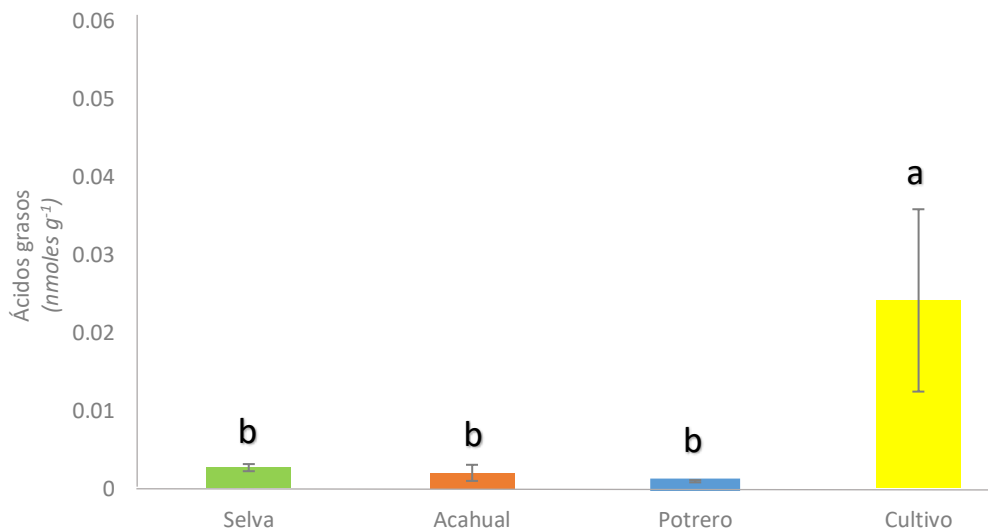


Figura 7. Concentración de ácidos grasos correspondientes a bacterias Gram<sup>-</sup> por uso de suelo (X+E.E). Las letras indican diferencias significativas entre cultivos y los demás usos del suelo.

### 6.3 Análisis de Componentes Principales

En el análisis de componentes principales, los primeros dos componentes explican el 65.15% de variación acumulada. El primer eje (X) explica 47.06% de variación; de este eje las propiedades que tienen mayores valores son Ct, MOS, Nt, NH<sub>4</sub>. Por otro lado, la microbiota fue el factor menos correlacionado con este eje (Tabla 3). El segundo eje (Y) explicó el 17.50 % de variación y en él se encuentran las bacterias Gram – y Gram + (Figura 8).

Tabla 3. Valores propios, porcentaje acumulado de variación y vectores propios de los primeros componentes principales (CP).

|                                   | Eje 1  | Eje 2  |
|-----------------------------------|--------|--------|
| Valor propio                      | 6.117  | 2.275  |
| Porcentaje acumulado de variación | 47.058 | 64.561 |
| Vectores propios                  |        |        |
| HMA                               | -0.095 | 0.605  |
| Gram -                            | 0.219  | -0.551 |
| Gram +                            | 0.184  | -0.572 |
| pH                                | -0.752 | 0.538  |
| Ct                                | -0.946 | -0.249 |
| MOS                               | -0.956 | -0.249 |
| Nt                                | -0.892 | -0.252 |
| P                                 | -0.727 | 0.386  |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>      | -0.704 | 0.304  |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>      | -0.876 | -0.189 |
| Arcillas                          | 0.739  | 0.185  |

Ct= Carbono total; MOS=Materia orgánica del suelo; Nt= Nitrógeno total; P= Fósforo, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>= Nitrato; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>= Amonio.

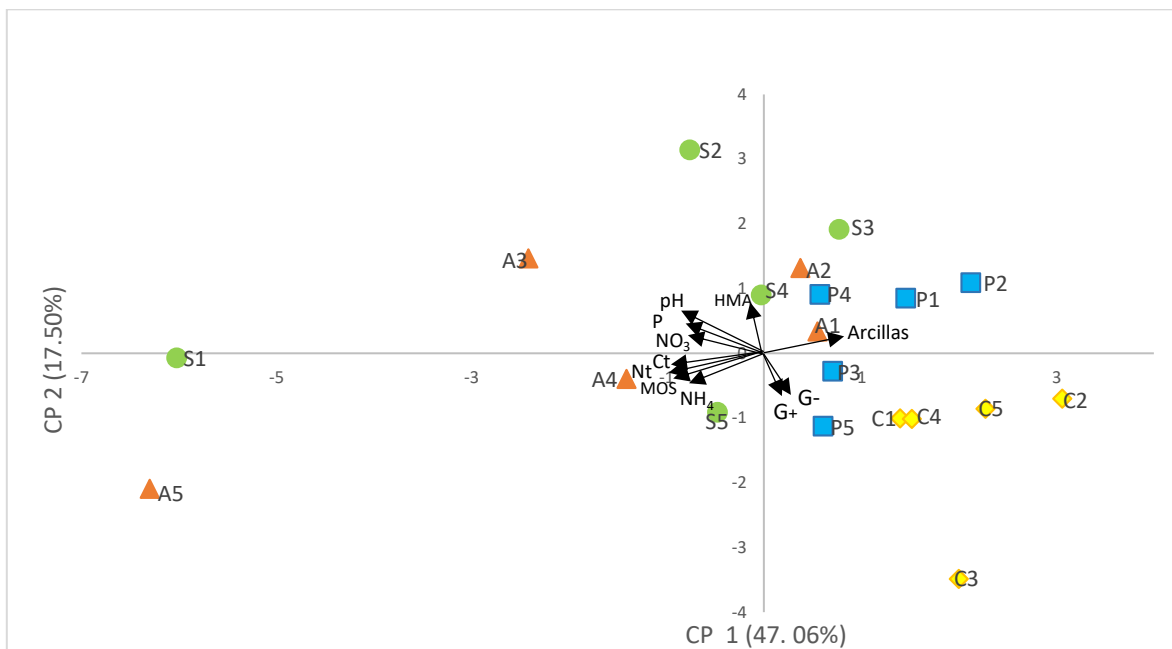


Figura 8. Análisis de Componentes Principales (ACP) de la microbiota edáfica, dónde **S** = selva, **A** = acahual, **P** = potreros, **C** = cultivos, **G+**= gram positiva, **G-** = gram negativa; los números corresponden a las réplicas.

## 7. Discusión

En este estudio se muestran diferencias en la concentración de ácidos grasos entre usos de suelo. Al comparar estas diferencias se observa que de manera general, las selvas y cultivos presentan valores más altos de ácidos grasos en comparación con acahuales y potreros.

En selvas se encontraron los valores mayores de ácidos grasos de HMA, mientras que en cultivos la mayor contribución corresponde a las bacterias. Una posible explicación es la diferencia en los requerimientos de nutrientes, que difieren entre los HMA y las bacterias. Además de los factores ambientales, el balance y distribución de los recursos son capaces de limitar la actividad microbiana (Zechmeister-Boltenstern *et al.*, 2015). Debido a lo anterior las diferencias en la fisiología fúngica y bacteriana pueden tener importantes influencias en el ciclo de C y N a gran escala (Waring *et al.*, 2013). Los hongos micorrizógenos tienen un suministro de C por parte de su simbionte, por lo que pueden explotar los sustratos orgánicos selectivamente para el N y otros nutrientes (Bödeker *et al.*, 2016).

Por otro lado, Hodge *et al.* (2000) propusieron que, debido a su papel en la degradación de sustratos, las bacterias dominan en suelos con bajas relaciones C/N, y los hongos en sustratos con altas relaciones C/N debido a la diferencia en los requerimientos de N de estos organismos.

Por lo anterior, la disponibilidad de nutrientes tiene un papel importante en el comportamiento de la microbiota lo cual concuerda con lo propuesto por Johnson (2010), y tal como fue observado en este estudio, en el análisis de componentes principales, donde los principales valores de explicación de la varianza son C y N.

Otro de los usos de suelo con mayores concentraciones de ácidos grasos de HMA fueron potreros, en comparación con los cultivos. Los hongos tienden a dominar la biomasa microbiana del suelo especialmente en condiciones de baja perturbación y limitación de nutrientes (Ritz y Young, 2004). Los suelos de potreros presentaron bajos porcentajes de humedad relativa y altos valores de temperatura promedio, también mostraron cierto grado de compactación, pero los valores de densidad aparente no fueron tan altos (Acevedo-Rojas, 2017). En este uso de suelo predomina el pasto insurgente (*Brachiaria brizantha*), que al igual que la mayoría de las plantas herbáceas presenta una simbiosis con LOS HMA (Brundrett, 2009), en potreros de los mismos sitios de estudio se han reportado un mayor número de propágulos, porcentaje de colonización (Cervantes-Salgado, 2017), y longitud de micelio extrarradical (Casariego-Martínez, 2017) lo que concuerda con lo encontrado en este estudio.

Debido a la relación entre vegetación y biota del suelo, el uso intensivo de una especie puede llegar a alterar la composición vegetal de un sitio, como ocurre en potreros con el pasto insurgente, y con ello comprometer la diversidad de la comunidad microbiana asociada (Garbaye, 1994; Zhao *et al.*, 2014). Aunque la cantidad de ácidos grasos encontrados en potreros es equiparable a lo encontrado en selvas, los datos de ácidos grasos no nos brindan la información suficiente para establecer el grado de afectación por el cambio de selvas a potreros; para ello es necesario hacer un estudio de diversidad de la comunidad para poder determinar el grado de afectación.

En el caso de los acahuals, no presentaron diferencias significativas respecto a los otros usos de suelo; no obstante el proceso de cambio al cual están sometidos tiene un impacto también en la comunidad del suelo (Marhaning *et al.*, 2009; Morris y Blackwood, 2015).

Por otra parte, en el suelo de los cultivos se encontraron los valores más bajos de ácidos grasos correspondientes a los HMA. En estudios previos se ha mostrado que la adición de nutrientes reduce la efectividad de HMA al disminuir la colonización de micelio en raíces, biomasa de esporas y vesículas (Yang *et al.* 2014; Zaller *et al.*,

2014).

En 2014 Yang y colaboradores notaron una disminución en la concentración de ácidos grasos de HMA en suelos tratados con plaguicidas. Los agroquímicos que se emplean en la preparación de los cultivos alteran las propiedades físico-químicas, biomasa microbiana y estructura de la comunidad bacteriana del suelo (Zhao *et al.*, 2014). También se ha visto el impacto que tiene el uso intensivo del suelo en las comunidades edáficas mediante redes de interacción biótica, dónde en los suelos de sistemas cultivables se ha encontrado una menor densidad en dichas redes, comparados a pastizales o bosques (Creamer *et al.*, 2016).

Otra probable explicación a la menor cantidad de ácidos grasos de HMA en cultivos, es la relación entre la microbiota y propiedades del suelo como pH, temperatura y humedad. Se ha visto a los hongos ser más tolerantes que las bacterias a pH ácidos (Högber *et al.*, 2007; Rousk, *et al.*, 2009), en el suelo de cultivos se observó un pH más bajo (Acevedo-Rojas, 2017), y una baja cantidad en el contenido de ácidos grasos de HMA, en comparación con el resto de usos de suelo. Sin embargo, las comunidades bacterianas no se vieron afectadas por el pH en la misma medida porque dependen de otras variables como la humedad y la temperatura (Strickland y Rousk, 2010).

Se ha propuesto que los hongos exhibirán una menor respuesta a los cambios de humedad que las bacterias debido a que las paredes celulares quitinosas hacen que los hongos sean más resistentes y resilientes a estos cambios (Strickland y Rousk, 2010), mientras que las bacterias habitan en los espacios porosos del suelo se verían menos afectadas por eventos de ligera desecación, debido a que están físicamente protegidas, pero esto no quiere decir que las bacterias sean de alguna manera fisiológicamente más resistentes a los efectos de la humedad (Frey *et al.* 1999). En la zona de estudio los porcentajes más altos de humedad se encontraron en selvas y acahuales, mientras que el más bajo correspondió a cultivos, sitios que también mostraron un promedio de temperatura mayor con respecto a los otros sitios (Acevedo-Rojas, 2017).

Las bacterias son un grupo que participa activamente en los ciclos biogeoquímicos y que responden ante las alteraciones edáficas (Zhao *et al.*, 2014). Dentro del grupo de las bacterias, las que alcanzaron valores mayores de ácidos grasos en todos los usos del suelo fueron las Gram<sup>+</sup>; estas bacterias se diferencian de las Gram<sup>-</sup> por tener una pared de peptidoglicano gruesa, por lo tanto, más resistente y con una menor tasa de degradación (Strickland y Rousk, 2010).

En el suelo de los cultivos se encontró una mayor cantidad de ácidos grasos de bacterias en comparación con los de HMA, lo cual coincide con los resultados de Golebiowska y Ryszkowski (1977), donde se observa que la abundancia de estos microorganismos incrementa en suelos arados. Se sabe que en los sistemas agrícolas la forma de crecimiento por hifas de los HMA representa una desventaja en comparación con la de células individuales que presentan las bacterias, por lo cual el arado de las tierras altera la estructura del suelo y puede conllevar al maltrato de raíces y un daño directo a las hifas de los HMA (Helgason *et al.*, 2009; Hendrix *et al.*, 1986). En los ambientes naturales, como el caso de la selva, las micorrizas están rodeadas por una gran diversidad de comunidades bacterianas que interactúan con ellas a los niveles físico, metabólico y funcional, formando un complejo micorrizico multitrofico. (Frey-Klett, 2011), pero dichas interacciones en la microbiota se ven afectadas cuando se modifican las condiciones del suelo.

## **8. Conclusión**

Se encontró una mayor cantidad de ácidos grasos de HMA en suelos de selvas y potreros, y de bacterias en cultivos, por lo cual la hipótesis que suponía una mayor concentración en selvas y acahuales se cumplió parcialmente para el caso de HMA. Sin embargo, en los suelos de cultivos se esperaba encontrar una menor cantidad de ácidos grasos en comparación con los otros usos, pero el relacionado con bacterias fue mayor al planteado inicialmente. Probablemente lo anterior suceda por que las condiciones del suelo no son favorables para la permanencia de los HMA.



El cambio de uso de suelo en la selva húmeda de Los Tuxtlas, Veracruz, afecta de manera negativa a los HMA. Las transformaciones de los sistemas naturales traen consigo modificaciones en la estructura edáfica y las propiedades físico-químicas del suelo, lo que conduce a una serie de cambios en el funcionamiento de la microbiota edáfica; este impacto fue notorio en los HMA pero para conocer las afectaciones hacia los demás componentes de la microbiota es necesario complementar estos resultados con estudios de riqueza y diversidad

## 9. Literatura citada

- Acevedo-Rojas, I. (2017). Cambio de uso de suelo en la selva húmeda de Los Tuxtlas y su efecto en el microclima y propiedades físico-químicas del suelo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Andrew, D. R., Fitak, R. R., Munguia-Vega, A., Racolta, A., Martinson, V. G., y Dontsova, K. (2012). Abiotic factors shape microbial diversity in Sonoran Desert soils. *Applied and environmental microbiology*, 78(21), 7527-7537.
- Angel, R., Soares, M. I. M., Ungar, E. D., y Gillor, O. (2010). Biogeography of soil archaea and bacteria along a steep precipitation gradient. *The ISME journal*, 4(4), 553-563.
- Bagyaraj, J. y Stürmer, L. (2012). Hongos Micorrizógenos Arbusculares (HMA) en, Manual de Biología de Suelos Tropicales. México: Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 217-241.
- Baleón-Sepúlveda, A. (2017). Los ácidos grasos como indicadores de la actividad de la microbiota en suelos derivados de una selva húmeda tropical, Los Tuxtlas, Veracruz, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Balvanera, P. (2012). Los servicios ecosistémicos que ofrecen los bosques tropicales. *Revista Ecosistemas*, 21(1-2) 136-147.
- Berg, G., y Smalla, K. (2009). Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS microbiology ecology*, 68(1), 1-13.

- Bethlenfalvay, G. J. (1992). Mycorrhizae in the agricultural plant-soil system. *Symbiosis*, 14, 413-425.
- Bödeker, I. T. M., Lindahl, B. D., Olson, Å., and Clemmensen, K. E. (2016). Mycorrhizal and saprotrophic fungal guilds compete for the same organic substrates but affect decomposition differently. *Functional Ecology*, 30, 1967–1978.
- Bohrer, K. E., Friese, C. F., y Amon, J. P. (2004). Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in differing wetland habitats. *Mycorrhiza*, 14(5): 329-337.
- Brundrett, M. (1991). Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances in ecological research* 21, 171-313.
- Brundrett, M. (2009). Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil*, 320(1-2), 37-77.
- Cabrera, G. (2012). Edaphic macrofauna as biological indicator of the conservation/disturbance status of soil. Results obtained in Cuba. *Pastos y Forrajes*, 35(4), 346-363.
- Campos, C.A. (2004), El Suelo. En: Guevara, S., Laborde, J. y Sánchez-Ríos, G. (Eds.). Los Tuxtlas El paisaje de la sierra. Instituto de Ecología, A.C. y Unión Europea. Xalapa, Ver., 181-192.
- Casariego-Martínez, M. (2017). Análisis de la producción de micelio extrarradical y colonización intrarradical de los hongos micorrizógenos arbusculares en potreros y cultivos derivados de una selva húmeda en Los Tuxtlas, Veracruz, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.

- Cervantes-Salgado, I. (2017). Estimación del potencial de inóculo de hongos micorrizógenos arbusculares en cuatro diferentes usos de suelo en Los Tuxtlas, Veracruz, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Challenger, A., y Soberón, J. (2008). Los ecosistemas terrestres. *Capital natural de México*, 1, 87-108.
- Creamer, R. E., Hannula, S. E., Leeuwen, J. P. Van, Stone, D., Rutgers, M., Schmelz, R. M., Lemanceau, P. (2016). Ecological network analysis reveals the inter-connection between soil biodiversity and ecosystem function as affected by land use across Europe. *Applied Soil Ecology*, 97, 112–124.
- Cuenca, G. (2015). Las micorrizas arbusculares: aspectos teóricos y aplicados. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (VIC), Caracas, Venezuela. 432.
- Davet, P. (2004). Microbial ecology of the soil and plant growth. *Science Publishers, Inc.* 392.
- Delgado-Baquerizo, M., Maestre, F. T., Reich, P. B., Jeffries, T. C., Gaitan, J. J., Encinar, D., Singh, B. K. (2016). Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nature Communications*, 7, 1–8.
- Dirzo, R., y Garcia, M. C. (1992). Rates of deforestation in Los Tuxtlas, a neotropical area in southeast Mexico. *Conservation Biology*, 6(1), 84-90.

- Dixon, R., Brown, S., Houghton, R. E. A., Solomon, A. M., Trexler, M. C., y Wisniewski, J. (1994). Carbon pools and flux of global forest ecosystems. *Science (Washington)*, 263(5144), 185-189.
- Entry, J. A., Rygiewicz, P. T., Watrud, L. S., y Donnelly, P. K. (2002). Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. *Advances in Environmental Research*, 7(1), 123-138
- FAO. (2006). Estudio de tendencias y perspectivas del sector forestal en América Latina al año 2020, *Informe Nacional México*, Roma.
- FAO. (2015). Evaluación de los recursos forestales mundiales 2015, ¿Cómo están cambiando los bosques del mundo?.
- FAO. (2016). State of the World's forests 2016. Forests and agriculture: land-use challenges and opportunities (Vol. 45).
- Fernandes, M.F., Saxena, J., Dick, R.P., (2013). Comparison of whole-cell fatty acid (MIDI) or phospholipid fatty acid (PLFA) extractants as biomarkers to profile soil microbial communities. *Microbial Ecology*. 66, 145-157.
- Foley, J. A., DeFries, R., Asner, G. P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S. R., Chapi, S.F., Coe, M. T., Daily, G. C., Gibbs, H. K., Helkowski, J. H., Holloway, T., Howard, E. A., Kucharik, C.J., Monfreda, C. Patz, J. A., Prentice, I. C., Ramankutty, N. y Snyder, P. K. (2005). Global consequences of land use. *Science*, 309(5734), 570-574.
- Frey-Klett, P., Burlinson, P., Deveau, A., Barret, M., Tarkka, M., y Sarniguet, A. (2011). Bacterial-Fungal Interactions: Hyphens between Agricultural, Clinical, Environmental, and Food Microbiologists. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 75(4), 583–609.

- Frostegård, Å., Tunlid, A., y Bååth, E. (1993). Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. *Applied and Environmental Microbiology*, (59)11: 3605-3617.
- Frostegård, Å., y Bååth, E. (1996). The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*, (22)1: 59-65.
- Galindo-González, J. (2004). Clasificación de los murciélagos de la región de los Tuxtlas, Veracruz, respecto a su respuesta a la fragmentación del hábitat. *Acta zoológica mexicana*, 20(2), 239-243.
- Garbaye, J. (1994). Tansley review No.76 Helper bacteria: A new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 128(2), 197–210.
- Gaude, N., Bortfeld, S., Duensing, N., Lohse, M. y Krajinski, F. (2012) Arbuscule-containing and non-colonized cortical cells of mycorrhizal roots undergo extensive and specific reprogramming during arbuscular mycorrhizal development. *The plant journal*, (69)3: 510-528.
- Gavito, M. E. y Olsson, P. A. (2003) Allocation of plant carbon foraging and storage in arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Ecology* 45: 181-187.
- Gołębiewska, J., y Ryszkowski, L. (1977). Energy and carbon fluxes in soil compartments of agroecosystems. *Ecological Bulletins*, 274-283.
- González E., Dirzo, R. y R. C. Vogt. (1997) Historia Natural de los Tuxtlas. Instituto de Biología, UNAM, CONABIO e Instituto de Ecología, UNAM. México, D. F. . 647.
- Grez, A. A., y Bustamante, R. (1995). Consecuencias ecológicas de la fragmentación de los bosques nativos. *Revista Ambiente y Desarrollo*, 11, 58-63.

- Guevara S., Laborde, J. y Sánchez-Ríos, G. (1999). La Reserva de la Biosfera de los Tuxtlas. Documento de Trabajo N° 29, 1999, UNESCO (Programa de Cooperación Sur-Sur) París, Francia.
- Guevara S., Laborde, J. y Sánchez-Ríos, G. (2004b). La Fragmentación. En: Guevara, S., Laborde, J. y Sánchez-Ríos, G. (Eds.). Los Tuxtlas El paisaje de la sierra. Instituto de Ecología, A.C. y Unión Europea. Xalapa, Ver., 111-134
- Guevara S., Sánchez-Ríos, G. y Landgrave, R. (2004a). La Deforestación. En: Guevara, S., Laborde, J. y Sánchez-Ríos, G. (Eds.). Los Tuxtlas El paisaje de la sierra. Instituto de Ecología, A.C. y Unión Europea. Xalapa, Ver., 85-109.
- Helgason, B. L., Walley, F. L., y Germida, J. J. (2009). Fungal and Bacterial Abundance in Long-Term No-Till and Intensive-Till Soils of the Northern Great Plains. *Soil Science Society of America Journal*, 73(1), 120.
- Hendrix, P. F., Parmelee, R. W., Crossley, D. a, Coleman, D. C., Odum, P., y Groffman, P. M. (1986). Detritus Food in Webs and Conventional Agroecosystem No-tillage. *BioScience*, 36(6), 374–380.
- Hodge, A., Robinson, D. y Fitter, A. (2000) Are microorganisms more effective than plants at competing for nitrogen? *Trends in Plant Science*, 5, 304–308.
- IBUNAM. Instituto de Biología. Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, 2017 disponible en : <http://www.ibiologia.unam.mx/tuxtlas/tuxtlas.html>

- Jeffries, P. y Barea, J.M., 2001. Arbuscular micorriza, a key component of sustainable plant-soil ecosystems. En: B. Hock, ed. *The Mycota IX Fungal Associations*. Berlin, Alemania: Springer-Verlag, 95-113.
- Johnson, N. C. (2010). Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales. *New Phytologist*, 185(3), 631–647.
- Killham, K., y Prosser, J. I. (2015). The Bacteria and Archaea. En *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry* (4th ed.). *Elsevier Inc.* 41-76.
- Lambin, E. F., Geist, H. J., y Lepers, E. (2003). Dynamics of land-use and land-cover change in tropical regions. *Annual review of environment and resources*, 28(1), 205-241.
- Lambin, E. F., Turner, B. L., Geist, H. J., Agbola, S. B., Angelsen, A., Bruce, J. W., y George, P. (2001). The causes of land-use and land-cover change: moving beyond the myths. *Global environmental change*, 11(4), 261-269.
- Lara-Pérez, L. A., Noa-Carrazana, J. C., Hernández-González, S., Alarcón-Gutiérrez, E., Sánchez-Velásquez, L. R., Zulueta-Rodríguez, R., y Andrade-Torres, A. (2014). Diversity and colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in the tree fern *Alsophila firma* in rainy and dry season. *Symbiosis*, 62(3): 143-150.
- Larsen, J., y Bødker, L. (2001). Interactions between pea root-inhabiting fungi examined using signature fatty acids. *New Phytologist*, 149(3): 487-493.
- Long, S. R. (1996). Rhizobium symbiosis: Nod factors in perspective. *The Plant Cell*, (8), 1885–1898.
- Marhaning, A. R., Mills, A. A. S., y Adl, S. M. (2009). Soil community changes during secondary succession to naturalized grasslands. *Applied Soil Ecology*, 41, 137-147.



- Mas, J. F., Velázquez, A., y Couturier, S. (2009). La evaluación de los cambios de cobertura/uso del suelo en la República Mexicana. *Investigación ambiental Ciencia y política pública*, 1(1) 23-39.
- Miranda, F. D. P., y Hernández Xolocotzi, E. (1963). Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 28: 29-179.
- Morris, S. J., y Blackwood, C. B. (2015). The Ecology of the Soil Biota and their Function. En *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry* (4th ed.). Elsevier Inc. 273-309.
- Ngosong, C. Gabriel, E. y Ruess, L (2012) Use of the Signature Fatty Acid 16:1w 5 as a Tool to Determine the Distribution of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Soil, *Journal of Lipids* 2012: 1-8.
- Olsson, P. A. (1999). Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 29(4): 303-310.
- Olsson, P. A., Bååth, E., Jakobsen, I., y Söderström, B. (1995). The use of phospholipid and neutral lipid fatty acids to estimate biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Mycological Research*, 99(5): 623-629.
- Olsson, P. A., Larsson, L., Bago, B., Wallander, H., y Van Aarle, I. M. (2003). Ergosterol and fatty acids for biomass estimation of mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 159(1), 7-10.
- Perrott, K. W. (1977). Freeze-drying of soil clays. *Geoderma*, 17(3): 219-224.
- Picone, C. (2000). Diversity and Abundance of Arbuscular–Mycorrhizal Fungus Spores in Tropical Forest and Pasture. *Biotropica*, 32(4a): 734-750.
- Read, D. J., y Perez-Moreno, J. (2003). Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems—a journey towards relevance?. *New Phytologist*, 157(3), 475-492.

- Ritz, K., y Young, I. M. (2004). Interactions between soil structure and fungi. *Mycologist*, 18(2), 52–59.
- Rousk, J., Brookes, P. C., y Bååth, E. (2009). Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(6), 1589–1596.
- Rousk, J., y Frey, S. D. (2015). Revisiting the hypothesis that fungal-to- bacterial dominance characterizes turnover of soil organic matter and nutrients. *Ecological Monographs*, 85(3), 457–472.
- Rzedowski, J. (1978). Vegetación de México. *Editorial Limusa*, México, D.F. 432.
- Sangabriel-Conde, W., Trejo-Aguilar, D., Soto-Estrada, A., Ferrera-Cerrato, R., y Lara-Capistrán, L. (2010). Potencial de colonización de hongos micorrízico-arbusculares en suelos cultivados con papayo bajo diferentes manejos de producción. *Revista Mexicana de Micología*, 31, 45-52.
- Sasser, M. (1990). Identification of Bacteria by Gas Chromatography of Cellular Fatty Acids. MIDI. *Technical Note 101*.
- Six, J., Frey, S. D., Thiet, R. K., y Batten, K. M. (2006). Bacterial and Fungal Contributions to Carbon Sequestration in Agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal*, 70(2), 555-569.
- Smith, S. E., y Read, D. J. (2008). Arbuscular mycorrhizas *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press.
- Soka, G., y Ritchie, M. (2014). Arbuscular mycorrhizal symbiosis and ecosystem processes: Prospects for future research in tropical soils. *Open Journal of Ecology*, (4)1: 11-22.
- Soto, M.E. (2004). El Clima. En: Guevara, S., Laborde, J. y Sánchez-Ríos, G. (Eds.). Los Tuxtlas El paisaje de la sierra. Instituto de Ecología, A.C. y Unión Europea. Xalapa, Ver., 195-198.

- Strickland, M. S., y Rousk, J. (2010). Considering fungal: Bacterial dominance in soils - Methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(9), 1385–1395.
- Stürmer, S. L., y Siqueira, J. O. (2011). Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. *Mycorrhiza*, 21(4), 255-267.
- Varela, L., Trejo, D., Álvarez-Sánchez, F.J., Barois I., Amora-Lazcano, E., Guadarrama, P., Lara, L., Olivera, D., Sánchez-Gallén, I., Sangabriel, W., Zulueta, R. (2009). Land use and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Mexican tropical ecosystems: preliminary results. En Barois, I., Huising, E.J., Okoth, P., Trejo D., y de los Santos, M (Eds.). *Below-Ground Biodiversity in Sierra Santa Marta, Los Tuxtlas, Veracruz., México. Instituto de Ecología, A.C.* 99-112.
- Velázquez, A., Mas, J. F., Díaz Gallegos, J. R., Mayorga Saucedo, R., Alcántara, P. C., Castro, R., Fernández, T., Bocco, G., Ezcurra, E., y Palacio, J. L. (2002). Patrones y tasas de cambio de uso del suelo en México. *Gaceta ecológica*, (62).
- Waring, B. G., Averill, C., and Hawkes, C. V. (2013). Differences in fungal and bacterial physiology alter soil carbon and nitrogen cycling: insights from meta-analysis and theoretical models. *Ecology Letters*. 16, 887–894.
- Warmink, J. A., Nazir, R., y Van Elsas, J. D. (2009). Universal and species-specific bacterial “fungiphiles” in the mycospheres of different basidiomycetous fungi. *Environmental Microbiology*, 11(2), 300–312.
- Wewer, V., Brands, M. and Dörmann, P. (2014), Fatty acid synthesis and lipid metabolism in the obligate biotrophic fungus *Rhizophagus irregularis* during mycorrhization of *Lotus japonicus*. *The Plant Journal*, (79)3: 398–412.
- Williams-Linera, G. (2007). El bosque de niebla del centro de Veracruz: ecología, historia y destino en tiempos de fragmentación y cambio climático. *CONABIO – Instituto de Ecología A.,C.*, (28) 208.

- Yang, G., Liu, N., Lu, W., Wang, S., Kan, H., Zhang, Y., Chen, Y. (2014). The interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and soil phosphorus availability influences plant community productivity and ecosystem stability. *Journal of Ecology*, 102(4), 1072–1082.
- Zaller, J. G., Heigl, F., Ruess, L., y Grabmaier, A. (2014). Glyphosate herbicide affects belowground interactions between earthworms and symbiotic mycorrhizal fungi in a model ecosystem. *Scientific Reports*, 4, 1–8.
- Zelles, L., Bai QY, Beck T, Beese F(1992) signature fatty acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicator of microbial biomass and community structure in agricultural. *Soil Biology and Biochemistry*, 24(4), 317-323.
- Zelles, L. (1997) Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. *Chemosphere* 35: 275-294.
- Zechmeister-Boltenstern, S., Keiblinger, K. M., Mooshammer, M., Peñuelas, J., Richter, A., Sardans, J., y Wanek, W. (2015). The application of ecological stoichiometry to plant–microbial–soil organic matter transformations. *Ecological Monographs*, 85(2), 133-155.
- Zhai, D. L., Cannon, C. H., Dai, Z. C., Zhang, C. P., y Xu, J. C. (2015). Deforestation and fragmentation of natural forests in the upper Changhua watershed, Hainan, China: implications for biodiversity conservation. *Environmental monitoring and assessment*, 187(1), 4137.
- Zhao, J., Ni, T., Li, Y., Xiong, W., Ran, W., Shen, B., Zhang, R. (2014). Responses of bacterial communities in arable soils in a rice-wheat cropping system to different fertilizer regimes and sampling times. *PLoS ONE*, 9(1).
- Zimmermann, B., Papritz, A., y Elsenbeer, H. (2010). Asymmetric response to disturbance and recovery: Changes of soil permeability under forest–pasture–forest transitions. *Geoderma*, 159(1-2), 209-215.

## 10. Anexo 1

### PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS TOTALES

Tras el secado al vacío del suelo (liofilización), el procedimiento que se llevará a cabo para la extracción de los ácidos grasos totales consistirá en un proceso de cuatro fases: Saponificación, metilación, extracción y lavado básico (Sasser, 1990).

#### 1. Saponificación

Durante esta etapa, se produce la lisis de las células. Los ácidos grasos son separados de los lípidos celulares y convertidos en sus correspondientes sales de sodio.

- Pesar 1.0 gr del suelo liofilizado y transferirlo a un tubo de ensaye. Nota: todo el material utilizado debe de estar completamente limpios (lavados con detergente libre de fosfatos y posteriormente sumergidos en ácido clorhídrico al 10%) y esterilizado (horno a 400 °C durante 3 horas o en el autoclave a 160 °C durante 20 min). Revisar los tubos para descartar aquellos que tengan muescas o fracturas.
- Agregar 2.0 +/- 0.1 ml del Reactivo 1 (base metabólica compuesta por 45 g NaOH, 150 ml de metanol y 150ml de agua destilada desionizada) a cada tubo
- Cerrar cada tubo con un forro de teflón dentro del tapón de rosca.
- Agitar en el vórtex cada tubo por 5-10 segundos a máxima velocidad.
- Colocar los tubos en baño maría 100 °C. Nota: precalentar los baños una hora antes.
- Después de 5 minutos sacar los tubos del baño maría y enfriarlos ligeramente (en agua con hielos). Checar posibles fugas, y en caso de existir cambiar el tapón o ponerle otra tapa.

- Agitar cada tubo en vórtex y volver a ponerlos en baño maría por 25 minutos más.
- Después de un total de 30 minutos de saponificación en el baño maría, sacar los tubos y colocarlos en agua fría.

## 2.- Metilación

En el proceso de metilación las sales sódicas de los ácidos grasos se convierten en ésteres metílicos para incrementar la volatilidad de los ácidos grasos para el análisis por cromatografía de gases.

- Después de enfriar los tubos, destaparlos y agregar 4 ml +/- 0.1ml del Reactivo 2 (reactivo de metilación 325 ml de 6N HCL en 275 ml de metanol).
- Cerrar cada tubo y agitar en el vórtex entre 5 a 10 segundos.
- Calentar en baño maría los tubos a 80°C por 10 minutos. Nota: cuidar que sean exactamente 10 minutos.
- Sacar del baño maría y enfriar en agua fría rápidamente.

## 3.- Extracción

En la extracción los ésteres metílicos se transfieren de la fase acuosa ácida a la fase orgánica con la técnica de extracción líquida-líquida.

- Destapar cada tubo y agregar 2.5 ml del Reactivo 3 (1:1 v/v hexano:éter metil tebutílico).
- Agregar a cada tubo 100 µl de 19:0 como estándar interno (concentración final 0.25 µg/µl).
- Cerrar los tubos y agitar en el vórtex evitando que se sedimenten.
- Rotar los tubos durante 10 minutos.
- Centrifugar los tubos por 5 minutos a 2000 RPM. Nota: en caso de obtener poco sobrenadante re-centrifugar a 3000 RPM.

- Destapar cada tubo. Usando una pipeta Pasteur para cada muestra, remover el sobrenadante a un tubo nuevo. Nota: cuidar de no tocar el precipitado con la punta de la pipeta.

#### 4.- Lavado básico

En esta etapa se eliminan los ácidos grasos libres y los agentes residuales.

- Agregar a cada tubo 6 ml del Reactivo 4 (Solución básica de NaOH -10.8g- diluido en agua destilada desionizada -900ml-).
- Cerrar cada tubo y rotarlos por 5 minutos.
- Centrifugar los tubos por 3 minutos a 2000 RPM. Nota: en caso de re-suspensión de las fases re-centrifugar a 3000 RPM.
- Usando una pipeta Pasteur para cada muestra, remover el sobrenadante y colocarlo en frascos GC viales. Nota: mantener los tubos completamente verticales durante esta fase y evitar tocar el precipitado con la punta de la pipeta.
- Evaporar el hexano durante toda la noche en la campana. Nota: también se pueden evaporar bajo nitrógeno.
- Agregar a frascos nuevos GC viales 200 l de hexano y colocar en cada uno de ellos "baby" vial dentro de ellos.
- Disolver cada una de las muestras con 80 l de hexano y agitar en vórtex.
- Agregar 80µl de cada muestra a un "baby" vial y cerrar con su respectiva tapa. Nota: al hacer la transferencia "lavar" las paredes del GC vial.
- La muestra ahora está lista para el cromatógrafo de gases.
- Evaporar el resto de la muestra y cerrar los viales. Almacenar a -20°C (como respaldo).

## Anexo 2

### ESPECTROS DE MASA DE LOS ÁCIDOS GRASOS

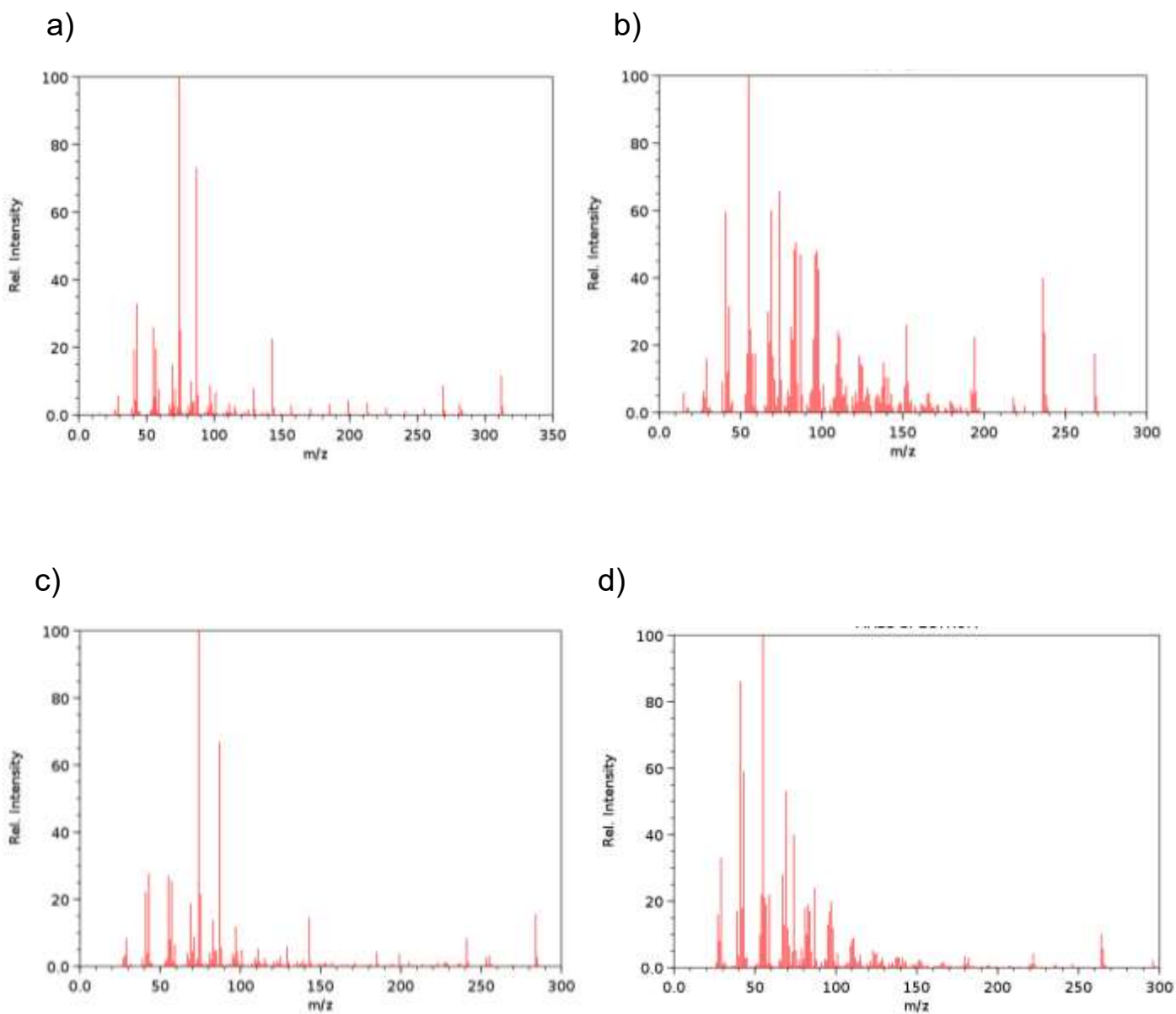


Figura 9. a) Ácido nonadecanoico metil éster (19:0), b) 11-ácido hexadecenoico metil éster (16:1 $\omega$ 5), c) 14-ácido hexadecenoico metil éster (17:0), d) 11-ácido octadecenoico metil éster (18:1 $\omega$ 7).



## CROMATOGRAMAS

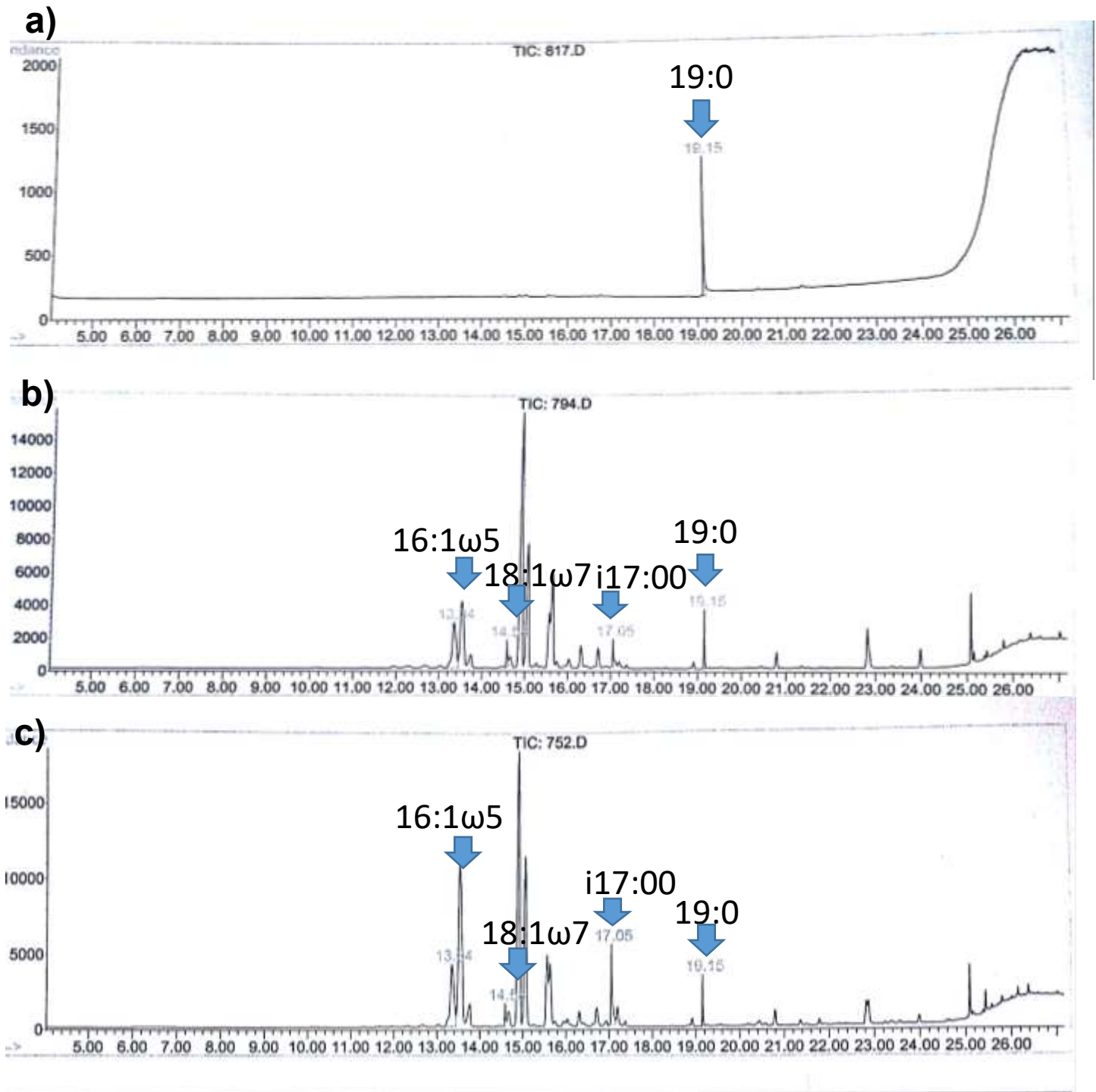


Figura 10. Ejemplos de cromatogramas, en el eje X se representa el tiempo de retención y el eje Y la abundancia en las muestras. a) Estándar interno b) Muestra de cultivo, c) Muestra de potrero. Las flechas señalan los ácidos grasos correspondientes a cada grupo: 16:1 $\omega$ 5 (HMA), 18:1 $\omega$ 7 (Gram-), i17:00 (Gram+) y 19:0 (estándar interno).

Tabla 4. Concentración de ácidos grasos (nanomoles g<sup>-1</sup>) en usos de suelo, donde S=selva, A=acahual, P=potrero, C=cultivo y el numero en paréntesis indica la réplica.

| Uso de suelo | HMA (16:1ω5) | Gram - (18:1ω7) | Gram + (i17:00) | Uso de suelo | HMA (16:1ω5) | Gram - (18:1ω7) | Gram + (i17:00) |
|--------------|--------------|-----------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|-----------------|
| S1(1)        | 0.0147       | 0.0016          | 0.0091          | P1(1)        | 0.0044       | 0.0003          | 0.0021          |
| S1(2)        | 0.0076       | 0.0006          | 0.0007          | P1(2)        | 0.0166       | 0.0011          | 0.0017          |
| S1(3)        | 0.0132       | 0.0016          | 0.0025          | P1(3)        | 0.0404       | 0.0007          | 0.0029          |
| S2(1)        | 0.0159       | 0.0007          | 0.0011          | P2(1)        | 0.0215       | 0.0005          | 0.0026          |
| S2(2)        | 0.3435       | 0.0055          | 0.0056          | P2(2)        | 0.0771       | 0.0011          | 0.0060          |
| S2(3)        | 0.0275       | 0.0025          | 0.0029          | P2(3)        | 0.0548       | 0.0006          | 0.0027          |
| S3(1)        | 0.0356       | 0.0020          | 0.0041          | P3(1)        | 0.0279       | 0.0009          | 0.0061          |
| S3(2)        | 0.0356       | 0.0018          | 0.0037          | P3(2)        | 0.0877       | 0.0010          | 0.0049          |
| S3(3)        | 0.0209       | 0.0011          | 0.0017          | P3(3)        | 0.0944       | 0.0012          | 0.0073          |
| S4(1)        | 0.0503       | 0.0046          | 0.0238          | P4(1)        | 0.0975       | 0.0025          | 0.0073          |
| S4(2)        | 0.0324       | 0.0019          | 0.0022          | P4(2)        | 0.0215       | 0.0007          | 0.0045          |
| S4(3)        | 0.0835       | 0.0045          | 0.0087          | P4(3)        | 0.1323       | 0.0017          | 0.0060          |
| S5(1)        | 0.0190       | 0.0012          | 0.0020          | P5(1)        | 0.0240       | 0.0006          | 0.0034          |
| S5(2)        | 0.0777       | 0.0042          | 0.0299          | P5(2)        | 0.0063       | 0.0003          | 0.0023          |
| S5(3)        | 0.0370       | 0.0058          | 0.0225          | P5(3)        | 0.0266       | 0.0006          | 0.0027          |
| A1(1)        | 0.0073       | 0.0010          | 0.0017          | C1(1)        | 0.0153       | 0.0012          | 0.0008          |
| A1(2)        | 0.0131       | 0.0009          | 0.0010          | C1(2)        | 0.0045       | 0.0000          | 0.0000          |
| A1(3)        | 0.0180       | 0.0004          | 0.0008          | C1(3)        | 0.0106       | 0.0156          | 0.0099          |
| A2(1)        | 0.0046       | 0.0007          | 0.0008          | C2(1)        | 0.0142       | 0.0000          | 0.0000          |
| A2(2)        | 0.0387       | 0.0019          | 0.0016          | C2(2)        | 0.0041       | 0.0097          | 0.0251          |
| A2(3)        | 0.0170       | 0.0002          | 0.0002          | C2(3)        | 0.0016       | 0.0000          | 0.0000          |
| A3(1)        | 0.2088       | 0.0028          | 0.0174          | C3(1)        | 0.0011       | 0.0060          | 0.0239          |
| A3(2)        | 0.0496       | 0.0002          | 0.0004          | C3(2)        | 0.0077       | 0.0000          | 0.0000          |
| A3(3)        | 0.1147       | 0.0013          | 0.0060          | C3(3)        | 0.0380       | 0.1487          | 0.2089          |
| A4(1)        | 0.0055       | 0.0001          | 0.0000          | C4(1)        | 0.0227       | 0.0000          | 0.0000          |
| A4(2)        | 0.0054       | 0.0005          | 0.0003          | C4(2)        | 0.0107       | 0.0801          | 0.0653          |
| A4(3)        | 0.0187       | 0.0002          | 0.0003          | C4(3)        | 0.0291       | 0.0000          | 0.0000          |
| A5(1)        | 0.0734       | 0.0160          | 0.0464          | C5(1)        | 0.0482       | 0.0927          | 0.1678          |
| A5(2)        | 0.0230       | 0.0002          | 0.0002          | C5(2)        | 0.0359       | 0.0000          | 0.0000          |
| A5(3)        | 0.0164       | 0.0036          | 0.0192          | C5(3)        | 0.0029       | 0.0081          | 0.0312          |