



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

LICENCIATURA EN CIENCIAS AMBIENTALES

Escuela Nacional de Estudios Superiores,
Unidad Morelia

Variación en la estructura y composición
de las comunidades bacterianas de suelo
y mantillo en un gradiente de riqueza de
encinos

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADA EN CIENCIAS AMBIENTALES

P R E S E N T A

BRENDA AMAIRANI BACA PATIÑO

DIRECTOR(A) DE TESIS: DRA. YUNUEN TAPIA TORRES
CO-TUTOR DE TESIS: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

MORELIA, MICHOACÁN

JUNIO, 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, UNIDAD MORELIA
SECRETARÍA GENERAL
SERVICIOS ESCOLARES

MTRA. IVONNE RAMÍREZ WENCE
DIRECTORA
DIRECCIÓN GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
PRESENTE

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la **sesión ordinaria 03** del **Comité Académico de la Licenciatura en Ciencias Ambientales** de la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES) Unidad Morelia celebrada el día **19 de marzo del 2019**, acordó poner a su consideración el siguiente jurado para la presentación del Trabajo Profesional del alumno (a) **Brenda Amairani Baca Patiño** de la Licenciatura en **Ciencias Ambientales**, con número de cuenta **413085928**, con el trabajo profesional titulado: "Variación en la estructura y composición de las comunidades bacterianas de suelo y mantillo en un gradiente de riqueza de encinos", bajo la dirección como **tutor** de la Dra. Yunuen Tapia Torres y como **co-tutor** el Dr. Antonio González Rodríguez.

El jurado queda integrado de la siguiente manera:

Presidente: Dr. Felipe Francisco García Oliva
Vocal: Dr. Jesús Llanderal Mendoza
Secretario: Dra. Yunuen Tapia Torres
Suplente 1: Dr. Luis Eduardo Servín Garcidueñas
Suplente 2: Dra. Rocío Hernández León

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Morelia, Michoacán a, 29 de mayo del 2019.



DR. VÍCTOR HUGO ANAYA MUÑOZ
SECRETARIO GENERAL

AGRADECIMIENTOS

A la Licenciatura en Ciencias Ambientales de la ENES Morelia, UNAM.

A la Dra. Yunuen Tapia Torres por aceptar ser la tutora de este trabajo y por guiarme durante el proceso.

Al Dr. Antonio González Rodríguez por aceptar ser el co-tutor de este trabajo, por el apoyo y la guía durante el proceso.

A mis sinodales: Dr. Felipe García Oliva, Dr. Jesús Llanderal Mendoza, Dra. Yunuen Tapia Torres, Dr. Luis Eduardo Servín Garcidueñas y a la Dra. Rocío Hernández León, por sus consejos y por los aportes que brindaron a este trabajo.

Al financiamiento del proyecto “Estudios biogeográficos, ecofisiológicos y genético-moleculares para la construcción de un macrosistema para la conservación de los bosques templados de México” PAPIIT RV201015, del cual forma parte esta tesis. Y por la beca otorgada para la realización de este trabajo.

Al proyecto “Variación funcional y genética de especies del género *Quercus* (*Fagaceae*) en gradientes altitudinales” PAPIIT IN207417.

Al proyecto “Uso eficiente del fósforo en sistemas agroecológicos de México: ejemplos de sistemas áridos y templados” PAPIIT IA206617.

Al “Programa de Becas Estudiantiles SEP-UNAM-FUNAM 2017 Segunda fase- Beca de Capacitación en Métodos de Investigación para alumnos y egresados”, gracias a este programa fue posible la vinculación con la Universidad de California, Davis, en donde se desarrollaron los métodos de análisis que permitieron la culminación de este trabajo.

A los siguientes laboratorios, por su apoyo en el préstamo de equipo y material:

1. Laboratorio de Genética de la conservación del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES), UNAM.
2. Laboratorio de Biología Molecular de la ENES Morelia, UNAM.
3. Laboratorio Nacional de Análisis y Síntesis Ecológica de la ENES Morelia, UNAM.
4. Laboratorio de Biogeoquímica de suelos del IIES, UNAM.
5. Laboratorio de Docencia en Química de la ENES Morelia, UNAM.

Al Dr. Jesús Llanderal Mendoza, por su apoyo técnico en la enseñanza y realización de las técnicas moleculares.

A la Dra. Amisha Tashee Poret-Peterson, por su apoyo en los análisis bioinformáticos y estadísticos.

A la señora Claudia María Brenes Bautista, por ayudarme con todo el material necesario para la realización de las técnicas moleculares, teniéndolo siempre limpio y disponible para su uso.

¡INFINITAS GRACIAS!

A las personas que me ayudaron a construir este trabajo

A la Dra. Tapia, por la confianza, dedicación y compromiso que mostró hacia mí persona y hacia el proyecto. Yun gracias por creer en mí aún en los momentos en que yo misma no lo hacía, por brindarme tu apoyo y amistad a lo largo de este proceso, por escucharme, aconsejarme y guiarme. Eres una mujer muy enérgica, apasionada y sincera, son cualidades que admiro mucho de tu persona y espero siempre sigas conservando esa chispa en el camino de la vida y en el quehacer de la ciencia, te quiero mucho.

Dr. Antonio González. Toñin gracias por el apoyo, el tiempo y la dedicación que brindaste a este proyecto y a mí persona. Gracias por los conocimientos compartidos, por la confianza y por la presión justa y necesaria que me impulsó a culminar este trabajo.

Dra. Amisha gracias por compartir sus conocimientos conmigo, por la paciencia y el tiempo que dedicó en la enseñanza de los análisis bioinformáticos y los análisis estadísticos que lograron dar un buen cierre a este trabajo. Gracias por la hospitalidad que mostró hacia mí persona durante mi estancia en California, por darme el espacio y tiempo para llevarme a conocer algunos sitios de aquellos lares, y por introducirme en el mundo de la comida hindú, siempre recuerdo con entusiasmo la última cena que compartimos.

Dr. Llanderal. Chucho, siempre te vi como mi gurú de la biología molecular, eres realmente bueno en el dominio de dichas técnicas, mil gracias por todo el conocimiento que compartiste conmigo. Gracias por la paciencia y por continuar enseñándome a pesar de los momentos estresantes que tuvimos que pasar en el laboratorio.

A mis compañeros de laboratorio: Pam, Beto, Karla, Emily y Rocío. Gracias por la amistad, el apoyo y las experiencias compartidas en nuestro templo de trabajo “el laboratorio”.

A mis compañeros de licenciatura, por los proyectos y las experiencias que nos forjaron durante cuatro años. A mis amigos: Ivonne, Ana Lilia, Yessica, Adrián, Lalo y Cristóbal, por permanecer pendientes en el trayecto y por los consejos y el tiempo compartido.

A la señora Claudia. Gracias por siempre recibirme con una sonrisa, por brindarme su apoyo para tener el material en óptimas condiciones, por el cariño, los abrazos, las pláticas y la compañía en el laboratorio.

A Agustín Morales, Alejandro rebollar y todo el equipo de servicios escolares, por el apoyo y la atención que me brindaron en la realización de los trámites administrativos.

A mi familia

A mis padres. Gracias por todo el esfuerzo y el empeño que han puesto en la construcción de un futuro para mí. Gracias por las oportunidades, el tiempo y la dedicación que me han brindado. Gracias porque este logro no hubiera podido ser posible sin su apoyo.

A mis hermanos, mi prima Mary y mi mejor amigo perruno Hommie. Gracias por ser mis compañeros de vida, por el apoyo y la complicidad que siempre existe en la hermandad independientemente de las diferencias.

A Andrés Piña. Gracias por la paciencia, el cariño, el apoyo y los ánimos que brindaste a mí persona antes y durante este proceso de cierre.

A mis amigos de toda una vida: Omar, Jorge, Yair, Edson, Alina, Tere y Karen, por el apoyo incondicional en los momentos que más lo he necesitado. Los amigos son la familia que uno elige, gracias por formar parte de mí historia.

Dedicada a...

Una pequeña valiente, que con el pasar de los años se llenó de profundos miedos e inseguridades... A pesar de las adversidades lo hemos logrado, algo de tú esencia sigue en mí.

A mis amados sobrinos: Alonso, Eduardo y Leonardo. Su vida representa un eje central de motivación en la mía.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	5
Secuenciación de nueva generación, Illumina: secuenciación de amplicones y análisis de comunidades microbianas del suelo mediante el paquete informático DADA2.....	5
Relación planta-suelo-microorganismo y procesos biogeoquímicos del ecosistema.....	9
Efecto de la variabilidad genética de las plantas en las comunidades del suelo: el caso de la reabsorción foliar de nutrientes.....	13
Variación en la cantidad y calidad de la materia orgánica entre dos secciones del género <i>Quercus</i> : <i>Lobatae</i> y <i>Quercus</i>	15
OBJETIVOS	18
HIPOTESIS	18
MATERIALES Y MÉTODOS	18
Sitio de estudio.....	18
Diseño de muestreo.....	19
Análisis de laboratorio.....	24
Análisis Moleculares.....	25
Extracción y cuantificación de ADN.....	25
Bibliotecas de amplicones: regiones hipervariables V3-V4 del gen ARNr 16S.....	25
Análisis bioinformáticos y estadísticos.....	26
RESULTADOS	28
Composición bacteriana del suelo y del mantillo.....	28
Dinámica de nutrientes en mantillo y suelo.....	35

Diversidad de encinos y su relación con la dinámica de nutrientes.....	35
Diversidad de las comunidades bacterianas y su relación con la diversidad de encinos y con la dinámica de nutrientes.....	39
DISCUSIÓN.....	44
Diferenciación en la composición de las comunidades bacterianas del suelo y el mantillo.....	45
Mantillo: composición de la comunidad microbiana y procesos asociados.....	47
Suelo: Composición de la comunidad microbiana y procesos asociados.....	48
CONCLUSIONES.....	49
PERSPECTIVAS A FUTURO Y REFLEXIONES PERSONALES.....	50
REFERENCIAS.....	51

RESUMEN

Las relaciones que existen entre los microorganismos y los ambientes en que se desarrollan juegan un papel fundamental en las propiedades y procesos de los ecosistemas. Particularmente, las relaciones que existen entre la riqueza y composición de especies de plantas y la composición de las comunidades microbianas aún no son claras. El género *Quercus* es uno de los componentes más importantes de las comunidades de bosques templados en el hemisferio Norte y México es el centro de diversificación de los encinos en América. Sin embargo, la diversidad microbiana del suelo en comunidades con índices altos de riqueza de encinos en México ha sido poco investigada. La teoría ecológica propone que existen relaciones significativas entre la diversidad de plantas y la composición de las comunidades de microorganismos. En este estudio probamos la hipótesis caracterizando la diversidad y composición de árboles en 22 sitios dominados por bosques de encino, en el centro del país, a lo largo de un gradiente de riqueza de especies de encino. En cada sitio se colectaron muestras de suelo y mantillo a lo largo de 3 transectos de 100 m de longitud. Posteriormente se realizaron extracciones de ADN, librerías de amplicones del gen 16S ribosomal y procedimientos de “metabarcoding” para las muestras de suelo y mantillo, utilizando herramientas de secuenciación de nueva generación. Los resultados indican que los grupos bacterianos *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, y *Acidobacteria* son dominantes en el mantillo y en el suelo; sin embargo, la composición de la comunidad bacteriana es distinta entre ambos. Aunado a esto, la estructura de la comunidad de encinos influyó en la composición de las comunidades bacterianas del mantillo y del suelo, y como consecuencia afectó la dinámica y disponibilidad de nutrientes del ecosistema. Los resultados de este trabajo representan una base para la generación de estrategias de manejo y conservación que estén enfocadas no únicamente en las especies vegetales, si no basadas también en el entendimiento del acomplamiento de las especies vegetales con las especies bacterianas del piso forestal. Estudios basados en la caracterización de la comunidad de hongos son necesarios para poder determinar de manera integral el efecto de la identidad de las especies vegetales sobre la composición de la comunidad microbiana en los suelos y en la dinámica de nutrientes.

ABSTRACT

The ecological linkages between the aboveground and belowground play a key role in the processes and properties of the ecosystems. Particularly, the relationships between species richness and composition in plant communities and microbial soil communities are not yet clear. The genus *Quercus* is one of the most important components of temperate forest communities in the Northern Hemisphere, and Mexico is the main diversification center of the oaks in America. However, soil microbial diversity in highly rich oak communities of Mexico has been scarcely investigated. In this study we test the hypothesis characterizing the tree diversity and composition of 22 oak-dominated forests in Central Mexico along a gradient of species richness, and collected soil and litter samples. In each site samples of litter and soil were collected along of three transects of 100 m in length. Subsequently DNA extractions, amplicon libraries of the genus ARNr 16S and metabarcoding processes were performed for the litter and soil samples, all of this based on next generation sequencing tools. Results indicated that *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, and *Acidobacteria* are the most abundant bacterial groups in litter and soil; however, the bacterial community composition differs between them. In addition to this, the structure of the oak community influenced the bacterial community composition of litter and soil and as a consequence it influences the dynamics and availability of nutrients in the ecosystem. The results in this study could be used as a basis for the generation of management and conservation strategies that are focused not only on plant species but also based on the understanding of the coupling of plant species with bacterial species in the forest floor.

1 INTRODUCCIÓN

A nivel planetario, gran parte de la superficie terrestre se ha transformado por la conversión de los paisajes naturales en beneficio de los requerimientos humanos. Estos cambios han tenido como consecuencia la disminución y degradación de los bosques, debido a la expansión de los centros urbanos y la intensificación de la agricultura (DeFries et al. 2004; Foley et al. 2005). La pérdida de ecosistemas forestales en el mundo es preocupante, pues se estima que han desaparecido alrededor del 80% de los bosques de África, 70% de los bosques de Asia y en América Latina se ha reducido su cobertura original a 53% (FAO 2007).

Dichos cambios colocan a los ecosistemas terrestres en un estado de vulnerabilidad alarmante, que ha derivado en un inusitado interés en las consecuencias ecológicas potenciales que devienen de la pérdida de la diversidad biológica (Loreau et al. 2001). Debido a esto, en las últimas décadas se ha desarrollado un campo de investigación que trata de entender las ligas entre la diversidad biológica y el funcionamiento de los ecosistemas. En este campo, se ha comenzado a cuantificar la forma en la que la diversidad biológica mundial controla los procesos ecológicos. Bajo este contexto, tanto la diversidad biológica como los procesos ecológicos son componentes esenciales para el funcionamiento de los ecosistemas, que de manera colectiva regulan el equilibrio del sistema planetario (Cardinale et al. 2011; Loreau et al. 2001).

El funcionamiento y las propiedades de los ecosistemas terrestres dependen fuertemente de las interacciones que ocurren entre las comunidades de plantas y los microorganismos que habitan el suelo (Wardle et al. 2004; Wardle 2006). En la dinámica de estas interacciones las comunidades vegetales proveen al ambiente de importantes recursos, nutrientes y componentes que sostienen y determinan el crecimiento bacteriano y la composición de su comunidad (Schweitzer et al. 2012). En los sistemas forestales, la producción de hojarasca que forma el mantillo, y su descomposición, representan la principal transferencia de materia orgánica (MO) entre las plantas y el suelo. Debido a esto, los procesos de descomposición son considerados como la fuente de fertilización natural

más importante, ya que proporcionan al suelo más de la mitad de los nutrientes que posteriormente serán absorbidos por las plantas (López-Hernández et al. 2013). Por otro lado, las comunidades microbianas representan un componente basal para los sistemas terrestres, pues tienen funciones clave en los ciclos biogeoquímicos, en los que desempeñan actividades esenciales en procesos como la adquisición y el ciclaje de nutrientes, y la formación del suelo. A través de estas actividades, los microorganismos promueven el establecimiento, el desarrollo, y la productividad de las comunidades vegetales (Vitousek 2004; Hackl et al. 2012). A pesar del reconocimiento de la gran importancia de estas interacciones entre plantas y microorganismos, aún no hemos logrado comprender con claridad cómo se relacionan la diversidad y la estructura de las comunidades vegetales con las comunidades microbianas del suelo.

Algunos estudios señalan que las especies de plantas varían en la cantidad y calidad de los recursos que retornan al suelo, debido a las diferencias que presentan en su capacidad de reabsorción de nutrientes (Aerts 1996; Yuan y Chen 2009; Meier & Bowman 2008; Drenowsky et al 2013; Chávez-Vergara & García-Oliva 2013; Chávez-Vergara et al. 2014; Chávez-Vergara 2015). Estas diferencias probablemente tienen una base genética, que puede divergir tanto entre especies como entre poblaciones dentro de una misma especie. Por consiguiente, las características fisiológicas de las especies vegetales tienen un efecto importante en la composición bioquímica de la materia orgánica, lo cual puede tener impacto en el ciclaje de nutrientes y la composición y actividad de las comunidades microbianas (Berendse 1998; Wardle et al. 2004; Bowman et al. 2004; Wardle 2006; Meier & Bowman 2008; Chávez-Vergara & García-Oliva 2013; Chávez-Vergara et al. 2014; Chávez-Vergara et al. 2015; Chávez-Vergara et al. 2016). Las investigaciones sobre este tema se han centrado de manera general en diferentes especies de plantas. Sin embargo, cada vez hay mayor reconocimiento en torno al hecho de que la variabilidad dentro de una misma especie también puede tener efectos importantes en los procesos del ecosistema (Wardle & Bardgett 2009; Bailey et al. 2009).

El género *Quercus* es uno de los componentes vegetales más importantes de los bosques templados en el hemisferio norte; y México es considerado el mayor centro de

riqueza y evolución de encinos en el continente americano, ya que posee alrededor de 161 especies en total y 109 son endémicas (Nixon 1993; Nixon et al. 1997; Valencia-A 2004). Las especies de encinos presentes en el país pertenecen a tres secciones del género: *Quercus* (encinos blancos), *Lobatae* (encinos rojos) y *Protobalanus* (encinos intermedios), y constituyen el principal grupo de plantas leñosas de los ecosistemas de montaña del país (Valencia 2004; Arizaga et al. 2009). A nivel mundial se ha observado que las especies del género *Quercus* presentan patrones de reabsorción de nutrientes foliares que se relacionan con la separación seccional del género. Según una revisión de la literatura, las especies que pertenecen a la sección *Quercus* (encinos blancos) aportan potencialmente residuos vegetales con mayor concentración de nutrientes en comparación con las especies pertenecientes a otras secciones (Chávez-Vergara 2013).

Con base en lo anterior consideramos que el género *Quercus* representa un modelo interesante para estudiar los efectos que tienen la diversidad, riqueza y composición de las comunidades de plantas en los ecosistemas terrestres; pues los distintos patrones de reabsorción foliar de nutrientes entre las secciones *Quercus* y *Lobatae* sugieren que la calidad química de los residuos vegetales es el principal factor que regula el proceso de descomposición del mantillo en las comunidades de encinos, lo cual implica que la huella fisiológica de las especies puede ser determinante en la dinámica de nutrientes del mantillo y el suelo de los bosques templados de encino, y en la composición y actividad microbiana de ambos componentes ecosistémicos .

2 ANTECEDENTES

Secuenciación de nueva generación, Illumina: secuenciación de amplicones y análisis de comunidades microbianas del suelo.

El suelo es considerado como el sistema terrestre con la mayor diversidad de poblaciones microbianas. Un gramo de suelo puede contener 10 mil millones de microorganismos que enmarcan la presencia de miles de especies distintas (Roselló-Mora & Amman 2001; Gans et al. 2005; Roesch et al. 2007; Mocali & Benedetti 2010). Dicha complejidad representa un enorme reto para el estudio de la diversidad de los microorganismos y las relaciones que estos sostienen con los componentes bióticos y abióticos de los ecosistemas terrestres.

Tradicionalmente, el estudio de la diversidad microbiana ha empleado métodos dependientes de cultivo, y técnicas moleculares para el estudio de los microorganismos que habitan el suelo. En las últimas décadas, la amplificación de los genes ribosomales que codifican para la subunidad 16S (ARNr 16S) y la secuenciación Sanger por electroforesis capilar han sido las técnicas moleculares más utilizadas en los estudios sobre la diversidad bacteriana del suelo. El proceso de secuenciación Sanger tiene la capacidad de generar lecturas de alta precisión (hasta 99.999% por base) de los fragmentos de ADN, alcanzando longitudes de hasta 1,000 pares de bases (Shendure & Hanlee 2008).

A pesar de los grandes aportes que las técnicas tradicionales han brindado para el estudio de la diversidad bacteriana, aún presentan ciertas limitantes. Algunos ejemplos de lo anterior es que los métodos de cultivo y aislamiento sólo pueden tener acceso al 1% de los procariontes que se encuentran en el suelo (Torsvik et al. 1990); mientras que la tecnología de secuenciación Sanger posee una baja eficiencia para generar múltiples lecturas en paralelo, pues sólo permite recuperar hasta 1kb de información de 1 a 96 muestras individuales (Kircher & Kelso 2010; Zhang et al. 2011). Por lo tanto, las limitaciones de los métodos tradicionales reducen en cierta medida la eficiencia para el desarrollo de estudios a gran escala.

Sin embargo, a partir del año 2005, los avances en el área de las ciencias genómicas han revolucionado los métodos para el estudio de la diversidad microbiana (Roesch et al. 2007). La secuenciación de nueva generación (SNG) forma parte de los avances en la genómica y se desarrolla con base en el concepto de “cyclic-array sequencing”, que puede resumirse como la secuenciación de una densa matriz de clusters de información de ADN mediante ciclos iterativos de manipulación enzimática y recolección de datos mediante imágenes formadas a partir de nucleótidos marcados con fluorescencia (Shendure & Hanlee, 2008).

Una de las grandes ventajas de las plataformas de SNG es la capacidad de leer múltiples librerías en una corrida de secuenciación, ya que emplean marcadores genéticos específicos (“barcodes”) para cada una de las muestras que conforman las librerías, y generan decenas de millones de lecturas de secuenciación en paralelo. Esta capacidad de secuenciación masiva puede generar lecturas de librerías conformadas por fragmentos de un genoma específico (secuenciación del genoma; genómica), de librerías de ADNc generadas a través de la transcripción inversa de las moléculas de ARN (secuenciación del transcriptoma; transcriptómica) o a partir de un conjunto de secuencias amplificadas por PCR (secuenciación de amplicones) (Shokralla et al. 2012, Staley et al. 2013).

Solexa/Illumina es una de las plataformas que implementa la tecnología de SNG. El proceso de secuenciación Illumina emplea las técnicas de PCR de puente y secuenciación por síntesis o “sequence by synthesis”. La PCR de puente inicia el proceso de amplificación. En primera instancia los primers forward y reverse de las librerías a secuenciar se anclan en una red de oligos ubicados en la superficie de una celda de cristal (flow-cell); las copias generadas a partir de la PCR de puente ocupan el mismo espacio que su fragmento base, agrupándose así en clusters que poseen ubicaciones específicas a lo largo de la celda de cristal (Shendure & Hanlee, 2008) (Fig. 1). Al finalizar la generación de clusters de amplicones (clustering), comienza la ejecución de la secuenciación por síntesis (SBS por sus siglas en inglés). El proceso de secuenciación utiliza un método patentado que emplea cuatro deoxinucleótidos modificados (dNTPs por sus siglas en inglés: dATP, dGTP, dCTP y dTTP) denominados también como “terminadores reversibles” (Illumina Inc., 2015). Los deoxinucleótidos compiten por incorporarse a la cadena en crecimiento, una vez que la base correspondiente se ancla, el grupo fluorescente es eliminado y el extremo 3’ hidroxil de la cadena queda disponible para dar paso al siguiente ciclo de incorporación (Shendure & Hanlee 2008) (Fig.1). De esta manera la secuenciación de los fragmentos se va realizando base por base. Los fluoróforos de los dNTPs reaccionan ante la emisión de un láser, la adenina (A) y la citosina (C) emiten una señal de color rojo, mientras que la guanina (G) y la timina (T) emiten una señal de color verde (Schirmer et al. 2015). De esta manera cada ciclo de incorporación es seguido por una señal de imagen que identifica la identidad de las bases

a partir del haz de luz que emiten. El número de ciclos de secuenciación determina la longitud de las secuencias finales. Solexa/illumina tiene la capacidad de realizar hasta 250 ciclos en los procesos de secuenciación (Illumina Inc., 2016).

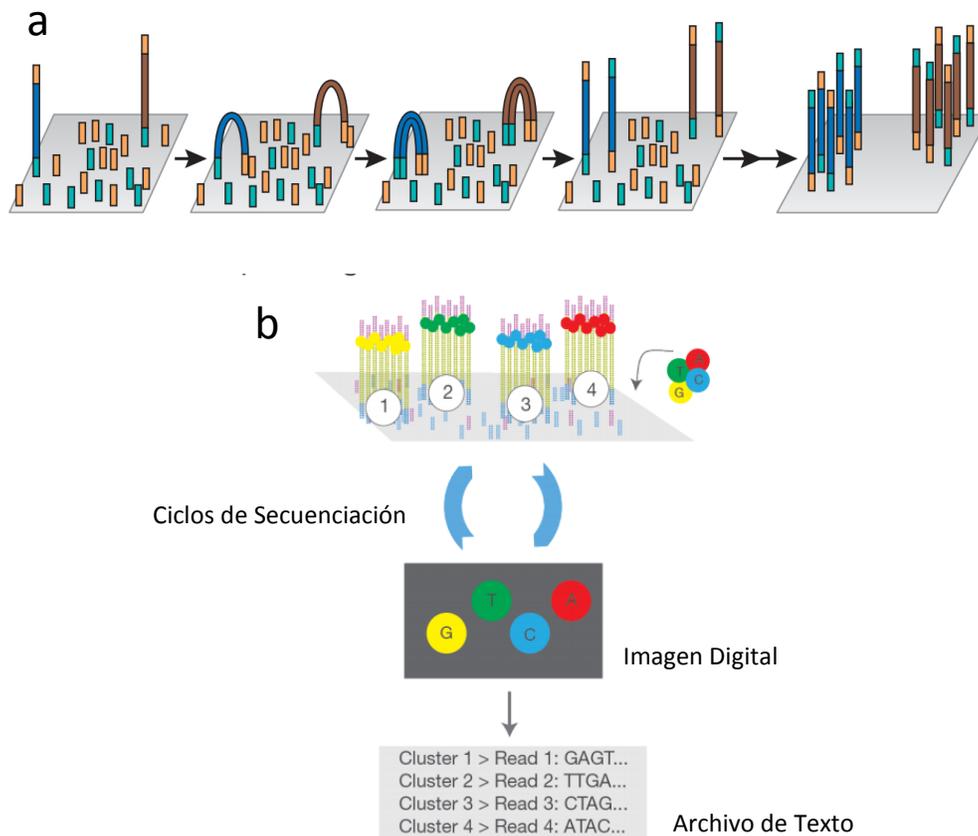


Figura 1. (a) Amplificación y clustering mediante PCR de puente (tomado de Shendure & Hanlee, 2008). (b) Secuenciación por síntesis e identificación de deoxinucleótidos en imagen digital (tomado de https://www.illumina.com/content/dam/illumina/marketing/documents/products/illumina_sequencing_introduction.pdf).

La eficiencia y capacidad de generar información masiva a partir de procesos simultáneos convierte a las plataformas de SNG en herramientas indispensables para el análisis de la composición y estructura de las comunidades microbianas del suelo. Dichas tecnologías nos permiten establecer un mayor entendimiento sobre el papel que juegan los microorganismos y las interacciones que se desarrollan entre plantas y microorganismos en los ecosistemas terrestres y que permiten la regulación biogeoquímica del planeta.

Relación planta-suelo-microorganismo y procesos biogeoquímicos del ecosistema

Los ciclos biogeoquímicos integran el movimiento y la transformación de los elementos clave para el desarrollo de la vida (carbono-C, hidrógeno-H, oxígeno-O, nitrógeno-N, fósforo-P y azufre-S), por medio de reacciones químicas y bioquímicas entre la atmósfera, la hidrósfera y la litosfera (Athlas y Barta 1998).

En el suelo se llevan a cabo muchos de los procesos que determinan la disponibilidad de nutrientes. Así mismo, el suelo es la matriz que sostiene a las comunidades vegetales, por lo cual desempeña un rol fundamental en el funcionamiento de los ecosistemas. Aunado a esto, se ha observado que las interacciones entre las comunidades de plantas y la microbiota del suelo influyen en los procesos de la dinámica de nutrientes en los ecosistemas terrestres (Wardle et al. 2004). Las plantas contribuyen a la fertilidad química del suelo, siendo una reserva de nutrientes que se vuelven disponibles mediante la mineralización (N y P). Además, las plantas son la base de la actividad biológica, ya que representan la fuente de C y energía que requieren los organismos heterótrofos, principalmente hongos, bacterias e insectos (Chenu et al. 2015). Por su parte, la microbiota del suelo regula la disponibilidad de nutrientes que pueden ser utilizados por las plantas, a través del proceso de descomposición de la materia orgánica del suelo (Wardle et al. 2004).

De esta manera, la estructura, composición y variación genética de la vegetación influye directamente en la dinámica de nutrientes, ya que la cantidad, la composición bioquímica y las propiedades de las plantas son factores que controlan la formación de la materia orgánica (MO) (Kögel-Knabner 2002; Schweitzer et al. 2012). La MO juega un rol de suma importancia en la fertilidad del suelo, incrementando la retención de agua y

generando agregados de las partículas minerales, reduciendo así el proceso de erosión (Chenu et al. 2015) y favoreciendo así los procesos de transformación de nutrientes. Además, representa la principal fuente de nutrientes disponibles y fertilización natural. Más de la mitad de la absorción anual de nutrimentos en los bosques se debe a la reincorporación de hojarasca al suelo y el subsecuente reciclaje de estos nutrientes permite el crecimiento de las comunidades de plantas y microorganismos (Del Valle-Arango 2003; Eldor, 2007; McLaughlan, 2006;López-Hernández et al. 2013).

Los ecosistemas terrestres también dependen de las actividades que desempeña la microbiota del suelo. Los microorganismos son componentes basales de la cadena alimentaria y sostienen posiciones clave en los ciclos biogeoquímicos, a tal grado que se ha señalado que este grupo de organismos regula aproximadamente del 80% al 90% de los procesos que ocurren en el suelo (Nannipieri et al. 2003). Esto es posible debido a que, de manera colectiva, ejercen una gran fuerza metabólica, que surge de su gran diversidad genética y amplia versatilidad enzimática (Hackl et al. 2012).

En los suelos, las enzimas extracelulares son fundamentales para la descomposición y transformación de polímeros orgánicos complejos a sustancias oligoméricas o monoméricas, que son lo suficientemente pequeñas para ser transportadas dentro de la célula (Sinsabaugh & Follstad Shah 2012). Estas enzimas han sido extensamente estudiadas y son consideradas agentes clave en el proceso de descomposición de la materia orgánica, y en el ciclaje del C, N y P de los suelos (Dick 2011). La cuantificación de la actividad enzimática se ha utilizado como indicador de las tasas de transformación de nutrientes, actividad microbiana y fertilidad del suelo (Nannipieri et al. 2012). Plante et al. (2015) señalan que las enzimas extracelulares en el suelo se dividen principalmente en dos grupos: hidrolasas y oxidasas. Las hidrolasas son sustrato-específicas; su estructura les permite catalizar reacciones que rompen enlaces específicos de la materia orgánica (i.e. C-O, C-N), mientras que las oxidasas utilizan oxígeno (oxígenasas) o peróxido de hidrógeno (peroxidasas) para oxidar conjuntos de moléculas que comparten enlaces similares (i.e. C-C, C-O).

Los microorganismos pueden producir enzimas de manera rutinaria o inducida por la presencia del sustrato específico o en la ausencia de un inhibidor (Eldor, 2007). Diversos factores pueden afectar a los microorganismos del suelo y en consecuencia su actividad, entre los que sobresalen: las fuentes de C y energía, los nutrientes, la disponibilidad de agua, la temperatura, el pH, la presión, la radiación y el potencial redox (Nannipieri et al. 2003).

A diferencia del CO₂ atmosférico, que es fijado por las plantas mediante la fotosíntesis, la asimilación del N y P se realiza a través de la raíz. El N está presente en nueve formas químicas distintas en el suelo (nitrato-NO₃⁻, dióxido de nitrógeno-NO₂, nitrito-NO₂⁻, óxido nítrico-NO, óxido nitroso-N₂O, dinitrógeno-N₂, amoníaco-NH₃, amonio-NH₄⁺ y nitrógeno orgánico-R_{NH3}). El N₂ conforma el 79% de la atmósfera y es la forma química de N más abundante de la biósfera, sin embargo, la mayoría de los organismos no pueden hacer uso de él, incluidas las plantas (Robertson & Groffman 2015). Únicamente algunos procariontes tienen la capacidad de sintetizar la nitrogenasa que cataliza la conversión de N₂ atmosférico a amoníaco (NH₃), la cual es una forma química del nitrógeno que puede ser asimilada por las plantas. Las bacterias que realizan este proceso pueden ser de vida libre como las cianobacterias y representantes de los géneros *Bacillus*, *Klebsiella*, *Azotobacter* y *Clostridium*; bacterias simbiotas de leguminosas como *Rhizobium*; y fijadoras de vida libre asociadas a la rizósfera de pastos de la familia *Poaceae*, entre las que se encuentran algunas especies de *Azospirillum* (Hopkins y Dungait 2010; Madsen 2011).

Por su parte, el P deriva en última instancia de minerales que contienen fosfato, provenientes del material parental, tales como la apatita. Estos minerales se liberan progresivamente en el suelo por la acción del intemperismo químico y la actividad biológica (Kertesz & Frossard 2015). Entre algunos de los géneros bacterianos que tienen la capacidad de promover la disponibilidad de P se encuentran: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aereobacter*, *Flavobacterium* y *Erwinia* (Rodríguez y Fraga 1999). Debido a que la cantidad de P inorgánico disponible es reducida, los organismos persisten gracias a un reciclado eficiente del P orgánico contenido

en componentes biológicos tales como el mantillo, residuos de animales y el debrís microbiano (Schlesinger 2000; Kertesz & Frossard 2015).

El proceso de descomposición de la MO también controla la disponibilidad de nutrientes en el suelo, y se lleva a cabo mediante dos fases: la despolimerización que hace referencia a la fragmentación de compuestos orgánicos complejos a moléculas estructuralmente más sencillas (oligómeros y monómeros), y la mineralización, que es la transformación de un compuesto orgánico a su forma inorgánica (Chesworth 2007; Fenchel et al. 2012). Los factores principales que controlan la descomposición son: la calidad del sustrato, los microorganismos y las condiciones ambientales.

La despolimerización está mediada por enzimas extracelulares que catalizan la fragmentación de la MO formando compuestos orgánicos solubles de C, N y P (COD, NOD, POD). Entre las enzimas importantes en la dinámica de C se encuentran la galactosidasa, la lacasa, la celulasa, y la glucosidasa entre otras; mientras que las ureasas y proteasas participan en el ciclo del N y las fosfatasas en el ciclo del P (Karaca et al. 2011). El COD y el NOD pueden ser directamente inmovilizados o utilizados como fuente de energía por los microorganismos; por otro lado, las plantas solamente pueden utilizar estos compuestos en sus formas inorgánicas.

El proceso de mineralización del NOD está mediado por la actividad de los microorganismos, el cual se lleva a cabo de manera intracelular y tiene como resultado final la generación y liberación de NH_4^+ en el suelo. Sin embargo, existen otros procesos de transformación del N tales como la nitrificación y la desnitrificación. La nitrificación es la oxidación del NH_4^+ a formas menos reducidas, principalmente NO_2^- y NO_3^- . Las dos fases de oxidación del amonio son realizadas por un grupo específico de bacterias autótrofas. La generación de NO_2^- se lleva a cabo por grupos bacterianos del género *Nitrosomonas*, mientras que la oxidación de éste a NO_3^- está regulada por un grupo de Proteobacterias, entre las que sobresale *Nitrobacter*, y por bacterias del phylum Nitrospirae (Attard et al. 2010; Madsen 2011; Paul 2007; Robertson & Groffman 2015). La forma química en la que se encuentre el N en el suelo puede generar la pérdida o el mantenimiento de este nutriente

en el ecosistema. Cuando el N se encuentra como NH_4^+ , se favorecen los mecanismos de protección tales como, la inmovilización en la biomasa microbiana y la retención en la superficie de intercambio catiónico de partículas del suelo. Mientras que al encontrarse en forma de NO_3^- , el N es más susceptible de perderse del ecosistema por lixiviación o desnitrificación, que es el proceso de reducción de este compuesto a formas gaseosas de N (NO , N_2O y N_2) (Paul 2007; Robertson & Groffman 2015).

El P orgánico puede ser mineralizado de manera biológica, cuando los microorganismos mineralizan compuestos orgánicos en busca de fuentes de C liberando así el P asociado con dichas fuentes, o bioquímicamente, cuando la microbiota libera enzimas fosfatasas (fosfomonoesterasa, fosfodiesterasa, fosfotriesterasa, entre otras) en busca de fuentes de P (McGill & Cole 1981). Las fosfatasas catalizan la hidrólisis de los enlaces de ésteres de fosfato para liberar de esta manera ortofosfato (PO_4^+), que es la forma inorgánica del P. En el suelo, la mayor actividad de mineralización de P orgánico ocurre en la rizósfera, ya que tanto las raíces de las plantas (López-Gutiérrez et al., 2004), como los microorganismos, liberan fosfohidrolasas extracelulares (Dao y Hoang 2008). Entre los grupos bacterianos que producen estas enzimas se encuentran: *Bacillus*, *Serratia*, *Proteus*, *Arthrobacter* y *Streptomyces* (Paul, 2007). Una vez que se ha mineralizado el P orgánico, el PO_4^+ puede ser asimilado por las plantas, inmovilizado por la biomasa microbiana, adsorbido a las superficies minerales o precipitado con Ca o Al dependiendo del pH del suelo (Bünemann y Condron 2007; Paul 2007).

Efecto de la variabilidad genética de las plantas en las comunidades del suelo: el caso de la reabsorción foliar de nutrientes.

Biodiversidad es un término que abarca toda la variabilidad que encontramos entre los organismos vivos que habitan los ecosistemas. Esta variabilidad se puede observar en distintos niveles de organización. La variabilidad está presente entre genomas de individuos, entre poblaciones formadas por individuos de una misma especie, entre especies que conforman una comunidad, o entre comunidades que se desarrollan en un mismo espacio. Todos los tipos de variación pueden ser analizados; en ecología la

variabilidad e identidad de las especies determinan su papel en las interacciones de la comunidad y en el funcionamiento de los ecosistemas (Quijas & Balvanera 2013; Madritch & Lindroth 2011).

Se ha documentado que la expresión de las diferencias genéticas en la morfología, la fisiología y los rasgos bioquímicos entre las distintas especies de plantas que conforman una comunidad, tiene un efecto importante en los procesos que se llevan a cabo en el suelo de los ecosistemas terrestres (cambios en el pH, descomposición de la hojarasca, depósito de nutrientes, mineralización de N, ciclaje de nutrientes, composición de la microbiota) (Zinke 1962; Bever et al. 1996; Rhoades 1996). Sin embargo, las observaciones de los últimos años en relación a los vínculos entre la variación de los rasgos de las plantas y los procesos del suelo sugieren que la diversidad genética intraespecífica de las plantas también puede tener influencia en las comunidades que habitan el suelo y los procesos que regulan (Hobbie 1992; Binkley & Giardina 1998; Hooper et al. 2000; Wardle et al. 2004). Un ejemplo de esto es el acoplamiento entre la calidad química de los residuos vegetales y la capacidad metabólica de la comunidad microbiana

En particular, la composición bioquímica del mantillo constituye un potente rasgo funcional. Debido a diferencias fisiológicas en la capacidad de reabsorción foliar de nutrientes (RFN), las hojas senescentes entre distintas especies y dentro de una misma especie pueden determinar diferencias en la composición bioquímica del mantillo que producen (Chávez-Vergara 2014). La RFN resulta de la catálisis de polímeros que contienen una alta concentración de N y P (proteínas, fosfolípidos, ácidos nucleicos, pigmentos) así como carbohidratos no estructurales. Este proceso repercute en la concentración de nutrientes y de moléculas orgánicas que componen el mantillo, afectando de esta manera la composición química de la MO que entra en los ecosistemas forestales (Mae 2004; Cornwell et al. 2008; Covelo et al. 2008; Hättenschwiler et al. 2008; Ueda et al. 2011; Pietsch et al. 2014).

Bajo este contexto, se ha observado que las especies de plantas caducifolias presentan una mayor eficiencia de reabsorción de N y P en comparación con las especies perennifolias. Sin embargo, dentro de las especies caducifolias también existe

diferenciación en la RFN. Las especies caducifolias que presentan una baja eficiencia en la RFN tienden a generar MO conformada por altas concentraciones de N y P, promoviendo de esta manera la fertilización; mientras que las especies que poseen una alta eficiencia de RFN producen MO pobre en N y P, por consiguiente reducen de manera significativa la liberación de nutrientes en el suelo (Cornwell et al. 2008; Duboc et al 2012; Freschet et al. 2012; Freschet et al. 2012; Berg & McLaugherty2014; Fanin et al. 2014; Hayes et al. 2014).

En los ecosistemas forestales, la MO se puede producir a partir de dos o más especies de plantas. La mezcla de mantillos en estos sistemas puede presentar diferenciación en las tasas de descomposición dependiendo de la calidad y cantidad del recurso que proveen las especies asociadas. Este patrón de asociación/interacción de plantas es conocido como sinérgico (Gartner & Cardon 2004; Bergand McLaugherty 2014). La MO producida por la asociación de especies de plantas que muestran una baja RFN tiene mayor diversidad de compuestos orgánicos en comparación con la MO producida por una sola especie, lo cual indica que la MO mixta puede promover una mayor disponibilidad de energía y nutrientes para el desarrollo y actividad de la comunidad microbiana (Chávez-Vergara et al. 2015).

Variación en la cantidad y calidad de la materia orgánica entre dos secciones del género *Quercus*: *Lobatae* y *Quercus*

La separación taxonómica entre secciones infragenéricas de *Quercus* está relacionada con la capacidad de reabsorción de nutrientes foliares entre especies. La literatura reporta que las especies deciduas del género *Quercus* pertenecientes a la sección *Lobatae* (encinos rojos) presentan mayor reabsorción foliar de nitrógeno en comparación con las especies que pertenecen a la sección *Quercus* (encinos blancos). Las especies de éstas dos secciones crecen juntas en varios bosques de Norte América (Rodríguez-Trejo & Myers 2010; Aldrich & Cavender-Bares 2011). Un ejemplo de las diferencias en la reabsorción de nutrientes entre las dos secciones del género es el caso de: *Q. castanea* (sección, *Lobatae*) y *Q. deserticola* (sección, *Quercus*). Chávez-Vergara et al. (2014) reportaron diferencias en la reabsorción de nutrientes entre estas dos especies, de forma que la hojarasca de *Q.*

castanea contiene bajas concentraciones de N y P y una alta proporción de moléculas recalcitrantes, en comparación con la hojarasca producida por *Q. deserticola*. Los patrones de diferenciación en la calidad de la hojarasca entre estas dos especies son similares a la concentración de nutrientes de su mantillo, lo cual sugiere que la huella de cada especie en la composición bioquímica se mantiene en el suelo de los ecosistemas forestales (Chávez-Vergara 2015, Chávez-Vergara et al. 2018). Como resultado de las diferencias entre las dos especies, se observó mayor actividad microbiana en el mantillo de *Q. deserticola* ya que representa un recurso de mayor calidad, lo cual permite un incremento en la transformación de nutrientes y en la fertilidad del suelo. Mientras que la comunidad microbiana que se desarrolla a partir de los recursos de *Q. castanea* centra más su energía en la ejecución de procesos metabólicos (producción de eco-enzimas) para la adquisición de nutrientes antes que en su crecimiento poblacional (Chávez-Vergara et al. 2016).

No obstante, la coexistencia de las dos especies de encinos genera una relación sinérgica, pues la fertilidad y la transformación de nutrientes del suelo se incrementan cuando *Q. castanea* recibe el aporte de la MO rica en nutrientes de *Q. deserticola* (Chávez-Vergara et al. 2015 EJFR). Aunado a esto, existen registros de los efectos significativos de la influencia de la calidad y cantidad del mantillo sobre la composición y actividad de las comunidades de la microbiota del mantillo y del suelo (Hooper & Vitousek 1997; Grayston et al. 1998; Negrete-Yankelevich et al. 2008; Vivanco & Austin 2008; Shcweitzer et al. 2008; Witham et al. 2008; Ayres et al. 2009; Freschet, Aerts & Cornelissen 2012; Austin et al. 2014).

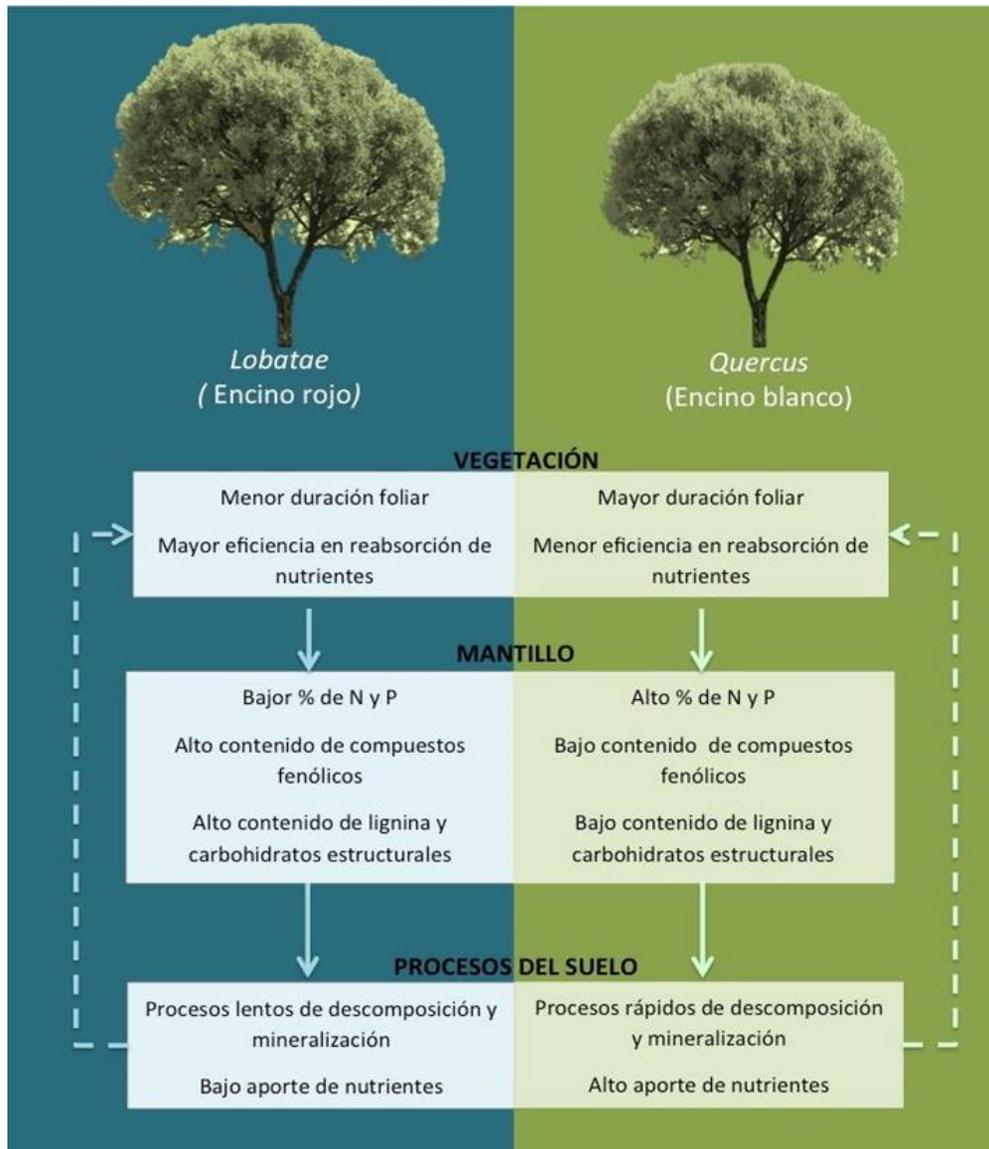


Figura 2. Diagrama sobre la diferenciación fisiológica en la reabsorción foliar de nutrientes entre especies de dos secciones del género *Quercus*. Elaborado a partir de los datos de Chávez-Vergara (2015).

Así pues, reconociendo la importancia del efecto que tienen las distintas composiciones bioquímicas del mantillo de estas dos especies de encino en el ciclaje de nutrientes y en la actividad microbiana de un sistema forestal, en este trabajo se buscó evaluar si dichos patrones se mantienen a lo largo de un gradiente de riqueza de encinos pertenecientes a las secciones *Quercus* y *Lobatae*. Aunado a esto, también se evaluó el efecto de la coexistencia de diferentes especies de encinos sobre la diversidad y

composición de las comunidades bacterianas del suelo, ya que estas relaciones no han sido exploradas para este tipo de ecosistemas. El gradiente de riqueza de especies se ubica en la zona centro de México y está compuesto por 22 sitios con diferente número de especies de encinos y presenta variaciones en la proporción de especies de encinos rojos y encinos blancos. En general, México representa una oportunidad ideal para el desarrollo de este tipo de estudios, pues en él se encuentran 161 especies de encino (Valencia 2004) y existen diversos patrones de coexistencia en las comunidades de bosques compuestas por especies del género. Los resultados de este trabajo permitirán una mayor comprensión de los vínculos que existen entre la diversidad, riqueza y composición de las comunidades de plantas y la diversidad y composición de las comunidades microbianas del suelo.

3 OBJETIVOS

Determinar la composición de la comunidad bacteriana en el suelo y el mantillo a lo largo de un gradiente de riqueza de especies de encino pertenecientes a las secciones *Lobatae* y *Quercus* y determinar su posible relación con la dinámica de nutrientes.

4 HIPÓTESIS

La composición, riqueza y diversidad de las especies de encinos pertenecientes a las secciones *Lobatae* y *Quercus*, tienen un efecto significativo en la dinámica de nutrientes y en la composición de la comunidad microbiana del suelo y el mantillo.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Sitio de estudio

El estado de Michoacán de Ocampo forma parte de la región Centro Occidente de México, localizándose entre los 20° 23' 44" y 18° 09' 49" de latitud norte y los 100° 04' 48" y 103° 44' 20" de longitud oeste. Abarca una superficie aproximada de 58 836 km² con altitudes que varían desde el nivel del mar hasta los 3,840 m con una altitud media de 1,343 m. Se ubica en las provincias geológicas denominadas Sierra Madre del Sur y Faja Volcánica Transmexicana. La variedad litológica, fisiográfica y climática del estado ha permitido el

desarrollo de los siguientes grupos de suelo: litosoles, rendzinas, andosoles, regosoles, vertisoles y fluvisoles (Bocco et al. 1999).

Los tipos de clima predominantes en el estado son el cálido subhúmedo (A(w1), A(wo)) y el templado subhúmedo (C (w1), C (w2)). El promedio de la temperatura mínima y máxima es 13.8 y 29.4 °C, respectivamente, con precipitación media de 850 mm (García, 1990 en Cué Bär et al. 2006). Michoacán es uno de los estados más diversos del país en cuanto a tipos de vegetación (Bocco, Mendoza & Masera 2001). En las zonas templadas se distribuyen bosques de oyamel, pino, encino y pino-encino, mientras que en las zonas cálidas del estado se encuentran selvas caducifolias bajas y medianas (Mas et al. 2017).

El estudio se realizó en un gradiente de riqueza de especies de encino, ubicado en la Faja Volcánica Transmexicana, particularmente en el estado de Michoacán. A lo largo del gradiente se identificaron 12 especies distintas de encino, de las cuales 6 pertenecen a la sección *Quercus* (*Q. deserticola*, *Q. glaucoides*, *Q. magnoliifolia*, *Q. obtusata*, *Q. peduncularis* y *Q. rugosa*) y 6 pertenecen a la sección *Lobatae* (*Q. acutifolia*, *Q. calophylla*, *Q. crassifolia*, *Q. crassipes*, y *Q. laurina*) (González-Rodríguez et al. en prensa). Los bosques del sitio de estudio tienen una gran importancia ecosistémica debido a que uno de los principales servicios que ofrecen es la captura y el almacén de Carbono (C). García-Oliva et al. (2016) estimaron que el almacén de carbono en el suelo de los bosques de encino de la zona de estudio es de 150 Mg C ha¹. Debido a lo anterior el sitio de estudio es un modelo interesante para intentar comprender las relaciones que existen entre las comunidades vegetales, las comunidades microbianas y el ciclaje de nutrientes en los ecosistemas terrestres.

5.2 Diseño de muestreo

Se seleccionaron 22 sitios de muestreo a lo largo de un gradiente de riqueza de especies de encino (Fig.6) con base en un modelo de riqueza de especies del género *Quercus* en Michoacán (Rodríguez-Correa et al. 2018, Fig.5b). En cada sitio se determinó la composición de especies, la riqueza y la diversidad de las comunidades de encinos (Tabla1), utilizando 3 transectos independientes de 100 m x 40 m, separados entre ellos al menos

por 500 m, con lo que se seleccionaron 66 transectos. La especie más frecuente fue *Q. castanea*, que se observó en 40 transectos (60%), seguida de *Q. obtusata* (47%), *Q. rugosa* (35%) y *Q. magnoliifolia* (27%). Las especies menos frecuentes fueron *Q. crassifolia* (11%), *Q. deserticola* y *Q. acutifolia* (ambas 6%) y *Q. peduncularis* (3%). La riqueza de especies por transecto varió entre una y seis especies (Fig. 3), en la mayoría de los transectos se encontraron dos especies (32,48%) coexistiendo; en seis transectos (9%) se observó sólo una especie, y sólo en un transecto (1.5%) se observaron seis especies (González-Rodríguez et al. en prensa). La proporción de especies de encinos blancos y encinos rojos mostró una fuerte tenencia de igualdad (Fig. 4), ya que 29 transectos (44%) tuvieron especies de encino rojo y encino blanco en proporciones iguales (0.5), mientras que pocos transectos se conformaron sólo por especies de encino blanco o por especies de encino rojo (7 para cada caso) (González-Rodríguez et al. en prensa).

A lo largo de cada transecto se colectaron cinco muestras de suelo y cinco de mantillo cada 20 m (Fig.5a), con las cuales se formó una muestra compuesta de suelo y una de mantillo por transecto (n=66 para suelo y n=66 para mantillo). Las muestras de mantillo se recolectaron utilizando un anillo de PVC de 16cm de diámetro, las muestras de suelo se colectaron de los primeros 15 cm de profundidad con un nucleador de 7.5 cm de diámetro. Todas las muestras se almacenaron en bolsas herméticas y negras a 4°C para reducir la actividad biológica posterior a la colecta.

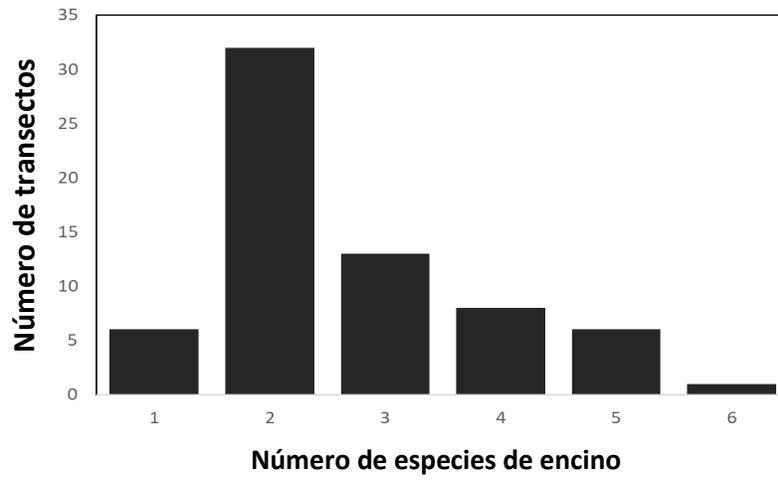


Figura 3. Riqueza de especies por transecto.

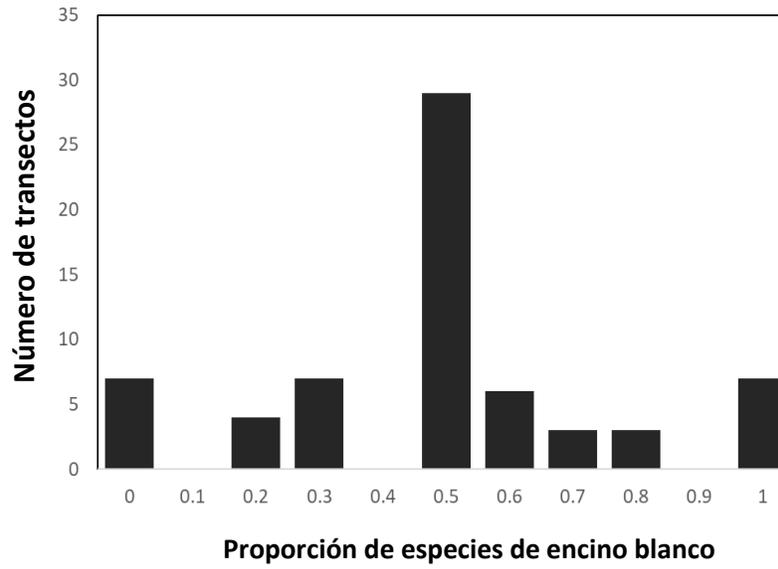
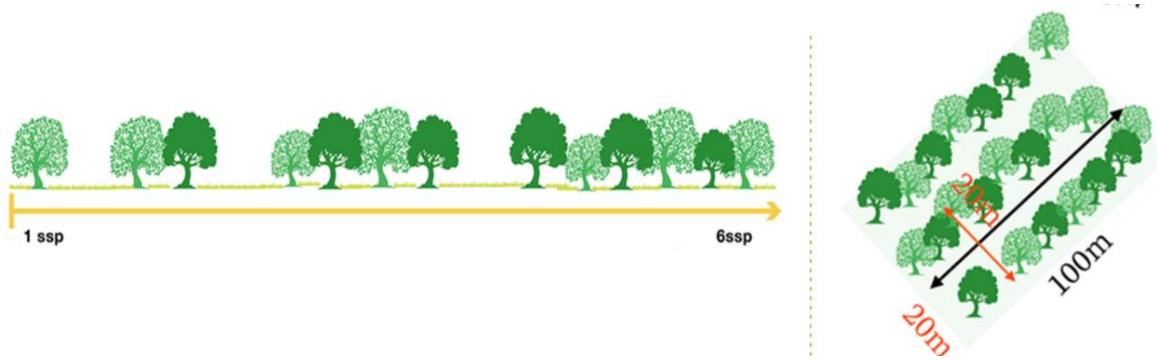


Figura 4. Proporción de especies de encino blanco por transecto.

a



b

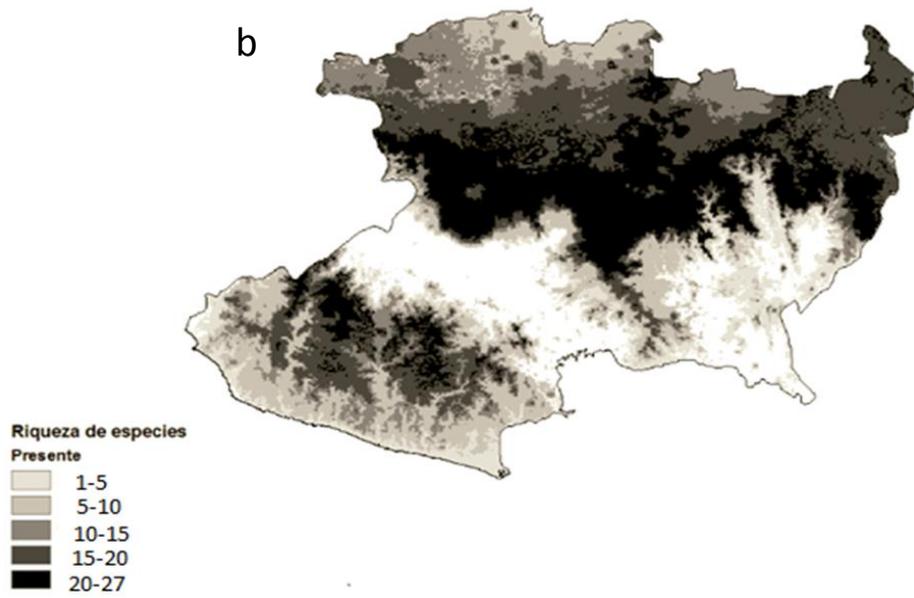


Figura 5. (a) Diseño de muestreo. (b) Modelo de riqueza de especies del género *Quercus* en el estado de Michoacán, México (tomado de Rodríguez-Correa et al. 2018).

Tabla 1. Ubicación geográfica de los sitios y datos de diversidad de encinos.

Sitio	Municipio y Edo.	Coordenadas (Lat N, Long W)	Elevación (m)	Riqueza Total	Riqueza encinos rojos	Riqueza encinos blancos	Proporción encinos blancos	Individuos totales
Atécuaro	Morelia, Michoacán	19°42', 101°16'	1963	5	1	4	4	304
S. Miguel del monte	Morelia, Michoacán	19°36', 101° 9'	2438	3	1	2	2	132
S. José	Morelia, Michoacán	19°39'01.3",101°06'54.6	2211	3	1	2	2	445
S. Nicolás	Morelia, Michoacán	19°38'57.78",101°18'9.71"	1958	6	3	3	1	275
Chiquimitío	Morelia, Michoacán	19°45'50.71",101°16'29.38"	2401	3	1	2	2	286
Nicolás Q	Morelia, Michoacán	19°37'40.68",101°20'8.31"	2493	1	0	1	-	66
Iratzio	Morelia, Michoacán	19°38'12.3",101°23'30.3"	2422	3	2	1	0.5	222
Umécuaro	Morelia, Michoacán	19°32', 101°15'	2160	2	1	1	1	158
Cerro Burro	Pátzcuaro, Michoacán	19°26'36.20",101°30'57.63"	3105	2	1	1	1	93
Cuanajo	Pátzcuaro Michoacán	19°28', 101°28'	2508	3	1	2	2	58
Carindapaz	Hidalgo, Michoacán	19°41'50.83",100°54'38.52"	2357	3	1	2	2	94
Los Azufres	Hidalgo, Michoacán	19°47'34.23",100°41'7.17"	2865	3	2	1	0.5	97
Coro	Zinapécuaro, Michoacán	19°53'34.44",100°52'36.67"	1909	2	1	1	1	112
S. Juan del Rincón	Zinapécuaro, Michoacán	19°52'08.4",100°46'33.5	2059	3	1	2	2	171
Barrio San Juan	Coeneo, Michoacán	19°42'53.7",101°36'51.9"	2304	4	2	2	1	190
Ejido San Lázaro	S.Escalante, Michoacán	19°27', 101°36'	2336	2	1	1	1	240
Epazote	Zitácuaro, Michoacán	19°21'48.17",100°24'31.95"	1794	5	2	3	1.5	177
Indaparapeo	Indaparapeo, Michoacán	19°40'30.38",100°51'30.78"	2700	3	2	1	0.5	83
La Paloma	Acuitzio, Michoacán	19°25', 101°16'	2066	5	3	2	0.6	172
R. Uruapan	Uruapan, Michoacán	19°25', 102° 5'	1710	2	1	1	1	103
Tacuitapan	Santo Tomás, Edo.México	19° 9'54.44",100°14'58.68"	1629	2	0	2	-	74
Tequila	Tequila, Jalisco	20°47'43.69",103°50'48.08"	2809	4	3	1	0.3	186

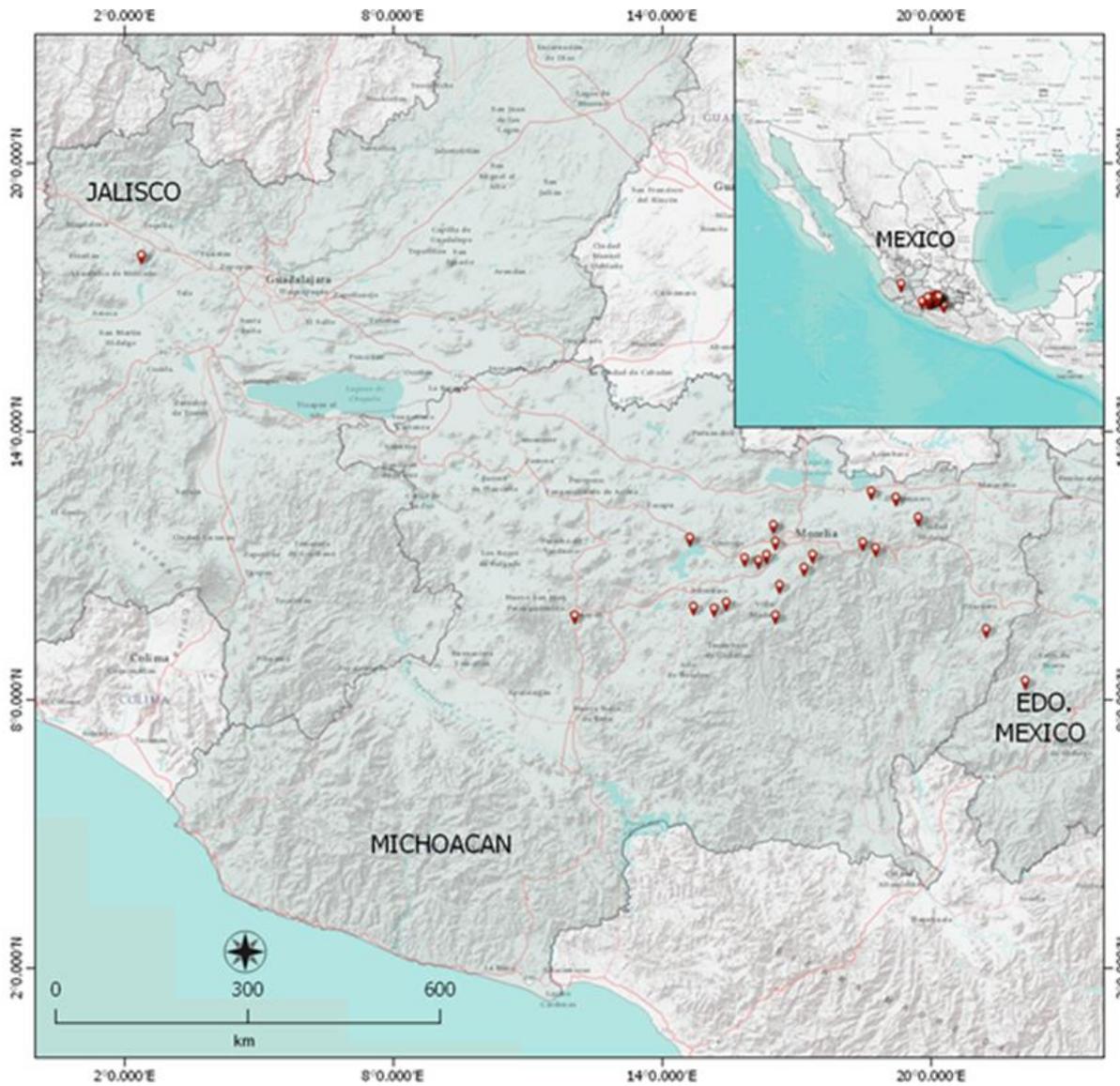


Figura 6. Ubicación de los sitios de muestreo a lo largo de un gradiente de riqueza de especies de encinos.

5.3 Análisis de laboratorio

Con el objetivo de realizar un análisis integral sobre los vínculos que existen entre la comunidad microbiana del suelo y el mantillo, la composición de la comunidad vegetal y la dinámica de nutrientes a lo largo del gradiente de riqueza de encinos, en este estudio se incluyeron datos moleculares (obtenidos en esta tesis), datos de la estructura de la comunidad vegetal (obtenidos en el Laboratorio de Genética de la Conservación, IIES,

UNAM) y datos de biogeoquímica de mantillo y suelo (obtenidos en el laboratorio de Biogeoquímica de suelos, IIES, UNAM). Los datos moleculares se obtuvieron utilizando la técnica de *metabarcoding* basada en bibliotecas de amplicones de un fragmento del gen bacteriano 16S ribosomal, para conocer la composición de la comunidad bacteriana del suelo y el mantillo. Los datos de la estructura de la comunidad de encinos, se obtuvieron *in situ* y fueron proporcionados por González-Rodríguez (Tabla 1). Finalmente, los datos biogeoquímicos de concentración de las distintas formas de C, N y P en cada una de las muestras de suelo y mantillo fueron proporcionados por García-Oliva; ver Chávez-Vergara (2015) y Tapia-Torres (2015).

5.4 Análisis Moleculares

5.4.1 Extracción y cuantificación de ADN

Los análisis moleculares de la comunidad microbiana se llevaron a cabo en el Laboratorio Nacional de Análisis y Síntesis Ecológica (LANASE) de la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES) Unidad Morelia de la UNAM. Para obtener el ADN genómico de las muestras de suelo y mantillo, se utilizó el kit de extracción PowerSoil® DNA Isolation Kit (MO BIO cat#12855-50) siguiendo las instrucciones del fabricante.

5.4.2 Bibliotecas de amplicones: regiones hipervariables V3-V4 del gen ARNr 16S

Para generar las librerías, se amplificó el gen 16S ARNr del ADN extraído de cada una de las muestras de suelo y mantillo. Las bibliotecas se prepararon con base en el protocolo de bibliotecas de amplicones del gen 16S ARNr illumina/Miseq (https://support.illumina.com/downloads/16s_metagenomic_sequencing_library_preparation.html). En el proceso de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés), se utilizaron los oligos dirigidos a las regiones V3 y V4 (forward:5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3'; reverse:5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3'). Todas las reacciones se prepararon de la siguiente manera: 12.5 µl de Platinum 2x Taq HighFidelity buffer (Invitrogen), 1 µl de cada uno de los primers, 8 µl de agua libre de nucleasas (DNasa, RNasa) y 2.5 µl de ADN a una concentración de 5 ng/ µl. El programa de PCR fue el siguiente:

94°C por 3 minutos; después 25 ciclos de 95°C por 30 s; 55°C por 30 s; 72°C por 30 s, y una extensión final de 5 min a 72°C. Las amplificaciones de cada una de las muestras se visualizaron por medio de electroforesis en un gel de agarosa al 1.5%.

Posteriormente las bibliotecas fueron sometidas a un proceso de purificación e indexación. Para este fin se utilizó el kit de índices NexteraXT de Illumina. El procedimiento se dividió en 4 etapas: (1) PCR Clean Up 1 (Dual-SPRI clean-up), (2) PCR de indexación, (3) PCR Clean-up 2 y (4) Cuantificación, normalización y pool de bibliotecas. Durante el PCR Clean UP 1 se limpiaron los amplicones con perlas magnéticas AMPure XP; en el PCR de indexación se agregaron marcadores y adaptadores de secuenciación a cada una de las bibliotecas; en el PCR Clean-up 2 se realizó una segunda limpieza a las bibliotecas finales, utilizando perlas magnéticas AMPure XP. Las bibliotecas se cuantificaron con el kit de ensayo Qubit dsDNA HS (Termo Fisher Scientific), se normalizaron a 4 nM, y se secuenciaron en un analizador Illumina NextSeq 550 usando el kit de reactivos NextSeq v2.5. Para el proceso de secuenciación se utilizó una flow cell mid-output pair-end de 150 ciclos, por lo tanto, se obtuvieron fragmentos forward y reverse de 150 pb (pares de bases).

5.4.3 Análisis bioinformáticos y estadísticos

Desde el servidor del Centro Genómico de la Universidad de California, Davis (Bioinformatic Core Facility at the UC Davis Genome Center) se procesaron, agruparon y clasificaron las secuencias, utilizando el paquete “DADA2” del software libre R (Callahan et al. 2016). DADA2 infiere variantes de secuencias de amplicones (ASV’s, por sus siglas en inglés), distinguiendo diferencias biológicas de hasta 1 o 2 nucleótidos, proporcionando de esta manera una alta sensibilidad y especificidad para la discriminación de patrones ecológicos (Eren et al., 2015; Callahan et al., 2016; Callahan et al., 2017).

En primera instancia se dividieron las muestras en sets de secuencias correspondientes a suelo y mantillo; posteriormente se establecieron rubros de calidad para cada uno de los sets (truncLen=130, maxEE=1, truncQ=11, maxN=0) utilizando el comando *filterAndTrim*. De esta manera, las secuencias que cumplieron con los criterios preestablecidos fueron seleccionadas para continuar con el procesamiento. Se calcularon

las tasas de error de los sets de secuencias de suelo y mantillo a partir de un subset de secuencias (2,000,000 de secuencias) con el comando *learnErrors*. Con base en los modelos de error se generó la inferencia de variantes en las secuencias mediante el comando *derepFastq*. A continuación, se generaron dos matrices de conteo, correspondientes a las muestras de suelo y mantillo, en relación con las variantes de secuencias pre inferidas, con el comando *makeSequenceTable*. Las matrices se combinaron en una sola base de datos mediante el comando *mergeSequenceTables*. Una vez generada la base de datos completa para todas las muestras, se identificaron y removieron las secuencias quimera (molécula de ADN que contiene secuencias procedentes de dos especies diferentes), con el comando *removeBimeraDenovo*. En este punto se completó la fase de limpieza del procesamiento de secuencias. Posteriormente, se asignó la taxonomía utilizando el comando *assignTaxonomy*, seleccionando como referencia la base de datos del proyecto SILVA (<http://www.arb-silva.de>).

A partir de la taxonomía asignada se descartaron los taxa Archea, Eukaryota, y grupos denominados NA's (no asignados), en el programa RStudio (Allaire 2017). De esta forma se mantuvieron únicamente los grupos taxonómicos que pertenecían al taxa Bacteria. Una vez removidas las secuencias, se generó un archivo *phyloseq* con la información de la taxonomía final a nivel de clases de bacterias.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa RStudio versión 3.3.5 (R Core Development Team 2009). Los análisis se realizaron a partir de un subset de secuencias, tomando como referencia la muestra con menor cantidad de lecturas, de forma que todas las muestras se estandarizaron a un número de 27,234 lecturas. Se realizó un dendograma con base en una matriz de disimilitud de Bray-Curtis (Bray & Curtis 1957), utilizando los paquetes "spaa", "vegan", "cba", "ggplot2", "ggdendro", "grid", "gridExtra", "gtable", "reshape2" y "RColorBrewer". Adicionalmente, la matriz de Bray-Curtis también se visualizó en dos dimensiones mediante un análisis de coordenadas principales (PCoA por sus siglas en inglés) y un análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS por sus siglas en inglés) utilizando los paquetes "phyloseq", "vegan", "ggplot2" y "RColorBrewer". Finalmente, se calcularon curvas de rarefacción con base en el número de secuencias para

cada taxón en cada muestra, utilizando el comando *rarecurve* del paquete “vegan” (Oksanen et al. 2018).

Se calcularon correlaciones, con base en el índice de Spearman, entre las comunidades microbianas del suelo y el mantillo y una serie de variables ambientales que describen la composición de la comunidad vegetal (riqueza total de encinos, riqueza de encinos rojos, riqueza de encinos blancos, proporción de especies de encinos blancos) y el ciclaje de nutrientes a lo largo del gradiente (carbono microbiano, nitrógeno microbiano, fósforo microbiano, carbono total, nitrógeno total, fósforo total, carbono orgánico disuelto, nitrógeno orgánico disuelto, fósforo orgánico disuelto, nitrógeno total disuelto, fósforo total disuelto, fósforo inorgánico disuelto, nitrato, amonio, pH, y la actividad de tres encimas: Beta glucosidasa (BG), N-acetil glucosaminidasa (NAG) y fosfomonoesterasa (AP), utilizando los paquetes “vegan”, “psych” y “corrplot”.

6 RESULTADOS

6.1 Composición bacteriana del suelo y del mantillo

Se obtuvo un total de 13, 727,999 secuencias para 93 muestras; 8, 114,036 secuencias se asignaron a 44 muestras de mantillo y 5, 613,963 secuencias a 49 muestras de suelo. Para el resto de las muestras no se logró una secuenciación exitosa. Los análisis se desarrollaron con base en un subconjunto de 2, 532,726 secuencias que reunieron los criterios de calidad especificados en la sección “Análisis bioinformáticos y estadísticos” de la metodología.

Con el objetivo de conocer la composición y las diferencias entre las comunidades bacterianas del mantillo y del suelo se realizaron gráficos sunburnst y un dendrograma. Las secuencias del conjunto de las muestras se clasificaron con base en las 18 clases bacterianas que presentaron mayor abundancia (Fig.7), dichas clases se distribuyeron en 7 phyla (Tabla 2); aunado a esto se observó que los sitios se agruparon de manera diferenciada en mantillo y suelo con base en el índice de disimilitud de Bray-Curtis (Fig.7). En el mantillo la clase con el mayor porcentaje de secuencias asignadas fue *Alphaproteobacteria* con 31.4%, seguida por *Actinobacteria* (19.8%), *Sphingobacteriia* (7.9%), Betaproteobacteria (7.7%) y

Acidobacteria con (3.7%). Las siguientes clases se encontraron en menor abundancia: *Spartobacteria* (2.1%), *Cytophagia* (2.0%), *Flavobacteriia* (2.0%), *Thermoleophilia* (1.4%), *Deltaproteobacteria* (1.3%), *Phycisphaerae* (1.2%), *Saccharibacteria_nc* (1.2%), *Planctomycetacia* (0.6%), *Blastocatellia* (0.5%), *Acidimicrobiia* (0.5%), *Solibacteres* (0.4%), *Gemmatimonadetes* (0.2%) y *Acidobacteria_Subgrupo_6* (0.2%). El 4.4% de las secuencias no se pudieron asignar taxonómicamente a una clase bacteriana (Fig.8).

En el suelo la clase con mayor número de secuencias asignadas fue *Alphaproteobacteria* (34.1%), seguido por *Actinobacteria* (12.1%), *Thermoleophilia* (6.7%), *Betaproteobacteria* (4.6%), *Acidobacteria_Subgrupo_6* (4.1%), *Blastocatellia* (3.1%) y *Spartobacteria* (3.0%). Las siguientes clases se encontraron en menor abundancia: *Sphingobacteriia* (2.7%), *Acidobacteria* (2.7%), *Gemmatimonadetes* (2.5%), *Solibacteres* (2.1%), *Planctomycetacia* (1.8%), *Deltaproteobacteria* (1.6%), *Acidimicrobiia* (1.3%), *Flavobacteriia* (1.3%), *Phycisphaerae* (1.2%), *Cytophagia* (0.5%) y *Saccharibacteria_nc* (0.2%). El 8.3% de las secuencias no pudieron ser clasificadas (Fig.8).

TAXONOMIA DE GRUPOS MICROBIANOS	
Phylum	Clase
<i>Acidobacteria</i>	<i>Acidobacteria</i>
<i>Acidobacteria</i>	<i>Blastocatellia</i>
<i>Acidobacteria</i>	<i>Solibacteres</i>
<i>Acidobacteria</i>	<i>Subgrupo_6</i>
<i>Actinobacteria</i>	<i>Acidimicrobiia</i>
<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>
<i>Actinobacteria</i>	<i>Thermoleophilia</i>
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Cytophagia</i>
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Flavobacteriia</i>
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Sphingobacteriia</i>
<i>Gemmatimonadetes</i>	<i>Gemmatimonadetes</i>
<i>Planctomycetes</i>	<i>Phycisphaerae</i>
<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>
<i>Proteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteria</i>
<i>Proteobacteria</i>	<i>Deltaproteobacteria</i>
<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>
<i>Verrucomicrobia</i>	<i>Spartobacteria</i>
<i>Saccharibateria</i>	<i>Saccharibacteria_nc</i>

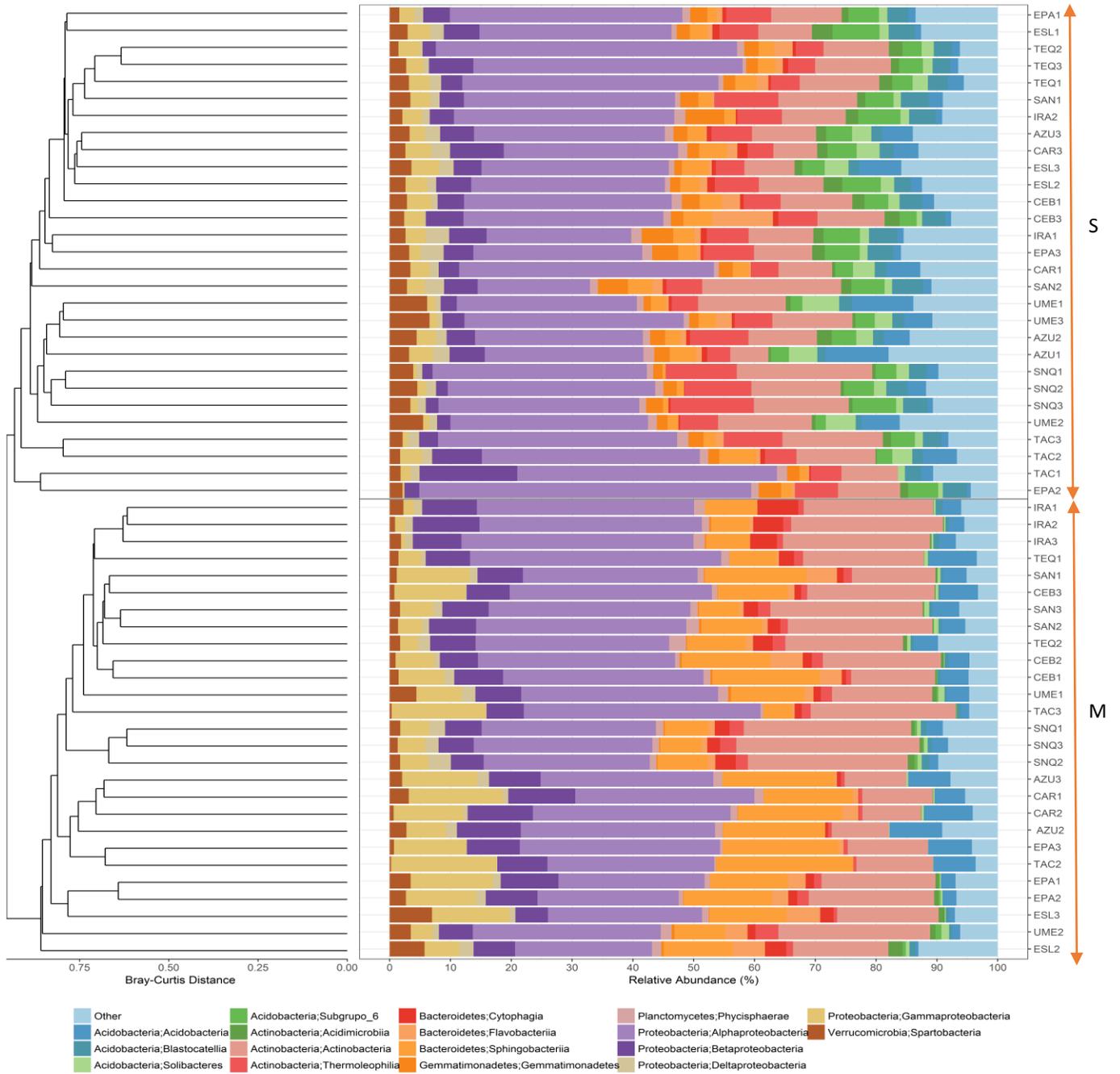


Figura 7. Dendrograma con base en el índice de disimilitud de Bray-Curtis y porcentaje de abundancia relativa de las 18 clases microbianas más abundantes en suelo y mantillo.



Figura 8. Composición de las comunidades bacterianas del suelo (S) y del mantillo (M) a nivel de clases.

Posterior al dendrograma se realizó un análisis de coordenadas principales (PcoA, por sus siglas en inglés) para corroborar el agrupamiento de las comunidades bacterianas en mantillo y en suelo. El análisis determinó que las dos primeras coordenadas (PCO1 y PCO2) explicaron el 20.6% y 5.1% de la varianza total observada en la composición microbiana de los sitios, respectivamente. Como se puede observar, la composición de las comunidades microbianas de suelo y mantillo es claramente distinta, ya que los datos mostraron un patrón de separación muy marcado generando dos clusters, uno para las comunidades del suelo y otro para las del mantillo (Fig.9). El cluster de las comunidades microbianas del mantillo muestra un patrón de aglomeración con mayor cercanía en comparación con las comunidades del suelo (Fig.9). Algunas muestras mostraron un patrón de agrupación por

sitio como es el caso de Iratzio, San Nicolás, Cerro Burro, San Nicolás Q, Carindapaz y Epazote (Fig.7).

En contraste, al interior del cluster de las comunidades del suelo se observó una división de las muestras en dos subgrupos, el primero se ubica en la sección superior derecha de la figura 9 y el segundo en la sección inferior derecha de la misma figura. Las muestras que mostraron agrupación por sitio fueron Tequila, Ejido San Lázaro, Cerro Burro, Umécuaro, Los Azufres, Tacuitarán y San Nicolás Q (Fig.7)

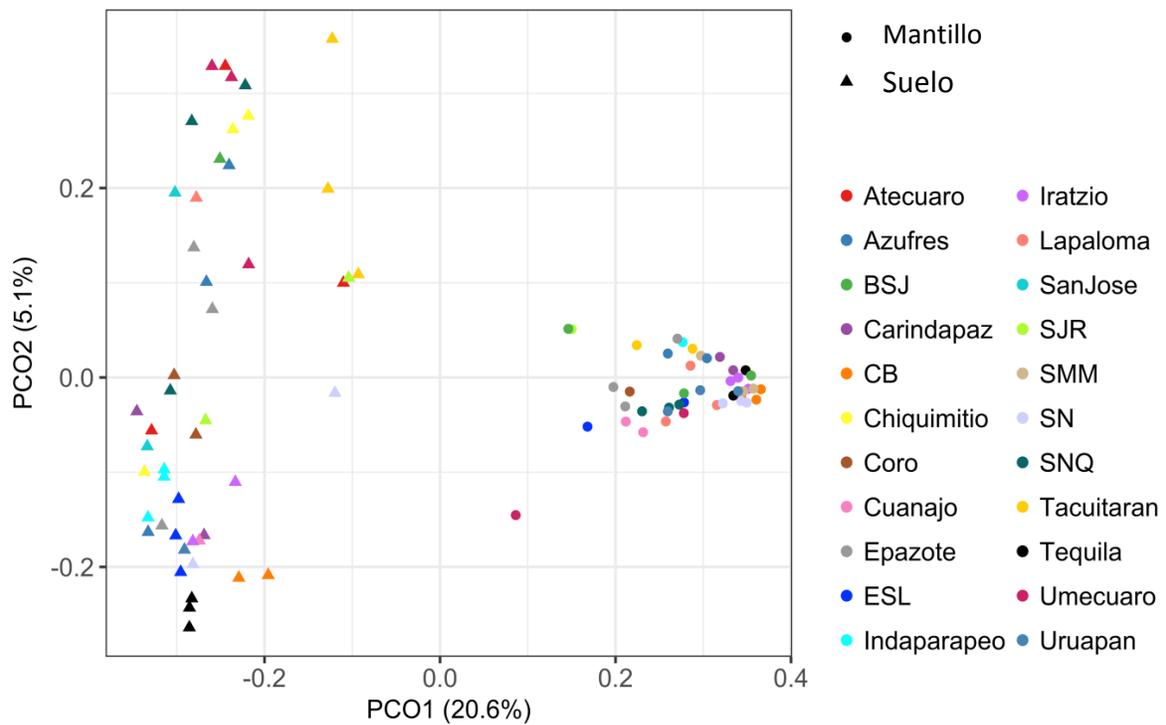


Figura 9. Análisis de coordenadas principales con base en las distancias genéticas (índice de disimilitud Bray-Curtis) de los ASV's que representan la estructura de las comunidades microbianas de suelo y mantillo.

Para observar el esfuerzo de muestreo se realizaron curvas de rarefacción de los ASV's de los sitios del gradiente. Las curvas alcanzaron la asíntota, lo cual indica que el esfuerzo de muestreo fue suficiente para observar la riqueza de los grupos bacterianos (Fig.10)

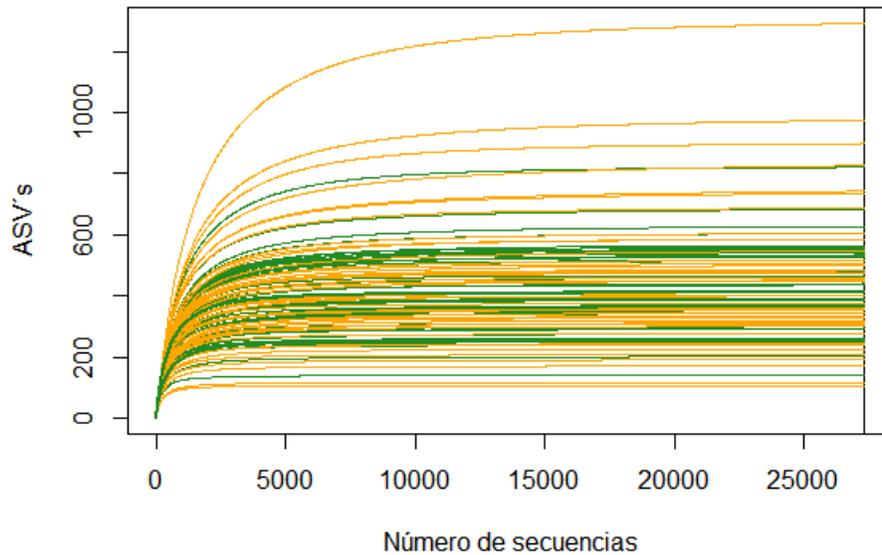


Figura 10. Curvas de rarefacción de los sitios del gradiente. Las líneas verdes representan al mantillo, mientras que las líneas amarillas representan al suelo.

Con el objetivo de explorar las posibles relaciones entre las comunidades microbianas, la estructura de la comunidad de encinos y las variables biogeoquímicas, se realizaron análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS por sus siglas en inglés) para el suelo y el mantillo. La composición de la comunidad bacteriana del suelo mostró una influencia significativa de las siguientes variables: humedad (HUM), carbono total (CT), fósforo total (PT), nitrógeno total (NT), nitrato disuelto (NO_3D), nitrógeno orgánico disuelto (NOD), fósforo inorgánico disuelto (PID), riqueza de especies de encinos blancos (RB), proporción de especies de encinos blancos (PB), longitud (LONG) y latitud (LAT) (Fig.11).

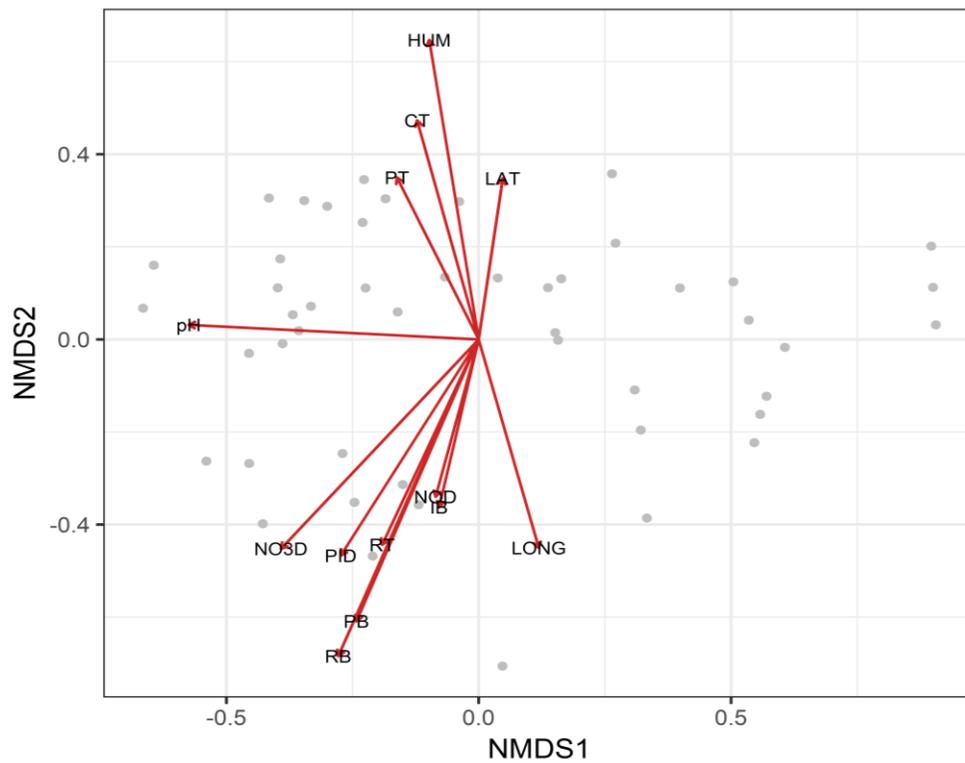


Figura 11. Análisis de escalamiento multidimensional no métrico, ordenación de la disimilitud de las comunidades bacterianas del suelo (ASV's, NMDS stress=0.14). Las flechas indican la dirección y la fuerza de las correlaciones significativas ($p < 0.05$) entre la composición de las comunidades bacterianas y las variables ambientales.

Mientras que la ordenación del análisis NMDS de las comunidades microbianas del mantillo (Fig.12) presentó correlaciones significativas distintas, en comparación con el suelo. La composición de la comunidad del mantillo correlacionó con la humedad (HUM), el nitrógeno total (NT), el fósforo total (PT), el fósforo microbiano (PMIC), el nitrato disuelto (NO_3D), el pH y la actividad enzimática (AP, NAG, BG).

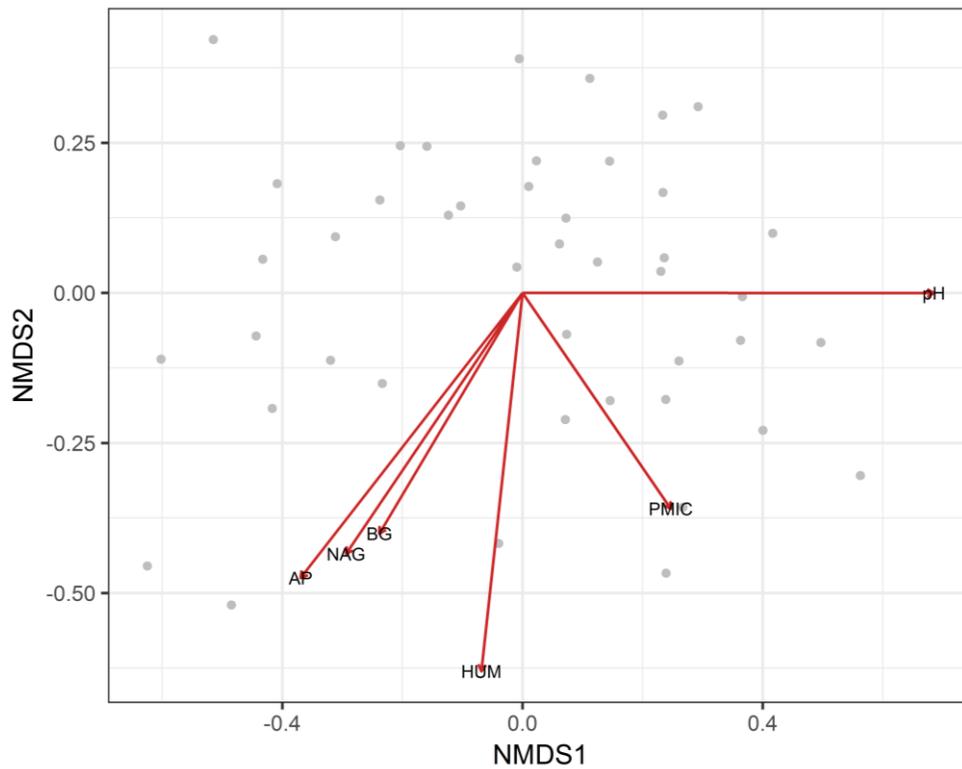


Figura 12. Análisis de escalamiento multidimensional no métrico. Ordenación de la disimilitud (Bray-Curtis) de las comunidades bacterianas del mantillo (ASV's, NMDS stress=0.14). Las flechas indican la dirección y la fuerza de las correlaciones significativas ($p < 0.05$) entre la composición de las comunidades bacterianas y las variables ambientales.

6.2 Dinámica de nutrientes en mantillo y suelo

6.2.1 Diversidad de encinos y su relación con la dinámica de nutrientes

Con el objetivo de observar la influencia de la estructura y composición de la comunidad de encinos sobre la dinámica de nutrientes en el mantillo y en el suelo se realizaron análisis de correlación de Spearman.

En la figura 13 se observan los resultados del análisis de correlación de Spearman entre los parámetros de diversidad de encinos y los parámetros biogeoquímicos del mantillo. Por medio de este análisis se determinó que los parámetros de diversidad de los

encinares presentaron correlaciones significativas con la concentración de nitrógeno microbiano (NMIC), concentración de nitrógeno total (NT), la actividad de las enzimas betaglucosidasa (BG), n-acetilglucosaminidasa (NAG) y fosfomonoesterasa (AP), la concentración de nitrato disuelto (NO_3D), concentración de amonio disuelto (NH_4D), concentración de fósforo total disuelto (PTD), la concentración de fósforo inorgánico disuelto (PID) y el pH. Los parámetros asociados a las especies de la sección *Quercus* (encinos blancos) presentaron un mayor número de correlaciones en comparación con los parámetros que asociados a las especies de la sección *Lobatae* (encinos rojos).

La riqueza total (RT) de especies de encinos correlacionó positivamente con el NMIC y el pH, mientras que la actividad de la enzima AP correlacionó negativamente con este parámetro. Al igual que la RT, la riqueza de encinos rojos (RER) correlacionó positivamente con el NMIC y negativamente con la actividad de la enzima AP. La riqueza de encinos blancos (REB) presentó correlaciones positivas con el NT, la actividad de BG y NAG, el NO_3D y el pH. Al igual que la REB, la proporción de encinos blancos (PEB) correlacionó positivamente con el NT, la actividad de BG y NAG y el NO_3D , y también con la actividad de AP, el NH_4D , el fósforo total disuelto (PTD) y el fósforo inorgánico disuelto (PID). El parámetro de individuos totales sólo presentó una correlación negativa con la actividad de AP. El número de individuos de especies de encinos rojos (IER) correlacionó positivamente con el NMIC y negativamente con las actividades de BG, NAG y AP y con NO_3D . Mientras que el número de individuos blancos (IEB) correlacionó negativamente con el NMIC y positivamente con el NT, las actividades de BG, NAG, AP y con el NO_3D .

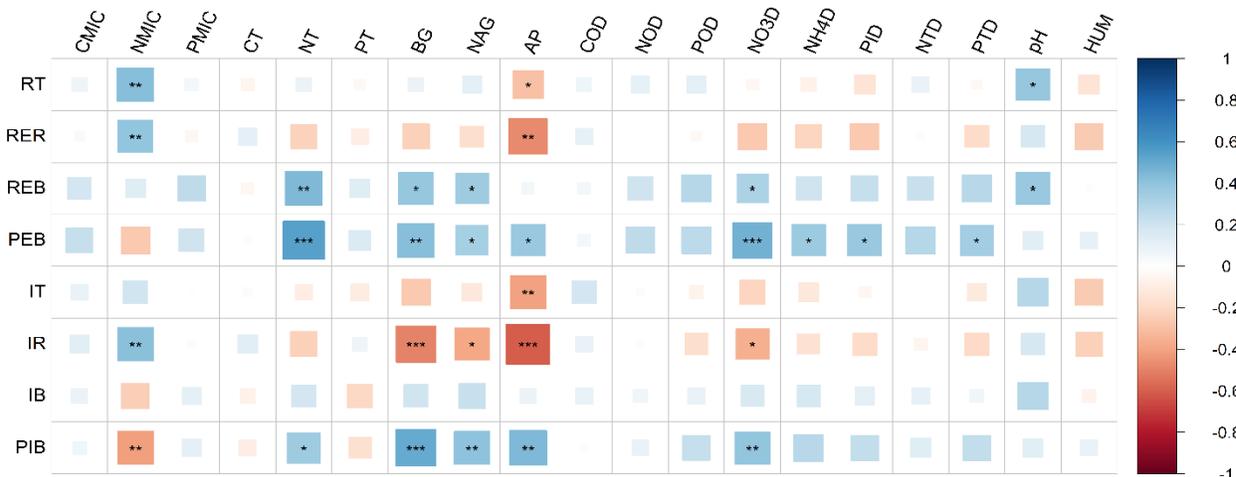


Figura 13. Correlograma que, representa la correlación de Spearman entre los parámetros de diversidad de encinos y los parámetros bioquímicos del mantillo. Los parámetros de diversidad de encinos y los parámetros biogeoquímicos utilizados para el análisis de correlación son los siguientes: riqueza total (RT), riqueza de encinos rojos (RER), riqueza de encinos blancos (REB), proporción de encinos blancos (PEB), individuos totales (IT), individuos rojos (IR), individuos blancos (IB), proporción de individuos blancos (PIB), carbono microbiano (CMIC), nitrógeno microbiano (NMIC), fósforo microbiano (PMIC), carbono total (CT), nitrógeno total (NT), fósforo total (PT), enzima betaglucosidasa (BG), enzima n-acetil glucosaminidasa (NAG), enzima fosfomonoesterasa (AP), nitrato disuelto (NO₃D), amonio disuelto (NH₄D), carbono orgánico disuelto (COD), nitrógeno orgánico disuelto (NOD), fósforo orgánico disuelto (POD), nitrógeno total disuelto (NTD), fósforo total disuelto (PTD), fósforo inorgánico disuelto (PID) potencial del hidrógeno (pH). La escala de color representa los valores rho (coeficiente de correlación de Spearman), el tamaño de los recuadros aumenta con base en este valor. La significancia estadística se representa con base en los valores de p (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

Las correlaciones de Spearman entre los parámetros de diversidad de las comunidades de encinos y los parámetros biogeoquímicos del suelo se muestran en la figura 14. Se obtuvieron correlaciones significativas con el NMIC, PMIC, NT y las tres enzimas evaluadas, con COD, NO₃D, PID y humedad (HUM). Al igual que en el mantillo, en el suelo se observó un mayor número de correlaciones en los parámetros asociados a las especies de la sección *Quercus* (encinos blancos) en comparación con los parámetros asociados a las especies de la sección *Lobatae* (encinos rojos).

La riqueza total (RT) de especies de encino correlacionó positivamente con NT, NO₃D y PID. La riqueza de encinos rojos (RER) obtuvo tres correlaciones positivas y dos negativas, las positivas se establecieron con NMIC, PMIC y COD, mientras que la actividad de BG y NAG correlacionó negativamente con este parámetro. La riqueza de encinos blancos (REB)

correlacionó positivamente con BG, NO₃D y PID, mientras que la HUM y el COD presentaron correlaciones negativas con este parámetro. La proporción de encinos blancos (PEB) presentó las mismas correlaciones que la riqueza de encinos blancos. El número de individuos totales presentó dos correlaciones positivas y dos negativas, las primeras se establecieron con NO₃D y PID, mientras que las segundas se establecieron con la actividad de NAG y AP. El número de individuos de especies de encinos rojos correlacionó positivamente con el NMIC, al igual que el número de individuos totales correlacionó negativamente con la actividad de NAG y AP. Mientras que el número de individuos de especies de encinos blancos tuvo correlaciones positivas con el NO₃D y PID, y una correlación negativa con la humedad (HUM). La proporción de individuos blancos correlacionó positivamente con la actividad de la enzima AP y negativamente con el NMIC y la HUM.

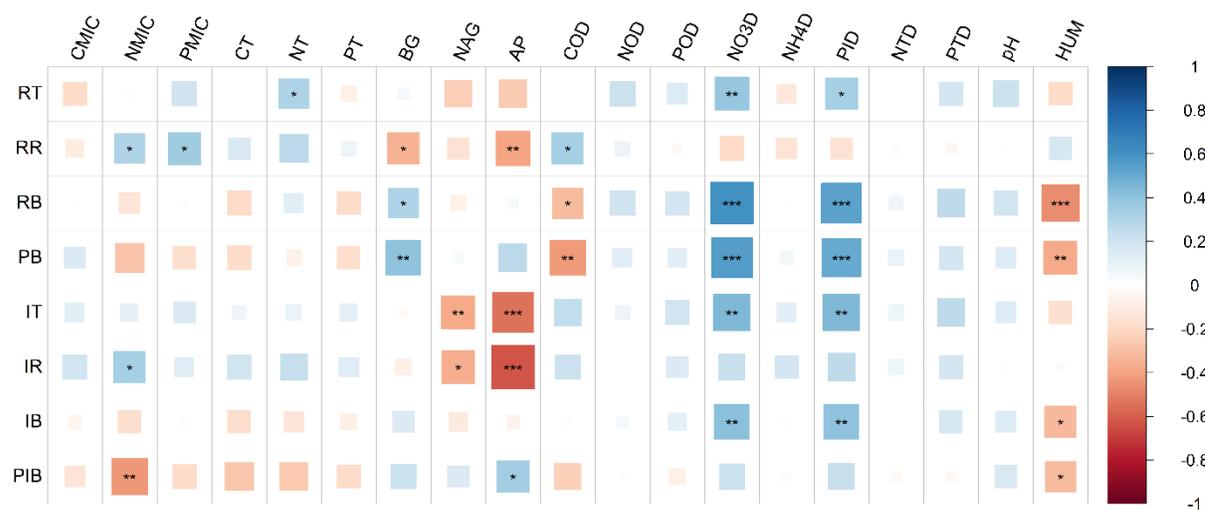


Figura 14. Correlograma que, representa la correlación de Spearman entre los parámetros de diversidad de encinos y los parámetros bioquímicos del suelo. Los parámetros de diversidad de encinos y los parámetros biogeoquímicos que se utilizaron para el análisis de correlación son los siguientes: riqueza total (RT), riqueza de encinos rojos (RR), riqueza de encinos blancos (REB), proporción de encinos blancos (PEB), individuos totales (IT), individuos rojos (IR), individuos blancos (IB), proporción de individuos blancos (PIB), carbono microbiano (CMIC), nitrógeno microbiano (NMIC), fósforo microbiano (PMIC), carbono total (CT), nitrógeno total (NT), fósforo total (PT), enzima betaglucosidasa (BG), enzima n-acetil glucosaminidasa (NAG), enzima fosfomonoesterasa (AP), nitrato disuelto (NO₃D), amonio disuelto (NH₄D), carbono orgánico disuelto (COD), nitrógeno orgánico disuelto (NOD), fósforo orgánico disuelto (POD), nitrógeno total disuelto (NTD), fósforo total disuelto (PTD), fósforo inorgánico disuelto (PID) potencial del hidrógeno (pH). La escala de color representa los valores rho (coeficiente de correlación de Spearman), el tamaño de los recuadros aumenta con base en este valor. La significancia estadística se representa con base en los valores de p (*p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001).

6.2.2 Diversidad de las comunidades bacterianas y su relación con la diversidad de encinos y con la dinámica de nutrientes

Con el objetivo de observar la influencia de la estructura, la composición de la comunidad de encinos y las variables biogeoquímicas sobre la comunidad bacteriana del mantillo y del suelo se realizaron análisis de correlación de Spearman. En este análisis se seleccionaron únicamente aquellos grupos bacterianos que obtuvieron al menos una correlación con las variables mencionadas anteriormente.

En el mantillo se obtuvo un mayor número de correlaciones entre la comunidad microbiana y las variables biogeoquímicas en comparación con el suelo; las principales correlaciones se establecieron con la humedad, el pH, la actividad enzimática, el nitrato disponible y con el amonio disponible (Fig.15). Los grupos microbianos que presentaron correlaciones con la riqueza de especies de encinos blancos (REB) fueron *Acidimicrobia* y *Alphaproteobacteria*, el primer grupo se correlacionó positivamente mientras que la correlación del segundo fue negativa.

La humedad (HUM) del mantillo correlacionó de manera positiva con los grupos *Verrucomicrobiae* y *Verrucomicrobia_Incertae_Sedis*, además la HUM presentó correlaciones negativas con *Blastocatellia*, *Actinobacteria* y *Alphaproteobacteria*. Los grupos *Cytophagia* y *Blastocatellia*, correlacionaron negativamente con la longitud (LONG). En el caso de la latitud (LAT) *Acidobacteria* correlacionó positivamente y los grupos *Acidimicrobiia* y *Verrucomicrobiae* correlacionaron negativamente con esta variable.

El carbono microbiano (CMIC) presentó correlación positiva con el grupo *Thermoleophilia*, y negativa con *Alphaproteobacteria*. El nitrógeno microbiano (NMIC) presentó una correlación negativa con el grupo *Alphaproteobacteria*. Se observaron dos correlaciones para el fósforo microbiano (PMIC), una correlación positiva con el grupo *Acidimicrobiia* y una negativa con *Alphaproteobacteria*. El nitrógeno total (NT) correlacionó positivamente con los grupos *Thermoleophillia*, *Acidimicrobiia* y *Proteobacteria_nc*. Se observaron dos correlaciones para el fósforo total (PT), una positiva con *Thermoleophillia* y una negativa con el grupo *Cytophagia*.

La actividad de la enzima BG correlacionó positivamente con el grupo *Verrucomicrobia_Incertae_Sedis* y negativamente con *Cytophagia*, *Blastocatellia* y *Actinobacteria*. La actividad de la enzima NAG presentó el mismo patrón de correlación que la actividad de la enzima BG. Mientras que la actividad de la enzima AP correlacionó positivamente con los grupos *Acidobacteria* y *Verucomicrobia_Incertae_Sedis*, negativamente con *Cytophagia*, *Blastocatellia*, *Actinobacteria* y *Acidimicrobiia*.

El nitrato disponible (NO_3D) del mantillo presentó tres correlaciones positivas con los grupos *Thermoleophillia*, *Acidimicrobiia* y *Proteobacteria_nc*. Para el amonio disponible se observaron cuatro correlaciones; las correlaciones positivas se establecieron con los grupos *Thermoleophillia*, *Acidimicrobiia*, *Proteobacteria_nc*, mientras que el grupo *Acidobacteria* correlacionó negativamente con esta variable.

El grupo *Proteobacteria_nc* presentó una correlación positiva con el carbono orgánico disuelto (COD), mientras que los grupos *Thermoleophillia* y *Proteobacteria_nc* presentaron correlación positiva con el nitrógeno orgánico disuelto. El fósforo orgánico disuelto (POD), el nitrógeno total disuelto (NTD) y el fósforo total disuelto (PTD) presentaron el mismo patrón de correlación que el nitrógeno orgánico disuelto. El fósforo inorgánico disponible (PID) correlacionó positivamente con *Proteobacteria_nc*. El pH del mantillo presentó correlaciones positivas con *Cytophagia*, *Blastocatellia*, *Acidimicrobiia* y *Verrucomicrobiae*, además mostró correlación negativa con el grupo *Acidobacteria*.

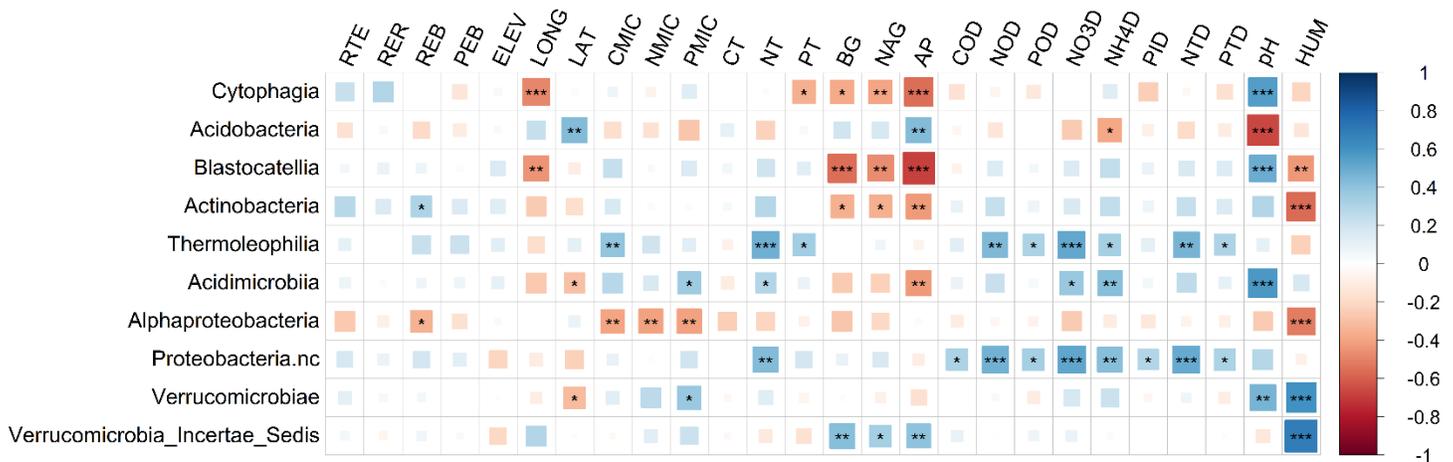


Figura 15. Datos de mantillo. Correlograma, representa la correlación de Spearman entre la abundancia relativa de las clases bacterianas contra parámetros de diversidad de encinos, parámetros biogeoquímicos y algunos parámetros ambientales. Los parámetros de diversidad de encinos, biogeoquímicos y ambientales que se utilizaron para el análisis de correlación son los siguientes: riqueza total (RT), riqueza de encinos rojos (RER), riqueza de encinos blancos (REB), proporción de encinos blancos (PEB), humedad (HUM), elevación (ELEV), longitud (LONG), latitud (LAT), carbono microbiano (CMIC), nitrógeno microbiano (NMIC), fósforo microbiano (PMIC), carbono total (CT), nitrógeno total (NT), fósforo total (PT), enzima betaglucosidasa (BG), enzima n-acetil glucosaminidasa (NAG), enzima fosfomonoesterasa (AP), nitrato disuelto (NO₃D), amonio disuelto (NH₄D), carbono orgánico disuelto (COD), nitrógeno orgánico disuelto (NOD), fósforo orgánico disuelto (POD), nitrógeno total disuelto (NTD), fósforo total disuelto (PTD), fósforo inorgánico disuelto (PID) potencial del hidrógeno (pH). El color de la barra representa los valores rho (coeficiente de correlación de Spearman), el tamaño de los recuadros aumenta con base en este valor. La significancia de la correlación se representa con base en los valores de p (*p≤0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001).

En el caso del suelo la comunidad microbiana presentó un mayor número de correlaciones con los parámetros de la estructura y composición de los encinos, en comparación con el mantillo. Las correlaciones principales se establecieron con la riqueza total, la riqueza de encinos blancos, la proporción de encinos blancos, la humedad, la longitud, la actividad de las enzimas BG, NAG y AP, el nitrato disponible, el fósforo inorgánico disponible y el pH (Fig.16)

Los grupos microbianos que presentaron correlaciones positivas con la riqueza total de encinos fueron *Blastocatellia*, *Acidobacteria_Subgrupo_6* y *Rubrobacteria*, mientras que el grupo *Gemmatimonadetes* se correlacionó negativamente con esta variable. El parámetro riqueza de encinos rojos presenta una correlación negativa con el grupo microbiano *Bacilli*. La riqueza de encinos blancos (REB) y la proporción de encinos blancos

(PEB) presentaron correlaciones positivas con los grupos *Bacilli*, *Blastocatellia*, *Acidobacteria_Subgrupo_6*, *Rubrobacteria* y *Gemmatimonadetes*; y negativas con *Acidobacteria*, *Solibacteres*, *Acidobacteria_Subgrupo_2* y *Gammaproteobacteria*.

La humedad (HUM) del suelo correlacionó de manera positiva con los grupos *Acidobacteria_Subgrupo_17*, *Acidimicrobiia* y *Gammaproteobacteria*, además presentó correlación negativa con *Bacilli* y *Rubrobacteria*. La elevación (ELEV) correlacionó de manera positiva con el grupo *Holophagae*. Los grupos *Acidobacteria* y *Solibacteres*, correlacionaron positivamente con la longitud, mientras que *Blastocatellia*, *Acidobacteria_Subgrupo_6*, *Acidobacteria_Subgrupo_17* y *Acidimicrobiia* correlacionaron negativamente con esta variable. La latitud presentó correlaciones positivas con *Acidobacteria* y *Solibacteres*, y una correlación negativa con *Rubrobacteria*.

En el caso del carbono microbiano observamos tres correlaciones positivas, con el grupo *Blastocatellia*, *Acidobacteria_Subgrupo_6* y *Holophagae*. El fósforo microbiano presentó una correlación positiva con el grupo *Acidobacteria_Subgrupo_17* y una negativa con el grupo *Acidobacteria*. El carbono total presentó únicamente correlaciones positivas con los grupos *Acidobacteria_Subgrupo_6*, *Acidobacteria_Subgrupo_17* y *Acidimicrobiia*. El nitrógeno total correlacionó negativamente con el grupo *Acidobacteria*. Se observaron dos correlaciones para el fósforo total, una positiva con el grupo *Acidobacteria_Subgrupo_17* y una negativa con el grupo *Bacilli*.

La actividad de la enzima BG correlacionó positivamente con el grupo *Bacilli* y negativamente con *Acidimicrobiia*. La actividad de la enzima NAG presentó cuatro correlaciones negativas, con los grupos *Acidobacteria_Subgrupo_6*, *Acidobacteria_Subgrupo_5*, *Holophagae* y *Gemmatimonadetes*. Mientras que la actividad de la enzima AP correlacionó positivamente con el grupo *Bacilli* y negativamente con *Acidobacteria_Subgrupo_6*.

El nitrato disponible (NO₃D) del suelo presentó cinco correlaciones positivas y cuatro negativas; las positivas se establecieron con los grupos *Bacilli*, *Blastocatellia*, *Acidobacteria_Subgrupo_6*, *Rubrobacteria* y *Gemmatimonadetes*, mientras que

Acidobacteria, *Solibacteres*, *Acidobacteria_Subgrupo_2* y *Gammaproteobacteria* mantuvieron correlaciones negativas con esta variable. Para el amonio disponible se observaron dos correlaciones negativas con los grupos *Holophagae* y *Gemmatimonadetes*. El grupo *Rubrobacteria* presento una correlación positiva con el nitrógeno orgánico disuelto (NOD), mientras que los grupos *Acidobacteria_Subgrupo_6* y *Acidobacteria_Subgrupo_5* correlacionaron positivamente con el fósforo orgánico disuelto.

El fósforo total disuelto (PTD) correlacionó positivamente con los grupos *Blastocatellia*, *Acidobacteria_Subgrupo_6*, *Acidobacteria_Subgrupo_5* y *Gemmatimonadetes*. Mientras que el fósforo inorgánico disponible (PID) correlacionó positivamente con *Bacilli*, *Blastocatellia*, *Acidobacteria_Subgrupo_6*, *Acidobacteria_Subgrupo_5*, *Holophagae*, *Rubrobacteria* y *Gemmatimonadetes*, mientras que las correlaciones negativas que se observaron para esta variable se establecieron con los grupos *Solibacteres*, *Subgrupo_2* y *Gammaproteobacteria*. El pH presentó correlaciones positivas con *Blastocatellia*, *Acidobacteria_Subgrupo_6*, *Acidobacteria_Subgrupo_17*, además se pueden observar correlaciones negativas con los grupos *Acidobacteria*, *Solibacteres* y *Acidobacteria_Subgrupo_2* (Fig. 16).

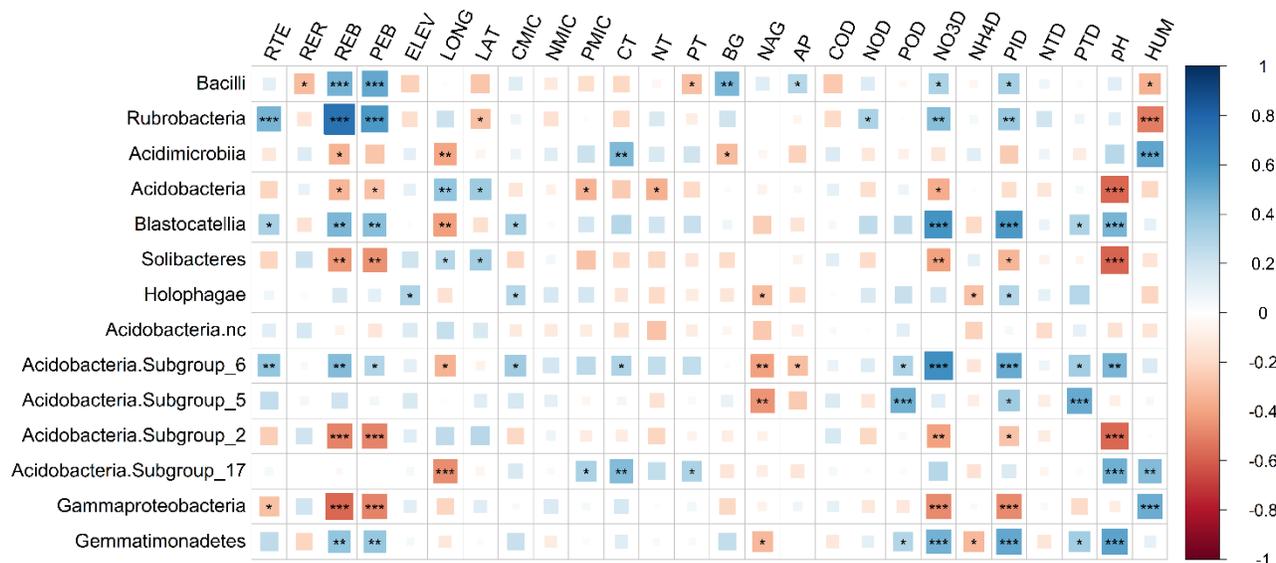


Figura 16. Datos de suelo. Correlograma, representa la correlación de Spearman entre la abundancia relativa de las clases bacterianas contra los parámetros de diversidad de encinos y los biogeoquímicos. Los parámetros de diversidad de encinos, biogeoquímicos y ambientales que se utilizaron para el análisis de correlación son los siguientes: riqueza total (RT), riqueza de encinos rojos (RER), riqueza de encinos blancos (REB), proporción de encinos blancos (PEB), humedad (HUM), elevación (ELEV), longitud (LONG), latitud (LAT), carbono microbiano (CMIC), nitrógeno microbiano (NMIC), fósforo microbiano (PMIC), carbono total (CT), nitrógeno total (NT), fósforo total (PT), enzima betaglicosidasa (BG), enzima n-acetil glucosaminidasa (NAG), enzima fosfomonoesterasa (AP), nitrato disuelto (NO_3D), amonio disuelto (NH_4D), carbono orgánico disuelto (COD), nitrógeno orgánico disuelto (NOD), fósforo orgánico disuelto (POD), nitrógeno total disuelto (NTD), fósforo total disuelto (PTD), fósforo inorgánico disuelto (PID) potencial del hidrógeno (pH) El color de la barra representa los valores rho (coeficiente de correlación de Spearman), el tamaño de los recuadros aumenta en relación a este valor. La significancia de la correlación se representa con base en los valores de p (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$).

7 DISCUSIÓN

El objetivo de este trabajo fue determinar la composición de la comunidad bacteriana en el suelo y el mantillo de un gradiente de riqueza de especies de encino pertenecientes a las secciones *Lobatae* y *Quercus*. Esto, con la finalidad de identificar si la composición, riqueza y diversidad de las especies de encinos pertenecientes a dichas secciones, tienen un efecto significativo en la composición de la comunidad bacteriana del suelo y el mantillo y en la dinámica de nutrientes del ecosistema. Para responder a esta interrogante se realizaron

análisis de correlación entre variables de diversidad de encinos, variables biogeoquímicas y la composición de las comunidades bacterianas del suelo y del mantillo.

De manera general, se ha demostrado que los vínculos existentes entre las plantas y el suelo influyen en la composición y actividad de la microbiota y en los procesos del ecosistema (Hobbie 1992, Bever et al. 1996, Hooper et al. 2000, Wardle et al. 2004, Wardle 2006). Particularmente, el análisis de los vínculos entre los rasgos fitogenéticos y los procesos que ocurren en el suelo (Hooper et al. 2000; Wardle et al. 2004; Schweitzer et al. 2011), sugiere que los genotipos de las plantas podrían influir directa o indirectamente en la comunidad y actividad de la microbiota asociada al suelo (Schweitzer et al. 2008).

En este trabajo, las especies de encino que coexisten en los sitios de estudio presentan diferencias en la composición química y en la calidad de los recursos que retornan al suelo; siendo las especies pertenecientes a la sección *Quercus* (encinos blancos) la fuente con mayor calidad de MO en comparación con las especies de la sección *Lobatae* (encinos rojos). Entre los resultados más relevantes se observó que existe una marcada diferenciación entre la composición de las comunidades bacterianas del suelo y del mantillo. Aunado a esto los datos indican que la comunidad de encinos juega un papel importante en la concentración de nutrientes, en los procesos que determinan la actividad enzimática y en la composición de las comunidades bacterianas del suelo y del mantillo.

7.1 Diferenciación en la composición de las comunidades bacterianas del suelo y el mantillo.

Diversos estudios han mostrado diferencias en la composición bacteriana del suelo y el mantillo. Algunos de estos trabajos se han centrado en analizar el efecto que tiene la estratificación del suelo sobre las comunidades microbianas de diferentes ecosistemas (Will et al., 2010; Eilers et al., 2012; Baldrian et al., 2012). En el caso de algunos sistemas templados, el patrón de diferenciación de la composición de la comunidad bacteriana entre el suelo y el mantillo se ha relacionado con las diferencias en el contenido y calidad de la MO a lo largo de la estructura vertical del perfil de suelo. Es decir, a medida que la

profundidad del suelo aumenta, el contenido de MO disminuye y su composición química cambia (Šnajdr et al., 2008a; Šnajdr et al., 2008b; Šnajdr et al., 2011; Baldrian et al., 2010).

Ejemplos de lo señalado anteriormente se pueden observar en algunos estudios que reportan diferencias significativas en el contenido de MO, C y N entre el mantillo y el horizonte orgánico del suelo de bosques templados (*Picea abies* y *Quercus Petraeae*). Lo anterior genera un patrón de disminución de la disponibilidad de nutrientes con relación a la profundidad, derivando de esta manera en una disminución de la biomasa microbiana (bacterias y hongos) y en una diferenciación significativa en la composición de la comunidad microbiana entre el mantillo y el horizonte orgánico del suelo (Šnajdr et al. 2008; Baldrian et al. 2012; López-Mondéjar et al., 2015).

De manera general, nuestro trabajo aporta resultados que muestran diferencias significativas entre la composición bacteriana del mantillo y la composición bacteriana del suelo a lo largo del gradiente de riqueza de encinos. Las clases bacterianas que presentaron un mayor dominio en el suelo y el mantillo del gradiente forman parte de los phyla *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, y *Acidobacteria*. La presencia de dichos grupos representa un factor clave en los procesos de descomposición de la MO, ya que se ha observado que poseen capacidades celulolíticas (Brown & Chang 2014; Tian et al. 2014; Štursová et al. 2012). Sin embargo, algunos grupos experimentaron cambios en su abundancia relativa en el suelo, donde clases bacterianas pertenecientes al phyla *Bacteroidetes* (*Cytophagia*, *Flavobacteriia* y *Sphingobacteriia*) mostraron una disminución considerable en comparación con el mantillo, mientras que clases bacterianas pertenecientes a los phyla *Acidobacteria*, *Verrucomicrobia* y *Planctomycetes* aumentaron su abundancia.

Las bacterias pertenecientes al phyla *Bacteroidetes* se han vinculado principalmente con la descomposición de polisacáridos simples, mientras que los grupos *Acidobacteria*, *Verrucomicrobia* y *Planctomycetes* han presentado la capacidad de utilizar compuestos complejos (e.g. xilano, xantano y pectina) como fuentes de energía (Janssen et al., 2002; Davis, Joseph & Janssen 2005; Ward et al., 2009; Eichorst, Kuske & Schmidt 2011). Estos datos sugieren que las moléculas dominantes en la MO del suelo son más recalcitrantes, lo

cual ha favorecido la dominancia de grupos que tienen la capacidad enzimática para despolimerizar este tipo de moléculas.

7.2 Mantillo: composición de la comunidad microbiana y procesos asociados

En el mantillo, la comunidad de encinos presentó pocas correlaciones con la composición de la comunidad microbiana, sin embargo, tuvo un impacto significativo en la concentración de nutrientes y en la actividad enzimática. La proporción de especies de encinos blancos correlacionó positivamente con la actividad de las enzimas BG, NAG y AP, con la concentración de NT, de PTD, de PID, de NO₃D y de NH₄D. Chávez-Vergara et al. (2018) reportaron patrones similares en el mantillo de una especie de encino blanco (*Q. deserticola*). El mantillo de esta especie presentó una mayor concentración de NT, de PT, de NH₄D, de NO₃D y de PID en comparación con el mantillo de una especie de encino rojo (*Q. castanea*). Además, sus resultados indicaron que el mantillo de *Q. deserticola* mostró el valor más alto de actividad enzimática (β -1,4-glucosidasa (BG), celobiohidrolasa (CBH), β -N-acetil-glucosaminidasa (NAG), polifenol oxidasa (POX) y deshidrogenasa (DHG)) en comparación con *Q. castanea*, durante los primeros 30 días del proceso de descomposición.

El aporte de las especies de encinos blancos en la concentración de nutrientes puede ser explicado por el alto contenido de nutrientes en la composición química del mantillo, debido a la baja capacidad de reabsorción foliar de nutrientes que poseen las especies pertenecientes a la sección *Quercus* (Chávez-Vergara & García-Oliva 2013). Bajo este contexto, Aponte et al. (2013) y Chávez-Vergara et al. (2014) observaron una mayor actividad microbiana y una mayor disponibilidad de nutrientes en el mantillo perteneciente a las especies de la sección *Quercus* en comparación con especies que producen un mantillo de menor calidad debido a su alta capacidad de reabsorción de nutrientes. De igual manera, estudios previos han indicado que las especies que retornan al suelo materia orgánica de alta calidad pueden promover la actividad microbiana y la transformación de nutrientes en

el mantillo (Hättenschwiler et al. 2005; Kuzayakov 2010; Lecerf et al. 2011; Berg & McCláugherty 2014).

Las clases *Actinobacteria* y *Alphaproteobacteria* correlacionaron con la riqueza de especies de encinos blancos, manteniendo una correlación positiva y una negativa respectivamente. Algunos estudios han demostrado la presencia de capacidades celulolíticas en algunos géneros bacterianos pertenecientes a las clases mencionadas anteriormente (Haichar et al. 2007; Ulrich, Klimke & Wirth 2008).

7.3 Suelo: Composición de la comunidad microbiana y procesos asociados

En el suelo, la riqueza total de especies de encino y la riqueza y proporción de encinos blancos correlacionaron positivamente con el NO_3D y con el PID. En el mantillo la proporción de encinos blancos también obtuvo correlaciones con las variables mencionadas anteriormente. Estos resultados sugieren que la incorporación y la disponibilidad de nutrientes están reguladas principalmente por la estrategia de reabsorción foliar de nutrientes que poseen las especies vegetales; algunos estudios han relacionado la intensidad del proceso de reabsorción de nutrientes con la identidad de las especies vegetales, ya que con base en su identidad presentan rasgos funcionales distintos (i.e. Killingbeck 2004; Mae 2004; Campanella y Bertiller 2011; Wymore et al. 2011; de Campos et al. 2013). Estudios previos han reportado este patrón de reabsorción foliar de nutrientes para otras especies del género *Quercus* (Aponte et al. 2012; 2013; Chávez-Vergara et al. 2015).

La comunidad microbiana del suelo mostró correlaciones significativas con la riqueza total de especies de encinos, con la riqueza de encinos blancos, con la proporción de encinos blancos y con la proporción de encinos rojos. Los principales grupos bacterianos que mantuvieron correlaciones con la comunidad de encinos pertenecen a los phyla *Acidobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Gemmatimonadetes* y *Proteobacteria*. A demás, los primeros cuatro phyla mencionados anteriormente, sostuvieron correlaciones positivas con el NO_3D y el PID, es decir, la abundancia de dichos grupos bacterianos aumenta cuando hay altas concentraciones de NO_3D y de PID. En el caso del NO_3D , se ha reportado la

presencia de genes relacionados con el proceso de desnitrificación en cepas pertenecientes a los grupos *Acidobacteria* y *Firmicutes* (Priyanka & Mukherjee, 2015; Nelson et al., 2016) . Mientras que, en el caso del PID, un estudio metagenómico reciente ha indicado que miembros de los phyla *Actinobacteria* y *Acidobacteria* dominan los procesos relacionados con la transformación del P en bosques templados (Bergkemper et al. 2016). Lo anterior sugiere que los grupos bacterianos *Acidobacteria*, *Actinobacteria* y *Firmicutes* pueden tener un rol clave en la dinámica de nutrientes del gradiente.

De manera general, lo anterior, sugiere que los rasgos funcionales de las especies de encino tienen un impacto significativo en la comunidad microbiana, los cuales, a su vez promueven la transformación de nutrientes en el suelo. Por lo tanto, la composición de especies vegetales representa un factor clave en la dinámica de nutrientes del ecosistema.

CONCLUSIONES

La estructura de la comunidad de encinos influye en la composición de las comunidades bacterianas del mantillo y del suelo, y como consecuencia influye también sobre la dinámica y disponibilidad de nutrientes en los ecosistemas. Los rasgos funcionales de las especies vegetales determinan la calidad de la materia orgánica que retornan al suelo. Particularmente, observamos que una mayor proporción de especies de encinos blancos promueve una mayor concentración de nutrientes y promueve también la actividad enzimática de las comunidades bacterianas, favoreciendo la presencia de grupos bacterianos capaces de degradar la materia orgánica con mayor calidad, como es el caso de la materia orgánica generada por las especies de encinos pertenecientes a la sección *Quercus* (encinos blancos).

Las diferencias observadas en la composición de las comunidades bacterianas en el gradiente de riqueza de encinos nos permitieron entender que el acoplamiento de las comunidades bacterianas y las comunidades vegetales se liga con la capacidad metabólica de los microorganismos para degradar la materia orgánica de diferente calidad; la capacidad metabólica microbiana se determina mediante los rasgos funcionales de las especies vegetales. Esta información es de suma importancia, debido a que nos permite

generar estrategias de manejo y conservación que estén enfocadas tanto en la importancia de las especies vegetales, como en el entendimiento del acoplamiento de las especies vegetales con las especies bacterianas del suelo, lo cual determinará la disponibilidad de nutrientes y el flujo de materia y energía a nivel ecosistémico.

PERSPECTIVAS A FUTURO Y REFLEXIONES PERSONALES

El presente trabajo nos permite observar un panorama general de las relaciones que existen entre las comunidades vegetales, las comunidades bacterianas y la dinámica de nutrientes en los ecosistemas templados. Sin embargo, a partir de lo aprendido surgen cuestionamientos que a futuro pueden enriquecer el bagaje de conocimiento, que en tiempos de emergencia ambiental, es sumamente necesario para la generación de propuestas viables y acertadas, ante las distintas problemáticas que existen hoy en día.

El papel que juegan las relaciones que existen entre las comunidades vegetales y los microorganismos es clave para el funcionamiento de los ecosistemas, y la actividad microbiana es de suma importancia en la dinámica de nutrientes. A partir de lo anterior, sería interesante explorar las capacidades metabólicas de las comunidades bacterianas utilizando herramientas de la genómica como la generación de metagenomas y metatranscriptomas del suelo y el mantillo del gradiente, de esta manera podríamos explorar el potencial genético de las comunidades, así como la expresión de genes en distintas condiciones ambientales. De manera complementaria otros integrantes del equipo de trabajo del laboratorio de microbiomica han contribuido a la generación de conocimiento, realizando trabajos en torno a los microorganismos cultivables del gradiente, que son interesantes desde un punto de vista genómico y biogeoquímico. Aunado a lo anterior, se necesitan también estudios basados en la caracterización de la comunidad de hongos y bacteriófagos son necesarios para poder determinar de manera integral el efecto de la identidad de las especies vegetales sobre la composición de la comunidad microbiana en los suelos y en la dinámica de nutrientes.

Finalmente es importante remarcar que es necesario tener un conocimiento profundo sobre los distintos sistemas de estudio para poder generar colaboraciones interdisciplinarias funcionales.

REFERENCIAS

Aerts, R. (1996). Nutrient Resorption from Senescing Leaves of Perennials: Are there General Patterns? *The Journal of Ecology*, 84, pp. 597-608.

Amplicon, P. C. R., Clean-Up, P. C. R. & Index, P. C. R. 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (2013). https://www.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16smetagenomiclibrary-prepguide-15044223-b.pdf.

Aponte, C., García, L. V., & Marañón, T. (2012). Tree species effect on litter decomposition and nutrient release in mediterranean oak forests changes over time. *Ecosystems*, 15(7), pp. 1204-1218.

Aponte, C., García, L. V., & Marañón, T. (2013). Tree species effects on nutrient cycling and soil biota: a feedback mechanism favouring species coexistence. *Forest Ecology and Management*, 309, pp. 36-46.

Arizaga, S., Martínez-Cruz, J., Salcedo-Cabrales, M., & Bello-González M.A. (2009). Manual de la biodiversidad de encinos michoacanos. *Instituto Nacional de Ecología*.

Atlas, R. M., & Bartha, R. (1998). *Microbial Ecology: fundamentals and applications* (4°ed.). California: Pearson.

Attard, E., Poly, F., Commeaux, C., Laurent, F., Terada, A., Smets, B. F., Recous, S., Le Roux, X. (2010). Shifts between Nitrospira-and Nitrobacter-like nitrite oxidizers underlie the response of soil potential nitrite oxidation to changes in tillage practices. *Environmental Microbiology*, 12(2), pp. 315–326.

Austin, A. T., Vivanco, L., González-Arzac, A., & Pérez, L. I. (2014). There's no place like home? An exploration of the mechanisms behind plant litter–decomposer affinity in terrestrial ecosystems. *New Phytologist*, 204(2), pp. 307-314.

Ayres, E., Steltzer, H., Simmons, B. L., Simpson, R. T., Steinweg, J. M., Wallenstein, M. D., Mellor, N., Parton, W.J., Moore, J.C., & Wall, D. H. (2009). Home-field advantage accelerates leaf litter decomposition in forests. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(3), pp. 606-610.

Bailey, J. K., Schweitzer, J. A., Ubeda, F., Koricheva, J., LeRoy, C. J., Madritch, M. D., Rehill, B.J., Bangert, R.K, Fischer, D.G., Allan, G.J., & Whitham, T. G. (2009). From genes to ecosystems: a synthesis of the effects of plant genetic factors across levels of organization. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1523), pp. 1607-1616.

Baldrian, P., Merhautová, V., Cajthaml, T., Petránková, M., & Šnajdr, J. (2010). Small-scale distribution of extracellular enzymes, fungal, and bacterial biomass in *Quercus petraea* forest topsoil. *Biology and Fertility of Soils*, 46(7), pp. 717-726.

Baldrian, P., Kolařík, M., Štursová, M., Kopecký, J., Valášková, V., Větrovský, T., Žifčáková, L., Šnajdr, J., Rídl, J., Vlček, Č., Voříšková, J. (2012). Active and total microbial communities in forest soil are largely different and highly stratified during decomposition. *The ISME journal*, 6(2), pp. 248-258.

Bardgett, R. D., & Wardle, D. A. (2010). Aboveground-belowground linkages: biotic interactions, ecosystem processes, and global change. *Inglaterra: Oxford University Press*.

Berendse, F. (1998). Effects of dominant plant species on soils during succession in nutrient poor ecosystems. *Biogeochemistry*, 42, pp. 73-88.

Bergkemper, F., Schöler, A., Engel, M., Lang, F., Krüger, J., Schloter, M., & Schulz, S. (2016). Phosphorus depletion in forest soils shapes bacterial communities towards phosphorus recycling systems. *Environmental microbiology*, 18(6), 1988-2000.

Bever, J. D., Morton, J. B., Antonovics, J., & Schultz, P. A. (1996). Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland. *Journal of ecology*, pp. 71-82.

Binkley, D. A. N., & Giardina, C. (1998). Why do tree species affect soils? The warp and woof of tree-soil interactions. *Plant-induced soil changes: Processes and feedbacks*, pp. 89-106. Springer, Dordrecht.

Bocco, G., Mendoza, E., Velázquez, A., & Torres, A. (1999). La regionalización geomorfológica como una alternativa de regionalización ecológica en México: El caso de Michoacán de Ocampo. *Investigaciones geográficas*, (40), pp. 7-22.

Bocco, G., Mendoza, M., & Masera, O.R. (2001). La dinámica del cambio del uso del suelo en Michoacán: Una propuesta metodológica para el estudio de los procesos de deforestación. *Investigaciones geográficas*, (44), pp. 18-36.

Bowman, W. D., Steltzer, H., Rosenstiel, T. N., Cleveland, C. C., & Meier, C. L. (2004). Litter effects of two co-occurring alpine species on plant growth, microbial activity and immobilization of nitrogen. *Oikos*, 104(2), pp. 336-344.

Bray, J. R., & Curtis, J. T. (1957). An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological monographs*, 27(4), pp. 325-349.

Brown, M. E., & Chang, M. C. (2014). Exploring bacterial lignin degradation. *Current opinion in chemical biology*, 19, pp. 1-7.

Bünemann, E. K., & Condron, L. M. (2007). Phosphorus and sulphur cycling in terrestrial ecosystems. *Nutrient cycling in terrestrial ecosystems*, pp. 65-92. Springer, Berlin, Heidelberg.

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), pp. 581-583.

Callahan, B. J., McMurdie, P. J., & Holmes, S. P. (2017). Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *The ISME journal*, 11(12), pp. 2639-2643.

Callahan, B. (2018). A DADA2 workflow for Big Data (1.4 or later): <https://benjjneb.github.io/dada2/bigdata.html>.

Campanella, M. V., & Bertiller, M. B. (2011). Is N-resorption efficiency related to secondary compounds and leaf longevity in coexisting plant species of the arid Patagonian Monte, Argentina?. *Austral Ecology*, 36(4), 395-402.

Cardinale, B. J., Matulich, K. L., Hooper, D. U., Byrnes, J. E., Duffy, E., Gamfeldt, L., & Gonzalez, A. (2011). The functional role of producer diversity in ecosystems. *American journal of botany.*, 98(3), pp. 572-592.

Chávez-Vergara, B. & García-Oliva, F. (2013). Consecuencias funcionales de la diferenciación taxonómica entre secciones del género *Quercus*: el caso de la reabsorción de nutrientes. *Revista Biológicas*, Número Especial, pp. 1-7.

Chávez-Vergara, B., Merino, A., Vázquez-Marrufo, G., & García-Oliva, F. (2014). Organic matter dynamics and microbial activity during decomposition of forest floor under two native neotropical oak species in a temperate deciduous forest in Mexico. *Geoderma*, 235, pp. 133-145.

Chávez-Vergara, B. M., González-Rodríguez, A., Etchevers, J. D., Oyama, K., & García-Oliva, F. (2015). Foliar nutrient resorption constrains soil nutrient transformations under two native oak species in a temperate deciduous forest in Mexico. *European journal of forest research.*, 134(5), pp. 803-817.

Chávez-Vergara, B. (2015). Efecto de la calidad de la materia orgánica asociada a dos especies de *Quercus* sobre la descomposición del mantillo en un bosque templado deciduo. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.

Chávez-Vergara, B., Rosales-Castillo, A., Merino, A., Vázquez-Marrufo, G., Oyama, K., & García-Oliva, F. (2016). *Quercus* species control nutrients dynamics by determining the composition and activity of the forest floor fungal community. *Soil Biology and Biochemistry*, 98, 186-195.

Chávez-Vergara, B., Merino, A., González-Rodríguez, A., Oyama, K., & García-Oliva, F. (2018). Direct and legacy effects of plant-traits control litter decomposition in a deciduous oak forest in Mexico. *PeerJ*, 6, e5095.

Chenu, C., Rumpel, C., & Lehmann, J. (2015). Methods for studying soil organic matter: nature, dynamics, spatial accessibility, and interactions with minerals. *Soil microbiology, ecology and biochemistry*. Academic Press Elsevier Inc., pp. 383-419.

Chesworth, W. (Ed.). (2007). Encyclopedia of soil science. *Springer Science & Business Media*.

Cornwell, W.K., Cornelissen, J.H., Amatangelo, K., Dorrepaal, E., Eviner, V.T., Godoy, O., Hobbie, S.E., Hoorens B, Kurokawa, H., Perez-Harguindeguy, N., Quested, H.M., Santiago L.S., Wardle, D.A., Wright, I.J., Aerts R, Allison SD, van Bodegom P, Brovkin V, Chatain A, Callaghan TV, Diaz S, Garnier E, Gurvich DE, Kazakou E, Klein JA, Read J, Reich PB, Soudzilovskaia NA, Vaieretti MV, Westoby M (2008) Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide. *Ecology Letters*, 11, pp. 1065-1071.

Cué Bär, E., Villaseñor, J., Arredondo Amezcua, L., Cornejo Tenorio, G., & Ibarra Manríquez, G. (2006). La flora arbórea de Michoacán, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 78, pp. 47-81.

Dao, T. H., & Hoang, K. Q. (2008). Dephosphorylation and quantification of organic phosphorus in poultry litter by purified phytic-acid high affinity *Aspergillus* phosphohydrolases. *Chemosphere*, 72(11), pp. 1782-1787.

Davis, K. E., Joseph, S. J., & Janssen, P. H. (2005). Effects of growth medium, inoculum size, and incubation time on culturability and isolation of soil bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 71(2), pp. 826-834.

de Campos, M. C., Pearse, S. J., Oliveira, R. S., & Lambers, H. (2013). Downregulation of net phosphorus-uptake capacity is inversely related to leaf phosphorus-resorption proficiency in four species from a phosphorus-impooverished environment. *Annals of botany*, 111(3), 445-454.

DeFries, R.S, Foley, J.A, & Asner, G.P. (2004). Land-use choices: balancing human needs and ecosystem function. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2, pp. 249-257.

Del Valle-Arango, J.I., 2003. "Cantidad, calidad y nutrientes reciclados por la hojarasca fina de bosques pantanosos del Pacífico Sur Colombiano". *Interciencia*, 28, pp. 443-449.

Drenovsky R.E., Koehler, C.E., Skelly K. & Richards, J.H. (2013). Potential and realized nutrient resorption in serpentine and non-serpentine chaparral shrubs and trees. *Oecologia*, 171, pp. 39-50.

Eldor, P. A. (2007). *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry* (3rd Edition). Canada: Academic Press.

Eichorst, S. A., Kuske, C. R., & Schmidt, T. M. (2011). Influence of plant polymers on the distribution and cultivation of bacteria in the phylum Acidobacteria. *Applied and environmental microbiology*, 77(2), pp. 586-596.

Eilers, K. G., Debenport, S., Anderson, S., & Fierer, N. (2012). Digging deeper to find unique microbial communities: the strong effect of depth on the structure of bacterial and archaeal communities in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 50, pp. 58-65.

Eren, A. M., Morrison, H. G., Lescault, P. J., Reveillaud, J., Vineis, J. H., & Sogin, M. L. (2015). Minimum entropy decomposition: unsupervised oligotyping for sensitive partitioning of high-throughput marker gene sequences. *The ISME journal*, 9(4), pp. 968-979.

Fenchel, T., Blackburn, H., King, G. M., & Blackburn, T. H. (2012). Bacterial biogeochemistry: the ecophysiology of mineral cycling. Academic press Elsevier Inc.

Food and Agriculture Organization. (2007). Situación de los bosques del mundo 2007. *Food and Agriculture Organization.*, pp. 143.

Foley, J.A, DeFries, R.S., Asner, G.P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S.R., Chapin, F.S., 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., Snyder, P.K. (2005). Global consequences of land use. *Science*, 309, pp. 570-574.

Freschet, G. T., Aerts, R., & Cornelissen, J. H. (2012). Multiple mechanisms for trait effects on litter decomposition: moving beyond home-field advantage with a new hypothesis. *Journal of Ecology*, *100*(3), pp. 619-630.

Gans, J., Wolinsky, M., & Dunbar, J. (2005). Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. *Science*, *309*(5739), 1387-1390.

Garbeva, P. V., Van Veen, J. A., & Van Elsas, J. D. (2004). Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol*, *42*, pp. 243-270.

Grayston, S. J., Wang, S., Campbell, C. D., & Edwards, A. C. (1998). Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, *30*(3), 369-378.

Hackl, E., Schloter, M., Szukics, U., Bodrossy, L., & Sessitsch, A. (2012). From single genes to microbial networks. *Soil Ecology and Ecosystem Services*, *2*, pp. 65-81.

Hernández Becerra, N. (2014). Dinámica de C, N y P y composición de la comunidad bacteriana del suelo de un gradiente de manejo agrícola en el Valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.

Hobbie, S. E. (1992). Effects of plant species on nutrient cycling. *Trends in ecology & evolution*, *7*(10), 336-339.

Hooper, D.U., Bignell, D.E., Brown, V.K., Brussard, L., Dangerfield, J.M., Wall, D.H, Wardle, D.A., Coleman, D.C., Giller, K.E., Lavelle, P., Van Der Putten, W.H., De Ruiter, P.C., Rusek, J., Silver, W.L., Tiedje, J.M. & Wolters, V (2000). Interaction between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: patterns, mechanisms, and feedbacks. We assess the evidence for correlation between aboveground and belowground diversity and conclude that a variety of mechanisms could lead to positive, negative, or no relationship—depending on the strength and type of interactions among species. *AIBS Bulletin*, *50*(12), pp. 1049-1061.

Hooper, D.U. & Vitousek, P.M. (1997). The effects of plant composition an diversity on ecosystem processes. *Science*, *277*, 1302-1305.

Hopkins, D. W., & Dungait, J. A. (2010). Soil microbiology and nutrient cycling. *Soil Microbiology and Sustainable Crop Production*, pp. 59-80. Springer, Dordrecht.

Shendure, J., & Hanlee, J. (2008). Next-generation DNA sequencing. *Nature Biotechnology*, 26, 1135-1145.

Illumina, Inc. (2018). Massively parallel sequencing with optimized SBS chemistry: <https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/sequencing-technology.html>.

Illumina, Inc. (2013). 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System. https://support.illumina.com/downloads/16s_metagenomic_sequencing_library_preparation.html.

Janssen, P. H., Yates, P. S., Grinton, B. E., Taylor, P. M., & Sait, M. (2002). Improved culturability of soil bacteria and isolation in pure culture of novel members of the divisions Acidobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria, and Verrucomicrobia. *Applied and environmental microbiology*, 68(5), pp. 2391-2396.

Karaca, A., Cetin, S. C., Turgay, O. C., & Kizilkaya, R. (2011). Soil enzymes as indication of soil quality. In Girish Shukla & A. Varma (Eds.), *Soil Enzymology*, 22, pp. 119-148. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Kertesz, M. A., & Frossard, E. (2015). *Biological cycling of inorganic nutrients and metals in soils and their role. Soil microbiology, ecology and biochemistry*. Academic Press Elsevier Inc., pp. 471-497.

Killingbeck, K. T. (2004). Nutrient resorption. In *Plant cell death processes* (pp. 215-226). Academic Press.

Kircher, M., & Kelso, J. (2010). High-throughput DNA sequencing—concepts and limitations. *Bioessays*, 32(6), pp. 524-536.

Kögel-Knabner, I. (2002). The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 139–162.

López-Gutiérrez, J. C., Toro, M., & López-Hernández, D. (2004). Seasonality of organic phosphorus mineralization in the rhizosphere of the native savanna grass, *Trachypogon plumosus*. *Soil Biology and Biochemistry*, *36*(10), 1675-1684.

López-Hernández, J. M., González-Rodríguez, H., Ramírez-Lozano, R. G., Cantú-Silva, I., Gómez-Meza, M. V., Pando-Moreno, M., & Estrada-Castillón, A. E. (2013). Producción de hojarasca y retorno potencial de nutrientes en tres sitios del estado de Nuevo León, México. *Polibotánica*, (35), pp. 41-64.

López-Mondéjar, R., Voříšková, J., Větrovský, T., & Baldrian, P. (2015). The bacterial community inhabiting temperate deciduous forests is vertically stratified and undergoes seasonal dynamics. *Soil Biology and Biochemistry*, *87*, pp. 43-50.

Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J. P., Hector, A., & Tilman, D. (2001). Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science*, *294*(5543), pp. 804-808.

Madsen, E. L. (2011). Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles. *Current opinion in biotechnology*, *22*(3), pp. 456-464.

Madritch, M. D., & Lindroth, R. L. (2011). Soil microbial communities adapt to genetic variation in leaf litter inputs. *Oikos*, *120*(11), pp. 1696-1704.

Mae, T. (2004). Leaf senescence and nitrogen metabolism. In *Noodén LD* (ed) Plant cell death processes. Academic press, USA, pp. 157-168.

McGill, W. B., & Cole, C. V. (1981). Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma*, *26*(4), 267-286.

McLauchlan, K. K. (2006). The Nature and Longevity of Agricultural Impacts on Soil Carbon and Nutrients: A Review. *Ecosystems*, *9*(8), pp. 1364–1382.

Meier, C.L. & Bowman W.D. (2008). Links between plant litter chemistry, species diversity, and below-ground ecosystem function. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, *105*, pp. 19780-19785.

Mas, J.F., Lemoine-Rodríguez, R., González, R., López-Sánchez, J., Piña-Garduño, A., & Herrera-Flores, E. (2017). Evaluación de las tasas de deforestación en Michoacán a escala

detallada mediante un método híbrido de clasificación de imágenes SPOT. *Madera y bosques*, 23(2), pp. 119-131.

Mocali, S., & Benedetti, A. (2010). Exploring research frontiers in microbiology: the challenge of metagenomics in soil microbiology. *Research in Microbiology*, 161(6), pp. 497-505.

Naether, A., Foesel, B. U., Naegele, V., Wüst, P. K., Weinert, J., Bonkowski, M., ... & Gockel, S. (2012). Environmental factors affect acidobacterial communities below the subgroup level in grassland and forest soils. *Appl. Environ. Microbiol*, 78(20), pp. 7398-7406.

Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M. T., Landi, L., Pietramellara, G., & Renella, G. (2003). Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*, 54, pp. 655–670.

Nannipieri, P., Giagnoni, L., Renella, G., Puglisi, E., Ceccanti, B., Masciandaro, G., Fornasier, F., Moscatelli, M.C., & Marinari, S. A. R. A. (2012). Soil enzymology: classical and molecular approaches. *Biology and fertility of soils*, 48(7), pp. 743-762.

Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn, D., ... & Stevens, M. H. H. *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.5-2. 2018.

Nelson, M. B., Martiny, A. C., & Martiny, J. B. (2016). Global biogeography of microbial nitrogen-cycling traits in soil. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(29), 8033-8040.

Plante, A. F., Stone, M. M., & McGill, W. B. (2015). The metabolic physiology of soil microorganisms. *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*. Academic Press Elsevier Inc., pp. 245-272.

Priyanka, J., & Koel, M. (2015). Diversity Study of Nitrate Reducing Bacteria from Soil Samples-A Metagenomics Approach. *Journal of Computer Science & Systems Biology*, 8(4), 191.

Quijas, S., & Balvanera, P. (2013). Biodiversity and ecosystem services.

Rasche, F., Knapp, D., Kaiser, C., Koranda, M., Kitzler, B., Zechmeister-Boltenstern, S., Richter, A., & Sessitsch, A. (2011). Seasonality and resource availability control bacterial

and archaeal communities in soils of a temperate beech forest. *The ISME journal*, 5(3), pp. 389-402.

Rhoades, C. C. (1996). Single-tree influences on soil properties in agroforestry: lessons from natural forest and savanna ecosystems. *Agroforestry systems*, 35(1), pp. 71-94.

Rodríguez-Correa, H., González, A., Letelier, L., y García-Oliva, F. (2018). Reducción de las áreas con alta riqueza de especies del género *Quercus* bajo escenarios de Cambio Climático Global. *La Biodiversidad de Michoacán. Estudio de Estado 2, vol III*. CONABIO, México, pp. 341-350.

Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17(4-5), pp. 319–339.

Roesch, L. F., Fulthorpe, R. R., Riva, A., Casella, G., Hadwin, A. K., Kent, A. D., ... & Triplett, E. W. (2007). Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *The ISME journal*, 1(4), pp. 283-290.

Rosselló-Mora, R., & Amann, R. (2001). The species concept for prokaryotes. *FEMS microbiology reviews*, 25(1), pp. 39-67.

Schlesinger, W. H. (2000). Biogeoquímica: un análisis del cambio global. *Ariel*.

Schrimer, M., Ijaz, U.Z., D'Amore, R., Hall, N., Solan, W.T., Quince, C. (2015). Insight into biases and sequencing errors for amplicon sequencing with the Illumina Miseq platform. *Nucleic acids research*, 43(6), pp. 37-37.

Schweitzer, J.A., Bailey, J.K., Fischer, D.G., LeRoy, C.J., Lonsdorf, E.V., Whitham, T.G. & Hart, S.C. (2008). Plant–soil–microorganism interactions: heritable relationship between plant genotype and associated soil microorganisms. *Ecology*, 89(3), pp. 773-781.

Schweitzer, J.A., Fischer, D.G., Rehill, B.J., Wooley, S.C., Woolbright, S.A., Lindroth, R.L., Whitham, T.G., Zak, D.R., Hart, S.C. (2011). Forest gene diversity is correlated with the composition and function of soil microbial communities. *Population Ecology*, 53(1), pp. 35-46.

Schweitzer, J.A., Madritch, M.D., Felker-Quinn, E.F, & Baile, J.K. (2012). Cap. 2.2. From Genes to Ecosystems: Plant Genetics as a Link between Above-and Belowground Processes. *Soil Ecology and Ecosystem Services*, pp. 82-92. Inglaterra: Oxford University press.

Selengut, J.D., Shrivastava, S., Sullivan, S.A., Tapia, R., Thompson, L.S., Watkins, K.L., Yang, Q., Yu, C., Zafar, N., Zhu, L. & 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), pp. 2046-2056.

Shokralla, S., Spall, J. L., Gibson, J. F., & Hajibabaei, M. (2012). Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Molecular ecology*, 21(8), 1794-1805.

Sinsabaugh, R. L., & Follstad Shah, J. J. (2012). Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43, pp. 313-343.

Šnajdr, J., Valášková, V., Merhautová, V., Cajthaml, T., Baldrian, P. (2008a). Activity and spatial distribution of lignocellulose-degrading enzymes during forest soil colonization by saprotrophic basidiomycetes. *Enzyme Microb Tech*, 43, pp. 186–192.

Šnajdr, J., Valášková, V., Merhautová, V., Herinková, J., Cajthaml, T., Baldrian, P. (2008b). Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil. *Soil Biol Biochem*, 40, pp. 2068–2075.

Šnajdr, J., Cajthaml, T., Valášková, V., Merhautová, V., Petránková, M., Spetz, P., Leppänen, K., & Baldrian, P. (2011). Transformation of *Quercus petraea* litter: successive changes in litter chemistry are reflected in differential enzyme activity and changes in the microbial community composition. *FEMS microbiology ecology*, 75(2), pp. 291-303.

Staley, C., Unno, T., Gould, T. J., Jarvis, B., Phillips, J., Cotner, J. B., & Sadowsky, M. J. (2013). Application of Illumina next-generation sequencing to characterize the bacterial community of the Upper Mississippi River. *Journal of Applied Microbiology*, 115(5), pp. 1147-1158.

Štursová, M., Žifčáková, L., Leigh, M. B., Burgess, R., & Baldrian, P. (2012). Cellulose utilization in forest litter and soil: identification of bacterial and fungal decomposers. *FEMS microbiology ecology*, *80*(3), pp. 735-746.

Tapia-Torres, Y., Elser, J. J., Souza, V., & García-Oliva, F. (2015). Ecoenzymatic stoichiometry at the extremes: how microbes cope in an ultra-oligotrophic desert soil. *Soil Biology and Biochemistry*, *87*, pp. 34-42.

Tian, J. H., Pourcher, A. M., Bouchez, T., Gelhaye, E., & Peu, P. (2014). Occurrence of lignin degradation genotypes and phenotypes among prokaryotes. *Applied microbiology and biotechnology*, *98*(23), pp. 9527-9544.

Torsvik, V., Goksøyr, J., & Daae, F. L. (1990). High diversity in DNA of soil bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, *56*(3), pp. 782-787.

Valencia-A., S. (2004). Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, *75*, 33-53.

Vitousek, P.M. (2004). Nutrient cycling and limitation: Hawai'i as a model system. *Princeton University Press*, Princeton, NJ.

Wardle, D.A., Bardgett, R.D., Klironomos, J.N., Heikki Setälä, Van der Putten, W.H, Wall, D.H (2004). Ecological Linkages Between Aboveground and Belowground Biota. *Science*, *304*(5677), pp. 1629-1633.

Wardle, D. A. (2006). The influence of biotic interactions on soil biodiversity. *Ecology letters*, *9*(7), pp.870-886.

Wardle, D. A., Bardgett, R. D., Walker, L. R., & Bonner, K. I. (2009). Among-and within-species variation in plant litter decomposition in contrasting long-term chronosequences. *Functional Ecology*, *23*(2), pp. 442-453.

Ward, N.L., Challacombe, J.f., Janssen, P.H., Henrissat, B., Coutinho, P.M., Wu, M., Xie, G., Haft, D.H., Sait, M., Badger, J., Barabote, R.D., Bradley, B., Brettin, T.S., Brinkac, L.M., Bruce, D., Creasy, T., Daugherty, S.C., Davidsen, T.M., DeBoy, R.T., Detter, J.C., Dodson, R.J., Durkin, A.S., Ganapathy, A., Gwinn-Giglio, M., Han, C.S., Khouri, H., Kiss, H., Kothari, S.P., Madupu, R., Nelson, K.E., Nelson, W.C., Paulsen, I., Penn, K., Ren, Q., Rosovitz, M.J., Selengut, J.D., Shrivastava, S., Sullivan, S.A., Tapia, R., Thompson, L.S., Watkins, K.L., Yang,

Q., Yu, C., Zafar, N., Zhu, L. & 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), pp. 2046-2056.

Will, A., Thürmer, A., Wollherr, A., Nacke, H., Herold, N., Schrumpf, M., Gutknecht, J., Wubet, T., Buscot, F. & Daniel, R. (2010). Horizon-specific bacterial community composition of German grassland soils, as revealed by pyrosequencing-based analysis of 16S rRNA genes. *Applied and environmental microbiology*, 76(20), pp. 6751-6759.

Wymore, A. S., Keeley, A. T., Yturralde, K. M., Schroer, M. L., Propper, C. R., & Whitham, T. G. (2011). Genes to ecosystems: exploring the frontiers of ecology with one of the smallest biological units. *New Phytologist*, 191(1), 19-36.

Yuan, Z. Y. and H. Y. H. Chen. (2009). Global-scale patterns of nutrient resorption associated with latitude, temperature and precipitation. *Global Ecology and Biogeography*, 18, pp. 11-18.

Zhang J, Chiodini R, Badr A, Zhang G (2011) The impact of next-generation sequencing on genomics. *Journal of Genetics and Genomics*, 38, pp. 95–109.

Zinke, P. J. (1962). The pattern of influence of individual forest trees on soil properties. *Ecology*, 43(1), pp. 130-133.