



**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.**

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**Efecto de Factores Abióticos y Bióticos sobre
la Estructura de la Comunidad Microbiana del
Suelo en un Ambiente Oligotrófico**

Tesis que presenta

Andrea Echeverría Molinar

Para obtener el grado de

Maestra en Ciencias Ambientales

Directora de la Tesis:

Dra. Nguyen Esmeralda López Lozano

San Luis Potosí, S.L.P., noviembre de 2017



Constancia de aprobación de la tesis

La tesis "**Efecto de factores abióticos y bióticos sobre la estructura de la comunidad microbiana del suelo en un ambiente oligotrófico**" presentada para obtener el Grado de Maestra en Ciencias Ambientales fue elaborada por **Andrea Echeverría Molinar** y aprobada el **1 de noviembre de 2017** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Dra. Nguyen Esmeralda López Lozano
Directora de la tesis

Dr. Joel David Flores Rivas
Miembro del Comité Tutorial

Dra. Valeria Souza Saldívar
Miembro del Comité Tutorial



Créditos Institucionales

Esta tesis fue elaborada en el Laboratorio de Ecología de Suelos, de Ecología Experimental, Ecología Microbiana y en el Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental (LANBAMA) de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección de la Dra. Nguyen Esmeralda López Lozano.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (588371) y del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.

Esta tesis fue financiada por la fundación Carlos Slim y el Proyecto SEP-CONACYT Ciencia Básica 254406 “Efecto de los factores edafológicos geográficos y fisiológicos de la planta hospedera sobre la estructura de la comunidad microbiana rizosférica de *Agave lechuguilla* y *Echinocactus platyacanthus*”.



IPICYT

Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 048 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Maestría en Ciencias Ambientales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 1 días del mes de noviembre del año 2017, se reunió a las 17:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

Dr. Joel David Flores Rivas	Presidente	IPICYT
Dra. María de Lourdes Berenice Celis García	Secretaria	IPICYT
Dra. Nguyen Esmeralda López Lozano	Sinodal	IPICYT

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

sustentó la C.

Andrea Echeverría Molinar

sobre la Tesis intitulada:

Efecto de los Factores Abióticos y Bióticos sobre la Estructura de la Comunidad Microbiana del Suelo en un Ambiente Oligotrófico

que se desarrolló bajo la dirección de

Dra. Nguyen Esmeralda López Lozano

El Jurado, después de deliberar, determinó

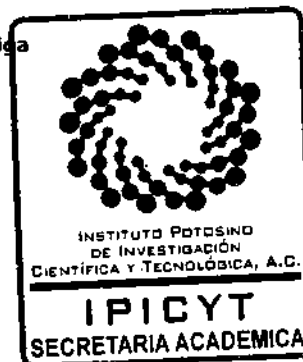
APROBARLA

Dándose por terminado el acto a las 19:00 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición de la interesada y para los fines que a la misma convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 1 días del mes de noviembre de 2017.

Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez
Jefa del Departamento del Posgrado

Dr. Horacio Flores Zúñiga
Secretario Académico



Dedicada a las dos personas más importantes en mi vida. A mi mamá, por ser la mamá menos convencional (y más genial), con todo el amor y apoyo incondicional que esto incluye. A mi amor, Hugo, por amarme, complementarme y acompañarme en esta experiencia.

Agradecimientos

Agradezco a la Dra. Esmeralda López por su guía y enseñanzas durante este proyecto. De igual manera, a los miembros de mi comité tutorial, el Dr. Joel Flores y la Dra. Valeria Souza, por sus comentarios, consejos y enseñanzas. A la Dra. Berenice Celis, por aceptar participar como sinodal en mi examen con poco tiempo de anticipación y por sus contribuciones a mi trabajo.

Quisiera agradecer al Dr. Felipe Barragán por sus palabras de aliento durante el curso propedéutico, sin ellas, no estaría aquí. También agradezco a todos los doctores que me dieron clase, gracias por formarme y compartir sus conocimientos conmigo, ayudándome a mejorar personal y profesionalmente.

Gracias a los técnicos de laboratorio de la división, en especial al M. en C. Juan Pablo Rodas, por guiarme y enseñarme como llevar a cabo los análisis de suelo en el laboratorio. A la M. en C. Alejandra Colunga, a la M. en C. Elizabeth Cortés y a la I.Q. Ma. del Carmen Rocha por su ayuda cuando fue necesaria.

Agradezco a mi grupo de trabajo, Ángel, Chris y Neto, por enseñarme cosas nuevas y por acompañarme en este proceso. A mis amigos de generación, Bety, Betsa, Ale, Ángel, Lupita y Mónica. Especialmente a Hugo, Karen, Pancho, Richie, Augusto, Javier y Toño, por todos los momentos que compartimos, por las risas y por cada una de sus particularidades, que hicieron de este grupo, uno muy especial.

Gracias a Hugo, por aparecerse en mi vida y enriquecerla con mucho amor, por su paciencia y por ayudarme a ver las cosas desde diferente perspectiva, por escucharme y apapacharme cuando lo necesito, por creer en mí y motivarme.

Agradezco a toda mi familia, a Mau, a Ñaña y a Ñeñe, por su amor, ayuda y apoyo cuando sea que se necesite. Quiero agradecer especialmente a mi mamá, por ser la mejor “miss” que he tenido en la vida, por sus consejos y consuelo en los momentos difíciles, sus porras y por ser un ejemplo constante de fortaleza.

A las personas que quiero, que han formado parte de mi vida o que se han cruzado en mi camino y que han contribuido para traerme hasta aquí, siendo quien soy.

Índice de contenido

Constancia de aprobación de la tesis	ii
Créditos Institucionales	iii
Acta de examen	iv
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Lista de tablas	viii
Lista de figuras	ix
Lista de anexos	xi
Abreviaturas	xii
Glosario	xiii
Resumen	xiv
Abstract	xv
1. Introducción	16
2. Materiales y métodos	29
2.1. Sitio de estudio	29
2.2. Planta de estudio	29
2.3. Muestreo	31
2.4. Épocas del año	34
2.5. Caracterización de suelos	34
2.6. Caracterización de las comunidades microbianas	36
2.7. Análisis de las propiedades fisicoquímicas	38
2.8. Análisis de la composición microbiana y similitud entre muestras	38
2.9. Análisis de correlación	39
3. Resultados	40
3.1. Condiciones climatológicas durante las fechas de muestreo	40
3.2. Propiedades fisicoquímicas	42
3.3. Composición y diversidad microbiana	48
3.4. Interacción planta-microorganismo	55
3.5. Efecto de las propiedades fisicoquímicas	57
3.6. Interacciones microorganismo - microorganismo	59
4. Discusión	63
5. Consideraciones finales	75
6. Referencias	77
7. Anexos	97

Lista de tablas

Tabla 1. Símil entre los procesos que participan en la estructuración de la genética de poblaciones y en la ecología de comunidades propuesto por Mark Vellend (2010).	16
Tabla 2. Sitios elegidos para llevar a cabo el muestreo con sus respectivas coordenadas.	32
Tabla 3. Reactivos y volumen al que fueron utilizados para la reacción de PCR.	36
Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas del suelo. Están resaltadas en verde aquellas que presentaron diferencias significativas entre las muestras del suelo rizosférico y del interespacio, en azul entre temporadas y en amarillo aquellas que presentaron diferencias en ambas condiciones. Las que no están coloreadas es porque no presentaron diferencias significativas. Las letras al lado de la desviación estándar indican que condiciones son distintas entre sí y los asteriscos muestran el valor de P que presentaron: ***=0.001, **=0.01, *=0.05.	42
Tabla 5. Promedio del total de secuencias, OTUs observados, estimador de Chao e índices de Shannon-Wiener y Simpson obtenidos a partir de la caracterización de la comunidad microbiana, en todas las muestras y separadas por rizósfera e interespacio. Las letras en las condiciones de rizósfera e interespacio de las columnas de Shannon-Wiener y Simpson, representan diferencias significativas entre sí.	48
Tabla 6. Phyla encontrados en las muestras de suelo de nuestro trabajo. Se presenta también una breve descripción del grupo.	49
Tabla 7. Diferencias significativas presentadas por los géneros de los phyla que resultaron más abundantes (Acidobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi y Proteobacteria). El valor de F corresponde a aquellos a los que se les realizó ANOVA y el valor de X^2 , es para aquellos a los que se les realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ¹ . Valor de P: *** = 0.001, ** = 0.01 y * = 0.05. Las “U” al final del nombre, indican la cantidad de niveles taxonómicos anteriores a los cuales no se pudo clasificar.	53

Lista de figuras

Figura 1. Redes de interacción entre los microorganismos de la rizósfera de <i>Cyclopia sp.</i> utilizando la correlación de Spearman ($p > 0.7$ y $P \leq 0.01$). Las líneas punteadas y continuas indican una interacción negativa y positiva, respectivamente. Incluye la influencia de algunas características ambientales. El tamaño de los nodos de cada OTU, es proporcional al número de conexiones que tiene. Incluye la influencia de algunas características ambientales. a) Temporada de secas y b) Temporada de lluvias. Tomado de Postma et al. (2016).	23
Figura 2. Modelo conceptual que refleja la relación entre las características ambientales y la composición de la comunidad microbiana cuando actúan mecanismos deterministas (lado izquierdo) y estocásticos (lado derecho). Tomado de Nemergut et al. (2013).	24
Figura 3. Mapa mundial de la distribución de zonas áridas clasificadas acorde al grado de aridez calculado a partir de la relación de precipitación anual promedio (P) respecto a la evapotranspiración potencial (0.65). Tomado de UNEP-WCMC (2007).	25
Figura 4. Ejemplares de <i>Agave lechuguilla</i> .	30
Figura 5. Sitios seleccionados para hacer los muestreos: 1. Becerra, 2. Carranza, 3. Orozco y 4. Madera. La etiqueta de Cuatrociénegas, corresponde al sitio donde se encuentra el poblado.	32
Figura 6. Climograma del año en el que se realizó el muestreo (2016) junto con los datos promedio históricos (10 años anteriores). Encuadrados en rojo los meses en los que se llevaron a cabo los muestreos.	40
Figura 7. Climograma que representa la precipitación (mm) y la temperatura media (°C) de 14 días anteriores y 14 días posteriores a la fecha de muestreo. Encuadrados en rojo se encuentran los días del muestreo. La precipitación total previa a la toma de muestras fue de 22.8 mm en marzo y de 30 mm en octubre. a) Datos del primer muestreo. b) Datos del segundo muestreo.	41
Figura 8. Medias de los diferentes tratamientos para la humedad. Las barras de error corresponden al error estándar.	43
Figura 9. Medias de los diferentes tratamientos para el pH. Las barras de error corresponden al error estándar.	44
Figura 10. Medias de los diferentes tratamientos para la conductividad eléctrica. Las barras de error corresponden al error estándar.	44
Figura 11. Medias de los diferentes tratamientos para la materia orgánica. Las barras de error corresponden al error estándar.	45
Figura 12. Medias de los diferentes tratamientos para el calcio. Las barras de error corresponden al error estándar.	45
Figura 13. Medias de los diferentes tratamientos para el fósforo. Las barras de error corresponden al error estándar.	46

Figura 14. Medias de los diferentes tratamientos para el amonio. Las barras de error corresponden al error estándar.	46
Figura 15. Medias de los diferentes tratamientos para el nitrato. Las barras de error corresponden al error estándar.	47
Figura 16. Medias de los diferentes tratamientos para la relación C/N. Las barras de error corresponden al error estándar.	47
Figura 17. Abundancia relativa de cada uno de los phyla encontrados de acuerdo a: a) Origen de suelo, b) Temporada y c) las cuatro condiciones por separado.	51
Figura 18. Porcentaje de abundancia relativa de los géneros más representados en las diferentes condiciones (secas, lluvias, rizósfera e interespacio). + = diferencias significativas por temporada (secas y lluvias). * = diferencias significativas por el origen de la muestra de suelo (rizósfera e interespacio). Las “U” al final del nombre, indican la cantidad de niveles taxonómicos anteriores a los cuales no se pudo clasificar.	54
Figura 19. Análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS). a) Usando las propiedades fisicoquímicas del suelo. b) Utilizando la abundancia relativa de los microorganismos a nivel de género. Sobre este último se realizó el ajuste de las variables ambientales, los valores de P de dicho ajuste se muestran en la tabla del lado inferior izquierdo.	56
Figura 20. Heatmap construido a partir de las abundancias relativas de los phyla identificados. En el dendograma superior se encuentran en café las muestras correspondientes a los interespacios y en verde las de la rizósfera. El color rojo representa la abundancia relativa, entre más intenso sea este color, más abundante es el grupo en esa muestra.	57
Figura 21. Gráfico de correlación de Spearman (abundancia relativa de phyla encontrados vs. propiedades fisicoquímicas). En escala de color, el azul indica un valor de p positivo y el rojo un valor negativo, entre más oscuro el color indica valor cercano a 1 o -1 según corresponda. Las “X” sobre los círculos indican una correlación significativa con un valor de $P \leq 0.05$.	58
Figura 22. Correlación de Spearman entre los grupos microbianos a nivel de phyla, en las dos temporadas en conjunto con el origen del suelo muestreado (rizósfera e interespacio). El color azul indica un valor de p positivo y el rojo un valor negativo, entre más intenso sea el color y mayor el tamaño del círculo, la correlación es de mayor magnitud. Las “X” sobre los círculos indican una correlación significativa con un valor de $P \leq 0.05$.	61
Figura 23. Correlación de Spearman entre los grupos microbianos a nivel de phyla, con cada una de las condiciones por separado. El color azul indica un valor de p positivo y el rojo un valor negativo, entre más intenso sea el color y mayor el tamaño del círculo, la correlación es de mayor magnitud. Las “X” sobre los círculos indican una correlación significativa con un valor de $P \leq 0.05$.	62

Lista de anexos

Anexo 1. Procesamiento de las secuencias en Mothur	97
Anexo 2. Código utilizado para los análisis en Rstudio	100
Anexo 3. Reporte de secuenciación	103
Anexo 4. Total de secuencias obtenidas, OTUs observados, estimador de Chao e índices de diversidad de Shannon-Wiener y Simpson por muestra.	111
Anexo 5. Curvas de rarefacción para cada una de las condiciones	113
Anexo 6. NMDS con el ajuste de las propiedades fisicoquímicas	115
Anexo 7. Heatmap con los grupos microbianos a nivel de género en condiciones de secas/rizósfera, secas/interespacio, lluvias/rizósfera y lluvias/interespacio	116
Anexo 8. Correlograma entre propiedades fisicoquímicas vs microorganismos a nivel de género	117

Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
BSA	Albúmina de suero bovino
CE	Conductividad Eléctrica
CT	Carbono Total
DMSO	Dimetilsulfóxido
dNTP's	Desoxirribonucleótidos trifosfato
ICP-OES	Plasma de acoplamiento inductivo – Espectroscopía de emisión óptica
LANBAMA	Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental
LANGEBIO	Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad
MO	Materia Orgánica
NMDS	Escalamiento multidimensional no métrico
NT	Nitrógeno Total
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
Relación C/N	Relación carbono/nitrógeno

Glosario

Bases intercambiables: se refiere a los cationes medidos (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} y Ca^{2+}).

Climograma: gráfica que representa los cambios en la temperatura y precipitación en un periodo de tiempo.

Correlograma: representación gráfica de las correlación que existe entre distintas variables.

Factores abióticos: aquellos inherentes al ambiente, como las propiedades fisicoquímicas del suelo y la estacionalidad.

Factores bióticos: se refiere a las interacciones que existen entre los organismos.

Fotosíntesis oxigénica: modalidad de la fotosíntesis en la que el agua es el donante primario de electrones, liberándose oxígeno como subproducto.

Fotótrofos: organismos capaces de tomar fotones de la luz del sol como fuente de energía.

Fotótrofos anoxigénicos: estos organismos convierten la energía de la luz en energía química necesaria para el crecimiento y no se libera oxígeno como subproducto.

Hipertermófilo: microorganismos cuya temperatura óptima de crecimiento es mayor a 80°C .

Mesófilico: microorganismos cuya temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre los 15 y 35°C .

Olígotrófico: pobre en nutrientes.

OTU: Unidad Taxonómica Operacional (por sus siglas en inglés), término para definir la agrupación de un conjunto de organismos basándose en su similitud, en este estudio se definió como el conjunto de organismos que presentaron 97% o más de similitud en las secuencias del gen 16S rRNA.

Quimioheterótrofo: organismos que utiliza energía liberada de reacciones químicas como fuente de energía y compuestos orgánicos como fuente de carbono.

Quimiolitótrofo: organismos que obtienen energía de compuestos inorgánicos reducidos y generalmente CO_2 como fuente de carbono.

Quimiorganótrofo: organismos que obtienen energía de reacciones de óxido-reducción y utiliza sustratos orgánicos como fuente de carbono.

Psicrofílico: microorganismos cuya temperatura óptima de crecimiento se encuentra por debajo de los 15°C .

Rizósfera: porción del suelo donde los procesos mediados por los microorganismos están bajo la influencia del sistema radicular.

Resumen

Efecto de factores abióticos y bióticos sobre la estructura de la comunidad microbiana del suelo en un ambiente oligotrófico.

Palabras clave: zonas áridas, rizósfera, *Agave lechuguilla*, procesos deterministas y estocásticos, selección.

En los suelos, las comunidades de microorganismos están sujetas a la variación de factores abióticos e interacciones bióticas que existen entre ellos y otros organismos. Nuestra hipótesis se basa en que debido a las condiciones que presentan las zonas áridas, se espera una mayor influencia de los procesos deterministas en la estructuración de las comunidades, entonces entre mayor sea la similitud en las características ambientales, habrá una mayor similitud en la composición y estructura de las comunidades microbianas. El objetivo de este trabajo fue determinar cómo los factores abióticos (propiedades fisicoquímicas del suelo y estacionalidad, refiriéndose a lluvias y sequías), así como interacciones bióticas (planta-microorganismos y microorganismos-microorganismos), son factores de selección dándole forma a las comunidades microbianas, especialmente en zonas áridas oligotróficas. En este trabajo se llevaron a cabo dos muestreos de las comunidades rizosféricas del *Agave lechuguilla* y de interespacios libres de vegetación, uno en temporada de secas y otro de lluvias, en cuatro sitios en el valle de Cuatro Ciénegas en Coahuila. Se secuenció el gen 16S rRNA por Illumina para la caracterización de las comunidades microbianas y para el suelo se determinó el carbono y nitrógeno total, pH, conductividad, humedad, materia orgánica, calcio, magnesio, sodio, potasio, amonio, nitrato y fósforo. Nuestros resultados muestran diferencias significativas tanto en las propiedades fisicoquímicas del suelo como en la composición microbiana de la rizósfera e interespacios, las cuales se acentúan en época de secas. También muestran una relación entre el pH, la conductividad, humedad, materia orgánica y relación C/N con la comunidad microbiana. Por último, entre algunos grupos microbianos persistieron interacciones que se presentaron en todas las condiciones (rizósfera, interespacio, secas y lluvias), una correlación negativa entre Actinobacteria contra Bacteroidetes y Proteobacteria y una correlación positiva entre Bacteroidetes con Proteobacteria y Verrucomicrobia.

Abstract

Effect of abiotic and biotic factors on the structure of soil microbial community in an oligotrophic environment

Key words: arid zones, rhizosphere, *Agave lechuguilla*, deterministic and stochastic processes, selection.

In soils, communities of microorganisms are subjected to the variation of abiotic factors and biotic interactions that exist between them and other organisms. Our hypothesis is based on the fact that due to the conditions presented by arid zones, is expected a higher influence of deterministic processes in community assembly, then, higher similarity in the environmental conditions will lead to higher similarity in the composition and structure of microbial communities. The objective of this work was to determine how abiotic factors (soil physicochemical properties and seasonality) as well as biotic interactions (plant-microorganisms and microorganisms-microorganisms), are selection factors shaping microbial communities, especially in oligotrophic arid zones. In this work we carry out two samplings of rhizospheric communities from *Agave lechuguilla* and from vegetation-free bulk soil, one of these samplings was in dry season and the other one in rainy season, at four sites of Cuatro Ciénegas valley in the state of Coahuila. 16S rRNA gene was amplified and sequenced by Illumina to characterize microbial community, for soil samples was determined total carbon and nitrogen, pH, conductivity, moisture, organic matter, calcium, magnesium, sodium, potassium, ammonium, nitrate and phosphorus. Our results show significant differences between rhizosphere and bulk soil community composition and soil physicochemical properties, such differences were accentuated in dry season. Furthermore, our results also show that pH, conductivity, moisture, organic matter and C/N ratio are related to the bacterial community. Finally, between some microbial groups there were some interactions that persisted in all conditions (rhizosphere, bulk soil, dry and rainy season), a negative correlation between Actinobacteria against Bacteroidetes and Proteobacteria and a positive correlation between Bacteroidetes with Proteobacteria and Verrucomicrobia.

1. Introducción

Los microorganismos juegan un papel esencial en la regulación de los ciclos biogeoquímicos y son capaces de influenciar directamente a otros seres vivos de mayor tamaño (Nemergut et al. 2013). Las poblaciones microbianas se ensamblan en comunidades que al tener potencial para un rápido crecimiento y periodos de generación cortos comparados con los macroorganismos, se les ha atribuido una gran habilidad para adaptarse (Prosser et al. 2007), estas características hacen de las comunidades microbianas un buen modelo para el estudio de la ecología de comunidades. Esta última, busca entender los mecanismos básicos que ensamblan a las especies presentes en una comunidad; estudia los patrones de diversidad, abundancia y composición de especies y cómo es que estos patrones se modifican en el espacio y tiempo (Nemergut et al. 2013; Vellend, 2010). Mark Vellend (2010) propuso que existen cuatro procesos principales que determinan la estructura de las comunidades, él plantea un símil con los procesos de genética de poblaciones, como se muestra en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Símil entre los procesos que participan en la estructuración de la genética de poblaciones y en la ecología de comunidades propuesto por Mark Vellend (2010).

Genética de Poblaciones	Ecología de Comunidades
Selección	Selección
Deriva génica	Deriva
Mutaciones	Especiación
Flujo genético	Dispersión

La *selección* ocurre cuando las variantes genéticas dentro de una población son transferidas en diferentes proporciones a sus descendientes o a sus semejantes (en el caso de la transferencia horizontal), beneficiando a un individuo sobre otro (Darwin, 1859; Bell, 2008; Nowak, 2006). A nivel de una comunidad, se puede favorecer a la especie “X” sobre la especie “Y”. Según Vellend (2010), en una comunidad pueden observarse tres tipos de selección:

1. Constante, en la cual la especie con mayor adecuación excluirá a las demás.

2. Dependiente de la frecuencia o densidad de cada especie, es decir, determina que se establezcan interacciones de competencia, predación, mutualismo, parasitismo, etc.
3. Variable en el espacio o tiempo.

Estos tipos de selección en conjunto, reflejan que la coexistencia de las especies siempre dependa de intercambios de algún tipo, con diferentes especies teniendo ciertas ventajas bajo condiciones distintas, provocadas por alguna combinación entre el ambiente abiótico y las relaciones bióticas entre las especies presentes en la comunidad (Chesson, 2000). Por ejemplo, Russo et al. (2012), llevaron a cabo un muestreo en un sitio con un gradiente de diferente tipo de suelo, que va desde la arcilla hasta la arena y vegetación en su mayoría asociada al tipo de suelo, ellos encontraron una clara diferenciación en la comunidad microbiana según el sitio donde las muestras fueron tomadas, reflejando una evidente influencia del tipo de suelo y vegetación a los que se encontraba sometida esta comunidad.

La *deriva ecológica* son cambios aleatorios en las abundancias relativas de las especies (Vellend, 2010). Un ejemplo de ello lo vemos en el estudio realizado por Dini-Andreote et al. (2015), en una salinera con diferentes etapas sucesionales (0, 5, 35, 65 y 105 años de desarrollo del suelo), donde encontraron que entre menos tiempo llevara actuando la sucesión, la composición y estructura de la comunidad de microorganismos estaría definida por procesos al azar, ya que no seguía el mismo patrón en todas las etapas tempranas de sucesión.

La *especiación* describe la creación de nuevas especies tomando en cuenta su contexto biogeográfico y evolutivo (Vellend, 2010). Un ejemplo simple de esto, es la investigación que llevaron a cabo Hansen et al. (2007), en la cual realizaron un cultivo de dos bacterias del suelo que tienden a inhibirse la una a la otra, *Acinetobacter* y *Pseudomonas putida*, en un cultivo con espacio y sustrato limitado, después de 5 días, encontraron que *P. putida*, había tenido una mutación, cambiando la interacción entre estas dos bacterias, mejorando el funcionamiento de la comunidad y creciendo en una estrecha relación.

La *dispersión* se refiere al movimiento y establecimiento exitoso de una especie a un nuevo sitio (Hanson et al. 2012). Este proceso se ha reportado por ejemplo en un estudio realizado por Bowers et al. (2011), en el que tomaron muestras del aire de 4 sitios distintos, la comunidad microbiana fue caracterizada y encontraron que los microorganismos presentes en el aire, eran parte de la comunidad microbiana del suelo, superficie de hojas y heces fecales.

Es importante resaltar que estos cuatro procesos actúan en conjunto, por lo que la magnitud a la que ocurre cada uno de ellos tendrá un gran impacto en la estructura de la comunidad (Nemergut et al. 2013).

La dispersión y especiación son procesos difícilmente observables a una escala local y en periodos de tiempo cortos, para poder analizar los patrones que los hacen evidentes, se requieren análisis más detallados a nivel genético. Es por ellos, que este trabajo se enfocará principalmente en la selección y la deriva, entendidos como procesos deterministas y estocásticos, respectivamente, los cuales pueden evidenciarse analizando los patrones de distribución de los organismos. En este sentido, si la selección es relativamente fuerte y el tamaño de la comunidad es grande, la selección superará cualquier efecto que pudiera tener la deriva. Pero si la selección es relativamente débil y el tamaño de la comunidad es pequeño, la deriva podría superar los efectos de la selección (Nowak, 2006).

Actualmente hay un debate acerca de bajo qué condiciones las comunidades de microorganismos son moldeadas debido a procesos deterministas o estocásticos. Dentro de los procesos deterministas se pueden tener dos tipos de factores que ejerzan selección: abióticos y bióticos.

Los factores abióticos son aquellos inherentes al ambiente. Ejemplos de ellos son la fuente de energía y de carbono, los nutrientes minerales, la composición iónica, el agua disponible, la temperatura, presión, composición del aire, la radiación electromagnética, pH, potencial de óxido reducción, superficie, etc. que afectan el ambiente y la actividad de las comunidades de microorganismos en el suelo (Nannipieri et al., 2003). En particular, el suelo es un microhábitat complejo, un sistema heterogéneo y discontinuo ya que sus características químicas, físicas y

biológicas difieren en espacio y tiempo (Stotzky, 1997; Nannipieri et al., 2003). Estudios previos han reportado que el pH es una de las variables más influyentes en las comunidades microbianas del suelo. Fierer y Jackson (2006), muestrearon diferentes comunidades bacterianas del suelo a lo largo del continente americano y las compararon entre sí, ellos encontraron que la propiedad más importante era el pH, con una diversidad mayor en suelos neutros y menor en suelos ácidos. Wakelin et al. (2008), realizaron un estudio en diferentes suelos agrícolas de Australia, sus resultados también arrojaron que el pH fue la variable más influyente y que éste se encontraba correlacionado con el aprovechamiento del carbono y nitrógeno disponible.

Al ser los suelos ambientes dinámicos, los microorganismos que viven en ellos deben responder a sus condiciones cambiantes (Lauber et al., 2013). Algunos estudios han examinado la variabilidad temporal en las comunidades microbianas del suelo e indican que la composición de la comunidad bacteriana y fúngica puede variar en una escala de días (Zhang et al., 2011), estaciones (Schadt et al., 2003; Kennedy et al., 2006; Kivlin y Hawkes, 2016) y años (Buckley and Schmidt, 2003; DeBruyn et al., 2011).

En el caso de la estacionalidad, se ha visto que ocurren cambios en la estructura y composición de las comunidades microbianas cuando son comparadas las dos estaciones marcadas en zonas áridas y semiáridas: sequía y lluvias. Kivlin y Hawkes (2016) llevaron a cabo un experimento en el que tomaron muestras en monocultivos y bosques secundarios, cuatro veces en dos años y analizaron composición de la comunidad, riqueza, diversidad filogenética, biomasa y actividad enzimática. De manera general, se observó que hubo cambios importantes en la composición de la comunidad microbiana asociados a las diferentes fechas de muestreo así como al tipo de vegetación y que la riqueza, diversidad filogenética, biomasa y actividad enzimática fueron mayores en los muestreos de la estación húmeda en comparación con la estación seca. Esto refleja que las comunidades microbianas no se mantienen estáticas en el tiempo, sino que están sometidas a cambios ambientales, en este caso particular, a la disponibilidad de agua.

Por otra parte, los factores bióticos se refieren a las interacciones que existen entre los organismos, como es el caso de las que se dan entre las plantas y los microorganismos. Coleman-Derr et al. (2015), realizaron un estudio en tres especies distintas de agave y muestrearon diferentes compartimentos de la planta (filósfera, endósfera de la hoja y la raíz, rizósfera y zona cercana a la raíz), encontrando que la comunidad bacteriana presentaba diferencias significativas en cada uno de estos estratos, indicando que cada compartimento posee una microbiota particular.

La rizósfera es uno de estos compartimentos, este término fue acuñado por Hiltner en 1904 para describir la porción del suelo donde los procesos mediados por los microorganismos están bajo la influencia del sistema radicular. Mientras una raíz va creciendo por el suelo, interactúa con organismos nativos del suelo y desarrolla un microbioma. Las raíces pueden crear distintos microhábitats alterando el pH, la porosidad, las concentraciones de oxígeno (Hinsinger et al., 2003; Blossfeld et al., 2013), mediante la producción de una variedad de metabolitos, incluyendo compuestos antimicrobianos (Bais et al, 2006; Dennis et al., 2010); así como un aporte de recursos de carbono para el crecimiento de los microorganismos, representando de esta forma un nicho para su supervivencia (Marschner et al., 1986, Neilands 1995; Graham y Vance 2000; Richardson et al. 2009). Se ha observado que en comparación con los interespacios, la biomasa y la actividad de los microorganismos en la rizósfera aumentan como resultado de la exudación de compuestos por la raíz (Sørensen, 1997; Raaijmakers et al., 2009).

A su vez los microorganismos favorecen el crecimiento de la planta a través de mecanismos directos e indirectos. Directamente promueven el crecimiento de las plantas incrementando la disponibilidad de nutrientes, a través de la fijación de nitrógeno (Graham y Vance 2000; Richardson et al. 2009), solubilizando fosfato inorgánico y produciendo sideróforos que incrementan la disponibilidad de nutrientes minerales como el hierro (Neilands 1995; Richardson 2001). También contribuyen a la modulación del balance hormonal de la planta a través de la síntesis de hormonas vegetales, en su mayoría auxinas, citoquininas y giberelinas (Costacurta y Vanderleyden, 1995; Spaepen et al. 2007). En el caso de los mecanismos indirectos, éstos incluyen la síntesis de compuestos antibióticos o

antifúngicos y la competencia por nutrientes para la prevención de ataques de patógenos (Van Loon et al. 1997; McCully 2005; Couillerot et al. 2009; Saharan y Nehra 2011; Doornbos et al., 2012), los cuales pueden llevar una vida de parasitismo en la pared celular de las plantas, en los espacios intercelulares de varios órganos o en el xilema, causando incluso necrosis (Alfano y Collmer, 1996).

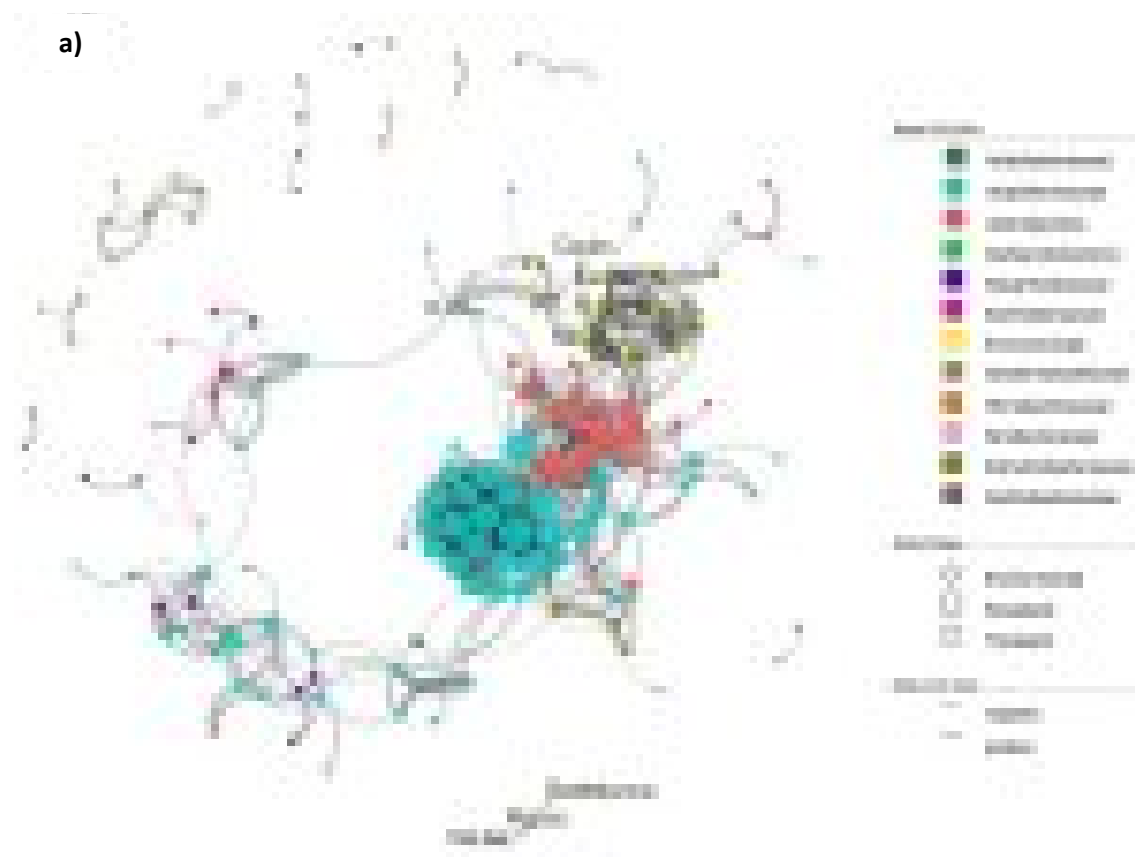
Por lo tanto, la rizósfera es un sitio donde se dan muchas interacciones que pueden ser positivas o negativas y se dan entre todo tipo de organismos. Las interacciones positivas son encuentros entre los seres vivos donde se beneficia al menos uno de los participantes y no le causa daño a ninguno (De Bary, 1879). Son consideradas mutualismos cuando ambas especies se benefician de la interacción y comensalismos cuando sólo una se ve beneficiada y la otra no se ve perjudicada. Esta clase de interacciones juegan un rol crítico en las comunidades, ya que pueden reducir el estrés fisiológico (ocasionado por temperatura, salinidad, sequía, disponibilidad de nutrientes), físico (efecto directo del viento, agua) o biótico (competencia, depredación). Por lo tanto, las interacciones positivas pueden ser de manera directa (mejorando el ambiente) o indirecta (removiendo competidores o depredadores) (Stachowicz, 2001).

Así como existen las interacciones positivas, también existen las negativas en las que los organismos compiten por espacio y recursos. Nicholson (1954) categorizó la competencia por la limitación de recursos en dos amplios grupos: (i) competencia por explotación, que involucra la rápida utilización de los recursos limitantes sin la interacción directa entre competidores; (ii) competencia por interferencia, en la que hay un antagonismo entre los competidores, con el “ganador” apropiándose de los recursos.

El mecanismo más estudiado para la competencia bacteriana es la producción de compuestos antimicrobianos. Para inhibir efectivamente a los competidores, los antibióticos deben ser producidos en suficiente cantidad, lo que puede requerir el esfuerzo de la población completa. Estos compuestos son utilizados para inhibir a las células adyacentes. La especificidad de los antimicrobianos producidos varía ampliamente, desde los compuestos altamente

específicos enfocados a una sola cepa de la misma especie, a los compuestos tóxicos generales que son inhibitorios para una diversa gama de especies (Challis y Hopwood, 2003; Kim et al., 2006, Hibbing et al., 2010).

Una forma de visualizar las interacciones entre los microorganismos es mediante el análisis y construcción de redes de interacción, las cuales revelan patrones de co-ocurrencia entre los diferentes grupos microbianos. Un ejemplo de dichas redes son las hechas por Postma et al. (2016), quienes llevaron a cabo un estudio en el cual tomaron muestras de la rizósfera de *Cyclopia sp.* en estado silvestre y cultivado en temporada de secas y de lluvias. En las redes que ellos construyeron, se pueden ver importantes diferencias en la composición microbiana de la comunidad entre la estación seca (**Figura 1.a**) y la húmeda (**Figura 1.b**). Ellos encontraron un número menor de conexiones entre los diferentes grupos de microorganismos en la época de secas, sin embargo, reportan una mayor riqueza de especies y diversidad en dicha estación.



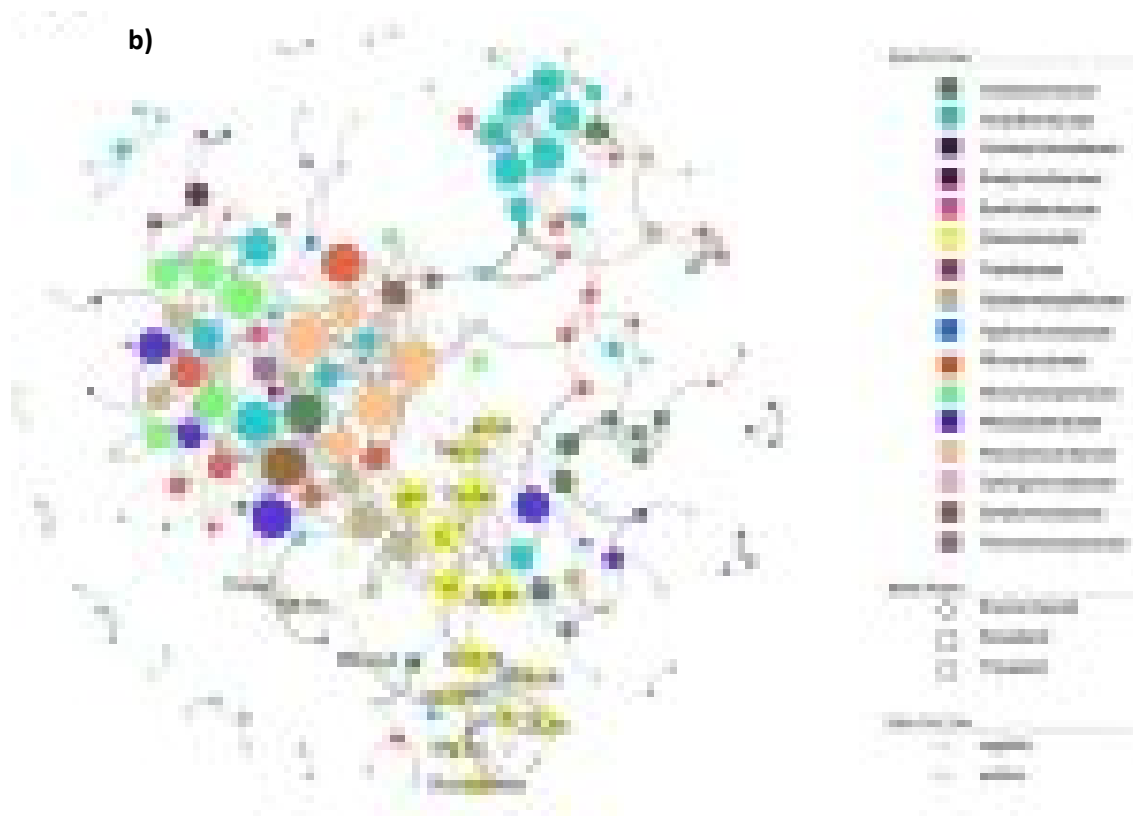


Figura 1. Redes de interacción entre los microorganismos de la rizósfera de *Cyclopia sp.* utilizando la correlación de Spearman ($p > 0.7$ y $P \leq 0.01$). Las líneas punteadas y continuas indican una interacción negativa y positiva, respectivamente. El tamaño de los nodos de cada OTU, es proporcional al número de conexiones que tiene. Incluye la influencia de algunas características ambientales. **a)** Temporada de secas y **b)** Temporada de lluvias. Tomado de Postma et al. (2016).

Como se ha descrito, vemos que múltiples factores contribuyen a la estructuración de las comunidades de microorganismos y se ha visto que la selección es una de las fuerzas que estructuran a las comunidades microbianas del suelo (Martiny et al., 2006; Fierer et al., 2007; Lozupone et al., 2007). Sin embargo, se han llevado a cabo estudios donde se refleja la estocasticidad en el ensamble de comunidades, ya que no se encuentra ningún factor abiótico y/o biótico que esté influenciando a la comunidad. Por ejemplo, Quélez et al. (2011), realizaron una investigación en la que analizaron la presencia de un complejo fúngico (*Phialocephala fortinii* – *Acephala applanata*) en cuarenta y cuatro sitios a través del hemisferio norte del mundo, ellos examinaron la influencia del clima y la vegetación a la que los hongos se encontraban asociados y no encontraron que estas variables estuviera definiendo a la comunidad, lo que podría ser un reflejo de estocasticidad. Aunado a esto, Andrew et al. (2012), llevaron a cabo un estudio en dos especies de

cactáceas, el saguaro (*Carnegeiea gigantea*) y el cardón (*Pachycereus pringlei*), tomaron muestras de su rizósfera y caracterizaron a la comunidad microbiana, ellos tenían la hipótesis de que la especie vegetal sería el factor de selección de las comunidades, sin embargo, no encontraron diferencias significativas entre las comunidades asociadas a cada una de las especies, aunque cabe recalcar que estas especies son ecológicamente similares.

Para saber qué tipo de procesos, ya sean deterministas o estocásticos, están definiendo a la comunidad de microorganismos, Nemergut et al. (2013) propusieron un modelo en el que dependiendo del tipo de proceso que se estuviera llevando a cabo, se produciría un patrón distinto (**Figura 2**). En caso de ser un proceso determinista, entre mayor sea la similitud de las características ambientales en diferentes sitios, será más parecida la comunidad de microorganismos entre cada uno de estos espacios; si por el contrario, es estocástico, aunque las características ambientales sean diferentes, no variará la similitud de la comunidad.

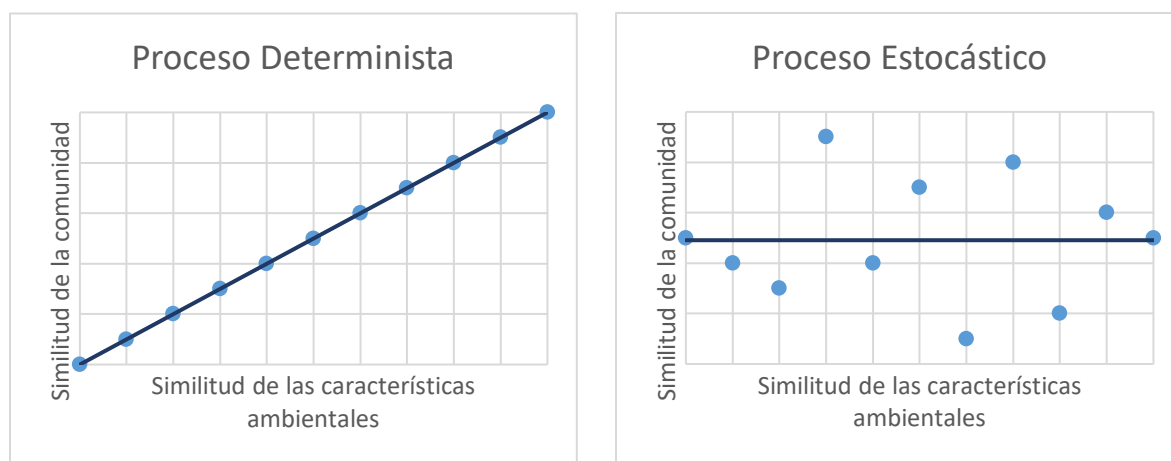


Figura 2. Modelo conceptual que refleja la relación entre las características ambientales y la composición de la comunidad microbiana cuando actúan mecanismos deterministas (lado izquierdo) y estocásticos (lado derecho). Tomado de Nemergut et al. (2013).

Debido a las condiciones ambientales que presentan las zonas áridas, se espera que en estos sitios haya una mayor influencia de los procesos deterministas. Las zonas áridas cubren el 47.2% de la superficie terrestre (**Figura 3**) y se caracterizan por tener un estrés hídrico frecuente, es decir, aquellas áreas donde el promedio de lluvias es menor que las pérdidas potenciales de humedad a través de la evaporación y la transpiración (PNUMA, 1992). Aquellas zonas en las que

prevalece el déficit de agua a lo largo de todo el año se clasifican como extremadamente áridas o hiperáridas, mientras que en las que ocurre casi todo el año, se catalogan como zonas áridas o semiáridas (FAO, 2007). Además del déficit hídrico que presentan, también se identifican por un bajo contenido de materia orgánica y un bajo nivel nutritivo, particularmente de nitrógeno y fósforo, así como alta salinidad, altas temperaturas y una alta exposición a radiación ultravioleta (Skujins, 1991; Whitford 2002).

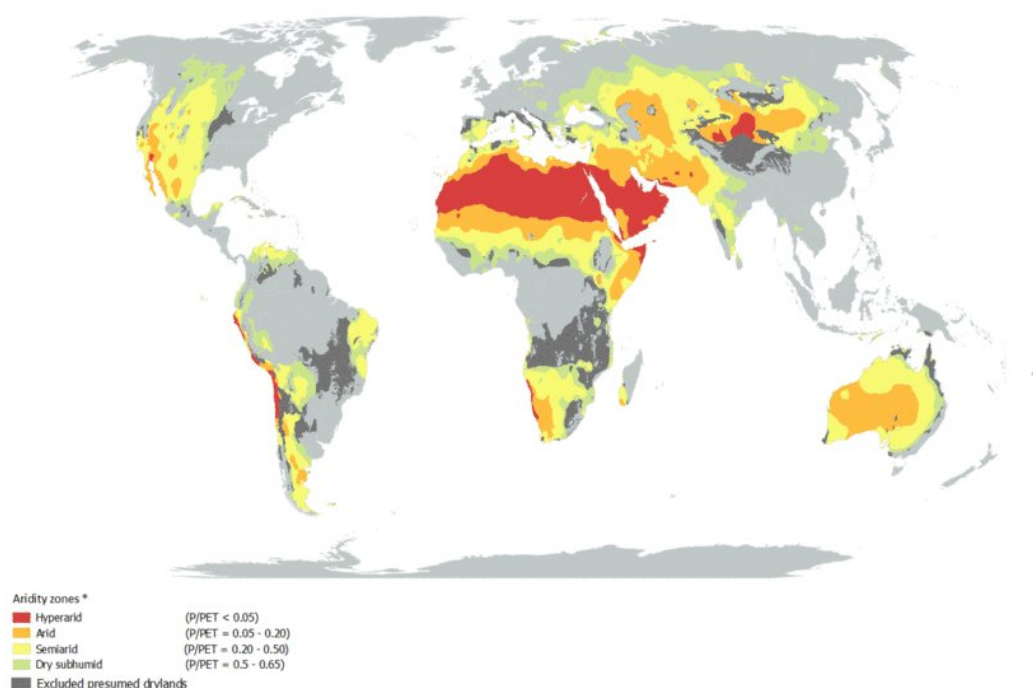


Figura 3. Mapa mundial de la distribución de zonas áridas clasificadas acorde al grado de aridez calculado a partir de la relación de precipitación anual promedio (P) respecto a la evapotranspiración potencial (0.65). Tomado de UNEP-WCMC (2007).

Con respecto a la diversidad microbológica de las zonas áridas, se ha reportado que sin importar las diferentes localizaciones geográficas de estas regiones en el mundo, las comunidades bacterianas de sustratos líticos fueron dominadas por *Cyanobacteria* (DiRuggiero et al., 2013). Además los phyla *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria* y *Chloroflexi* han sido detectados en el suelo desnudo y/o asociados a la rizósfera de distintas plantas que habitan desiertos localizados en Asia, Norteamérica, Sudamérica y África (Chanal et al., 2006; Bashan et al., 2012; Jorquera et al., 2012; Neilson et al., 2012; An et al., 2013).

En el caso particular de las zonas áridas en México, existen sitios que son considerados como oligotróficos (pobres en nutrientes), pero a pesar del estrés abiótico que permite que solamente las formas más tolerantes se desarrollen, presentan una gran diversidad tanto de macro como de microorganismos (Davies et al., 2012). Este es el caso de nuestro sitio de estudio, el valle de Cuatro Ciénegas, en Coahuila, el cual forma parte del desierto Chihuahuense. Este valle se encuentra aislado geográficamente y presenta una gran heterogeneidad espacial debido a la topología y a la disponibilidad irregular de agua (Meyer, 1973). Tiene un clima árido y el tipo principal de vegetación son pastizales y matorral desértico (Perroni et al., 2014; SMN y CONAGUA, 2015). Se conoce muy poco acerca de las interacciones bióticas que les dan forma a las comunidades microbianas en las zonas áridas y en particular en este sitio, el cual es uno de los más estudiados para el caso de microorganismos de la columna de agua, sedimentos en cuerpos acuáticos, tapetes microbianos y estromatolitos (Souza et al., 2012). Sin embargo, se conoce poco del suelo en general (López-Lozano et al., 2012; Tapia-Torres et al., 2015; Pajares et al., 2016) y en particular el microambiente de la rizósfera no ha sido estudiado.

Como se mencionó anteriormente, la rizósfera es un sitio importante para la actividad de los microorganismos y en las zonas áridas esta interacción se vuelve más trascendental, ya que provee una amplia gama de sustratos de carbono en lo que sería de otra forma un suelo pobre en materia orgánica (Buyanovsky et al., 1982; Yechieli et al., 1995). Aunado a esto, las plantas que se han adaptado a estos sitios, sobreviven a las lluvias irregulares, la alta radiación solar y los periodos de sequía, además de que protegen la superficie del suelo de la erosión del viento y el agua (FAO, 2007). Independientemente de las adaptaciones fisiológicas y morfológicas propias de las plantas para sobrevivir a estas condiciones, se ha descrito que las interacciones simbióticas con microorganismos pueden potenciarse, facilitando la colonización y supervivencia (Bashan et al. 1995; Puente et al. 2009).

En este trabajo, tomamos como modelo de estudio al *Agave lechuguilla*, planta que habita diversas zonas áridas y semiáridas de México y que se encuentra en el valle de Cuatro Ciénegas. Tiene la distribución geográfica natural más amplia

comparado con cualquier otra de las aproximadamente 140 especies de agave, y se localiza principalmente en el matorral desértico rosetófilo (Gentry, 1982). Se encuentra normalmente en suelos rocosos de origen de piedra caliza (Nobel et al., 1988). A pesar de la importancia económica y comercial de esta especie, su diversidad microbiana no ha sido explorada.

En resumen, las comunidades microbianas son estructuradas en mayor o menor medida por procesos estocásticos y/o deterministas. Si en las zonas áridas se espera que predominen procesos deterministas debido a las condiciones que éstas presentan, ¿qué factores son los que están teniendo influencia en la composición y estructura de las comunidades de microorganismos? Por lo cual, en la presente investigación se analizó la influencia de las propiedades fisicoquímicas del suelo y la estacionalidad en las comunidades microbianas. De la misma forma, se examinó la relación entre las raíces del *Agave lechuguilla* y los microorganismos, y cuáles son los tipos de interacciones que hay entre los grupos de microorganismos que se encontraron.

Hipótesis:

Debido a las condiciones que presentan las zonas áridas se espera una mayor influencia de los procesos deterministas en la estructuración de las comunidades, entonces entre mayor sea la similitud en las características ambientales (propiedades fisicoquímicas del suelo, estación e interacciones bióticas), habrá una mayor similitud en la composición y estructura de las comunidades microbianas.

Objetivo general:

Evaluar el efecto de los factores abióticos y las interacciones bióticas en la composición y estructura de las comunidades de microorganismos de la rizósfera del *Agave lechuguilla* y de interespacios libres de vegetación, ubicados en el valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila.

Objetivos particulares:

1. Determinar la influencia de la temporada y las propiedades fisicoquímicas del suelo (concentración de nutrientes, pH, composición de iones, humedad) sobre la composición y estructura de las comunidades de microorganismos.
2. Determinar la influencia de las interacciones bióticas (planta-microorganismos y microorganismos-microorganismos) sobre la composición y estructura de la comunidad microbiana.

2. Materiales y métodos

2.1. Sitio de estudio

El sitio de estudio es Cuatro Ciénegas, en Coahuila. Tiene un clima árido, con dos estaciones sobresalientes: (i) de Noviembre a Abril, en la que el clima es frío y seco, con una temperatura mínima de 4°C, una máxima de 31°C y 51 mm de precipitación; (ii) de Mayo a Octubre, el clima es caliente con una temperatura mínima de 15°C y una máxima de 35°C, con 155 mm de precipitación (SMN y CONAGUA, 2015). El tipo de suelo dominante son los gipsisoles y leptosoles (McKee et al., 1990; IUSS Working Group WRB, 2007).

Como se mencionó anteriormente, el valle presenta una gran heterogeneidad, es un área pequeña (menor a 840 km²), rodeado de montañas (de más de 3000 m de altura) y cuenta con diversos sistemas acuáticos como arroyos alimentados por agua subterránea, pozas, ríos y lagos, sin embargo, estas fuentes de agua se encuentran rodeadas por el desierto (Minckley, 1969, Meyer, 1973; Dinger, 2001). Este sitio presenta alta salinidad (Minckley, 1969) y es ultraoligotrófico, es decir, extremadamente pobre en nutrientes, y en particular de fósforo (Elser et al., 2005). Estas características han provocado una gran diversificación y un considerable número de endemismos, está reportado como el sitio con mayor grado de endemismos en Norteamérica (Abell et al., 2000). En cuestión de macroorganismos las especies endémicas incluyen ocho peces (Minckley, 1984), diez moluscos (Hershler, 1985; Hershler et al., 2007) y cuatro reptiles (McCoy, 1984), así como numerosos invertebrados (Taylor, 1967; Cole, 1984; Dinger et al., 2005), plantas (Pinkava, 1984) y muchas de las taxas microbianas encontradas, no han sido previamente descritas en otros sitios del mundo (Souza et al., 2006; Alcaraz et al., 2008; Cerritos et al., 2008; Desnues et al., 2008; Escalante et al., 2009).

2.2. Planta de estudio

El *Agave lechuguilla* (**Figura 4**) es la planta modelo utilizada para la presente investigación. Se distribuye desde Texas y Nuevo México, hasta Querétaro, Hidalgo y Guanajuato (Nobel et al., 1988), suele encontrarse entre los 950 y los 2300 msnm

(Reyes Agüero et al., 2000). Es una planta con alta capacidad de competencia intra e interespecífica, amplia resistencia al ataque de plagas, a la herbivoría y a condiciones ambientales extremas. Tiene una capacidad reproductiva elevada, sexual y asexualmente (Flores, 1986; Freeman, 1973; Freeman et al., 1977; Eguiarte et al., 2000, Freeman y Reid, 1985). Para llegar a la madurez sexual, requiere desde cuatro hasta quince o incluso 20 años (Berlango et al., 1992a, Garza de la Peña, 1985; Freeman y Reid, 1985).

Es un arbusto rosetófilo, pequeño, con 11 a 30 hojas en promedio; puede medir entre 30 y 40 cm de ancho y de 20 a 70 cm de alto (Dewey, 1965; Freeman y Reid, 1985; Gentry, 1982; Magallán, 1998; Rzedowski, 1964; Sheldon, 1980). Sus raíces son largas, fibrosas, delgadas y se distribuyen a una profundidad entre 8 y 12 cm del suelo (Nobel y Quero, 1986).



Figura 4. Ejemplares de *Agave lechuguilla*.

Ecológicamente, esta planta se asocia a la formación de suelos (Reyes, 1981), sus flores son visitadas por polinizadores diurnos, como abejas y nocturnos, como polillas (Silva-Montellano y Eguiarte, 2003) y ha sido reportado que funge como planta nodriza de *Astrophytum myriostigma* (Muro-Pérez et al., 2009), *Lophophora williamsii* (García Naranjo Ortiz de la Huerta y Mandujano, 2010) y *Ferocactus pilosus* (Lara Juárez et al., 2016), entre otras especies. Es sustento

económico de muchos pobladores de áreas rurales por la obtención de su fibra (ixtle), el cual es utilizado para la fabricación de cuerdas, estropajos, cepillos y brochas para maquillaje ya que tiene una excelente calidad por su dureza, alta resistencia y durabilidad (Castillo et al., 2013). También es empleada en el ramo de la limpieza y construcción como sustituto de cerdas de cepillos industriales debido a su alta capacidad de absorción de agua (65%) y su resistencia al calor, químicos, ácidos y aceites (Lawrence Long Ltd., 2004; Fibras Saltillo, 2005).

Aunado a esto, esta especie ha sido sometida a diferentes investigaciones para distintas aplicaciones biotecnológicas, como obtención de extracto orgánico para aumentar la germinación de semillas rompiendo su latencia (González et al., 1994), como bioinsecticida (Castro-Franco, 1994) y bactericida (Castro-Franco et al., 2001). Como mejoradora de la mezcla de cemento Portland (Juárez et al., 2005), en bloques de adobe (Siller et al., 2012) y para la producción de papel (Parra et al., 2010). También se ha estudiado su capacidad de bioadsorción de Cr (III) y Cr (VI) (Romero-González et al., 2005; Romero-González et al., 2006) y como biocombustible (Davis et al., 2010; Castillo-Quiroz et al., 2014). En el área de medicina se han estudiado sus saponinas con interés farmacológico (Hernández et al., 2005), la actividad citotóxica de los extractos de esta planta para el combate al cáncer (Casillas et al., 2012), así como la síntesis de nanopartículas de plata para aplicaciones quirúrgicas y biomédicas (Morales-Luckie et al., 2016).

2.3. Muestreo

Se llevaron a cabo dos muestreos, el primero en temporada de secas (19 y 20 de marzo) y el segundo en temporada de lluvias (3 y 4 de octubre) del 2016, esto con la finalidad de analizar los cambios en la estructura y composición de la comunidad de microorganismos en diferentes épocas del año.

Estos dos muestreos se realizaron en los mismos cuatro sitios seleccionados en el valle, en la **Tabla 2** se enlistan con sus respectivas coordenadas y en la **Figura 5** se muestra su localización geográfica en el valle de Cuatro Ciénegas.

Tabla 2. Sitios elegidos para llevar a cabo el muestreo con sus respectivas coordenadas.

Nombre	Coordenada Norte	Coordenada Oeste
Becerra	26° 52.758' N	102° 08.19' O
Carranza	26° 59.519' N	102° 02.741' O
Orozco	26° 54.478' N	102° 07.169' O
Madera	26° 57.609' N	102° 10.523' O

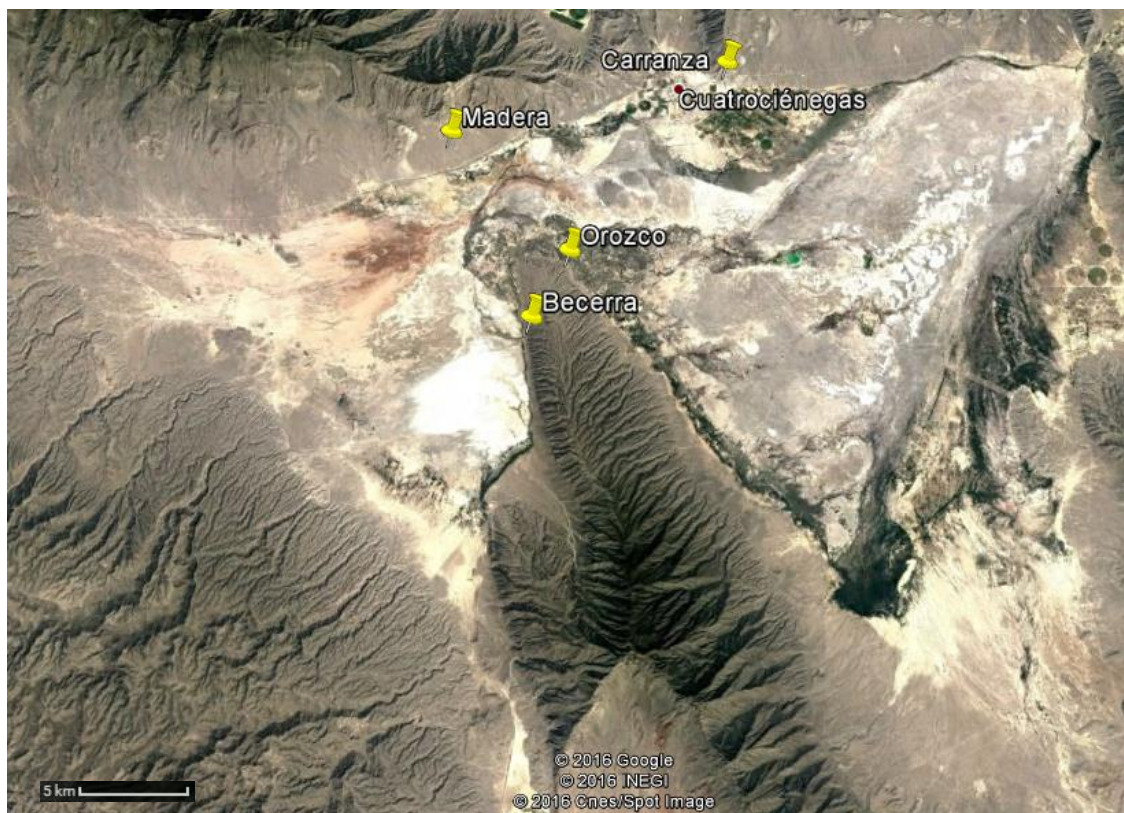


Figura 5. Sitios seleccionados para hacer los muestreos: 1. Becerra, 2. Carranza, 3. Orozco y 4. Madera. La etiqueta de Cuatrociénegas, corresponde al sitio donde se encuentra el poblado.

Los dos muestreos consistieron en buscar y seleccionar en cada uno de los sitios anteriormente mencionados, unidades de muestreo de 8 x 8 m donde hubiera tres conjuntos de individuos independientes de *Agave lechuguilla* y tres interespacios libres de vegetación, para evitar la influencia de cualquier planta o raíz sobre la comunidad microbiana.

Una vez seleccionado y delimitado el lugar para la unidad de muestreo, se procedió a tomar las muestras. Fueron recolectadas 6 muestras para el análisis de

la comunidad microbiana (tres repeticiones de interespacio y tres de rizósfera del agave), específicamente para el caso de las muestras de la rizósfera, se colectó suelo que se encontraba adherido a la raíz del agave. Se tomaron alrededor de 500 mg de suelo que fueron almacenados en tubos Eppendorf de 2 mL, se les agregó 1 mL de DNA/RNA Shield™, para la preservación de los ácidos nucleicos fueron mantenidas en hielo durante la estancia en campo, posteriormente fueron congeladas a -20° C en un lapso menor a un día para su transportación. Una vez en el laboratorio fueron almacenadas a -80°C hasta su procesamiento.

En los mismos puntos de muestreo, correspondientes a la rizósfera e interespacios, se colectaron muestras para la caracterización de las propiedades fisicoquímicas del suelo, se colectaron 6 muestras a una profundidad aproximada de entre 0 y 10 cm de alrededor de 500 g de suelo, se guardaron en bolsas de plástico oscuras que fueron cerradas de tal forma que quedaran bien selladas y se almacenaron a 4°C hasta su procesamiento.

Entonces, tanto para el análisis de las comunidades microbianas como para la caracterización de las propiedades fisicoquímicas del suelo, el número de muestras fue de 6 por sitio, siendo 4 sitios suman 24 muestras, multiplicadas por los muestreos correspondientes a las dos temporadas, da un total de 48 muestras.

También es importante mencionar que cada una de las muestras fue debidamente etiquetada con una clave que la distinguiera de las demás, esta consistió en una combinación de letras y números, empezando por el número 1 o el 2, que significaba que era una muestra del primer o del segundo muestreo respectivamente. En seguida se agregaba la inicial del nombre del sitio donde fue tomada la muestra, es decir B (Becerra), C (Carranza), O (Orozco) y M (Madera). La siguiente letra hacía referencia a si la muestra fue tomada en la rizósfera del agave o en un interespacio, usando la letra A o la I, respectivamente, y finalmente se agregaba un número 1, 2 o 3 para señalar a cual réplica correspondía la muestra. Por ejemplo, la muestra 1BA2 corresponde a el muestreo de marzo, tomada en Becerra, debajo del agave y es la segunda réplica. Este clave fue utilizada en todos los análisis posteriores.

2.4. Épocas del año

Para conocer cómo cambiaron las condiciones climáticas del año en el que se llevaron a cabo los muestreos y aquellas presentes en cada una de nuestras salidas a campo, se consultaron los datos de precipitación y temperatura de la estación meteorológica más cercana del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Inifap), que correspondió al Rancho PRONATURA con coordenadas 26°48'19.1" N, 102°01'04.4" O (Martínez et al., 2008). Con esta información se construyeron tres climogramas, uno del año del muestreo en el que se comparan la temperatura y precipitación promedio mensual con aquellas de los datos históricos de los 10 años anteriores al 2016, y dos de los 14 días anteriores y 14 días posteriores a los días en los que se realizaron los muestreos.

2.5. Caracterización de suelos

El suelo fue analizado para determinar pH, conductividad eléctrica (CE), humedad, materia orgánica (MO), potasio (K^+), sodio (Na^+), calcio (Ca^{2+}), magnesio (Mg^{2+}), amonio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-), fósforo (P), carbono (CT) y nitrógeno total (NT). Para llevar a cabo estas determinaciones, se utilizó como referencia el protocolo establecido en la NOM-021-RECNAT-2000 (excepto por la medición de MO, CT y NT, que son descritos más adelante) con algunas modificaciones que se adecuaron al tipo de suelo de Cuatro Ciénegas, que como ya se mencionó, es pobre en nutrientes. El procedimiento utilizado para el pH corresponde al método medido en agua y en el caso del fósforo fue por el método de Bray-Kurtz de la NOM-021-RECNAT-2000 y las modificaciones al protocolo fueron las siguientes:

- 1. Secado:** la parte del suelo que se puso a secar no se hizo a temperatura ambiente, sino en la estufa a 60° C, durante 3 días.
- 2. Conductividad eléctrica:** se llevó a cabo la medición al mismo momento de hacer la del pH, por lo que el procedimiento al que fue sometido corresponde al descrito por la norma para determinar el pH. Se pudo realizar de esta forma, debido a que el potenciómetro también contaba con un electrodo que

medía la conductividad y éste se calibró a 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$, 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y a 12.9 mS/cm.

3. **Humedad:** corresponde al método por gravimetría, sin embargo, esta determinación se hizo cuando se puso a secar parte de la muestra para hacer los análisis posteriores, por lo que el suelo estuvo a una temperatura de 60°C en vez de 105°C.
4. **Bases intercambiables (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}):** se agregó la solución extractora a las muestras, el agitado se realizó durante una hora en vez de 10 min y el centrifugado a 3000 rpm durante 6 min, no se hizo la prueba de cloruros debido a que únicamente es necesaria si se determina la capacidad de intercambio catiónico. Después de realizado este procedimiento, se filtró la solución con filtros de 0.22 μm y se enviaron al Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental (LANBAMA) para el análisis y cuantificación de las bases intercambiables en el equipo de ICP-OES (espectroscopía de plasma).
5. **Amonio y nitrato:** se agregó la solución extractora, se dejaron en agitación a 120 rpm durante una hora y centrifugaron a 3000 rpm por 6 min (muestras del 1º muestreo) y a 4500 rpm por 10 min (muestras del 2º muestreo), esto no afecta los resultados finales, ya que la extracción de los iones se hace durante el proceso de agitación (que fue el mismo) y el centrifugado es únicamente para separar el sedimento de la solución. El sobrenadante fue filtrado con filtros de 0.44 μm y con esta solución se cuantificó la cantidad de amonio y nitratos por medio de métodos colorimétricos (Forster, 1995; Miranda et al., 2001; Doane y Horwath, 2003).
6. **Fósforo:** agitación a 3000 rpm durante 6 min y la solución se filtró con filtros de 0.22 μm , enviándose la solución al LAMBAMA para análisis por ICP-OES.

En el caso de la MO, CT y NT se llevaron a cabo los siguientes procedimientos:

7. **Materia orgánica:** para cuantificar el contenido de MO en el suelo, se utilizó el “Método por calcinación o ignición” reportado por Schulte y Hopkins (1996), calcinando la materia orgánica a 350°C durante 3 horas.

8. Carbono y nitrógeno total: primero se procedió a eliminar los carbonatos de la muestra por medio del método propuesto por Schubert y Nielsen (2000) que consiste en dejar las muestras expuestas a vapores de ácido clorhídrico. Posteriormente, se hicieron cápsulas de estaño con este suelo y se mandaron analizar al LANBAMA con el analizador elemental.

2.6. Caracterización de las comunidades microbianas

Para la extracción de ADN se utilizó el Kit Comercial ZR Soil Microbe Miniprep™ de Zymo Research siguiendo las instrucciones del fabricante, la cantidad de muestra que fue utilizada fue de 350 mg de suelo. El ADN obtenido se cuantificó por NanoDrop™ y se determinó la pureza. Para revisar que el ADN tuviera calidad de amplificación se realizaron PCR utilizando los primers 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') y 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') con el siguiente protocolo: desnaturalización a 95°C durante 10 min, seguido de 30 ciclos de 95°C por 1 min, 52°C por 2 min y 72°C por 3 min, por último, la extensión final a 72°C por 10 min. Los reactivos y el volumen al que se utilizaron por muestra se encuentran en la **Tabla 3**. La muestra de ADN se diluyó con agua ultrapura MilliQ® en una relación de 1:5. Para verificar la amplificación del ADN se utilizó el método de electroforesis en gel al 1% de agarosa.

Tabla 3. Reactivos y volumen al que fueron utilizados para la reacción de PCR.

Reactivo	Volumen (1X)
Buffer (10X)	2.5 µL
MgCl ₂ (50 mM)	0.5 µL
dNTP's (10 mM)	0.5 µL
27F (10 mM)	0.5 µL
1492R (10 mM)	0.5 µL
Taq polimerasa (5u/µL)	0.2 µL
Agua ultrapura MilliQ®	15.8 µL
BSA (10 mg/mL)	1.25 µL
DMSO (100%)	1.25 µL
Muestra de ADN o control (+ o -)	2 µL

Al revisar que todo el ADN extraído tuviera calidad de amplificación, se mandó secuenciar por el método de Illumina Miseq en formato 2 x 300 al Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO). Para la caracterización de las bacterias fueron amplificadas las regiones hipervariables V3, V4 y V5 del gen 16S del rARN con los primers 357 Forward (5'-CTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') y CD Reverse (5'-CTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTC-3').

Una vez obtenidas las secuencias se procedió a limpiarlas y analizarlas, esto se realizó con el programa Mothur V.1.36.1 (Schloss et al., 2009). Lo primero que se hizo fue parear las secuencias forward y reverse, después fueron eliminados los primers y barcodes de éstas, se dejaron un máximo de 2 ambigüedades y 24 homopolímeros, una longitud mínima de 500 pb y máxima de 604 pb. Después, las secuencias fueron alineadas y se eliminaron las columnas y espacios vacíos que no fueran informativos. Para optimizar el proceso se extrajeron las secuencias únicas y se preagruparon aceptando máximo 2 diferencias y se volvieron a filtrar para que no tuviera ambigüedades. Después se identificaron las quimeras mediante el algoritmo de VSEARCH (Rognes et al., 2016) y se clasificaron por medio de la base de datos de referencia de SILVA 123 liberada en marzo, 2015 (www.arb-silva.de). El código completo utilizado se encuentra en el **Anexo 1**.

Se calculó la abundancia relativa a nivel de phyla, familia y género. Aquellos grupos que representaran menos de 1% de abundancia relativa fueron descartados en análisis posteriores. Los géneros pertenecientes a los cuatro phyla más abundantes se analizaron por separado para comparar los cambios en su abundancia relativa con respecto a cada condición. Para determinar la diversidad de las comunidades microbianas se generaron OTUs a 97% de similitud, en los cuales se basaron los cálculos del estimador de Chao, el cual mide el esfuerzo de muestreo, el índice de diversidad de Shannon-Wiener, el cual se basa en la riqueza y abundancia relativa de los grupos presentes en la comunidad, y por último, el índice de Simpson que permite medir la diversidad y si existe dominancia de algún miembro de la comunidad.

2.7. *Análisis de las propiedades fisicoquímicas*

Una vez caracterizados los suelos, a los resultados de las mediciones de cada propiedad fisicoquímica se les hizo la prueba de normalidad Shapiro-Wilk. En caso de que los datos no presentaran una distribución normal, se procedió a hacer transformaciones de los datos, aplicándoles logaritmo base 10, logaritmo natural, inverso o raíz cuadrada. Posteriormente se les hizo una ANOVA de dos vías para ver los efectos del origen de la muestra de suelo (rizosférico o interespacio) y de la temporada, así como las interacciones entre estas dos variables, también se evaluaron los supuestos de normalidad de los residuales. Como prueba post-hoc para aquellas propiedades que presentaron diferencias significativas se realizó la prueba de Tukey. Estos análisis también se llevaron a cabo para encontrar diferencias entre los sitios donde se llevó a cabo el muestreo (Becerra, Carranza, Orozco y Madera), sin embargo, no presentaron ninguna diferencia significativa por lo que no se reportan estos resultados. Los análisis se llevaron a cabo con el programa RStudio (RStudio team, 2016), el cual también se empleó para todos los análisis que se mencionan posteriormente y los códigos utilizados se encuentran en el **Anexo 2**.

2.8. *Análisis de la composición microbiana y similitud entre muestras*

A partir de la abundancia relativa de los géneros seleccionados de los cuatro phyla más abundantes, se llevó a cabo un análisis para encontrar diferencias significativas en las condiciones consideradas en este estudio (secas–lluvias y rizósfera–interespacio). De la misma forma que con las propiedades fisicoquímicas, se les realizó una prueba de normalidad, en caso de no tener distribución normal, se les aplicaron transformaciones. Una vez normalizadas se aplicó una ANOVA de dos vías. Es importante recalcar que con algunos grupos microbianos, no se logró normalizar los datos, por lo que en estos casos, se les aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Aunado a esto, se realizaron análisis de ordenación, por el método de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS). Este análisis es realizado por

medio del índice de disimilitud de Bray Curtis y representa espacialmente la similitud que existe entre las muestras, es decir, se agruparán entre más parecidas sean entre sí y se alejarán entre más distintas sean, lo que nos permite observar de manera gráfica, que variables o propiedades son los que podrían estar teniendo una mayor influencia. Esto se realizó tanto para las propiedades fisicoquímicas como para los grupos microbianos a nivel de género, para ver si existía una diferenciación por el origen de la muestra de suelo (rizósfera e interespacio) o por la época del año. Además se realizó el análisis para los sitios muestreados, sin embargo tampoco se encontraron diferencias, por lo que al igual que las propiedades fisicoquímicas, no se reportan estos resultados. Al llevar a cabo el análisis de la comunidad bacteriana, se hizo además el ajuste de las variables ambientales. Para los cálculos se utilizó el paquete vegan (Oksanen et al., 2011) y para los gráficos, el paquete ggplot2 (Wickham, 2009).

Asimismo, se construyeron heatmaps basados en la disimilitud de Bray Curtis. Estos gráficos nos permiten representar como se agrupan las muestras entre sí según su similitud, de forma parecida a los NMDS, y además se puede visualizar los cambios en la abundancia relativa de cada uno de los grupos microbianos reportados en cada una de las muestras. Para la construcción de los gráficos se utilizó el paquete gplots (Warnes et al., 2016).

2.9. Análisis de correlación

Se hicieron análisis de correlación basados en la correlación de Spearman con el paquete Hmisc (Harrell et al., 2016), con la finalidad de saber de qué manera (positiva o negativamente) y en qué magnitud, se correlacionan cada uno de los grupos microbianos con las propiedades fisicoquímicas y entre ellos mismos. Para la visualización gráfica de estos análisis se construyeron correlogramas con el paquete corrplot (Wei y Simko, 2016). Con estos análisis se puede inferir que una correlación positiva puede significar una interacción de cooperación o facilitación y una correlación negativa, competencia o depredación.

3. Resultados

3.1. Condiciones climatológicas durante las fechas de muestreo

En la **Figura 6**, la cual corresponde al climograma del año en el que se llevó a cabo el muestreo, se puede observar que la temperatura media del año 2016 es similar a las temperaturas promedio históricas. Sin embargo, al ver la precipitación de los meses del muestreo (encuadrados en rojo), resalta que el 2016 fue un año atípico, con menos precipitación en marzo que en octubre, lo que nos haría suponer que las comunidades microbianas tuvieron más disponibilidad de agua en temporada de secas que en temporada de lluvias. No obstante, el muestreo de octubre se realizó los primeros días del mes (3 y 4 de octubre), por lo que las comunidades se verían afectadas en mayor medida por las precipitaciones de septiembre, las cuales fueron mayores a las del mes de marzo.

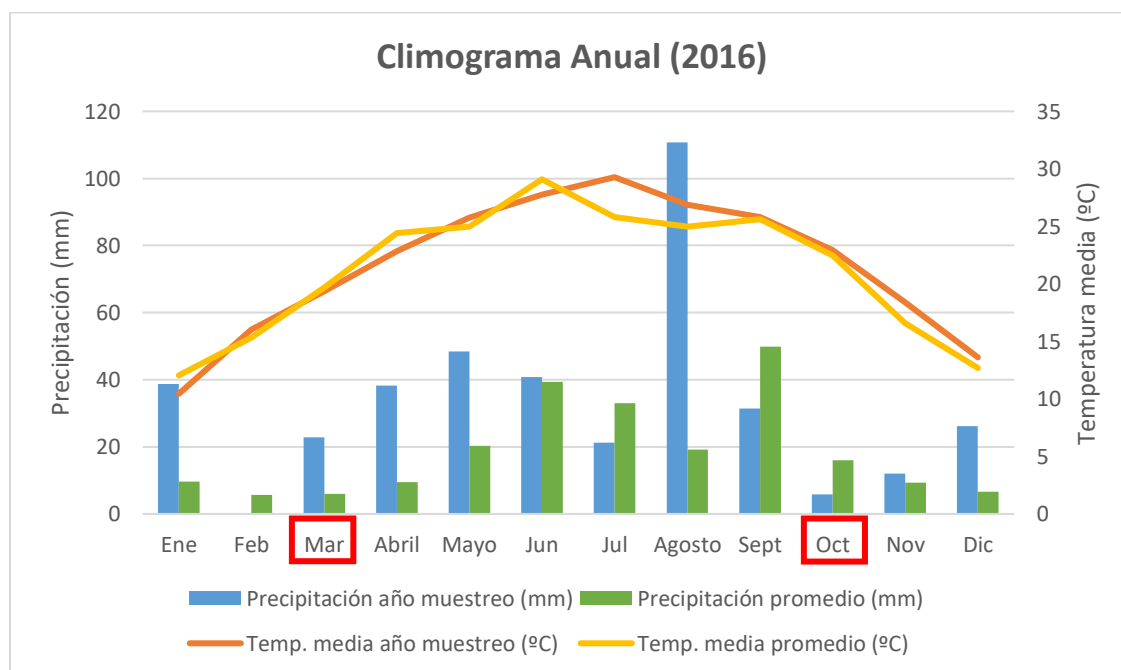


Figura 6. Climograma del año en el que se realizó el muestreo (2016) junto con los datos promedio históricos (10 años anteriores). Encuadrados en rojo los meses en los que se llevaron a cabo los muestreos.

Aunado a lo antes mencionado, específicamente analizando los climogramas de los días en los que se realizó el primer y segundo muestreo, **Figuras 7.a y 7.b**, respectivamente, podemos observar que la temperatura en temporada de secas fue bastante variable, presentándose temperaturas menores a 15°C hasta alcanzar

temperaturas de más de 25°C, al contrario de la temperatura reportada en temporada de lluvias, la cual se mantuvo estable, alrededor de los 25°C. También es importante resaltar, que los eventos de precipitación fueron más cercanos a la toma de muestras de octubre y en mayor cantidad, con 8 mm más de agua.

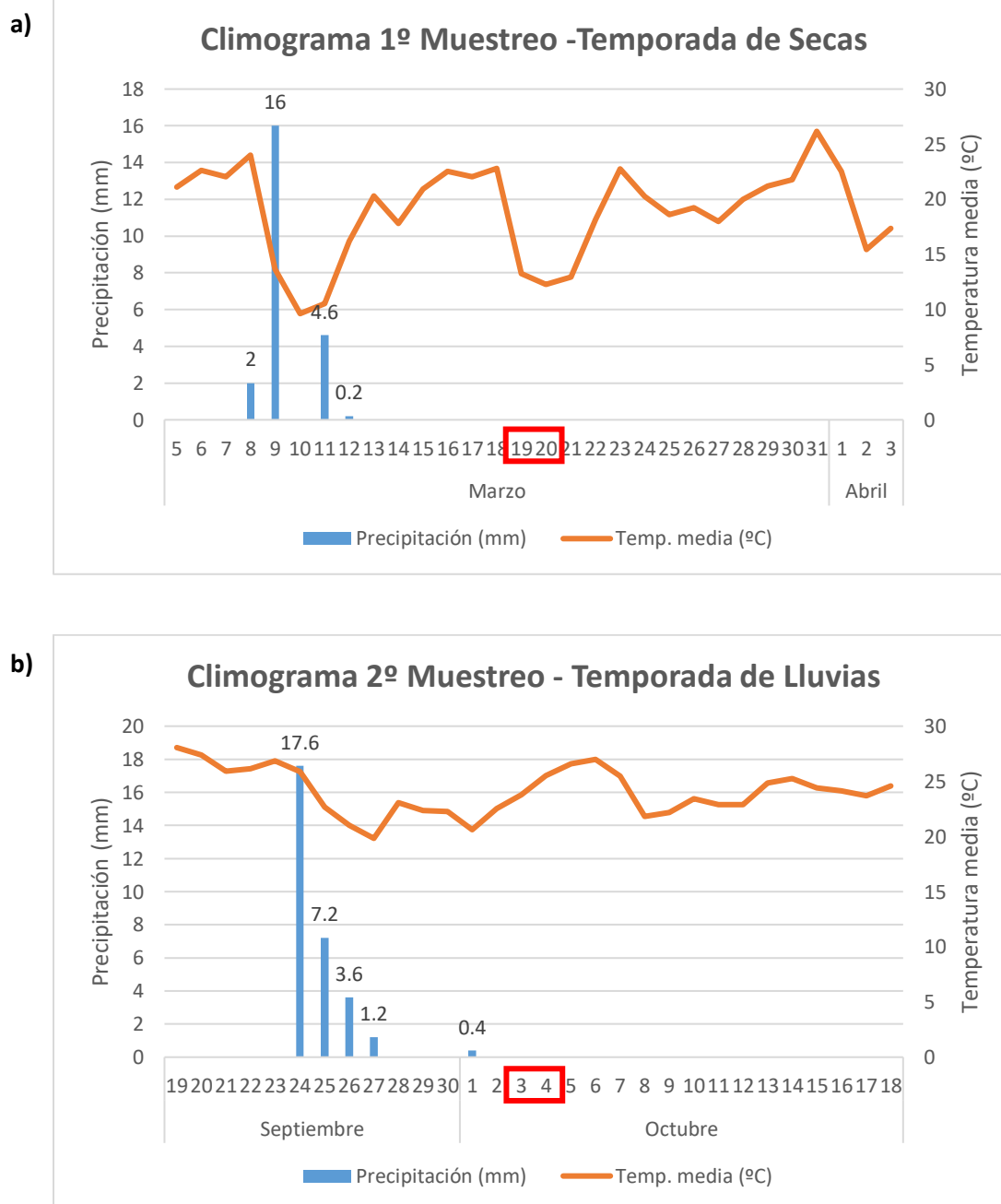


Figura 7. Climograma que representa la precipitación (mm) y la temperatura media (°C) de 14 días anteriores y 14 días posteriores a la fecha de muestreo. Encuadrados en rojo se encuentran los días del muestreo. La precipitación total previa a la toma de muestras fue de 22.8 mm en marzo y de 30 mm en octubre. a) Datos del primer muestreo. b) Datos del segundo muestreo.

3.2. Propiedades fisicoquímicas

En la **Tabla 4**, se puede observar el promedio y la desviación estándar de las propiedades del suelo, divididas por condición (suelo rizosférico e interespacio, así como por temporada) y señaladas aquellas que presentaron diferencias significativas con su respectivo valor de F.

Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas del suelo. Están resaltadas en verde aquellas que presentaron diferencias significativas entre las muestras del suelo rizosférico y del interespacio, en azul entre temporadas y en amarillo aquellas que presentaron diferencias en ambas condiciones. Las que no están coloreadas es porque no presentaron diferencias significativas. Las letras al lado de la desviación estándar indican que condiciones son distintas entre sí y los asteriscos muestran el valor de P que presentaron: ***=0.001, **=0.01, *=0.05.

	Época de secas		Época de lluvias		Valor de F		
	Agave	Interspacio	Agave	Interspacio	Temporada	Suelo	Interacción
Humedad (%)	14.848 ± 3.12 ^a	7.647 ± 2.408 ^b	12.696 ± 2.819 ^{ac}	11.041 ± 2.77 ^c	0.643	30.643***	12.270**
pH	7.716 ± 0.309 ^a	7.949 ± 0.342 ^{ab}	7.866 ± 0.195 ^{ab}	8.029 ± 0.19 ^b	2.218	6.597*	0.205
Ca ²⁺ (mg/kg)	1037.108 ± 78.9 ^a	1004.683 ± 34.21 ^a	1987.625 ± 148.621 ^b	1917.814 ± 120.853 ^b	945.317***	2.845	0.38
NH ₄ ⁺ (mg/kg)	3.037 ± 0.829 ^a	2.058 ± 0.878 ^a	13.549 ± 1.812 ^b	14.101 ± 2.946 ^b	454.684***	0.162	2.093
NT (mg/kg)	1.697 ± 0.491 ^a	1.068 ± 0.432 ^a	1.764 ± 1.02 ^a	4.487 ± 2.673 ^b	12.64***	1.644	18.491***
C:N	17.742 ± 7.72 ^a	30.765 ± 32.611 ^a	25.805 ± 26.504 ^{ab}	7.922 ± 28.302 ^b	14.191***	2.316	15.935***
NO ₃ ⁻ (mg/kg)	25.947 ± 6.491 ^a	18.206 ± 10.761 ^b	49.476 ± 13.733 ^c	28.812 ± 7.203 ^a	33.075***	22.616***	1.408
CE (μS/cm)	322.308 ± 88.148 ^a	224.342 ± 75.501 ^{bc}	232.975 ± 47.567 ^b	179.025 ± 20.068 ^c	11.010**	18.968***	0.827
MO (%)	3.613 ± 1.692 ^{ab}	1.984 ± 0.619 ^a	3.983 ± 1.112 ^b	2.939 ± 0.733 ^{ab}	10.18**	21.09***	2.43
K ⁺ (mg/kg)	186.217 ± 56.602 ^{ac}	125.153 ± 42.486 ^a	305.901 ± 81.115 ^b	228.872 ± 49.43 ^c	42.682***	16.309***	0.218
Mg ²⁺ (mg/kg)	102.343 ± 34.14 ^{ac}	70.092 ± 12.049 ^a	164.833 ± 32.347 ^b	134.336 ± 26.09 ^c	63.449***	15.554***	0.012
P (mg/kg)	0.166 ± 0.094 ^a	0.107 ± 0.05 ^a	0.796 ± 0.123 ^b	0.61 ± 0.089 ^c	445.656***	20.865***	5.534*
Na ⁺ (mg/kg)	6.786 ± 2.337 ^a	6.563 ± 1.478 ^a	8.443 ± 2.608 ^a	7.13 ± 1.345 ^a	5.71	0.731	0.699
CT (mg/kg)	27.481 ± 7.435 ^a	29.48 ± 6.21 ^a	26.349 ± 11.849 ^a	21.536 ± 9.849 ^a	2.975	0.286	1.677

Para el caso de la humedad podemos observar que se encontraron diferencias significativas entre las muestras tomadas debajo de los agaves y los interespacios, sin embargo, no se presentaron diferencias por estación. Se encontró un mayor porcentaje de humedad debajo de los agaves, lo que indica que éste tiene un efecto importante en la retención de humedad. No obstante, a pesar de que no se presentaron diferencias por temporada, la diferencia en los valores de humedad entre agaves e interespacios es más contrastante en época de secas en comparación con la época de lluvias, lo que puede verse de manera gráfica en la **Figura 8**, esto puede deberse a que, como se vio en el climograma, en el muestreo de octubre hubo mayor precipitación, por lo tanto, más disponibilidad de agua y condiciones en el suelo más homogéneas.

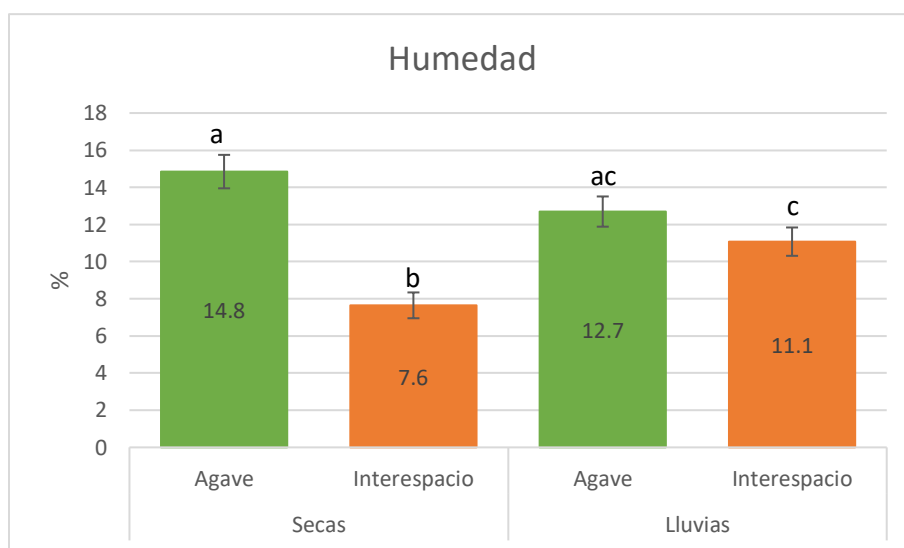


Figura 8. Medias de los diferentes tratamientos para la **humedad**. Las barras de error corresponden al error estándar.

En el caso del pH, podemos observar tanto en la **Tabla 5** como en la **Figura 9**, que las medias reportadas no presentan valores tan extremos entre sí, no obstante, esta pequeña distinción es suficiente para que, al igual que en la humedad, se hayan presentado diferencias significativas entre el pH encontrado en el suelo de la rizósfera y el del interespacio. En la rizósfera, el pH es menos básico, por lo que se podría suponer que la planta está teniendo un papel acidificante. Una manera de lograr esto es mediante el intercambio y solubilización de iones, como lo son las bases intercambiables (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} y Na^{+}). Estos cationes también son un reflejo de la conductividad eléctrica debido a que tienden a acumularse en suelos salinos y entre más salino sea el suelo, mayor conductividad eléctrica presentará (Helling et al., 1964).

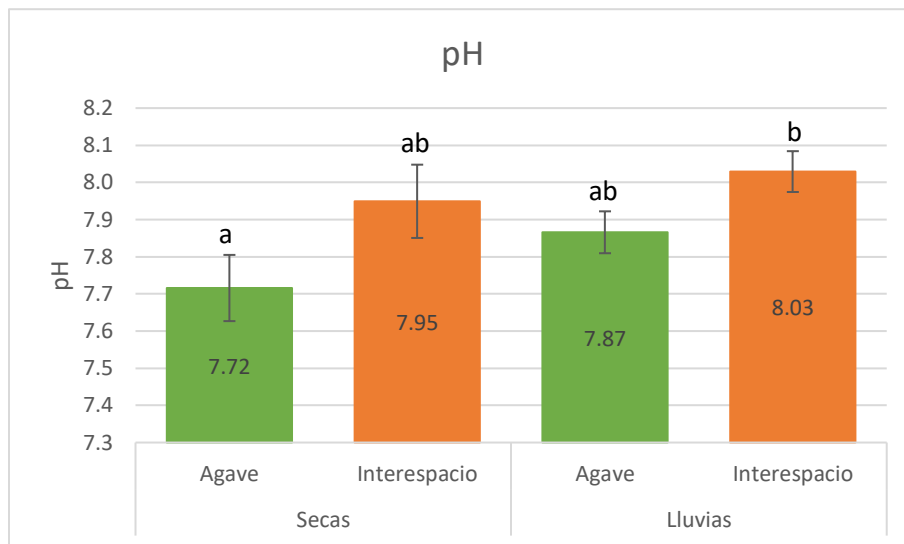


Figura 9. Medias de los diferentes tratamientos para el **pH**. Las barras de error corresponden al error estándar.

Aunado a esto, entre más materia orgánica esté presente mayor será la capacidad de retener estos cationes (Kamprath y Welch, 1962; Helling et al., 1964). Por lo tanto, vemos que estas tres características (bases intercambiables, conductividad eléctrica y materia orgánica) presentan el mismo patrón, valores más altos debajo del agave que en los interespacios. Hablando específicamente de la CE (**Figura 10**) y la MO (**Figura 11**), se puede observar que las diferencias entre el agave y el interespacio son más marcadas en temporada de secas que en temporada de lluvias, efecto similar al de la humedad. Sin embargo, la CE y la MO al contrario de la humedad, también presentaron diferencias significativas por temporada.

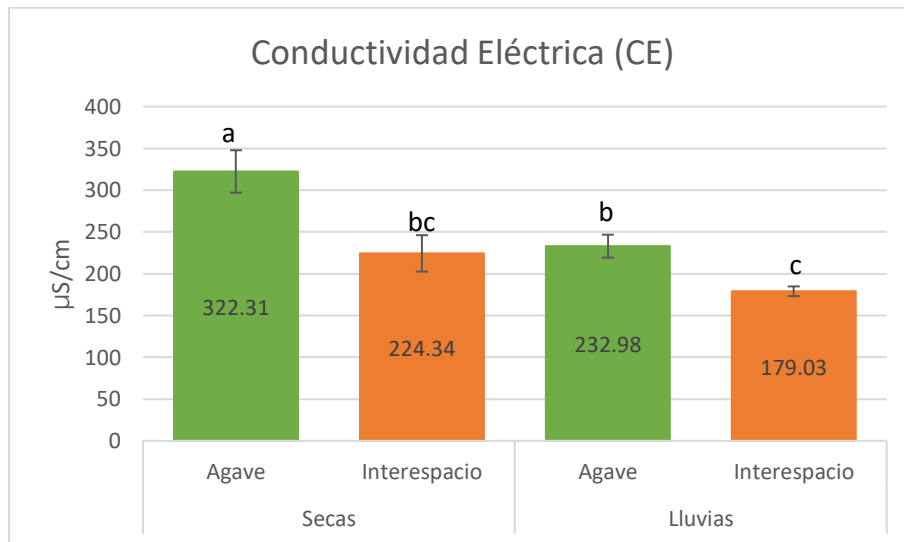


Figura 10. Medias de los diferentes tratamientos para la **conductividad eléctrica**. Las barras de error corresponden al error estándar.

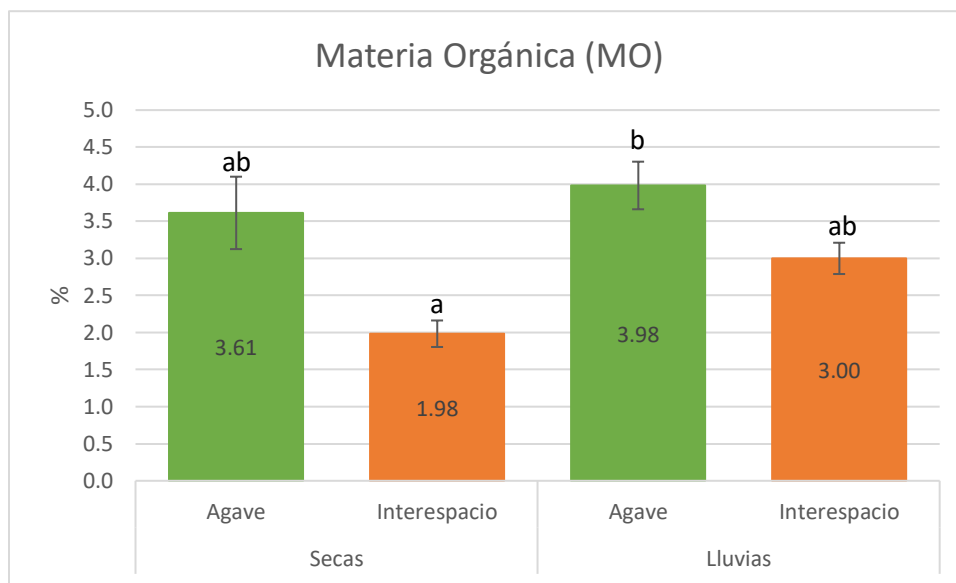


Figura 11. Medias de los diferentes tratamientos para la **materia orgánica**. Las barras de error corresponden al error estándar.

En el caso de las bases intercambiables, hablando específicamente del calcio, aunque se encuentre ligeramente más alto en la rizósfera que en el interspacio, la diferencia remarcable se encuentra por temporada (**Figura 12**), en el que se puede ver un aumento de casi el doble. Esto se puede deber a que hubo mayor precipitación, disolviendo este elemento presente en el carbonato de calcio de los suelos de Cuatro Ciénegas (Arriaga et al., 2000).

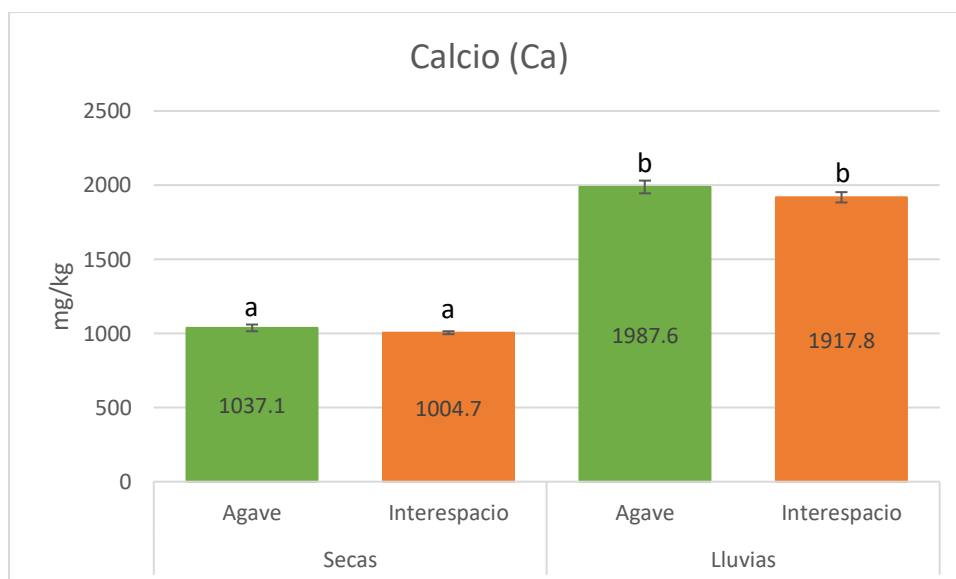


Figura 12. Medias de los diferentes tratamientos para el **calcio**. Las barras de error corresponden al error estándar.

Algo muy similar al calcio sucede con el fósforo en la temporada de lluvias (**Figura 13**), ya que su concentración aumentó de manera considerable, lo que podría deberse a más fósforo en fracción soluble y a una mayor actividad microbiana en esta temporada.

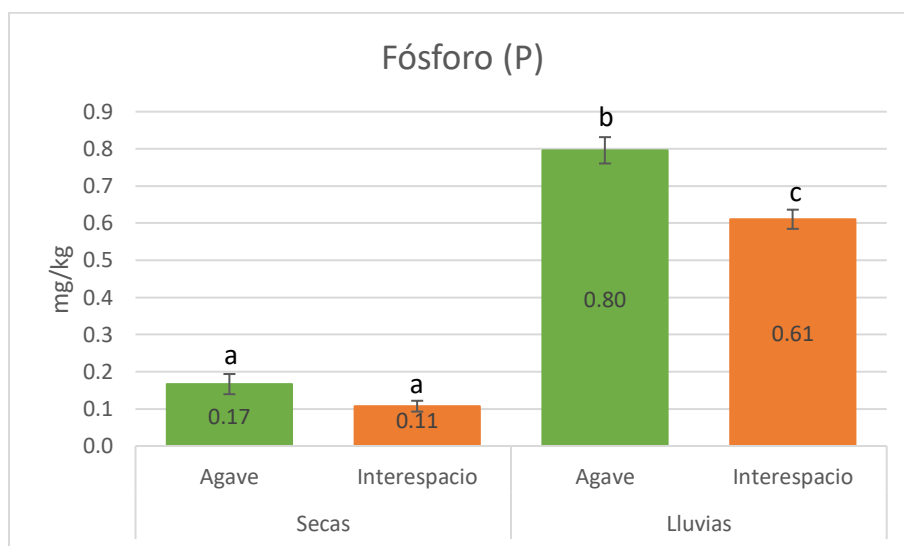


Figura 13. Medias de los diferentes tratamientos para el **fósforo**. Las barras de error corresponden al error estándar.

Lo mismo sucede con el amonio (**Figura 14**), en este caso puede estar debiendo a un aumento en la actividad microbiana en grupos involucrados en el ciclo del nitrógeno, ya que también se encontraron diferencias en todas las condiciones en la cantidad de nitratos en el suelo (**Figura 15**), habiendo más nitrato en temporada de lluvias y en la rizósfera del agave, lo que puede ser un indicador de una asociación de microorganismos nitrificantes con la planta.

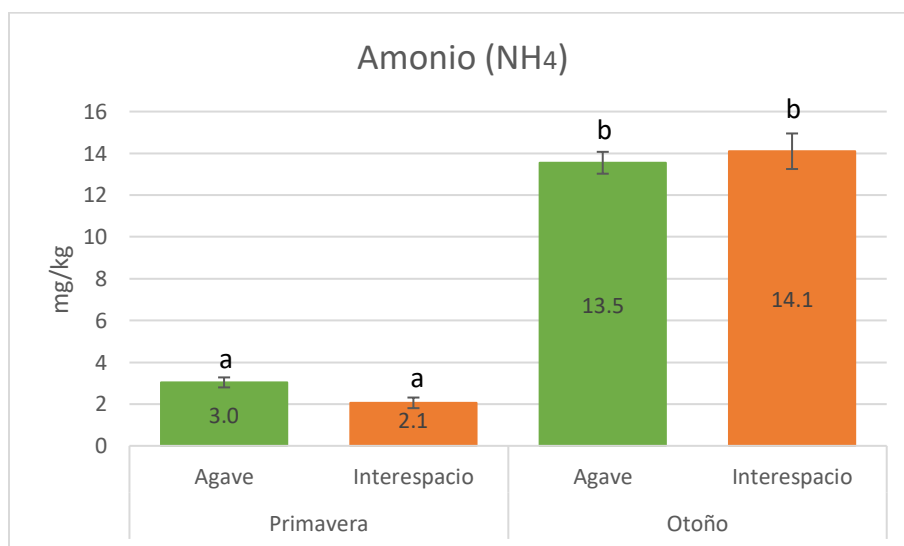


Figura 14. Medias de los diferentes tratamientos para el **amonio**. Las barras de error corresponden al error estándar.

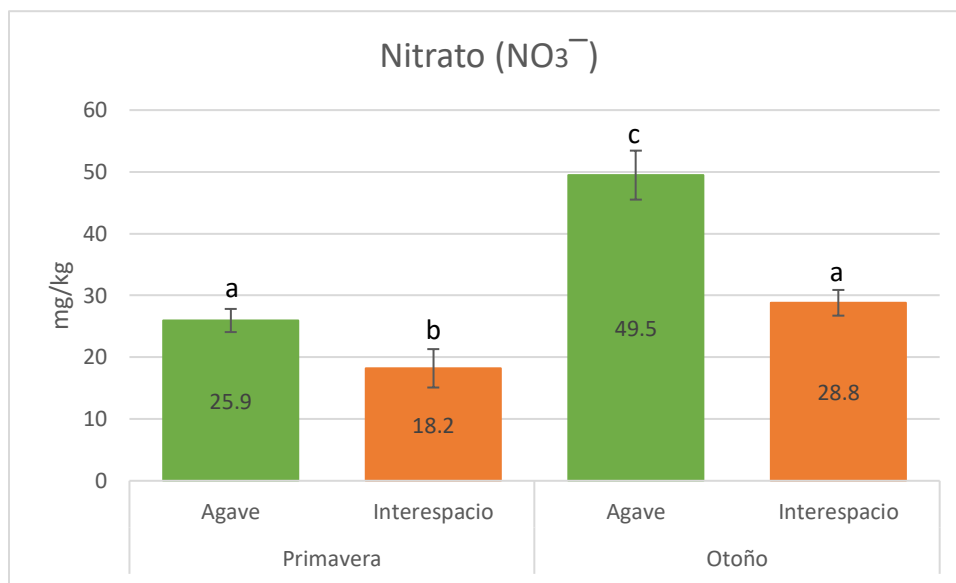


Figura 15. Medias de los diferentes tratamientos para el **nitrato**. Las barras de error corresponden al error estándar.

Con respecto al nitrógeno total y la relación C/N, estas propiedades presentan diferencias significativas por estación debido a un cambio importante en el interspacio en época de lluvias, en el caso del nitrógeno total aumenta lo que se ve reflejado en la relación C/N, en el que este valor disminuye considerablemente comparado con los valores que presenta en el agave en ambas temporadas y el interspacio en época de secas (**Figura 16**).

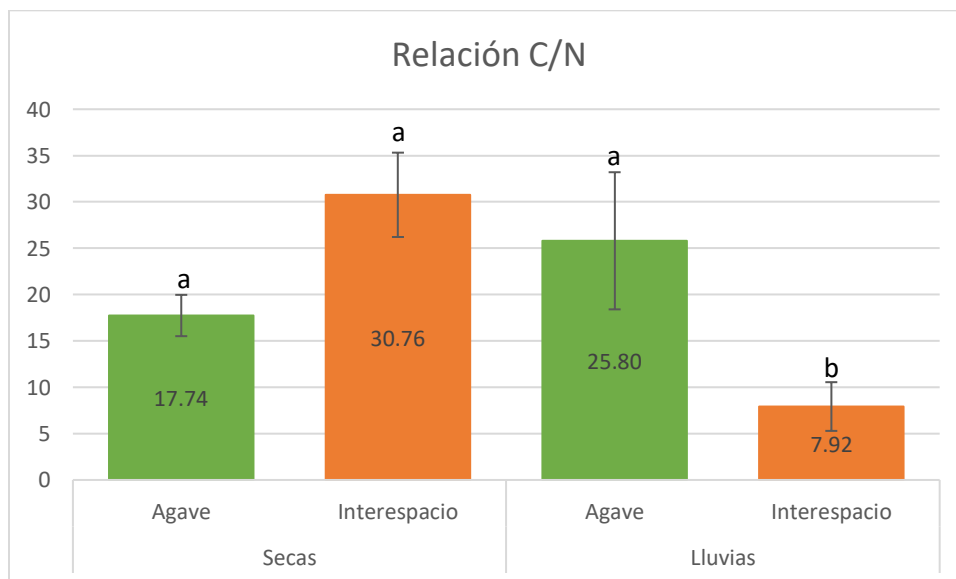


Figura 16. Medias de los diferentes tratamientos para la **relación C/N**. Las barras de error corresponden al error estándar.

3.3. Composición y diversidad microbiana

El reporte de resultados de la secuenciación se encuentra en el **Anexo 3**. Se obtuvieron 94,659 OTUs en total, en la **Tabla 5** se reporta el promedio del total de las secuencias obtenidas, así como el número de OTUs observados, el estimador de Chao y los índices de diversidad de Shannon y Simpson en todas las muestras y separados por rizósfera e interesterio. Observando las columnas correspondientes al estimador de Chao y el número de OTUs observados, se puede apreciar que nuestro muestreo cubrió alrededor de una quinta parte de los grupos de microorganismos presentes en la comunidad, ya que el estimador calcula que debería haber un promedio de 46 000 OTUs mientras que nosotros obtuvimos aproximadamente 10000. Aunado a esto, ambos índices (Shannon-Wiener y Simpson) presentaron diferencias significativas entre las condiciones de rizósfera e interesterio. La diversidad basada en el índice de Shannon, fue mayor en la rizósfera (6.88 ± 0.2 vs. 6.74 ± 0.2) y los valores mayores a seis, indican que existe una gran diversidad en nuestras muestras. Aunado a esto, los valores obtenidos cercanos al cero en el índice de Simpson, indican que no hay un grupo microbiano dominante. Con respecto a la estación, no se presentaron diferencias significativas entre los índices. En el **Anexo 4** se encuentra la misma tabla pero con los datos correspondientes a cada una de las muestras y en el **Anexo 5**, las curvas de rarefacción separadas por condición (rizósfera/secas, rizósfera/lluvias, interesterio/secas e interesterio/lluvias).

Tabla 5. Promedio del total de secuencias, OTUs observados, estimador de Chao e índices de Shannon-Wiener y Simpson obtenidos a partir de la caracterización de la comunidad microbiana, en todas las muestras y separadas por rizósfera e interesterio. Las letras en las condiciones de rizósfera e interesterio de las columnas de Shannon-Wiener y Simpson, representan diferencias significativas entre sí.

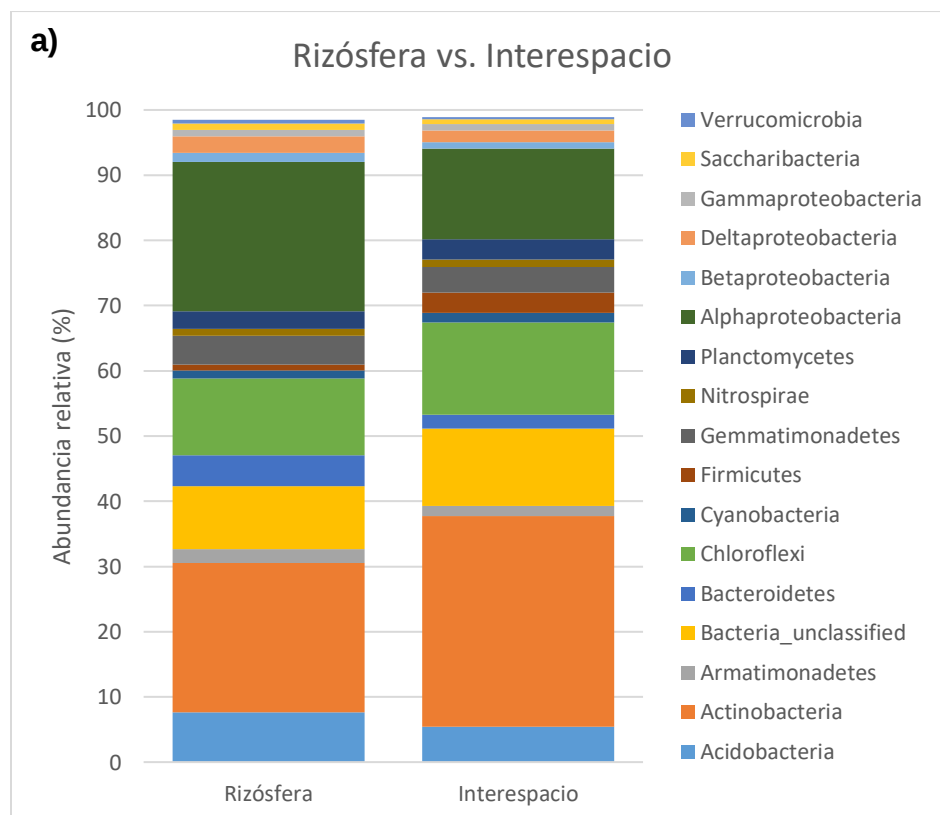
Muestras	Total de secuencias	OTUs observados	Chao	Shannon-Wiener	Simpson
Todas	51071.33	10186.29	46468.86	6.81	0.008
Rizósfera	52727.79	10276.29	46170.05	6.88 ^a	0.007 ^a
Interesterio	49414.88	10096.29	46767.67	6.74 ^b	0.009 ^b

En la **Tabla 6** se enlistan los grupos microbianos presentes en la comunidad con una abundancia relativa mayor a 1% del total de las lecturas en por lo menos una de las muestras analizadas. Representan entre 98 y 99% de la abundancia relativa de cada muestra y 99.1% de todo el muestreo. En estos cálculos se encuentran bacterias que no lograron clasificarse y que representan alrededor de 10% de la abundancia relativa, sin embargo, para fines prácticos no fueron agregadas a la tabla pero si fueron consideradas en los análisis de diversidad.

Tabla 6. Phyla encontrados en las muestras de suelo de nuestro trabajo. Se presenta también una breve descripción del grupo.

Grupo	Descripción	Referencia
Acidobacteria	Se distribuyen en varios ambientes: suelo, sedimentos, aguas termales, nieve marina, heces, cuevas y suelos contaminados por metales pesados. Son organismos quimiorganótrofos.	Barns et al., 1999; Barns et al., 2007; Garrity et al., 2006; Kielak et al., 2016; Meisinger et al., 2007
Actinobacteria	Se encuentran en suelos, en plantas, como fijadores de nitrógeno, en el tracto gastrointestinal y ecosistemas acuáticos. Juegan un papel importante en el reciclaje de materia orgánica. Son quimioheterótrofos.	Goodfellow y Williams, 1983; Servin et al., 2007; Stach y Bull, 2005
Armatimonadetes	Se han reportado en suelos, piel humana, biorreactores anaerobios, en aguas termales y como simbioses de plantas y animales. Tienen un metabolismo quimioheterótrofo oligotrófico.	Lee et al., 2014; Oren, 2014
Bacteroidetes	Se han encontrado en la cavidad oral de humanos, en el tracto intestinal de mamíferos, en salmueras, suelo y agua dulce. Son aerobios.	Gupta y Lorenzini, 2007; Garrity et al., 2006
Chloroflexi	La mayoría son organismos filamentosos fototróficos anoxigénicos (obligados o facultativos) y algunos cuantos son quimioheterótrofos.	Garrity et al., 2006; Hanada, 2014; Oren, 2014.
Cyanobacteria	Son organismos ubicuos, excepto por medios ácidos como aguas termales sulfurosas y páramos con suelos ácidos. Llevan a cabo fotosíntesis oxigénica y anoxigénica, fijación de nitrógeno y se encuentran como autótrofos y heterótrofos.	Pankratova, E.M. (2006)
Firmicutes	Habitan una amplia gama de ambientes y tienen un metabolismo variado, que va de organismos aerobios a organismos anaerobios, de fotótrofos a quimiolitótrofos.	Garrity et al., 2006; Haakensen et al., 2008
Gemmatimonadetes	Se han encontrado en suelos, cuevas, rocas erosionadas, sedimentos de ríos, estanques y suelo superficial. Son organismos heterótrofos.	Zhang et al., 2003, Hanada y Sekiguchi, 2014; Oren, 2014
Nitrospirae	Los de este grupo son metabólicamente diversos, la mayoría son quimiolitótrofos aerobios, algunos son nitrificantes y reductores de sulfato.	Garrity et al., 2006
Planctomycetes	Se han reportado miembros de este grupo en numerosos tipos de ambientes como de agua dulce y salada, suelo, asociados con plantas y animales, y en ambientes extremos como hipersalinos, hipertermófilos, psicrófilos, anaerobios, extremadamente ácidos y alcalinos.	Dillon et al., 2009; Larose et al., 2010; Koschorreck et al., 2010; Zhang et al., 2010; Joseph et al., 2003
Proteobacteria	Grupo muy amplio filogenéticamente hablando, son gram-negativas y presentan una gran diversidad metabólica y morfológica.	Garrity et al., 2006; Madigan et al., 1997
Saccharibacteria	Se ha reportado en suelos, sedimentos, aguas residuales, lodos activados, animales y ambientes clínicos.	Dinis et al., 2011; Ferrari et al., 2005; Ferrari et al., 2014; Hugenholtz et al., 2001, Hugenholtz, 2002; Kuehbachner et al., 2008
Verrucomicrobia	Se ha reportado en casi todos los suelos, la mayoría son mesófilas, anaerobias facultativas u obligadas y les gusta la oligotrofia.	Bergmann et al., 2011; Chin et al., 2001; Da Rocha et al., 2009; Sangwan et al., 2004; Senechkin et al., 2010; Zhang y Xu, 2008

En la **Figura 17** se presenta un gráfico de columnas agrupadas que representa la abundancia relativa promedio de cada grupo microbiano encontrado a nivel de phyla y clases de Proteobacteria. El inciso **a)** corresponde a diferencias entre suelo rizosférico y del interespacio, el inciso **b)** pertenece a la abundancia relativa promedio por época y el inciso **c)**, es el correspondiente a las condiciones separadas (rizósfera/secas, rizósfera/lluvias, interespacio/secas e interespacio/lluvias). En estos gráficos se puede apreciar a simple vista que no existe mucha variación en la abundancia relativa de los phyla entre las dos estaciones, a excepción del considerable aumento que sufre Firmicutes en los interespacios en época de lluvias. La mayoría de las diferencias son las correspondientes al origen de la muestra de suelo, donde la más notable es el aumento en abundancia del grupo Actinobacteria en los interespacios al contrario de los grupos que pertenecen a las Proteobacteria que aumentan en la rizósfera. También se puede observar que la clase Alphaproteobacteria es la más abundante de este phylum. Así mismo, los que presentan una menor abundancia en las comunidades microbianas son los phyla Saccharibacteria y Verrucomicrobia.



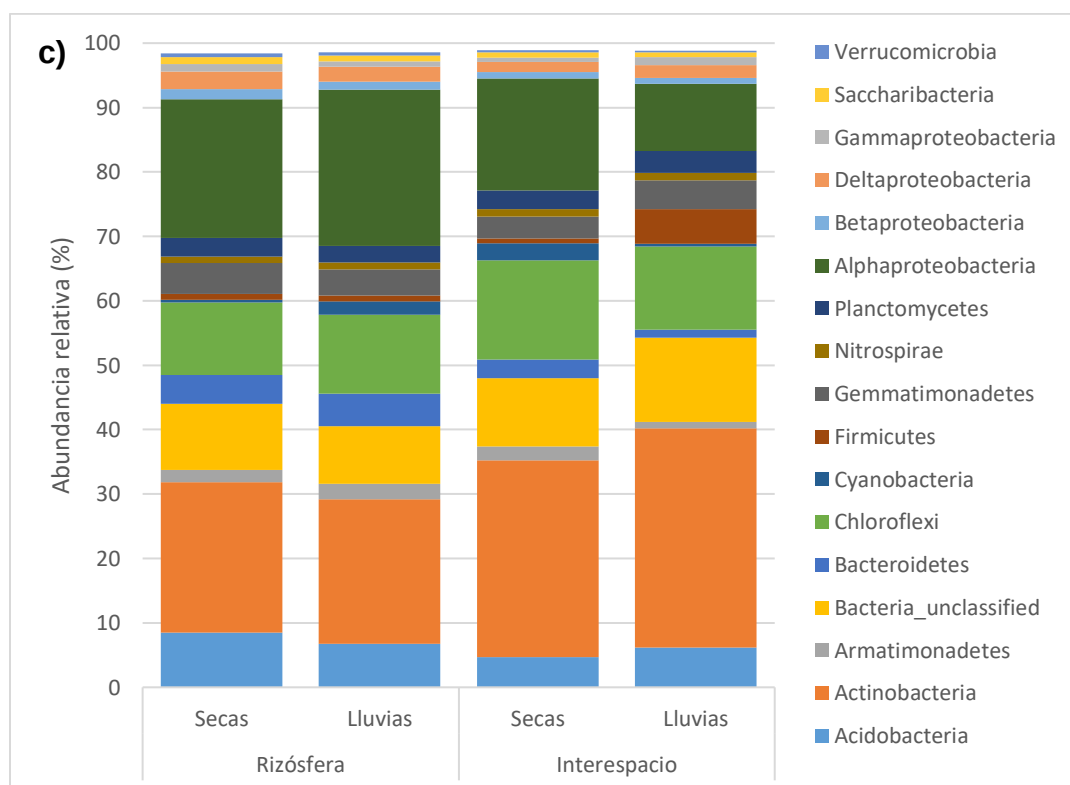
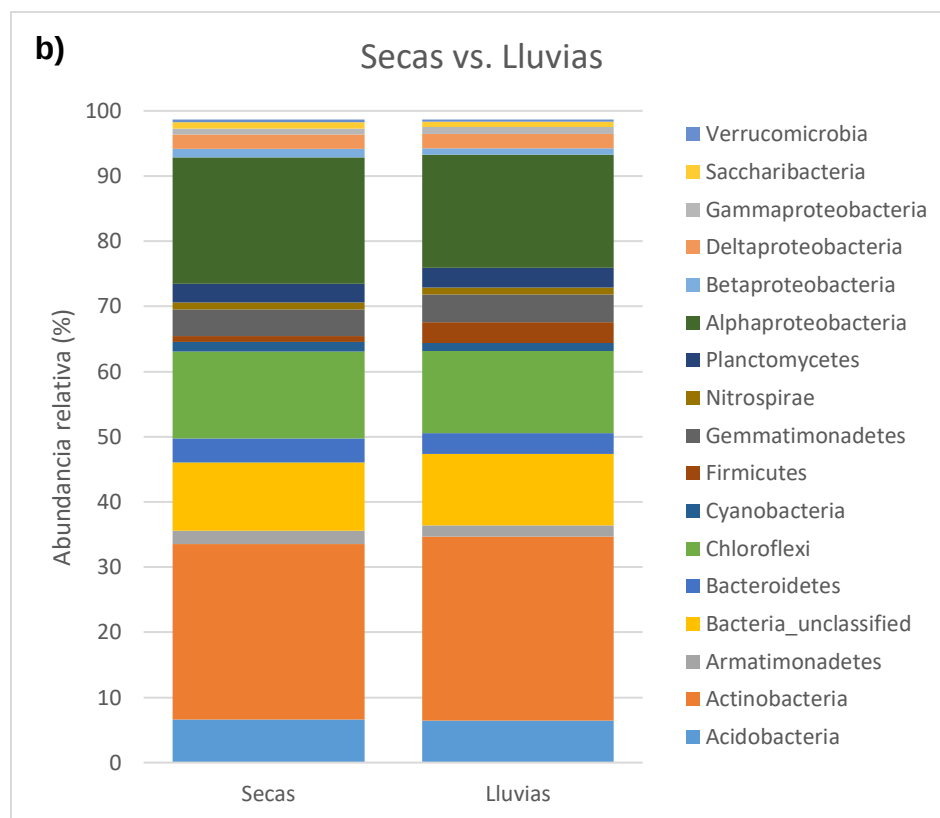


Figura 17. Abundancia relativa de cada uno de los phyla encontrados de acuerdo a: **a)** Origen de suelo, **b)** Temporada y **c)** las cuatro condiciones por separado.

En la **Tabla 7** se muestran los resultados del análisis de ANOVA a nivel de género, aquellos que presentaron diferencias significativas ya sea por temporada o por el origen de la muestra de suelo (rizósfera o interespacio). Este análisis es donde únicamente fueron seleccionados los géneros de los cuatro phyla que resultaron ser los más abundantes en este estudio (Acidobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi y Proteobacteria). Estos grupos microbianos presentaron un mayor número de diferencias significativas por el origen de la muestra de suelo que por la estación. Dicho fenómeno también se observa en la **Figura 18**, la cual corresponde a la abundancia relativa a nivel de género en cada una de las condiciones consideradas en el presente estudio (secas, lluvias, rizósfera e interespacio). Para construirla, se utilizaron los géneros presentados en la tabla anterior y además fue aplicado otro filtro, se sacó el promedio de la abundancia relativa de cada uno de los géneros en todas las muestras y se descartaron aquellos que no alcanzaran en promedio 1% de abundancia relativa. En esta figura se puede observar que Rubrobacter es el género más abundante en todas las condiciones comparado con los demás grupos, sobre todo en los interespacios y en época de sequía, lo que sugiere que tiene una preferencia por condiciones más secas. Los grupos que presentaron diferencias significativas por temporada fueron Sphingomonas, Rhizobiales FFCH5858 U y Kallotenuales AKIW781 U, que presentaron preferencia por la época de sequía y Actinobacteria TakashiACB11 UUU y Acidobacteria S6 UU que aumentaron su abundancia en época de lluvias. Con respecto a las diferencias significativas entre las muestras de suelo, los grupos Microvirga, Rhizobiales JG34KF361 U, Thermomicrobia JG30KFCM45 UU y Bryobacter, presentaron una preferencia por habitar la rizósfera de la lechuguilla, mientras que los grupos Chloroflexi TK10 UU, Kallotenuales AKIW781 U, Actinobacteria TakashiACB11 UUU, Rubrobacter, Actinobacteria MBA2108 UUU prefirieron los interespacios.

Tabla 7. Diferencias significativas presentadas por los géneros de los phyla que resultaron más abundantes (Acidobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi y Proteobacteria). El valor de F corresponde a aquellos a los que se les realizó ANOVA y el valor de X^2 , es para aquellos a los que se les realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis¹. Valor de P: *** = 0.001, ** = 0.01 y * = 0.05. Las “U” al final del nombre, indican la cantidad de niveles taxonómicos anteriores a los cuales no se pudo clasificar.

Género	Valor de F o X^2	
	Estación	Suelo
Acidobacteria 11B-2 UU	2.917	0.934
Bryobacter ¹	0.38265	25.106***
Acidobacteria S4 RB41 U	1.428	1.656
Blastocatella	1.786	3.443
Acidobacteria S6 UU	5.444*	0.198
Aciditerrimonas	0.455	30.44
Iamia	5.014*	0.864
Mycobacterium	0.868	12.688***
Blastococcus	0.767	3.728
Geodermatophilus	1.149	2.339
Kribbella	2.541	0.019
Microlunatus	6.351*	7.986**
Crossiella	1.347	1.417
Pseudonocardia	18.503***	0.984
Streptomyces	0.2	1.812
Actinobacteria MB-A2-108 UUU	0.084	49.765***
Euzeybya	0.356	6.458*
Rubrobacter	1.292	18.67***
Actinobacteria TakashiAC-B11 UUU	6.14*	87.17***
Gaiella	0.179	49.202***
Gaiellales	0.604	46.743***
Thermoleophilum	0.977	40.872***
Ardenticatenales UU	0.501	15.097***
Roseiflexus	3.225	1.599
Kallotenuales AKIW781 U	6.8*	12.72***
Kallotenue	0.998	12.362**
Chloroflexi JG30-KF-CM66 UUU	0.618	5.34*

Género	Valor de F o X^2	
	Estación	Suelo
Chloroflexi KD4-96 UUUU	3.01	5.484*
Chloroflexi P2-11E UUU ¹	1.063	8.696**
Chloroflexi SAR202_clade UUU	1.05	0.066
Chloroflexi TK10 UUU	0.174	14.326***
Thermomicrobia JG30-KF-CM45 UU	1.334	5.857*
Bosea	2.783	3.774
Bradyrhizobium	0.142	6.295*
Rhizobiales FFCH5858 U	7.605**	4.022
Rhizobiales JG34-KF-361 U	2.678	37.117***
Microvirga	0.817	9.747**
Rhizobiales P-102 U	2.279	0.014
Rhizobium ¹	2.394	15.691***
Craurococcus	0.034	22.292***
Rhodospirillales DA111 U	5.14*	43.589***
Candidatus Alysiosphaera	1.967	21.88***
Sphingomonadales AKYG937 U	7.252**	45.423***
Sphingomonadales JG34-KF-161 U	9.519**	9.877**
Sphingomonas ¹	1.381	31.456***
Candidatus Entotheonella	0.176	15.16***
Nitrosococcus	7.303*	0.62
Fulvimonas ¹	4.31**	4.007**
Steroidobacter	10.396**	1.098

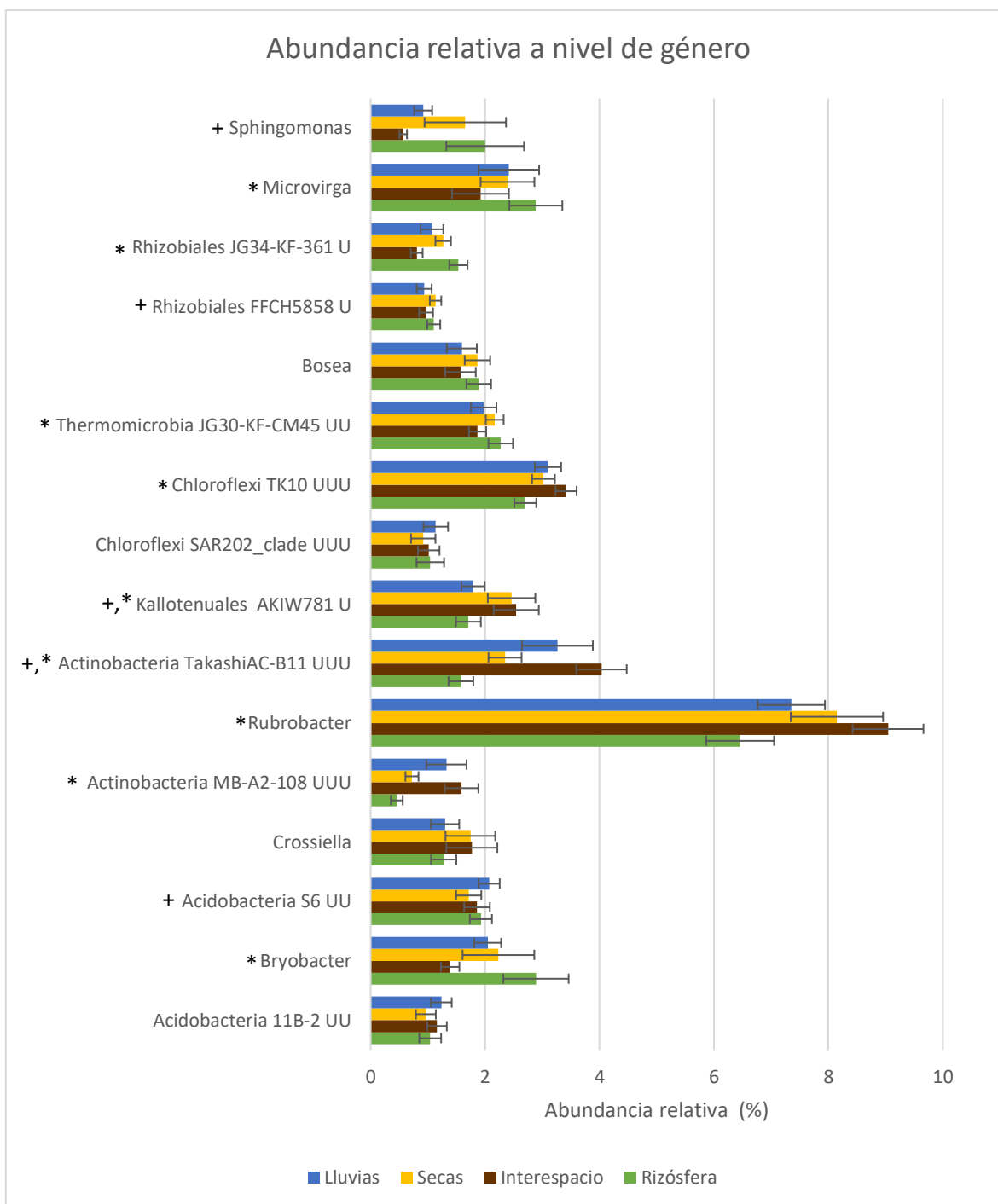
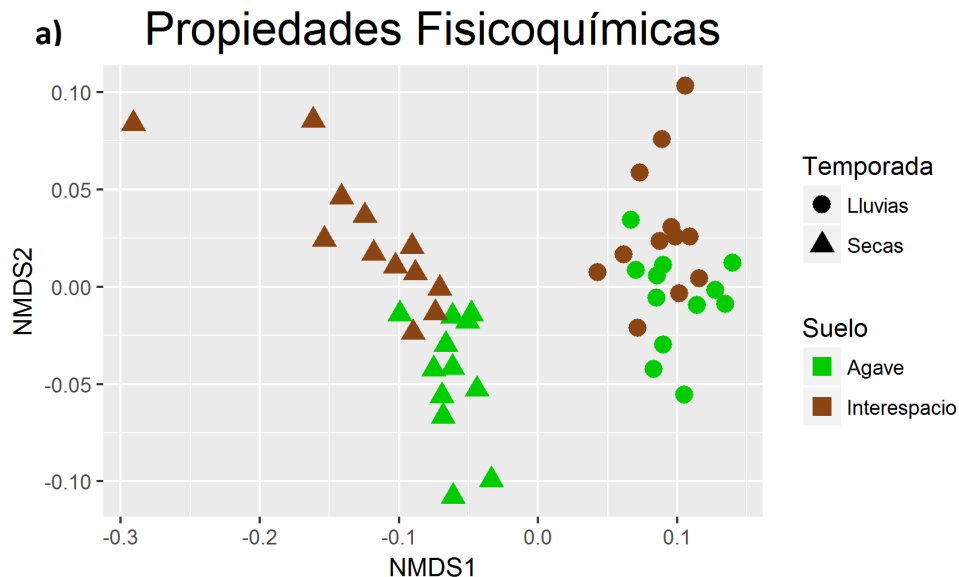


Figura 18. Porcentaje de abundancia relativa de los géneros más representados en las diferentes condiciones (secas, lluvias, rizósfera e interespacio). + = diferencias significativas por temporada (secas y lluvias). * = diferencias significativas por el origen de la muestra de suelo (rizósfera e interespacio). Las “U” al final del nombre indican la cantidad de niveles taxonómicos anteriores a los cuales no se pudo clasificar.

3.4. Interacción planta-microorganismo

Los resultados del análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) utilizando únicamente los datos de las propiedades fisicoquímicas sugieren una separación por temporada, una observación interesante es que las diferencias entre los interespacios y la rizósfera se acentúan en época de sequía (**Figura 19.a**). Para el caso del análisis utilizando los datos de la composición microbiana a nivel de género (**Figura 19.b**) observamos que la diferencia más remarcable corresponde al origen de la muestra de suelo y que la comunidad de los interespacios es más sensible a la variación por estación, mientras que bajo el agave parecen tener menor variación estacional. Haciendo el ajuste de los datos fisicoquímicos con la composición microbiana encontramos que las propiedades que muestran una relación significativa con la composición de la comunidad microbiana son pH, conductividad, humedad, materia orgánica y la relación carbono/nitrógeno. En la **Figura 19.b** únicamente se muestra una tabla con los valores de P de las propiedades fisicoquímicas que se ajustaron significativamente, sin embargo, en el **Anexo 6**, se muestra la gráfica de NMDS con el ajuste de las propiedades fisicoquímicas representadas a modo de vector.



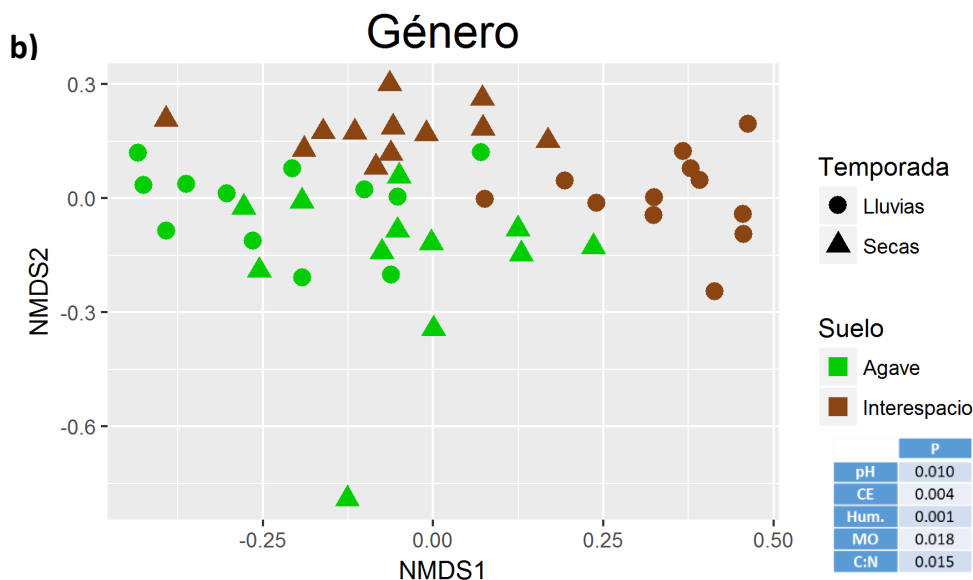


Figura 19. Análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS). **a)** Usando las propiedades fisicoquímicas del suelo. **b)** Utilizando la abundancia relativa de los microorganismos a nivel de género. Sobre este último se realizó el ajuste de las variables ambientales, los valores de P de dicho ajuste se muestran en la tabla de lado inferior izquierdo.

La diferenciación de la composición de la comunidad entre la rizósfera y los interespacios se confirmó con el heatmap. En la **Figura 20**, se puede observar en el dendrograma superior derivado del análisis de “clustering” basado en la disimilitud de Bray-Curtis, salvo por algunas muestras mezcladas, que hay una agrupación de las muestras tomadas en el interespacio (café) y aquellas tomadas en la rizósfera (verdes). Lo observado en el heatmap y en el NMDS es un indicativo de que para la estructura y composición de las comunidades microbianas, las condiciones generadas debajo de la planta al ser un ambiente más estable tienen un mayor impacto en la selección de los integrantes de la comunidad que la estación del año. Sin embargo, los interespacios parecen estar más sujetos a las variaciones ambientales, ya que la influencia de la temporada sí es significativa. Esto se observa también en el heatmap que se construyó con todas las condiciones por separado (secas/rizósfera, secas/interespacio, lluvias/rizósfera y lluvias/interespacio) que se encuentra en el **Anexo 7**, donde se agrupan las muestras pertenecientes al interespacio en época de lluvias.

También es importante resaltar que en el heatmap se confirma lo observado en la figura de las columnas agrupadas (**Figura 17.a**), se puede distinguir una

dominancia del grupo Actinobacteria en los interespacios, y de la clase Alphaproteobacteria en la rizósfera del *Agave lechuguilla*.

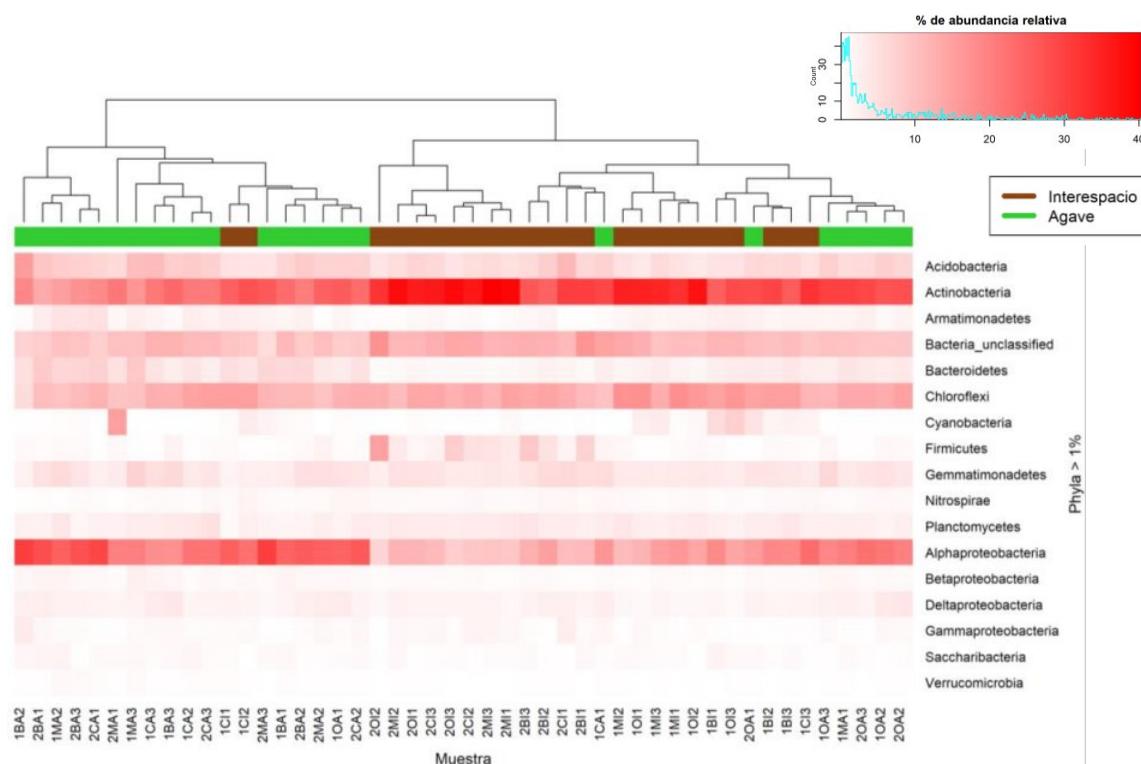


Figura 20. Heatmap construido a partir de las abundancias relativas de los phyla identificados. En el dendrograma superior se encuentran en café las muestras correspondientes a los interespacios y en verde las de la rizósfera. El color rojo representa la abundancia relativa, entre más intenso sea este color, más abundante es el grupo en esa muestra.

3.5. Efecto de las propiedades fisicoquímicas

La **Figura 21** corresponde al correlograma hecho para encontrar de qué manera se relacionan cada una de las propiedades fisicoquímicas medidas con la abundancia relativa de cada uno de los grupos microbianos encontrados. Como se puede observar, las bases intercambiables no tienen gran influencia sobre las comunidades microbianas, incluso el calcio y el sodio no se encuentran correlacionados con ninguno de los grupos microbianos, situación que también ocurre con el fósforo. Asimismo, estos análisis son una confirmación de lo observado en los NMDS, ya que para cada grupo se puede ver que el pH, la conductividad eléctrica, la humedad, la materia orgánica y el nitrato son propiedades que se relacionan con varios grupos (en el NMDS salió significativo el nitrato a nivel

de phyla, pero a nivel de género fue la relación C/N, esto puede verse en el **Anexo 8** que corresponde a esta misma figura pero a nivel de género).

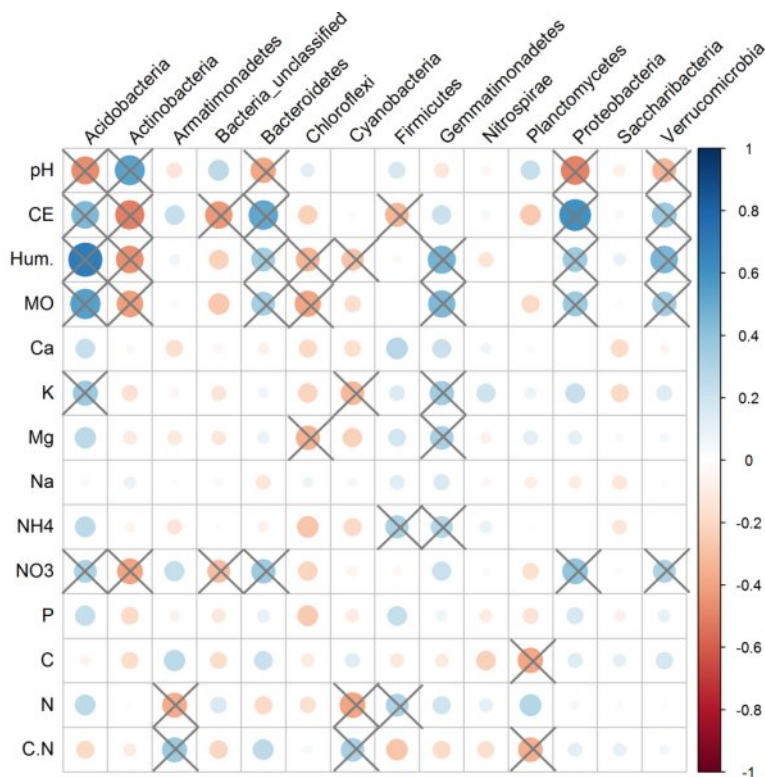


Figura 21. Gráfico de correlación de Spearman (abundancia relativa de phyla encontrados vs. propiedades fisicoquímicas). En escala de color, el azul indica un valor de ρ positivo y el rojo un valor negativo, entre más oscuro el color indica valor cercano a 1 o -1 según corresponda. Las "X" sobre los círculos indican una correlación significativa con un valor de $P \leq 0.05$.

Asimismo, vemos que los grupos Acidobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria y Verrucomicrobia se relacionan de manera positiva con todas estas propiedades excepto por el pH, esto tiene lógica tomando en cuenta que la descomposición de la MO acidifica el suelo (Waddington, 1969), por lo que los grupos microbianos que presenten una correlación positiva con la MO, tenderán a presentar la relación opuesta con el pH. El phylum Actinobacteria presenta una correlación con las propiedades fisicoquímicas totalmente opuesta a la de los grupos anteriores. Armatimonadetes únicamente presentó correlación negativa con el nitrógeno total y por consiguiente una correlación positiva con la relación C/N. Caso contrario a Planctomycetes que se correlacionó negativamente con el carbono total y lo que también se vio reflejado con la relación C/N. Chloroflexi solo presentó correlaciones negativas, que fueron con la humedad, materia orgánica y magnesio.

Esto también sucedió con Cyanobacteria pero con la humedad y el potasio. Firmicutes se correlacionó negativamente con la conductividad eléctrica, pero se correlacionó positivamente con el amonio y el nitrógeno total. También es importante resaltar que los phyla Nitrospirae y Saccharibacteria no presentaron ningún tipo de correlación con las propiedades fisicoquímicas.

3.6. Interacciones microorganismo - microorganismo

En la **Figura 22** se pueden observar las correlaciones entre los grupos de microorganismos reportados a nivel de phyla separadas por temporada y origen del suelo de la muestra. De manera general, en los interespacios en temporada de secas, se ve un mayor número de relaciones negativas y en temporada de lluvias estas se atenúan e incluso aparecen o se fortalecen las relaciones positivas. Esto podría deberse a que en secas, debido a la menor disponibilidad de recursos, los microorganismos están compitiendo entre ellos, al haber un aumento en la disponibilidad de recursos en lluvias, la competencia disminuye.

Ya hablando específicamente de las relaciones entre los grupos microbianos, vemos que el grupo Acidobacteria mantiene una correlación negativa con el phylum Actinobacteria debajo del agave en ambas estaciones del año, que se puede deber a la competencia por un recurso proporcionado por la planta. En temporada de secas, este phylum casi no presenta interacciones con ningún otro grupo bacteriano, sin embargo, en temporada de lluvias aumentan sus interacciones, presentando una correlación positiva con Gemmatimonadetes en esta estación.

En el caso del grupo Actinobacteria, vemos que en las cuatro gráficas no mantiene ninguna correlación significativa de cooperación o facilitación con ningún grupo microbiano, al contrario, todas las relaciones son antagonistas. En particular el antagonismo entre Actinobacteria y Verrucomicrobia se da únicamente debajo del agave, independientemente de la temporada, lo que como ya fue mencionado anteriormente, podría indicar competencia por algún recurso proporcionado por la planta.

Los Armatimonadetes presenta correlaciones significativas muy variables entre las cuatro condiciones, la única que se repite es una relación positiva con

Verrucomicrobia, sin embargo, solo es positiva en secas debajo del agave y en lluvias en el interespacio. Únicamente en temporada de lluvias en el interespacio, presenta correlación negativa significativa con Gemmatimonadetes y Nitrospirae, cabe recalcar que las condiciones más adversas fueron bajo estas condiciones. En temporada de lluvias debajo del agave, este grupo no presenta ningún tipo de interacción significativa, al contrario del caso anterior, estas fueron las condiciones más amables, por lo que no necesitaría competir ni cooperar de alguna forma.

Los Bacteroidetes tiene solamente correlaciones significativas positivas en el interespacio, mientras que en la rizósfera aparecen antagonismos, lo que podría sugerir que en condiciones adversas, este grupo prefiere la cooperación sobre la competencia y cuando hay mayor disponibilidad de recursos, entra en competencia.

Para el phylum Chloroflexi, vemos que en temporada de secas casi no interacciona significativamente con ningún otro grupo. En temporada de lluvias se observa un aumento en las interacciones, siendo en su mayoría positivas, los grupos de organismos con los que interactúan cambian dependiendo de si se encuentran en el agave o en el interespacio, en la rizósfera interaccionan con Nitrospirae y Planctomycetes, y en el interespacio con Verrucomicrobia y Cyanobacteria.

Las Cyanobacteria casi no presentan correlaciones con ningún otro grupo microbiano, solo presenta antagonismo con Nitrospirae en la rizósfera en lluvias y con Firmicutes en los interespacios en secas. Sucede lo mismo con el grupo Firmicutes y Nitrospirae, casi no presentan correlaciones y cuando las hay son negativas, excepto por la correlación positiva de los phyla Nitrospirae con Chloroflexi, que ya fue mencionada.

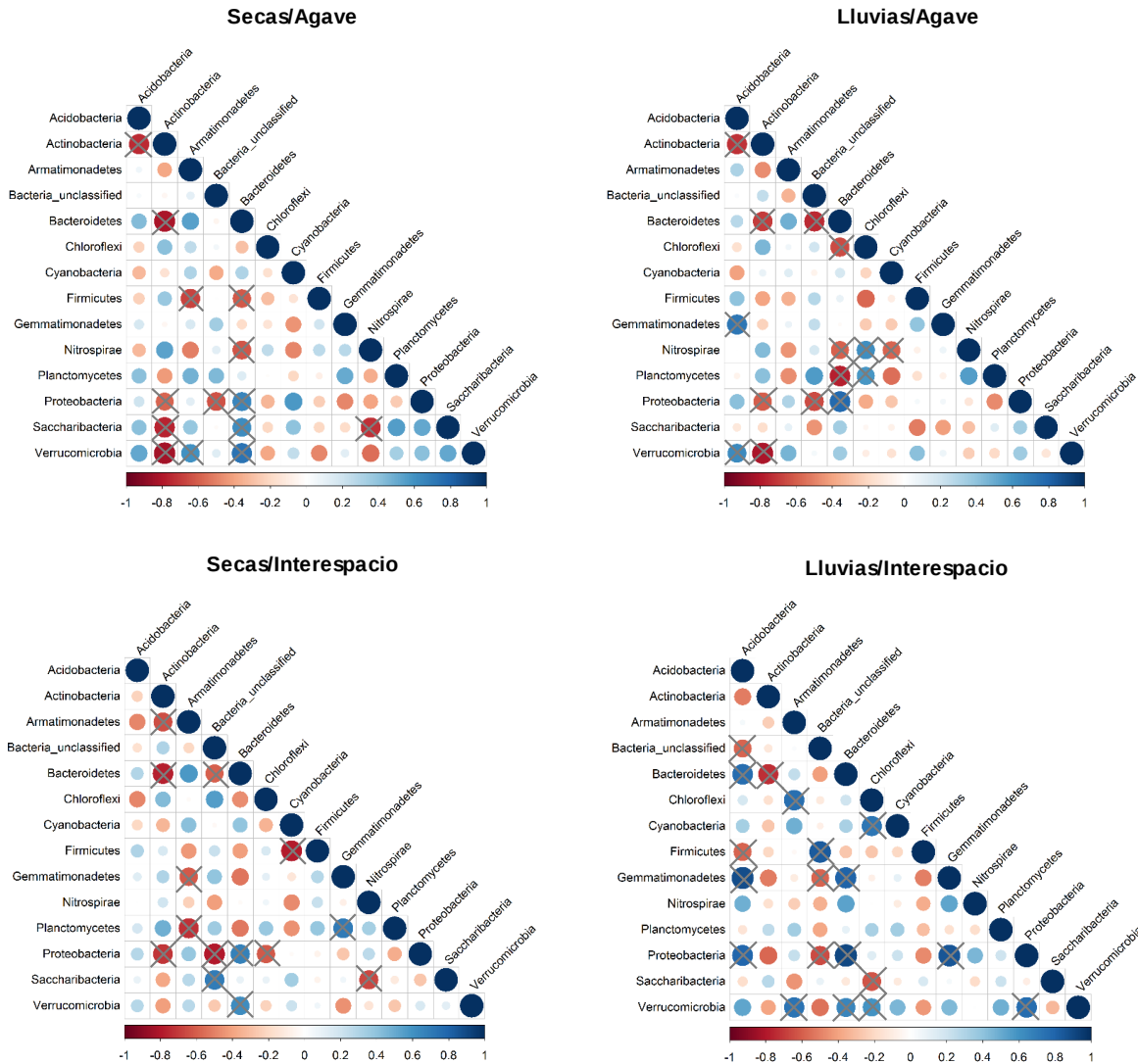


Figura 22. Correlación de Spearman entre los grupos microbianos a nivel de phyla, en las dos temporadas en conjunto con el origen del suelo muestreado (rizósfera e interespacio). El color azul indica un valor de p positivo y el rojo un valor negativo, entre más intenso sea el color y mayor el tamaño del círculo, la correlación es de mayor magnitud. Las “X” sobre los círculos indican una correlación significativa con un valor de $P \leq 0.05$.

Es importante notar que hay interacciones que se mantuvieron en todas las condiciones: (i) antagonismo entre Actinobacteria vs. Bacteroidetes y Proteobacteria, (ii) cooperación o facilitación entre Bacteroidetes con Proteobacteria y Verrucomicrobia. En la **Figura 23** también puede observarse que los grupos bacterianos presentan un mayor número de interacciones si son divididos por la temporada, más que por el origen de la muestra de suelo, lo que sugiere que se encuentran adaptados a las condiciones establecidas en su respectivo “hábitat”

(rizósfera o interespacio), pero los cambios en las condiciones climáticas pueden modificar esa estabilidad y provocar que los microorganismos entren en competencia, cooperación o facilitación.

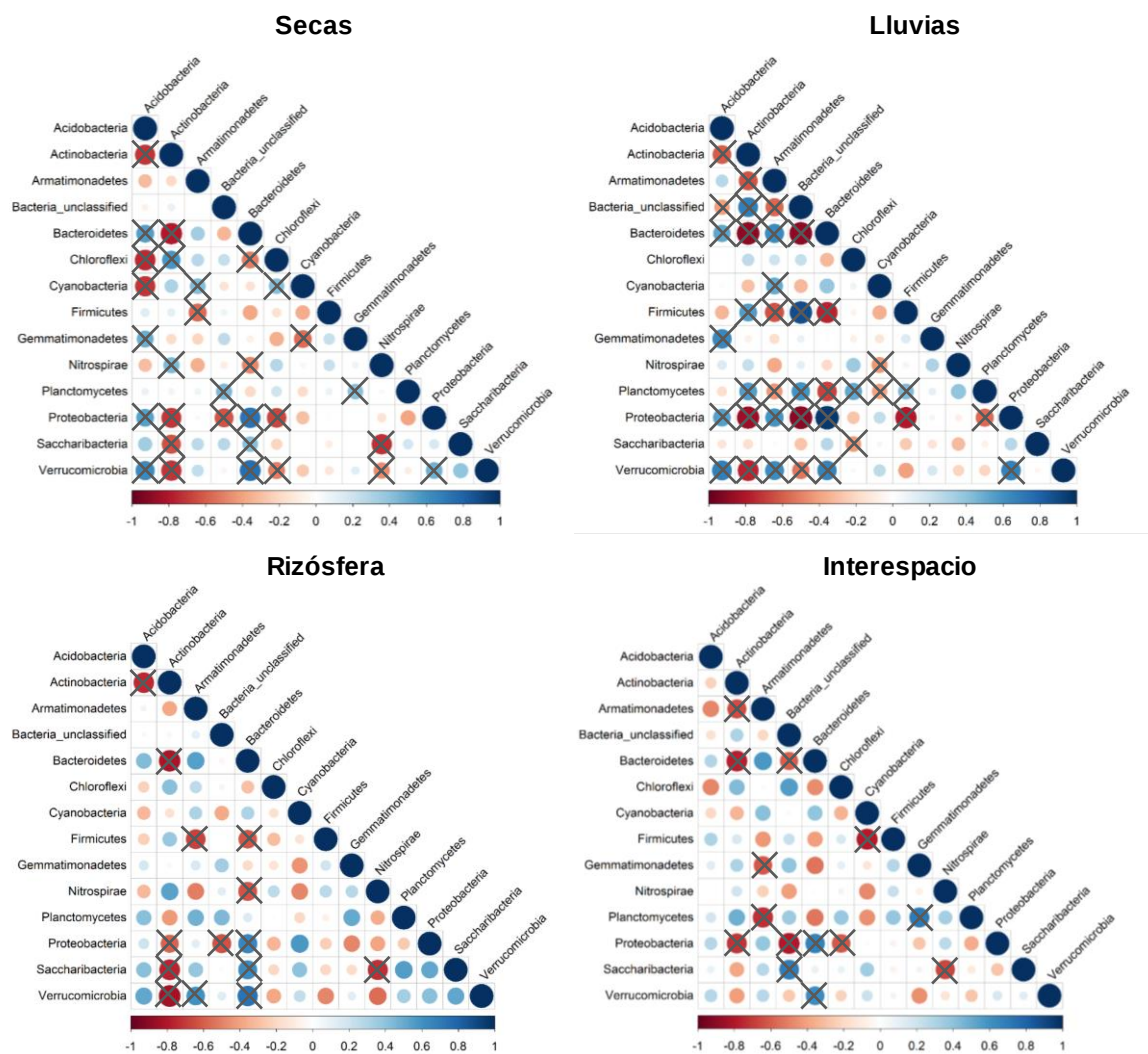


Figura 23. Correlación de Spearman entre los grupos microbianos a nivel de phyla, con cada una de las condiciones por separado. El color azul indica un valor de p positivo y el rojo un valor negativo, entre más intenso sea el color y mayor el tamaño del círculo, la correlación es de mayor magnitud. Las "X" sobre los círculos indican una correlación significativa con un valor de $P \leq 0.05$.

4. Discusión

El objetivo de este trabajo se centró en determinar si las propiedades fisicoquímicas del suelo, la estación, la relación planta-microorganismos y las interacciones entre los mismos microorganismos, están seleccionando a las comunidades microbianas del suelo. Nuestra hipótesis se basa en que debido a una mayor influencia de los procesos deterministas en las zonas áridas, existirá una composición microbiana particular derivada de estos factores, por lo que se espera encontrar una mayor similitud en la composición y estructura de las comunidades de microorganismos entre más parecidas fueran las características ambientales (abióticas y bióticas). Con nuestros resultados se pudo comprobar esta hipótesis y se cumplieron los objetivos, principalmente con el análisis de NMDS, el cual permite visualizar espacialmente la similitud de las muestras, este análisis arrojó un agrupamiento de éstas según el origen de donde la muestra fue tomada, es decir, debajo del agave o en los interespacios. Aunado a esto, en los interespacios se podía observar una diferenciación por la temporada en la que fueron tomadas las muestras y agregando el ajuste de las propiedades fisicoquímicas del suelo, se pudo observar que las que más estaban influenciando a la comunidad microbiana fueron: pH, conductividad eléctrica, humedad, materia orgánica y la relación C/N.

Con respecto a los trabajos que han analizado específicamente el microbioma del género *Agave*, únicamente se han publicado dos, uno de Desgarenes et al. (2014) y otro de Coleman-Derr et al. (2015) ambos del mismo grupo, donde abordaron tres especies: *Agave salmiana*, *Agave tequilana* y *Agave deserti*. Estos autores se han dedicado en mayor medida a averiguar las diferencias en la comunidad microbiana entre estas distintas especies y entre los diferentes compartimentos que presenta la planta (endósfera de las hojas y la raíz, filósfera, rizósfera). Sin embargo, aunque dentro de sus estudios se enfocan en las diferencias entre las comunidades microbianas de cada uno de estos compartimentos, también hacen mención de algunas diferencias que se encuentran en las comunidades microbianas asociadas al suelo de la zona cercana a la raíz comparadas con las comunidades de los interespacios, reportando una diferenciación entre aquellas comunidades asociadas a la planta y aquellas del

suelo sin influencia de la vegetación. Esta separación en las comunidades microbianas del suelo, es la misma que se puede observar en los resultados de la presente investigación, en los que la planta es el principal factor de selección de las comunidades microbianas. Este efecto de selección ha sido reportado en varios estudios realizados en zonas áridas en cactáceas (Andrew et al., 2012; Kavamura et al., 2013), en plantas cultivadas (Marasco et al., 2012; Ferjani et al., 2014) y en pastos y arbustos (Osman et al., 2016).

Dicho efecto puede atribuirse a dos razones muy relacionadas entre sí: (i) La rizósfera, promueve el crecimiento de microorganismos específicos como resultado de la alteración física y química del suelo debido a los exudados de las raíces (Hiltner, 1904). (ii) Las plantas perennes promueven la formación de islas de recursos, donde debajo de su dosel la temperatura del suelo y la evaporación son más moderadas y los nutrientes limitantes pueden ser más abundantes que en las zonas libres de vegetación, creándose parches de mayor fertilidad en ecosistemas de baja productividad (Schlesinger y Pilmanis, 1998).

Bachar et al. (2012) en un estudio enfocado a las islas de recursos en una región árida, encontraron que las concentraciones de NO_3^- , magnesio, potasio, CE, así como el contenido de humedad y de MO fueron mayores debajo de un arbusto (*Hammada scoparia*) que en los interespacios. El aumento en los valores de humedad, materia orgánica y conductividad eléctrica debajo de una planta también está reportado en otros estudios (Aguilera et al., 1999; Saul-Tcherkas y Steinberger; 2011). Esto es congruente con nuestros resultados de las propiedades fisicoquímicas medidas, en los que el porcentaje de humedad y de MO, así como las concentraciones de NO_3^- , CE, K^+ , Mg^{2+} y P aumentaron debajo del agave.

Estos cambios en el suelo pueden derivar en condiciones más favorables para algunos grupos de microorganismos provocando un cambio en la composición y estructura de las comunidades microbianas del suelo. Por ejemplo, en diversos estudios se ha hecho la mención de que existe un enriquecimiento debajo de la planta de microorganismos pertenecientes al phylum Proteobacteria (Marasco et al., 2012; Kavamura et al., 2013; Ferjani et al., 2014; Osman et al., 2016), mientras que

en los interespacios se encuentra en mayor abundancia al grupo Actinobacteria (Saul-Tcherkas y Steinberger, 2011; Marasco et al., 2012; Kavamura et al., 2013), patrón que también se observó en este estudio.

Muchos estudios mencionan a los phyla Acidobacteria, Bacteroidetes y Firmicutes como los más abundantes en suelos de zonas áridas (Andrew et al., 2012; Torres-Cortés et al., 2012; An et al., 2013; Desgarennnes et al., 2014; Coleman-Derr et al., 2015; Osman et al., 2016; Postma et al., 2016; Shi et al., 2016), en el presente estudio, los grupos más abundantes fueron Actinobacteria, Proteobacteria y Chloroflexi (en orden de abundancia), los cuales suman alrededor de 63% de la abundancia relativa de las comunidades.

A nivel de género, también se presentaron diferencias significativas entre rizósfera e interespacio, existiendo un enriquecimiento importante en la abundancia relativa de algunos grupos en la rizósfera. Tal es el caso del género *Bryobacter*, el cual ha sido reportado que puede obtener carbono de la descomposición de MO y nitrógeno del nitrato (Kulichevskaya et al., 2010), propiedades fisicoquímicas cuyo valor fue mayor en la rizósfera. Algo similar ocurre con otros microorganismos que presentan preferencia por habitar debajo de las plantas como *Mycobacterium*. Kazda et al., (2010) describen que estos microorganismos se encuentran en sitios ricos en materia orgánica, incluso algunos miembros del género son saprófitos; aunado a esto, reportan también una preferencia por sitios húmedos y presencia en capas externas de tejidos de las plantas. En el caso de *Microlunatus*, se ha reportado que este género puede llevar a cabo reducción de nitrato a nitrito y una especie es acumuladora de fósforo (Nakamura et al., 1995), al haber una mayor cantidad de nutrientes en la rizósfera, es más fácil acumularlos que estando en los interespacios. Otros grupos forman asociaciones con las plantas como los miembros de los género *Bradyrhizobium* y *Rhizobiales* que son fijadores de nitrógeno (Carareto et al., 2014; De Souza et al., 2014). Según Kelly et al., (2014) algunas especies de *Microvirga* también pueden fijar nitrógeno y todas hacen reducción de nitrato a nitrito, característica compartida con los miembros del género *Craurococcus* (Saitoh et al., 1998).

Los grupos pertenecientes al phylum Actinobacteria (Actinobacteria Takashi AC-B11 UUU, Actinobacteria MB A2 108 UUU y Rubrobacter) presentan el patrón contrario, tienen una preferencia por los interespacios, estos grupos tienen la capacidad de soportar estas condiciones ya que forman esporas, toleran la desecación, alta salinidad y altas temperaturas (Yoshinaka et al., 1973; Chen et al., 2004; Goodfellow et al., 2012). También en este phyla se encuentra el género Euzebya, que para su crecimiento requiere que haya sales presentes (Kurahashi et al., 2010) y Thermoleophilum que presenta tolerancia a altas temperaturas (Zarilla y Perry, 1984). Otros grupos que presentaron preferencia por los interespacios, son las Ardentcatenales, las cuales presentan una morfología filamentosa, que les permite retener humedad y extenderse para obtener mayor cantidad de nutrientes (Kawaichi et al., 2013), las Kallotenue también son filamentosas y soportan altas temperaturas (Cole et al., 2013). Los miembros pertenecientes a la clase Chloroflexi (Chloroflexi JG30-KF-CM66 UUU, Chloroflexi KD4-96 UUUU, Chloroflexi P2-11E UUU, Chloroflexi TK10 UUU) son fotótrofos, es por ellos que se encuentran en mayor abundancia en los interespacios, donde están más expuestas a la luz solar.

Aunado a los cambios en la abundancia relativa de los grupos microbianos presentes en la comunidad, la diversidad medida por el Índice de Shannon, también presentó diferencias significativas, siendo ésta mayor en la rizósfera que en los interespacios (Marasco et al., 2012; Coleman-Derr et al., 2015). Por otra parte, el estimador de Chao arrojó que únicamente se tiene una quinta parte de la comunidad representada en las muestras, esto se debe a la gran diversidad de microorganismos que presentan los suelos en Cuatro Ciénegas. López-Lozano et al., (2013) reportó en un estudio realizado en este sitio, valores similares de OTUs observados y del estimador de Chao a los obtenidos en el presente estudio. Asimismo, también obtienen valores muy parecidos del Índice de Simpson, lo que sugiere que la falta de dominancia de algún grupo microbiano en particular, es característica del sitio.

Con respecto a la composición microbiana del suelo de manera general, se encontraron miembros de los phyla Acidobacteria, Actinobacteria, Armatimonadetes, Bacteroidetes, Chloroflexi, Cyanobacteria, Firmicutes,

Gemmatimonadetes, Nitrospirae, Planctomycetes, Proteobacteria, Saccharibacteria y Verrucomicrobia, los cuales a excepción de Armatimonadetes y Saccharibacteria, son grupos reportados de manera constante en muchas investigaciones en zonas áridas con proporciones variables en su abundancia (Bachar et al., 2010; Saul-Tcherkas y Steinberger, 2011; Andrew et al., 2012; López-Lozano et al., 2012; Marasco et al., 2012; Torres-Cortés et al., 2012; An et al., 2013; Kavamura et al., 2013; Desgarennes et al., 2014; Ferjani et al., 2014; Coleman-Derr et al., 2015; Osman et al., 2016; Postma et al., 2016). Armatimonadetes solo ha sido reportado en un sitio semiárido en una zona montañosa con suelos rocosos (Walker y Pace, 2007) y Saccharibacteria en el desierto de Gobi y Taklamaken (An et al., 2013). Sin embargo, han sido reportados en otro tipo de suelos, Armatimonadetes en suelos contaminados con bifenilos policlorados (Nogales et al., 2001), rizósfera de *Pinus contorta* (Chow et al., 2002), suelos calentados geotérmicamente (Stott et al., 2008, Lee et al., 2011) y en cultivos (Im et al., 2012). En el caso de Saccharibacteria, en suelos de jardín (Ferrari et al., 2005), bosque templado (Lesaulnier et al., 2008), bosque tropical (Borneman y Triplett, 1997; Hugenholtz et al., 2001) y regiones polares (Winsley et al., 2014). El hecho de que no se hayan reportado en gran medida, puede deberse a que son grupos que no se habían logrado cultivar hasta hace algunos años, por lo que anteriormente eran referidos como grupos candidatos OP10 y TM7, ahora denominados como Armatimonadetes y Saccharibacteria, respectivamente. Prueba de ello es que en los estudios mencionados, el nombre con el que se manejan es el correspondiente a su candidatura, es probable que en otros estudios estuvieran incluidos en los “no clasificados”.

Es importante resaltar que hay características propias y específicas de cada grupo de microorganismos que explican por qué se pueden encontrar en suelos de zonas áridas. Por ejemplo, algunos son asociados a sitios oligotróficos, como Acidobacteria (Fierer et al., 2007; Kielak et al., 2016), Armatimonadetes (Lee et al., 2014), Verrucomicrobia (DaRocha et al., 2010; Senechkin et al., 2010; Bergmann et al., 2011) y Gemmatimonadetes (Zhou et al., 2007; Cockell et al., 2009), con respecto a este último grupo microbiano, podría deberse también a su alta tolerancia a la desecación (DeBruyn et al., 2011).

De manera contraria, otros grupos son reportados como copiótrofos, como Bacteroidetes y Proteobacteria (Fierer et al., 2007), por lo tanto, al correlacionarse positivamente con el carbono, es común encontrarlos asociados a las plantas, como en la presente investigación.

Ciertos grupos no sólo tienen preferencia por las condiciones en la rizósfera, sino que además tienen características que permiten su supervivencia al interactuar con las plantas. Por ejemplo, aunque en este estudio Actinobacteria prefirió los interespacios, también presentó una alta abundancia en la rizósfera, esto puede deberse a que hay grupos que son fijadores de nitrógeno, otros ofrecen protección contra fitopatógenos, y algunos rompen las células de las plantas para obtener nutrientes (Hodgson, 2000; Nadeem et al., 2007; Saul-Tcherkas et al., 2011). Firmicutes también presenta miembros que son promotores del crecimiento de las plantas, que fijan nitrógeno y solubilizan fósforo (Francis et al., 2010; Marasco et al., 2012), aunque al igual que Actinobacteria, este grupo presentó una preferencia por los interespacios. En el caso de los Gemmatimonadetes, estas bacterias han sido reportadas con la habilidad de acumular fósforo (Zhang et al., 2003) y este grupo sí se presentó ligeramente en mayor abundancia debajo del agave, donde los nutrientes se encuentran en mayor disponibilidad y podrían ser acumulados. A las Proteobacteria no sólo les gusta el carbono, también tienen la capacidad de fijar nitrógeno (Fischer, 1994). Los Armatimonadetes también han sido reportados en la rizósfera de las plantas (Im et al., 2012) y en suelos con altas temperaturas (Stott et al., 2008, Lee et al., 2011), lo que indica características que le permiten adaptarse a las zonas áridas.

Aunado a esto, algunos grupos microbianos también presentan estrategias que les permiten sobrevivir en esta clase de ambientes como Actinobacteria, ya que algunos miembros de este phylum forman esporas, las cuales sirven para reproducirse bajo condiciones más favorables (Madigan et al., 2009; Köberl et al., 2011; Marasco et al., 2012), pueden entrar en un estado de dormancia (Gengenbacher y Kaufmann, 2012; Kavamura et al., 2013), característica compartida con Cyanobacteria (Madigan et al., 1997), y son bacterias filamentosas (Atlas y Bartha, 1997; Flärdh y Buttne, 2009), rasgo también presentado por

Chloroflexi (Garrrity et al., 2006). Cyanobacteria y algunos miembros del grupo Chloroflexi son fototróficas (Madigan et al., 1997; Hanada, 2014), rasgo que las ayuda a soportar alta radiación solar. Además, Cyanobacteria tiene la habilidad de habitar suelos con bajo contenido de nitrógeno (Torres-Cortés et al., 2011) y Chloroflexi lleva a cabo fijación de carbono (Caldwell et al., 2007), por lo que el bajo contenido de nutrientes no es impedimento para su supervivencia. De hecho, ambos grupos microbianos presentaron un ligero aumento en su abundancia en los interespacios. Miembros del grupo Firmicutes forman endoesporas que permiten su supervivencia por periodos extensos de tiempo bajo condiciones ambientales extremas (Chen y Alexander, 1973; Benardini et al., 2003; Dworkin et al., 2007; Bachar et al., 2010; Griffiths y Philippot, 2013) y Planctomycetes presenta tolerancia a ambientes hipersalinos (Liang et al., 2007; Isenbarger et al., 2008; Dillon et al., 2009). Por último, las bacterias también pueden ser buenas competidoras, por ejemplo, algunos grupos producen antibióticos como Actinobacteria (Lechevalier y Lechevalier, 1967; Ventura et al., 2007) y Firmicutes, que además de antibióticos, producen exopolisacáridos (Lal y Tabacchioni, 2009; Marasco et al., 2012).

El hecho de que la composición microbiana reportada de manera general en el suelo de zonas áridas sea similar, indica que la planta no es el único factor de selección de la comunidad y se ha visto en numerosos estudios, que serán abordados posteriormente, que las propiedades fisicoquímicas del suelo ejercen influencia sobre ésta. En la presente investigación se observó que las propiedades fisicoquímicas que tienen una mayor influencia en la composición y estructura de la comunidad microbiana fueron el pH, la CE, humedad, MO y la relación C/N. Al respecto de estas propiedades, la conductividad eléctrica, materia orgánica y la humedad se encuentran relacionadas, como se puede ver en las medias reportadas, cuando una de estas propiedades aumenta, las demás también, lo que se debe a que como fue mencionado anteriormente, entre más materia orgánica esté presente, mayor será la capacidad de retener cationes y el agua, actúa como un medio solubilizador de iones y conductor (Kamprath y Welch, 1962; Helling et al., 1964; Thomas y Hargrove, 1984). Aunado a esto, ha sido varias veces reportado que el pH y la MO se correlacionan, ya que esta última tiene un efecto acidificante

por su proceso de descomposición (Waddington, 1969; Van Breemen et al., 1983; Thomas y Hargrove, 1984; Zapata, 2004; Bloom et al., 2005; Goulding, 2016).

El pH del suelo es una de las variables ambientales más reportadas como factor de selección de las comunidades o de algunos grupos microbianos (Fierer y Jackson, 2006; Wakelin et al., 2008; Clark et al., 2009; Bachar et al., 2010; Andrew et al., 2012; Lançon et al., 2013). Seguido por el contenido de humedad y materia orgánica en el suelo (Angel et al., 2010; Bachar et al., 2010; Saul-Tcherkas y Steinberger, 2011; Andrew et al., 2012; Pasternak et al., 2013). A diferencia de estas propiedades, la CE y la relación C/N han sido reportadas pocas veces; en el caso de la CE se ha señalado dos veces en zonas áridas (Bachar et al., 2010; Andrew et al., 2012) y la relación C/N sólo ha sido reportada una vez por An et al. (2013), estudio en el que mencionan que la riqueza de especies se vio influenciada por esta propiedad. En este estudio se hizo presente esta relación debido a las condiciones de Cuatro Ciénegas, ya que ha sido reportado previamente que las comunidades microbianas son influenciadas por la alta salinidad (Pajares et al., 2016) y las condiciones oligotróficas (Tapia-Torres et al., 2015), características que se relacionan directamente con la conductividad eléctrica y la relación C/N.

Hasta ahora se ha discutido cómo se ve afectada la comunidad microbiana en general, sin embargo, los análisis mostraron que algunos grupos se correlacionaron de manera específica con propiedades fisicoquímicas particulares. En este sentido, Bachar et al. (2010) mencionan una correlación positiva entre Bacteroidetes y Gemmatimonadetes con la materia orgánica, este último grupo también presenta una correlación positiva con la humedad. También mencionan una correlación negativa entre Chloroflexi y el contenido de fósforo en el suelo, así como afinidad del grupo Acidobacteria con el amonio y el fósforo. Estos resultados son similares a los encontrados en el presente estudio, sin embargo, las correlaciones referentes a los grupos Acidobacteria y Chloroflexi, en este caso no fueron estadísticamente significativas. Andrew et al. (2012), mencionan una correlación entre el pH y el grupo de las Acidobacteria, aunque no mencionan de qué tipo era la correlación, en esta investigación se encontró una correlación negativa, lo que ha sido reportado por otros investigadores (Sait et al., 2006). Aunado a esto, se

encontró una correlación positiva entre la humedad y el phylum Proteobacteria, así como una correlación negativa entre esta propiedad y los phyla Actinobacteria y Cyanobacteria, correlación que también es reportada por otros investigadores (Bachar et al., 2010; Pasternak et al., 2013; Torres-Cortés et al., 2023; Taketani et al., 2015).

Algunos estudios reportan diferencias en las propiedades fisicoquímicas según la estación en la que fue tomada la muestra (Aguilera et al., 1999; Saul-Tcherkas y Steinberger, 2011), patrón encontrado en la presente investigación, en secas hay una separación marcada entre las muestras de la rizósfera y las de interespacio, mientras que en lluvias, las muestras se agrupan y mezclan más. Lo anterior puede deberse a que hubo mayor precipitación en época de lluvias, lo que homogeneizó las condiciones del suelo. En varios de estos estudios donde se menciona la influencia de la humedad en el suelo, se suele relacionar con un aumento de precipitación debido a la temporada (Torres-Cortés et al., 2012; Kavamura et al., 2013; Taketani et al., 2015). Aguilera et al., (1999), mencionan un aumento en el porcentaje de MO y en las concentraciones de nitrógeno total y fósforo, así como una disminución en los valores de la CE, cuando hubo mayor precipitación. Estas propiedades fisicoquímicas, tuvieron la misma respuesta en la presente investigación.

Otros estudios también reportan cambios en la composición y estructura de la comunidad microbiana por efecto de la temporada (Aguilera et al., 1999; Saul-Tcherkas y Steinberger, 2011; Lançon et al., 2013; Postma et al., 2016). En esta investigación, aunque la estación no fue el factor más influyente, el análisis NMDS mostró que las muestras pertenecientes a los interespacios, presentaban una diferenciación según si habían sido tomadas en temporada de secas o de lluvias. En algunos estudios se menciona que durante la época de secas no se aprecia una diferenciación entre las muestras tomadas en la rizósfera de la planta de estudio, ni en los interespacios (Torres-Cortés et al., 2012; Kavamura et al., 2013; Lançon et al., 2013; Taketani et al., 2015). Kavamura et al. (2013) explican este fenómeno diciendo que la presión ejercida en época de secas es tal, que se elimina el efecto de la rizósfera, sin embargo, aquí se observó el efecto contrario, es decir, las

condiciones debajo del agave se mantienen tan estables, que no permiten que la temporada ejerza presión sobre las comunidades de microorganismos. Es probable que la diferencia entre los resultados obtenidos en este estudio y los reportados por estos autores se deba a que las especies de plantas elegidas por ellos son estructuralmente distintas al *Agave lechuguilla*. Dichos trabajos analizan la microbiota de un cactus columnar, dos árboles y una *Mammillaria*, en estas especies, el suelo que se encuentra debajo de las plantas está más expuesto al sol y por lo tanto a la evaporación. En contraste, los agaves forman manchones de varios individuos y cada uno se encuentra al ras del suelo, lo que permite una mayor concentración de exudados y humedad, manteniendo las condiciones más estables.

En los estudios previamente hechos en agaves, se ha reportado una influencia de la temporada únicamente en las comunidades de la endósfera (Coleman-Derr et al., 2015). Es probable que las comunidades endófitas sean más sensibles a las variaciones fisiológicas de la planta debido a la estacionalidad, sin embargo, estos cambios pueden no ser lo suficientemente marcados como para reflejarse en la composición de los exudados radicales, y por lo tanto, no se observan cambios significativos en la composición de la microbiota rizosférica.

Con respecto a los géneros que presentaron diferencias significativas por estación, se encuentran *Acidobacteria* perteneciente al subgrupo 6 y *Pseudonocardia*, para estos grupos ha sido reportado que pueden consumir una gran variedad de sustratos orgánicos (Henssen, 1957; Huber et al., 2016), en temporada de lluvias que es cuando aumenta su abundancia, también existe un aumento en el porcentaje de MO, lo que podría explicar el incremento en su abundancia. Por otra parte, el género *Steroidobacter* está conformado por algunos miembros desnitrificantes (Fahrbach et al., 2008), y en los resultados referentes a las propiedades fisicoquímicas, se observó un cambio en aquellas relacionadas con el nitrógeno, lo que sugiere un aumento en la actividad microbiana de grupos asociados al ciclo del nitrógeno en época de lluvias, *Steroidobacter* podría ser un ejemplo de esto. El grupo de las Kallotenuales presentó un aumento en su abundancia en época de secas y como se mencionó anteriormente, en los

interespacios, al ser bacterias filamentosas (Cole et al., 2013), son capaces de adaptarse a estas condiciones adversas.

Los factores hasta ahora descritos que moldean a la comunidad microbiana pueden influir en cómo las distintas poblaciones de microorganismos interactúan entre ellas, ya sea de manera positiva o negativa. Los análisis de co-ocurrencia pueden ser una manera de identificar interacciones, múltiples estudios basados en este método han sugerido interacciones entre grupos de microorganismos. Saul-Tcherkas y Steinberger (2011), en su estudio realizado en el desierto de Negev (Israel), mencionan una interacción positiva entre el grupo Gemmatimonadetes con Acidobacteria y una correlación negativa entre Bacteroidetes y Chloroflexi. En esta investigación sucedió lo mismo, sin embargo, en el caso de Acidobacteria y Gemmatimonadetes, la correlación fue significativa exclusivamente en el análisis por estación y no entre rizósfera e interespacios. Del mismo modo, el antagonismo entre Bacteroidetes y Chloroflexi, solamente fue significativo en época de secas. Similar es el caso de la correlación positiva entre Acidobacteria con Proteobacteria y Verrucomicrobia (estadísticamente significativa únicamente en condiciones de temporada). La interacción entre Acidobacteria y Proteobacteria ha sido mencionada en repetidas ocasiones (Meisinger et al, 2007; Barberán et al., 2012; Kielak et al., 2016; Shi et al., 2016), incluso se cree que las Acidobacteria pueden estar utilizando el carbono fijado por las Proteobacteria (Meisinger et al., 2007).

No obstante, dichos análisis de co-ocurrencia presentan una limitación, ya que los patrones de co-ocurrencia de dos grupos de organismos pueden generarse no solamente por las interacciones entre ellos, sino también por sus preferencias de hábitat. Un ejemplo de esto es el fenómeno de co-ocurrencia entre Gemmatimonadetes y Planctomycetes, el cual ha sido reportado en otros estudios (Drees et al., 2006; Oren, 2014), en los que se sugiere que la presencia de ambos, no necesariamente se debe a una interacción directa entre estos grupos, sino que puede ser por su afinidad por ambientes pobres en nutrientes.

Otra de las limitaciones de los análisis de co-ocurrencia es que, la presencia o ausencia de la significancia de estas interacciones, se puede deber a algún

cambio en las propiedades fisicoquímicas del suelo o ser producto del cambio de estación, distinguir el efecto de cada factor es muy difícil de detectar por este tipo de análisis. Además cabe recalcar que el análisis hecho a nivel de phyla enmascara la respuesta de grupos microbianos particulares tanto a las interacciones con otros microorganismos como a las propiedades fisicoquímicas. En los resultados de la presente investigación, en todas las condiciones, se encontró un antagonismo muy fuerte entre el phylum Actinobacteria con los phyla Proteobacteria y Bacteroidetes (Xu et al., 2014), el cual puede deberse, a como ya fue mencionado, a una preferencia por los interespacios de parte de Actinobacteria y de la rizósfera en el caso de Proteobacteria. Por lo tanto, debido a estas diferencias, cuando la abundancia relativa de un grupo aumenta, la abundancia del otro disminuye. Del mismo modo, en el caso de Bacteroidetes aunque no hay reportes de que se encuentra en mayor abundancia en la rizósfera de plantas de zonas áridas, en nuestros resultados se puede observar que la abundancia relativa de este grupo aumenta un poco más del doble en la rizósfera en comparación con los interespacios (4.8% y 2.1%, respectivamente). Además de que se ha mencionado que su abundancia relativa aumenta en condiciones de mayor humedad (Saul-Tcherkas y Steinberger, 2011; Kavamura et al., 2013) y materia orgánica (Bachar et al., 2010), propiedades fisicoquímicas con las que este grupo también se ve correlacionado positivamente en nuestros resultados, a diferencia de Actinobacteria que presenta una correlación negativa con ellas.

Asimismo, encontramos una fuerte y persistente correlación positiva entre Bacteroidetes con Proteobacteria y Verrucomicrobia. Shi et al. (2016) reportan en un estudio que realizaron con muestras de rizósfera e interespacio, la correlación entre Bacteroidetes y Proteobacteria. De la misma manera, Barberán et al., (2012), reportaron la co-ocurrencia de los tres phyla en un estudio que hicieron con muestras de diferentes tipos de suelos, ecosistemas y climas del continente americano y de la Antártica. El hecho de que estas interacciones positivas ocurran de manera “universal” bajo todas esas condiciones distintas, podría indicar que no es resultado únicamente de la preferencia por ciertas propiedades fisicoquímicas del suelo o clima, sino que puede existir una asociación real entre estos grupos.

5. Consideraciones finales

Con este trabajo fue posible comprobar nuestra hipótesis, la comunidad de microorganismos del suelo en zonas áridas está siendo seleccionada mediante diversos factores abióticos y bióticos, siendo el principal elemento de selección el hábitat de los microorganismos, es decir, la rizósfera o los interespacios. Asimismo, el pH, la conductividad, la materia orgánica, la humedad y la relación C/N, influyen a la comunidad microbiana. De cualquier forma, es importante notar que no es sólo un factor aislado, es decir, únicamente el efecto de la rizósfera, o de las propiedades fisicoquímicas, la temporada o los miembros de la comunidad microbiana, se observó que en mayor o menor grado, todas las variables actúan en conjunto afectando la composición y estructura de las comunidades.

Este trabajo tiene áreas de oportunidad, por un lado, valdría la pena hacer los muestreos bajo las condiciones climáticas más intensas, ya que en el presente estudio, representan la condición de la comunidad microbiana al final de cada temporada, es por ello que el efecto de la estacionalidad pudo haberse visto atenuado. Para un próximo muestreo sería recomendable hacerlo en febrero, cuando hace mucho frío y en junio o julio, cuando hace mucho calor. También sería importante medir temperatura y humedad directamente del suelo donde se toma la muestra con la finalidad de hacer un análisis más específico de cómo estas variables afectan directamente a las comunidades microbianas.

Aunado a esto, el nivel taxonómico al que se hizo este estudio también puede influir en las conclusiones, nosotros a pesar de que hicimos todos los análisis a nivel de phyla, familia y género, para el análisis final nos quedamos con los datos obtenidos para los phyla y algunos géneros seleccionados bajo diferentes criterios, esto debido al tiempo disponible señalado por el posgrado para realizar el trabajo de investigación. Hacerlo todo a un nivel taxonómico más fino, como lo es a nivel de género, requiere invertir más tiempo en el análisis de sus capacidades funcionales y de adaptación al hábitat por el aumento en la cantidad de grupos que deben investigarse, además de que existe la limitación sobre la información disponible correspondiente a cada uno de ellos.

Por último, el análisis de correlación entre los grupos de microorganismos no permite saber con seguridad si es directamente una interacción entre ellos o si están influyendo otras variables. Es por ello que sería útil construir redes de interacción a nivel de género para hacerlo más específico y tomar correlaciones significativas muy altas, es decir, cercanas al 1 o -1, esto con la finalidad de seleccionar interacciones fuertes y aumentar el nivel de confianza, teniendo mayor seguridad para concluir que las interacciones entre los microorganismos son reales (Lupatini et al., 2014).

Si bien este trabajo puede ser mejorado, fueron tomados en cuenta varios factores tanto abióticos como bióticos, así como la interacción entre estos, cosa que no se ha hecho en muchos otros estudios en los que más bien analizan solo uno o dos de estos factores. También es un aporte importante, tanto para el ámbito ecológico de las zonas áridas como de los microorganismos. Muchas veces en estas regiones áridas se cree que existe una baja diversidad o que la actividad microbiana es muy baja y poco variable, cuando al contrario, debido a las características que presentan pueden encontrarse situaciones únicas. Incluso para el sitio de Cuatro Ciénegas también representa un aporte, ya que la mayoría de los estudios de microorganismos realizados en este valle, se encuentran enfocados a aquellos presentes en el agua y no en el suelo, en especial la rizósfera. Con respecto a los microorganismos, gracias a este tipo de investigaciones, se está empezando a ver un patrón de cuáles son los factores de selección más sobresalientes, tanto generales (sin importar clima, ecosistema, etc.), como particulares a cada grupo de organismos en las zonas áridas, siendo de utilidad para trabajos futuros, que pueden ir desde favorecer el cultivo de especies que aún no han podido ser aisladas tomando en cuenta las características fisicoquímicas que favorecen o perjudican ciertos grupos microbianos, hasta inclusive entender procesos ecológicos en la estructuración de las comunidades microbianas.

6. Referencias

- Abell, R. A. (2000). *Freshwater ecoregions of North America: a conservation assessment* (Vol. 2). Island Press.
- Aguilera, L. E., Gutiérrez, J. R., & Meserve, P. L. (1999). Variation in soil micro-organisms and nutrients underneath and outside the canopy of *Adesmia bedwellii* (Papilionaceae) shrubs in arid coastal Chile following drought and above average rainfall. *Journal of Arid Environments*, 42(1), 61-70.
- Alcaraz, L. D., Olmedo, G., Bonilla, G., Cerritos, R., Hernández, G., Cruz, A., ... & López, V. (2008). The genome of *Bacillus coahuilensis* reveals adaptations essential for survival in the relic of an ancient marine environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(15), 5803-5808.
- Alfano, J. R., & Collmer, A. (1996). Bacterial pathogens in plants: life up against the wall. *The Plant Cell*, 8(10), 1683.
- Andrew, D. R., Fitak, R. R., Munguia-Vega, A., Racolta, A., Martinson, V. G., & Dontsova, K. (2012). Abiotic factors shape microbial diversity in Sonoran Desert soils. *Applied and environmental microbiology*, 78(21), 7527-7537.
- Angel, R., Soares, M. I. M., Ungar, E. D., & Gillor, O. (2010). Biogeography of soil archaea and bacteria along a steep precipitation gradient. *The ISME journal*, 4(4), 553-563.
- An, S., Couteau, C., Luo, F., Neveu, J., & DuBow, M. S. (2013). Bacterial diversity of surface sand samples from the Gobi and Taklamaken deserts. *Microbial ecology*, 66(4), 850-860.
- Arriaga, L., J.M. Espinoza, C. Aguilar, E. Martínez, L. Gómez y E. Loa (coordinadores). 2000. Regiones terrestres prioritarias de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México.
- Atlas, R. M., & Bartha, R. (1997). Microbial ecology and environmental microbiology. Principles of microbiology. Edited by JE Fishback. Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, 769-782.
- Bachar, A., Al-Ashhab, A., Soares, M. I. M., Sklarz, M. Y., Angel, R., Ungar, E. D., & Gillor, O. (2010). Soil microbial abundance and diversity along a low precipitation gradient. *Microbial Ecology*, 60(2), 453-461.
- Bachar, A., Soares, M. I. M., & Gillor, O. (2012). The effect of resource islands on abundance and diversity of bacteria in arid soils. *Microbial Ecology*, 63(3), 694-700.
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57, 233-266.
- Barberán, A., Bates, S. T., Casamayor, E. O., & Fierer, N. (2012). Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities. *The ISME journal*, 6(2), 343.

- Bardgett, R. D., Bowman, W. D., Kaufmann, R., & Schmidt, S. K. (2005). A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends in ecology & evolution*, 20(11), 634-641.
- Barns, S. M., Cain, E. C., Sommerville, L., & Kuske, C. R. (2007). Acidobacteria phylum sequences in uranium-contaminated subsurface sediments greatly expand the known diversity within the phylum. *Applied and environmental microbiology*, 73(9), 3113-3116.
- Barns, S. M., Takala, S. L., & Kuske, C. R. (1999). Wide distribution and diversity of members of the bacterial kingdom Acidobacterium in the environment. *Applied and environmental microbiology*, 65(4), 1731-1737.
- Bashan, Y., Puente, M. E., Rodriguez-Mendoza, M. N., Toledo, G., Holguin, G., Ferrera-Cerrato, R., & Pedrin, S. (1995). Survival of *Azospirillum brasilense* in the Bulk Soil and Rhizosphere of 23 Soil Types. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(5), 1938-1945.
- Bashan, Y., Salazar, B. G., Moreno, M., Lopez, B. R., & Linderman, R. G. (2012). Restoration of eroded soil in the Sonoran Desert with native leguminous trees using plant growth-promoting microorganisms and limited amounts of compost and water. *Journal of environmental management*, 102, 26-36.
- Bell, G. (2008). *Selection: the mechanism of evolution*. Oxford University Press on Demand.
- Benardini, J. N., Sawyer, J., Venkateswaran, K., & Nicholson, W. L. (2003). Spore UV and acceleration resistance of endolithic *Bacillus pumilus* and *Bacillus subtilis* isolates obtained from Sonoran desert basalt: implications for lithopanspermia. *Astrobiology*, 3(4), 709-717.
- Bergmann, G. T., Bates, S. T., Eilers, K. G., Lauber, C. L., Caporaso, J. G., Walters, W. A., ... & Fierer, N. (2011). The under-recognized dominance of Verrucomicrobia in soil bacterial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(7), 1450-1455.
- Berlanga, C., González, L. A., & Franco, L. H. (1992). Metodología para la evaluación y manejo de lechuguilla en condiciones naturales. Folleto técnico, (1).
- Bloom, P. R., Skyllberg, U. L., & Sumner, M. E. (2005). Soil acidity. *Chemical processes in soils, (chemicalprocess)*, 411-459.
- Blossfeld, S., Schreiber, C. M., Liebsch, G., Kuhn, A. J., & Hinsinger, P. (2013). Quantitative imaging of rhizosphere pH and CO₂ dynamics with planar optodes. *Annals of botany*, 112(2), 267-276.
- Borneman, J., & Triplett, E. W. (1997). Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. *Applied and environmental microbiology*, 63(7), 2647-2653.

- Bowers, R. M., Sullivan, A. P., Costello, E. K., Collett, J. L., Knight, R., & Fierer, N. (2011). Sources of bacteria in outdoor air across cities in the midwestern United States. *Applied and environmental microbiology*, 77(18), 6350-6356.
- Buckley, D. H., & Schmidt, T. M. (2003). Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems. *Environmental Microbiology*, 5(6), 441-452.
- Buyanovsky, G., Dicke, M., & Berwick, P. (1982). Soil environment and activity of soil microflora in the Negev Desert. *Journal of Arid Environments*.
- Caldwell, P. E., MacLean, M. R., & Norris, P. R. (2007). Ribulose biphosphate carboxylase activity and a Calvin cycle gene cluster in *Sulfobacillus* species. *Microbiology*, 153(7), 2231-2240.
- Carareto, A. L. M., de Souza, J. A. M., de Mello Varani, A., & de Macedo Lemos, E. G. (2014). The family rhizobiaceae. In *The Prokaryotes* (pp. 419-437). Springer Berlin Heidelberg.
- Casillas, F. R., Cardenas, A. O., Morales, C. R., Star, M. J. V., & Cruz-Vega, D. E. (2012). Cytotoxic activity of *Agave lechuguilla* Torr. *African Journal of Biotechnology*, 11(58), 12229-12231.
- Castillo-Quiroz, D., Martinez-Burciaga, O. U., Ríos-González, L. J., Rodríguez-de la Garza, J. A., Morales-Martínez, T. K., Castillo-Reyes, F., & Avila-Flores, D. Y. (2014). Determinación de Áreas Potenciales para Plantaciones de *Agave lechuguilla* Torr. para la Producción de Etanol Identification of Potential Areas for the Establishment of Plantation of *Agave lechuguilla* Torr. to Production of Ethanol. *Revista Científica*, 6(12).
- Castillo Quiroz, D., Sáenz Reyes, J., Narcia Velasco, M., & Vázquez Ramos, J. A. (2013). Propiedades físico-mecánicas de la fibra de *Agave lechuguilla* Torr. de cinco procedencias bajo plantaciones. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 4(19), 78-91.
- Castro Franco, R. (1994). *Desarrollo de un bioinsecticida a partir de Bacillus thuringiensis y extracto de Agave lechuguilla para el control de Spodoptera frugiperda (JB Smith)* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Castro-Franco, R., Meza-Herrera, C. A., Contreras-Quiróz, M. D. R., & Santos-García, J. (2001). Uso de Fitoextractos en el Control del Crecimiento in vitro de bacterias Enteropatógenas. *Revista Chapingo Serie Zonas Aridas*, 96, 99.
- Cerritos, R., Vinuesa, P., Eguiarte, L. E., Herrera-Estrella, L., Alcaraz-Peraza, L. D., Arvizu-Gomez, J. L., ... & Souza, V. (2008). *Bacillus coahuilensis* sp. nov., a moderately halophilic species from a desiccation lagoon in the Cuatro Ciénegas Valley in Coahuila, Mexico. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58(4), 919-923.
- Challis, G. L., & Hopwood, D. A. (2003). Synergy and contingency as driving forces for the evolution of multiple secondary metabolite production by *Streptomyces* species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(2), 14555-14561.

- Chanal, A., Chapon, V., Benzerara, K., Barakat, M., Christen, R., Achouak, W., ... & Heulin, T. (2006). The desert of Tataouine: an extreme environment that hosts a wide diversity of microorganisms and radiotolerant bacteria. *Environmental Microbiology*, 8(3), 514-525.
- Chen, M., & Alexander, M. (1973). Survival of soil bacteria during prolonged desiccation. *Soil Biology and Biochemistry*, 5(2), 213-221.
- Chen, M. Y., Wu, S. H., Lin, G. H., Lu, C. P., Lin, Y. T., Chang, W. C., & Tsay, S. S. (2004). *Rubrobacter taiwanensis* sp. nov., a novel thermophilic, radiation-resistant species isolated from hot springs. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 54(5), 1849-1855.
- Chesson, P. (2000). Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual review of Ecology and Systematics*, 343-366.
- Chin, K. J., Liesack, W., & Janssen, P. H. (2001). *Opiritatus terrae* gen. nov., sp. nov., to accommodate novel strains of the division 'Verrucomicrobia' isolated from rice paddy soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(6), 1965-1968.
- Chow, M. L., Radomski, C. C., McDermott, J. M., Davies, J., & Axelrood, P. E. (2002). Molecular characterization of bacterial diversity in Lodgepole pine (*Pinus contorta*) rhizosphere soils from British Columbia forest soils differing in disturbance and geographic source. *FEMS microbiology ecology*, 42(3), 347-357.
- Clark, J. S., Campbell, J. H., Grizzle, H., Acosta-Martínez, V., & Zak, J. C. (2009). Soil microbial community response to drought and precipitation variability in the Chihuahuan Desert. *Microbial Ecology*, 57(2), 248-260.
- Cockell, C. S., Olsson, K., Knowles, F., Kelly, L., Herrera, A., Thorsteinsson, T., & Marteinson, V. (2009). Bacteria in weathered basaltic glass, Iceland. *Geomicrobiology Journal*, 26(7), 491-507.
- Cole, G. A. (1984). Crustacea from the Bolsón of Cuatro Ciénegas, Coahuila, México. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science*, 3-12.
- Cole, J. K., Gieler, B. A., Heisler, D. L., Palisoc, M. M., Williams, A. J., Dohnalkova, A. C., ... & Hedlund, B. P. (2013). *Kallotenue papyrolyticum* gen. nov., sp. nov., a cellulolytic and filamentous thermophile that represents a novel lineage (Kallotenuales ord. nov., Kallotenuaceae fam. nov.) within the class Chloroflexia. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 63(12), 4675-4682.
- Coleman-Derr, D., Desgarennes, D., Fonseca-Garcia, C., Gross, S., Clingenpeel, S., Woyke, T. & Tringe, S. G. (2016). Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species. *New Phytologist*, 209(2), 798-811.
- Costacurta, A., & Vanderleyden, J. (1995). Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. *Critical reviews in microbiology*, 21(1), 1-18.

- Couillerot, O., Prigent-Combaret, C., Caballero-Mellado, J., & Moënne-Loccoz, Y. (2009). *Pseudomonas fluorescens* and closely-related fluorescent pseudomonads as biocontrol agents of soil-borne phytopathogens. *Letters in applied microbiology*, 48(5), 505-512.
- Da Rocha, U. N., Andreote, F. D., de Azevedo, J. L., van Elsas, J. D., & van Overbeek, L. S. (2010). Cultivation of hitherto-uncultured bacteria belonging to the Verrucomicrobia subdivision 1 from the potato (*Solanum tuberosum* L.) rhizosphere. *Journal of soils and sediments*, 10(2), 326-339.
- Darwin, C. (1859). *On the origin of the species by natural selection*.
- Davies, J., Poulsen, L., Schulte-Herbrüggen, B., Mackinnon, K., Crawhall, N., Henwood, W.D., Dudley, N., Smith, J. and Gudka, M. 2012. Conservación de la biodiversidad de las tierras áridas. xii +84p
- Davis, S. C., Dohleman, F. G., & Long, S. P. (2011). The global potential for Agave as a biofuel feedstock. *Gcb Bioenergy*, 3(1), 68-78.
- De Bary, A. (1879). *Die erscheinung der symbiose*. Verlag von Karl J. Trübner.
- DeBruyn, J. M., Nixon, L. T., Fawaz, M. N., Johnson, A. M., & Radosevich, M. (2011). Global biogeography and quantitative seasonal dynamics of Gemmatimonadetes in soil. *Applied and environmental microbiology*, 77(17), 6295-6300.
- Dennis, P. G., Miller, A. J., & Hirsch, P. R. (2010). Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities?. *FEMS microbiology ecology*, 72(3), 313-327.
- Desgarennes, D., Garrido, E., Torres-Gomez, M. J., Pena-Cabriaes, J. J., & Partida-Martinez, L. P. (2014). Diazotrophic potential among bacterial communities associated with wild and cultivated Agave species. *FEMS microbiology ecology*, 90(3), 844-857.
- Desnues, C., Rodriguez-Brito, B., Rayhawk, S., Kelley, S., Tran, T., Haynes, M., ... & Ruan, Y. (2008). Biodiversity and biogeography of phages in modern stromatolites and thrombolites. *Nature*, 452(7185), 340-343.
- De Souza, J. A. M., Carareto Alves, L.M., de Mello Varani, A., & de Macedo Lemos, E. G. (2014). The family bradyrhizobiaceae. In *The Prokaryotes* (pp. 135-177). Springer Berlin Heidelberg.
- Dewey, L. H. (1964). *Fibras vegetales y su producción en América*.
- Dillon, J. G., McMath, L. M., & Trout, A. L. (2009). Seasonal changes in bacterial diversity in the Salton Sea. *Hydrobiologia*, 632(1), 49-64.
- Dinger, E. (2001). *Aquatic invertebrates of Cuatro Ciénegas, Coahuila, México and effects of fish on stromatolite invertebrate assemblages* (Doctoral dissertation, Northern Arizona University).

- Dinger, E. C., Cohen, A. E., Hendrickson, D. A., & Marks, J. C. (2005). Aquatic invertebrates of Cuatro Ciénegas, Coahuila, México: natives and exotics. *The Southwestern Naturalist*, 50(2), 237-246.
- Dini-Andreote, F., Stegen, J. C., van Elsas, J. D., & Salles, J. F. (2015). Disentangling mechanisms that mediate the balance between stochastic and deterministic processes in microbial succession. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(11), E1326-E1332.
- Dinis, J. M., Barton, D. E., Ghadiri, J., Surendar, D., Reddy, K., Velasquez, F., ... & Smits, S. A. (2011). In search of an uncultured human-associated TM7 bacterium in the environment. *PLoS One*, 6(6), e21280.
- DiRuggiero, J., Wierzchos, J., Robinson, C. K., Souterre, T., Ravel, J., Artieda, O., ... & Ascaso, C. (2013). Microbial colonisation of chasmoendolithic habitats in the hyper-arid zone of the Atacama Desert. *Biogeosciences*, 10(4), 2439.
- Doane, T. A., & Horwath, W. R. (2003). Spectrophotometric determination of nitrate with a single reagent. *Analytical Letters*, 36(12), 2713-2722.
- Donovan, P. K., McDonald I.R., & Wood, A. P. (2014). The family methylobacteriaceae. In *The Prokaryotes* (pp. 313-340). Springer Berlin Heidelberg.
- Doornbos, R. F., van Loon, L. C., & Bakker, P. A. (2012). Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 227-243.
- Drees, K. P., Neilson, J. W., Betancourt, J. L., Quade, J., Henderson, D. A., Pryor, B. M., & Maier, R. M. (2006). Bacterial community structure in the hyperarid core of the Atacama Desert, Chile. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12), 7902-7908.
- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. H., & Stackebrandt, E. (2007). *The prokaryotes: a hand book on the biology of bacteria*. Archaea. Bacteria: Firmicutes. Actinomycetes, 3.
- Eguiarte, L. E., Souza, V., & Silva Montellano, A. (2000). Evolución de la familia Agavaceae: filogenia, biología reproductiva y genética de poblaciones. *Bol. Soc. Bot. Méx*, (66), 131-151.
- Elser, J. J., Schampel, J. H., Garcia-Picher F. E. R. R. A. N., Wade, B. D., Souza, V., Eguiarte, L., ... & Farmer, J. D. (2005). Effects of phosphorus enrichment and grazing snails on modern stromatolitic microbial communities. *Freshwater Biology*, 50(11), 1808-1825.
- Escalante, A. E., Caballero-Mellado, J., Martínez-Aguilar, L., Rodríguez-Verdugo, A., Gonzalez-Gonzalez, A., Toribio-Jimenez, J., & Souza, V. (2009). *Pseudomonas cuatrociénegasensis* sp. nov., isolated from an evaporating lagoon in the Cuatro Cienegas valley in Coahuila, Mexico. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59(6), 1416-1420.

- Fahrbach, M., Kuever, J., Remesch, M., Huber, B. E., Kämpfer, P., Dott, W., & Hollender, J. (2008). *Steroidobacter denitrificans* gen. nov., sp. nov., a steroidal hormone-degrading gammaproteobacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(9), 2215-2223.
- Ferjani, R., Marasco, R., Rolli, E., Cherif, H., Cherif, A., Gtari, M., ... & Ouzari, H. I. (2015). The date palm tree rhizosphere is a niche for plant growth promoting bacteria in the oasis ecosystem. *BioMed research international*, 2015.
- Ferrari, B. C., Binnerup, S. J., & Gillings, M. (2005). Microcolony cultivation on a soil substrate membrane system selects for previously uncultured soil bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 71(12), 8714-8720.
- Ferrari, B., Winsley, T., Ji, M., & Neilan, B. (2014). Insights into the distribution and abundance of the ubiquitous candidatus *Saccharibacteria* phylum following tag pyrosequencing. *Scientific reports*, 4.
- Fibras Saltillo. 2005. Fibras Saltillo <http://www.fibrassalttillo.com> (28 de junio de 2005).
- Fierer, N., Bradford, M. A., & Jackson, R. B. (2007). Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 88(6), 1354-1364.
- Fierer, N., & Jackson, R. B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(3), 626-631.
- Fischer, H. M. (1994). Genetic regulation of nitrogen fixation in rhizobia. *Microbiological reviews*, 58(3), 352-386.
- Flärdh, K., & Buttner, M. J. (2009). *Streptomyces* morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. *Nature reviews. Microbiology*, 7(1), 36.
- Flores M.S. (1986). Estudio citogenético de *Agave crassispina* Trel. y *Agave lechuguilla* Torr. en el municipio de Pinos, Zacatecas y en el municipio de Real de Catorce, San Luis Potosí, México. Tesis profesional. Escuela Nacional de Estudios Profesionales, UNAM. Los Reyes Iztacala, Méx. 124 p.
- Forster, J. C. (1995). Soil nitrogen. *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*, 79-87.
- Francis, I., Holsters, M., & Vereecke, D. (2010). The Gram-positive side of plant-microbe interactions. *Environmental Microbiology*, 12(1), 1-12.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2007). "Secuestro de Carbono En Tierras áridas." *Informes sobre Recursos Mundiales de Suelos* 102.
- Freeman, C. E. (1973). Some germination responses of lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.). *The Southwestern Naturalist*, 125-134.
- Freeman, C. E., Tiffany, R. S., & Reid, W. H. (1977). Germination responses of *Agave lechuguilla*, *A. parryi*, and *Fouquieria splendens*. *The Southwestern Naturalist*, 195-204.

- Freeman, C. E., & Reid, W. H. (1985). Aspects of the Reproductive Biology of Agave lechuguilla Torr. Desert Plants.
- García Naranjo Ortiz de la Huerta, A., & Mandujano, M. D. C. (2010). Patrón de distribución espacial y nodricismo del peyote (*Lophophora williamsii*) en Cuatrociénegas, México. *Cactáceas y succulentas mexicanas*, 55(2), 56-64.
- Garrity, G. (2006). Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume Two: The Proteobacteria, Part A Introductory Essays (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
- Garza de la Peña, F. E. (1985). *Comercialización y costos de producción del ixtle de lechuguilla* (No. Folleto 1406).
- Gengenbacher, M., & Kaufmann, S. H. (2012). Mycobacterium tuberculosis: success through dormancy. *FEMS microbiology reviews*, 36(3), 514-532.
- Gentry H.S. 1982. Agaves of continental North America. The University of Arizona Press, Tucson, Arizona, USA. 670 p.
- González, L. A., Valdés, J., Valdés, A., Gallegos, A., & Padilla, G. (1994). Pruebas de germinación en semillas de sotol (*Dasylirion cedrosasanum* Trel.) utilizando extractos secos de lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.) bajo condiciones de laboratorio. Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León.[internet]. Disponible en el sitio de red: <http://www.uaan.mx/DirInv/Rdos2003/Zaridas/sotol01.pdf>. [Revisado el 23 enero 2007].
- Goodfellow, M., & Williams, S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annual Reviews in Microbiology*, 37(1), 189-216.
- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H. J., Trujillo, M. E., Suzuki, K. I., Ludwig, W., & Whitman, W. B. (2012). *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume Five The Actinobacteria, Part A*. Springer New York.
- Goulding, K. W. T. (2016). Soil acidification and the importance of liming agricultural soils with particular reference to the United Kingdom. *Soil use and management*, 32(3), 390-399.
- Graham, P. H., & Vance, C. P. (2000). Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. *Field Crops Research*, 65(2), 93-106.
- Griffiths, B. S., & Philippot, L. (2013). Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS microbiology reviews*, 37(2), 112-129.
- Gupta, R. S., & Lorenzini, E. (2007). Phylogeny and molecular signatures (conserved proteins and indels) that are specific for the Bacteroidetes and Chlorobi species. *BMC evolutionary biology*, 7(1), 71.
- Haakensen, M., Dobson, C. M., Deneer, H., & Ziola, B. (2008). Real-time PCR detection of bacteria belonging to the Firmicutes Phylum. *International journal of food microbiology*, 125(3), 236-241.

- Hansen, S. K., Rainey, P. B., Haagensen, J. A., & Molin, S. (2007). Evolution of species interactions in a biofilm community. *Nature*, 445(7127), 533-536.
- Hanson, C. A., Fuhrman, J. A., Horner-Devine, M. C., & Martiny, J. B. (2012). Beyond biogeographic patterns: processes shaping the microbial landscape. *Nature Reviews Microbiology*, 10(7), 497-506.
- Hanada, S. (2014). The phylum Chloroflexi, the family Chloroflexaceae, and the related phototrophic families Oscillochloridaceae and Roseiflexaceae. In *The Prokaryotes* (pp. 515-532). Springer Berlin Heidelberg.
- Hanada, S., & Sekiguchi, Y. (2014). The phylum gemmatimonadetes. *The Prokaryotes: Other Major Lineages of Bacteria and The Archaea*, 677-681.
- Harrell, F.E. Jr, with contributions from Charles Dupont and many others. (2016). Hmisc: Harrell Miscellaneous. R package version 4.0-2. <https://CRAN.R-project.org/package=Hmisc>
- Helling, C. S., Chesters, G., & Corey, R. B. (1964). Contribution of organic matter and clay to soil cation-exchange capacity as affected by the pH of the saturating solution. *Soil Science Society of America Journal*, 28(4), 517-520.
- Henssen, A. (1957). Beiträge zur Morphologie und Systematik der thermophilen Actinomyceten. *Archives of Microbiology*, 26(4), 373-414.
- Hernández, R., Lugo, E. C., Díaz, L., & Villanueva, S. (2005). Extracción y cuantificación indirecta de las saponinas de Agave lechuguilla Torrey. *e-Gnosis*, (3).
- Hershler, R. (1985). Systematic revision of the Hydrobiidae (Gastropoda: Rissoacea) of the Cuatro Ciénegas Basin, Coahuila, Mexico. *Malacologia*, 26(1-2), 31-123.
- Hershler, R., Liu, H. P., & Lang, B. K. (2007). Genetic and morphologic variation of the Pecos assiminea, an endangered mollusk of the Rio Grande region, United States and Mexico (Caenogastropoda: Rissooidea: Assimineidae). *Hydrobiologia*, 579(1), 317-335.
- Hibbing, M. E., Fuqua, C., Parsek, M. R., & Peterson, S. B. (2010). Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nature reviews. Microbiology*, 8(1), 15.
- Hiltner, L. T. (1904). U neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Grundung und Brache. *Arb. Dtsch. Landwirt. Ges.*, 98, 59-78.
- Hinsinger, P., Plassard, C., Tang, C., & Jaillard, B. (2003). Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: a review. *Plant and soil*, 248(1-2), 43-59.
- Hodgson, D. A. (2000). Primary metabolism and its control in streptomycetes: a most unusual group of bacteria. *Advances in microbial physiology*, 42, 47-238.

- Huber, K. J., Geppert, A. M., Wanner, G., Fösel, B. U., Wüst, P. K., & Overmann, J. (2016). The first representative of the globally widespread subdivision 6 Acidobacteria, *Vicinamibacter silvestris* gen. nov., sp. nov., isolated from subtropical savannah soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(8), 2971-2979.
- Hugenholtz, P. (2002). Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. *Genome biology*, 3(2), reviews0003-1.
- Hugenholtz, P., Tyson, G. W., Webb, R. I., Wagner, A. M., & Blackall, L. L. (2001). Investigation of candidate division TM7, a recently recognized major lineage of the domain Bacteria with no known pure-culture representatives. *Applied and environmental microbiology*, 67(1), 411-419.
- Im, W. T., Hu, Z. Y., Kim, K. H., Rhee, S. K., Meng, H., Lee, S. T., & Quan, Z. X. (2012). Description of *Fimbriimonas ginsengisoli* gen. nov., sp. nov. within the *Fimbriimonadia* class nov., of the phylum *Armatimonadetes*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 102(2), 307-317.
- Isenbarger, T. A., Finney, M., Ríos-Velázquez, C., Handelsman, J., & Ruvkun, G. (2008). Miniprimer PCR, a new lens for viewing the microbial world. *Applied and environmental microbiology*, 74(3), 840-849.
- IUSS Working Group WRB. 2007. World reference base for soil resources, first update 2007. World Soil Resources Reports, 103. FAO, Rome.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P.R. B. O'Hara, G. L. Simpson, P. S., Stevens M. H. H. & Wagner, H. (2011). *vegan: Community Ecology Package*. R package version 1.17-9. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Jorquera, M. A., Shaharoon, B., Nadeem, S. M., de la Luz Mora, M., & Crowley, D. E. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria associated with ancient clones of creosote bush (*Larrea tridentata*). *Microbial ecology*, 64(4), 1008-1017.
- Joseph, S. J., Hugenholtz, P., Sangwan, P., Osborne, C. A., & Janssen, P. H. (2003). Laboratory cultivation of widespread and previously uncultured soil bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 69(12), 7210-7215.
- Juárez, C., Duran, A., Valdez, P., & Fajardo, G. (2007). Performance of "Agave lecheguilla" natural fiber in portland cement composites exposed to severe environment conditions. *Building and environment*, 42(3), 1151-1157.
- Kamprath, E. J., & Welch, C. D. (1962). Retention and cation-exchange properties of organic matter in coastal plain soils. *Soil Science Society of America Journal*, 26(3), 263-265.
- Kavamura, V. N., Taketani, R. G., Lançon, M. D., Andreote, F. D., Mendes, R., & de Melo, I. S. (2013). Water regime influences bulk soil and rhizosphere of *Cereus jamacaru* bacterial communities in the Brazilian Caatinga biome. *PloS one*, 8(9), e73606.

- Kawaichi, S., Ito, N., Kamikawa, R., Sugawara, T., Yoshida, T., & Sako, Y. (2013). *Ardenticatena maritima* gen. nov., sp. nov., a ferric iron-and nitrate-reducing bacterium of the phylum 'Chloroflexi' isolated from an iron-rich coastal hydrothermal field, and description of *Ardenticatena classis* nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 63(8), 2992-3002.
- Kazda, J., Pavlik, I., Falkinham III, J. O., & Hruska, K. (2010). *The ecology of mycobacteria: impact on animal's and human's health*. Springer Science & Business Media.
- Kelly, D. P., McDonald, I. R., & Wood, A. P. (2014). The family Methylobacteriaceae. In *The Prokaryotes* (pp. 313-340). Springer Berlin Heidelberg.
- Kennedy, N., Brodie, E., Connolly, J., & Clipson, N. (2006). Seasonal influences on fungal community structure in unimproved and improved upland grassland soils. *Canadian journal of microbiology*, 52(7), 689-694.
- Kielak, A. M., Barreto, C. C., Kowalchuk, G. A., van Veen, J. A., & Kuramae, E. E. (2016). The ecology of Acidobacteria: moving beyond genes and genomes. *Frontiers in microbiology*, 7.
- Kim, J. G., Park, B. K., Kim, S. U., Choi, D., Nahm, B. H., Moon, J. S., ... & Hwang, I. (2006). Bases of biocontrol: sequence predicts synthesis and mode of action of agrocin 84, the Trojan horse antibiotic that controls crown gall. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(23), 8846-8851.
- Kivlin, S. N., & Hawkes, C. V. (2016). Temporal and Spatial Variation of Soil Bacteria Richness, Composition, and Function in a Neotropical Rainforest. *PloS one*, 11(7), e0159131.
- Köberl, M., Müller, H., Ramadan, E. M., & Berg, G. (2011). Desert farming benefits from microbial potential in arid soils and promotes diversity and plant health. *PLoS One*, 6(9), e24452.
- Koschorreck, M., Geller, W., Neu, T., Kleinstaub, S., Kunze, T., Trosiener, A., & Wendt-Potthoff, K. (2010). Structure and function of the microbial community in an in situ reactor to treat an acidic mine pit lake. *FEMS microbiology ecology*, 73(2), 385-395.
- Kuehbach, T., Rehman, A., Lepage, P., Hellmig, S., Fölsch, U. R., Schreiber, S., & Ott, S. J. (2008). Intestinal TM7 bacterial phylogenies in active inflammatory bowel disease. *Journal of medical microbiology*, 57(12), 1569-1576.
- Kulichevskaya, I. S., Suzina, N. E., Liesack, W., & Dedysh, S. N. (2010). *Bryobacter aggregatus* gen. nov., sp. nov., a peat-inhabiting, aerobic chemo-organotroph from subdivision 3 of the Acidobacteria. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 60(2), 301-306.
- Kurahashi, M., Fukunaga, Y., Sakiyama, Y., Harayama, S., & Yokota, A. (2010). *Euzebya tangerina* gen. nov., sp. nov., a deeply branching marine actinobacterium isolated from the sea cucumber *Holothuria edulis*, and proposal of *Euzebyaceae* fam. nov., *Euzebyales* ord. nov. and *Nitriliruptoridae* subclassis nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 60(10), 2314-2319.

- Lal, S., & Tabacchioni, S. (2009). Ecology and biotechnological potential of *Paenibacillus polymyxa*: a minireview. *Indian Journal of Microbiology*, 49(1), 2.
- Lançon, M. D., Taketani, R. G., Kavamura, V. N., & de Melo, I. S. (2013). Microbial community biogeographic patterns in the rhizosphere of two Brazilian semi-arid leguminous trees. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(7), 1233-1241.
- Lara-Juárez, E. I., Treviño-Carreón, J., Drouaillet, B. E., Poot, W. A., Poot, V. V. T., & Ballesteros-Barrera, C (2016). Determinación de las especies nodriza de *Ferocactus pilosus* (Galeotti) Werderm (Cactaceae) en Miquihuana, Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*. 3(2), 184-194.
- Larose, C., Berger, S., Ferrari, C., Navarro, E., Dommergue, A., Schneider, D., & Vogel, T. M. (2010). Microbial sequences retrieved from environmental samples from seasonal Arctic snow and meltwater from Svalbard, Norway. *Extremophiles*, 14(2), 205-212.
- Lauber, C. L., Ramirez, K. S., Aanderud, Z., Lennon, J., & Fierer, N. (2013). Temporal variability in soil microbial communities across land-use types. *The ISME journal*, 7(8), 1641.
- Lawrence Long Limited. 2004. Tampico fiber (Mexican fiber) <http://www.lawrencelong.co.uk/tampico.html>. (25 de julio de 2005).
- Lechevalier, H. A., & Lechevalier, M. P. (1967). Biology of actinomycetes. *Annual Reviews in Microbiology*, 21(1), 71-100.
- Lee, K. C. Y., Dunfield, P. F., Morgan, X. C., Crowe, M. A., Houghton, K. M., Vyssotski, M., ... & Stott, M. B. (2011). *Chthonomonas calidirosea* gen. nov., sp. nov., an aerobic, pigmented, thermophilic micro-organism of a novel bacterial class, *Chthonomonadetes classis nov.*, of the newly described phylum *Armatimonadetes* originally designated candidate division OP10. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 61(10), 2482-2490.
- Lee, K. C., Dunfield, P. F., & Stott, M. B. (2014). The Phylum *Armatimonadetes*. In *The Prokaryotes* (pp. 447-458). Springer Berlin Heidelberg.
- Lesaulnier, C., Papamichail, D., McCorkle, S., Ollivier, B., Skiena, S., Taghavi, S., ... & Van Der Lelie, D. (2008). Elevated atmospheric CO₂ affects soil microbial diversity associated with trembling aspen. *Environmental Microbiology*, 10(4), 926-941.
- Liang, J. B., Chen, Y. Q., Lan, C. Y., Tam, N. F., Zan, Q. J., & Huang, L. N. (2007). Recovery of novel bacterial diversity from mangrove sediment. *Marine Biology*, 150(5), 739-747.
- López-Lozano, N. E., Eguiarte, L. E., Bonilla-Rosso, G., García-Oliva, F., Martínez-Piedragil, C., Rooks, C., & Souza, V. (2012). Bacterial communities and the nitrogen cycle in the gypsum soils of Cuatro Ciénegas Basin, Coahuila: a Mars analogue. *Astrobiology*, 12(7), 699-709.

- López-Lozano, N. E., Heidelberg, K. B., Nelson, W. C., García-Oliva, F., Eguiarte, L. E., & Souza, V. (2013). Microbial secondary succession in soil microcosms of a desert oasis in the Cuatro Ciénegas Basin, Mexico. *PeerJ*, 1, e47.
- Lozupone, C. A., & Knight, R. (2007). Global patterns in bacterial diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(27), 11436-11440.
- Lupatini, M., Suleiman, A. K., Jacques, R. J., Antoniolli, Z. I., de Siqueira Ferreira, A., Kuramae, E. E., & Roesch, L. F. (2014). Network topology reveals high connectance levels and few key microbial genera within soils. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 10.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (1997). *Brock biology of microorganisms* (Vol. 11). Upper Saddle River, NJ: Prentice hall.
- Magallán, H. E. F. (1998). *Las agaváceas de Querétaro* (Doctoral dissertation, Tesis profesional. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro).
- Marasco, R., Rolli, E., Ettoumi, B., Vigani, G., Mapelli, F., Borin, S., ... & Zocchi, G. (2012). A drought resistance-promoting microbiome is selected by root system under desert farming. *PLoS One*, 7(10), e48479.
- Marschner, H., Römheld, V., Horst, W. J., & Martin, P. (1986). Root-induced changes in the rhizosphere: Importance for the mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 149(4), 441-456.
- Martínez B. O. U.; A. Cano P. y C. A. Berlanga R. 2008. *La medición del clima y sus aplicaciones en las actividades agrícolas del estado de Coahuila*. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Saltillo. Folleto Técnico Núm. 38 Coahuila, México. 61 p.
- Martiny, J. B. H., Bohannan, B. J., Brown, J. H., Colwell, R. K., Fuhrman, J. A., Green, J. L., & Morin, P. J. (2006). Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Reviews Microbiology*, 4(2), 102-112.
- McCoy, C. J. (1984). Ecological and zoogeographic relationships of amphibians and reptiles of the Cuatro Ciénegas Basin. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science*, 49-59.
- McCully, M. (2005). The rhizosphere: the key functional unit in plant/soil/microbial interactions in the field. Implications for the understanding of allelopathic effects. In *Proceedings of the 4th World Congress on Allelopathy* (pp. 21-26).
- McKee, J. W., Jones, N. W., & Long, L. E. (1990). Stratigraphy and provenance of strata along the San Marcos fault, central Coahuila, Mexico. *Geological Society of America Bulletin*, 102(5), 593-614.
- Meisinger, D. B., Zimmermann, J., Ludwig, W., Schleifer, K. H., Wanner, G., Schmid, M., ... & Lee, N. M. (2007). In situ detection of novel Acidobacteria in microbial mats from a chemolithoautotrophically based cave ecosystem (Lower Kane Cave, WY, USA). *Environmental microbiology*, 9(6), 1523-1534.

- Meyer, E. R. (1973). Late-Quaternary Paleoeecology of the Cuatro Ciénegas Basin, Coahuila, Mexico. *Ecology*, 54(5), 982-995.
- Minckley, W. L. (1969). Environments of the Bolsón of Cuatro Ciénegas, Coahuila, México. Science Series, University of Texas, El Paso, Texas (2), 1-65.
- Minckley, W. L. (1984). Cuatro Ciénegas fishes: research review and a local test of diversity versus habitat size. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science*, 13-21.
- Miranda, K. M., Espey, M. G., & Wink, D. A. (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric oxide*, 5(1), 62-71.
- Morales-Luckie, R. A., Lopezfuentes-Ruiz, A. A., Olea-Mejía, O. F., Liliana, A. F., Sanchez-Mendieta, V., Brostow, W., & Hineostroza, J. P. (2016). Synthesis of silver nanoparticles using aqueous extracts of *Heterotheca inuloides* as reducing agent and natural fibers as templates: Agave lechuguilla and silk. *Materials Science and Engineering: C*, 69, 429-436.
- Muro-Pérez, G., Romero-Méndez, U., Flores-Rivas, J., & Sánchez-Salas, J. (2009). Algunos aspectos sobre el nodrizaje en *Astrophytum myriostigma* Lem (1839)(Cactae: Cactaceae), en la sierra El Sarnoso, Durango, México. *Boletín Nakari (México)*, 20, 43-48.
- Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M., & Arshad, M. (2007). Preliminary investigations on inducing salt tolerance in maize through inoculation with rhizobacteria containing ACC deaminase activity. *Canadian Journal of Microbiology*, 53(10), 1141-1149.
- Nakamura, K., Hiraishi, A., Yoshimi, Y., Kawaharasaki, M., Masuda, K., & Kamagata, Y. (1995). *Microlunatus phosphovorus* gen. nov., sp. nov., a new gram-positive polyphosphate-accumulating bacterium isolated from activated sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45(1), 17-22.
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M., Landi, L., Pietramellara, G., & Renella, G. (2003). Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*, 54(4), 655-670.
- Neilands, J. B. (1995). Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *Journal of Biological Chemistry*, 270(45), 26723-26726.
- Neilson, J. W., Quade, J., Ortiz, M., Nelson, W. M., Legatzki, A., Tian, F., ... & Maier, R. M. (2012). Life at the hyperarid margin: novel bacterial diversity in arid soils of the Atacama Desert, Chile. *Extremophiles*, 16(3), 553-566.
- Nemergut, D. R., Schmidt, S. K., Fukami, T., O'Neill, S. P., Bilinski, T. M., Stanish, L. F & Ferrenberg, S. (2013). Patterns and processes of microbial community assembly. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77(3), 342-356.
- Nicholson, A. J. (1954). An outline of the dynamics of animal populations. *Australian journal of Zoology*, 2(1), 9-65.
- Nobel, P. S., & Quero, E. (1986). Environmental productivity indices for a Chihuahuan desert CAM plant, Agave lechuguilla. *Ecology*, 67(1), 1-11.

- Nobel, P. S., Quero, E., & Linares, H. (1988). Differential growth responses of agaves to nitrogen, phosphorus, potassium, and boron applications. *Journal of plant nutrition*, 11(12), 1683-1700.
- Nogales, B., Moore, E. R., Llobet-Brossa, E., Rossello-Mora, R., Amann, R., & Timmis, K. N. (2001). Combined use of 16S ribosomal DNA and 16S rRNA to study the bacterial community of polychlorinated biphenyl-polluted soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(4), 1874-1884.
- Norma Oficial Mexicana, NOM-021-SEMARNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.
- Nowak, M. A. (2006). *Evolutionary dynamics*. Harvard University Press.
- Oren, A. (2014). *The Prokaryotes-Other Major Lineages of Bacteria and the Archaea*.
- Osman, J. R., Zelicourt, A. D., Bisseling, T., Geurts, R., Hirt, H., & DuBow, M. S. (2016, April). Bacterial Rhizosphere Biodiversity from Several Pioneer Desert Sand Plants Near Jizan, Saudi Arabia. In *The Open Conference Proceedings Journal* (Vol. 7, No. 1).
- Pajares, S., Escalante, A. E., Noguez, A. M., García-Oliva, F., Martínez-Piedragil, C., Cram, S. S., ... & Souza, V. (2016). Spatial heterogeneity of physicochemical properties explains differences in microbial composition in arid soils from Cuatro Ciénegas, Mexico. *PeerJ*, 4, e2459.
- Pankratova, E. M. (2006). Functioning of cyanobacteria in soil ecosystems. *Eurasian Soil Science*, 39, S118-S127.
- Parra Negrete, L. A., Villar Quiñones, P. D., & Prieto Rodríguez, A. (2010). Extracción de fibras de agave para elaborar papel y artesanías. *Acta universitaria*, 20(3).
- Pasternak, Z., Al-Ashhab, A., Gatica, J., Gafny, R., Avraham, S., Minz, D., ... & Jurkevitch, E. (2013). Spatial and temporal biogeography of soil microbial communities in arid and semiarid regions. *PLoS One*, 8(7), e69705.
- Perroni, Y., García-Oliva, F., & Souza, V. (2014). Plant species identity and soil P forms in an oligotrophic grassland–desert scrub system. *Journal of Arid Environments*, 108, 29-37.
- Pinkava, D. J. (1984). Vegetation and flora of the Bolsón of Cuatro Ciénegas Region, Coahuila, México: IV. Summary, endemism and corrected catalogue. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science*, 23-47.
- PNUMA. 1992. *World atlas of desertification*. Nairobi.
- Postma, A., Slabbert, E., Postma, F., & Jacobs, K. (2016). Soil bacterial communities associated with natural and commercial *Cyclopia* spp. *FEMS microbiology ecology*, 92(3), fiw016.
- Prosser, J. I., Bohannan, B. J., Curtis, T. P., Ellis, R. J., Firestone, M. K., Freckleton, R. P. & Osborn, A. M. (2007). The role of ecological theory in microbial ecology. *Nature Reviews Microbiology*, 5(5), 384-392.

- Puente, M. E., Li, C. Y., & Bashan, Y. (2009). Rock-degrading endophytic bacteria in cacti. *Environmental and Experimental Botany*, 66(3), 389-401.
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., & Mahé, F. (2016). VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584.
- Queloz, V., Sieber, T. N., Holdenrieder, O., McDonald, B. A., & Grünig, C. R. (2011). No biogeographical pattern for a root-associated fungal species complex. *Global Ecology and Biogeography*, 20(1), 160-169.
- Raaijmakers, J. M., Paulitz, T. C., Steinberg, C., Alabouvette, C., & Moëne-Loccoz, Y. (2009). The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and soil*, 321(1-2), 341-361.
- Reyes, R. (1981). Lechuguilla (*Agave lecheguilla*) como un importante factor en la formación del suelo de las zonas áridas. *Publicación especial-Instituto Nacional de Investigaciones Forestales*.
- Reyes Agüero, J. A., Rivera, J. R. A., & Valdivia, C. B. P. (2000). Biología y aprovechamiento de *Agave lechuguilla* Torrey. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (67), 75-88.
- Richardson, A. E. (2001). Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Functional Plant Biology*, 28(9), 897-906.
- Richardson, A. E., Barea, J. M., McNeill, A. M., & Prigent-Combaret, C. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and soil*, 321(1-2), 305-339.
- Romero-Gonzalez, J., Peralta-Videa, J. R., Rodriguez, E., Ramirez, S. L., & Gardea-Torresdey, J. L. (2005). Determination of thermodynamic parameters of Cr (VI) adsorption from aqueous solution onto *Agave lechuguilla* biomass. *The Journal of chemical thermodynamics*, 37(4), 343-347.
- Romero-Gonzalez, J., Peralta-Videa, J. R., Rodriguez, E., Delgado, M., & Gardea-Torresdey, J. L. (2006). Potential of *Agave lechuguilla* biomass for Cr (III) removal from aqueous solutions: Thermodynamic studies. *Bioresource technology*, 97(1), 178-182.
- RStudio Team (2016). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>
- Russo, S. E., Legge, R., Weber, K. A., Brodie, E. L., Goldfarb, K. C., Benson, A. K., & Tan, S. (2012). Bacterial community structure of contrasting soils underlying Bornean rain forests: Inferences from microarray and next-generation sequencing methods. *Soil Biology and Biochemistry*, 55, 48-59.
- Rzedowski, J. (1964). *Botánica económica. Las zonas áridas y semiáridas del centro y noreste de México y el aprovechamiento de sus recursos*, Instituto Mexicano de Recursos Renovables, México, DF, 135-152.

- Saharan, B. S., & Nehra, V. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sci Med Res*, 21(1), 30.
- Sait, M., Davis, K. E., & Janssen, P. H. (2006). Effect of pH on isolation and distribution of members of subdivision 1 of the phylum Acidobacteria occurring in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(3), 1852-1857.
- Saitoh, S., Suzuki, T., & Nishimura, Y. (1998). Proposal of *Craurococcus roseus* gen. nov., sp. nov. and *Paracraurococcus ruber* gen. nov., sp. nov., novel aerobic bacteriochlorophyll a-containing bacteria from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48(3), 1043-1047.
- Sangwan, P., Chen, X., Hugenholtz, P., & Janssen, P. H. (2004). *Chthoniobacter flavus* gen. nov., sp. nov., the first pure-culture representative of subdivision two, *Spartobacteria classis nov.*, of the phylum Verrucomicrobia. *Applied and environmental microbiology*, 70(10), 5875-5881.
- Saul-Tcherkas, V., & Steinberger, Y. (2011). Soil microbial diversity in the vicinity of a Negev Desert shrub—*Reaumuria negevensis*. *Microbial ecology*, 61(1), 64-81.
- Schadt, C. W., Martin, A. P., Lipson, D. A., & Schmidt, S. K. (2003). Seasonal dynamics of previously unknown fungal lineages in tundra soils. *Science*, 301(5638), 1359-1361.
- Schlesinger, W. H., & Pilmanis, A. M. (1998). Plant-soil interactions in deserts. *Biogeochemistry*, 42(1-2), 169-187.
- Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., ... & Sahl, J. W. (2009). Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and environmental microbiology*, 75(23), 7537-7541.
- Schubert, C. J., & Nielsen, B. (2000). Effects of decarbonation treatments on $\delta^{13}\text{C}$ values in marine sediments. *Marine Chemistry*, 72(1), 55-59.
- Schulte, E. E., & Hopkins, B. G. (1996). Estimation of soil organic matter by weight loss-on-ignition. *Soil organic matter: analysis and interpretation*, (soilorganicmatt), 21-31.
- Senechkin, I. V., Speksnijder, A. G., Semenov, A. M., Van Bruggen, A. H., & Van Overbeek, L. S. (2010). Isolation and partial characterization of bacterial strains on low organic carbon medium from soils fertilized with different organic amendments. *Microbial ecology*, 60(4), 829-839.
- Servin, J. A., Herbold, C. W., Skophammer, R. G., & Lake, J. A. (2007). Evidence excluding the root of the tree of life from the actinobacteria. *Molecular biology and evolution*, 25(1), 1-4.
- Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., ... & Ideker, T. (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome research*, 13(11), 2498-2504.

- Shi, S., Nuccio, E. E., Shi, Z. J., He, Z., Zhou, J., & Firestone, M. K. (2016). The interconnected rhizosphere: High network complexity dominates rhizosphere assemblages. *Ecology letters*, 19(8), 926-936.
- Sheldon, S. (1980). Ethnobotany of *Agave lecheguilla* and *Yucca carnerosana* in Mexico's Zona Ixtlera. *Economic Botany*, 34(4), 376-390.
- Siller, M. A., Cárdenas Martínez, Á. I., Arista González, G. J., & Rodríguez Hernández, J. A. (2012). Diseño de bloques de suelo estabilizado para uso urbano en San Luis Potosí. *Celaya. Academia Journals*, 4(3), 83-87.
- SILVA database project: www.arb-silva.de
- Silva-Montellano, A., & Eguiarte, L. E. (2003). Geographic patterns in the reproductive ecology of *Agave lechuguilla* (Agavaceae) in the Chihuahuan desert. I. Floral characteristics, visitors, and fecundity. *American Journal of Botany*, 90(3), 377-387.
- Skujins, J. (1991). *Semiarid lands and deserts: Soil resource and reclamation*. CRC Press.
- SMN, CONAGUA. 2015. Normales climatológicas por estación. Ciudad de México: Servicio Meteorológico Nacional, CONAGUA. Disponible en: [http:// smn.cna.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=42&Itemid=75](http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=42&Itemid=75)
- Sørensen, J. (1997). The rhizosphere as a habitat for soil microorganisms. In *Modern soil microbiology* (pp. 21-45). Marcel Dekker Incorporated.
- Souza, V., Espinosa-Asuar, L., Escalante, A. E., Eguiarte, L. E., Farmer, J., Forney, L., ... & Elser, J. J. (2006). An endangered oasis of aquatic microbial biodiversity in the Chihuahuan desert. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(17), 6565-6570.
- Souza, V., Siefert, J. L., Escalante, A. E., Elser, J. J., & Eguiarte, L. E. (2012). The cuatro ciénegas basin in Coahuila, Mexico: an astrobiological precambrian park. *Astrobiology*, 12(7), 641-647.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS microbiology reviews*, 31(4), 425-448.
- Stach, E. M., & Bull, A. T. (2005). Estimating and comparing the diversity of marine actinobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 87(1), 3-9.
- Stachowicz, J. J. (2001). Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities: positive interactions play a critical, but underappreciated, role in ecological communities by reducing physical or biotic stresses in existing habitats and by creating new habitats on which many species depend. *AIBS Bulletin*, 51(3), 235-246.
- Stott, M. B., Crowe, M. A., Mountain, B. W., Smirnova, A. V., Hou, S., Alam, M., & Dunfield, P. F. (2008). Isolation of novel bacteria, including a candidate division, from geothermal soils in New Zealand. *Environmental Microbiology*, 10(8), 2030-2041.
- Stotzky, G. (1997). Soil as an environment for microbial life. *Modern soil microbiology*.

- Taketani, R. G., Kavamura, V. N., Mendes, R., & Melo, I. S. (2015). Functional congruence of rhizosphere microbial communities associated to leguminous tree from Brazilian semiarid region. *Environmental microbiology reports*, 7(1), 95-101.
- 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, 34-42.
- Taylor, D. W. (1967). *A remarkable snail fauna from Coahuila, Mexico*. California Malacozoological Society.
- Thomas, G. W., & Hargrove, W. L. (1984). The chemistry of soil acidity. *Soil acidity and liming*, (soilacidityandl), 3-56.
- Torres-Cortés, G., Millán, V., Fernández-González, A. J., Aguirre-Garrido, J. F., Ramírez-Saad, H. C., Fernández-López, M., ... & Martínez-Abarca, F. (2012). Bacterial community in the rhizosphere of the cactus species *Mammillaria carnea* during dry and rainy seasons assessed by deep sequencing. *Plant and soil*, 357(1-2), 275-288.
- UNEP-WCMC, 2007. A spatial analysis approach to the global delineation of dryland areas of relevance to the CBD Programme of Work on Dry and Subhumid Lands. <http://www.fao.org/in-action/global-forest-survey/activities/gfs-global-drylands-assessment/es/>
- Van Breemen, N., Mulder, J., & Driscoll, C. T. (1983). Acidification and alkalization of soils. *Plant and soil*, 75(3), 283-308.
- Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M., & Pieterse, C. M. J. (1997). Mechanisms of PGPR-induced resistance against pathogens.
- Vellend, M. (2010). Conceptual synthesis in community ecology. *The Quarterly review of biology*, 85(2), 183-206.
- Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G. F., Chater, K. F., & van Sinderen, D. (2007). Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiology and molecular biology reviews*, 71(3), 495-548.
- Waddington, D. V. (1969). Soil and soil related problems. *Turfgrass Science*, (turfgrassscienc), 80-129.
- Wakelin, S. A., Macdonald, L. M., Rogers, S. L., Gregg, A. L., Bolger, T. P., & Baldock, J. A. (2008). Habitat selective factors influencing the structural composition and functional capacity of microbial communities in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(3), 803-813.
- Walker, J. J., & Pace, N. R. (2007). Phylogenetic composition of Rocky Mountain endolithic microbial ecosystems. *Applied and environmental microbiology*, 73(11), 3497-3504.
- Warnes, G.R., Bolker, B., Bonebakker, L., Gentleman, R., Huber W., Liaw, W.H.A., Lumley, T., Maechler, M., Magnusson, A., Moeller, S., Schwartz, M. & Venables B. (2016). *gplots: Various R Programming Tools for Plotting Data*. R package version 3.0.1. <https://CRAN.R-project.org/package=gplots>

- Wei, T. & Simko, V. (2016). corrplot: Visualization of a Correlation Matrix. R package version 0.77. <https://CRAN.R-project.org/package=corrplot>
- Whitford, W. G. (2002). Ecology of desert systems. Academic Press.
- Wickham, H. (2009). ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York.
- Winsley, T. J., Snape, I., McKinlay, J., Stark, J., van Dorst, J. M., Ji, M., ... & Siciliano, S. D. (2014). The ecological controls on the prevalence of candidate division TM7 in polar regions. *Frontiers in microbiology*, 5.
- Xu, Z., Hansen, M. A., Hansen, L. H., Jacquiod, S., & Sørensen, S. J. (2014). Bioinformatic approaches reveal metagenomic characterization of soil microbial community. *PLoS one*, 9(4), e93445.
- Yechieli, A., Oren, A., & Yair, A. (1995). The effect of moisture distribution on bacterial numbers and microbial activities along a hillslope, Northern Negev, Israel. *Advances in Geocology*, 28, 193-193.
- Yoshinaka, T., Yano, K., & Yamaguchi, H. (1973). Isolation of highly radioresistant bacterium, *Arthrobacter radiotolerans* nov. sp. *Agricultural and Biological Chemistry*, 37(10), 2269-2275.
- Zapata Hernández, R. D. (2004). Química de la acidez del suelo.
- Zarilla, K. A., & Perry, J. J. (1984). *Thermoleophilum album* gen. nov. and sp. nov., a bacterium obligate for thermophily and n-alkane substrates. *Archives of microbiology*, 137(4), 286-290.
- Zhang, P., Chen, Y., Zhou, Q., Zheng, X., Zhu, X., & Zhao, Y. (2010). Understanding short-chain fatty acids accumulation enhanced in waste activated sludge alkaline fermentation: kinetics and microbiology. *Environmental science & technology*, 44(24), 9343-9348.
- Zhang, H., Sekiguchi, Y., Hanada, S., Hugenholtz, P., Kim, H., Kamagata, Y., & Nakamura, K. (2003). *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a Gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating micro-organism, the first cultured representative of the new bacterial phylum Gemmatimonadetes phyl. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 53(4), 1155-1163.
- Zhang, N., Xia, J., Yu, X., Ma, K., & Wan, S. (2011). Soil microbial community changes and their linkages with ecosystem carbon exchange under asymmetrically diurnal warming. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(10), 2053-2059.
- Zhang, L., & Xu, Z. (2008). Assessing bacterial diversity in soil. *Journal of Soils and Sediments*, 8(6), 379-388.
- Zhou, J., Gu, Y., Zou, C., & Mo, M. (2007). Phylogenetic diversity of bacteria in an earth-cave in Guizhou Province, Southwest of China. *The Journal of Microbiology*, 45(2), 105-112.

Anexo 1. Procesamiento de las secuencias en Mothur

1. Parear las secuencias forward y reverse de las muestras:
make.contigs(file=stability.files)
2. Contar el número de secuencias de un grupo específico:
count.groups(group=stability.contigs.groups)
3. Mejorar la calidad de las secuencias y delimitar su longitud:
screen.seqs(fasta=stability.trim.contigs.fasta, group=stability.contigs.groups, maxambig=2, minlength=500, maxlength=604)
4. Trabajar con secuencias únicas y disminuir el tiempo de procesamiento:
unique.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.fasta)
5. Juntar el archivo de las secuencias con el de los grupos que les corresponden:
count.seqs(name=stability.trim.contigs.good.names, group=stability.contigs.good.groups)
6. Reducir el tamaño de la base de datos de referencia de SILVA para el alineamiento a la región de interés:
 - a) A partir de la secuencia de E.coli, se recorta la región de interés a través de la secuencia de nuestros primers: **pcr.seqs**(fasta=ecoli.fasta, oligos=Oligos1.txt)
 - b) El archivo de salida se alinea con la base de datos de referencia:
align.seqs(fasta=ecoli.pcr.fasta, reference=silva.nr_v123.align)
 - c) Se revisa dónde empieza y termina la secuencia y a partir de esta información se recorta la base de datos de referencia: **pcr.seqs**(fasta=silva.nr_v123.align, start=6428, end=28450, keepdots=F)
7. Alinear nuestras secuencias con la base de datos de referencia recortada:
align.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.fasta,reference=silva.recortado.fasta)

8. Volver a definir los criterios de nuestras secuencias:
screen.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.align,count=stability.trim.contigs.good.count_table,summary=stability.trim.contigs.good.unique.summary,optimize=start,criteria=90,end=22022,maxhomop=24)
9. Filtrar secuencias y quitar los espacios sin pares de bases:
filter.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.align,vertical=T,trump=.)
10. Volver a trabajar con secuencias únicas:
unique.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.fasta,count=stability.trim.contigs.good.good.count_table)
11. Reagrupar las secuencias definiendo la cantidad máxima de diferencias entre ellas:
pre.cluster(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.fasta,count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.count_table,diffs=2)
12. Volver a definir los criterios de nuestras secuencias:
screen.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.fasta,count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.count_table,maxambig=0)
13. Identificar las quimeras:
chimera.vsearch(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.good.fasta,count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.good.count_table,dereplicate=t)
14. Remover quimeras:
remove.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.good.fasta,count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.good.denovo.vsearch.pick.count_table,accnos=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.good.denovo.vsearch.accnos)
15. Clasificar secuencias:
classify.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.good.pick.fasta,count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.good.denovo.vsearch.pick.pick.count_table,template=silva.nr_v123.align,taxonomy=silva.nr_v123.tax,cutoff=0)

16. Remover secuencias de linajes distintos a las bacterias:

```
remove.lineage(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.  
good.pick.fasta,count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.  
ood.denovo.vsearch.pick.pick.count_table,taxonomy=stability.trim.contigs.good.uniqu  
e.good.filter.unique.precluster.good.pick.nr_v123.wang.taxonomy, taxon=Chloroplast-  
Mitochondria-unknown-Archaea-Eukaryota)
```

Es importante notar que se utilizaba el comando **summary.seqs** después de cada uno de estos comandos con la finalidad de verificar que todo fuera saliendo en orden y los archivos que se iban utilizando en cada comando, pertenecían a los archivos de salida del paso anterior.

17. Calcular OTUs por el método de distancia:

```
cluster.split(fasta=stability.trim.unique.good.filter.unique.precluster.pick.pick.subsam  
ple.fasta,name=stability.trim.unique.good.filter.unique.precluster.pick.pick.subsample.  
names,taxonomy=stability.trim.unique.good.filter.unique.precluster.pick.nr_v123.wang  
.pick.subsample.taxonomy, taxlevel=6, method=dgc, cutoff=0.03)
```

18. Crear archivo shared para realizar los cálculos siguientes:

```
make.shared(list=stability.trim.unique.good.filter.unique.precluster.pick.pick.subsampl  
e.dgc.list, group=stability.good.pick.pick.pick.subsample.groups, label=0.03)
```

19. Obtener OTUs observados, estimador de Chao e índices de diversidad por muestra:

```
summary.single(shared=stability.trim.unique.good.filter.unique.precluster.pick.pick.su  
bsample.dgc.shared)
```

20. Obtener curvas de rarefacción:

```
rarefaction.single(shared=stability.trim.unique.good.filter.unique.precluster.pick.pick.  
subsample.dgc.shared, freq=1000)
```

21. Calcular diversidad beta:

```
summary.shared(shared=stability.trim.unique.good.filter.unique.precluster.pick.pick.s  
ubsample.dgc.shared, calc=braycurtis)
```

Anexo 2. Código utilizado para los análisis en Rstudio

1. Análisis estadísticos correspondientes a las propiedades fisicoquímicas, utilizando como ejemplo el del pH:

```
setwd("")  
muestreo1<-read.table(".txt", header = T)
```

- **Prueba de normalidad:**

```
shapiro.test(muestreo1$pH)  
qqnorm(muestreo1$pH)  
hist(muestreo1$pH)
```

- **Anova de dos vías:**

```
aov2pH<-aov(lm(pH ~ Temporada + Suelo + Temporada * Suelo,  
data=muestreo1))  
summary(aov2pH)
```

- **Prueba post-hoc:**

```
TukeyHSD(aov2pH)  
plot(TukeyHSD(aov2pH))
```

- **Verificación del buen ajuste del modelo:**

```
qqnorm(aov2pH$residuals)  
hist(aov2pH$residuals)  
plot(aov2pH$res)
```

2. Análisis NMDS, como ejemplo el de la composición microbiana y construcción del heatmap:

```
library(vegan)  
library(MASS)  
library(ggplot2)  
library(gplots)  
gen<-read.table(".txt", header=TRUE, row.names = 1, sep="\t")  
phyla<-read.table(".txt", row.names=1)  
muestreot <- read.table(".txt", row.names = 1)  
trat<-read.table(".txt", row.names=1)
```

- **NMDS:**

```
NMDSG<-metaMDS(gen,trace=FALSE)  
stressplot(NMDSG)  
plot(NMDSG,type="t")  
plot(NMDSG,type="t", display="sites")
```

- **Ajuste de las propiedades fisicoquímicas:**

```
fitG<-envfit(NMDSG, muestreot, permu=999)  
fitG  
plot(fitG,p.max = 0.1)
```

- **Construcción de la figura del NMDS:**

```
varG <- gen
tratG<-trat
varG$sites <- rownames(gen)
tratG$sites <- rownames(trat)
dat <- merge(varG, tratG); datorig <- dat
data.scores <- as.data.frame(scores(NMDSG))
data.scores$sites <- rownames(data.scores)
datG <- merge(dat, data.scores)
dat$punto <- as.factor(paste(dat$Suelo, dat$Temporada, sep = "_"))
levels(dat$punto) <- c("0", "15", "2", "17")
dat$punto <- as.numeric(as.character(dat$punto))

png(filename="nmdsg.png", width=15, height=9, units=c("cm"), res=300)
nmdsg<-ggplot(datG, aes(NMDS1, NMDS2)) + #geom_text(aes(label=sites)) +
geom_point(aes(pch = Temporada, x=NMDS1, y = NMDS2, col = Suelo),
size=3.5) + scale_color_manual(values = c("Agave"="green3",
"Interespacio"="saddlebrown")) +
guides(colour=guide_legend(override.aes=list(shape = 15)))
theme_linedraw(FALSE)

print(nmdsg + ggtitle("Género") + theme(plot.title=element_text(hjust=0.5,
size=20)))
dev.off()
```

- **Construcción del heatmap**

```
mergeSP<-merge(trat,phyla, by="row.names", all.x=FALSE)
dim(phyla)
dim(trat)
dim(mergeSP)
reordermergeSP <-mergeSP[order(mergeSP$Suelo, mergeSP$Row.names),]
(gecol1<-ncol(trat)+2)
(gecol2<-ncol(reordermergeSP))
justgeSP<-reordermergeSP[,gecol1:gecol2]
justgeSP[1:5,1:5]
rownames(justgeSP[1:10,])
rownames(justgeSP)<-reordermergeSP$Row.names
rownames(justgeSP[1:10,])
justge2SP<-as.matrix(t(justgeSP))
justge2SP[1:5,1:5]
scalered<-colorRampPalette(colors=c("white","red"))(256)
color.map<-function(Suelo){if(Suelo=="Interespacio")"saddlebrown" else
if(Suelo=="Agave")"limegreen"}
sidebarcolorsSP <- unlist(lapply(reordermergeSP$Suelo, color.map))

heatmap.2(justge2SP, Rowv=NA, Colv=TRUE, dendrogram = "column",
trace="none", cexCol = 1.2, cexRow = 1.2, col=scalered,xlab = "Muestra",
ylab="Phyla", margins=c(6,14), ColSideColors=sidebarcolorsSP, key = TRUE,
keysize = 1.5, key.title = "% de abundancia", main = "Rizósfera e Interespacio")
```

```
legend("left", xpd=par, legend=c("Interespacio", "Agave"), col=c("saddlebrown",  
"limegreen"), lty = 1, lwd =5, cex=.8)
```

3. Análisis de correlación, utilizando como ejemplo a los referentes a los microorganismos:

```
library(corrplot)  
library(acepack)  
library(Hmisc)
```

- **Análisis de correlación y significancia**

```
PP <- read.table(".txt", header=TRUE)  
cpp<-rcorr(as.matrix(PP), type = "spearman")  
tcppr<-as.data.frame(signif(cpp$r, 2))  
tcppp<-as.data.frame(signif(cpp$P, 4))  
write.table(tcppr, ".xls", quote = T, sep = "\t", row.names = F)  
write.table(tcppp, ".xls", quote = T, sep = "\t", row.names = F)
```

- **Construcción del correlograma**

```
TPP<-cor(PP, method = "spearman")  
png(filename="PP.png", width=15, height=10, units=c("in"), res=300)  
corrplot(TPP[15:28,15:28], type = "lower", method="circle", tl.cex = 1.4, cl.cex =  
1.4, tl.col = "black", tl.srt = 45, title = "Primavera", mar = c(0,0,1,0), cex.main = 2)  
dev.off()
```

Anexo 3. Reporte de secuenciación



15 de febrero de 2017

REPORTE DE RESULTADOS – SECUENCIACIÓN POR SÍNTESIS (SBS)

Responsable: Dra. Valeria Souza Zaldívar

Usuarios: Dra. Nguyen Esmeralda López Lozano

Nombre del Proyecto: Agave lechuguilla, Cuatro Ciénegas.

Descripción del servicio: Generación de amplicon 16S y sus respectivas bibliotecas de 48 muestras para posteriormente, secuenciar en MiSeq formato 2x300.

No. Cotización: VS.Mi.100117.1

Fecha de corrida: 10 de Febrero de 2017

Recepción de Muestras. Para proceso 16S

INFORMACION PROPORCIONADA POR EL USUARIO				
N° DE MUESTRAS	NOMBRE DE MUESTRA	CONCEN. NANODROP	RELACION 260/230	RELACION 260/280
1	BA1	52.9	1.51	0.71
2	BA2	81.9	1.7	0.97
3	BA3	90.3	1.68	0.85
4	BI1	48.9	1.47	0.86
5	BI2	42.3	1.46	0.73
6	BI3	43.5	1.54	0.75
7	CA1	65.7	1.56	0.81
8	CA2	37.8	1.55	0.81
9	CA3	66.5	1.59	0.93
10	CI1	69	1.56	0.79
11	CI2	67.4	1.59	0.83

12	CI3	77.3	1.7	0.57
13	OA1	102.4	1.67	0.67
14	OA2	102.4	1.67	1.02
15	OA3	88.7	1.64	0.98
16	OI1	54.5	1.51	0.67
17	OI2	78.2	1.63	0.82
18	OI3	38.7	1.37	0.44
19	MA1	100.5	1.73	1.19
20	MA2	64.6	1.56	0.92
21	MA3	131.1	1.64	1
22	MI1	34.5	14.27	0.57
23	MI2	39.2	1.31	0.6
24	MI3	39.6	1.35	0.66
25	2BA1	35.4	1.38	1.13
26	2BA2	71.1	1.56	1.12
27	2BA3	90.1	1.56	0.95
28	2BI1	32.6	1.29	0.57
29	2BI2	68.5	1.54	0.76
30	2BI3	41.1	1.32	0.57
31	2CA1	165.3	1.71	1.2
32	2CA2	121.5	1.82	1.28
33	2CA3	78.3	1.61	0.91
34	2CI1	75.6	1.51	0.84
35	2CI2	66.2	1.57	0.75
36	2CI3	48.6	1.45	0.57
37	2OA1	122.3	1.65	0.97
38	2OA2	135.7	1.74	1.1
39	2OA3	129.2	1.66	0.96
40	2OI1	63.8	1.57	0.8
41	2OI2	58	1.5	0.65
42	2OI3	53.6	1.48	0.66
43	2MA1	73.1	1.52	0.9
44	2MA2	57.8	1.51	0.73
45	2MA3	99.3	1.6	0.95
46	2MI1	53.3	1.46	0.34
47	2MI2	51.9	1.37	0.65
48	2MI3	49	1.44	0.81



CUANTIFICACION INTERNA POR FLUORESCENCIA					
No.	ID	Promedio (ng/μl)	ID BIBLIOTECA	INDEX 700 Set C	INDEX 500 Set C
1	BA1	18.2	VS1AL2SS01	701	513
2	BA2	56.4	VS1AL2SS02	701	515
3	BA3	64.4	VS1AL2SS03	701	516
4	BI1	23.6	VS1AL2SS04	701	517
5	BI2	15.1	VS1AL2SS05	701	518
6	BI3	16.4	VS1AL2SS06	701	520
7	CA1	42	VS1AL2SS07	701	521
8	CA2	16.4	VS1AL2SS08	701	522
9	CA3	36.4	VS1AL2SS09	702	513
10	CI1	35.2	VS1AL2SS10	702	515
11	CI2	31.8	VS1AL2SS11	702	516
12	CI3	39.4	VS1AL2SS12	702	517
13	OA1	62.6	VS1AL2SS13	702	518
14	OA2	61.8	VS1AL2SS14	702	520
15	OA3	47.2	VS1AL2SS15	702	521
16	OI1	17.3	VS1AL2SS16	702	522
17	OI2	30	VS1AL2SS17	703	513
18	OI3	9.26	VS1AL2SS18	703	515
19	MA1	69.6	VS1AL2SS19	703	516
20	MA2	35.4	VS1AL2SS20	703	517
21	MA3	65.4	VS1AL2SS21	703	518
22	MI1	8.04	VS1AL2SS22	703	520
23	MI2	13.5	VS1AL2SS23	703	521
24	MI3	11.1	VS1AL2SS24	703	522
25	2BA1	36.4	VS1AL2SS25	704	513
26	2BA2	35.4	VS1AL2SS26	704	515
27	2BA3	36.4	VS1AL2SS27	704	516
28	2BI1	1.86	VS1AL2SS28	704	517
29	2BI2	26.4	VS1AL2SS29	704	518
30	2BI3	10.3	VS1AL2SS30	704	520
31	2CA1	114	VS1AL2SS31	704	521
32	2CA2	106	VS1AL2SS32	704	522
33	2CA3	35.4	VS1AL2SS33	705	513
34	2CI1	11.8	VS1AL2SS34	705	515
35	2CI2	23.2	VS1AL2SS35	705	516

36	2CI3	7.86	VS1AL2SS36	705	517
37	20A1	57.8	VS1AL2SS37	705	518
38	20A2	95.4	VS1AL2SS38	705	520
39	20A3	54	VS1AL2SS39	705	521
40	20I1	25.4	VS1AL2SS40	705	522
41	20I2	12.1	VS1AL2SS41	706	513
42	20I3	10.8	VS1AL2SS42	706	515
43	2MA1	23.4	VS1AL2SS43	706	516
44	2MA2	12	VS1AL2SS44	706	517
45	2MA3	55.6	VS1AL2SS45	706	518
46	2MI1	9.02	VS1AL2SS46	706	520
47	2MI2	8.44	VS1AL2SS47	706	521
48	2MI3	17.1	VS1AL2SS48	706	522

PROCESO:

Diseño de Primers:

357 Forward

CD Reverse

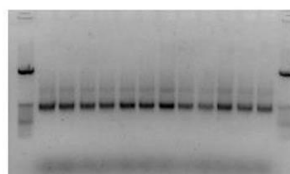
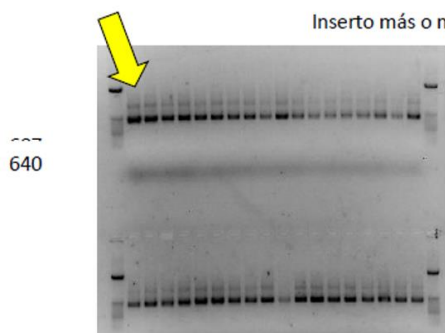
5'TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG

CTCCTACGGGAGGCAGCAG

5' GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG

CTTGTGCGGGCCCCGTCAATTC

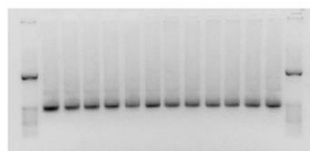
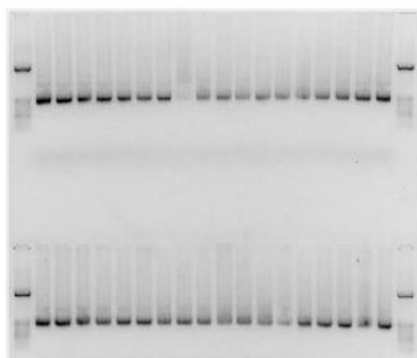
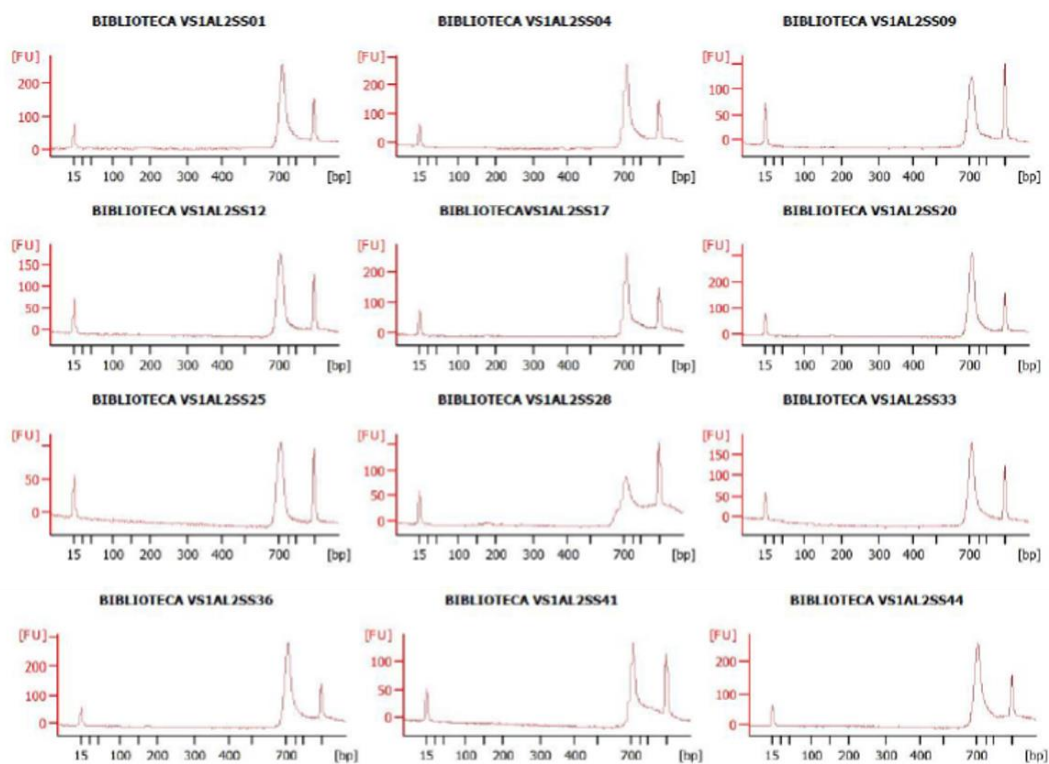
Generación de Amplicon 16S revisadas en gel de agarosa



Amplicón generado de aprox. 650 pb. En todos los casos se removieron los fragmentos más chicos purificando la muestra con Ampure XP previo a la generación de Bibliotecas.

GENERACION DE BIBLIOTECAS A partir del producto de PCR

Una biblioteca por cada muestra



Promedio de longitud una vez terminada las bibliotecas:
733pb

RESULTADOS CORRIDA:

ID: VS1AL2SSr001 (Nombre con el cual podrá identificar el folder que contiene los resultados en la liga que se le otorga al final).

	Ciclos	Rendimiento	%≥Q30
Read 1	301	4.63 Gbp	82.34
Read 2	301	4.63 Gbp	73.64
Total	602	9.26 Gbp	78.52

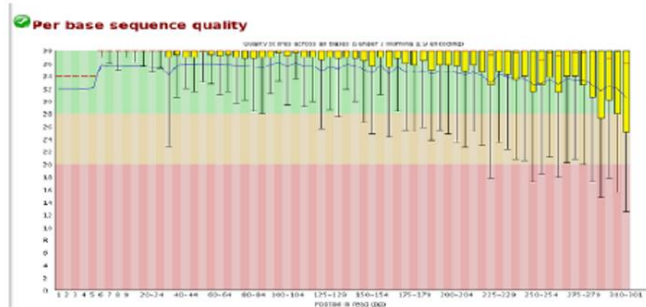
Línea	Read	Lecturas sin filtrar	Lecturas Filtradas	Total de Lecturas R1+R2	%≥Q30	Rendimiento
1	1	22,238,512	19,707,768	39,415,536	82.34	4.63 Gbp
	2	22,238,512	19,707,768		73.64	4.63 Gbp

Porcentaje de Lecturas identificadas por el index: 44.5792

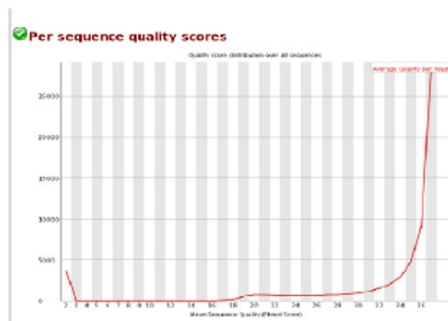
#	ID Biblioteca	Index 1 (I7)	Index 2 (I5)	% Lecturas identificadas (PF)	LECTURAS TOTALES
1	VS1AL2SS01	TAAGGCGA	TCGACTAG	0.9639	189,963
2	VS1AL2SS02	TAAGGCGA	TTCTAGCT	0.908	178,947
3	VS1AL2SS03	TAAGGCGA	CCTAGAGT	0.9228	181,863
4	VS1AL2SS04	TAAGGCGA	GCGTAAGA	0.8722	171,891
5	VS1AL2SS05	TAAGGCGA	CTATTAAG	1.08	212,844
6	VS1AL2SS06	TAAGGCGA	AAGGCTAT	1.1105	218,855
7	VS1AL2SS07	TAAGGCGA	GAGCCTTA	0.7492	147,651
8	VS1AL2SS08	TAAGGCGA	TTATGCGA	1.0625	209,395
9	VS1AL2SS09	CGTACTAG	TCGACTAG	0.8659	170,650
10	VS1AL2SS10	CGTACTAG	TTCTAGCT	0.5861	115,507
11	VS1AL2SS11	CGTACTAG	CCTAGAGT	0.9762	192,387
12	VS1AL2SS12	CGTACTAG	GCGTAAGA	0.7494	147,690
13	VS1AL2SS13	CGTACTAG	CTATTAAG	0.9525	187,716
14	VS1AL2SS14	CGTACTAG	AAGGCTAT	1.0166	200,349
15	VS1AL2SS15	CGTACTAG	GAGCCTTA	0.9479	186,810
16	VS1AL2SS16	CGTACTAG	TTATGCGA	0.9506	187,342
17	VS1AL2SS17	AGGCAGAA	TCGACTAG	1.0379	204,547
18	VS1AL2SS18	AGGCAGAA	TTCTAGCT	1.1165	220,037
19	VS1AL2SS19	AGGCAGAA	CCTAGAGT	0.9722	191,599

20	VS1AL2SS20	AGGCAGAA	GCGTAAGA	0.8015	157,958
21	VS1AL2SS21	AGGCAGAA	CTATTAAG	1.0192	200,862
22	VS1AL2SS22	AGGCAGAA	AAGGCTAT	1.0756	211,977
23	VS1AL2SS23	AGGCAGAA	GAGCCTTA	0.7977	157,209
24	VS1AL2SS24	AGGCAGAA	TTATGCGA	0.9766	192,466
25	VS1AL2SS25	TCCTGAGC	TCGACTAG	0.8706	171,576
26	VS1AL2SS26	TCCTGAGC	TTCTAGCT	1.1239	221,496
27	VS1AL2SS27	TCCTGAGC	CCTAGAGT	0.7621	150,193
28	VS1AL2SS28	TCCTGAGC	GCGTAAGA	0.5653	111,408
29	VS1AL2SS29	TCCTGAGC	CTATTAAG	1.068	210,479
30	VS1AL2SS30	TCCTGAGC	AAGGCTAT	0.9904	195,186
31	VS1AL2SS31	TCCTGAGC	GAGCCTTA	1.0368	204,330
32	VS1AL2SS32	TCCTGAGC	TTATGCGA	0.9731	191,776
33	VS1AL2SS33	GGACTCCT	TCGACTAG	0.9709	191,343
34	VS1AL2SS34	GGACTCCT	TTCTAGCT	1.1418	225,023
35	VS1AL2SS35	GGACTCCT	CCTAGAGT	0.9222	181,745
36	VS1AL2SS36	GGACTCCT	GCGTAAGA	0.7968	157,031
37	VS1AL2SS37	GGACTCCT	CTATTAAG	1.2071	237,892
38	VS1AL2SS38	GGACTCCT	AAGGCTAT	1.1855	233,636
39	VS1AL2SS39	GGACTCCT	GAGCCTTA	0.8772	172,877
40	VS1AL2SS40	GGACTCCT	TTATGCGA	1.0137	199,778
41	VS1AL2SS41	TAGGCATG	TCGACTAG	0.7733	152,400
42	VS1AL2SS42	TAGGCATG	TTCTAGCT	0.8919	175,774
43	VS1AL2SS43	TAGGCATG	CCTAGAGT	0.3737	73,648
44	VS1AL2SS44	TAGGCATG	GCGTAAGA	0.7432	146,468
45	VS1AL2SS45	TAGGCATG	CTATTAAG	0.9897	195,048
46	VS1AL2SS46	TAGGCATG	AAGGCTAT	0.9641	190,003
47	VS1AL2SS47	TAGGCATG	GAGCCTTA	0.9517	187,559
48	VS1AL2SS48	TAGGCATG	TTATGCGA	0.8749	172,423

FastQC



Km. 9.6 Libramiento Norte, Carretera Irapuato-León, Apdo. Postal 629, C.P. 36821, Irapuato, Gto. México
Tel: (462) 166 3022, 166 3024, 166 3023, 166 3021
Fax: (462) 607 8276



DESCARGA DE SUS RESULTADOS EN EL SITIO:

<http://labsergen.langebio.cinvestav.mx/owncloud/>

Usuario: VSouza&NLopez

Contraseña: dat@17v1

Atentamente



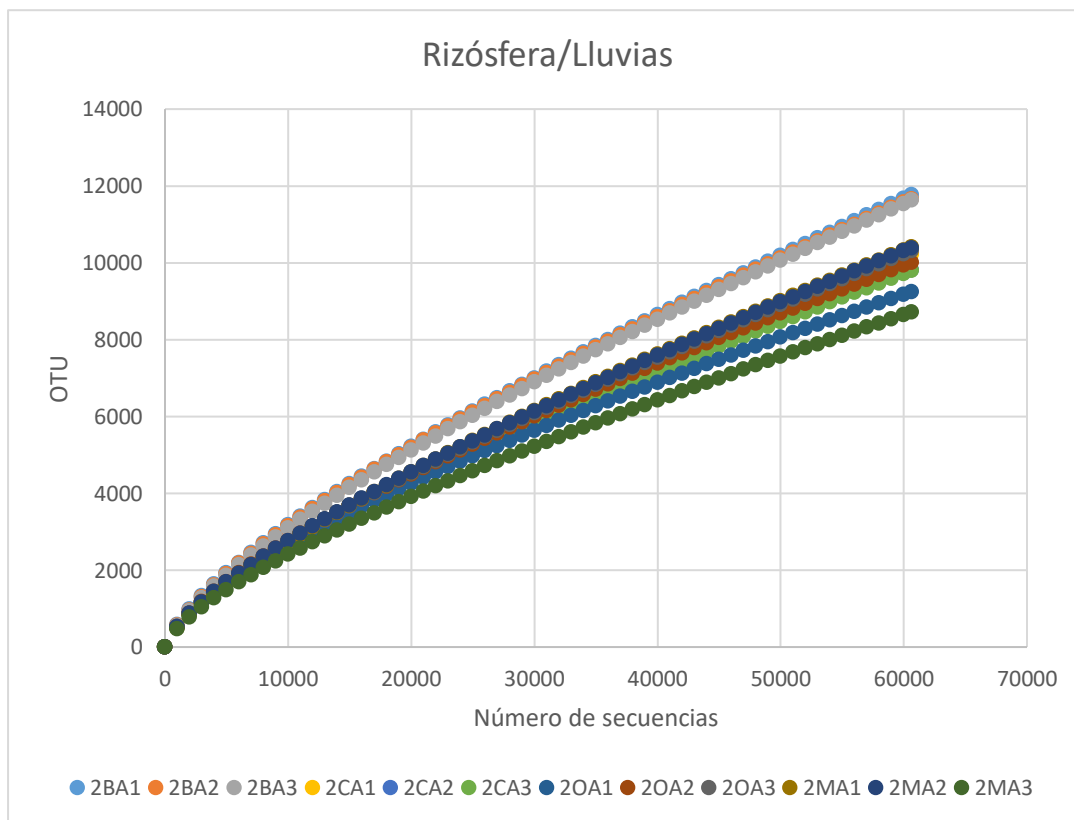
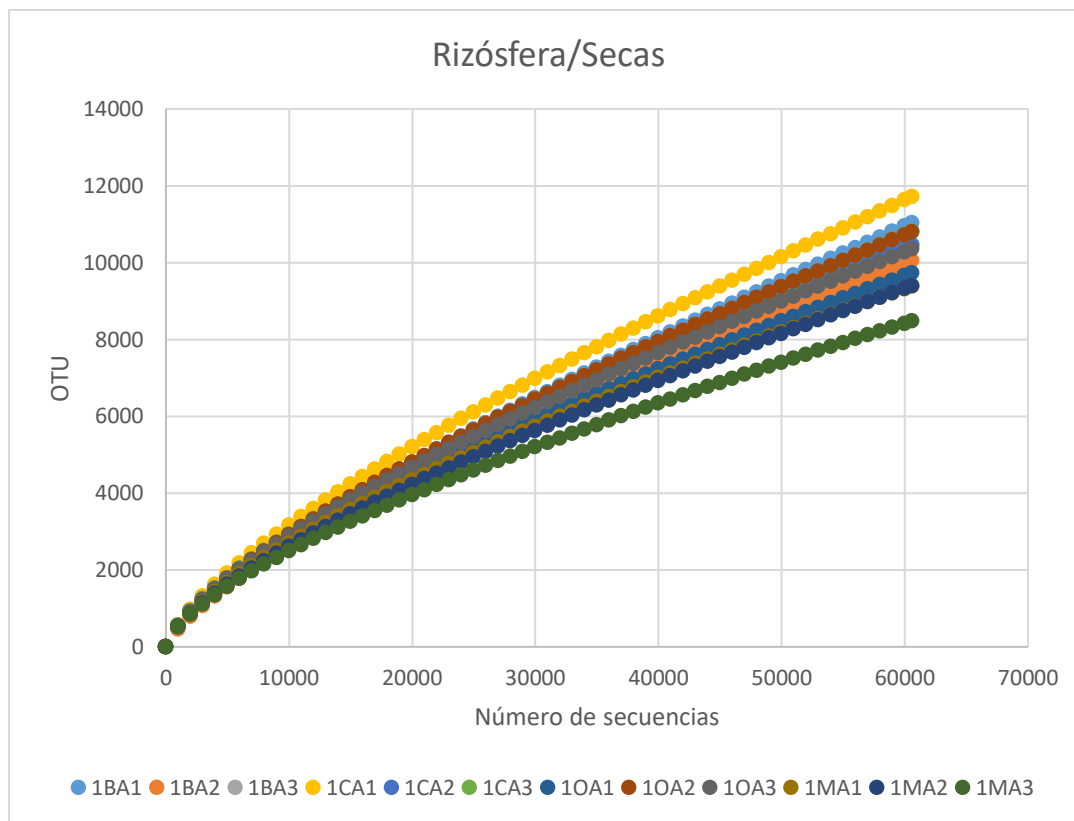
María Guadalupe de J. Mireles R.
Área de Secuenciación por Síntesis.
MiSeq
LANGEBIO – CINVESTAV.

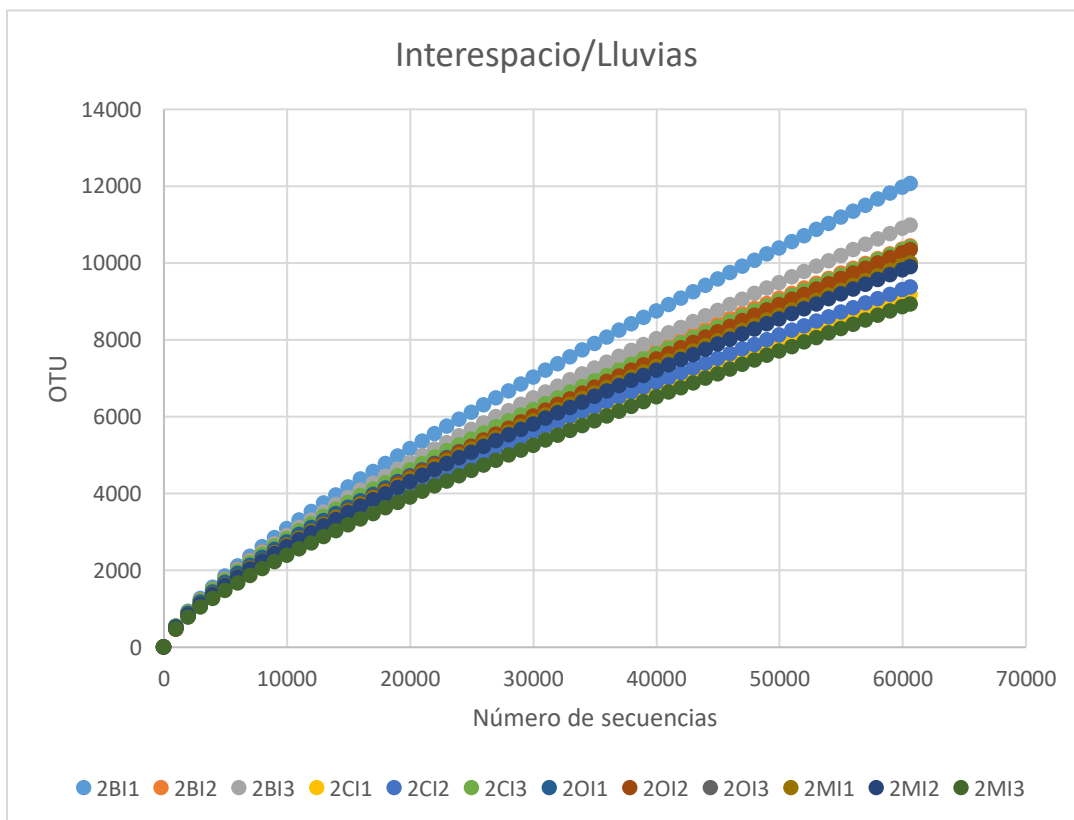
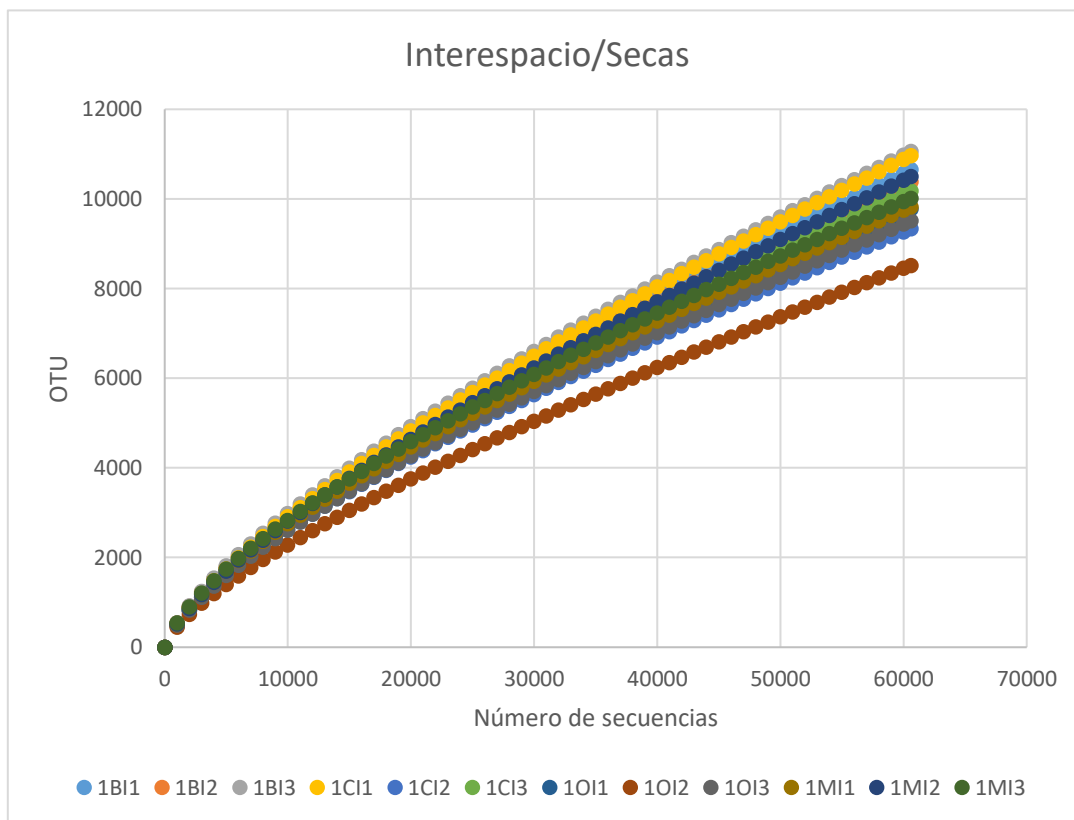
Anexo 4. Total de secuencias obtenidas, OTUs observados, estimador de Chao e índices de diversidad de Shannon-Wiener y Simpson por muestra

Muestra	Total de secuencias	OTUs observados	Chao	Shannon-Wiener	Simpson
1BA1	54948	11035	55402.92	6.95	0.006
1BA2	56578	10045	44715.03	6.34	0.019
1BA3	47846	10436	43924.40	6.99	0.006
1BI1	48743	10656	48303.66	6.89	0.006
1BI2	62636	10379	38776.39	6.94	0.007
1BI3	62044	11065	48997.58	7.02	0.006
1CA1	36879	11715	53955.22	7.17	0.006
1CA2	56128	10464	44709.35	7.05	0.005
1CA3	45210	10820	54113.79	7.03	0.005
1CI1	34804	10968	49051.68	6.80	0.008
1CI2	60544	9333	39879.01	6.66	0.009
1CI3	44528	10185	48095.32	6.70	0.008
1MA1	57735	9382	35930.18	6.83	0.006
1MA2	56443	9399	44585.69	6.85	0.006
1MA3	50125	8480	33527.29	6.76	0.006
1MI1	55101	9820	41896.32	6.80	0.008
1MI2	58940	10499	48172.86	6.78	0.009
1MI3	65915	10015	37518.26	6.93	0.006
1OA1	59261	9731	39039.85	6.79	0.007
1OA2	45677	10803	45906.95	6.98	0.005
1OA3	56369	10356	46672.33	6.98	0.006
1OI1	60790	9775	42290.37	6.55	0.011
1OI2	42650	8519	39945.70	6.31	0.012
1OI3	57843	9512	42473.33	6.61	0.010
2BA1	50170	11766	54012.73	7.23	0.005
2BA2	63137	11663	47072.10	7.16	0.005
2BA3	43590	11627	50822.02	7.10	0.005
2BI1	20386	12062	58887.03	7.03	0.007
2BI2	52680	10442	43918.10	7.00	0.005
2BI3	46969	10979	51907.00	6.85	0.009
2CA1	60606	10219	48084.71	6.83	0.006
2CA2	54942	9812	45318.06	6.80	0.006
2CA3	52590	9794	48838.25	6.73	0.008
2CI1	56649	9178	44534.36	6.70	0.007
2CI2	48122	9371	45280.72	6.55	0.012
2CI3	39424	10418	52478.66	6.94	0.007

Muestra	Total de secuencias	OTUs observados	Chao	Shannon- Wiener	Simpson
2MA1	70302	10412	45518.51	6.69	0.008
2MA2	68471	10390	51213.65	6.90	0.005
2MA3	50182	8712	39359.02	6.54	0.007
2MI1	52230	10003	51772.44	6.68	0.010
2MI2	35537	9902	49194.57	6.72	0.008
2MI3	43394	8930	47915.02	6.55	0.008
2OA1	22887	9246	38226.01	6.82	0.007
2OA2	41420	10011	46024.02	6.85	0.007
2OA3	63971	10313	51109.08	6.79	0.007
2OI1	46747	9951	44355.27	6.85	0.007
2OI2	46863	10351	52936.92	6.31	0.020
2OI3	42418	9998	53843.47	6.51	0.012

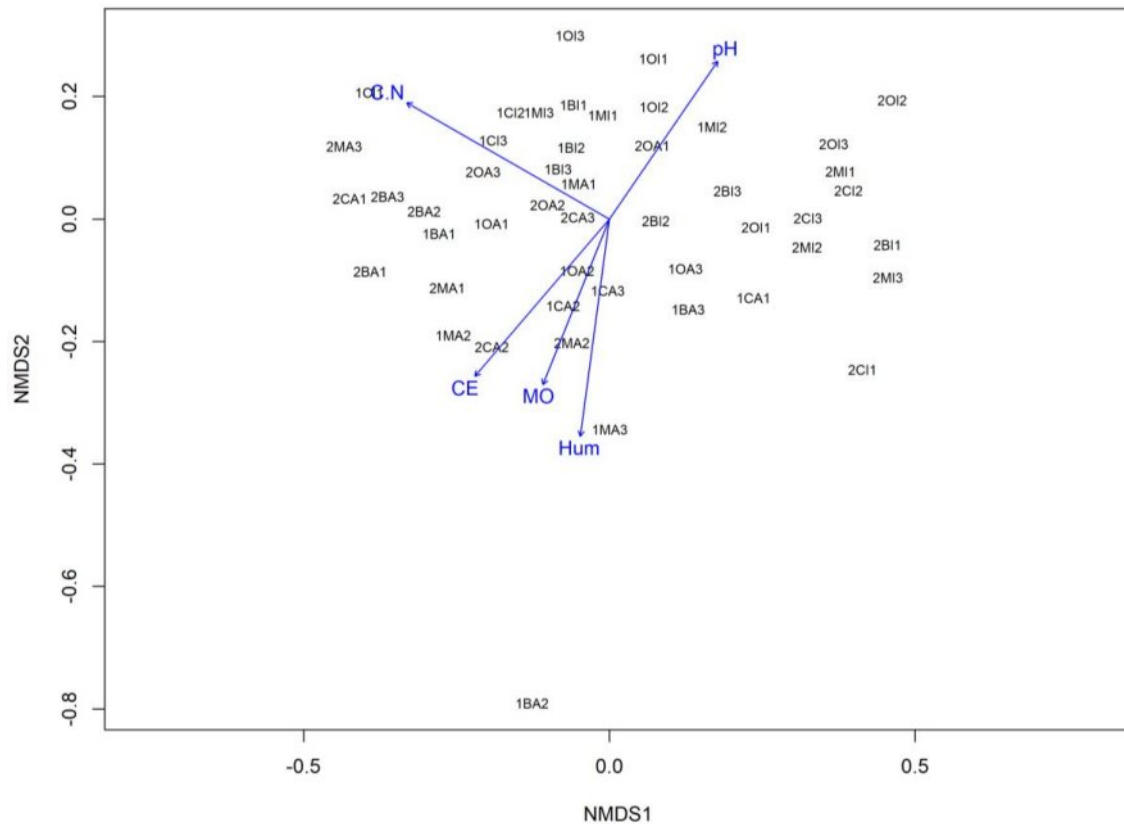
Anexo 5. Curvas de rarefacción para cada una de las condiciones





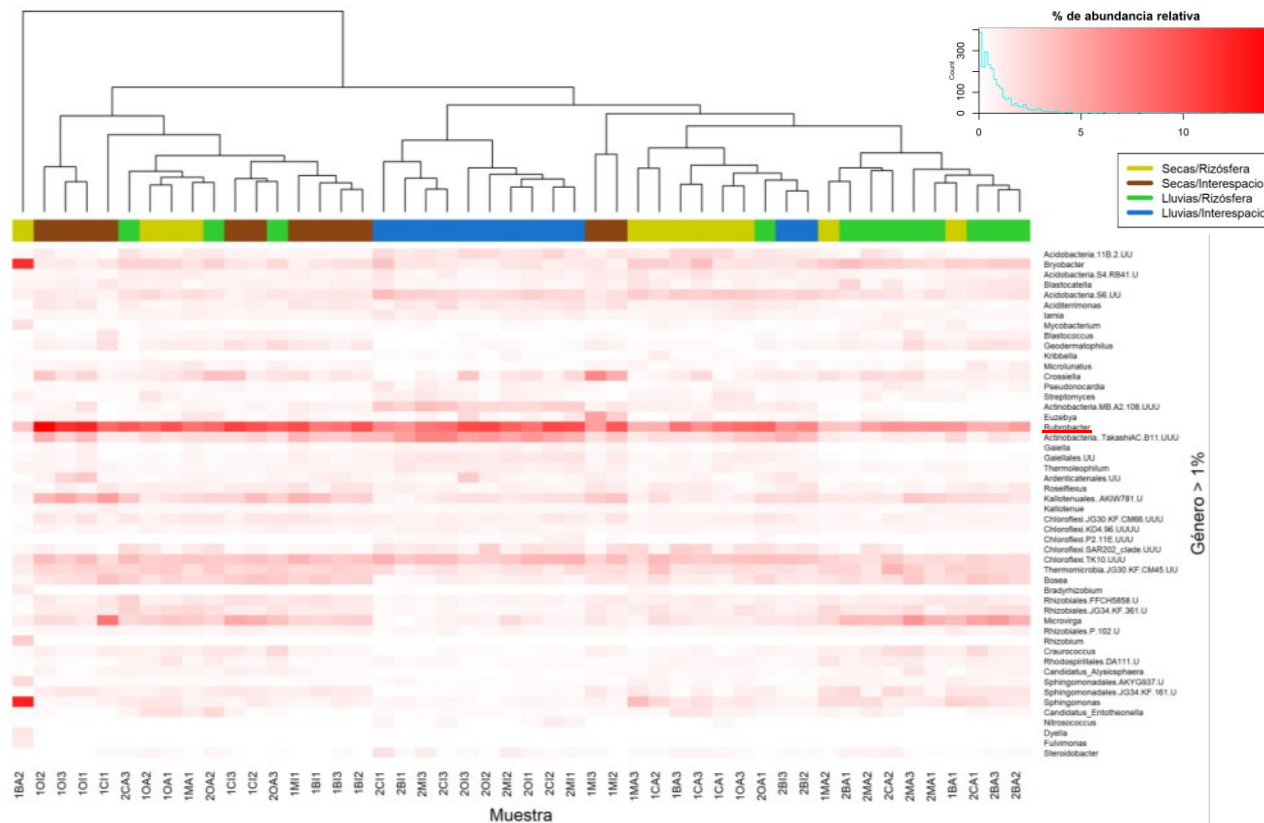
Anexo 6. NMDS con el ajuste de las propiedades fisicoquímicas

Esta imagen corresponde a la gráfica del análisis NMDS basado en la composición microbiana a nivel de género representada de otra forma. Cada muestra se encuentra señalada por la clave con la que fue etiquetada y como vectores, se encuentran las propiedades fisicoquímicas que se ajustaron significativamente.



Anexo 7. Heatmap con los grupos microbianos a nivel de género en condiciones de secas/rizósfera, secas/interespacio, lluvias/rizósfera y lluvias/interespacio

Este heatmap fue construido a partir de los géneros que se seleccionaron y se analizó la agrupación de muestras tomando en cuenta todas las condiciones por separado (secas/rizósfera, secas/interespacio, lluvias/rizósfera y lluvias/interespacio). Se puede observar que existe un agrupamiento de las muestras correspondientes al interespacio en época de lluvias y que *Rubrobacter* (subrayado en rojo) es el género más abundante.



Anexo 8. Correlograma entre propiedades fisicoquímicas vs microorganismos a nivel de género

Consiste en un gráfico de correlación de Spearman. En escala de color, el azul indica un valor de p positivo y el rojo un valor negativo, entre más oscuro el color indica valor cercano a 1 o -1 según corresponda. Las “U” al final del nombre del género indican a cuantos niveles taxonómicos anteriores no se encuentra clasificado. Encuadrados en rojo los grupos que no presentaron correlación significativa con ninguna propiedad. Las “X” sobre los círculos indican una correlación significativa. Los corchetes, flechas y números, indican a phyla pertenecen esos géneros: 1. Acidobacteria, 2. Actinobacteria, 3. Armatimonadetes, 4. Bacteroidetes, 5. Chloroflexi, 6. Cyanobacteria, 7. Firmicutes, 8. Gemmatimonadetes, 9. Nitrospirae, 10. Planctomycetes, 11. Proteobacteria y 12. Saccharibacteria.

