



## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial

Evaluación del microbioma bacteriano en suelos de bosques de montaña  
conservados y perturbados del nororiente de Guatemala

DIGI 4.61

Centro Universitario de Zacapa

Olga Alejandra Zamora Jerez

Guatemala, 29/02/2024

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **Contraportada (reverso de la portada)**

#### **Autoridades**

Dra. Alice Burgos Paniagua  
Directora General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar  
Coordinador General de Programas

Inga. Liuba María Cabrera Ovalle  
Coordinadora del Programa de Investigación

#### **Autores**

Olga Alejandra Zamora Jerez  
Angela Begonia Barrios Palacios  
Miltón Valerio Urzua Duarte  
Luis Fernando Chicojay de León

#### **Colaboradores:**

Manuel Alejandro Barrios Izás  
Centro Universitario de Zacapa, Universidad de San Carlos de Guatemala

Jorge Mario Cortez Jordán  
Centro Universitario de Izabal, Universidad de San Carlos de Guatemala

Francisco Herrarte Samayoa  
Universidad del Valle de Guatemala

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación (Digi), 2023.  
El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada con recursos del Fondo de Investigación de la Digi de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la partida presupuestaria 4.61 en el Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial.

Los autores son responsables del contenido, de las condiciones éticas y legales de la investigación desarrollada.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **1 Índice general**

1	Índice general	3
2	Índice de cuadros	5
3	Índice de figuras	5
4	Resumen	6
5	Abstract	7
6	Introducción	8
7	Antecedentes	9
8	Planteamiento del problema	10
9	Marco teórico	11
9.1	El suelo y su microbioma	11
9.2	Importancia de las técnicas de secuenciación masiva en Metataxonómica	13
10	Estado del arte	14
10.9	Composición y estructura del microbioma del suelo	14
10.10	Degradación del microbioma del suelo	15
11	Objetivos	16
11.1	General	16
11.2	Específicos	16
12	Hipótesis	16
13	Materiales y métodos	17
13.1	Delimitación en tiempo y espacio	17
13.2	Enfoque de la investigación	18
13.3	Método	19
13.3.1	Colecta de muestras de suelo	19
13.3.2	Protocolos de medición de parámetros fisicoquímicos del suelo	19
13.3.3	Protocolos de laboratorio de Biología Molecular	20
13.3.4	Protocolos de bioinformática para el análisis de datos crudos y estadísticas	21

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

13.4	Recolección de información	22
13.4.1	Universo de estudio y tamaño de la muestra	22
13.4.2	Laboratorios involucrados	24
13.5	Técnicas e instrumentos	25
13.6	Operacionalización de las variables o unidades de análisis	25
13.7	Procesamiento y análisis de la información	26
14	Resultados y discusión	26
14.1	Resultados	26
14.2	Discusión de resultados	35
15	Conclusiones	39
16	Recomendaciones	40
17	Referencias	40
18	Apéndice	47
19	Vinculación	53
20	Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual	53
21	Aporte de la propuesta de investigación a los Prioridades Nacionales de Desarrollo (PND) identificando su meta correspondiente:	54
22	Orden de pago final (incluir únicamente al personal con contrato vigente al 31 de diciembre de 2023)	54
23	Declaración del Coordinador(a) del proyecto de investigación	55
24	Aval del Director(a) del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario	55
25	Visado de la Dirección General de Investigación	56

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **2 Índice de cuadros**

<b>Cuadro 1.</b> Información de los sitios de colecta muestreados, el uso del suelo y tipo de vegetación asociada.	23
<b>Cuadro 2.</b> Objetivos y operacionalización de las variables o unidades de análisis	25
<b>Cuadro 3.</b> Base de datos, información de campo y datos de toneladas de carbono y nitrógeno en el suelo	47
<b>Cuadro 4.</b> Sets de muestras para realizar extracción de adn y resultados de cuantificación.	49
<b>Cuadro 5.</b> Datos del proceso de filtración, procesamiento y remoción de quimeras	51
<b>Cuadro 6.</b> Resultados de los índices de diversidad alfa.	52

### **3 Índice de figuras**

<b>Figura 1.</b> Mapa de la república de guatemala mostrando el área en el nororiente en donde se llevaron a cabo los muestreos.	17
<b>figura 2.</b> Mapa del departamento de zacapa mostrando los sitios (puntos negros) donde se realizaron los muestreos.	18
<b>figura 3.</b> Esquema de los cuadrantes utilizados para la toma de muestra. Las equis azules representan los puntos en los cuales se tomaron las submuestras de suelo.	19
<b>figura 4.</b> Abundancia de a. Filos y b. Familias por sitio muestreado y uso del suelo.	27
<b>figura 5.</b> Abundancia de a. Filos y b. Familias por sitio muestreado y tipo de vegetación	28
<b>figura 6.</b> Curva de rarefacción de las muestras procesadas.	29
<b>figura 7.</b> Índice de shannon (diversidad alfa) de los diferentes sitios y usos de suelo.	30
<b>figura 8.</b> Índice de equidad de simpson de los diferentes sitios y usos de suelo.	30
<b>figura 9.</b> Nmnds de los tres sitios muestreados por uso del suelo (bosque o plantación).	31
<b>figura 10.</b> Nmnds de los sitios muestreados y los diferentes tipos de vegetación.	32
<b>figura 11.</b> Toneladas de carbono por hectárea en cada sitio de muestreo y en los diferentes usos del suelo.	33
<b>figura 12.</b> Toneladas de nitrógeno por hectárea en cada sitio de muestreo y en los diferentes usos del suelo.	34

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **4 Resumen**

El suelo es uno de los ecosistemas más diversos, su microbioma representa el mayor reservorio de biodiversidad en el mundo. Estos cumplen varias funciones esenciales para diversos ecosistemas. Sin embargo, esta diversidad se ve amenazada por actividades antropogénicas. En Guatemala no se cuenta con información sobre el estado del microbioma de los suelos y los impactos que la perturbación puede tener en estos sistemas. El objetivo del proyecto era evaluar los efectos de la perturbación en la estructura y diversidad de las comunidades de bacterias en los suelos de bosques de montañas de Zacapa.

Para ello se caracterizaron las comunidades de bacterias en tres áreas del departamento de Zacapa: Sierra de las Minas, Bosque Municipal de la Unión y San Diego. En cada sitio se tomaron muestras en área de bosque y de plantaciones con diferentes tipos de vegetación asociada. Se utilizaron métodos de metataxononía y bioinformática para poder catacterizar el microbioma bacteriano de estos sitios. Submuestras fueron enviadas para análisis de contenido carbono y nitrógeno.

Se determinó que los filos más abundantes en todos los sitios fueron Proteobacteria, Acidobacteriota, Actinobacteriota y Firmicutes. En general se encontró diferencias significativas en cuanto a riqueza y abundancia de especies de los diferentes sitios, usos de suelo, tipo de vegetación y cantidad de carbono o nitrógeno secuestrado. Los diferentes manejos del suelo están relacionados con la abundancia y presencia o ausencia de algunos taxa. El bosque nuboso, el sistema menos perturbado, presentó una mayor diversidad de comunidades de bacterias y secuestro de carbono.

**Palabras clave:** Comunidades de bacterias, metataxononía, bosque nuboso, plantaciones, carbono.

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

### 5 Abstract

Soil is one of the most diverse ecosystems, its microbiome represents the largest reservoir of biodiversity in the world. They fulfill several essential functions for diverse ecosystems. However, this diversity is threatened by anthropogenic activities. In Guatemala, there is no information about the state of the soil microbiome and the impacts that disturbance can have on these systems. The main objective of the project was to evaluate the effects of disturbance on the structure and diversity of bacterial communities in mountain forest soils of Zacapa.

For this aim, bacterial communities were characterized in three sites of the department of Zacapa: Sierra de las Minas, Bosque Municipal de la Unión and San Diego. At each site, samples were taken in forest and plantation areas with different types of associated vegetation. Metabarcoding and bioinformatics methods were used to determine the bacterial microbiome of these sites. In addition, samples were sent for carbon and nitrogen content analysis.

The most abundant phyla at all sites were Proteobacteria, Acidobacteriota, Actinobacteriota and Firmicutes. In general, significant differences were found in species richness and abundance among the different sites, soil uses, vegetation type and amount of carbon or nitrogen sequestered. Different soil management is related to the abundance and presence or absence of some taxa. The cloud forest, the least disturbed system, presented a greater diversity of bacterial communities and carbon sequestration.

**Keywords:** Bacterial communities, metabarcoding, cloud forest, crop plantations, carbon.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **6 Introducción**

El microbioma se define como las comunidades de microorganismos (bacterias, hongos, procariotas y virus) que habitan un espacio o ecosistema (Lederberg 2001). En los suelos, el microbioma representa el mayor reservorio de biodiversidad en el mundo (Tripathi *et al.*, 2016) y cumple varias funciones esenciales para los diversos ecosistemas, como reciclaje de nutrientes y descomposición de materia orgánica (Herman *et al.*, 2012; Jansson & Hofmockel 2019). Además, se ha documentado que es esencial en los procesos fisiológicos y bioquímicos para el crecimiento y salud de las plantas (Wei *et al.*, 2019).

Cambios en parámetros naturales como temperatura y precipitación afectan la diversidad de los microbiomas en los suelos (Rocca *et al.*, 2019). Al mismo tiempo, presiones antropogénicas como cambios en el uso de la tierra y deforestación afectan factores abióticos como el pH (Rousk *et al.*, 2010; Zhalnina *et al.*, 2015) y el contenido de ciertos elementos esenciales en el suelo (Murty *et al.* 2002); lo que a su vez influye en la composición y diversidad del microbioma (Tripathi *et al.*, 2016).

La composición y estructura de las comunidades bacterianas en el suelo puede influir directamente en el microbioma de organismos que habitan un ecosistema. Por ejemplo, se sabe que la diversidad de microbiomas en el suelo está relacionada con las comunidades de bacterias en la piel de ciertos anfibios (Kueneman *et al.*, 2014) lo cual les provee protección contra patógenos emergentes. Estos cambios también pueden afectar al ser humano. Blum *et al.* (2019) estudió la relación entre el microbioma del suelo, la urbanización y del sistema digestivo de los humanos y concluyó que ha habido un declive en la diversidad alfa del microbioma del sistema digestivo, lo cual puede tener consecuencias para nuestra salud.



## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Anteriormente, los estudios de suelos se restringieron a la evaluación de parámetros físicos, químicos y a la evaluación de la presencia/ausencia de algunos microorganismos por medio de técnicas de histología, medios de cultivo o algunos marcadores moleculares. Con el desarrollo de las técnicas de secuenciación masiva, en especial las técnicas de secuenciación de nueva generación se ha podido estudiar la complejidad del microbiota presente en los suelos, así como la expresión génica de los microorganismos y la producción de metabolitos (Sergaki et al., 2018).

En Guatemala no existe información sobre del microbioma de suelos, ni cómo este se puede ver influenciado por los diferentes manejo y usos. El objetivo general del proyecto era evaluar los efectos de la deforestación en la estructura y diversidad de las comunidades de bacterias en los suelos de bosques de montaña de Zacapa. Para ellos se tomaron muestras en suelos con diferentes grados de perturbación y uso. Se estandarizaron protocolos de laboratorio para la extracción, amplificación y secuenciación en masa de la región V3-V4 del gen 16S de las comunidades bacterianas asociadas al suelo. Los resultados fueron analizados bioinformáticamente utilizando diferentes lenguajes y paquetes computacionales. Este estudio generó información valiosa sobre la diversidad de bacterias en suelos guatemaltecos con diversos usos y es un punto de partida para el uso de herramientas de ADN ambiental y secuenciación en masa.

### **7 Antecedentes**

Los suelos son uno de los ecosistemas más diversos en nuestro planeta, son ambientes dinámicos, cuya composición y estructura sirve como reservorio de una gran diversidad de microbios. El conjunto de bacterias, hongos, virus y procariotas que lo habitan conforma el microbioma del suelo (Lederberg & McCray, 2001). La ecología de los suelos de bosques se ha enfocado en estudiar las interacciones entre hongos y el ecosistema, sin

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

embargo, también es necesario comprender el rol de las comunidades bacterianas y sus interacciones con los demás organismos.

Las comunidades de bacterias en suelos de los bosques cumplen funciones importantes para el ecosistema (Herman et al., 2012; Jansson & Hofmockel, 2020). La estructura de estas comunidades está influenciada por la disponibilidad de nutrientes de los diferentes microhábitats que ocupan (e.g, raíces, suelo, hojarasca, madera podrida) y las interacciones bióticas con otros organismos (Lladó et al., 2017).

Se ha documentado que las comunidades de bacterias en suelos de bosques pueden responder de diferentes maneras a los efectos del cambio climático, como lo son niveles elevados de dióxido de carbono (Norby *et al.*, 2005; Schindlbacher *et al.*, 2011; Schindlbacher *et al.*, 2015) o acumulación de nitrógeno debido a manejo antropogénico del suelo (Gschwendtner et al., 2016; Long et al., 2012). Sin embargo, esto solamente se ha estudiado en algunos tipos de bosque y la respuesta de las comunidades bacterianas puede variar dependiendo del ecosistema estudiado y las presiones a las que se enfrenta.

En Guatemala no existe información sobre del microbioma de suelos, ni cómo este se puede ver influenciado por los diferentes manejo y usos.

### **8 Planteamiento del problema**

La pérdida de biodiversidad de los microorganismos en los suelos puede ser perjudicial para las demás especies que habitan en el ecosistema. Es importante describir la diversidad de bacterias en suelos con diferentes usos o perturbaciones para determinar si existen diferencias en cuanto a la diversidad de grupos taxonómicos (Doran & Zeiss, 2000). En este estudio se determinó el impacto que perturbaciones de suelos naturales tienen en la composición de las comunidades de bacterias. Esto nos permitirá entender de mejor manera

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

las consecuencias que estos cambios pueden tener en la salud del ecosistema y por ende en la salud de los organismos que lo habitan, incluyendo a los seres humanos.

Para poder entender y conservar mejor estas comunidades, uno de los primeros pasos es caracterizarlas y determinar de qué especies están compuestas y cómo se relacionan con su entorno. Hasta donde se sabe Guatemala no cuenta con información o estudios de metagenómica sobre las comunidades de bacterias en el suelo de los bosques de montaña. Es importante generar esta información para poder crear programas de conservación acorde a las necesidades de los ecosistemas y para preservar las interacciones que existen entre organismos.

## **9 Marco teórico**

### **9.1 El suelo y su microbioma**

Los suelos son uno de los ecosistemas más diverso en nuestro planeta, son ambientes dinámicos, cuya composición y estructura sirve como reservorio de una gran diversidad de microbios. Es un recurso natural no renovable el cual es fundamental para el desarrollo de la vida en los ecosistemas terrestres, y en el cual se cumplen funciones importantes dentro cómo la fijación de nitrógeno, carbono, azufre y fósforo (Berhe et al., 2018), que son esenciales para el crecimiento de las plantas (Barker & Pilbeam, 2016). La magnitud y forma en la que interactúan los procesos abióticos y bióticos definen la salud de los suelos, siendo el microbioma el componente biótico de mayor importancia en los procesos bioquímicos que se llevan a cabo en este ecosistema (Frac et al., 2018; Jansson & Hofmockel, 2020; Poveda-Coronel et al., 2018).

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

El microbioma del suelo se define como el conjunto de microorganismo (bacterias, hongos, virus y procariotas) que habitan el mismo (Lederberg & McCray, 2001). Estos son los principales responsables de la degradación de la materia orgánica y reciclaje de nutrientes, seguidos de la mesofauna del suelo que incluye a lombrices y organismos detritívoros (Moore *et al.*, 1988). La ecología de los suelos de bosques se ha enfocado en estudiar las interacciones entre hongos y el ecosistema, sin embargo, también es necesario comprender el rol de las comunidades bacterianas y sus interacciones con los demás organismos.

Las comunidades de bacterias en suelos de bosques cumplen funciones importantes para el ecosistema (Herman *et al.*, 2012; Jansson & Hofmockel, 2020). La estructura de estas comunidades está influenciada por la disponibilidad de nutrientes de los diferentes microhábitats que ocupan (e.g, raíces, suelo, hojarasca, madera podrida) y las interacciones bióticas con otros organismos (Lladó *et al.*, 2017). Las bacterias llevan a cabo varios procesos esenciales, los cuales están involucrados en el ciclo del carbono, nitrógeno (fijación de Nitrógeno) y fósforo. Estas pueden tener una relación de comensalismo con las raíces de las plantas y las micorrizas de los hongos la cual es crucial para el funcionamiento de varios procesos de reciclaje de nutrientes (Lladó *et al.*, 2017). Además ayudan a la descomposición de biomasa de plantas y animales muertos (Herman *et al.*, 2012; Jansson & Hofmockel, 2020; Lladó *et al.*, 2017).

Se ha documentado que las comunidades de bacterias en suelos de bosques pueden responder de diferentes maneras a los efectos del cambio climático, como lo son niveles elevados de dióxido de carbono (Norby *et al.*, 2005; Schindlbacher *et al.*, 2011; Schindlbacher *et al.*, 2015) o acumulación de nitrógeno debido a manejo antropogénico del suelo (Long *et al.*, 2012; Gschwendtner *et al.*, 2016).

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

A nivel mundial no se cuenta con suficiente información para realizar modelos predictivos sobre cómo van a responder las comunidades. Por ello, es crucial caracterizar la diversidad de bacterias en el suelo para comprender cómo los cambios en la estructura y composición de las comunidades de microorganismos pueden influir en las interacciones y procesos del suelo que habitan.

### **9.2 Importancia de las técnicas de secuenciación masiva en Metataxonómica**

Con el desarrollo de las técnicas de secuenciación de ADN se han dado avances en el estudio y caracterización de los microorganismos (Cermak et al., 2020). Previo a la era de la secuenciación, el estudio de microorganismos se realizaba con técnicas de microscopía, metabolitos y medios de cultivo que restringían el estudio de comunidades a los microorganismos más abundantes o bien que podían reproducirse en medios de cultivo, además, limitando la selección de ciertos genotipos (Myrold & Nannipieri, 2014). Con el desarrollo de la secuenciación Sanger se hizo posible la lectura de la cadena de ADN con lecturas miles de nucleótidos de longitud y permitió secuenciar los primeros genomas de *Saccharomyces cerevisiae* y *Escherichia coli*, hasta llegar a la secuenciación del genoma humano el cual demoró 13 años (Kanavakis & Xaidara, 2001). Con el desarrollo de las técnicas de secuenciación masiva de nueva generación (ej. Roche, Solexa, IonTorrent e Illumina) la velocidad de secuenciación se incrementó y los costos por nucleótido secuenciado disminuyeron drásticamente (Ambardar et al., 2016; Cox et al., 2010), en la actualidad el genoma humano puede ser secuenciado en menos de 48 horas (ej. Novaseq). Sin embargo, las longitudes de secuenciación de nueva generación son en promedio, de 150 nucleótidos, esto demanda a su vez alta capacidad computacional y métodos bioinformáticos para procesar los millones de lecturas que generan los equipos (Ayyildiz & Piazza, 2019; Gauthier et al., 2019).

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Con el desarrollo de los métodos de secuenciación de nueva generación surgió la ciencia de datos ómicos que comprende el estudio del genoma de un organismo (genómica), el genoma de varios organismos simultáneamente (metagenómica), la expresión diferencial del ARN mensajero (exómica), el estudio de las proteínas producidas por un organismo (proteómica), el estudio sistemático del fenotipo (fenómica) o el estudio de los factores ambientales que pueden afectar la expresión génica (exosómica), entre otros (Santos *et al.*, 2020).

### **10 Estado del arte**

#### **10.9 Composición y estructura del microbioma del suelo**

En el estudio de Tripathi *et al.*(2016) se caracterizaron los microbiomas bacterianos de cinco diferentes tipos de bosques tropicales en Borneo. Los grupos de bacterias dominantes en los bosques evaluados fueron *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* y *Chloroflexi*. Los análisis de la diversidad alfa y beta permitieron establecer que existían diferentes tipos de comunidades bacterianas en cada uno de los tipos de bosques tropicales evaluados. Así mismo, se encontró que los phyla más abundantes fueron *Proteobacteria* y *Acidobacteria*.

En Puerto Rico, Rivera-Rivera & Cuevas (2020) estudiaron las variaciones del microbioma bacteriano en bosques secos en la temporada lluviosa y seca. Encontraron que los grupos de bacterias más abundantes fueron *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Planctomycetes*, *Acidobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospirae* y *Verrucomicrobia*. En el estudio encontraron que la riqueza, diversidad y equidad de los ensamblajes de bacterias se vieron impactados por los patrones de lluvia, de tal manera que se apreciaron diferencias entre los ensamblajes de la época lluviosa y seca.

En un estudio que llevaron a cabo Liu *et al.* (2019), sobre la reducción de micronutrientes mediados por bacterias del suelo, encontraron que la degradación de los ecosistemas

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

produjo cambios significativos sobre la composición y abundancia de las bacterias como una respuesta a los cambios ambientales. Las bacterias más abundantes en ecosistemas conservados fueron *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Nitrospirae*, *Firmicutes* y *Crenarchaeota*.

### **10.10 Degradación del microbioma del suelo**

La buena salud del suelo permite que el ecosistema sea más resiliente a cambios y presiones del ambiente. De acuerdo con el informe del estado de los recursos mundiales del suelo (FAO, 2015; Oliver & Gregory, 2015) la salud de estos es fundamental en la seguridad alimentaria. La degradación del microbioma de este ecosistema es un problema a nivel mundial que se ve agravado por la deforestación, mal uso de agroquímicos y las prácticas de la agricultura intensiva y de monocultivos que se desarrollaron con la revolución verde a mediados del siglo XX para cubrir la demanda mundial de alimentos (Figuerola *et al.*, 2015; Cassman *et al.*, 2016).

De acuerdo con Kerfahi *et al.* (2014), la estructura de las comunidades de hongos en suelos de Borneo se ha visto afectadas por cambios en el uso de la tierra. Tripathi *et al.* (2016) encontró que el microbioma en suelos de cultivo de palma africana difiere significativamente del microbioma de los bosques naturales del sureste asiático registrándose una disminución en la riqueza de microorganismos que los habitan. Resultados similares se encontraron al estudiar las comunidades de bacterias asociadas a suelos de la Amazonía que han sido transformados para agricultura y ganadería (Navarrete *et al.*, 2015). Sin embargo, transformaciones en las prácticas agrícolas actuales pueden tener impactos positivos sobre el microbioma, por ejemplo, se ha visto que prácticas como cultivos de sombra pueden ser beneficiosos para la diversidad de bacterias ya que el porcentaje de la cobertura se ha relacionado con un aumento significativo de la abundancia del microbioma (Kim *et al.*, 2020).

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **11 Objetivos**

#### **11.1 General**

Evaluar los efectos de la perturbación en la estructura y diversidad de las comunidades de bacterias en los suelos de bosques de montañas de Zacapa.

#### **11.2 Específicos**

- Caracterizar las comunidades de bacterias en suelos de bosques de montaña de Zacapa.
- Determinar si existen diferencias entre las comunidades de bacterias de suelos con diferentes grados de perturbación.
- Determinar si factores bióticos y abióticos influyen la composición de las comunidades bacterianas de los diferentes sitios de muestreo

### **12 Hipótesis**

La reducción en la calidad de la cobertura vegetal y la mesofauna del suelo impacta sobre los ensamblajes de bacterias del suelo, al reducir la riqueza y diversidad de OTUs o ASVs.



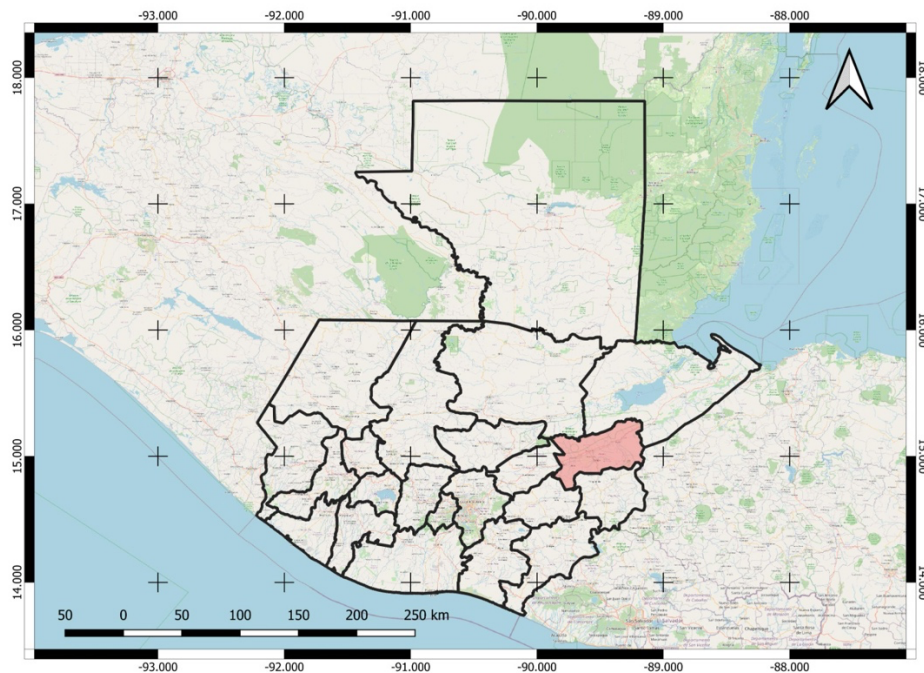


## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

### 13 Materiales y métodos

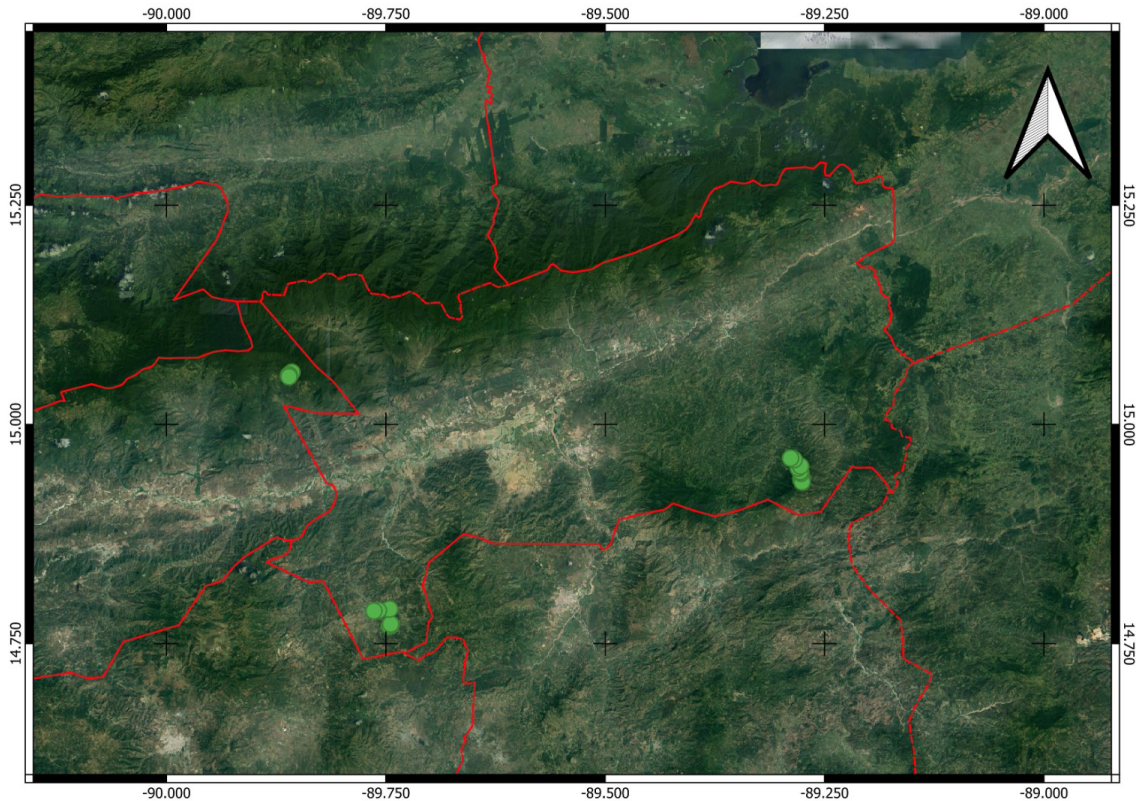
#### 13.1 Delimitación en tiempo y espacio

El proyecto tuvo una duración de 11 meses, a partir del 1 de marzo al 31 de diciembre de 2023. El estudio se llevó a cabo en el departamento de Zacapa, al este de Guatemala (figura 1). El departamento de Zacapa posee una extensión territorial de 2690 km<sup>2</sup> y se encuentra asentado sobre la Sierra de El Merendón, la falla del Motagua y la Sierra de Las Minas. Los sitios de muestreo fueron Finca El Olvido, Sierra de las Minas; Bosque Municipal de la Unión y San Diego (figura 2, cuadro 1).



**Figura 1.** Mapa de la república de Guatemala mostrando el área en el nororiente en donde se llevaron a cabo los muestreos.

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023



**Figura 2.** Mapa del departamento de Zacapa mostrando los sitios (puntos negros) donde se realizaron los muestreos.

### 13.2 Enfoque de la investigación

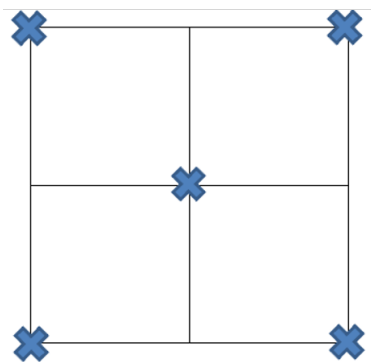
El enfoque de esta investigación era cualitativo y cuantitativo, en el cual se caracterizó la composición y estructura de las comunidades de bacterias de suelos con diferentes usos (perturbación) del departamento de Zacapa. A su vez se obtuvieron índices de biodiversidad alfa y beta, y se obtuvieron estadísticos para determinar diferencias significativas entre sitios de muestreo.

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

### 13.3 Método

#### 13.3.1 Colecta de muestras de suelo

En cada sitio se buscaron puntos con diferentes tipos de perturbación. Desde bosques intactos hasta parcelas utilizadas para cultivos de diferentes variedades. Se realizaron cuadratos de 1 x 1 mts dentro de los cuales se midieron cuadros internos de 0.5 x 0.5 mts (figura 3). Se tomó una submuestra en cada una de las esquinas del cuadrante grande y en el centro de este. Estas submuestras se mezclaron como una sola muestra para obtener una mejor representación de las comunidades de bacterias. Las muestras fueron rotuladas y trasladadas en hielo seco al Instituto de Investigaciones del Centro Universitario de Zacapa donde se almacenaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta realizar la extracción de ADN.



**Figura 3.** Esquema de los cuadrantes utilizados para la toma de muestra. Las equis azules representan los puntos en los cuales se tomaron las submuestras de suelo.

#### 13.3.2 Protocolos de medición de parámetros fisicoquímicos del suelo

Las muestras fueron enviadas al laboratorio de análisis de suelos del Centro de Estudios Ambientales y Biodiversidad de la Universidad del Valle de Guatemala para realizar pruebas fisicoquímicas. Se obtuvieron datos de carbono y nitrógeno orgánico (%), la densidad de suelo aparente (g/cc) y las toneladas carbono (tC/ha) y nitrógeno (tN/ha) orgánico en suelo.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **13.3.3 Protocolos de laboratorio de Biología Molecular**

#### **Extracción de ADN de suelos con tratamiento PBS (Taberlet et al. 2018)**

Para realizar la extracción de ADN se realizó un pre-tratamiento de las muestras de suelo. Para ello se pesaron 15 gms de las muestras obtenidas en campo, estas se colocaron dentro de tubos Falcon estériles de 50mL y se les agregó 15 mL de buffer PBS (Buffer saturado de fosfatos). Las muestras se mezclaron por 15 minutos para homogeneizarlas bien, siguiendo las recomendaciones de Taberlet *et al.* 2018. Este primer paso es útil para separar las moléculas de ADN extracelular que puedan estar unidas a partículas del suelo cargadas negativamente. Adicionalmente se agregó buffer PBS en un tubo estéril vacío. Este se tomó como control negativo en cada set de extracción.

Luego del pre-tratamiento se realizaron las extracciones utilizando el kit Qiagen DNeasy® PowerSoil® Kit. Se utilizó el protocolo recomendado con las siguientes modificaciones: las muestras se incubaron por 10 minutos antes de realizar la elución final de ADN y se eluyó solamente en 100ul de buffer para que la muestra de ADN estuviera concentrada. Las muestras se cuantificaron por métodos fluorimétricos utilizando un Qubit 4 (Thermo Fisher) para determinar la cantidad exacta de ADN de doble hebra extraído (cuadro 4, en apéndice).

Las muestras de ADN y controles negativos fueron enviadas a Macrogen Corea para ser amplificadas para las regiones V3-V4 del gen 16s utilizando los cebadores 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3' y 5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'. Las muestras fueron secuenciadas en una celda de flujo Illumina® MiSeq y el proceso de secuenciación se llevó a cabo en un Illumina® MiSeq. Los datos de muestras crudas fueron recibidos vía correo electrónico y almacenamiento virtual.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **13.3.4 Protocolos de bioinformática para el análisis de datos crudos y estadísticas**

#### **Preprocesado de las lecturas**

Las lecturas crudas fueron procesadas con Cutadapt (Martin 2014) para remover los cebadores V3 y V4 utilizados durante la amplificación. Se permitió un error de secuenciación del 20%. Los análisis bioinformáticos se realizaron en DADA2 (Callahan *et al.* 2016) Para esto se procesaron un total de 50 ficheros en formato FASTQ con la información de secuenciación. Los ficheros se procesaron en pares de lecturas “forward” y “reverse”. Con DADA2 se revisó la calidad de las secuencias, se cortaron las lecturas en base al valor de Phred mínimo de 30 y se filtraron para utilizar solamente los datos que pasaran el control de calidad.

Posteriormente se eliminaron replicas y las secuencias quiméricas. Finalmente se realizó la asignación taxonómica, para ello se descargó la base de datos de Silva (Quast *et al.*, 2013) versión 138 para identificar genes ribosomales 16S con una referencia de 99% de identidad. Esto dio como resultado la base de datos de ASVs (variante de secuencia del amplicón) con las secuencias ya asignadas a un grupo taxonómico. Se realizó un árbol filogenético utilizando el paquete de R DECIPHER R (Wright 2016). Se cargó un archivo .csv con toda la metadata de campo y laboratorio para cada muestra. Por último se creó un objeto “phyloseq” que contenía toda la información taxonómica, el árbol filogenético y los metadatos para cada muestra.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **Diversidad Alfa y Beta**

Los análisis de diversidad se elaboraron utilizando el objeto phyloseq. Se crearon gráficos de abundancia por filos y familias para cada sitio y uso de suelo y para cada tipo de vegetación utilizando el paquete en el lenguaje R Phyloseq (McMurdie y Holmes, 2013). Las métricas de diversidad alfa estimadas fueron: Número de ASVs observados en la muestra, Índice de Diversidad de Shannon y de equidad de Simpson. En el caso de las métricas de diversidad beta estimadas se utilizó las siguientes: similitud de Jaccard, distancia UniFrac sin pesos y con pesos. En Phyloseq, se elaboraron análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) para visualizar los datos y diferencias entre los sitios, usos del suelo y tipos de vegetación muestreados.

Para evaluar si existe diferencias significativas en cuanto a la diversidad alfa de las muestras de acuerdo con los metadatos se realizaron pruebas de Anova con pruebas post hoc de Tukey y pruebas de Kruskal-Wallis con pruebas post hoc de Dunn. Para determinar si existen diferencias entre las comunidades de bacterias de acuerdo con el sitio, el uso del suelo o tipo de vegetación se realizaron Análisis de Varianza Permutacional Multivariado “PERMANOVA” en Vegan (Dixon, 2003).

Se construyeron curvas de rarefacción para determinar si la profundidad de secuenciación había sido suficiente para capturar a la mayor parte amplicones. Para esto se utilizó la tabla de abundancias de ASVs, el árbol filogenético y los metadatos.

### **13.4 Recolección de información**

#### **13.4.1 Universo de estudio y tamaño de la muestra**

El estudio se llevó a cabo en tres sitios de Zacapa (figura 2): finca El Olvido, Bosque Municipal de La Unión y San Diego. En cada uno de los sitios (cuadro 1) se buscaron

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

fragmentos del bosque en condiciones prístinas y áreas sin cobertura vegetal natural o con un diferente tipo de uso de la tierra para poder determinar las diferencias en cuanto la metataxonomía. El uso de suelo (perturbación) se clasificó como: bosque y plantación. En el caso del tipo de vegetación esta se clasificó como el tipo de bosque o cultivo del sitio.

El tamaño de la muestra para el estudio metataxonómico se seleccionó con base en que este tipo de estudios contiene alta fidelidad y no requiere un número alto de muestras técnicas (Li *et al.* 2021).

**Cuadro 1.** Información de los sitios de colecta muestreados, el uso del suelo y tipo de vegetación asociada.

Id muestra	Sitio de Colecta	Latitud	Longitud	Uso suelo	Tipo Vegetación
SM001	El Olvido, Sierra de las Minas	15.0570298	-89.8595544	Bosque	Bosque nuboso
SM002	El Olvido, Sierra de las Minas	15.057511	-89.8586873	Bosque	Bosque nuboso
SM003	El Olvido, Sierra de las Minas	15.0582492	-89.8581424	Bosque	Bosque nuboso
SM004	El Olvido, Sierra de las Minas	15.0590484	-89.8577496	Bosque	Bosque nuboso
SM005	El Olvido, Sierra de las Minas	15.0596205	-89.8570821	Bosque	Bosque nuboso
SM006	El Olvido, Sierra de las Minas	15.056659	-89.860045	Plantación	Güisquil
SM007	El Olvido, Sierra de las Minas	15.0565041	-89.8605786	Plantación	Güisquil
SM008	El Olvido, Sierra de las Minas	15.054554	-89.860434	Plantación	Maíz
LU001	Bosque Municipal La Unión	14.9375482	-89.2756056	Plantación	Cafetal
LU002	Bosque Municipal La Unión	14.9370521	-89.2768209	Bosque	Bosque mixto
LU003	Bosque Municipal La Unión	14.9345727	-89.2755313	Plantación	Maíz
LU004	Bosque Municipal La Unión	14.9443515	-89.2768063	Bosque	Bosque nuboso
LU005	Bosque Municipal La Unión	14.9462879	-89.2776833	Bosque	Bosque nuboso

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

LU006	Bosque Municipal La Unión	14.9462929	-89.2776947	Bosque	Bosque nuboso
LU007	Bosque Municipal La Unión	14.950285	-89.279898	Bosque	Bosque nuboso
LU008	Bosque Municipal La Unión	14.9524779	-89.2772729	Bosque	Bosque nuboso
LU009	Bosque Municipal La Unión	14.9599195	-89.2845402	Plantación	Maíz
LU010	Bosque Municipal La Unión	14.9615726	-89.2886202	Plantación	Cafetal
SD001	San Diego, Zacapa	14.770698	-89.744092	Bosque	Pino
SD002	San Diego, Zacapa	14.770508	-89.744996	Bosque	Pino
SD003	San Diego, Zacapa	14.770283	-89.745892	Bosque	Pino
SD004	San Diego, Zacapa	14.771643	-89.743905	Bosque	Pino
SD005	San Diego, Zacapa	14.772373	-89.74445	Bosque	Pino
SD006	San Diego, Zacapa	14.789488	-89.745655	Plantación	Maíz
SD007	San Diego, Zacapa	14.787894	-89.758503	Plantación	Maíz
SD008	San Diego, Zacapa	14.787309	-89.763507	Plantación	Maíz

### 13.4.2 Laboratorios involucrados

El estudio se llevó a cabo en el Instituto de Investigaciones del Centro Universitario de Zacapa. En el II-CUNZAC se realizarán los estudios metataxonómicos, de vegetación y entomológicos. El análisis de carbono se realizó en el laboratorio de carbono del Centro de Estudios Ambientales y Biodiversidad de la Universidad del Valle de Guatemala. La construcción de las bibliotecas de ADN y la secuenciación Illumina se llevó a cabo en un laboratorio comercial de análisis genómico.



## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

### 13.5 Técnicas e instrumentos

Para el análisis metataxonómico se utilizaron las técnicas moleculares descritas previamente, cómo la extracción y purificación del ADN genómico por medio del uso de kit comerciales para suelo, la amplificación del gen 16S, construcción de bibliotecas y secuenciación por síntesis con equipos Illumina.

### 13.6 Operacionalización de las variables o unidades de análisis

**Cuadro 2.** Objetivos y operacionalización de las variables o unidades de análisis

Objetivo	Variables
<b>Caracterizar las comunidades de bacterias en suelos de bosques de montaña de Zacapa.</b>	<p>Cuantificación de ADN genómico (ng/ul).</p> <p>Integridad de ADN genómico (geles de agarosa)</p> <p>Amplificación y visualización productos ADN (geles de agarosa)</p> <p>Calidad de las secuencias analizando los archivos con el paquete DADA2 y software Qiime</p> <p>Identificación de las bacterias utilizando las bases de datos para 16S de Silva.</p> <p>Obtención de abundancia relativa de los grupos identificados en paquete Phyloseq.</p>
Determinar si existen diferencias entre las comunidades de bacterias de suelos con diferentes grados de perturbación.	<p>Obtención de índices de biodiversidad alfa (Shannon, Simpson) y beta (Jaccard, UniFrac pesado y sin pesos).</p> <p>Uso de herramientas estadísticas para determinar si las diferencias observadas son significativas (Kruskal-Wallis, Anova, PERMANOVA).</p>
Determinar si factores abióticos y bióticos influyen en la composición de las comunidades bacterianas de los diferentes sitios de muestreo.	<p>Medición de factores fisicoquímicos como las cantidades de carbono y nitrógeno en las muestras. Así como la cobertura y perturbación de cada sitio.</p> <p>Uso de herramientas estadísticas para determinar si las diferencias observadas son significativas (Kruskal-Wallis, Anova, PERMANOVA, ANOSIM)</p>

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **13.7 Procesamiento y análisis de la información**

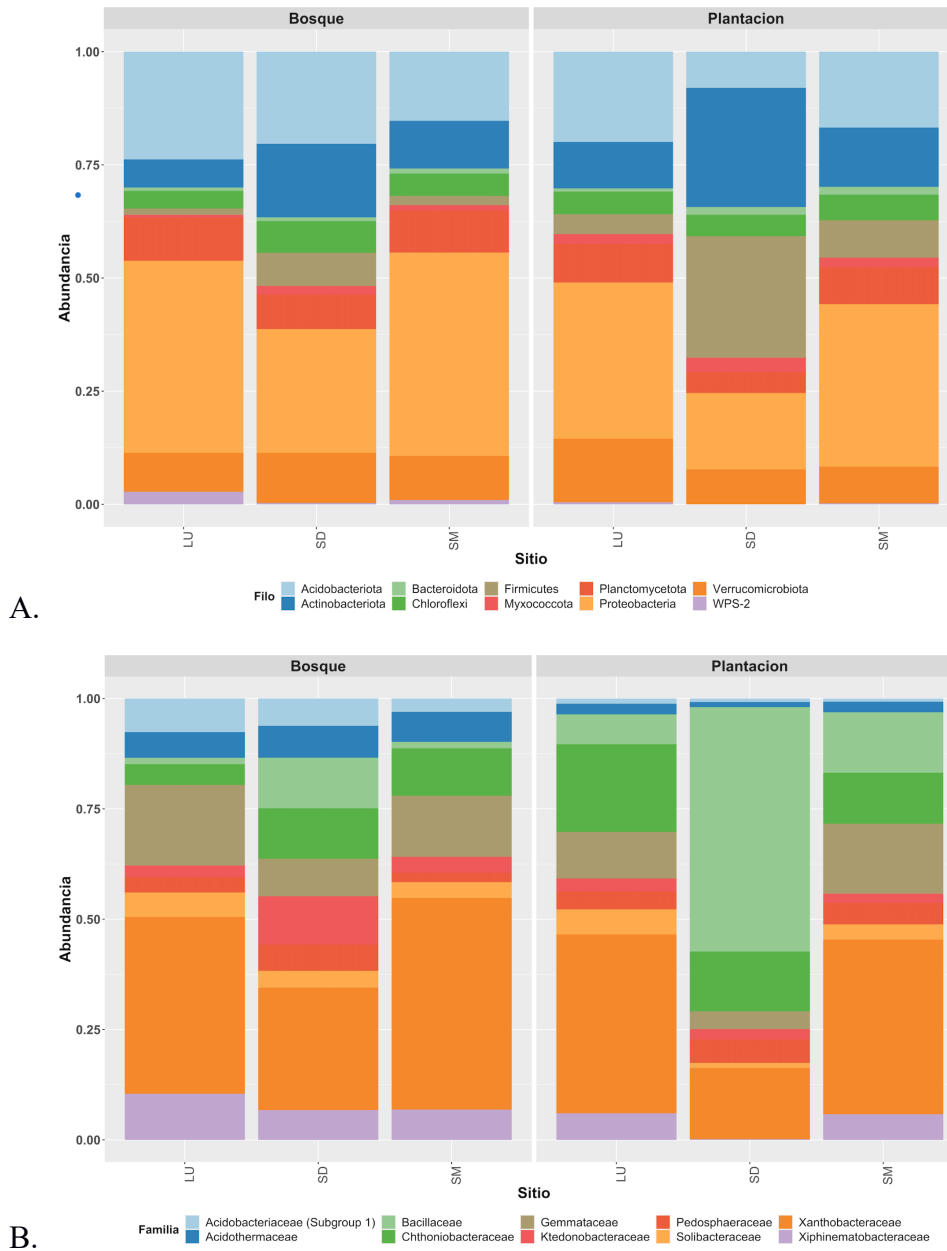
Para analizar los datos obtenidos de las librerías de secuenciación se utilizaron varias herramientas bioinformáticas. Primero las muestras fueron descomprimidas utilizando Cutadapt 2.10 (Martin, 2014) para obtener un set de muestras con el código de barras asignado y poder identificar las diferentes muestras. Para realizar los análisis de calidad y filtración de los archivos de secuenciación se utilizó QIIME (Caporaso et al., 2010) y DADA2 (Callahan et al., 2016). Con el paquete de R Phyloseq (McMurdie y Holmes, 2013), se crearon gráficas con datos de abundancia de los diferentes taxa encontrados. Así como para calcular diferentes índices de diversidad alfa y beta. Se realizaron análisis de varianza multivariado con permutaciones (PERMANOVA) utilizando VEGAN (Dixon, 2003) para determinar si existen diferencias significativas entre la diversidad beta y los tratamientos.

## **14 Resultados y discusión**

### **14.1 Resultados**

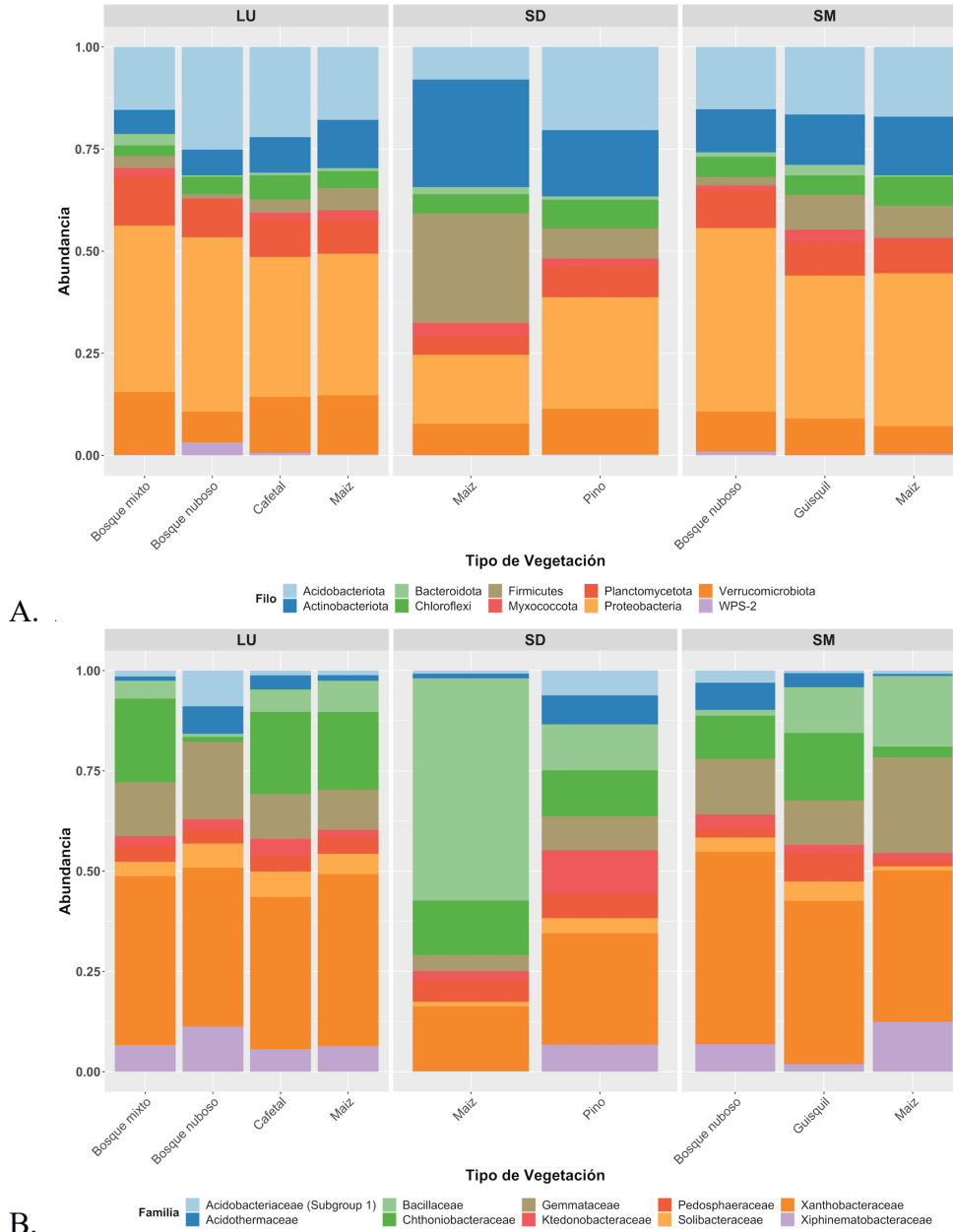
Se realizaron gráficos de abundancia de filos y familias por sitio y uso del suelo (bosque o plantación) (figura 4) y por sitio y tipo de vegetación (figura 5). En el caso de filos es Proteobacteria quien domina en todos los sitios, seguido por Actinobacteriota y Acidobacteriota. Las muestras de San Diego también se caracterizan por presentar abundancia del filo Firmicutes. Al analizar los gráficos de abundancia por familias las más abundantes fueron Xanthobacteraceae, Gemmataceae y Bacillaceae.

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023



**Figura 4.** Abundancia de A. filos y B. familias por sitio muestreado y uso del suelo.

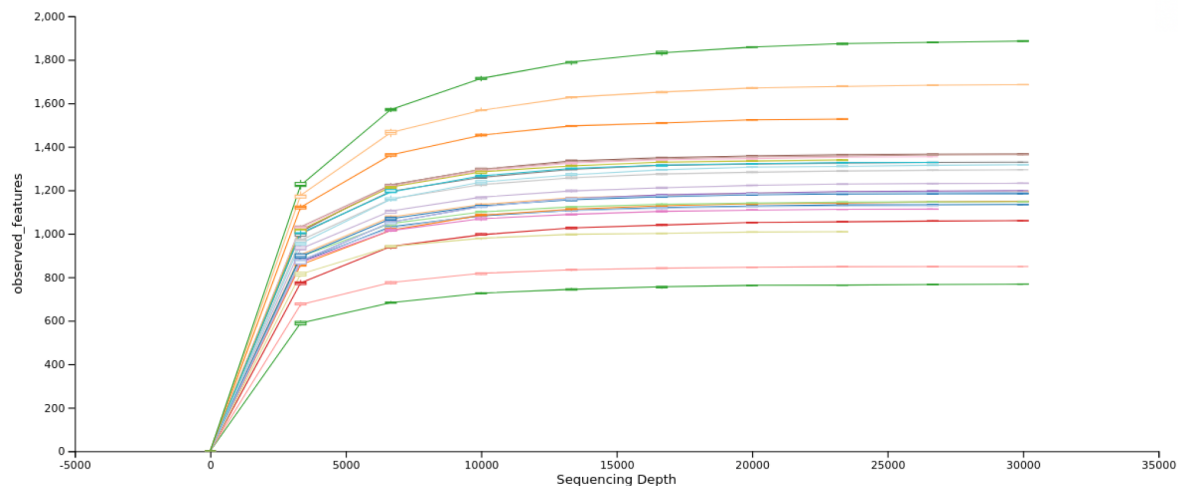
## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023



**Figura 5.** Abundancia de A. filos y B. familias por sitio muestreado y tipo de vegetación

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

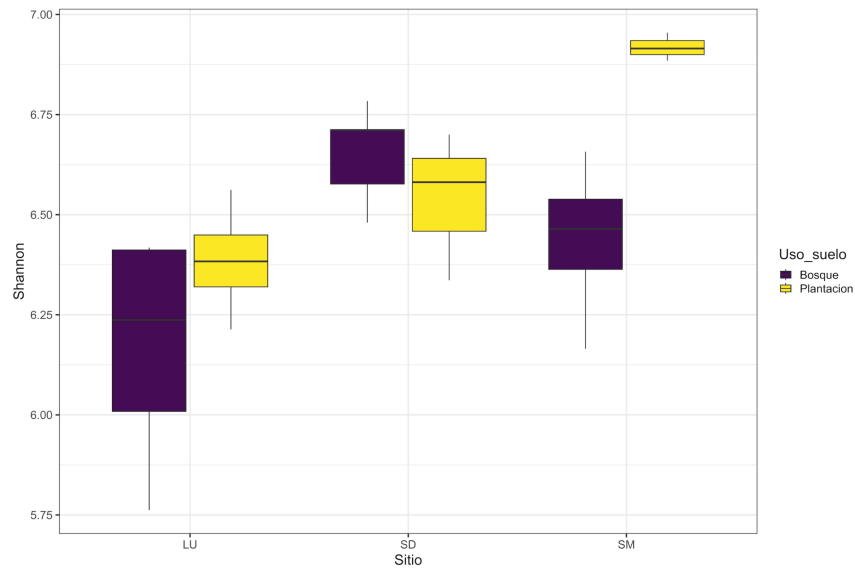
Para determinar si los análisis de secuenciación fueron lo suficientemente profundos para obtener la mayor parte de amplicones se realizó una curva de rarefacción (Figura 6). Se puede observar que todas las lecturas llegaron a la asíntota, por lo que los datos generados son confiables y la secuenciación fue exitosa.



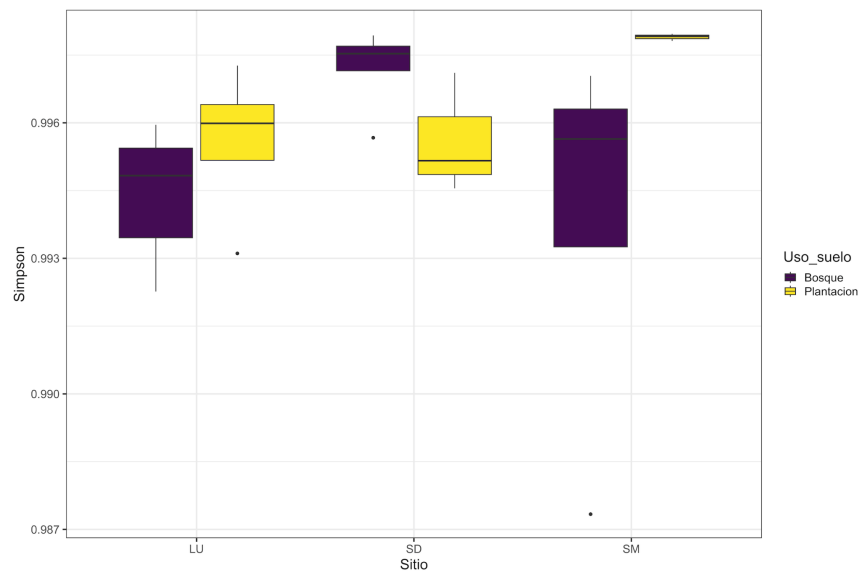
**Figura 6.** Curva de rarefacción de las muestras procesadas.

En cuanto a la diversidad alfa, se encontraron diferencias significativas para el índice de Shannon (figura 7) entre los diferentes sitios de muestreo ( $F=7.214$ ,  $p= 0.0039$ ), así como para el tipo de vegetación ( $F=3.175$ ,  $p= 0.03$ ), siendo la diferencia entre el bosque nuboso y los cultivos de güisquil. Para los diferentes usos de suelo no se encontraron diferencias significativas ( $t = -1.6537$ ,  $p = 0.1132$ ). En cuanto al índice de equidad de Simpson (figura 8) no se observaron diferencias significativas en los diferentes sitios de muestreo ( $\text{chi-squared} = 4.6832$ ,  $p= 0.096$ ), uso de suelo ( $W=55$ ,  $p=0.2852$ ) o tipo de vegetación ( $\text{chi-squared} = 12.941$ ,  $p= 0.02394$ ).

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023



**Figura 7.** Índice de Shannon (diversidad alfa) de los diferentes sitios y usos de suelo.

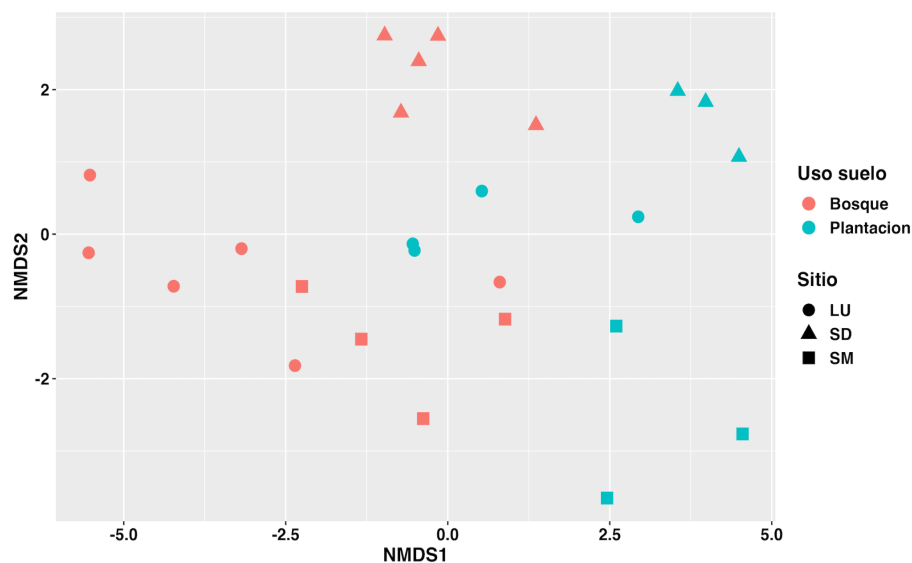


**Figura 8.** Índice de equidad de Simpson de los diferentes sitios y usos de suelo.

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

Los datos de diversidad beta de distancia de UniFrac indicaron que existen diferencias significativas entre los tres sitios de muestreo tanto para UniFrac pesado ( $F=3.154$ ,  $p>0.001$ ) como no pesados ( $F=1.902$ ,  $p>0.001$ ). Este patrón se encontró también para las distancias UniFrac entre los usos del suelo ( $F=5.33$ ,  $p>0.001$ ;  $F= 2.42$ ,  $p>0.001$ ) y para las distancias entre los tipos de vegetación ( $F=3.027$ ,  $p>0.001$ ;  $F=1.717$ ,  $p>0.001$ ). Por último, el índice de similitud de Jaccard determinó que existen diferencias significativas entre los sitios ( $F=1.5969$ ,  $p>0.001$ ), el uso del suelo ( $F=1.55$ ,  $p>0.001$ ) y la vegetación ( $F=1.367$ ,  $p>0.001$ ).

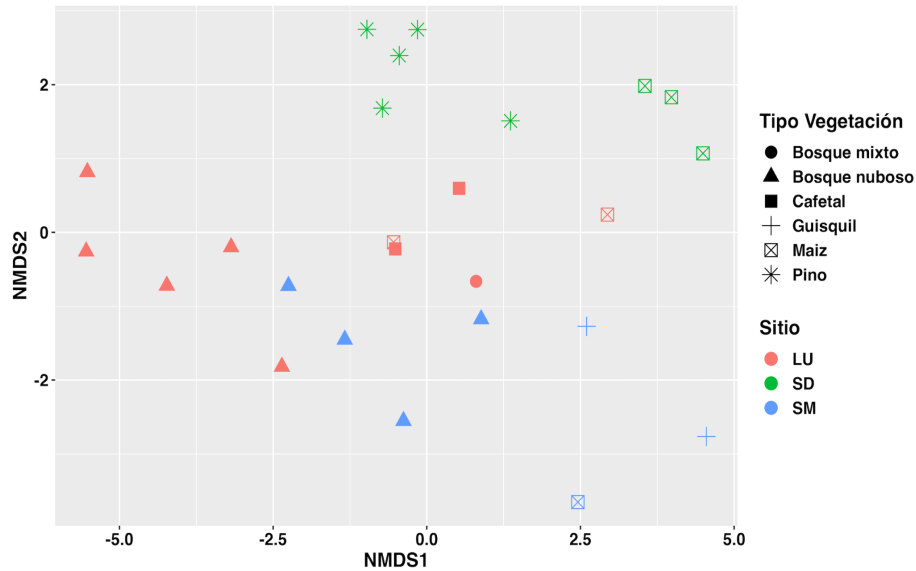
Se realizó un NMDS utilizando la distancia de Bray-Curtis para determinar patrones en cuanto a la composición de las comunidades de bacterias y los diferentes sitios, usos del suelo y tipos de vegetación (figuras 9 y 10). Se puede ver una clara tendencia de agrupamiento de las comunidades bacterianas de bosque y plantación. En cuanto al tipo de vegetación también se puede observar que las muestras se agrupan dependiendo del tipo de vegetación (figura 10).



**Figura 9.** NMDS de los tres sitios muestreados por uso del suelo (bosque o plantación).



## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

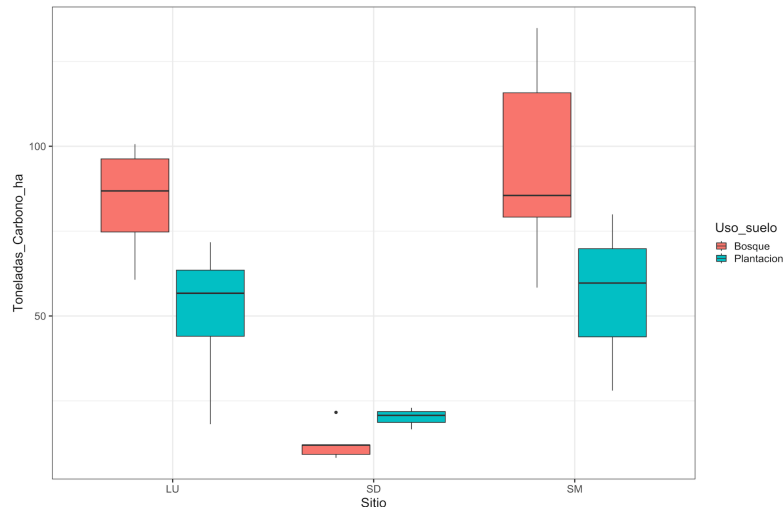


**Figura 10.** NMDS de los sitios muestreados y los diferentes tipos de vegetación.

Se midió la cantidad de carbono y nitrógeno (cuadro 3, en anexos) en cada una de las muestras. Se obtuvo cantidad de toneladas de los dos elementos por hectárea. En el caso del carbono (figura 11) se encontró diferencias significativas en cuanto a los sitios de muestreo ( $F= 16.91, p>0.001$ ). Siendo las diferencias entre San Diego y la Unión y San Diego y Sierra de las Minas. Para los distintos usos del suelo no se encontró una diferencia significativa ( $t = 1.5473, p = 0.1356$ ). Por último, para el tipo de vegetación, se encontraron diferencias significativas entre los grupos ( $F=11.17, p>0.001$ ). Las pruebas post hoc indican que las diferencias se encuentran entre el bosque nuboso contra cultivos de maíz y bosque de pino. Siendo el bosque nuboso quien captura más carbono.



## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

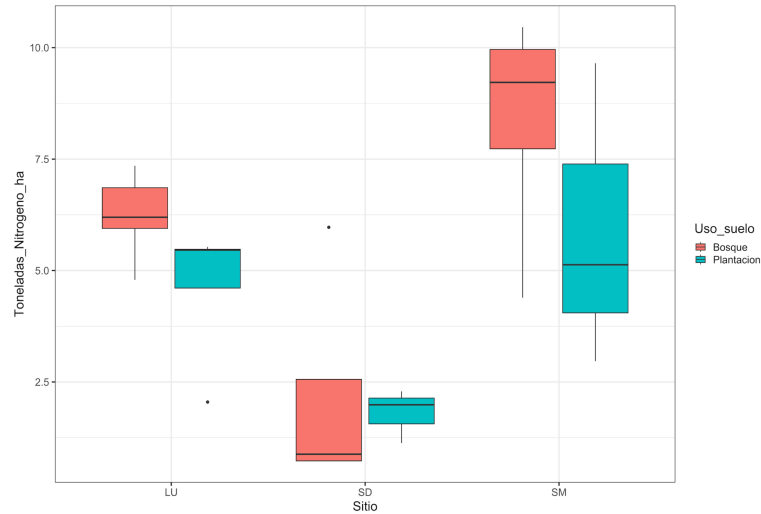


**Figura 11.** Toneladas de Carbono por hectárea en cada sitio de muestreo y en los diferentes usos del suelo.

Se encontraron diferencias significativas ( $F=14.12$ ,  $p>0.001$ ) en cuanto a los sitios de colecta y el nitrógeno (figura 12) del suelo. Siendo las diferencias entre San Diego y La Unión y San Diego y Sierra de las Minas. En el caso del uso del suelo no se encontraron diferencias significativas entre bosque y plantación ( $t = 1.1442$ ,  $p = 0.2648$ ). Por último, para los distintos tipos de vegetación se encontraron diferencias significativas ( $F=3.721$ ,  $P=0.015$ ), los análisis post hoc indican que las diferencias están entre el bosque de pino y el bosque nuboso, nuevamente el bosque unbosó capturó más toneladas por hectáreas.



## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023



**Figura 12.** Toneladas de Nitrógeno por hectárea en cada sitio de muestreo y en los diferentes usos del suelo.

Se realizó un análisis de permanova para determinar si existen diferencias entre la estructura de las comunidades de bacterias y el carbono o nitrógeno secuestrado. Para ambos casos se encontraron diferencias significativas (carbono  $R^2=0.82$ ,  $p<0.001$ ; nitrógeno  $R^2=0.73$ ,  $p<0.001$ ).

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **14.2 Discusión de resultados**

El objetivo del proyecto era evaluar los efectos de la perturbación en la estructura y diversidad de las comunidades de bacterias en los suelos de bosques de montañas de Zacapa. Para ello se realizaron muestreos en tres sitios dentro del departamento, colectando muestras de suelo con diferentes usos y tipo de vegetación. Al realizar la caracterización metataxonómica encontramos que el filo más abundante en La Unión y Sierra de las Minas y el segundo más abundante en San Diego fue Proteobacteria, el cual es bastante común en suelos de diferentes ecosistemas (Chakraborty *et al.* 2022; Maheshwari & Sankar 2023). Este filo está compuesto por bacterias 35nál negativas, muchas de las cuales son fijadoras de nitrógeno (Maheshwari & Sankar 2023), servicio ecosistémico crucial para la salud del suelo. En San Diego el filo más abundante fue Firmicutes, el cual se encontró especialmente en las parcelas de maíz y otros cultivos. Esto concuerda con estudios en los que han determinado que Firmicutes es importante dentro de sistemas agroecológicos cumpliendo funciones cruciales para el crecimiento, control biológico y/o biorremediación (Hashmi *et al.* 2020). Este filo se encontró en menor proporción en el bosque nuboso.

Otros filos abundantes fueron Acidobacteriota y Actinobacteriota, este último se puede encontrar en una variedad de hábitats, desde el suelo, la rizosfera hasta ambientes marinos y de agua dulce (Ul-Hassan & Wellington 2009). Bacterias asociadas a este filo son importantes en el reciclaje de nutrientes del suelo (Siddharthan *et al.* 2022). En general los cuatro filos mencionados están asociados a distintas variedades de suelos alrededor del mundo (Deng *et al.* 2018; Mhete, et al 2020; Maheshwari & Sankar 2023).

Al observar los gráficos de las familias más abundantes, se puede ver que Xanthobacteraceae domina en todos los sitios. Estas bacterias son importantes en la fijación de nitrógeno (Oren 2014) y reciclaje de nutrientes en general. Por ejemplo, un estudio determinó que esta familia suele ser abundante en suelos con poco fósforo ya que están

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

relacionados con la ruta C-P liasa la cual funciona escindiendo fosfato de grupos metilfosforados (Oliverio, *et al.* 2020) lo cual ayuda con la captura del elemento. Otras familias abundantes fueron Gemmataceae y Bacillaceae, está última encontrada en cultivos en San Diego. Estas pertenecen al filo Firmicutes y como se mencionó antes son importantes dentro de los sistemas agroecológicos, especialmente el género *Bacillus* (Rainer, 2020).

Se realizaron análisis de diversidad alfa y beta para determinar si existen diferencias entre las comunidades bacterianas y los diferentes sitios, uso o vegetación. En el caso de la diversidad alfa se encontró diferencias significativas para el índice de Shannon entre los diferentes sitios de muestreo y tipo de vegetación. La mayor diferencia se encontró entre los bosques nubosos y los cultivos de güisquil. Existen varios factores que pueden contribuir a estas diferencias entre la riqueza, primero la cobertura boscosa, en los cultivos no había ningún tipo de vegetación creando sombra, se sabe que la luz UV y cambios en temperatura puede afectar la estructura de las comunidades de bacterias en suelos (Rocca et al., 2019). Cambios en otros factores abióticos como el pH y la humedad también están relacionados con diferencias en la estructura de las comunidades (Rousk et al., 2010; Zhalnina et al., 2015; Rocca et al., 2019). Para el índice de análisis se encontró menor diversidad en las plantaciones contra los bosques, sin embargo, las diferencias no fueron significativas.

Se calcularon los índices de la diversidad beta para cada sitio de muestreo. Se encontraron diferencias significativas entre los sitios, el uso del suelo y el tipo de vegetación, tanto para la distancia de UniFrac pesado como el UniFrac no pesado. Esto indica que los distintos tipos de manejo del suelo crean diferencias en cuanto a la abundancia (UniFrac pesado), así como a la presencia o ausencia de ciertos taxa en las comunidades de bacterias (UniFrac no pesado) de estos suelos. Esto se puede ver relacionado con las diferencias en



## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

manejo y factores abióticos entre los sitios, mayor radiación solar, temperatura y cambios en el pH van a estar relacionados con composición de bacterias del sitio. Por ejemplo, se ha encontrado que los cultivos de sombra pueden ser beneficiosos para la diversidad de bacterias, aumentando la abundancia de estas (Kim et al. 2020). El índice de Jaccard también demostró diferencias significativas entre los sitios, el uso y el tipo de vegetación. Esto muestra que existen grupos de bacterias asociados a distintos usos de suelo y tipos de vegetación. Siendo los suelos de bosques nubosos los que presentan mayor diversidad.

El análisis de NMDS determinó que existen agrupamientos entre las comunidades de bacterias encontradas en los diferentes tratamientos. Se puede observar que existen agrupamientos por uso de suelo (figura 9) y tipo de vegetación (figura 10). Cada tratamiento se agrupó cercanamente en las gráficas, incluso el bosque nuboso de distintos sitios tendió a estar más cerca. Se puede ver un fuerte agrupamiento en los bosques de pino y los diferentes cultivos. Lo cual confirma que la composición de comunidades bacterianas entre estos ecosistemas es diferente y muestra la importancia de su conservación.

Por último, se midieron las cantidades de carbono y nitrógeno de cada muestra, se encontraron diferencias significativas entre los sitios muestreados. En ambos casos fueron los sitios de La Unión y Sierra de las Minas los que reportan mayor secuestro de carbono y nitrógeno. Las muestras tomadas en bosques nubosos fueron reportadas con una cantidad mayor de toneladas por hectárea, sin embargo, no se encontraron diferencias entre el bosque y plantaciones en estos sitios. Los distintos tipos de vegetación sí presentaron diferencias significativas para ambos elementos. En el caso del carbono las diferencias se encuentran entre el bosque nuboso, contra cultivos de maíz y bosque de pino. Siendo los bosques nubosos de la Unión y Sierra de las Minas quienes capturan más carbono. Para el



## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

nitrógeno se encontró que las diferencias están entre el bosque nuboso y el bosque de pino, siendo nuevamente el bosque nuboso el que captura más toneladas por hectárea.

El análisis de permanova para determinar si existen diferencias entre la estructura de las comunidades de bacterias y el carbono o nitrógeno secuestrado fue significativo para todos los tratamientos y para ambos elementos. Siendo el bosque nuboso el ecosistema que capturó una mayor cantidad. Este bosque también presentó una mayor diversidad de bacterias en sus suelos. Estos resultados muestran la importancia de la conservación de bosques prístinos para la captura de carbono y nitrógeno, lo que a su vez puede estar relacionado con los microbiomas y los servicios ecosistémicos que estos brindan.

Los resultados encontrados en este proyecto resaltan la importancia de los bosques y vegetación asociada para la salud y diversidad del microbioma del suelo. La estructura de las comunidades de bacterias es afectada por factores abióticos como la cobertura o tipo de vegetación, siendo menos diversas las comunidades en sitios perturbados. Esta pérdida de diversidad puede tener un impacto en la salud del suelo y de los organismos que lo habitan por tanto es crucial continuar caracterizando los microbiomas presentes en los suelos del país con el fin de conservarlos de manera óptima.



## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

### **15 Conclusiones**

- Al realizar la caracterización de las comunidades bacterianas se encontró que los filos más abundantes fueron: Proteobacteria, Acidobacteriota, Actinobacteriota y Firmicutes.
- Al realizar la caracterización de las comunidades bacterianas se determinó que las familias más abundantes fueron: Xanthobacteraceae, Gemmataceae y Bacillaceae.
- Se encontró diferencias significativas en cuanto a la riqueza de especies de bacterias de los distintos sitios, los usos de suelo y tipo de vegetación muestreados, siendo los bosques los sitios menos perturbados y con mayor riqueza de especies.
- Los índices de diversidad beta demostraron que tanto la abundancia como la presencia o ausencia de ciertos grupos se ve afectada por los distintos usos de los suelos y tipo de vegetación.
- En general los bosques nubosos presentaron mayor riqueza y abundancia de bacterias, además de ser los ecosistemas con mayor captura de carbono y nitrógeno.

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

### 16 Recomendaciones

Se recomienda realizar un estudio más amplio con un mayor número de muestras. Evaluar distintos bosques nubosos a lo largo del país para tener una idea más completa de lo que está sucediendo en cuanto a pérdida de hábitat y diversidad de microbiomas. Así como muestrear otros ecosistemas a diferentes alturas, para determinar qué factores pueden llegar a afectar la composición del microbioma. Esto también permitiría caracterizar microbiomas de diversos suelos a lo largo del país. Por último, se recomienda medir otros parámetros fisicoquímicos, como el pH del suelo para poder determinar si existe relación entre las comunidades de bacterias y estos factores.

### 17 Referencias

- Ambardar, S., Gupta, R., Trakroo, D., Lal, R., & Vakhlu, J. (2016). High Throughput Sequencing: An Overview of Sequencing Chemistry. In *Indian Journal of Microbiology* (Vol. 56, Issue 4). <https://doi.org/10.1007/s12088-016-0606-4>
- Ayyildiz, D., & Piazza, S. (2019). Introduction to Bioinformatics. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1986). [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9442-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9442-7_1)
- Barker, A. V., & Pilbeam, D. J. (2016). Handbook of plant nutrition. In *Handbook of Plant Nutrition*. <https://doi.org/10.21273/hortsci.42.2.422b>
- Berhe, A. A., Barnes, R. T., Six, J., & Marín-Spiotta, E. (2018). Role of Soil Erosion in Biogeochemical Cycling of Essential Elements: Carbon, Nitrogen, and Phosphorus. In *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* (Vol. 46, pp. 521–548). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-earth-082517-010018>
- Blum, W. E. H., Zechmeister-Boltenstern, S., & Keiblinger, K. M. (2019). Does soil contribute to the human gut microbiome? *Microorganisms*, 7(9). <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090287>





## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Jo, A., Johnson, A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869.DADA2>

Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., Fierer, N., Peña, A. G., Goodrich, J. K., Gordon, J. I., Huttley, G. A., Kelley, S. T., Knights, D., Koenig, J. E., Ley, R. E., Lozupone, C. A., McDonald, D., Muegge, B. D., Pirrung, M., ... Knight, R. (2010). correspondence QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data Intensity normalization improves color calling in SOLiD sequencing. *Nature Publishing Group*, 7(5), 335–336. <https://doi.org/10.1038/nmeth0510-335>

Cassman, N. A., Leite, M. F. A., Pan, Y., De Hollander, M., Van Veen, J. A., & Kuramae, E. E. (2016). Plant and soil fungal but not soil bacterial communities are linked in long-term fertilized grassland. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep23680>

Cermak, N., Datta, M. Sen, & Conwill, A. (2020). Rapid, Inexpensive Measurement of Synthetic Bacterial Community Composition by Sanger Sequencing of Amplicon Mixtures. *IScience*, 23(3). <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.100915>

Chakraborty, J., Palit, K., Das, S. (2022). “Chapter 5 - Metagenomic approaches to study the culture-independent bacterial diversity of a polluted environment—a case study on north-eastern coast of Bay of Bengal, India”, in Das, S. & Dash, H.R. (eds.) *Microbial Biodegradation and Bioremediation (Second Edition)*, Elsevier, Pp 81-107. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85455-9.00014-X>.

Cox, M. P., Peterson, D. A., & Biggs, P. J. (2010). SolexaQA: At-a-glance quality assessment of Illumina second-generation sequencing data. *BMC Bioinformatics*, 11. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-485>

Dixon, P. (2003). VEGAN, a package of R functions for community ecology. In *Journal of Vegetation Science* (Vol. 14, Issue 6, pp. 927–930). Opulus Press AB. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02228.x>

Doran, J. W., & Zeiss, M. R. (2000). Soil health and sustainability: Managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology*, 15(1), 3–11. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00067-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00067-6)

Deng, J., Yin, Y., Zhu, W., & Zhou, Y. (2018). Variations in Soil Bacterial Community Diversity and Structures Among Different Revegetation Types in the Baishilazi Nature Reserve. *Frontiers in Microbiology*, 9(2874).



## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

FAO. (2015). Intergovernmental Technical Panel on Soils. Status of the World's Soil Resources. In *Intergovernmental Technical Panel on Soils*.

Figuerola, E. L. M., Guerrero, L. D., Türkowsky, D., Wall, L. G., & Erijman, L. (2015). Crop monoculture rather than agriculture reduces the spatial turnover of soil bacterial communities at a regional scale. *Environmental Microbiology*, 17(3), 678–688. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12497>

Frac, M., Hannula, S. E., Belka, M., & Jędryczka, M. (2018). Fungal biodiversity and their role in soil health. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 9, Issue APR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00707>

Gauthier, J., Vincent, A. T., Charette, S. J., & Derome, N. (2019). A brief history of bioinformatics. *Briefings in Bioinformatics*, 20(6). <https://doi.org/10.1093/bib/bby063>

Gschwendtner, S., Engel, M., Lueders, T., Buegger, F., & Schloter, M. (2016). Nitrogen fertilization affects bacteria utilizing plant-derived carbon in the rhizosphere of beech seedlings. *Plant and Soil*, 407(1–2), 203–215. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2888-z>

Hashmi, I., Bindschedler, S., Junier, P. (2020). “Chapter 18 - Firmicutes”, in Amaresan, N., Senthil, M., Kumar, S., Annapurna, K., Kumar, K., & Sankaranarayanan, A. (eds.) *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*, Academic Press, pp 363-396, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00018-6>.

Herman, D. J., Firestone, M. K., Nuccio, E., & Hodge, A. (2012). Interactions between an arbuscular mycorrhizal fungus and a soil microbial community mediating litter decomposition. *FEMS Microbiology Ecology*, 80(1). <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01292.x>

Jansson, J. K., & Hofmockel, K. S. (2020). Soil microbiomes and climate change. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 18, Issue 1, pp. 35–46). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0265-7>

Kanavakis, E., & Xaidara, A. (2001). The human genome project. In *Archives of Hellenic Medicine* (Vol. 18, Issue 5). [https://doi.org/10.5005/jp/books/10279\\_22](https://doi.org/10.5005/jp/books/10279_22)

Kerfahi, D., Tripathi, B. M., Lee, J., Edwards, D. P., & Adams, J. M. (2014). The impact of selective-logging and forest clearance for oil palm on fungal communities in Borneo. *PLoS ONE*, 9(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111525>

Kim, N., Zabaloy, M. C., Guan, K., & Villamil, M. B. (2020). Do cover crops benefit soil microbiome? A meta-analysis of current research. *Soil Biology and Biochemistry*, 142, 107701. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.107701>

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Kueneman, J. G., Parfrey, L. W., Woodhams, D. C., Archer, H. M., Knight, R., & McKenzie, V. J. (2014). The amphibian skin-associated microbiome across species, space and life history stages. *Molecular Ecology*, 23(6), 1238–1250. <https://doi.org/10.1111/mec.12510>

Lederberg, J., & McCray, A. (2001). 'Ome Sweet 'Omics-- A Genealogical Treasury of Words | The Scientist Magazine®. *The Scientist*, 15(3–4), 8. <http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/13313/title/-Ome-Sweet--Omics---A-Genealogical-Treasury-of-Words/>

Li, S., Deng, Y., Du, X., Feng, K., Wu, Y., He, Q., Wang, Z., Liu, Y., Wang, D., Peng, X., Zhang, Z., Escalas, A., & Qu, Y. (2021). Sampling cores and sequencing depths affected the measurement of microbial diversity in soil quadrats. *Science of The Total Environment*, 767, 144966. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.144966>

Lladó, S., López-Mondéjar, R., & Baldrian, P. (2017). Forest Soil Bacteria: Diversity, Involvement in Ecosystem Processes, and Response to Global Change. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81(2). <https://doi.org/10.1128/membr.00063-16>

Long, X., Chen, C., Xu, Z., Oren, R., & He, J. Z. (2012). Abundance and community structure of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in a temperate forest ecosystem under ten-years elevated CO<sub>2</sub>. *Soil Biology and Biochemistry*, 46, 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.12.013>

Maheshwari, P., & Sankar, P.M. (2023). “Chapter 42 - Culture-independent and culture-dependent approaches in symbiont analysis: in proteobacteria”, in Dharumadurai, D. (ed.) *Microbial Symbionts*, Academic Press, pp 743-763. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99334-0.00018-9>.

Martin, M. (2014). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet Journal*, 17(1), 10–12.

McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE*, 8(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>

Mhete, M., Eze, P.N., Rahube, T.O., & Akinyemi, F.O. (2020). Soil properties influence bacterial abundance and diversity under different land-use regimes in semi-arid environments. *Scientific African*, 7(e00246). <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00246>.

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Moore, J. C., Walter, D. E., & Hunt, H. W. (1988). Arthropod regulation of micro- and mesobiota in below-ground detrital food webs. *Annual Review of Entomology*. Vol. 33. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.33.010188.002223>

Myrold, D. D., & Nannipieri, P. (2014). Classical Techniques Versus Omics Approaches. *Omics in Soil Science 1P*, June.

Navarrete, A. A., Tsai, S. M., Mendes, L. W., Faust, K., De Hollander, M., Cassman, N. A., Raes, J., Van Veen, J. A., & Kuramae, E. E. (2015). Soil microbiome responses to the short-term effects of Amazonian deforestation. *Molecular Ecology*, 24(10), 2433–2448. <https://doi.org/10.1111/mec.13172>

Norby, R. J., DeLucia, E. H., Gielen, B., Calfapietra, C., Giardina, C. P., Kings, J. S., Ledford, J., McCarthy, H. R., Moore, D. J. P., Ceulemans, R., De Angelis, P., Finzi, A. C., Karnosky, D. F., Kubiske, M. E., Lukac, M., Pregitzer, K. S., Scarascia-Mugnozza, G. E., Schlesinger, W. H., & Oren, R. (2005). Forest response to elevated CO<sub>2</sub> is conserved across a broad range of productivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(50), 18052–18056. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509478102>

Oliver, M. A., & Gregory, P. J. (2015). Soil, food security and human health: A review. *European Journal of Soil Science*, 66(2), 257–276. <https://doi.org/10.1111/ejss.12216>

Oliverio A.A., McGuire K., Saltonstall K., Turner B.L., Fierer, N. (2020). The Role of Phosphorus Limitation in Shaping Soil Bacterial Communities and Their Metabolic Capabilities. *ASM Journals*, 11(5). <https://doi.org/10.1128/mbio.01718-20>

Oren, A. (2014). The Family *Xanthobacteraceae*, in: Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-30197-1\\_258](https://doi.org/10.1007/978-3-642-30197-1_258)

Poveda-Coronel, C. A., Riaño-Jiménez, D., & Cure, J. R. (2018). Diversity and Phenology of Wild Bees in a Highly Disturbed Tropical Dry Forest “Desierto de la Tatacoa”, Huila–Colombia. *Neotropical Entomology*, 47(6), 786–790. <https://doi.org/10.1007/s13744-017-0578-z>

Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., ... Glöckner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), 590–596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>

## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Rainer B. (2020). “Chapter 7 - Bacillus” Amaresan, N., Kumar, S., Annapurna, K., Kumar, K., & Sankaranarayanan, A. (eds.) *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*, Academic Press, pp 107-132. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00007-1>.

Rivera-Rivera, J.M., & Cuevas, E. (2020). First Insights into the Resilience of the Soil Microbiome of a Tropical Dry Forest in Puerto Rico. In *Microorganisms*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.90395>

Rocca, J. D., Simonin, M., Blaszcak, J. R., Ernakovich, J. G., Gibbons, S. M., Midani, F. S., & Washburne, A. D. (2019). The Microbiome Stress Project: Toward a global meta-analysis of environmental stressors and their effects on microbial communities. *Frontiers in Microbiology*, 10(JAN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03272>

Rousk, J., Bååth, E., Brookes, P. C., Lauber, C. L., Lozupone, C., Caporaso, J. G., Knight, R., & Fierer, N. (2010). Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *ISME Journal*, 4(10). <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.58>

Santos, E., Cruz, E., Ribeiro, H., Barbosa, L., Zandonadi, F., & Sussulini, A. (2020). Multi-omics: An Opportunity to Dive into Systems Biology. *Brazilian Journal of Analytical Chemistry*. <https://doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.rv-03-2020>

Schindlbacher, A., Rodler, A., Kuffner, M., Kitzler, B., Sessitsch, A., & Zechmeister-Boltenstern, S. (2011). Experimental warming effects on the microbial community of a temperate mountain forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(7), 1417–1425. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.03.005>

Schindlbacher, Andreas, Schneckler, J., Takriti, M., Borcken, W., & Wanek, W. (2015). Microbial physiology and soil CO<sub>2</sub> efflux after 9 years of soil warming in a temperate forest - no indications for thermal adaptations. *Global Change Biology*, 21(11), 4265–4277. <https://doi.org/10.1111/gcb.12996>

Sergaki, C., Lagunas, B., Lidbury, I., Gifford, M. L., & Schäfer, P. (2018). Challenges and approaches in microbiome research: from fundamental to applied. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01205>

Siddharthan, N., Sangeetha, M., Asokan, N., Balagurunathan, R., Hemalatha, N. (2022). “Chapter 15 - Actinobacterial enzymes—An approach for engineering the rhizosphere microorganisms as plant growth promoters”, in Dubey, R.C. & Kumar, P. (eds.), *Rhizosphere Engineering*, Academic Press, pp 273-292. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89973-4.00025-9>.



## **Informe final de proyecto de investigación. Año 2023**

Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L. & Coissac, E. (2018), Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring. PB Oxford University Press. DO 10.1093/oso/9780198767220.001.0001

Tripathi, B. M., Edwards, D. P., Mendes, L. W., Kim, M., Dong, K., Kim, H., & Adams, J. M. (2016). The impact of tropical forest logging and oil palm agriculture on the soil microbiome. *Molecular Ecology*, 25(10), 2244–2257. <https://doi.org/10.1111/mec.13620>

Tripathi, B. M., Song, W., Slik, J. W. F., Sukri, R. S., Jaafar, S., Dong, K., & Adams, J. M. (2016). Distinctive tropical forest variants have unique soil microbial communities, but not always low microbial diversity. *Frontiers in Microbiology*, 7(APR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00376>

Ul-Hassan & Wellington. (2009). “Actinobacteria”, in Schaechter, M. (ed.), *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)*, Academic Press, pp 25-44. <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00044-4>.

Wei, Z., Gu, Y., Friman, V. P., Kowalchuk, G. A., Xu, Y., Shen, Q., & Jousset, A. (2019). Initial soil microbiome composition and functioning predetermine future plant health. *Science Advances*, 5(9), 1–12. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaw0759>

Wright, E.S. (2016). Using DECIPHER v2.0 to Analyze Big Biological Sequence Data in R. *The R Journal*, 8(1), 352-359.

Zhalnina, K., Dias, R., de Quadros, P. D., Davis-Richardson, A., Camargo, F. A. O., Clark, I. M., McGrath, S. P., Hirsch, P. R., & Triplett, E. W. (2015). Soil pH Determines Microbial Diversity and Composition in the Park Grass Experiment. *Microbial Ecology*, 69(2), 395–406. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0530-2>

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

### 18 Apéndice

**Cuadro 3.** Base de datos, información de campo y datos de toneladas de carbono y nitrógeno en el suelo

<b>Id muestra</b>	<b>Sitio de Colecta</b>	<b>Latitud</b>	<b>Longitud</b>	<b>Uso suelo</b>	<b>Tipo Vegetación</b>	<b>Densidad de suelo</b>	<b>Carbono orgánico en el</b>	<b>Nitrógeno orgánico en</b>
SM001	Finca El Olvido, Sierra de las	15.0570298	-89.859554	Bosque	Bosque nuboso	1.05	85.52	7.73
SM002	Finca El Olvido, Sierra de las	15.057511	-89.858687	Bosque	Bosque nuboso	0.42	134.81	9.22
SM003	Finca El Olvido, Sierra de las	15.0582492	-89.858142	Bosque	Bosque nuboso	0.60	115.75	9.96
SM004	Finca El Olvido, Sierra de las	15.0590484	-89.85775	Bosque	Bosque nuboso	0.40	58.37	4.39
SM005	Finca El Olvido, Sierra de las	15.0596205	-89.857082	Bosque	Bosque nuboso	0.78	79.13	10.46
SM006	Finca El Olvido, Sierra de las	15.056659	-89.860045	Plantación	Güisquil	1.43	28.02	2.97
SM007	Finca El Olvido, Sierra de las	15.0565041	-89.860579	Plantación	Güisquil	0.96	59.70	5.13
SM008	Finca El Olvido, Sierra de las	15.054554	-89.860434	Plantación	Maíz	0.73	79.94	9.65
LU001	Bosque Municipal, La Unión	14.9375482	-89.275606	Plantación	Cafetal	1.02	71.72	5.46
LU002	Bosque Municipal, La Unión	14.9370521	-89.276821	Bosque	Bosque mix	1.29	72.19	5.96
LU003	Bosque Municipal, La Unión	14.9345727	-89.275531	Plantación	Maíz	1.91	18.14	2.05

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

LU004	Bosque Municipal La Unión	14.9443515	-89.276806	Bosque	Bosque nuboso	1.13	82.47	5.94
LU005	Bosque Municipal La Unión	14.9462879	-89.277683	Bosque	Bosque nuboso	1.20	97.96	6.43
LU006	Bosque Municipal La Unión	14.9462929	-89.277695	Bosque	Bosque nuboso	1.18	60.69	4.79
LU007	Bosque Municipal La Unión	14.950285	-89.279898	Bosque	Bosque nuboso	1.30	100.63	7.35
LU008	Bosque Municipal La Unión	14.9524779	-89.277273	Bosque	Bosque nuboso	1.26	91.24	7.00
LU009	Bosque Municipal La Unión	14.9599195	-89.28454	Plantación	Maíz	1.27	52.66	5.53
LU010	Bosque Municipal La Unión	14.9615726	-89.28862	Plantación	Cafetal	1.25	60.77	5.46
SD001	San Diego, Zacapa	14.770698	-89.744092	Bosque	Pino	0.50	11.98	0.88
SD002	San Diego, Zacapa	14.770508	-89.744996	Bosque	Pino	0.43	12.01	0.73
SD003	San Diego, Zacapa	14.770283	-89.745892	Bosque	Pino	0.56	9.24	0.73
SD004	San Diego, Zacapa	14.771643	-89.743905	Bosque	Pino	0.97	21.61	5.97
SD005	San Diego, Zacapa	14.772373	-89.74445	Bosque	Pino	0.54	8.21	2.56
SD006	San Diego, Zacapa	14.789488	-89.745655	Plantación	Maíz	0.19	16.61	1.13
SD007	San Diego, Zacapa	14.787894	-89.758503	Plantación	Maíz	0.52	20.72	2.29
SD008	San Diego, Zacapa	14.787309	-89.763507	Plantación	Maíz	0.60	22.96	1.99





## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

**Cuadro 4.** Sets de muestras para realizar extracción de ADN y resultados de cuantificación.

Muestra	Set	[ng/ul]
LU 002	1	Muy alto
LU 006	1	5.50
LU 007	1	2.67
LU 008	1	1.89
LU 009	1	0.967
LU 010	1	51.0
SM 002	1	8.84
SM 005	1	1.90
SM 006	1	2.31
B 1	1	0.102
LU 002 rep	1	8
LU 006 rep	1	1.78
LU 007 rep	1	4.53
LU 008 rep	1	0.561
LU 009 rep	1	4.58
LU 010 rep	1	Muy bajo
SM 002 rep	1	15.9
SM 005 rep	1	0.763
SM 006 rep	1	0.859
B1 rep	1	0.117
LU 001	2	27.1
LU 003	2	Muy bajo
LU 004	2	3.85
LU 005	2	10.9
SM 001	2	6.49
SM 003	2	1.96
SM 004	2	53
SM 007	2	Muy alto
SM 008	2	0.211
B 2	2	0.0530
LU 001 rep	2	4.60



## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

LU 003 rep	2	Muy alto
LU 004 rep	2	Muy bajo
LU 005 rep	2	2.32
SM 001 rep	2	12.5
SM 003 rep	2	2.71
SM 004 rep no eluyó	2	Muy bajo
SM 007 rep	2	Muy alto
SM 008 rep	2	0.235
B 2 rep	2	0.0940
SD 001	3	21.4
SD 002	3	14
SD 003	3	9.7
SD 004	3	10.6
SD 005	3	9.84
SD 006	3	13.5
SD 007	3	8.88
SD 008	3	28.4
SD BLANCO (B3)	3	Muy bajo
SD 001 rep	3	17.6
SD 002 rep	3	8.48
SD 003 rep	3	11.4
SD 004 rep	3	11.1
SD 005 rep	3	6.10
SD 006 rep	3	13
SD 007 rep	3	6.72
SD 008 rep	3	11.7
SD BLANCO (B3) rep	3	Muy bajo

\*Muy alto / muy bajo: la cantidad de ADN es muy alta o baja para se detectada o cuantificada por el aparato.

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

**Cuadro 5.** Datos del proceso de filtración, procesamiento y remoción de quimeras

sample-id	input	filtered	percentage of input passed filter	denoised	merged	percentage of input merged	non- chimeric	percentage of input non- chimeric
#q2:types	numeric	numeric	numeric	numeric	numeric	numeric	numeric	numeric
LU001	60961	57061	93.6	49778	33450	54.87	31241	51.25
LU002	51937	48704	93.78	42955	29252	56.32	27623	53.19
LU003	63491	59385	93.53	52404	36266	57.12	33866	53.34
LU004	62256	58263	93.59	51272	35288	56.68	32805	52.69
LU005	69693	65327	93.74	61125	44949	64.5	38156	54.75
LU006	67065	62711	93.51	54995	35890	53.52	32261	48.1
LU007	67694	63357	93.59	56167	39077	57.73	35622	52.62
LU008	58680	54923	93.6	50070	36005	61.36	31738	54.09
LU009	63182	59290	93.84	52038	35567	56.29	32626	51.64
LU010	66102	61924	93.68	53992	36923	55.86	33332	50.43
SD001	69060	65039	94.18	55788	35935	52.03	32791	47.48
SD002	74408	70014	94.09	59756	37263	50.08	34333	46.14
SD003	59540	56059	94.15	48397	30007	50.4	27863	46.8
SD004	69307	64697	93.35	53142	30011	43.3	27392	39.52
SD005	58473	54817	93.75	48622	34419	58.86	32152	54.99
SD006	73191	67652	92.43	57698	35139	48.01	30268	41.35
SD007	64861	60814	93.76	49945	29113	44.89	25487	39.29
SD008	61977	57632	92.99	49005	29151	47.04	23947	38.64
SM002	67266	62884	93.49	52514	30901	45.94	28784	42.79
SM003	70076	65657	93.69	56775	38192	54.5	35816	51.11
SM004	68284	63871	93.54	55272	36871	54	33547	49.13
SM005	67818	63484	93.61	54379	33933	50.04	30545	45.04

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

SM006	72013	67368	93.55	54507	31199	43.32	26612	36.95
SM007	73438	68944	93.88	58205	36667	49.93	33622	45.78
SM008	70761	66576	94.09	58213	39875	56.35	36416	51.46

**Cuadro 6.** Resultados de los índices de diversidad alfa.

Ident	Sitio_colecta	Uso_suelo	Tipo	Shannon	Simpson
LU001	Bosque Municipal La Union	Plantacion	Cafetal	6.41166029	0.99611685
LU002	Bosque Municipal La Union	Bosque	Bosque mixto	6.40809247	0.99595646
LU003	Bosque Municipal La Union	Plantacion	Maiz	6.35511289	0.99585756
LU004	Bosque Municipal La Union	Bosque	Bosque nuboso	6.41780038	0.99500862
LU005	Bosque Municipal La Union	Bosque	Bosque nuboso	5.76237308	0.99305733
LU006	Bosque Municipal La Union	Bosque	Bosque nuboso	6.41319405	0.99558237
LU007	Bosque Municipal La Union	Bosque	Bosque nuboso	6.06568132	0.99226467
LU008	Bosque Municipal La Union	Bosque	Bosque nuboso	5.98952395	0.99465162
LU009	Bosque Municipal La Union	Plantacion	Maiz	6.21332112	0.9931096
LU010	Bosque Municipal La Union	Plantacion	Cafetal	6.56180496	0.99726706
SD001	San Diego	Bosque	Pino	6.57651539	0.99566945
SD002	San Diego	Bosque	Pino	6.7839223	0.99793499
SD003	San Diego	Bosque	Pino	6.48008835	0.99715197
SD004	San Diego	Bosque	Pino	6.7112277	0.99753011
SD005	San Diego	Bosque	Pino	6.71251974	0.99769698
SD006	San Diego	Plantacion	Maiz	6.58105186	0.9951617
SD007	San Diego	Plantacion	Maiz	6.70016821	0.9971068
SD008	San Diego	Plantacion	Maiz	6.33613068	0.9945492
SM002	Finca El Olvido	Bosque	Bosque nuboso	6.65740676	0.99704032
SM003	Finca El Olvido	Bosque	Bosque nuboso	6.49915296	0.99522637
SM004	Finca El Olvido	Bosque	Bosque nuboso	6.42920567	0.99606

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

SM005	Finca El Olvido	Bosque	Bosque nuboso	6.16523875	0.98733685
SM006	Finca El Olvido	Plantacion	Guisquil	6.88454738	0.99780991
SM007	Finca El Olvido	Plantacion	Guisquil	6.91504562	0.99796948
SM008	Finca El Olvido	Plantacion	Maiz	6.95461504	0.99791434

### 19 Vinculación

Se colaboró con el Consejo Nacional de Áreas Protegidas a través de la carta de entendimiento entre el CONAP y el Centro Universitario de Zacapa para documentar la biodiversidad de Guatemala.

La información generada es vinculante con el MAGA y el INAB para el desarrollo de herramientas biotecnológicas que permitan restaurar el microbiota del suelo, especialmente la relacionada con la mediación de nutrientes para las plantas.

Los datos de carbono y nitrógeno fueron procesados en el laboratorio de carbono del CEAB, Universidad del Valle de Guatemala.

### 20 Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual

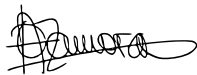
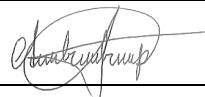
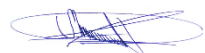

Los resultados y actividades del proyecto de investigación se divulgarán a través de las redes sociales del CUNZAC, en medios de comunicación social, en congresos o simposios y en revistas científicas.

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

### 21 Aporte de la propuesta de investigación a los Prioridades Nacionales de Desarrollo (PND) identificando su meta correspondiente:

Los resultados de esta investigación corresponden a la prioridad nacional de desarrollo de “Acceso al agua y gestión de los recursos naturales”. Hasta donde se tienen conocimiento este es el primer estudio de metataxonomía y suelos de bosques en Guatemala. Se generaron nuevos datos para la biodiversidad del país, lo cual puede ser útil para organizaciones como INAB y CONAP para la toma de decisiones en planes de conservación. Además, los protocolos serán de uso libre y colaboran al desarrollo de las ciencias biológicas en el país.

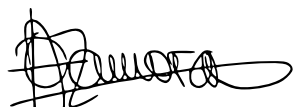
### 22 Orden de pago final (incluir únicamente al personal con contrato vigente al 31 de diciembre de 2023)

<b>Nombres y apellidos</b>	<b>Categoría (investigador /auxiliar)</b>	<b>Registro de personal</b>	<b>Procede pago de mes (Sí / No)</b>	<b>Firma</b>
Olga Alejandra Zamora Jerez	Coordinadora	20201209	No	
Angela Begonia Barrios Palacios	Investigadora	20220684	No	
Miltón Valerio Urzua Duarte	Investigador	20140117	No	
Luis Fernando Chicojay de León	Auxiliar	20230606	No	

## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

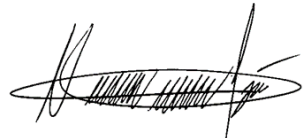
### 23 Declaración del Coordinador(a) del proyecto de investigación

El Coordinador de proyecto de investigación con base en el *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación*, artículos 13 y 20, deja constancia que el personal contratado para el proyecto de investigación que coordina ha cumplido a satisfacción con la entrega de informes individuales por lo que es procedente hacer efectivo el pago correspondiente.

<p><b>Olga Alejandra Zamora Jerez</b></p>	
<p>Fecha: 29/02/2024</p>	

### 24 Aval del Director(a) del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario


De conformidad con el artículo 13 y 19 del *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación* otorgo el aval al presente informe mensual de las actividades realizadas en el proyecto (escriba el nombre del proyecto de investigación) en mi calidad de (indique: Director del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario), mismo que ha sido revisado y cumple su ejecución de acuerdo a lo planificado.


<p><b>Vo.Bo. Manuel Alejandro Barrios Izás</b></p>	
<p>Fecha: 29/02/2024</p>	



## Informe final de proyecto de investigación. Año 2023

### 25 Visado de la Dirección General de Investigación

<p><b>Vo.Bo. Inga. Liuba María Cabrera Ovalle</b> <b>Coordinadora PUIDI</b></p>	
<p>Fecha: 29/02/2024</p>	

<p><b>Vo.Bo. Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar</b> <b>Coordinador General de programas</b></p>	 <p>Ing. MARN Julio Rufino Salazar Pérez Coordinador General de Programas de Investigación, Digi-Usac</p>
<p>Fecha: 29/02/2024</p>	

/Digi2023