



UADY

POSGRADO
INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y
MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES

Concentración de oxalato de calcio y análisis de las comunidades bacterianas oxalotróficas asociadas a *Brosimum alicastrum* Sw. en dos sistemas de manejo en Tzucacab, Yucatán.

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO
PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES**

POR:

**Licenciado en Agroecología
Oscar Omar Álvarez Rivera**



POSGRADO INSTITUCIONAL
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y MANEJO
DE RECURSOS NATURALES TROPICALES

Directores:

**Dr. Héctor Estrada Medina
Dr. Juan J. Jiménez Osornio
Dra. Aileen O'Connor Sánchez**

Mérida, Yucatán, México, septiembre de 2018



UADY
UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

**COORDINACIÓN GENERAL
DEL SISTEMA DE POSGRADO,
INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN**

POSGRADO INSTITUCIONAL EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES

**ALUMNO: LICENCIADO EN AGROECOLOGÍA
OSCAR OMAR ÁLVAREZ RIVERA**

SÍNODO DEL EXAMEN DE TESIS DE GRADO

**DRA. BLONDY B. CANTO CANCHÉ
CICY**

**DRA. MIRIAM FERRER ORTEGA
CCBA-UADY**

**DR. JORGE NAVARRO ALBERTO
CCBA-UADY**

**DR. CARLOS CERVERA HERRERA
CCBA-UADY**

**DRA. DIANA CABAÑAS VARGAS
FIQ-UADY**

MÉRIDA, YUCATÁN, OCTUBRE DEL 2018

Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
Km. 15.5 carretera a Xmatkuil | Teléfonos: 942 32 00, 02 y 04
Mérida, Yucatán, México | www.uady.mx

Declaratoria de originalidad

“El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la UADY para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente”.

Dedicatoria

A mis abuelos Ángel Rivera †, Ma. del Carmen Arjona †, Oscar Álvarez F †. y Mercedes Aguiar †; y a toda mi familia campechana y yucateca, mis tías, tíos y primos por su cariño y apoyo. Una dedicatoria especial para mis papas, Oscar y Marissa, y hermana, Lissete, por su apoyo, paciencia y consejos, este logro también es de ellos.

Agradecimientos

A mis asesores, Dr. Héctor Estrada Medina, Dr. Juan J. Jiménez Osornio y Dra. Aileen O'Connor Sánchez (CICY), por su tiempo, disponibilidad, amistad y apoyo brindando en todos los sentidos para el desarrollo y alcance de esta meta.

A mis tutores, Dra. Blondy Canto Canché (CICY), Dra. Miriam Ferrer Ortega y Dr. Jorge Navarro Alberto, por sus cuestionamientos durante los tutorales, los cuales contribuyeron a mi formación; y por sus comentarios, observaciones y sugerencias, los cuales nutrieron significativamente este trabajo.

A la M en C. Magnolia Tzec Gamboa por su amistad y apoyo en los análisis microbiológicos, a la M en C. Mariana López Díaz por su apoyo en la realización de los análisis fisicoquímicos; a la Ph D. Emma Aronson (UC-Riverside) y a los miembros de su equipo Hannah, Geoff, Keshav y Brooke por su amistad y apoyo en los análisis metagenómicos y por las facilidades y apoyo durante la estancia realizada. Al Ph D. Michael Allen (UC-Riverside) por la donación de los kits enzimáticos, y al Ph D. Mike Rowley (Université de Lausanne) por su apoyo para estandarización de la metodología.

A Grely Pech, Tony Pacheco, Ángel Dorantes e Ismael Jiménez que me apoyaron durante el muestreo de campo, al Sr. Felipe Neri quien apoyó como guía de campo y colaboró en el muestreo. A los dueños de los solares de la comunidad de Catmís, Tzucacab, por las facilidades brindadas para la realización de este estudio.

Al Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para los estudios de la maestría (Becario: 603903) Al Proyecto “Efecto de la domesticación en la diversidad biológica e interacción planta-suelo de árboles nativos de la Península de Yucatán”, con clave CONACyT 236428.

A mis amigos Roberto, Laura, Edgar, Carlos, Ana, Alejandro José, Alejandro Arturo, Jorge, Edith, Manuel, Alma, Agustín y Maribel por su amistad durante todos estos años y a mi compañera de maestría y amiga Wendy por su amistad y apoyo durante estos años.

Resumen

La ruta oxalato-carbonato (ROC) permite secuestrar CO_2^{atm} y depositarlo en forma de carbonato de calcio en el suelo. *Brosimum alicastrum* es una especie reportada como oxalogénica en huertos familiares; pero se desconoce la magnitud de su participación en la ROC en vegetación silvestre. Este estudio comparó la actividad de la ROC asociada a *B. alicastrum* en dos sistemas de manejo: vegetación silvestre y huertos familiares en el municipio de Tzucacab, Yucatán, México. Se seleccionaron 20 individuos adultos de *B. alicastrum* en vegetación silvestre y 20 en huerto familiar (N=40). Se estimó la densidad poblacional y se midieron variables dasométricas de *B. alicastrum* (DAP, altura, cobertura y volumen de la copa). Se analizó el contenido de oxalato de calcio (CaOx) en hojas, corteza, raíz y suelo adyacente a los árboles; se analizó el pH, potencial REDOX, y contenido de carbonatos y calcio del suelo adyacente; se estimó la abundancia de bacterias cultivables y oxalotróficas del suelo rizosférico y no rizosférico asociado a *B. alicastrum*; finalmente se correlacionó el contenido de CaOx del suelo con las propiedades fisicoquímicas del suelo. *B. alicastrum* presentó una mayor altura (16.72m, $p < 0.01$), cobertura de la copa (42.23m², $p < 0.01$), volumen de la copa (396.70m³, $p = 0.01$) y densidad poblacional (1425 individuos ha⁻¹, $p = 0.03$) en vegetación silvestre. Se encontró un mayor contenido de CaOx en hojas (45.37 g kg⁻¹) y suelo (576.93 mg kg⁻¹) de vegetación silvestre. El contenido de CaOx del suelo de vegetación silvestre se correlacionó positivamente con el contenido de calcio del suelo $r(\text{spearman}) = 0.911$, $p < 0.01$ y con los carbonatos $r(\text{spearman}) = 0.885$, $p < 0.01$ y, negativamente con el potencial REDOX $r(\text{spearman}) = -0.625$, $p = 0.02$). Se encontró una mayor abundancia de bacterias cultivables (7.03×10^6 , $p > 0.01$) en el suelo no rizosférico de vegetación silvestre y una mayor abundancia de bacterias oxalotróficas (4.05×10^6 , $p < 0.01$) en el suelo rizosférico de vegetación silvestre. Esta diferencia podría estar asociadas a las prácticas de manejo que se realizan en huertos familiares (podas, remoción y quema de hojarasca), las cuales reducen los aportes de materia orgánica al suelo, disminuyendo el reservorio de oxalato de calcio y por consiguiente la abundancia de bacterias oxalotróficas.

Palabras clave

Secuestro de carbono inorgánico, bacterias oxalotróficas, árboles oxalogénicos, sistemas agrícolas tradicionales

Summary

The oxalate-carbonate pathway (OCP) allows to sequester CO_2^{atm} and deposited it in the soil in form of calcium carbonate. *Brosimum alicastrum* is reported as oxalogenic in homegardens; but the magnitude of its participation in the OCP in wild vegetation is unknown. This study compared the activity of the OCP associated with *B. alicastrum* in two management systems: wild vegetation and homegardens in the municipality of Tzucacab, Yucatán, Mexico. Twenty adult trees of *B. alicastrum* were selected in wild vegetation and 20 in the homegardens (N = 40). We estimate population density and were measured dasometric variables of *B. alicastrum* trees (DCH, height, coverage and volume of the crown). The calcium oxalate (CaOx) content in leaves, bark, root and adjacent soil to the trees was analyzed; the pH, REDOX potential, and content of carbonate and calcium in the adjacent soil were analyzed; the abundance of culturable and oxalotrophic bacteria of rhizospheric and non-rhizospheric soil associated with *B. alicastrum* was estimated; finally, the CaOx content of the soil was correlated with the physicochemical properties of the soil. *B. alicastrum* trees in wild vegetation have a higher height (16.72m, $p < 0.01$), crown coverage (42.23m^2 , $p < 0.01$), crown volume (396.70m^3 , $p = 0.01$) and population density (1425 individuals ha^{-1} , $p = 0.03$). A higher content of calcium oxalate was found in leaves (45.37 g kg^{-1}) and soil (576.93 mg kg^{-1}) of wild vegetation. The CaOx content of the soil in the wild vegetation was correlated positively with the soil calcium content $r(\text{spearman}) = 0.911$, $p < 0.01$) and with the carbonates $r(\text{spearman}) = 0.885$, $p < 0.01$) and, negatively with the potential REDOX $r(\text{spearman}) = -0.625$, $p = 0.02$). A higher quantity of culturable bacteria (7.03×10^6 , $p > 0.01$) was found in the non-rhizospheric soil of wild vegetation and a higher quantity of oxalotrophic bacteria (4.05×10^6 , $p < 0.01$) in the rhizospheric soil of wild vegetation. This difference could be related to the management practices that are carried out in homegardens (pruning, removal and burning of leaf litter), reducing the contributions of organic matter to the soil, decreasing the soil calcium oxalate sink and the abundance of oxalotrophic bacteria.

Keywords

Inorganic carbon sequestration, oxalotrophic bacteria, oxalogenic tree, traditional farming system

Índice general

1	Introducción	1
2	Objetivos	3
2.1	<i>Objetivo general</i>	3
2.2	<i>Objetivos específicos</i>	3
3	Hipótesis	4
4	Marco Teórico	5
4.1	<i>Secuestro de carbono</i>	5
4.2	<i>Ruta Oxalato-Carbonato</i>	7
4.2.1	Bacterias oxalotróficas	12
4.2.2	Especies oxalogénicas	15
4.3	<i>Brosimum alicastrum</i>	15
4.4	<i>Huertos familiares</i>	16
4.4.1	Estudio de la rizósfera	18
	The role of <i>Brosimum alicastrum</i> Sw. (Moraceae) in the oxalate-carbonate pathway in forests and homegardens of Yucatan, Mexico	26
	Agradecimientos	26
	Abstract	27
	Introducción	28
	Materiales y métodos	30
	Resultados	34
	Discusión	38
	Conclusiones	44
	Referencias	45

Índice de figuras

Figura 1. Evolución mensual de la concentración de CO ₂ en la atmósfera (2010-2018*).....	5
Figura 2. Esquema de la ruta oxalato-carbonato.	8
Figura 3. Resumen de las vías metabólicas para la producción de ácido oxálico.	10
Figura 4. Producción de ácido oxálico a partir de glucosa.	11
Figura 5. Diagrama de varias rutas metabólicas para la producción de oxalato de calcio por hongos.....	12
Figura 6. Rutas metabólicas para la asimilación de oxalato.....	13

Índice de tablas

Tabla 1. Principales reservorios de carbono.....	6
--	---

1 Introducción

La ruta metabólica oxalato-carbonato permite almacenar carbono inorgánico en el suelo, en forma de carbonato de calcio (CaCO_3) a partir de dióxido de carbono atmosférico (CO_2^{atm}) (Braissant *et al.*, 2004; Cailleau *et al.*, 2004; Verrecchia *et al.*, 2006).

Esto es importante, debido a que el CO_2 es el gas de efecto invernadero (GEIs) más abundante en la atmósfera, representando cerca del 78% de las emisiones antropogénicas de estos gases; siendo la quema de combustibles fósiles y los procesos industriales dos de las principales fuentes de GEIs (IPCC, 2014).

El suelo es uno de los principales reservorios de carbono, ya que almacena cerca de 2,500 gigatoneladas (Gt) de carbono, de las cuales se estima que 1,550 se encuentran en forma de carbono orgánico y 950 en forma de carbono inorgánico (Lal, 2002, 2004a).

En las últimas décadas ha sido ampliamente estudiada la distribución y dinámica del carbono orgánico del suelo (McGill & Cole, 1981; Sparling, 1992; Jobbágy & Jackson, 2000; Sinsabaugh, 2010); mientras que, el secuestro de carbono inorgánico ha sido menos estudiado, existiendo poca información en cuanto a su dinámica y almacenamiento en el suelo (Cailleau *et al.*, 2004; Mikhailova y Post, 2006).

La ruta oxalato-carbonato es uno de los procesos que han sido estudiados debido a su potencial para secuestrar carbono inorgánicamente. En esta ruta metabólica intervienen dos grupos de organismos; los organismos oxalogénicos (plantas y hongos), es decir, tienen la capacidad de producir compuestos de oxalato, y los organismos oxalotróficos (bacterias) que tienen la capacidad de consumirlos (Braissant *et al.*, 2004; Cailleau *et al.*, 2004; Verrecchia *et al.*, 2006).

En esta ruta biogeoquímica participan dos compuestos principalmente: el ácido oxálico y el oxalato de calcio. Ambos distribuidos ampliamente en la naturaleza (plantas, hongos e inclusive en los animales), el ácido oxálico es un producto final del metabolismo de las células, y se encuentra en forma de ácido libre o precipita en forma de cristales, como una sal insoluble, generalmente oxalato de calcio (Sahin, 2003; Siener *et al.*, 2006).

El ramón (*Brosimum alicastrum* Sw.), que se ha reportado como oxalogénico (Rowley, *et al.*, 2017), es una planta arbórea perennifolia de importancia en la Península de Yucatán debido al uso de sus hojas, tallo, semillas, fruto y látex y a los servicios ambientales que presta (Peters y Pardo-Tejeda, 1982; Hernández-González, 2015). Es de amplia distribución

en la península de Yucatán, encontrándose tanto en vegetación silvestre (López, 2003), como en huertos familiares (Hernández-González, 2015), siendo una de las especies estructurales de éstos últimos (Jiménez-Osornio *et al.*, 1999).

Los huertos familiares mayas son agroecosistemas en los que se maneja una amplia diversidad de especies de plantas (árboles, arbustos, herbáceas, gramíneas) y animales (cerdos, pavos, patos, y colonias abejas), constituyendo un factor fundamental para la alimentación familiar en las comunidades mayas (Toledo, 2008).

Las prácticas de manejo que se realizan en los huertos familiares como la poda de *B. alicastrum* para alimentación animal (Ku *et al.*, 2000; Mex, 2018), vertido de aguas grises (Estrada-Medina *et al.*, 2018), la quema (Tarrant, 1956; DeBano, 1991, Certini, 2005) y eliminación de hojarasca (Xiong *et al.*, 2008), modifican las propiedades fisicoquímicas del suelo y pueden influir en el reservorio de oxalato del suelo. Estos cambios pueden alterar las propiedades microbiológicas del suelo; ya que los factores como las propiedades fisicoquímicas del suelo, pueden modificar la composición y diversidad de las comunidades microbianas del suelo y de la rizósfera (Marschner *et al.*, 2001; Marschner *et al.*, 2004; Estrada-Medina *et al.*, 2016).

En un estudio previo, Rowley *et al.* (2017) encontraron evidencia de la participación de *B. alicastrum* en la ruta oxalato-carbonato en suelos calcáreos de huertos familiares del estado de Yucatán; sin embargo, no se han realizado estudios en individuos de *B. alicastrum* bajo condiciones silvestres. Tomando esto como precedente, el objetivo de este trabajo fue analizar el contenido de oxalato de calcio en tejidos de *B. alicastrum* Sw. y suelo adyacente; y a las comunidades bacteriana oxalotróficas asociadas a esta especie en dos sistemas de manejo (vegetación silvestre y huertos familiares) en Tzucacab, Yucatán.

2 Objetivos

2.1 Objetivo general

Analizar el contenido de oxalato de calcio en tejidos de *Brosimum alicastrum* Sw. y suelo adyacente, y a las comunidades bacterianas oxalotróficas asociadas a esta especie en dos sistemas de manejo en Tzucacab, Yucatán.

2.2 Objetivos específicos

- a) Comparar el contenido de oxalato de calcio en hojas, corteza y raíces de *B. alicastrum* y suelo adyacente, en vegetación silvestre y huertos familiares.
- b) Comparar las propiedades fisicoquímicas (pH, potencial REDOX, carbonatos, calcio) de los suelos asociados a *B. alicastrum* en vegetación silvestre y huerto familiar.
- c) Analizar la correlación entre el contenido de oxalato de calcio en el suelo y las propiedades fisicoquímicas del suelo asociado a *B. alicastrum* en vegetación silvestre y huerto familiar.
- d) Comparar la abundancia de bacterias oxalotróficas en suelo rizosférico y no rizosférico asociado a *B. alicastrum* en vegetación silvestre y huerto familiar.

3 Hipótesis

La producción de ácido oxálico (precursor del oxalato de calcio) está relacionado con la fotosíntesis, por lo que se espera un mayor contenido de este compuesto en las hojas de *Brosimum alicastrum* tanto en huertos familiares como en vegetación silvestre, comparado con el contenido en la corteza y las raíces. Las prácticas de manejo realizadas en los huertos familiares (podas, remoción de hojarasca y quema) disminuyen los aportes de hojarasca al suelo, por lo que se espera un menor contenido de oxalato de calcio en el suelo adyacente a *B. alicastrum* en los huertos familiares y, mayor contenido en los suelos de vegetación silvestre. Un mayor contenido de oxalato de calcio en el suelo favorecerá una mayor abundancia de bacterias oxalotróficas.

4 Marco Teórico

4.1 Secuestro de carbono

La cantidad total de carbono en la tierra es constante y su distribución entre litósfera, atmósfera y biósfera se mantuvo relativamente en equilibrio hasta la era industrial; ya que, la concentración de CO₂ aumentó en la atmósfera de 280 partes por millón en volumen (ppmv) en el año 1000, a 295 ppmv en el año 1900, basado en los datos del núcleo de hielo de la Antártida; y se incrementó a 315 ppmv en 1958 y a 377 ppmv en 2004 basándose en datos reales registrados en Hawai (Yang *et al.*, 2008; Monnin *et al.*, 2001).

En los últimos años se sigue presentando esta tendencia al incremento de las concentraciones del CO₂ atmosférico, ya que para 2010 se presentó una concentración promedio anual de 389.90 ppm, cifra que para julio de 2018 ya se había incrementado a 408.31 ppm (Figura 1); esto representa un incremento medio anual de 2.27 ppm.

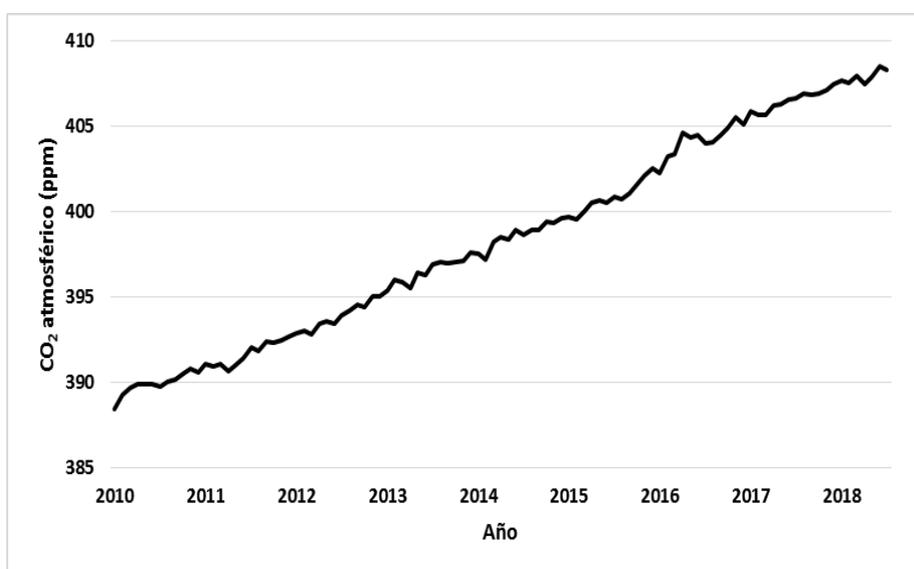


Figura 1. Evolución mensual de la concentración de CO₂ en la atmósfera (2010-2018*).

Fuente: Elaboración propia con datos de NASA, 2018

*Hasta julio de 2018;

Este incremento en las concentraciones de CO₂ está ligado al calentamiento global, debido a que es uno de los principales gases de efecto invernadero, ya que representa aproximadamente el 78% de las emisiones antrópicas de este tipo de gases (IPCC, 1990). El CO₂ atmosférico puede ser secuestrado mediante diferentes procesos; pudiéndose identificar

cinco reservorios de carbono globales; los océanos son el reservorio que almacena una mayor cantidad de carbono, estimándose que almacenan el 81.16%, seguido por el reservorio geológico (10.68%), pedológico (5.34%), biótico (1.62%) y atmosférico (1.20%) (Tabla 1) (Lal, 2004).

Tabla 1. Principales reservorios de carbono

Reservorio	Carbono (Pg)*
Oceánico	38,000
Geológico	5,000
Pedológico	2,500
Atmosférico	760
Biótico	560

*Pg (Petagramo) = 10^{15} gramos. Fuentes: Lal, 2003, 2004^a

El carbono almacenado en el reservorio geológico puede encontrarse en tres formas, en forma de carbón (4,000 Pg), petróleo (500 Pg) y gas natural (500Pg), el carbono estimado para este reservorio, no incluye los carbonatos de las rocas calizas (Lal, 2002). Por su parte, el reservorio pedológico hace referencia a los suelos, en este reservorio el carbono puede encontrarse en dos formas, carbono orgánico (1550 Pg) y carbono inorgánico (950 Pg); los 2,500 Pg de carbono del suelo (orgánico + inorgánico) se encuentra en el primer metro de profundidad del suelo (Lal, 2004).

Todos los reservorios se encuentran intercomunicados y el carbono puede fluir de uno a otro; se estima que cada año se liberan 6.3 Pg de CO₂ a la atmósfera por combustión de combustibles fósiles, mientras que de 1.6-2.0 Pg son liberados por cambio de uso de suelo (Lal, 2003). A su vez, la conversión de sistemas naturales en sistemas agrícolas ocasiona la reducción del carbono del suelo, en regiones templadas esta reducción puede ser de alrededor del 60%, mientras que en regiones tropicales puede llegar a más del 75% (Lal, 2004). Debido a lo anterior, la interacción planta-suelo se vuelve de vital importancia para proteger el carbono del suelo, debido a que existen diferentes atributos de las plantas que les permiten regular el secuestro de carbono en el suelo, desde los que modifican la entrada de carbono al suelo vía productividad primaria y deposición de carbono subterráneo, hasta los mecanismos que controlan la pérdida de carbono a través de la respiración, volatilización y mineralización de compuestos orgánicos (De Deyn, *et al.*, 2008).

Relacionadas con los reservorios de carbono previamente mencionados, existen diferentes vías para el secuestro o fijación de este elemento, los cuales pueden clasificarse en naturales o artificiales, algunos ejemplos pueden ser la forestación, fertilización oceánica, fotosíntesis, carbonatación mineral, separación a base de hidratación, inyección geológica y vertido directo al océano (Yang *et al.*, 2008).

En general, los procesos naturales de secuestro de carbono en los ecosistemas terrestres y acuáticos son más rentables y tienen más beneficios, como el mejoramiento de los servicios ecosistémicos, en comparación con las técnicas de ingeniería y de conversión del CO₂ (Lal, 2004). Uno de los principales mecanismos naturales para la fijación de CO₂ es la carbonatación mineral, a través de la meteorización química de las rocas, como los silicatos, que a su vez contienen calcio y magnesio; este proceso consiste en el almacenamiento de CO₂ en forma estable de carbonatos (Yang *et al.*, 2008).

En los sistemas naturales, los microorganismos del suelo son los principales reguladores de la dinámica del carbono en la pedósfera (Sofi *et al.*, 2010), esto debido a que la abundancia relativa y la actividad de ciertas bacterias y hongos puede afectar el reciclaje de carbono y su almacenamiento en el suelo; ya sea por sus características fisiológicas o por su relación con algunas propiedades fisicoquímicas del suelo (Six *et al.*, 2016). Un mecanismo a través del cual algunos microorganismos del suelo pueden almacenar carbono en la interface geológica-pedológica, es la ruta metabólica oxalato-carbonato, la cual permite la incorporación de carbono inorgánico en la corteza terrestre en forma de roca calcita, a partir del CO₂ atmosférico (Verrecchia, 2006; Cailleau, 2011).

4.2 Ruta Oxalato-Carbonato

En los últimos años se ha estudiado ampliamente el ciclo del carbono; sin embargo, los estudios han estado orientados al secuestro de carbono orgánico, subestimando el potencial del secuestro de carbono mineralizado; uno de los procesos que se dan de manera natural en los ecosistemas y que permite la biomineralización del CO₂ y su almacenamiento en el suelo es la ruta oxalato-carbonato (Cailleau *et al.*, 2004).

La ruta metabólica oxalato-carbonato es un proceso a través del cual se transforma CO₂ atmosférico en ácido oxálico y posteriormente en oxalato de calcio, finalmente se deposita en la pedósfera en forma mineralizada de carbonato de calcio, (Cailleau, 2005; Verrecchia,

2006). Este proceso de mineralización del carbono destaca debido a que el carbono inorgánico del suelo tiene un tiempo de permanencia que va de 10^2 a 10^6 años (Retallack, 1990); esto es hasta 100,000 veces más que el tiempo de residencia del carbono orgánico en forma de materia orgánica (Cailleau *et al.*, 2004).

En la ruta oxalato-carbonato (Figura 2) intervienen tres componentes, las plantas y los hongos oxalogénicos (producen oxalato de calcio) y las bacterias oxalotróficas (consumen oxalato de calcio) (Verrecchia *et al.*, 2006).

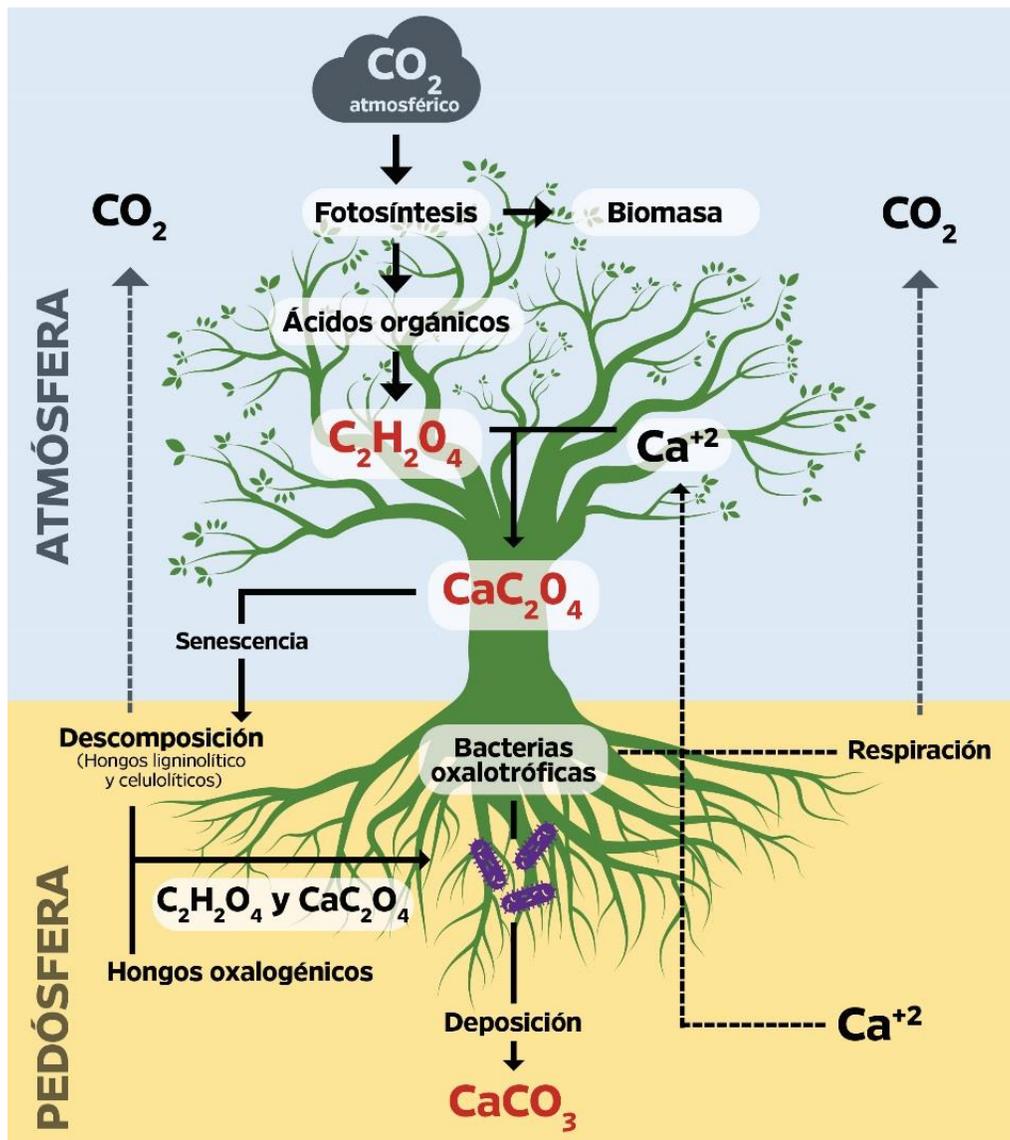


Figura 2. Esquema de la ruta oxalato-carbonato. Modificado de Cailleau *et al.*, 2004

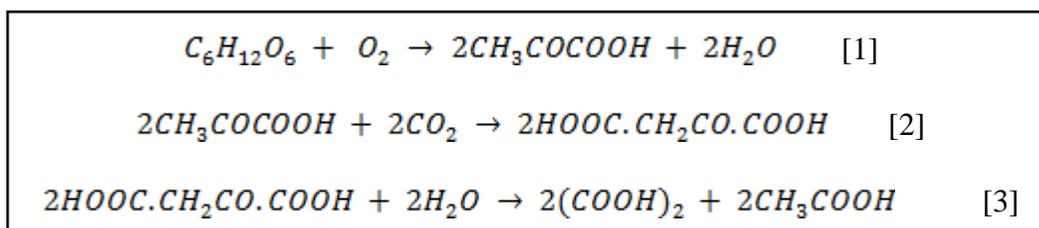
Los organismos oxalogénicos (plantas y hongos) son responsables de la síntesis de ácido oxálico; en el caso de las plantas oxalogénicas, ésta síntesis es a partir del proceso de fotosíntesis, capturando CO₂ de la atmósfera, mientras que los hongos la realizan por saprofitismo, (Graustein, *et al.*, 1977). Sin embargo, el componente crucial para la precipitación de carbonatos de calcio, son las bacterias oxalotróficas (Braissant, *et al.*, 2002); estos organismos tienen la capacidad de utilizar el oxalato de calcio como fuente de energía (Bravo, 2013), lo que desencadena la precipitación de CaCO₃ en el suelo (Martin *et al.*, 2012), siendo un proceso natural para el secuestro de carbono a largo plazo (Figura 2) (Cailleau *et al.*, 2004).

Esta ruta metabólica inicia cuando las plantas oxalogénicas fijan el CO₂ de la atmósfera por medio de la enzima ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO), el cual es utilizado para la generación de biomasa y ácidos orgánicos, entre los que se encuentra el ácido oxálico (H₂C₂O₄); este compuesto se combina con el calcio que las plantas obtienen del suelo, y sintetizan oxalato de calcio (CaC₂O₄), el cual es liberado mediante la descomposición de la materia orgánica y catalizado por las bacterias oxalotróficas, liberando al final de su metabolismo, un mol en forma de carbonato de calcio (CaCO₃) y otro en forma de CO₂ (Cailleau *et al.*, 2004). Los hongos también juegan un papel de mucha importancia, ya sea descomponiendo la materia orgánica rica en oxalato y con esto depositando el oxalato de calcio en el suelo para el catabolismo de las bacterias; o consumiendo el oxalato de calcio (oxalotrofia fúngica) (Braissant *et al.*, 2004; Cailleau *et al.*, 2004; Verrecchia *et al.*, 2006).

El ácido oxálico producido por la planta, es un fuerte ácido orgánico y el más simple de los ácidos dicarboxílicos, con constantes de disociación de pK₁= 1.46 y pK₂= 4.40, puede formar compuestos al combinarse con el calcio (Ca), formando cristales insolubles de oxalato de calcio, estos cristales pueden tener una solubilidad de K_{sp} 2.32 x 10⁻⁹ a 25 °C en su forma monohidratada (Franceschi y Nakata, 2005).

Se ha detectado una gran diversidad de organismos que producen ácido oxálico, incluyendo animales, plantas y hongos (Caliskan, 2000). En el reino vegetal se han propuesto diversos precursores de ácido oxálico, tales como el glicolato, glioxilato, oxaloacetato y citrato (Hodgkinson, 1977); siendo uno de los productos finales de diversos procesos metabólicos como el ciclo de Krebs, la fotosíntesis, la glucólisis, entre otros (Franceschi y Horner, 1980).

Figura 4. Producción de ácido oxálico a partir de glucosa.



Verrecchia, 1990

Una vez sintetizado el ácido oxálico por las plantas, éste puede reaccionar con el calcio (Ca^+), formando cristales de oxalato de calcio, ya sea en forma de oxalato de calcio monohidratado (whewellita) o como oxalato de calcio dihidratado (weddellita), cada una de estas formas pertenece a un sistema cristalográfico diferente: monoclinico y tetragonal, respectivamente (Verrecchia *et al.*, 2006).

La diversidad de formas y tamaños de los cristales de oxalato de calcio, así como su distribución espacial y prevalencia, ha permitido el desarrollo de varias hipótesis acerca de su función en la planta (Nakata, 2003). Algunas de las funciones mejor sustentadas que se le atribuyen a este compuesto son: regulación de la concentración de calcio, protección de la planta en contra de la herbívora y desintoxicación de metales (Franceschi y Nakata, 2005).

La acumulación de los cristales de oxalato de calcio se realiza en las vacuolas de unas células especializadas, llamadas ideoblastos, cuya función es el almacenamiento de cristales (Aragno y Verrecchia, 2012). Los ideoblastos presentan características únicas en cuanto a la cantidad de organelos y algunas otras, que no son comunes en otro tipo de células; las cuales incluyen: un citoplasma muy denso, un abundante retículo endoplasmático, aparatos de Golgi, presencia de vacuolas y plástidos, así como unas estructuras únicas de la membrana asociadas a los cristales de la vacuola (Franceschi y Nakata, 2005). Además de las características intrínsecas de las plantas, existen algunos factores que pueden influir en la producción de oxalato de calcio; el aumento de la concentración algunos iones en el suelo, puede promover una mayor formación de oxalato en los tejidos de algunas plantas superiores (Lapeyrie *et al.*, 1987); algunos de estos iones puede ser el potasio (Smith, 1972), y nitratos (Meeuse y Cambbell, 1959).

Por otro lado, los hongos también pueden contribuir en el aporte de oxalato de calcio al suelo, esto dependiendo de su capacidad de utilizar glucosa y/o citrato como fuente de carbono (Figura 5) (Verrecchia, 2006).

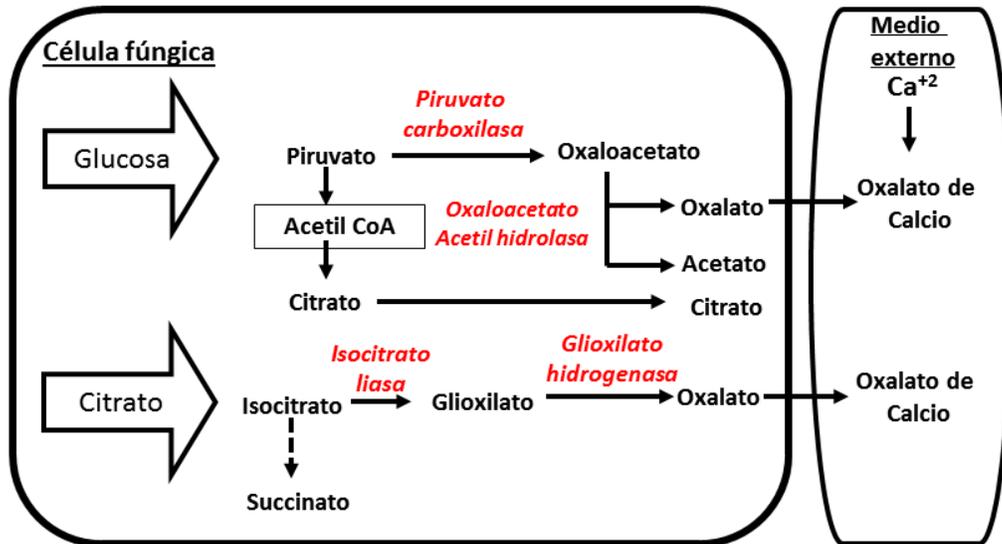


Figura 5. Diagrama de varias rutas metabólicas para la producción de oxalato de calcio por hongos. Modificado de: Verrecchia et al., 2006

Los cristales de oxalato de calcio son depositados en el suelo, mediante diferentes procesos; ya sea de manera directa por acción fúngica, o por medio de la herbívora y descomposición de la materia orgánica por medio de hongos ligninolíticos y celulolíticos, creando un reservorio de oxalato de calcio en el suelo (Cailleau *et al.*, 2005).

4.2.1 Bacterias oxalotróficas

Las bacterias oxalotróficas son organismos que tienen la capacidad de utilizar el oxalato en forma de cristales o el ácido oxálico como fuente de carbono, de energía y/o de electrones (Sahin y Aydin, 2006; Hervé *et al.*, 2016). El proceso de asimilación del oxalato inicia con su reducción a glioxilato, por medio de la enzima oxalil-CoA reductasa (Figura 6). Posteriormente el glioxilato se reduce en glicerato, para ello se pueden seguir dos vías metabólicas: la ruta metabólica del glicerato o una variante de la ruta metabólica de la serina (Chandra y Shethna, 1977).

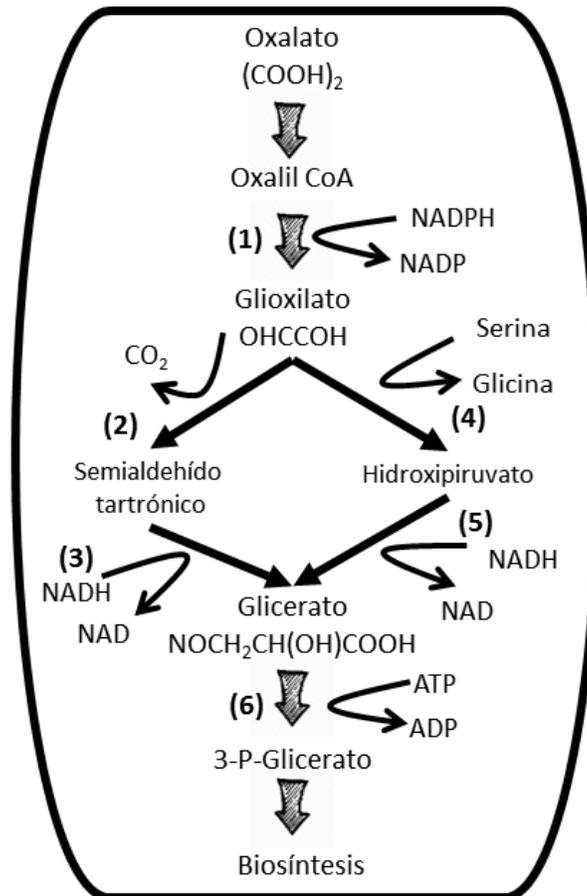


Figura 6. Rutas metabólicas para la asimilación de oxalato. Modificado de: Sahin, 2003

Nota: Enzimas que intervienen: Oxalil-CoA [1]; Glioxilato carboligasa [2]; Semialdehído tartrónico reductasa [3]; Serina-glioxilato aminotransferasa [4]; Hidroxipiruvato reductasa [5]; Glicerato quinasa [6].

En la ruta metabólica del glicerato, la enzima glioxilato carboligase forma TSA (semialdehído tartrónico) y libera CO_2 a partir de dos moléculas de glioxilato, el TSA es reducido a glicerato por la enzima TSA reductasa y finalmente fosforilado por la enzima glicerato quinasa; por otro lado, en la ruta metabólica de la serina, el glioxilato se convierte en hidropiruvato por medio de la enzima serina-glioxilato aminotransferasa, éste último se reduce a glicerato por la enzima hidroxipiruvato reductasa (Chandra y Shethna, 1977).

Las bacterias oxalotróficas involucradas en esta ruta metabólica y que son capaces de utilizar el oxalato como fuente de energía, pueden clasificarse de manera general en dos grupos. Las primeras son denominadas “generalistas”, y son aquellas que pueden fermentar o metabolizar

una gran variedad de compuestos además de oxalato; por lo contrario, las bacterias “especialistas” son aquellas que únicamente pueden utilizar el oxalato como fuente de carbono o pueden asimilar un número limitado de compuestos como fuente de carbono (Sahin, 2003).

A pesar de su importancia en la ruta metabólica del oxalato-carbonato, aún se desconoce la diversidad de especies de bacterias oxalotróficas que participan en este ciclo biogeoquímico, y sobre todo en suelos tropicales donde la precipitación de carbonato de calcio es más evidente (Bravo *et al.*, 2015; Hervé *et al.*, 2016). La taxonomía de estos organismos se complica debido a que pueden pertenecer a grupos filogenéticos muy heterogéneos, ya que pueden desarrollarse en una gran diversidad de ambientes, siendo algunas especies aerobias y otras anaerobias (Sahin, 2003).

Se han realizado diversos estudios taxonómicos de bacterias oxalotróficas (Sahin *et al.*, 2002; Sahin *et al.*, 2005; Khammar *et al.*, 2009; Bravo *et al.*, 2013). Sahin (2003), realizó un recuento de estudios relacionados con la diversidad de especies oxalotróficas, encontrando un total de 63 especies reportadas. La mayoría de las especies de bacterias oxalotróficas que se encuentran descritas son aerobias y se encuentran clasificadas como Gram-negativas; en el mismo estudio, Sahin (2003) realizó el análisis filogenético de 41 secuencias parciales de *16S rRNA* registradas en el GeneBank, encontrando que los aislados Gram-negativos están distribuidos en las subclases α - (α), β - (beta) y γ - (gamma) de las Proteobacterias, mientras que los aislados Gram-positivos están asociados con las Firmicutes y Actinobacteria, localizándose la mayoría en los grupos de α -Proteobacteria y Actinobacteria.

La mayoría de los estudios moleculares para determinar la diversidad de especies de bacterias oxalotróficas, se han realizado mediante la secuenciación del gen *16S rRNA*; sin embargo, el gen *frc* puede ser empleado como un marcador molecular que permite la detección, cuantificación y evaluación de la estructura genética de una comunidad de bacterias oxalotróficas (Khammar *et al.*, 2009).

4.2.2 Especies oxalogénicas

El oxalato de calcio es un compuesto que se puede encontrar en una gran diversidad de organismos, entre los que se pueden encontrar algas, plantas, hongos e inclusive animales; la presencia de este compuesto puede variar a través de los órganos, tejidos, tipos de células y localización intracelular, dependiendo de la especie (Franceschi y Horner, 1980; Franceschi y Nakata, 2005). Se han reportado que 215 familias de plantas superiores tienen la capacidad de producir y almacenar oxalato de calcio en sus tejidos (Franceschi y Horner, 1980), este contenido puede variar del 3 al 80% de su peso seco (Nakata, 2003); siendo las familias Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, y la Polygonaceae las que se caracterizan por almacenar mayor cantidad de oxalato de calcio (más del 5% de oxalato, base seca) (Libert y Franceschi, 1987),

La familia Moraceae ha sido una de las más estudiadas en cuanto a su participación en la ruta oxalato-carbonato, siendo *Milicia excelsa*, la principal especie que ha sido utilizada como modelo biológico para el estudio de esta ruta metabólica (Brassiant *et al.*, 2003; Cailleau, 2004; Brassiant *et al.*, 2004; Cailleau, 2016). Así mismo, Rowley *et al.* (2017) estudiaron a *B. alicastrum* Swartz (Moraceae) y encontraron que también tiene la capacidad de producir cristales de oxalato bajo condiciones del trópico, almacenando hasta un 7.57% (base seca) de oxalato de calcio en sus hojas.

4.3 *Brosimum alicastrum*

Brosimum alicastrum (Moraceae), conocido en Yucatán como Ramón, es uno de los árboles dominantes de las selvas de México y Guatemala (Meiners, *et al.* 2009). Es una especie de árbol neotropical, común en los bosques secos y húmedos del Caribe, América Central y América del Norte y del Sur (Ortiz *et al.*, 1995; Yates y Ramírez-Sosa, 2004).

Es un árbol perenifolio o subperenifolio cuya altura va de los 20 a los 30 metros, en ocasiones alcanzado alturas por encima de los 45 metros, con un diámetro a la altura del pecho de 50 a 90 cm, hasta 1.5 metros; entre sus principales características destacan su copa de tipo piramidal, densa o abierta e irregular, su tronco derecho, cilíndrico con contrafuertes grandes y bien formados y su corteza externa lisa, de fibrosa a granulosa con abundante exudado lechoso (Flora Neotrópica, 1972). Esta planta es una de las consideradas estructurales o

pilares de los huertos familiares, las cuales dan fisonomía y estructura a este sistema de producción tradicional maya peninsular (Jiménez-Osornio, *et al.* 1999).

Brosimum alicastrum, es una planta de importancia ecológica, económica y social. Sus frutos y semillas fueron utilizados por las antiguas comunidades mayas como fuente de alimento, mezclándolos con el maíz, cuando éste es escaso, o pueden ser tostadas para realizar una bebida parecida al café (Peters, 1982; Pennington y Sarukhán, 2005).

Por otra parte, el follaje de este árbol también es utilizado. En los huertos familiares es muy común realizarle podas, y utilizar las hojas como forraje para los animales (ganado bovino, ovino, porcino y caprino) (Peters, 1982; Pennington y Sarukhán, 2005; Mex, 2017); esto es de importancia económica, ya que en la región se ha reportado que puede tener hasta 15.7% de proteína cruda (base seca) (Vera *et al.*, 1999), siendo una fuente de alimento durante la época seca (Pennington y Sarukhán, 2005). De igual manera se ha reportado la fabricación de productos y herramientas con la madera de este árbol; el uso medicinal del látex, hojas, frutos y corteza; uso ornamental y también es empleado como cerca viva (Peters, 1982).

Finalmente, una de las atribuciones de importancia ecológica de esta especie es que se ha reportado como oxalogénica. En un estudio realizado por Rowley *et al.* (2017) en árboles de *B. alicastrum* en huertos familiares del estado de Yucatán y en Haití, encontraron que las concentraciones de oxalato de calcio varían dependiendo del tejido, siendo las hojas y la corteza los que presentan mayor concentración de este compuesto con 7.54% y 7.28% de su peso (base seca), seguidos por las raíces (5.79) y las ramas (3.91).

4.4 Huertos familiares

Los huertos familiares o solares son uno de los primeros sistemas agrícolas del continente americano y de los más complejos, como definición operacional, Gliessman (1990) menciona que los huertos familiares son sistemas de producción integrados por humanos, plantas, animales y suelo cerca de la vivienda, con una extensión que va de 0.5 a 2 hectáreas, habiendo casos en los que puede alcanzar extensiones de 3 a 5 hectáreas. Estos sistemas son de alta diversidad y estabilidad, en ellos se pueden cultivar, tolerar y manejar una gran diversidad de especies animales y vegetales, entre las que pueden encontrarse árboles, arbustos, herbáceas, hortalizas, y animales domésticos como cerdos, gallinas, pavos, patos y colmenas de abejas (Toledo *et al.*, 2008). Se ha reportado que pueden presentar desde 15 especies en

los huertos familiares menos diversos, hasta más de 387 especies en los de mayor diversidad (Barrera, *et al.* 1980).

En México, se ha reportado que la composición florística de los huertos familiares está conformada por hasta cinco estratos horizontales (De Clerck and Negreros-Castillo) y presenta una diversidad florística de hasta 233 especies en Puebla y Oaxaca (Blanckaert *et al.*, 2004; Aguilar-Støen *et al.*, 2009). Para el estado de Yucatán se ha reportado una composición florística de 150 especies útiles (De Clerck y Negreros-Castillo, 2000), y, 135 y 133 para las localidades de Tixpehual y Tixcacaltuyub, respectivamente (Rico-Gray *et al.*, 1990). Esta diversa e intrincada vegetación multiestratificada funciona como una red de seguridad que evita la lixiviación de nutrientes (Van Noordwijk *et al.*, 2015). La flora presente en los huertos familiares puede tener diferentes usos, entre los que destaca la alimentación humana, usos medicinales, ornamentales, fuente de energía (leña), recurso apícola (néctar y polen), construcción de casa, elaboración de herramientas y forraje (Toledo *et al.*, 2008).

Aunado a esta diversidad florística y de usos en los huertos familiares, también se realizan diversas prácticas de manejo y actividades, ya sea para el aprovechamiento de los recursos o para la limpieza del sistema; estas prácticas de manejo pueden ser, la eliminación de la hojarasca, lo que repercute en la disminución de la calidad del suelo (Xiong *et al.*, 2008; Vincent *et al.*, 2010; Tanner *et al.*, 2016), el vertido de aguas grises (Estrada-Medina *et al.*, 2018) y la eliminación de arvenses. Estas prácticas de manejo modifican las propiedades fisicoquímicas del suelo; y también pueden disminuir los aportes de ácidos orgánicos al suelo, ya que los exudados de las raíces, descomposición de material vegetal y algunos productos finales de la descomposición microbiana representan los principales aportes de estos ácidos al suelo (Jones, 1998).

De igual manera pueden verse disminuidos los aportes de oxalato de calcio al suelo, esto debido a la remoción y quema de hojarasca, siendo la primera una extracción física de los cristales de oxalato de calcio, y la segunda una transformación química de los cristales de oxalato en carbonato de calcio, este último proceso descrito por Cailleau *et al.* (2011). Así mismo, las prácticas de manejo de las especies vegetales, como las podas que se realizan a las plantas de *B. alicastrum* (Mex, 2017), también pueden disminuir los aportes de oxalato de calcio al suelo.

4.4.1 Estudio de la rizósfera

La rizósfera fue definida por primera vez por Hiltner (1904) como área del suelo influenciado por las raíces, esto se debe principalmente a las sustancias orgánicas formadas por carbono (Kent y Triplett, 2002). Debido a lo anterior, la rizósfera presenta condiciones particulares, las cuales le permite sostener comunidades de microorganismos que difieren a las que podríamos encontrar en la matriz del suelo sin interacción con las raíces (Buée *et al.*, 2009). Entre los organismos que se pueden encontrar en la rizósfera se encuentran bacterias, hongos, oomicetos, nematodos, protozoos, algas, virus, arqueas y artrópodos (Mendes *et al.*, 2013). Los microorganismos presentes en la rizósfera de las plantas tienen varias funciones a nivel ecológico y fisiológico de la planta hospedera, ya que contribuyen en el control de enfermedades, producción de antibióticos y el ciclaje biogeoquímico de compuestos minerales del suelo (Kent y Triplett, 2002). Los organismos rizosféricos que han sido más ampliamente estudiados pueden clasificarse en tres grupos (Mendes *et al.*, 2013). Los organismos benéficos que promueven el crecimiento y salud vegetal, aquí se incluyen las bacterias fijadoras de nitrógeno, hongos micorrícicos, bacterias promotoras de crecimiento, y organismos que contribuyen al biocontrol (hongos y protozoos). De igual manera se han estudiado los organismos patógenos como algunos hongos, oomicetos, bacterias y nematodos.

Referencias

- Aguilar-Støen, M., Moe, S. R., & Camargo-Ricalde, S. L. (2009). Home gardens sustain crop diversity and improve farm resilience in Candelaria Loxicha, Oaxaca, Mexico. *Human Ecology*, 37(1), 55-77.
- Aragno, M., & Verrecchia, E. (2012). The Oxalate-Carbonate Pathway: A Reliable Sink for Atmospheric CO₂ Through Calcium Carbonate Biomineralization in Ferralitic Tropical Soils. In *Microorganisms in Environmental Management* (pp. 191-199). Springer Netherlands.
- Barrera, A. (1980). Sobre la unidad habitación tradicional campesina y el manejo de los recursos bióticos en el área maya yucatanense. Árboles y arbustos de los huertos familiares. *Biótica*, 2(2): 47-61.
- Blanckaert, I., Swennen, R. L., Flores, M. P., López, R. R., & Saade, R. L. (2004). Floristic composition, plant uses and management practices in homegardens of San Rafael Coxcatlán, Valley of Tehuacán-Cuicatlán, Mexico. *Journal of Arid Environments*, 57(2), 179-202.
- Braissant, O., Cailleau, G., Aragno, M., & Verrecchia, E. P. (2004). Biologically induced mineralization in the tree *Milicia excelsa* (Moraceae): its causes and consequences to the environment. *Geobiology*, 2(1), 59-66.
- Braissant, O., Verrecchia, E. P., & Aragno, M. (2002). Is the contribution of bacteria to terrestrial carbon budget greatly underestimated? *Naturwissenschaften*, 89(8), 366-370.
- Bravo, D., Braissant, O., Cailleau, G., Verrecchia, E., & Junier, P. (2015). Isolation and characterization of oxalotrophic bacteria from tropical soils. *Archives of microbiology*, 197(1), 65-77.
- Bravo, D., Martin, G., David, M., Cailleau, G., Verrecchia, E., & Junier, P. (2013). Identification of active oxalotrophic bacteria by Bromodeoxyuridine DNA labeling in a microcosm soil experiments. *FEMS microbiology letters*, 348(2), 103-111.
- Buée, M., De Boer, W., Martin, F., Van Overbeek, L., & Jurkevitch, E. (2009). The rhizosphere zoo: an overview of plant-associated communities of microorganisms, including phages, bacteria, archaea, and fungi, and of some of their structuring factors. *Plant and Soil*, 321(1-2), 189-212.
- Cailleau, G., Braissant, O., & Verrecchia, E. P. (2004). Biomineralization in plants as a long-term carbon sink. *Naturwissenschaften*, 91(4), 191-194.

- Cailleau, G., Braissant, O., & Verrecchia, E. P. (2011). Turning sunlight into stone: the oxalate-carbonate pathway in a tropical tree ecosystem. *Biogeosciences*, 8(7), 1755.
- Cailleau, G., Braissant, O., Dupraz, C., Aragno, M., & Verrecchia, E. P. (2005). Biologically induced accumulations of CaCO₃ in orthox soils of Biga, Ivory Coast. *Catena*, 59(1), 1-17.
- Çalışkan, M. (2000). The metabolism of oxalic acid. *Turkish Journal of Zoology*, 24(1), 103-106.
- Certini, G. (2005). Effects of fire on properties of forest soils: a review. *Oecologia*, 143(1), 1-10.
- Chandra, T. S., & Shethna, Y. I. (1977). Microbial-metabolism of Oxalate and one-carbon compounds. *Journal of the Indian Institute of Science Section C-Biological Sciences*, 59(4), 26-52.
- Curtis, T. P., Sloan, W. T., & Scannell, J. W. (2002). Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(16), 10494-10499.
- Daniel, R. (2004). The soil metagenome—a rich resource for the discovery of novel natural products. *Current opinion in biotechnology*, 15(3), 199-204.
- De Clerck, F. A., & Negreros-Castillo, P. (2000). Plant species of traditional Mayan homegardens of Mexico as analogs for multistrata agroforests. *Agroforestry Systems*, 48(3), 303-317.
- De Deyn, G. B., Cornelissen, J. H., & Bardgett, R. D. (2008). Plant functional traits and soil carbon sequestration in contrasting biomes. *Ecology letters*, 11(5), 516-531.
- DeBano, L. F. (1991). The effect of fire on soil properties. Proceedings—Management and productivity of western montane forest soils. Gen. Tech. Rep. INT-GTR-280. Ogden, UT: US Department of Agriculture, Forest Service, Intermountain Research Station.
- Estrada-Medina, H., Canto-Canché, B. B., De los Santos-Briones, C., & O'Connor-Sánchez, A. (2016). Yucatán in black and red: Linking edaphic analysis and pyrosequencing-based assessment of bacterial and fungal community structures in the two main kinds of soil of Yucatán State. *Microbiological research*, 188, 23-33.
- Berg C. C. (1972). Olmedieae Brosimeae (Moraceae). *Flora Neotropica*. The New York Botanical Garden Press. 7:170-171
- Franceschi, V. R., & Horner, H. T. (1980). Calcium oxalate crystals in plants. *The Botanical Review*, 46(4), 361-427.
- Franceschi, V. R., & Nakata, P. A. (2005). Calcium oxalate in plants: formation and function. *Annual Review of Plant Biology*, 56, 41-71.

- Gliessman, S. R. (1990). Understanding the basis of sustainability for agriculture in the tropics: experiences in Latin America. *Sustainable agricultural systems*, 378-390.
- Graustein, W. C., Cromack, K., & Sollins, P. (1977). Calcium oxalate: occurrence in soils and effect on nutrient and geochemical cycles. *Science*, 198(4323), 1252-1254.
- Hernández-González, O., Vergara-Yoisura, S., & Larqué-Saavedra, A. (2015). Primeras etapas de crecimiento de *Brosimum alicastrum* Sw. en Yucatán. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 6(27), 38-49.
- Hervé, V., Junier, T., Bindschedler, S., Verrecchia, E., & Junier, P. (2016). Diversity and ecology of oxalotrophic bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(2), 28.
- Hodgkinson, A. (1977). Oxalic acid in biology and medicine. Academic Press.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) (1990). Climate change: the IPCC scientific assessment: Houghton, JT, Jenkins, GJ and Ephraums, JJ (eds.). Cambridge: Cambridge University Press, 1990. 404 pp.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) (2014) Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.
- Jiménez-Osornio, J. J., Ruenes, M. D. R., & Montañez, P. (1999). Agrodiversidad de los solares de la Península de Yucatán. *Red de gestión de recursos naturales*, 14, 30-40.
- Jobbágy, E. G., & Jackson, R. B. (2000). The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological applications*, 10(2), 423-436.
- Kent, A. D., & Triplett, E. W. (2002). Microbial communities and their interactions in soil and rhizosphere ecosystems. *Annual Reviews in Microbiology*, 56(1), 211-236.
- Khammar, N., Martin, G., Ferro, K., Job, D., Aragno, M., & Verrecchia, E. (2009). Use of the *frc* gene as a molecular marker to characterize oxalate-oxidizing bacterial abundance and diversity structure in soil. *Journal of microbiological methods*, 76(2), 120-127.
- Ku Vera, J., Ramírez, C., Jiménez, G., Alayón, J., & Ramírez, L. (2000). Árboles y arbustos para la producción animal en el trópico mexicano. Conferencia electrónica. FAO.
- Lal, R. (2002). Soil carbon dynamics in cropland and rangeland. *Environmental pollution*, 116(3), 353-362.

- Lal, R. (2004). Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. *Science*, 304(5677), 1623-1627.
- Lapeyrie, F., Chilvers, G. A., & Bhem, C. A. (1987). Oxalic acid synthesis by the mycorrhizal fungus *Paxillus involutus* (Batsch. ex Fr.) Fr. *New Phytologist*, 106(1), 139-146.
- Libert, B., & Franceschi, V. R. (1987). Oxalate in crop plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35(6), 926-938.
- López, A. V., Hernández, J. I. V., & Alcalá, V. M. C. (2003). Zonas ecológicas de *Brosimum alicastrum* Sw. en la costa del Pacífico mexicano. *Madera y Bosques*, 9 (1), 27-53.
- Marschner, P., Crowley, D., & Yang, C. H. (2004). Development of specific rhizosphere bacterial communities in relation to plant species, nutrition and soil type. *Plant and soil*, 261(1-2), 199-208.
- Marschner, P., Yang, C. H., Lieberei, R., & Crowley, D. E. (2001). Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil biology and biochemistry*, 33(11), 1437-1445.
- Martin, G., Guggiari, M., Bravo, D., Zopfi, J., Cailleau, G., Aragno, M., Job, D., Verrecchia, E. & Junier, P. (2012). Fungi, bacteria and soil pH: the oxalate-carbonate pathway as a model for metabolic interaction. *Environmental microbiology*, 14(11), 2960-2970.
- McGill, W. B., & Cole, C. V. (1981). Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma*, 26(4), 267-286.
- Meeuse, B. J. D., & Campbell, J. M. (1959). An inhibitor of oxalic acid oxidase in beet extracts. *Plant physiology*, 34(5), 583.
- Meiners M., Sánchez G. C. y De Blois S. (2009) El ramón: Fruto de nuestra cultura para la conservación. CONABIO. *Biodiversitas*, 87:7-10.
- Mendes, R., Garbeva, P., & Raaijmakers, J. M. (2013). The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS microbiology reviews*, 37(5), 634-663.
- Mikhailova, E. A., & Post, C. J. (2006). Effects of land use on soil inorganic carbon stocks in the Russian Chernozem. *Journal of environmental quality*, 35(4), 1384-1388.
- Monnin, E., Indermühle, A., Dällenbach, A., Flückiger, J., Stauffer, B., Stocker, T. F., Raynaud, D. & Barnola, J. M. (2001). Atmospheric CO₂ concentrations over the last glacial termination. *Science*, 291(5501), 112-114.

- Nakata, P. A. (2003). Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Science*, 164(6), 901-909.
- NASA (National Aeronautics and Space Administration U.S.A.) (2018). Global Climate Change, Vital Signs of the Planet. Disponible en: <https://climate.nasa.gov>.
- Ortiz, M., Azañón, V., Melgar, M., & Elias, L. (1995). The corn tree (*Brosimum alicastrum*): a food source for the tropics. In *Plants in human nutrition* (Vol. 77, pp. 135-146). Karger Publishers.
- Pennington, T. D., & Sarukhán, J. (2005). Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Peters, C. M., & Pardo-Tejeda, E. (1982). *Brosimum alicastrum* (Moraceae): uses and potential in Mexico. *Economic Botany*, 36(2), 166-175.
- Retallack, G. J., 2008. Soils of the past: an introduction to paleopedology. John Wiley & Sons.
- Rico-Gray, V., Garcia-Franco, J. G., Chemas, A., Puch, A., & Sima, P. (1990). Species composition, similarity, and structure of Mayan homegardens in Tixpeual and Tixcacaltuyub, Yucatan, Mexico. *Economic Botany*, 44(4), 470-487.
- Rowley, M. C., Estrada-Medina, H., Tzec-Gamboa, M., Rozin, A., Cailleau, G., Verrecchia, E. P., & Green, I. (2017). Moving carbon between spheres, the potential oxalate-carbonate pathway of *Brosimum alicastrum* Sw.; Moraceae. *Plant and Soil*, 412(1-2), 465-479.
- Sahin, N. (2003). Oxalotrophic bacteria. *Research in Microbiology*, 154(6), 399-407.
- Sahin, N., & Aydin, S. (2006). Identification of oxalotrophic bacteria by neural network analysis of numerical phenetic data. *Folia microbiologica*, 51(2), 87-91.
- Sahin, N., Gökler, I., & Tamer, A. Ü. (2002). Isolation, characterization and numerical taxonomy of novel oxalate-oxidizing bacteria. *The Journal of Microbiology*, 40(2), 109-118.
- Siener, R., Hönow, R., Seidler, A., Voss, S., & Hesse, A. (2006). Oxalate contents of species of the Polygonaceae, Amaranthaceae and Chenopodiaceae families. *Food Chemistry*, 98(2), 220-224.
- Sinsabaugh, R. L. (2010). Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(3), 391-404.
- Six, J., Frey, S. D., Thiet, R. K., & Batten, K. M. (2006). Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal*, 70(2), 555-569.
- Smith, F. W. (1972). Potassium nutrition, ionic relations, and oxalic acid accumulation in three cultivars of *Setaria sphacelata*. *Crop and Pasture Science*, 23(6), 969-980.

- Sofi, J., Lone, A., Ganie, M., Dar, N., Bhat, S., Mukhtar, M., Dar, M. A. & Ramzan, S. (2016). Soil microbiological activity and carbon dynamics in the current climate change scenarios: A review. *Pedosphere*, 26(5), 577-591.
- Sparling, G. P. (1992). Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Soil Research*, 30(2), 195-207.
- Tarrant, R. F. (1956). Effect of slash burning on some physical soil properties. *Forest Science*, 2(1), 18-22.
- Toledo, V. M., Barrera-Bassols, N., García-Frapolli, E., & Alarcón-Chaires, P. (2008). Uso múltiple y biodiversidad entre los mayas yucatecos (México). *Interciencia*, 33(5), 345-352.
- Van Noordwijk, M., Lawson, G., Hairiah, K., & Wilson, J. (2015). Root distribution of trees and crops: competition and/or complementarity. *Tree–Crop Interactions: Agroforestry in a Changing Climate*. CABI, Wallingford, UK, 221-257.
- Vera, J. K., Avilés, L. R., Ferrer, G. J., Alayón, J. A., & Cancino, L. R. (1999). Árboles y arbustos para la producción animal en el trópico mexicano. *FAO Animal Production and Health Paper*, 231-258.
- Verrecchia, E. P. (1990). Litho-diagenetic implications of the calcium oxalate-carbonate biogeochemical cycle in semiarid calcretes, Nazareth, Israel. *Geomicrobiology Journal*, 8, 87–99.
- Verrecchia, E. P., Braissant, O., & Cailleau, G. (2006). The oxalate-carbonate pathway in soil carbon storage: the role of fungi and oxalotrophic bacteria. *Fungi in biogeochemical cycles*, 289-310.
- Xiong, Y., Xia, H., Li, Z. A., Cai, X. A., & Fu, S. (2008). Impacts of litter and understory removal on soil properties in a subtropical *Acacia mangium* plantation in China. *Plant and Soil*, 304(1-2), 179-188.
- Yang, H., Xu, Z., Fan, M., Gupta, R., Slimane, R. B., Bland, A. E., & Wright, I. (2008). Progress in carbon dioxide separation and capture: A review. *Journal of environmental sciences*, 20(1), 14-27.
- Yates, S., & Ramírez-Sosa, C. R. (2004). Ethnobotanical knowledge of *Brosimum alicastrum* (Moraceae) among urban and rural El Salvadorian adolescents. *Economic Botany*, 58(1), 72-77.

El artículo “**The role of *Brosimum alicastrum* Sw. (Moraceae) in the oxalate-carbonate pathway in forests and homegardens of Yucatan, Mexico**” se encuentra en el formato solicitado por la revista **Plant and Soil** de la editorial Springer. Factor de impacto: **3.052**.

The role of *Brosimum alicastrum* Sw. (Moraceae) in the oxalate-carbonate pathway in forests and homegardens of Yucatan, Mexico

Álvarez-Rivera O.^{1*}, Estrada-Medina H.¹, Jiménez-Osornio J.J.¹, O'Connor-Sánchez A.²,
Navarro-Alberto J.A.³, Ferrer-Ortega M.¹; Canto-Canché B.², Tzec-Gamboa M.⁴

¹Departamento de Manejo y Conservación de Recursos Naturales Tropicales. Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Autónoma de Yucatán. Km. 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil S/N. C.P. 97315, Mérida, Yucatán.

²Unidad Académica de Biotecnología. Centro de Investigaciones Científicas de Yucatán. Calle 43 No. 130 x 32 y 34, Col. Chuburná de Hidalgo, 97205. Mérida, Yucatán.

³Departamento de Ecología. Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Autónoma de Yucatán. Km. 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil S/N. C.P. 97315, Mérida, Yucatán.

⁴Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias Universidad Autónoma de Yucatán. Km. 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil S/N. C.P. 97315, Mérida, Yucatán.

*Autor de correspondencia: oscaralvarez.uady@gmail.com (+52)9991973685

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado al proyecto “Efecto de la domesticación en la diversidad biológica e interacción planta-suelo de árboles nativos de la Península de Yucatán” (Clave: 236428) y por la beca otorgada al primer autor (clave de becario: 603903). A los estudiantes de contribuyeron en los muestreos y procesamiento de muestras: Grely Pech, Antonio Pacheco, Ángel Dorantes, Nataly Naal e Ismael Jiménez; y a don Felipe Nery de la localidad de Pistekal, Tzucacab quien apoyó como guía y en la colecta de muestras.

Abstract

Aims The oxalate carbonate pathway (OCP) allows to sequester CO₂^{atm} and deposit it in soils as CaCO₃. *Brosimum alicastrum* has been reported as oxalogenic tree in homegardens; but its participation in this pathway in wild vegetation is unknown. This study compared the participation of *B. alicastrum* in OCP in wild vegetation and homegardens. *Methods* We measured the calcium oxalate (CaOx) content of leaves, bark, root and adjacent soil to *B. alicastrum*, and the abundance of oxalotrophic bacteria in rizospheric and non-rizospheric soil associated to the trees. *Results* A higher content of CaOx was found in leaves (45.37 g kg⁻¹) and adjacent soil (576.93 mg kg⁻¹) of wild vegetation. Soil CaOx content was positively related to the soil calcium content ($r_s=0.911$, $p<0.01$) and soil carbonates ($r_s=0.885$, $p<0.01$) and, negatively with the soil REDOX potential ($r_s=-0.625$, $p= 0.02$). Besides, a higher abundance of oxalotrophic bacteria was found in wild vegetation. *Conclusions*. Wild vegetation have a major capacity to sequester atmospheric CO₂ via the OCP, due to a higher content of CaOx in soil and tissues of *B. alicastrum*, and a higher abundance of oxalotrophic bacteria; nevertheless, homegardens have a great potential for CO₂ sequestration, but the management practices implemented can minimize it.

Key words

Inorganic carbon sequestration, oxalotrophic bacteria, oxalogenic tree, traditional farming system

Introducción

El dióxido de carbono (CO₂) es uno de los principales gases de efecto invernadero, para 2010 representaba el 65% de las emisiones antropogénicas de este tipo de gases (IPCC 2014). Los suelos desempeñan un papel muy importante como reservorios de carbono, se estima que almacenan 2,500 Pg de este elemento, de los cuales 1550 Pg se encuentran en forma de carbono orgánico y 950 Pg en forma inorgánica (Lal 2004). La distribución y dinámica del carbono orgánico del suelo se estudió ampliamente en las dos últimas décadas (McGill y Cole, 1981; Sparling, 1992; Jobbágy y Jackson, 2000; Sinsabaugh, 2010); sin embargo, el secuestro de carbono inorgánico ha sido poco estudiado, existiendo poca información en cuanto a su dinámica y almacenamiento en el suelo (Cailleau *et al.* 2004; Mikhailova y Post 2006).

La ruta oxalato-carbonato es un ciclo biogeoquímico que contribuye al secuestro inorgánico del carbono a través de la biomineralización del CO₂ en forma de carbonato de calcio (Braissant *et al.* 2004; Cailleau *et al.* 2005; Verrecchia *et al.* 2006; Rowley *et al.* 2018). Este proceso involucra una interacción compleja entre plantas, hongos y bacterias (Cailleau *et al.* 2011), en la que la planta asimila CO₂ atmosférico y calcio del suelo, que puede provenir de los silicatos de la roca madre, polvo o lluvia (Cailleau *et al.* 2004). En las plantas la fijación de CO₂ atmosférico durante la fotosíntesis, se emplea tanto para la generación de biomasa como para la formación de ácidos orgánicos, entre los que se encuentra el ácido oxálico (H₂C₂O₄) (Cailleau *et al.* 2004; Verrecchia *et al.* 2006). Cuando el ácido oxálico se combina con el calcio se forman cristales insolubles de oxalato de calcio, los cuales se almacenan en las vacuolas de células especializadas denominadas “ideoblastos” (Franceschi y Nakata, 2005).

La mayor contribución de oxalatos de las plantas oxalogénicas se da por los cristales de oxalato de calcio (CaC₂O₄) liberados al suelo cuando los tejidos senescentes caen y se descomponen (Cailleau *et al.* 2004). Así mismo, aunque menos estudiado, algunas especies de hongos tienen la capacidad de producir compuestos de oxalato, lo cual incrementa los aportes de este compuesto al suelo (Horner y Wagner, 1995; Verrecchia *et al.* 2006). El aporte de plantas y hongos oxalogénicos permiten que las bacterias oxalotróficas consuman los cristales de oxalato como fuente de carbono (Sahin, 2003; Hervé *et al.* 2016); estas bacterias oxalotróficas pueden ser generalistas o especialistas dependiendo de su capacidad

de metabolizar otros compuestos además del oxalato (Sahin, 2003), el producto final de su metabolismo, es el carbonato de calcio que es depositado al suelo (CaCO_3) (Cailleau *et al.* 2005).

El potencial de esta ruta metabólica para el secuestro inorgánico de carbono, radica en cuatro factores principales: a) el carbono inorgánico del suelo puede permanecer de 10^2 a 10^6 años almacenado (Retallack, 2008), lo cual es mayor tiempo de residencia en comparación del carbono en forma orgánica (Cailleau *et al.* 2004); b) se han reportado 215 familias de plantas superiores que tienen la capacidad de producir oxalato de calcio (Horner y Wagner, 1995); c) la concentración de oxalato de calcio en los tejidos vegetales puede variar de 2% hasta un 80% (materia seca) (Nakata, 2003); d) existe una gran diversidad de bacterias oxalotróficas, que crecen en condiciones aerobias o anaerobias (Sahin, 2003).

Una de las especies que se han utilizado como modelo biológico para el estudio de esta ruta metabólica en suelos tropicales ácidos (Braissant *et al.* 2004; Cailleau *et al.* 2005), y tropicales alcalinos es *Milicia excelsa* (Moraceae) (Cailleau *et al.* 2014). Recientemente se reportó que *Brosimum alicastrum* Sw. (Moraceae) también produce oxalato de calcio y se ha encontrado evidencia de su participación en esta ruta metabólica en los suelos tropicales calcáreos (Rowley *et al.* 2018). *B. alicastrum* es una especie tropical que se encuentra distribuida de manera natural en México (Peters y Pardo-Tejeda, 1982) y es una de las especies estructurales de los huertos familiares mayas (Jiménez-Osornio, *et al.* 1999), tiene una gran diversidad de usos: alimenticio, medicinal, forrajero, entre otros (Pennington y Sarukhan, 1968), por lo que es considerada una especie de importancia económica, social y ambiental.

En la vegetación silvestre de Yucatán, el manejo del sistema es mínimo, con extracción ocasional de madera para construcción, ebanistería y leña de diversas especies (Chowdhury y Turner, 2006; DiGiano *et al.*, 2013; González-Cruz *et al.*, 2015); mientras que en los huertos familiares los sistemas reciben prácticas agrícolas para mantener la producción de las especies (Toledo *et al.* 2008). Entre estas prácticas de manejo la poda de las plantas de *B. alicastrum* para el uso del forraje para la alimentación animal; la remoción o quema de la hojarasca en los huertos, pueden incidir en los aportes de oxalato de calcio al suelo y por consiguiente en la dinámica de esta ruta metabólica. Por esta razón, esperamos encontrar una menor concentración de oxalato de calcio en los suelos de huertos familiares, que afecten

además a las comunidades de bacterias oxalotróficas. En este trabajo se comparó el contenido de oxalato de calcio en tejidos de *Brosimum alicastrum* y suelo adyacente, y se estimó la abundancia de las comunidades bacterianas oxalotróficas asociadas a esta especie, entre dos sistemas de manejo, el de vegetación silvestre y el de huertos familiares en el municipio de Tzucacab, Yucatán, México.

Materiales y métodos

Sitio de estudio

El estudio se realizó en el municipio de Tzucacab, Yucatán (Figura 1), localizado entre las coordenadas 19° 49' y 20° 10' latitud norte y 88° 55' y 89° 10' latitud oeste (INEGI, 2009).

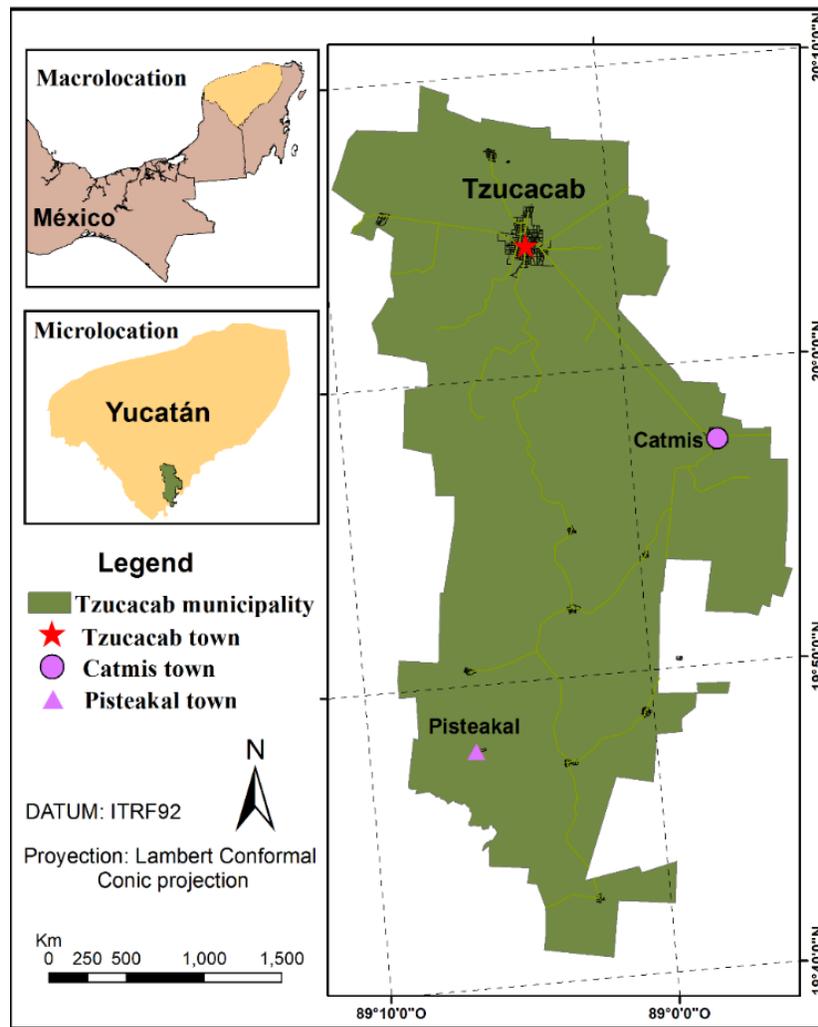


Figura 1. Mapa de localización de las localidades de estudio en Yucatán

El municipio presenta un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano (INEGI, 2009) con una temperatura media anual de 25.5 °C y una precipitación total promedio de 1,240.4 mm anuales (CONAGUA, 2018). Geológicamente se encuentra constituido en un 83.32% de su superficie por roca sedimentaria caliza, siendo los Luvisols (64.11%) la principal unidad de suelo, asociados con Vertisols (20.18%), Phaeozems (12.69) y Leptosols (1.565) (INEGI, 2009).

Muestreo y preparación de las muestras

Los criterios de selección para los individuos, fueron que los árboles adultos tuvieran un diámetro a la altura del pecho (DAP) mayor a 15 cm, estuvieran en la misma etapa fenológica y no presentaran ningún daño aparente por plaga o enfermedad. Se seleccionaron 20 individuos de *B. alicastrum* distribuidos en cinco huertos familiares de la localidad de Catmís (4 por huerto) y 20 individuos en cinco sitios de vegetación silvestre (4 por sitio) de la localidad de Pisteakal (N= 40 árboles).

Se colectaron muestras de hojas, corteza y raíz de todos los individuos para analizar contenido de oxalato de calcio y se tomaron cuatro muestras de suelo; una a profundidad de 0-30 cm para análisis de propiedades fisicoquímicas del suelo, otra a profundidad de 0-15 cm para analizar el contenido de oxalato de calcio, y dos muestras de suelo para los análisis microbiológicos (suelo rizosférico y no rizosférico), estas últimas se tomaron utilizando guantes de látex estériles y se desinfectaron los materiales con alcohol etílico al 70%, las muestras se colocaron en tubos estériles para centrifuga, conservándolas en refrigeración a 4 °C hasta el momento del análisis.

Densidad poblacional y variables dasométricas de B. alicastrum

Para caracterizar la dominancia *B. alicastrum* en los sistemas de manejo se estimaron la densidad poblacional y las variables dasométricas para los individuos de *B. alicastrum*. La densidad poblacional (*D*) se estimó por sitio con el método del vecino más cercano, propuesta por Barbour *et al.* (1980):

$$D = \frac{10,000}{1.67(\text{distancia promedio, m})^2}$$

Se midió el diámetro a la altura de pecho, (DAP), la altura (A), el diámetro mayor de la copa (D_1), su diámetro perpendicular (D_2) y el límite inferior de la copa (LIC) de cada individuo y se calculó la cobertura de la copa (C) con la siguiente fórmula (Bongers *et al.* 1988):

$$C = 0.25 (D_1)(D_2)(\pi)$$

El volumen de la copa (V) para cada individuo se estimó con la siguiente fórmula (Bongers *et al.* 1988),

$$V = 0.167 (D_1)(D_2)(A - LIC)(\pi)$$

Análisis de propiedades del suelo

Los análisis de laboratorio se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas y Agua (LASPA) de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY). Las muestras de suelo se secaron a 105 °C durante 48 h, posteriormente se tamizaron a 2 mm y se realizaron los siguientes análisis fisicoquímicos: densidad real de partículas (Blake and Hartge, 1986), pH en agua relación 1:2 (Thomas, 1996), potencial REDOX (Patrick *et al.* 1996), carbonatos (Loepert y Suárez, 1996), y calcio por el método flamométrico (Suarez, 1996).

Cuantificación de oxalato de calcio

Las muestras de tejido vegetal se secaron en un horno a 60 °C hasta obtener peso constante y posteriormente se pulverizaron con un molino (M20, IKA), y el contenido de oxalato de calcio en tejidos vegetales y en el suelo (seco y tamizado) se cuantificó con un kit enzimático comercial (Trinity Biotech Plc) siguiendo el instructivo del fabricante, considerando las modificaciones propuestas por Certini *et al.* 2000; Cailleau *et al.* 2014 y Rowley *et al.* 2017. Este kit reporta la concentración de iones oxalato en mg kg^{-1} , por lo que la concentración se multiplicó por un factor de 1.66, el que considera la diferencia de peso molecular entre el ion oxalato ($\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, P.M.: 88.019 g M^{-1}) y la whewelita ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ P.M.:142.112 g M^{-1}) (Rowley *et al.*, 2017). De esta manera se estima la concentración de oxalato de calcio monohidratado por muestra; considerando que en un estudio cristalográfico, Rowley *et al.* (2017) encontraron la presencia de cristales de oxalato de calcio monohidratados en la región.

Análisis microbiológicos

Se obtuvo una muestra compuesta de suelo para cada uno de los cinco sitios, por sistema de manejo (vegetación silvestre y huerto familiar) y tipo de suelo (rizosférico y no rizosférico). Las 20 muestras compuestas se guardaron por separado para cada combinación de tipo de suelo (rizosférico/no rizosférico) y sistema de manejo (vegetación silvestre/huertos familiares). En el laboratorio se pesaron 2 gramos de las muestras compuestas, que se incubaron por triplicado en matraces de 50 ml. A cada réplica se le añadieron 20 ml de una solución de hexametáfosfato de sodio ($[\text{NaPO}_3]_6$) al 1%, se agitaron durante 60 s y se dejaron reposar 20 min. Posteriormente se realizaron diluciones en cloruro de sodio (NaCl) al 0.9%, desde 10^{-1} a 10^{-6} . Se seleccionaron las diluciones 10^{-4} y 10^{-5} para su siembra, debido a que la visualización de éstas permitía el conteo de unidades formadoras de colonias.

La siembra se realizó en cajas petri, en dos medios de cultivo sólidos. 1) Medio Trypticase soya agar agregando 40 g/L; y 2) Medio bifásico Schlegel (Aragno and Schlegel, 1991) siguiendo la metodología adaptada por Braissant *et al.* (2004). Se sembraron 100 ml de las diluciones; y las cajas petri se colocaron a incubación a una temperatura de 30 °C, los conteos del medio tripticase soya agar se realizaron a los 7 días, mientras que el conteo del medio específico de Schlegel se realizó a los 10 días. En el caso del medio de cultivo Schlegel se contabilizaron como unidades de colonia positivas aquellas que formaron un halo transparente indicando la disolución del oxalato de calcio (Braissant *et al.*, 2002; Bravo *et al.*, 2015). Los resultados que se reportan son para la dilución 10^{-4} que presentó los mejores resultados para el conteo de las unidades formadoras de colonias para ambos medios.

Análisis estadístico

La selección de análisis paramétricos o no paramétricos, para las comparaciones subsecuentes, se basó en los resultados de las pruebas para los supuestos de normalidad de los residuales (prueba Shapiro-Wilk, $p > 0.05$) y homogeneidad de varianzas (prueba Levene, $p > 0.05$). Para la caracterización de la dominancia de *B. alicastrum* en los sistemas de manejo se compararon las variables de densidad poblacional, altura, cobertura y volumen de la copa con la prueba de suma de rangos de Wilcoxon para cada característica por separado. Para analizar la variación en la concentración de oxalato de calcio entre los sistemas de manejo y los tres tejidos vegetales se realizó un ANOVA mixto con anidamiento implícito y las

diferencias entre las medias se evaluaron con una prueba de contraste pareado de Tukey. La variación en las propiedades fisicoquímicas de los suelos entre los dos sistemas de manejo se analizaron con la prueba de suma de rangos de Wilcoxon para cada característica por separado; y el contenido de oxalato de calcio en suelos se analizó con una prueba t-Student para muestras independientes. Además se estimó, el tamaño del efecto para cada característica fisicoquímicas del suelo usando el estadístico η^2 .

Para evaluar la relación entre las características fisicoquímicas del suelo y la concentración de calcio del suelo se estimó el índice de correlación de Spearman (r_s) para cada sistema de manejo por separado y se ajustó el valor p con la corrección de contrastes múltiples de Bonferroni. La variación en la abundancia de bacterias cultivables y bacterias oxalotróficas entre manejos y tipos de suelo (rizosférico y no rizosférico) se analizó con un ANOVA de dos vías, y las diferencias entre las medias se evaluaron con una prueba de contraste pareado de Tukey. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa R (R Core Team 2018), usando RStudio Version 1.1.452 (RStudio Team 2016) como interfaz de programación.

Resultados

Densidad poblacional y variables dasométricas de B. alicastrum

Se encontró variación entre altura, cobertura, volumen de la copa y densidad poblacional entre los sistemas de manejo (Tabla 1).

Tabla 1. Media (desviación estándar) de variables dasométricas y densidad poblacional de *B. alicastrum* en huertos familiares y vegetación silvestre.

Variable	Vegetación silvestre	Huerto familiar	P*
DAP (cm)	32.22 (13.40)	32.17 (7.00)	1.0
Altura (m)	16.72 (3.74)	12.54 (1.90)	<0.01
Cobertura de la copa (m ²)	42.23 (18.61)	13.94 (4.42)	<0.01
Volumen de la copa (m ³)	396.70 (386.80)	186.36 (120.95)	0.016
Densidad	78 (51.46)	1425 (2691.00)	0.03

P*= Por la prueba de Wilcoxon

Los individuos de *B. alicastrum* presentaron en promedio una altura ligeramente mayor en vegetación silvestre, de igual manera el área y volumen de la copa fueron tres y dos veces

mayor, respectivamente en vegetación silvestre en comparación de los huertos familiares, y una densidad de árboles 18 veces mayor en los huertos familiares.

Cuantificación de oxalato de calcio

Los suelos de vegetación silvestre presentaron un contenido de oxalato de calcio monohidratado de 576.93 mg kg⁻¹ (D.E.=471.86, p<0.05), mientras que los suelos de huertos familiares presentaron un contenido de 26.76 mg kg⁻¹ (D.E.=19.48); esto representa un contenido 21 veces mayor en vegetación silvestre.

La concentración de oxalato de calcio monohidratado en tejidos de *B. alicastrum* varió con la interacción del sistema de manejo (huerto familiar y vegetación silvestre) y el tipo de tejido vegetal (hoja, corteza, raíz). Las hojas de los individuos de vegetación silvestre presentaron un mayor contenido de oxalato de calcio que las hojas de individuos de huertos familiares; esta misma tendencia siguió el contenido de oxalato de calcio en corteza, mientras que el contenido de oxalato de calcio en raíz fue similar entre individuos de vegetación silvestre y de huertos familiares (Tabla 2).

Tabla 2. Media (desviación estándar) del contenido de oxalato de calcio en hojas, corteza y raíz de *B. alicastrum* en huertos familiares y vegetación silvestre.

Manejo	Hoja (g kg⁻¹)	Corteza (g kg⁻¹)	Raíz (g kg⁻¹)
Vegetación silvestre	45.37 (10.76) a	36.70 (7.39) b	30.51 (6.60) b c
Huerto familiar	32.02 (8.04) b c	28.09 (9.51) c	32.69 (11.29) b c

Medias seguidas por letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, p<0.05)

Propiedades fisicoquímicas del suelo

En los suelos adyacentes a *B. alicastrum* en huertos familiares se encontró un pH ligeramente más alcalino; un potencial REDOX 16 veces mayor; y un contenido 4 veces mayor de carbonatos en comparación al de los suelos en vegetación silvestre; mientras que el calcio no varió significativamente entre los sistemas de vegetación.

Tabla 2. Media (desviación estándar) y estadísticos (P=probabilidad y η^2 = tamaño del efecto) de las propiedades fisicoquímicas edáficas en vegetación silvestre y huertos familiares

Variable	Huerto familiar	Vegetación silvestre	P*	η^2
pH	7.23 (0.15)	6.95 (0.20)	<0.01	0.39
Potencial REDOX (mV)	25.54 (26.35)	-9.51 (17.98)	<0.01	0.39
Carbonatos (g g ⁻¹)	0.26 (0.17)	0.06 (0.03)	<0.01	0.41
Calcio Ca(Cmol+ Kg ⁻¹)	1.69 (.21)	1.92 (.65)	0.44	0.06

P* Prueba de Wilcoxon

Análisis de correlación

En suelos de vegetación silvestre se encontraron correlaciones significativas entre el contenido de oxalato de calcio en suelo y el contenido de carbonatos y el de calcio, ambas positivas; y con el potencial REDOX, ésta última negativa. Para el caso de los suelos de huertos familiares, no se encontraron correlaciones entre el contenido de oxalato de calcio y las propiedades fisicoquímicas del suelo (Tabla 3)

Tabla 3. Correlación de Spearman (r_s =índice; P= probabilidad) entre el contenido de oxalato de calcio en el suelo y las propiedades edáficas

Variable	Huerto familiar		Vegetación silvestre	
	r_s	P	$r_s\rho$	P
pH	0.149	1.0	0.252	1.0
REDOX	-0.04	1.0	-0.625	0.02
Calcio	-0.071	1.0	0.911	<0.01
Carbonatos	-0.192	1.0	0.885	<0.01

Análisis microbiológico

Se encontró que la presencia de bacterias oxalotróficas tanto en vegetación silvestre como en huertos familiares en ambos tipos de suelo (rizosférico y no rizosférico) (Figura 3).

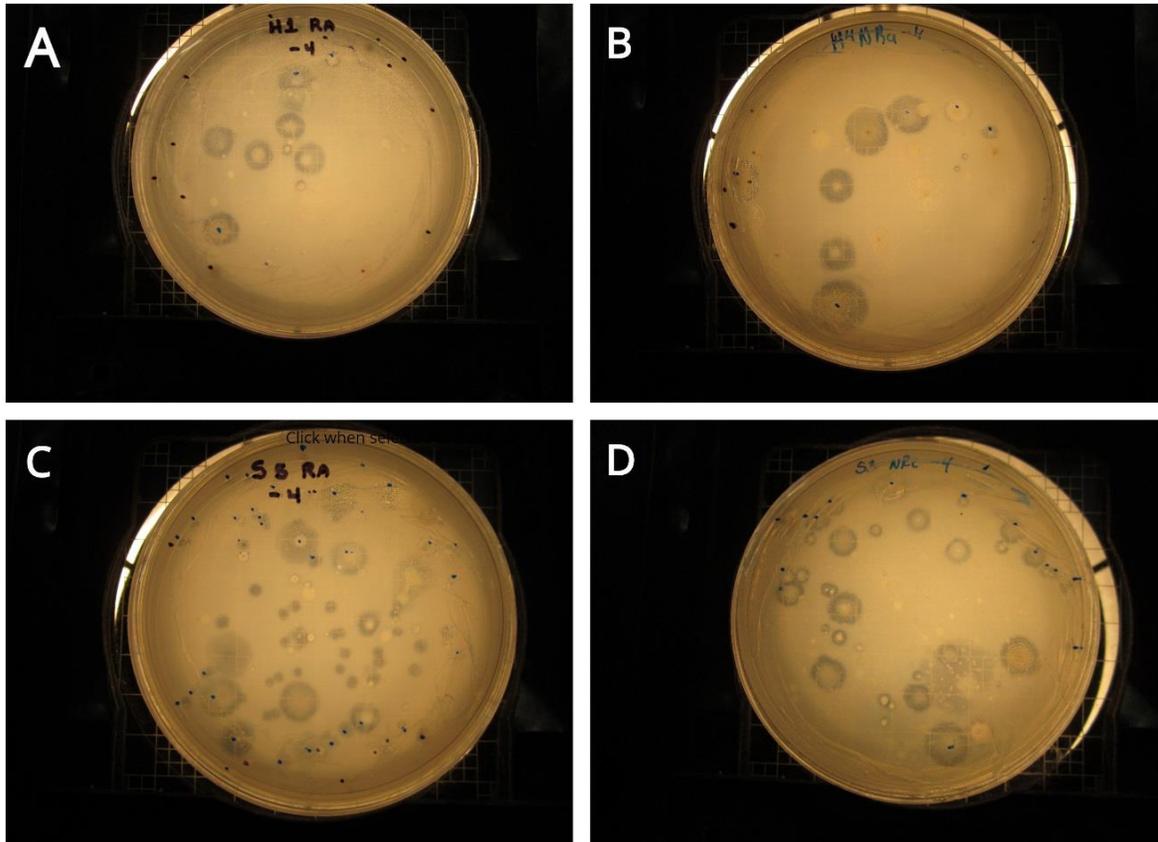


Figura 3. Imágenes que muestran el crecimiento de bacterias oxalotróficas en cajas petri con medio de cultivo Schegle. A) Suelo rizosférico de huerto familiar, b) Suelo no rizosférico de huertos familiar, C) Suelo rizosférico de vegetación silvestre y D) Suelo no rizosférico de vegetación silvestre.

La abundancia de bacterias cultivables varió entre sistemas de manejo ($F= 7.56$; $g.l.= 1$, $P<0.01$), pero no entre tipo de suelo ($F= 1.80$; $g.l.= 1$; $P= 0.18$). La abundancia de bacterias cultivables en los suelos de vegetación silvestre fue 3.6 y 60 veces mayor en rizosférico y no rizosférico respectivamente, en comparación con la de los suelos de huerto familiar (Tabla 4). De igual manera, la abundancia de bacterias oxalotróficas varió entre sistemas de manejo ($F= 46.70$; $g.l.= 1$, $P<0.01$), pero no entre tipo de suelo ($F= 3.10$; $g.l.= 1$; $P= 0.08$); esta variación fue de 79 (suelo rizosférico) y 69 (suelo no rizosférico) veces más bacterias oxalotróficas en vegetación silvestre, en comparación de los suelos de huertos familiares (Tabla 4).

Tabla 4. Abundancia (media) de bacterias cultivables y oxalotróficas en suelo rizosférico y no rizosférico asociado a *B. alicastrum* en condiciones de vegetación silvestre y de huerto familiar.

Suelo/Sistema de manejo	Vegetación silvestre	Huerto familiar
Bacterias cultivables		
Rizosférico	7.03 x10 ⁶ a b	1.97 x10 ⁶ b
No rizosférico	1.47 x10 ⁷ a	2.65 x10 ⁶ b
Bacterias oxalotróficas		
Rizosférico	4.05 x10 ⁶ a	5.13 x10 ⁵ c
No rizosférico	2.67 x10 ⁶ a b	3.87 x10 ⁵ c

Medias seguidas por letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p < 0.05$)

Discusión

En este estudio se encontró evidencia de la participación de *B. alicastrum* en la ruta oxalato-carbonato tanto en vegetación silvestre como huertos familiares. Sin embargo, la contribución de los árboles, el contenido de oxalato de calcio en el suelo y la abundancia bacterias del suelo son diferentes, ya que en vegetación silvestre hubo un mayor contenido de oxalato de calcio en el suelo, relacionado a un mayor contenido de oxalato de calcio en las hojas de *B. alicastrum*, y a una mayor abundancia de bacterias oxalotróficas; lo que sugiere que en este sistema de manejo, las plantas oxalogénicas y las bacterias oxalotróficas contribuyen más al secuestro de carbono inorgánico a través de esta ruta biogeoquímica.

Contenido de oxalato de calcio

El mayor contenido de oxalato de calcio monohidratado en las hojas de vegetación silvestre, puede ser en respuesta al papel que desempeña este compuesto en la planta; se han propuesto tres principales funciones que desempeñan los cristales de oxalato de calcio en la planta, a) regulación de los niveles calcio (Ca) intracelular, b) desintoxicación de metales pesados como el aluminio, cadmio, entre otros, y c) defensa contra la herbívora (Nakata, 2003; Franceschi y Nakata, 2005; Pongrac *et al.*, 2018). En su estudio, Rowley *et al.* (2017) no encontraron una relación significativa entre el contenido de oxalato de calcio monohidratado en los tejidos vegetales y el contenido de Ca intercambiable del suelo, por lo que sugieren que el oxalato de calcio no estaría desempeñando una función de regulación de los niveles de este elemento. En cuanto a la función contra la herbívora, *B. alicastrum* es una planta

ampliamente utilizada como forraje para la alimentación de rumiantes durante la época seca en la región (Ku *et al.* 1999; Mex, 2018), lo cual indica 1) que los animales de la región se han adaptado al consumo de este forraje con alto contenido de oxalato de calcio, o 2) que esta función del oxalato de calcio está más dirigida para evitar herbívora de otros grupos de organismos como podrían ser los insectos, ya que en el estado de Yucatán únicamente se ha identificado un insecto plaga para *B. alicastrum* (*Trioza rusellae* Tuthill) (Ascencio-Álvarez *et al.*, 2015).

Por otro lado, otros autores mencionan que otro papel que puede desempeñar el oxalato de calcio en los tejidos vegetales es el de regular la luz durante la fotosíntesis (Franceschi, 2001), esto posteriormente fue comprobado con *Peperomia glabella*, planta adaptada a las condiciones de poca radiación, la cual produce cristales de oxalato de calcio en sus células de parénquima empalizada, los cuales cambian de posición dependiendo de la intensidad de la luz (Kuo-Huang *et al.* 2007); debido a esto Rowley *et al.* (2017) hipotetizaron en su trabajo que una función que podrían estar desempeñando los cristales de oxalato en las hojas de *B. alicastrum* es la de optimizar la luz ultravioleta. Esto podría representar una ventaja de esta especie, sobre todo en los estadios tempranos de desarrollo, cuando la competencia por luz entre las plántulas del sotobosque es mayor; ya que *B. alicastrum* es una especie perennifolia caracterizada por su tolerancia a la sombra y con altas tasas de proliferación en el sotobosque (Pennington y Sarukhán 1998; Rodríguez-Velazquez *et al.* 1997).

Además de un mayor contenido de oxalato de calcio foliar, también se encontró un mayor contenido de oxalato de calcio en los suelos de vegetación silvestre, siendo en promedio 20 veces mayor que el encontrado en los huertos familiares. Esta diferencia podría ser explicada debido al mayor contenido de oxalato de calcio encontrado en las hojas de árboles de vegetación silvestre. La concentración de oxalato de calcio en el suelo también puede estar influenciada por otros factores. Siendo uno de ellos, la densidad de individuos adultos, así como el área y volumen de la copa de los árboles de *B. alicastrum*; el mayor contenido de oxalato de calcio en suelos se encontró en vegetación silvestre, donde los árboles tuvieron una mayor área y volumen de la copa, mientras que las prácticas de manejo que se realizan en los huertos familiares, tales como la poda de los árboles de *B. alicastrum* para su utilización como forraje, así como la quema y remoción de la hojarasca disminuyen el contenido de oxalato de calcio en el suelo (Figura 5).

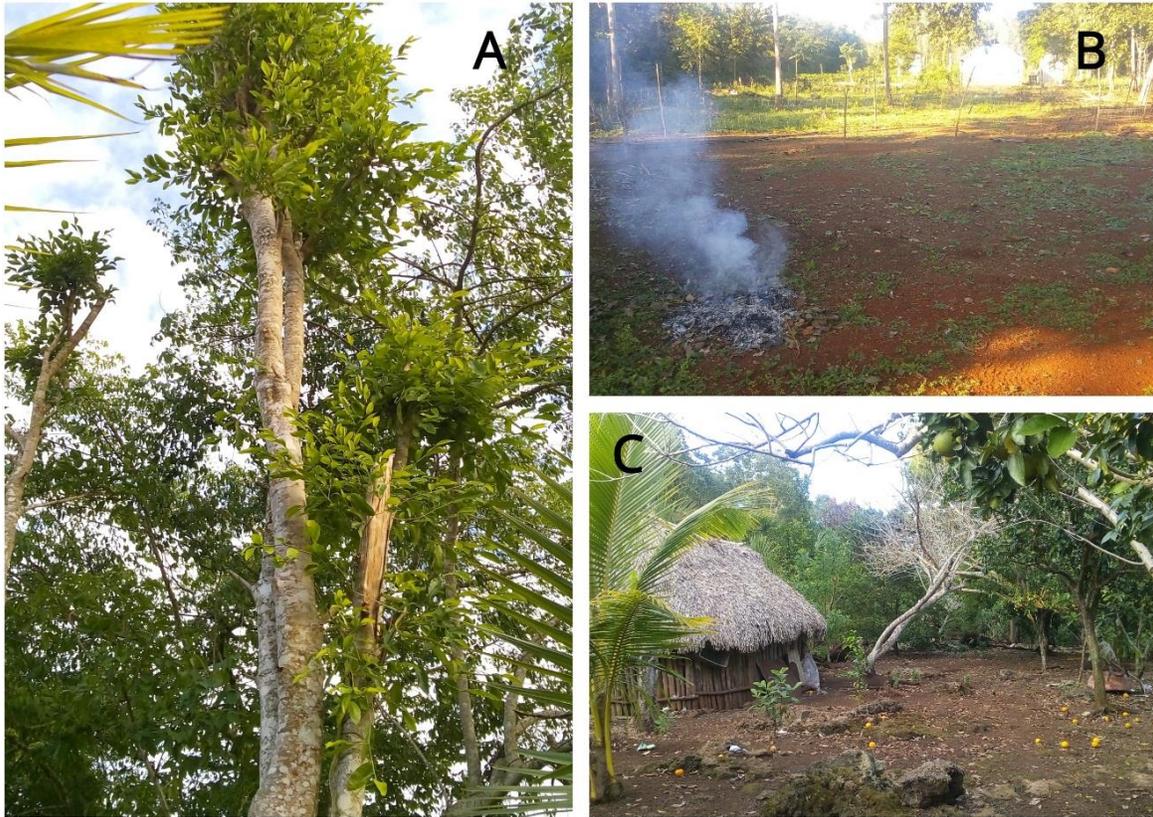


Figura 4. Prácticas de manejo que se realizan en los huertos familiares A) Árbol de *B. alicastrum* rebrotando, después de una poda intensa, B) Quema de hojarasca y material vegetal en un huerto familiar, C) Huerto familiar con el suelo descubierto luego de haberse eliminado toda la hojarasca. Estas prácticas pudieran estar afectando el reservorio de oxalato de calcio de los suelos.

Estas prácticas de manejo afectan la dinámica de la materia orgánica en estos sistemas, ya que la mayoría de los suelos de los huertos familiares se caracterizan por la ausencia de un horizonte O, lo que disminuye los aportes de oxalato de calcio al suelo. La poda de los árboles de *B. alicastrum* para venta de follaje, así como la remoción de hojarasca consisten en una extracción mecánica de los cristales de oxalato de calcio del sistema; sin embargo, la quema de la hojarasca consiste en un proceso químico en el que los cristales de oxalato se transforman en carbonatos de calcio (Cailleau *et al.* 2011).

Otro factor que puede influir en los aportes de oxalato de calcio al suelo es la composición de la vegetación asociada a *B. alicastrum*. Esto debido a que se han reportado más de 215

familias botánicas de plantas superiores capaces de producir este compuesto (Horner y Wagner, 1995), cuya concentración puede variar de 2 a 80% (materia seca) (Nakata, 2003). Los huertos familiares son sistemas manejados que presentan una gran biodiversidad, ya que se ha reportado que pueden llegar a tener de 300 a 500 especies en la Península de Yucatán (Toledo *et al.* 2008). En un estudio en el municipio de Tzucacab, encontraron un total de 38 especies asociadas a *B. alicastrum* en huertos familiares y 47 especies asociadas en vegetación silvestre, siendo una especie estructuralmente importante en ambos sistemas (Mex, 2018); sin embargo, se desconoce la contribución que pudieran tener estas especies en el aporte de oxalato de calcio al suelo.

Correlaciones de las propiedades fisicoquímicas del suelo

En la variación en las concentraciones de oxalato de calcio monohidratado en el suelo pueden influir en las propiedades fisicoquímicas del suelo; incrementando el pH debido al aumento en la deposición de carbonatos de calcio (Braissant *et al.* 2004); de igual manera, Rowley *et al.* (2017) encontraron una alcalinización del suelo y un mayor contenido de calcio y carbonatos de calcio en el suelo adyacente a *B. alicastrum*. En este estudio no se encontró ninguna correlación entre el contenido de oxalato de calcio y las propiedades fisicoquímicas analizadas (pH, Ca y carbonatos de calcio); sin embargo, en vegetación silvestre se encontró una correlación positiva entre el contenido de oxalato de calcio monohidratado del suelo y el contenido de carbonatos y de calcio del suelo. La transformación del oxalato en bicarbonato, da las condiciones necesarias para la precipitación de carbonatos (Braissant *et al.* 2004), esto es una evidencia del proceso de oxalotrofia e incrementa la presencia de carbonatos del suelo. Además se encontró una correlación negativa entre el contenido de oxalato de calcio monohidratado del suelo y el potencial REDOX (E_H), presentando un valor negativo en vegetación silvestre, lo que indica condiciones más reductoras (Patrick *et al.*, 1996), lo que incrementa el proceso de desnitrificación, reduciendo el nitrógeno presente en el suelo de nitratos (NO_3^-) a amonio (NH_4^+) (Buresh y Patrick, 1978; Cameron y Moir, 2013). Esta transformación del nitrógeno del suelo en amonio, es importante debido a que el amonio es un compuesto requerido por las bacterias oxalotróficas para la síntesis de carbonato de calcio a partir de oxalato de calcio (Verrecchia *et al.*, 2006).

Microbiología del suelo

Las propiedades fisicoquímicas del suelo influyen en la estructura microbiana del suelo (Lauber *et al.*, 2008), de manera general se ha encontrado que el pH juega un papel importante en la composición de las comunidades bacterianas del suelo (Fierer y Jackson, 2008); por su parte, Cailleau *et al.* (2014), encontraron que la abundancia de las bacterias oxalotróficas responde a la concentración de oxalato de calcio en el suelo.

En este estudio se encontró una mayor abundancia de bacterias oxalotróficas en el suelo asociado a *B. alicastrum* en vegetación silvestre; esta mayor abundancia de bacterias oxalotróficas en vegetación silvestre responde a un mayor contenido de oxalato de calcio monohidratado en estos suelos, siendo el suelo rizosférico el que presentó una mayor abundancia en comparación del no rizosférico.

Esto es importante debido a que la rizósfera es un microambiente que presenta características diferentes a la matriz del suelo (Buée *et al.* 2009), ya que los exudados de las raíces de las plantas modifican las propiedades fisicoquímicas del suelo que las rodea, dando las condiciones óptimas para el desarrollo de cierto tipo de microorganismos (Yang y Crowley, 2000); to quiere decir que la composición de las comunidades bacterianas de la rizósfera está determinada por la especie de planta y el tipo de suelo (Berg y Smalla, 2009). Esta mayor abundancia de bacterias oxalotróficas en la rizósfera de *B. alicastrum* nos hace pensar en la presencia de bacterias generalistas, las cuales tienen la capacidad de utilizar otras fuentes de energía además del oxalato de calcio (Sahin, 2003), y a un complejo proceso de cooperación entre las diferentes especies, ya que se ha demostrado que las células bacterianas tienen la capacidad de comunicarse entre ellas (Diggle *et al.*, 2007; Bruger y Waters, 2015).

Potencial secuestro de CO₂ vía la Ruta Oxalato-Carbonato

En este estudio se encontró una variabilidad en la contribución de *B. alicastrum* y las bacterias oxalotróficas asociadas a la ruta oxalato-carbonato en vegetación silvestre y huertos familiares, la cual influye en el potencial que tiene cada uno de estos sistemas para el secuestro de CO₂ atmosférico. Los suelos de vegetación silvestre presentaron una concentración 20 veces mayor de oxalato de calcio que los suelos de huertos familiares; sin embargo, al calcular el oxalato de calcio presente en el suelo asociado a cada árbol, esta diferencia se incrementa de 20 a 50 veces más en vegetación silvestre (Tabla 4).

La concentración menor de oxalato de calcio en huertos familiares está asociada al manejo del sistema, en el que las prácticas además de interrumpir la dinámica de la materia orgánica en el suelo, afectando los aportes de oxalato de calcio al mismo. Mientras que las podas disminuyen las coberturas y el volumen de la copa de *B. alicastrum*, por lo que se espera una disminución del aporte de cristales de oxalato de calcio; es posible que el funcionamiento de la ruta del oxalato de calcio sea eficiente en los huertos familiares, porque en estos sistemas de manejo, las densidades de los árboles pueden ser mayores (hasta 20 veces más densos). Sin embargo, se debe considerar que el método empleado para la estimación puede estar sobreestimada, porque se seleccionaron huertos en los que había más de tres individuos de ramón, y la estimación se extrapola a hectáreas de huertos que presenten abundancias similares de la especie.

Tabla 5. Estimación del secuestro potencial de CO₂ atmosférico inorgánicamente por *B. alicastrum* vía la ruta oxalato carbonato en vegetación silvestre y huertos familiares.

Manejo	CaC ₂ O ₄ /árbol (kg)	CO ₂ atm potencialmente secuestrado (kg)	CO ₂ secuestrado (Ton ha ⁻¹)
Huerto familiar	29.9	9.01	15.42
Vegetación silvestre	1661.9	500.61	39.05

Estas cifras reafirman el potencial de *B. alicastrum* como árbol multipropósito (Rico-Gray *et al.*, 1991), no solo por la diversidad de usos que presenta, sino por los servicios ecosistémicos que presta al ambiente (Benjamin *et al.*, 2001); esto además de ser una especie tolerante a la sombra (López-Toledo *et al.*, 2008) y adaptada a los suelos someros (< 30cm) característicos de la región (Estrada-Medina *et al.*, 2013), ya que tiene la capacidad de extraer el agua de las capas subsuperficiales de la roca caliza (Quejereta *et al.*, 2006) y . De igual manera es una especie que ha sido sugerida por su potencial para la agroforestería (Montoya y Tejeda, 1989; Pérez *et al.*, 1995), en su estudio, Rowley *et al.* (2017) estimaron que en una plantación de una hectárea de *B. aliiastrum* (400 árboles) se pueden secuestrar más de 16,000 toneladas de CO₂ incluyendo el carbono orgánico y el carbono inorgánico secuestrado a través de esta ruta metabólica.

Conclusiones

La capacidad de secuestro inorgánico de carbono atmosférico vía la ruta oxalato-carbonato es 2.5 veces mayor en los sitios de vegetación silvestre en comparación de los huertos familiares. Esto es debido a que los árboles de *Brosimum alicastrum* tienen un mayor contenido de oxalato de calcio en hojas y corteza y, el suelo, un mayor contenido de oxalato de calcio y abundancia de bacterias oxalotróficas. Estas diferencias en el contenido de oxalato de calcio podrían estar determinadas por las prácticas de manejo que se realizan en los huertos familiares (podas, remoción y quema de hojarasca), las cuales reducen los aportes de hojarasca al suelo, lo que disminuye el contenido de oxalato de calcio; y también a las propiedades fisicoquímicas del suelo, como es el caso del potencial REDOX, ya que las condiciones más reductoras en vegetación silvestre, podrían estar relacionadas con un mayor contenido de amonio, el cual es un compuesto necesario para el proceso de oxalotrofia de las bacterias. De no realizarse estas prácticas de manejo, el potencial de secuestro inorgánico de carbono atmosférico vía la ruta oxalato-carbonato de los huertos familiares podría ser mayor, ya que en estos sistemas los árboles de *B. alicastrum* se encuentran en densidades estimadas hasta 20 veces mayores que los sitios de vegetación silvestre. Con este estudio se ratifica el potencial de *B. alicastrum* para la agroforestería; sin embargo, los sitios de distribución natural de la especie también presentan un alto potencial para el secuestro de carbono de forma inorgánica, por lo que podrían representar áreas de interés para la conservación y *B. alicastrum* una especie útil para las estrategias de reforestación.

Referencias

Aragno M, Schlegel HG (1991) The mesophilic H₂-oxidising (Knallgas) bacteria. In: Ballow A, HG Truper, M Dworkin, W Harder and KH Schleifer (eds) *The Prokaryotes*. Springer-Verlag, New York, 3, 344-384.

Ascencio-Alvarez A, Martín-Mex R, Tucuch-Haas JI, ValdezCarrasco J, Huchin-Poot EG, Andrade-Canto SB, Larqué-Saavedra A (2015) Gall (*Trioza rusellae* Tuthill) insect identification in *Brosimum alicastrum* Swartz leaves in Yucatán, Mexico. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 21(1), 123–132. doi: 10.5154/r.rchscfa.2014.08.032.

Austria. URL <https://www.R-project.org/>

Barbour MG, Burk JH, Pitts WD (1980) *Terrestrial plant ecology*. Benjamin/Cummings.

Benjamin TJ, Montañez PI, Jaménez JJM, Gillespie AR (2001) Carbon, water and nutrient flux in Maya homegardens in the Yucatán peninsula of México. *Agroforestry Systems*, 53(2), 103-111.

Berg G, Smalla K (2009) Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS microbiology ecology*, 68(1), 1-13. doi: 10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x.

Blake GR, Hartge KH (1986) Particle Density. In: Klute A (ed) *Methods of Soil Analysis: Part Physical and Mineralogical Methods*. Agronomy Monograph. 25. American Society of Agronomy-Soil Science Society of America. Madison, WI, USA, pp. 377-382.

Blake GR, Hartge KH (1986) Particle Density. In: Klute A. (Ed.), (1986) *Methods of Soil Analysis: Part Physical and Mineralogical Methods*. Agronomy Monograph. 25. American Society of Agronomy-Soil Science Society of America, Madison, WI, USA, pp. 377-382.

Bongers F, Popma J, del Castillo JM, Carabias J (1988) Structure and floristic composition of the lowland rain forest of Los Tuxtlas, Mexico. *Vegetatio*, 74(1), 55-80.

Braissant O, Cailleau G, Aragno M, Verrecchia EP (2004) Biologically induced mineralization in the tree *Milicia excelsa* (Moraceae): its causes and consequences to the environment. *Geobiology*, 2(1), 59-66.

Braissant O, Verrecchia EP, Aragno M (2002) Is the contribution of bacteria to terrestrial carbon budget greatly underestimated? *Naturwissenschaften*, 89(8), 366-370. doi 10.1007/s00114-002-0340-0.

- Bravo D, Braissant O, Cailleau G, Verrecchia E, Junier P (2015) Isolation and characterization of oxalotrophic bacteria from tropical soils. *Archives of microbiology*, 197(1), 65-77. doi: 10.1007/s00203-014-1055-2.
- Bruger E, Waters C (2015) Sharing the sandbox: evolutionary mechanisms that maintain bacterial cooperation. *F1000 Research*, 4. doi: 10.12688/f1000research.7363.1.
- Buée M, De Boer W, Martin F, Van Overbeek L, Jurkevitch E (2009) The rhizosphere zoo: an overview of plant-associated communities of microorganisms, including phages, bacteria, archaea, and fungi, and of some of their structuring factors. *Plant and Soil*, 321(1-2), 189-212. doi: 10.1007/s11104-009-9991-3
- Buresh RJ, Patrick WH (1978) Nitrate Reduction to Ammonium in Anaerobic Soil 1. *Soil Science Society of America Journal*, 42(6), 913-918.
- Cailleau G, Braissant O, Dupraz C, Aragno M, Verrecchia EP (2005) Biologically induced accumulations of CaCO₃ in orthox soils of Biga, Ivory Coast. *Catena*, 59(1), 1-17.
- Cailleau G, Braissant O, Verrecchia EP (2004) Biomineralization in plants as a long-term carbon sink. *Naturwissenschaften*, 91(4), 191-194. doi: 10.1007/s00114-004-0512-1.
- Cailleau G, Braissant O, Verrecchia EP (2011) Turning sunlight into stone: the oxalate-carbonate pathway in a tropical tree ecosystem. *Biogeosciences*, 8(7), 1755. doi: 10.5194/bg-8-1755-2011.
- Cailleau G, Mota M, Bindschedler S, Junier P, Verrecchia EP (2014) Detection of active oxalate-carbonate pathway ecosystems in the Amazon Basin: global implications of a natural potential C sink. *Catena* 116:132–141. doi:10.1016/j.catena.2013.12.017.
- Cameron KC, Di HJ, Moir JL, (2013) Nitrogen losses from the soil/plant system: a review. *Annals of applied biology*, 162(2), 145-173. doi:10.1111/aab.12014.
- Certini G, Corti G, Ugolini FC (2000) Vertical trends of oxalate concentration in two soils under *Abies alba* from Tuscany (Italy). *Journal Plant of Nutrition and Soil Science* 163:173–177. doi:10.1002/(sici)1522-2624(200004)163:2<173::aidjpln173>3.0.co;2-h.
- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua) (2018). Información climatológica por estado. Comisión Nacional del Agua. Disponible en: <https://smn.cna.gob.mx/es/informacion-climatologica-ver-estado?estado=yuc>. Consultado: 29 de mayo de 2018.
- Diggie SP, Griffin AS, Campbell GS, West SA (2007) Cooperation and conflict in quorum-sensing bacterial populations. *Nature*, 450(7168), 411. doi: 10.1038/nature06279.

DiGiano M, Ellis E, Keys E (2013) Changing landscapes for forest commons: Linking land tenure with forest cover change following Mexico's 1992 agrarian counter-reforms. *Human ecology*, 41(5), 707-723.

Estrada-Medina H, Graham RC, Allen MF, Jiménez-Osornio JJ, Robles-Casolco S (2013) The importance of limestone bedrock and dissolution karst features on tree root distribution in northern Yucatán, México. *Plant and soil*, 362(1-2), 37-50. doi: 10.1007/s11104-012-1175-x.

Estrada-Medina H, Montañez-Escalante P, Trejo-Salazar LE, Barrientos-Medina R, López-Díaz M, Álvarez-Rivera O Effects of greywater discharges on shallow soil properties. *International Journal of Agriculture and Environmental Research*. 4 (1) January-February.

Fierer N, Jackson RB (2006) The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(3), 626-631. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>.

Franceschi V (2001) Calcium oxalate in plants. *Trends in Plant Science*, 6:331. doi:10.1016/S1360-1385(01)02014-3.

Franceschi VR, Nakata PA (2005) Calcium oxalate in plants: formation and function. *Annual Review of Plant Biology*, 56, 41-71. doi: 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144106

González-Cruz G, García-Frapolli E, Casas A, Dupuy JM (2015) Responding to disturbances: lessons from a Mayan socio-ecological system. *International Journal of the Commons*, 9(2), 831-850.

Hervé V, Junier T, Bindschedler S, Verrecchia E, Junier P (2016) Diversity and ecology of oxalotrophic bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(2), 28. doi: 10.1007/s11274-015-1982-3.

Horner HT, Wagner BW (1995) Calcium oxalate formation in higher plants. In: S.R. Khan (Ed.), *Calcium Oxalate in Biological Systems*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1995, pp. 53–71.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía) (2009) *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Tzucacab, Yucatán*. Clave geoestadística 31098.

IPCC (international panel on climate change) (2014) Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.

Jiménez-Osornio JJ, Ruenes MDR, Montañez P (1999) Agrodiversidad de los solares de la Península de Yucatán. Red de gestión de recursos naturales, 14, 30-40.

Jobbágy EG, Jackson RB (2000) The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. Ecological applications, 10(2), 423-436. doi: [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010\[0423:TVDOSO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010[0423:TVDOSO]2.0.CO;2).

Kuo-Huang LL, Ku SBM, and Franceschi VR (2007) Correlations between calcium oxalate crystals and photosynthetic activities in palisade cells of shade adapted *Peperomia glabella*. Botanical Studies, 48, 155–164.

Lal R (2004) Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. Science, 304(5677), 1623-1627. doi: 10.1126/science.1097396.

Lauber CL, Strickland MS, Bradford MA, Fierer N (2008) The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. Soil Biology and Biochemistry, 40(9), 2407-2415. doi:10.1016/j.soilbio.2008.05.021.

Lauber CL, Strickland MS, Bradford MA, Fierer N (2008) The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. Soil Biology and Biochemistry, 40(9), 2407-2415.

Libert B, Franceschi VR (1987) Oxalate in crop plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 35(6), 926-938.

Loepert R, Suárez D (1996) Carbonate and Gypsum. In: Sparks DL (ed) Methods of Soil Analysis: Part 3. Chemical Methods. Agronomy Monograph. American Society of Agronomy-Soil Science Society of America, Madison, WI, USA pp. 551-574.

Lopez-Toledo L, Martínez M, van Breugel M, Sterck FJ (2008) Soil and light effects on the sapling performance of the shade-tolerant species *Brosimum alicastrum* (Moraceae) in a Mexican tropical rain forest. Journal of Tropical Ecology, 24(6), 629-637. doi: <https://doi.org/10.1017/S0266467408005427>.

McGill WB, Cole CV (1981) Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma*, 26(4), 267-286. doi: [https://doi.org/10.1016/0016-7061\(81\)90024-0](https://doi.org/10.1016/0016-7061(81)90024-0).

Mex R (2018) Vegetación asociada, estructura poblacional y manejo del Ramón (*Brosimum alicastrum* Swartz) en vegetación silvestre y huertos familiares de Piste Akal, Tzucacab, Yucatán. Tesis de maestría. Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatan. Mérida, Yucatán, México.

Mikhailova EA, Post CJ (2006) Effects of land use on soil inorganic carbon stocks in the Russian Chernozem. *Journal of Environmental Quality*, 35(4), 1384-1388. doi: doi:10.2134/jeq2005.0151.

Montoya JD, Tejeda EP (1989) Potential multipurpose agroforestry crops identified for the Mexican Tropics. *New crops food and industry*. Chapman and Hall, London, 166-173.

Nakata PA (2003) Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Science*, 164(6), 901-909. doi: 10.1016/S0168-9452(03)00120-1.

Patrick WH Jr, Gambrell RP, Faulkner SP (1996) REDOX measurements of Soils. In: Sparks DL (ed.) *Methods of Soil Analysis: Part 3. Chemical Methods*. Agronomy Monograph. American Society of Agronomy-Soil Science Society of America, Madison, WI, pp. 1085–1123. 23.

Patrick WH Jr, Gambrell RP, Faulkner SP (1996) REDOX measurements of Soils. In: Sparks D. L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis: Part 3. Chemical Methods*. Agronomy Monograph. American Society of Agronomy-Soil Science Society of America, Madison, WI, pp. 1085–1123. 23.

Pennington TD, Sarukhan Kermez J (1968) Árboles tropicales de México. In *Árboles tropicales de Mexico*. INIF.

Pérez JD, Zapata GDJ, Sosa EE (1995) Utilización del ramón (*Brosimum alicastrum* Swartz) como forraje en la alimentación de ovinos en crecimiento. *Agroforestería en las Américas (CATIE)* v. 2 (7) p. 17-21.

Peters CM, Pardo-Tejeda E (1982) *Brosimum alicastrum* (Moraceae): uses and potential in Mexico. *Economic Botany*, 36(2), 166-175.

Pongrac P, Serra TS, Castillo-Michel H, Vogel-Mikuš K, Arcon I, Kelemen M, Jenc'ic B, Kavc'ic A, Carvalho M Aarts M (2018) Cadmium associates with oxalate in calcium oxalate

crystals and competes with calcium for translocation to stems in the cadmium bioindicator *Gomphrena claussenii*. *Metallomics*. doi: 10.1039/C8MT00149A

Querejeta JI, Estrada-Medina H, Allen MF, Jiménez-Osornio JJ, Ruenes R (2006) Utilization of bedrock water by *Brosimum alicastrum* trees growing on shallow soil atop limestone in a dry tropical climate. *Plant and Soil*, 287(1-2), 187. doi: 10.1007/s11104-006-9065-8.

R Core Team (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna,

Retallack GJ (2008) *Soils of the past: an introduction to paleopedology*. John Wiley & Sons.

Rico-Gray V, Chemás A, Mandujano S (1991) Uses of tropical deciduous forest species by the Yucatecan Maya. *Agroforestry Systems*, 14(2), 149-161.

Rodríguez-Velazquez J, Martínez-Ramos M, Dyer-Leal G (1997) *Brosimum alicastrum* (ojoche). Pp. 97–100 in González S. E., Dirzo R. & Voght R. C. (eds). *Historia natural de Los Tuxtlas*. Instituto de Biología-Instituto de Ecología-UNAM, Mexico City. Citado por:

Lopez-Toledo L, Martínez M, van Breugel M, Sterck FJ (2008) Soil and light effects on the sapling performance of the shade-tolerant species *Brosimum alicastrum* (Moraceae) in a Mexican tropical rain forest. *Journal of Tropical Ecology*, 24(6), 629-637. doi: <https://doi.org/10.1017/S0266467408005427>.

Rowley MC, Estrada-Medina H, Tzec-Gamboa M, Rozin A, Cailleau G, Verrecchia EP, Green I (2018) Moving carbon between spheres, the potential oxalate-carbonate pathway of *Brosimum alicastrum* Sw.; Moraceae. *Plant and Soil*, 412(1-2), 465-479. doi: 10.1007/s11104-016-3135-3.

Roy Chowdhury R, Turner BL (2006) Reconciling agency and structure in empirical analysis: smallholder land use in the southern Yucatán, Mexico. *Annals of the Association of American Geographers*, 96(2), 302-322.

RStudio Team (2016). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

Sahin N (2003) Oxalotrophic bacteria. *Research in Microbiology*, 154(6), 399-407. doi: [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(03\)00112-8](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(03)00112-8).

Sinsabaugh RL (2010) Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(3), 391-404. doi:10.1016/j.soilbio.2009.10.014.

Sparling GP (1992) Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Soil Research*, 30(2), 195-207. doi: <https://doi.org/10.1071/SR9920195>.

Suarez DL (1996) Beryllium, Magnesium, Calcium, Strontium, and Barium. In: Sparks DL (ed) *Methods of Soil Analysis: Part 3. Chemical Methods*. Agronomy Monograph. American Society of Agronomy-Soil Science Society of America, Madison, WI, USA pp. 551-574.

Thomas GW (1996) Soil pH and soil acidity. In: Sparks DL (ed) *Methods of Soil Analysis: Part 3. Chemical Methods*. Agronomy Monograph. American Society of Agronomy-Soil Science Society of America, Madison, WI, pp. 475–490.

Toledo VM, Barrera-Bassols N, García-Frapolli E, Alarcón-Chaires P (2008) Uso múltiple y biodiversidad entre los mayas yucatecos (México). *Interciencia*, 33(5), 345-352.

Vera JK, Avilés LR, Ferrer GJ, Alayón JA, Cancino LR, (1999) Árboles y arbustos para la producción animal en el trópico mexicano. *Fao animal production and health paper*, 231-258.

Verrecchia EP, Braissant O, Cailleau G (2006) The oxalate-carbonate pathway in soil carbon storage: the role of fungi and oxalotrophic bacteria. *Fungi in biogeochemical cycles*, 289-310.

Yang CH, Crowley DE (2000) Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. *Applied and environmental microbiology*, 66(1), 345-351.

Conclusiones finales

La capacidad de secuestro inorgánico de carbono atmosférico vía la ruta oxalato-carbonato es 2.5 veces mayor en los sitios de vegetación silvestre en comparación de los huertos familiares. Esto es debido a que los árboles de *Brosimum alicastrum* tienen un mayor contenido de oxalato de calcio en hojas y corteza y, el suelo, un mayor contenido de oxalato de calcio y abundancia de bacterias oxalotróficas. Estas diferencias en contenido de oxalato de calcio podrían estar determinadas por las prácticas de manejo que se realizan en los huertos familiares (podas, remoción y quema de hojarasca), las cuales reducen los aportes de hojarasca al suelo, lo que disminuye el contenido de oxalato de calcio; y también a las propiedades fisicoquímicas del suelo, como es el caso del potencial REDOX, ya que las condiciones más reductoras en vegetación silvestre, podrían estar relacionadas con un mayor contenido de amonio, el cual es un compuesto necesario para el proceso de oxalotrofia de las bacterias. De no realizarse estas prácticas de manejo, el potencial de secuestro inorgánico de carbono atmosférico vía la ruta oxalato-carbonato de los huertos familiares podría ser mayor, ya que en estos sistemas los árboles de *B. alicastrum* se encuentran en densidades estimadas hasta 20 veces mayores que los sitios de vegetación silvestre. Con este estudio se ratifica el potencial de *B. alicastrum* para la agroforestería; sin embargo, los sitios de distribución natural de la especie también presentan un alto potencial para el secuestro de carbono de forma inorgánica, por lo que podrían representar áreas de interés para la conservación y *B. alicastrum* una especie útil para las estrategias de reforestación.