



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN

FACULTAD DE INGENIERÍA

UNIDAD DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**“MICROORGANISMOS EN LA RIZÓSFERA DEL MANGLE
Avicennia germinans EN SITIOS CON DIFERENTE
ESTADO ECOLÓGICO”**

TESIS

PRESENTADA POR:

I. A. YAJAYRA NATALI MADERA PECH

EN OPCIÓN AL GRADO DE:

MAESTRA EN INGENIERÍA

OPCIÓN AMBIENTAL

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO,

2017

“Aunque este trabajo hubiere servido para el Examen de Grado y hubiere sido aprobado por el Sínodo, sólo el autor es responsable de las doctrinas emitidas en él”

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo otorgado para realizar mis estudios de maestría.

Este trabajo fue presentado en el IX Simposio Universitario Iberoamericano sobre Medioambiente SUIMA 2016, como parte de la XVIII Convención Científica de Ingeniería y Arquitectura (del 21 al 25 de noviembre de 2016), realizado en Cuba. El trabajo se tituló “Caracterización de dos sitios de manglar en puerto Progreso, Yucatán, México” y fue presentado en la modalidad oral.

RESUMEN

Los manglares representan un ecosistema altamente productivo, su productividad ha sido parcialmente explicada por la presencia de un eficiente sistema de reciclaje de nutrientes efectuado a través de la actividad microbiana. En el presente estudio se realizó una evaluación de la diversidad, abundancia y metabolismo de nitrógeno y fósforo de microorganismos en la rizósfera de cuatro sitios de manglar dominados por *Avicennia germinans* (mangle negro) y con diferente estado ecológico (conservado, con regeneración abundante de manglar, con regeneración escasa de manglar y degradado); y su relación con las propiedades del agua y del suelo. Se estudió la composición microbiana mediante el análisis filogenético de la fracción 16S del ARNr, adicionalmente se realizó la caracterización fisicoquímica del agua intersticial y del suelo. De acuerdo a la riqueza específica y a los índices de diversidad de Shannon-Wiener y Simpson, se observó mayor riqueza de especies y mayor diversidad de bacterias en los Sitios con regeneración escasa y degradado, mientras que en los Sitios conservado y con regeneración abundante se encontró menor riqueza y menor diversidad. Por otra parte, en el Sitio degradado, se encontró mayor riqueza de arqueas y menor diversidad. La riqueza de hongos fue mayor en los Sitios con regeneración escasa y degradado, mientras que la diversidad fue mayor en los Sitios con regeneración escasa y conservado. La secuenciación reveló que la comunidad de bacterias fue dominada por los phylum Proteobacterias, Firmicutes y Actinobacterias. La comunidad de arqueas fue dominada por los phylum Crenarchaeota, Euryarchaeota y Thaumarchaeota, y la comunidad de hongos fue dominada por el phylum Ascomycota. La población de microorganismos presentes en la rizósfera de los sitios de muestreo presentó actividad positiva para fijación biológica de nitrógeno y solubilización de fosfato inorgánico. Los resultados muestran que existe una relación entre las variables salinidad, pH, potencial redox, amonio, sulfato, sulfuro, materia orgánica, carbono total, nitrógeno total, fósforo total, la relación N:P y la relación C:N, con el estado ecológico del manglar. Estos resultados amplían el conocimiento de la diversidad microbiana y su papel ecológico en el ecosistema de manglar.

Palabras clave: manglares, bacterias, hongos, arqueas, biogeoquímica

ABSTRACT

Mangroves represent a highly productive ecosystem, their productivity has been partly explained by the presence of an efficient nutrient recycling system carried out through microbial activity. The present study evaluated the diversity, abundance and metabolism of nitrogen and phosphorus of microorganisms in the rhizosphere of four mangrove sites dominated by *Avicennia germinans* (black mangrove) and with different ecological status (conserved, with abundant regeneration of mangrove, with scarce mangrove and degraded regeneration); and its relationship to the properties of water and soil. The microbial composition was studied by phylogenetic analysis of the 16S fraction of rRNA, in addition the physicochemical characterization of the interstitial water and the soil was carried out. According to the specific richness and diversity indexes of Shannon-Wiener and Simpson, greater species richness and greater diversity of bacteria at sites with scarce and degraded regeneration was observed, whereas a less richness and diversity was observed in the sites conserved and with abundant regeneration. On the other hand, in the degraded site, a greater richness of archaea and smaller diversity was found. The richness of fungi was greater in the sites with scarce and degraded regeneration, whereas the diversity was greater in the sites with scarce and conserved regeneration. Sequencing revealed that the bacterial community was dominated by the phylum Proteobacteria, Firmicutes and Actinobacterias. The archaea community was dominated by phylum Crenarchaeota, Euryarchaeota and Thaumarchaeota, and the fungal community was dominated by phylum Ascomycota. The population of microorganisms present in the rhizosphere of the sampling sites presented positive activity for biological fixation of nitrogen and solubilization of inorganic phosphate. Results showed a relationship between salinity, pH, redox potential, ammonium, sulfate, sulfur, organic matter, total carbon, total nitrogen, total phosphorus, N: P ratio and C: N ratio with the ecological condition of the mangrove. These results help to broad the understanding of microbial diversity and its ecological role in the mangrove ecosystem.

Keywords: mangroves, bacteria, fungi, archaea, biogeochemistry

ÍNDICE

	Páginas
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS.....	5
Objetivo general:.....	5
Objetivos específicos:	5
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO	6
1.1. Generalidades de los manglares.....	6
1.2. Importancia de los manglares	7
1.3. Problemática ambiental.....	8
1.4. Mangle negro (<i>Avicennia germinans</i>).....	8
1.5. Biogeoquímica de los manglares	9
1.5.1. Hidrología	10
1.5.2. Salinidad	11
1.5.3. Potencial de óxido-reducción (Eh)	11
1.5.4. Potencial de hidrógeno (pH)	14
1.5.5. Ciclos biogeoquímicos	15
1.6. Microorganismos asociados a los manglares	20
1.6.1. Bacterias fijadoras de nitrógeno.....	23
1.6.2. Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico	24
1.6.3. Hongos solubilizadores de fosfato inorgánico.....	24
1.6.4. Bacterias reductoras de sulfatos.....	25
1.7. Diversidad microbiana en el suelo	26
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA	28
2.1. Área de estudio	28

2.2. Selección de sitios y toma de muestras	29
2.3. Caracterización de sitios	32
2.3.1. Caracterización del agua	32
2.3.2. Caracterización del suelo.....	33
2.3.3. Caracterización microbiana	35
2.4. Análisis de datos	37
CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
3.1. Caracterización de sitios	39
3.1.1. Caracterización del agua	39
3.1.2. Caracterización del suelo.....	54
3.1.3. Caracterización microbiana	69
CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES.....	89
RECOMENDACIONES	91
REFERENCIAS.....	92

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características estructurales de la vegetación de los sitios de muestreo....	31
Tabla 2. Resultados de la caracterización fisicoquímica del agua y del suelo	40
Tabla 3. Frecuencia, período y nivel de inundación por mes de los sitios de monitoreo	41
Tabla 4. Nivel del suelo por sitio (m.s.n.m).....	55
Tabla 5. Resultados del Análisis de Componentes Principales (PCA)	65
Tabla 6. Abundancia relativa de bacterias	74
Tabla 7. Abundancia relativa de arqueas	75
Tabla 8. Abundancia relativa de hongos.	76
Tabla 9. Índices de diversidad de bacterias, arqueas y hongos.....	79
Tabla 10. Resultados del análisis SIMPER.....	80
Tabla 11. Unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias y hongos solubilizadores de fosfato	85
Tabla 12. Unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias fijadoras de nitrógeno.	85
Tabla 13. Microorganismos fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fosfato.....	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Relación entre las condiciones hidrológicas del suelo, el potencial redox y actividad metabólica microbiana .	12
Figura 2. Reducción de aceptores de electrones en función al tiempo después de la inundación del suelo.	14
Figura 3. Localización del área de estudio	28
Figura 4. Diagrama de cajas de la variación de la salinidad entre sitios.	44
Figura 5. Diagrama de cajas de la variación de la temperatura entre sitios.	45
Figura 6. Diagrama de cajas de la variación del pH entre sitios.	46
Figura 7. Diagrama de cajas de la variación del potencial de óxido-reducción entre sitios.	48
Figura 8. Diagrama de cajas de la variación de nitratos+ nitritos entre sitios.	49
Figura 9. Diagrama de cajas de la variación del amonio entre sitios.	50
Figura 10. Diagrama de cajas de la variación de fosfatos entre sitios.	51
Figura 11. Diagrama de cajas de la variación de sulfatos entre sitios.	54
Figura 12. Diagrama de cajas de la variación de sulfuros entre sitios.	54
Figura 13. Diagrama de cajas de la variación de densidad aparente entre sitios.	56
Figura 14. Diagrama de cajas de la variación de materia orgánica entre sitios.	57
Figura 15. Diagrama de cajas de la variación de carbono total entre sitios	60
Figura 16. Diagrama de cajas de la variación de nitrógeno total entre sitios	60
Figura 17. Diagrama de cajas de la variación de fósforo total entre sitios	61
Figura 18. Resultado del Análisis de Componentes Principales a partir de las variables fisicoquímicas del agua y del suelo	64
Figura 19. Diagrama de escalamiento multidimensional (MDS).	66
Figura 20. Estructura de los sitios de manglar	67
Figura 21. Topografía, niveles de inundación y variables del agua y del suelo.	68
Figura 22. Composición microbiana por sitio.	71
Figura 23. Diagrama de escalamiento multidimensional (MDS) para bacterias	82
Figura 24. Diagrama de escalamiento multidimensional (MDS) para arqueas.	82

Figura 25. Diagrama de escalamiento multidimensional (MDS) para hongos.	83
Figura 26. Bacterias y hongos solubilizadores de fosfato	84
Figura 27. Bacterias fijadoras de nitrógeno que se desarrollaron en el medio ASHBY	85
Figura 28. Nitrógeno total solubilizado por bacterias que crecieron en el medio ASHBY	86

INTRODUCCIÓN

El manglar es un ecosistema formado por vegetación arbórea, las relaciones entre la fauna y la flora, así como el medio físico sobre el cual se establecen. Se denomina mangle a las especies de árboles y arbustos que lo conforman, los cuales se han adaptado para sobrevivir en la interfase entre la tierra y el mar (Hoff et al. 2002; Kathiresan y Bingham 2001).

Debido a su condición de ambiente costero y ecosistema terminal de las cuencas hidrográficas, el manglar presenta varias características particulares: es un ecosistema de gran riqueza biológica, en el que habitan aves, peces, mamíferos, reptiles, moluscos y plantas; a su vez aporta servicios a la sociedad proporcionando recursos forestales como madera y leña, así como recursos no maderables; es un ecosistema altamente productivo, que genera una gran cantidad de nutrientes que se exporta a los hábitats adyacentes como son lagunas costeras, pastos marinos y arrecifes (Rodríguez-Zúñiga et al. 2013). Los manglares también son reconocidos como un importante sumidero de carbono y cinturón verde que protege las zonas costeras de los desastres naturales tales como tsunamis, ciclones y la erosión causada por vientos y mareas, ayudando así a mantener la línea costera (Spalding et al. 2010; Rodríguez-Zúñiga et al. 2013).

Los manglares son ecosistemas complejos y dinámicos que dependen de factores bióticos y abióticos interrelacionados, tales como la hidrología, el suelo, la vegetación y los microorganismos (Twilley y Day 1999).

El manglar está fuertemente ligado a la hidrología. La hidrología es definida por: 1) el hidroperíodo (nivel, duración y frecuencia de inundación, 2) la hidrodinámica (dirección y velocidad del movimiento del agua), y 3) la fuente de agua (subterránea y superficial) (Reddy y DeLaune 2008). Dentro de la hidrología, el hidroperíodo es el más importante, es el resultado del balance entre las entradas y salidas de agua, puede tener variaciones estacionales y variaciones año con año, se define por su duración (tiempo de inundación), frecuencia (el número de veces que ocurre en una unidad de tiempo) y la profundidad (nivel de inundación) (Mitsch y Gosselink 1993). El

hidroperíodo se ve influido por las características físicas del terreno (topografía) y por la proximidad a otros cuerpos de agua (Mitsch et. al. 2009). La topografía determina las áreas que se inundan o se secan. La hidrología junto con las variaciones en la topografía juegan un papel central en los procesos dinámicos del manglar (Tovilla 2009; Moreno-Casasola y Warner 2009). Como resultado de los cambios en la hidrología los manglares estarán temporal o permanentemente inundados. La duración de la inundación, el nivel de la inundación y la frecuencia de inundación, tienen efectos sobre la biogeoquímica del suelo, incluidas las reacciones de óxido-reducción, la disponibilidad de nutrientes, la salinidad, el potencial redox, el pH y la acumulación de la materia orgánica; por lo tanto pequeños cambios en la hidrología pueden dar lugar a cambios bióticos importantes, la biota puede responder con cambios masivos en la composición y riqueza de especies, y en la productividad de los ecosistemas de manglar. Las condiciones hidrológicas son extremadamente importantes para mantener la estructura y función de los humedales (Gosselink y Turner 1978; Mitsch y Gosselink 1993).

Un componente biótico importante en el ecosistema de manglar son los microorganismos. La alta productividad de los manglares ha sido parcialmente explicada por la presencia de un eficiente sistema de reciclaje de nutrientes efectuado a través de la actividad microbiana. Los principales grupos de microorganismos que se encuentran en estas áreas son bacterias, hongos, algas y protozoarios (Alongi 1988). Las comunidades microbianas son responsables de una parte importante del suministro de nutrientes a las plantas. Los microorganismos son la base para el desarrollo de la vida en áreas de manglares (Lovelock et al. 2006).

La rizósfera es la porción del suelo bajo la influencia de la raíz (Hartmann et al. 2008). Los microorganismos que se encuentran asociados a la rizósfera del manglar juegan un papel importante en la degradación y mineralización de la materia orgánica y participan en los ciclos biogeoquímicos del carbono, nitrógeno, azufre y fósforo (Mitsch y Gosselink 2000; DeLong 2009). La rizósfera es uno de los principales sitios donde se presentan microorganismos, específicamente funcionales, como fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfatos, promotores del crecimiento vegetal,

biocontroladores y especies patógenas. Se cree que las sustancias alimenticias exudadas por las raíces de los árboles de mangle sirven de alimento y son fuente de energía para la actividad microbiana presente en los sedimentos del manglar (Alongi et al. 1993). Existe evidencia para proponer que se da una estrecha asociación microorganismo-suelo-plantas, la cual funciona como mecanismo para conservar los escasos nutrientes del ecosistema, necesarios para el desarrollo y mantenimiento de estos. Las interacciones microorganismo-suelo-plantas repercuten de forma directa, en el crecimiento y en el desarrollo de las especies vegetales (Alongi et al. 1993; Nedwell et al. 1994).

Muchos factores afectan el crecimiento y desarrollo de los bosques de manglar, pero las relaciones microorganismo-suelo-plantas sientan las bases para entender cómo funcionan los manglares y la capacidad también de responder a cambios ambientales como resultado de una perturbación. De acuerdo con Holguin et al. (2007) es imposible comprender los mecanismos de desarrollo y sostenimiento del ecosistema de manglar sin abordar el estudio de su microbiología, ya que ésta resulta fundamental para su mantenimiento (Kathiresan y Bingham 2001).

Aunque los manglares representan ecosistemas de importancia mundial, la diversidad de los microorganismos apenas se ha explorado. Las primeras percepciones sobre las comunidades microbianas se basaron en el cultivo de colonias representativas a partir de muestras. El empleo de técnicas moleculares para evaluar la comunidad microbiana ha permitido una visión más profunda de las poblaciones microbianas que viven en los sedimentos de manglar (Taketani et al. 2009). En la actualidad, pocos estudios han evaluado la diversidad de los microorganismos asociados a los manglares, la mayor parte de estas investigaciones se centran en la composición bacteriana y dejan a un lado la composición de arqueas y hongos o se enfocan al aislamiento de una especie en particular. Es escasa la información para entender el papel de los microorganismos y su respuesta a una gran clase de disturbios ambientales, sobre todo cuáles son los grupos microbianos negativamente o positivamente afectados a estos eventos y cuál es su papel en la resiliencia después de estos disturbios. No está clara la relación entre la diversidad microbiana y la función en el ecosistema de manglar. De allí la

importancia de los estudios que vinculan la diversidad y la función de los microorganismos así como la evaluación de cómo se ven afectados por los cambios en los gradientes ambientales. Es necesario conocer la diversidad de microorganismos e identificar su función y su relación con la condición ecológica del manglar, para conocer cómo estas comunidades responden a los cambios ambientales (Duke et al. 2007).

El propósito de este estudio fue determinar el funcionamiento del ecosistema de manglar a través de la diversidad de microorganismos, la composición y la relación con el estado ecológico del sitio (gradientes ambientales). Para este estudio se realizó una caracterización microbiana de sitios de manglar dominados por *Avicennia germinans* mediante técnicas de biología molecular (análisis filogenético de la fracción 16S del ARNr), además, se evaluó el metabolismo de nitrógeno y fósforo de los microorganismos, también se realizó un análisis fisicoquímico del agua y del suelo para determinar la relación de los microorganismos con las características del agua y suelo y la condición ecológica del manglar (manglar conservado, en restauración con regeneración de manglar abundante y escasa, y degradado).

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar la diversidad, abundancia y el metabolismo de microorganismos en la rizósfera de *Avicennia germinans* y su relación con las propiedades del agua y del suelo en sitios de manglar con diferente estado ecológico.

Objetivos específicos:

- Caracterizar los sitios de muestreo a través de la determinación de las variables físico-químicas del agua intersticial y del suelo en manglares conservados y en restauración.
- Determinar la diversidad y abundancia de microorganismos en sitios de manglar con diferente estado ecológico.
- Evaluar el metabolismo de nitrógeno y fósforo de consorcios naturales.
- Establecer la relación entre los microorganismos en la rizósfera del manglar con su estado ecológico.

CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO

1.1. Generalidades de los manglares

El ecosistema de manglar está caracterizado por plantas que crecen en la interfase tierra-mar en las latitudes tropicales y subtropicales del mundo; mangle se denomina a las especies de plantas que habitan en tales ecosistemas (Kathiresan y Bingham 2001).

Los manglares se localizan en las bahías, lagunas costeras, esteros, en ciertas partes en la línea de costa y en la desembocadura de los ríos (CONABIO 2009). El entorno físico de los manglares se define por la inundación regular del suelo, la salinidad variable y suelos anaerobios (Holmboe et al. 2001).

En el mundo se reportan alrededor de 72 especies de mangle, agrupadas en diferentes familias y géneros. En México predominan cuatro especies de mangle: el mangle rojo (*Rhizophora mangle*), el mangle blanco (*Laguncularia racemosa*), el mangle negro (*Avicennia germinans*) y el mangle botoncillo (*Conocarpus erectus*), además, se han registrado *Rhizophora harrisoni* y *Avicennia bicolor*. Es común encontrarlas asociadas, dependiendo de sus requerimientos y resistencia a la salinidad, en un gradiente relacionado al nivel de las mareas que las inundan o las bañan. Generalmente hay dominancia de una especie o de una asociación predominante de dos o tres especies, dependiendo del lugar en donde se hayan establecido (Rodríguez-Zúñiga et al. 2013).

Los manglares pueden crecer en diferentes salinidades que van desde 0 UPS (Unidades Prácticas de Salinidad, equivalen a gramos de sal por litro de agua) hasta hipersalinas de más de 60 UPS (Agráz-Hernández et al. 2006). Se ha reconocido que las condiciones óptimas de crecimiento de las distintas especies de mangle en general, son de hasta los 40 UPS, algunos autores han encontrado que las diferentes especies tienen distinto grado de tolerancia a salinidades altas, siendo *Avicennia germinans* la más tolerante a las salinidades altas, seguido por *Rhizophora mangle* y *Laguncularia racemosa*, esta última especie crece mejor en salinidades menores a la marina (<35 UPS) (Cintrón-Molero y Shaeffer-Novelli 1983; Flores-Verdugo et al.1995).

Los manglares tienen una serie de rasgos característicos que surgen de su adaptación a este entorno. Algunos manglares que tienen ligeramente mayor tolerancia a la sal, con el fin de sobrevivir excluyen activamente sal de su xilema, utilizando un cierto grado de ultra filtración física en la endodermis de las raíces. La mayoría tienen otros mecanismos para eliminar la sal de sus tejidos, algunas especies excluyen sal de sus hojas con glándulas especiales, algunas veces dejando claramente visibles los cristales de sal en la superficie de sus hojas (Spalding et al. 2010).

El transporte de oxígeno a las raíces en suelos anegados y anaerobios es un desafío particular que muchos manglares han resuelto con el desarrollo de raíces aéreas. Puede que no haya otro grupo de plantas con tales adaptaciones morfológicas y fisiológicas a las condiciones extremas (Kathiresan y Bingham 2001).

La adaptación a condiciones específicas de periodicidad de inundación y exposición al aire son diferentes para cada especie, esto determina la distribución y zonación de los manglares. Estas condiciones resultan de las situaciones hidrológicas netas de la zona en particular y son producto de la combinación de las mareas, geomorfología del cuerpo de agua adyacente y nivel topográfico óptimo (Agráz-Hernández et al. 2006).

La estructura de los manglares, está determinada por diversos factores como: el clima, la disponibilidad de agua dulce, de nutrientes y la tasa de reciclamiento de éstos, los flujos de mareas, la frecuencia y periodos de inundación, las características físicas del sedimento y las actividades humanas (Flores-Verdugo 1989).

1.2. Importancia de los manglares

Los humedales de manglar constituyen uno de los ecosistemas existentes dentro del territorio mexicano que dominan la zona costera, ocupan un lugar privilegiado por la riqueza natural que encierran y los servicios ambientales que prestan; su importante papel ecológico ha sido reconocido internacionalmente (FAO 2007a, b).

Los manglares son ecosistemas estratégicos, altamente productivos y fundamentales en el mantenimiento de cadenas tróficas marinas y/o costeras, ya que muchas poblaciones de animales, como mamíferos, aves, reptiles, anfibios, peces, crustáceos y moluscos, se alimentan y anidan en ellos o dependen de ellos en alguna o varias

etapas de su ciclo de vida. Adicionalmente protegen la costa contra la erosión, las tormentas y los huracanes, son sumideros de CO₂ (dióxido de carbono), fijadores de nitrógeno en el suelo, fuentes de materia orgánica e inorgánica, juegan un papel importante en el control de la contaminación a través de la filtración de nutrientes y otros contaminantes orgánicos, son usados para la recreación pasiva y actividades turísticas, son importantes para la educación e investigación científica y tienen funciones críticas relacionadas con la regulación del agua dulce, nutrientes y entrada de sedimentos al medio costero (Ewel et al. 1998; Sanjurjo y Welsh 2005; Astrálaga 2006).

1.3. Problemática ambiental

Los manglares están constantemente expuestos a impactos naturales y antrópicos. Los principales factores que afectan al manglar son, el incremento de su conversión en usos alternativos tales como granjas camaroneras de alta rentabilidad, establecimientos de industrias salineras, la actividad petrolera, el establecimiento de infraestructura para comunicación y electricidad, entre otros (Menéndez 2000).

México es uno de los países con mayor extensión de manglares en el mundo, sin embargo, su deterioro también presenta las tasas más elevadas (López-Portillo y Ezcurra 2002). La extensión estimada de manglares en México para el año 2010 fue de 764 486 ha. La Península de Yucatán, conformada por los estados de Campeche, Yucatán y Quintana Roo, es privilegiada al contar con más del 50 % de las áreas de manglar de todo México, sin embargo, también es de las regiones más amenazadas, reconociéndose que se pierden bosques de manglar a una tasa de 2.5 % al año, esto a pesar de que se ha incrementado el interés oficial por su conservación y protección a través de normas, leyes, y creación de áreas naturales protegidas (Rodríguez-Zúñiga et al. 2013).

1.4. Mangle negro (*Avicennia germinans*)

El mangle negro (*Avicennia germinans*) es una especie vegetal de la familia Acanthaceae, también es conocido como madre de sal, mangle prieto, puyequé y ta'abché (maya); sus hojas son simples, opuestas, lámina foliar oblonga a lanceolado-elíptica, ápice obtuso, base cuneada, los nervios por lo general evidentes, glándulas

excretoras en el envés de la hoja, haz grisverdoso, envés más pálido (verde grisáceo), el fruto es vivíparo (Agráz-Hernández et al. 2006).

Avicennia germinans crece en suelos cubiertos por unos pocos centímetros de agua continuamente estancada o inundados unas pocas veces por año (Soto y Jiménez 1982), tolera grandes fluctuaciones de salinidad (0 a 65 UPS, con límites de tolerancia hasta 100 UPS) y tiene la mayor resistencia a las condiciones hipersalinas entre los manglares (Tomlinson 1986; McKee 1995). Cuando la salinidad es elevada (> 70 UPS) *A. germinans* crece como arbusto (Cintrón-Molero y Shaeffer-Novelli 1983; López-Portillo y Ezcurra 1989; Flores-Verdugo et al. 1995). La vegetación de *A. germinans* desaparece completamente cuando las salinidades del suelo superan las 100 UPS (Soto y Jiménez 1982).

La principal característica de esta especie es que su sistema de raíces está compuesto por neumatóforos con lenticelas (Dawes 1986). *A. germinans* tiene adaptaciones en la morfología de la raíz que proporciona una vía eficiente para el transporte de oxígeno a las mismas (Tomlinson 2016). *A. germinans* produce raíces horizontales que se extienden desde de la base del tronco y se difunden hacia el exterior por varios metros a través del sustrato debajo de la superficie (Tomlinson 2016). Las raíces llamadas neumatóforos, cubiertas de lenticelas, se producen a partir de las raíces horizontales y sobresalen desde el sustrato a una altura de 10 a 30 cm. El oxígeno entra en las lenticelas en los neumatóforos de *A. germinans* y se mueve (impulsado por los cambios de presión resultantes de la subida y bajada de las mareas) a las raíces que crecen en el sedimento anaeróbico (Tomlinson 2016).

1.5. Biogeoquímica de los manglares

La biogeoquímica de los manglares son todas aquellas características del suelo: nutrientes, materia orgánica, gases disueltos, elementos traza y sustancias tóxicas que tienen o no, un efecto sobre las propiedades ecológicas y específicas de los mismos (Twilley 1998).

El suelo es el material que sirve de soporte de crecimiento de las plantas, el conocer las condiciones en que se encuentra es de gran importancia. A continuación se describen los factores que influyen las condiciones de los suelos de manglar.

1.5.1. Hidrología

La hidrología es definida por: 1) el hidroperíodo (nivel, duración y frecuencia de inundación, 2) la hidrodinámica (dirección y velocidad del movimiento del agua), y 3) la fuente de agua (subterránea y superficial) (Reddy y DeLaune 2008).

Dentro de la hidrología, el hidroperíodo es el más importante. El hidroperíodo es el patrón estacional del nivel del agua, es el resultado del balance entre las entradas y salidas de agua. El hidroperíodo se ve influido por las características físicas del terreno (topografía) y por la proximidad a otros cuerpos de agua (Mitsch et. al. 2009). La topografía determina las áreas que se inundan o se secan. La hidrología junto con las variaciones en la topografía juegan un papel central en los procesos dinámicos del manglar (Tovilla 2009; Moreno-Casasola y Warner 2009).

El nivel y flujo del agua varía considerablemente dependiendo de la ubicación y para un humedal determinado. El hidroperíodo es el patrón estacional del nivel del agua del humedal y es como una firma hidrológica de cada tipo de humedal, define el ascenso y descenso del agua superficial e intersticial. Para los humedales que no se encuentran permanentemente inundados, el tiempo que permanece inundado se llama duración de la inundación y al número de veces que el humedal se encuentra inundado en un período de tiempo se le conoce como frecuencia de inundación (Mitsch y Gosselink 1993).

Las condiciones hidrológicas son extremadamente importantes para mantener la estructura y función de los humedales. La hidrología afecta la riqueza de especies, la productividad primaria y la acumulación de la materia orgánica (Mitsch y Gosselink 1993).

Las transformaciones biogeoquímicas que ocurren en humedales, en contraste con los sistemas terrestres, está fuertemente regulada por la hidrología. La hidrología controla las características biogeoquímicas de los humedales, incluidas las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, tales como la disponibilidad de nutrientes, el grado de anoxia del sustrato, la salinidad, el potencial redox y el pH, por lo tanto pequeños cambios en la hidrología pueden dar lugar a cambios bióticos importantes, aunque este

cambio sea ligero, la biota puede responder con cambios masivos en la composición de especies y la riqueza, y en la productividad de los ecosistemas. Cuando el patrón hidrológico se mantiene similar de un año a otro, la integridad estructural y funcional de un humedal puede persistir por muchos años (Gosselink y Turner 1978).

1.5.2. Salinidad

La salinidad se refiere a la concentración de solutos en forma de sales que contiene el agua o el suelo y también se reconoce como un factor abiótico que tiene efectos sobre la distribución y abundancia de los organismos en las zonas intermareales, pero lo hace a través de interacciones con otras condiciones, en particular la exposición al aire y el sustrato (Begon et al. 2006).

La salinidad en los sedimentos (salinidad intersticial) de los bosques de manglar varía estacionalmente (generalmente más alta durante la estación seca) y depende del tipo de hidrología que prevalezca en ellos (altura y duración de la marea, de la estacionalidad e intensidad de la precipitación pluvial y de las variaciones estacionales en el volumen de agua que les aportan los ríos, canales y escurrimientos de tierras arriba) (Mitsch y Gosselink 2000).

Los manglares en las orillas costeras, reciben constantemente agua de mar. Por otro lado, los manglares ribereños (se localizan en los bordes de la desembocadura de los ríos y canales) son influenciados por agua salobre ya que reciben agua de los ríos y canales. La salinidad en los suelos de bosques de manglar que se encuentran adyacentes a ríos es menor que la salinidad en el agua de mar, debido a la influencia de agua dulce. Por otro lado, en los manglares de cuenca, la salinidad es más alta que la del agua de mar, debido al proceso de evaporación (Davis 1940). En general, la salinidad aumenta cuando el intercambio con la marea se interrumpe (Mitsch y Gosselink 2000).

1.5.3. Potencial de óxido-reducción (Eh)

Los sistemas de humedales naturales mantienen un amplio rango de reacciones redox y transforman los nutrientes de las plantas en formas sólidas, líquidas y gases, por esto

es posible reciclar nutrientes de las plantas entre el suelo, el agua y la atmósfera. Los ciclos biogeoquímicos de carbono (C), nitrógeno (N), oxígeno (O), azufre (S), fósforo (P) y metales traza, son regulados por las reacciones de óxido-reducción. El potencial redox afecta la distribución y la actividad metabólica de los microorganismos (Richardson y Vepraskas 2001).

El potencial redox o potencial de óxido-reducción es una medida de la disponibilidad de electrones en una solución, es una de las propiedades electroquímicas del suelo que es afectado por la inundación, se utiliza a menudo para cuantificar el grado de reducción electroquímica de suelos de humedales. Cuando se basa en una escala de hidrógeno el potencial redox se conoce como Eh (Mitsch y Gosselink 1993). Un valor de Eh positivo y de alta magnitud es indicativo de un ambiente que favorece las reacciones de oxidación, por otro lado, un valor de Eh negativo y de alta magnitud es indicativo de un ambiente altamente reductor (Figura 1).

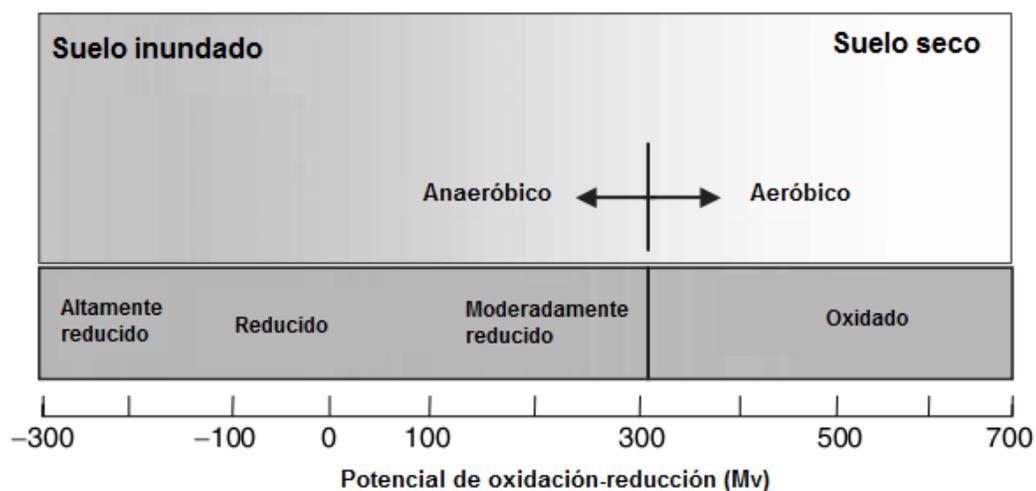


Figura 1. Relación entre las condiciones hidrológicas del suelo, el potencial redox y actividad metabólica microbiana (Reddy y DeLaune 2008).

Generalmente, el potencial redox es afectado por la concentración de oxígeno disuelto. Según baja el potencial redox en aguas y sedimentos, se observa una disminución en la concentración de oxígeno disuelto y la reducción de iones y moléculas importantes para la nutrición de microorganismos y formas de vida superior (Fuentes y Massol-Deyá 2002). La penetración de oxígeno y consecuentemente la descomposición aeróbica en los suelos de ecosistemas costeros están limitados a unos cuantos milímetros de profundidad. Los suelos de bosques de manglar presentan condiciones reducidas con potenciales de óxido-reducción en el rango de -100 a - 400 mV, esto como consecuencia de las condiciones de inundación que prevalecen en ellos. En las zonas anaeróbicas, la respiración bacteriana utiliza nitrato (NO_3^-), dióxido de manganeso (MnO_2), ión ferroso (Fe^{3+}), sulfato ($\text{SO}_4^{=}$) y dióxido de carbono (CO_2) como aceptores finales de electrones. El potencial redox en un perfil de suelo puede indicarnos cuál aceptor inorgánico de electrones está siendo utilizado por microorganismos residentes que llevan a cabo la respiración anaerobia. El grado de reducción depende de la duración de la inundación y de la apertura del ecosistema a flujos de agua dulce y salada. Los flujos superficiales de agua en los suelos de manglares, ayudan a disminuir las condiciones reducidas en ellos, porque dichas aguas contienen oxígeno disuelto que es difundido hacia los suelos (Mitsch y Gosselink 2000).

La distribución espacial de microorganismos aerobios y anaerobios está determinada principalmente por el potencial redox del ambiente. Los microorganismos aerobios estrictos son metabólicamente activos a potenciales redox positivos, mientras que los anaerobios estrictos (ej. metanobacterias) demuestran actividad metabólica, solo a potenciales redox negativos. Los microorganismos anaerobios facultativos demuestran actividad metabólica sobre un rango amplio de valores Eh (Fuentes y Massol-Deyá 2002).

Una de las primeras reacciones que se producen en los suelos de los humedales es la reducción de NO_3^- (nitrato) a NO_2^- (nitrito) y en última instancia a N_2O (óxido nitroso) o N_2 (nitrógeno molecular), el nitrato se convierte en un aceptor de electrones a aproximadamente a 250 mV. A medida que el potencial redox continua disminuyendo

se reduce el manganeso a un potencial de alrededor de 225 mV. El hierro se transforma de férrico a ferroso a unos 120 mV, mientras que el sulfato se reduce a sulfuros de -75 a -150 mV. Por último, en las condiciones más reducidas, la materia orgánica o el CO_2 se convierte en aceptor terminal de electrones alrededor de -250 mV, produciendo compuestos orgánicos como el metano (Figura 2).

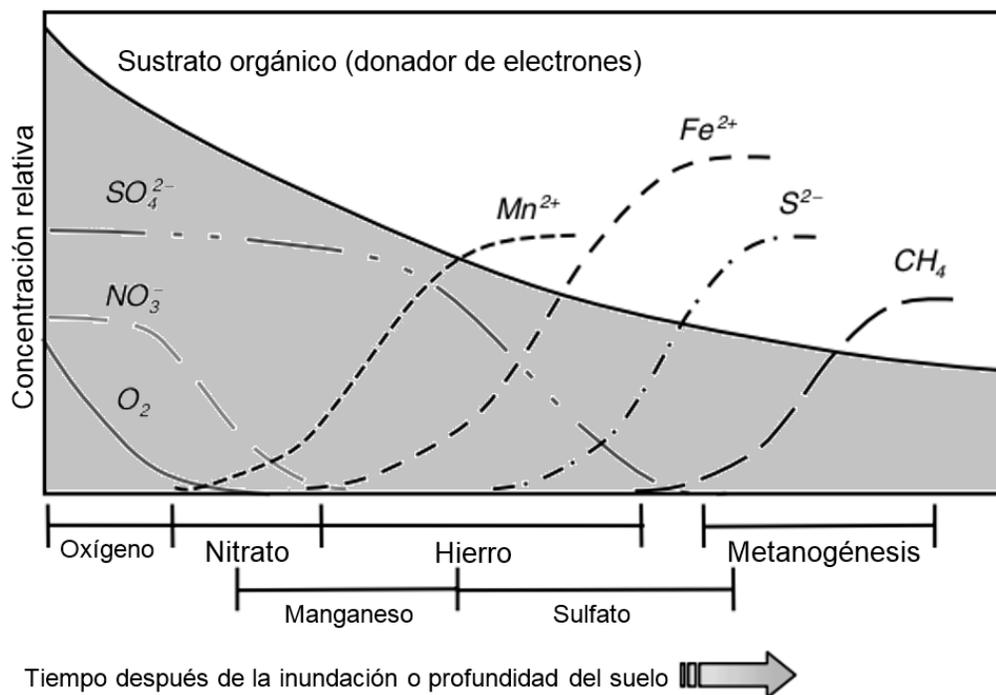


Figura 2. Reducción de aceptores de electrones en función al tiempo después de la inundación del suelo (Reddy y DeLaune 2008).

1.5.4. Potencial de hidrógeno (pH)

El potencial de hidrógeno (pH) se refiere a que tan ácido o básico es el medio. Los suelos y aguas de los manglares se encuentran en un amplio rango de pH. Los suelos de los bosques de manglares son generalmente ácidos después de la inundación, aunque en presencia de carbonatos el pH del agua intersticial puede estar cercano a la neutralidad. Los suelos orgánicos suelen ser ácidos, por otro lado, los suelos minerales a menudo tienen condiciones más neutras o alcalinas (Mitsch y Gosselink 1993).

El pH es un factor abiótico que regula la disponibilidad de nutrientes esenciales que limitan el crecimiento microbiano en muchos ecosistemas. Los cambios de pH en suelos de humedales influyen significativamente en el equilibrio de óxidos, hidróxidos, carbonatos, sulfuros, fosfatos y silicatos, este equilibrio regula la precipitación y disolución de los sólidos, la sorción y desorción de los iones, y las concentraciones de sustancias o iones como el aluminio (Al^{3+}), hierro (Fe^{2+}), ácido sulfhídrico (H_2S), ácido carbónico (H_2CO_3), y ácidos no disociados (Reddy y DeLaune 2008).

Las altas condiciones reducidas de los suelos de manglar y la consecuente acumulación de sulfuros causan condiciones de acidez extrema (Mitsch y Gosselink 1993).

1.5.5. Ciclos biogeoquímicos

Los manglares tienen ciclos biogeoquímicos con una combinación de transformaciones químicas y procesos de transporte de productos químicos que no comparten con otros ecosistemas; sus suelos pueden llegar a ser muy reducidos cuando se encuentran inundados, pero por lo general tienen una superficie oxidada estrecha que permite procesos aeróbicos.

Las transformaciones de nitrógeno (N), fósforo (P), azufre (S), hierro (Fe), manganeso (Mn) y carbono (C) que se producen en un ambiente anaeróbico afectan la disponibilidad de los mismos, algunas también causan condiciones tóxicas, mientras que otras, tales como la desnitrificación y la metanogénesis causan la pérdida de sustancias químicas a la atmósfera. Muchas de estas transformaciones están mediadas por poblaciones microbianas que están adaptadas al medio ambiente anaeróbico.

1.5.5.1. Ciclo del carbono

El carbono es el constituyente predominante de todas las formas de vida. La estructura y el funcionamiento de las formas de vida dependen de la vinculación de carbono con otros elementos importantes, tales como oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, fósforo, y azufre. El ciclo del carbono es muy importante debido a que el almacenamiento de

carbono de los suelos de humedales es uno de los principales servicios ambientales que dichos ecosistemas proveen.

En el ciclo del carbono intervienen los siguientes procesos:

1. EL ciclo del carbono comienza cuando el CO_2 atmosférico es absorbido por las plantas y convertido en carbohidratos (carbono orgánico) a través del proceso de fotosíntesis con la liberación de O_2 .
2. El tejido más viejo de las plantas se convierten en tejido detrítico y se somete a la fragmentación, la lixiviación y la descomposición mientras está unido a la planta viva.
3. En los humedales, el almacenamiento de carbono no sólo se da en la parte aérea y radicular de las plantas, si no también, en el suelo. Cuando los residuos de la vegetación del humedal caen al suelo, el material vegetal se acumula y se forma una capa de suelo muy rica en materia orgánica. Parte de los residuos orgánicos de las plantas se degrada (varios procesos están involucrados en la descomposición de este material) aunque otra porción permanece sin descomponerse debido a las condiciones de inundación del suelo por lo que el material vegetal se incorpora al suelo como material orgánico no descompuesto. Aunque la biodegradación de la materia orgánica por la respiración aeróbica se limite por las condiciones reducidas de los suelos, varios procesos anaeróbicos pueden degradar carbono orgánico. La fermentación de la materia orgánica, que se produce cuando la materia orgánica es el aceptor terminal de electrones en la respiración anaeróbica forma diversos ácidos y alcoholes de bajo peso molecular (ácido láctico o etanol) y CO_2 .
4. Finalmente, el material detrítico descompuesto es integrado en materia orgánica del suelo por humificación; en esta etapa, la materia orgánica proporciona un almacenamiento a largo plazo de los nutrientes y contaminantes. Los productos gaseosos finales (dióxido de carbono y metano) producidos durante el proceso de descomposición se liberan a la atmósfera. La metanogénesis se produce cuando ciertas bacterias (metanógenas) utilizan CO_2 como un aceptor de electrones para la producción de metano (CH_4). La producción de metano requiere condiciones muy

reducidas con un potencial redox de entre -250 y -350 mV, después de que otros aceptores terminales de electrones (O_2 , NO_3^- y SO_4^{2-}) se han reducido.

1.5.5.2. Ciclo del nitrógeno

El nitrógeno es uno de los nutrientes más limitantes que regulan la productividad en ecosistemas terrestres, humedales y ecosistemas acuáticos. Las transformaciones de nitrógeno son una compleja variedad de procesos interrelacionados controlados por la actividad microbiana y el potencial redox del suelo (Gambrell y Patrick 1978).

El ciclo del nitrógeno dirigido por el metabolismo microbiano está compuesto de varias transformaciones individuales. Los procesos de transformación química que intervienen en el ciclo de nitrógeno son varios. Podemos asumir que el ciclo del nitrógeno contiene cinco transformaciones básicas (Fuentes y Massol-Deyá 2002):

1. Fijación. La fijación del nitrógeno (N_2) es un proceso de reducción que convierte el nitrógeno molecular en amoníaco (NH_3), el cual es incorporado a los tejidos orgánicos. Las tasas de fijación de nitrógeno varían de 0.02 a 90 gNm^{-2} (Vepraskas y Craft 2016). Este tipo de fijación de nitrógeno desde el estado gaseoso a la forma orgánica se lleva a cabo biológicamente por microorganismos especializados: cianobacterias y bacterias. Las cianobacterias fijan nitrógeno por medio de la fotosíntesis y esta función se da en el agua sobre la superficie del suelo. Otras bacterias pueden fijar nitrógeno de forma anaerobia y son más abundantes en los primeros 5 cm de los suelos anaerobios.

2. Amonificación o mineralización. Es la conversión de N orgánico a amonio (NH_4^+) por los microorganismos. Esto ocurre cuando los tejidos orgánicos son oxidados y el contenido de nitrógeno de los tejidos excede los requerimientos de los microorganismos. La amonificación puede ocurrir de manera aeróbica o anaeróbica, pero de manera aeróbica es más rápida (Richardson y Veprascas 2001).

3. Nitrificación. La nitrificación es la oxidación del ion amonio (NH_4^+) a nitrato (NO_3^-). Este proceso ocurre en suelos aeróbicos en dos etapas. Primero, el amonio es convertido a nitrito (NO_2^-) y entonces el nitrito se oxida rápidamente a nitrato (NO_3^-).

Ambos pasos son completados por un grupo de bacterias que incluyen las especies *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* y *Nitrobacter* (Richardson y Veprascas 2001).

4. Desnitrificación. Es la reducción de nitrato (NO_3^-) a gases N_2 o N_2O , este proceso se lleva a cabo por un gran número de bacterias. La desnitrificación es el principal mecanismo de regresar el nitrógeno originalmente fijado de la atmósfera. Esta es una reacción de reducción que depende de la disponibilidad de descomposición de los tejidos orgánicos así como del suministro de NO_3^- . La desnitrificación ocurre en zonas anaerobias (Richardson y Veprascas 2001).

5. Inmovilización. Es la conversión de las formas minerales de N a tejidos de las plantas. La inmovilización y la amonificación ocurren generalmente en forma simultánea.

1.5.5.3. Ciclo del azufre

El azufre (S) está involucrado en una serie de importantes procesos bioquímicos tales como la reducción del sulfato, la formación de pirita, el transporte de energía, y emisiones de azufre atmosférico.

Las transformaciones del azufre son mediadas por la interacción entre el potencial redox y el pH. Tres fases pueden concretarse en la dinámica del S en el suelo:

1) Sulfhidración, o mineralización del S orgánico. En este proceso intervienen un gran número de microorganismos, entre los cuales encontramos una gran variedad de bacterias aerobias y anaerobias, heterótrofas no especializadas, llamadas "bacterias de la putrefacción" que son capaces de descomponer las proteínas sulfuradas. En condiciones anaeróbicas el sulfuro de hidrógeno (H_2S) es el compuesto que en mayor proporción se produce en la mineralización del azufre orgánico, mientras que en anaerobiosis los mercaptanos y otros derivados del azufre más o menos oxidados pueden aparecer.

2) Sulfooxidación, u oxidación del azufre mineral. El azufre orgánico mineralizado por los microorganismos del suelo a la forma H_2S es utilizado por un conjunto de bacterias, en su mayoría autótrofas específicas, que en diversas etapas lo transforman finalmente a la forma sulfato, asimilable por la planta.

3) Desulfatación, o reducción del azufre mineral. El azufre mineral se reduce a sulfuro de hidrógeno, se efectúa en condiciones anaerobias, en suelos inundados y, en menor grado en suelos arcillosos. Esta reducción, muy especialmente la de sulfatos, se debe a la acción de un grupo muy concreto de bacterias especializadas, autótrofas facultativas, conocidas como bacterias sulfato-reductoras, aunque su capacidad de actuación se extiende también a los sulfitos, tiosulfatos, tetracionatos y azufre.

El sulfuro de hidrógeno característico de los suelos anaerobios puede ser muy tóxico para las plantas y microorganismos, especialmente en zonas húmedas saladas donde la concentración de sulfatos es alta.

1.5.5.4. Ciclo del fósforo

A diferencia de otros elementos esenciales, como el carbono y el nitrógeno, el fósforo (P) es diferente en que no tiene fase gaseosa para facilitar su remoción. La falta de fase gaseosa significa que el P se acumula en el suelo y en el tejido vegetal o está en solución y puede ser acarreado fuera del humedal por el flujo de agua. La deposición atmosférica y la descarga fluvial son las únicas fuentes naturales de fósforo, su transferencia del suelo a las fuentes de agua se da principalmente a través del agua de escorrentía, específicamente como fósforo adherido a partículas de compuestos minerales y como fósforo inorgánico disuelto (Sharpley et al.1992). Otra fuente de fósforo es la materia orgánica del suelo proveniente de la descomposición de la vegetación (la biodegradabilidad del fósforo orgánico disminuye con la profundidad debido a las condiciones anaerobias). El material detrítico residual se deposita sobre la superficie del suelo y se convierte en una parte integral de la tierra; la mineralización libera fósforo inorgánico de las fuentes orgánicas del suelo.

En los suelos de humedales, el fósforo se produce como complejos solubles e insolubles en formas orgánicas e inorgánicas. Las formas orgánicas de fósforo están asociadas con los organismos vivos y se componen de compuestos fácilmente degradables (ácidos nucleicos, fosfolípidos y fosfatos de azúcar) y compuestos orgánicos lentamente degradables (fosfatos de inositol o fitina). El fósforo inorgánico en los suelos se encuentra en combinación con aluminio, hierro, calcio y magnesio. Es conveniente clasificar las formas de fósforo que entran en estos sistemas como (I) de

fósforo inorgánico disuelto (PID), (II) fósforo orgánico disuelto (POD), (III) fósforo inorgánico particulado (PIP), y (IV) fósforo orgánico particulado (POP) (Reddy y DeLaune 2008).

El fósforo orgánico disuelto y las formas insolubles de fósforo orgánico e inorgánico generalmente no están biológicamente disponibles hasta que se transforman en formas inorgánicas solubles. La vegetación obtiene sus necesidades de fósforo del agua intersticial y el suelo.

Dentro de las transformaciones del fósforo se lleva a cabo la inmovilización, este es el proceso inverso que convierte el fósforo inorgánico a formas orgánicas.

La retención de fósforo en suelos de humedales está regulada por diversas propiedades fisicoquímicas incluyendo el pH, potencial redox, hierro, aluminio, contenido de calcio, contenido de materia orgánica. La forma predominante de fósforo depende del pH. En un rango de pH de 5-8, la solubilidad del fósforo es baja a 300 mV, resultando bajas concentraciones en el suelo. Sin embargo, cuando el potencial redox disminuye de 300 a -250, la solubilidad del fósforo incrementa en todos los valores de pH, reflejando altas concentraciones de fósforo en el agua intersticial. La solubilidad del fósforo es mayor a valores de pH bajos y valores de potencial redox bajos (Reddy y DeLaune 2008).

1.6. Microorganismos asociados a los manglares

El suelo es el ecosistema terrestre que presenta mayor diversidad (Germida y Siliciano 2001), es un sistema complejo, es el hábitat de un gran número de especies microbianas, tanto eucariotas (hongos, algas, protozoos, entre otros) como procariotas (bacterias y arqueas) que establecen relaciones intra e interespecíficas que contribuyen a las características propias del suelo (Nogales 2005).

Los microorganismos se encuentran preferentemente interactuando con las raíces de las plantas, en la rizósfera. El término "rizósfera" fue acuñado por Hiltner en 1904 para describir la porción del suelo bajo la influencia de la raíz en la cual tienen lugar numerosos procesos mediados por microorganismos (Hartmann 2008). El papel de la rizósfera es vital para la salud, calidad y nutrición de la planta. En comparación con el

suelo suelto, en la rizósfera, la biomasa y la actividad microbiológica son elevadas debido a los compuestos exudados por la raíz (Sorensen 1997; Raaijmakers et al. 2009). Las comunidades microbianas son mantenidas por los nutrientes exudados por la raíz (principalmente azúcares, ácidos orgánicos y aminoácidos; Smalla et al. 2001), mucílagos y células radiculares en descomposición (Curl y Truelove 1986).

La población microbiana del suelo es crítica para el mantenimiento de la función del mismo, por la implicación en los procesos clave tales como la descomposición de la materia orgánica y los ciclos biogeoquímicos.

Las comunidades microbianas (incluyendo hongos, bacterias, protistas, etc.) presentes en los ecosistemas de manglar juegan un papel importante en el reciclaje de nutrientes, son responsables de una parte importante de suministro de nutrientes a las plantas. Los microorganismos son la base para el desarrollo de la vida en áreas de manglar. Los principales microorganismos encontrados en el manglar son:

1) Bacterias. Las bacterias son microorganismos con una célula única (unicelulares) relativamente simples. Dado que su material no está encerrado por una membrana nuclear especial, las células bacterianas se denominan procariontes. Las bacterias pueden tener tamaños de 0.2 μm a 500 μm y formas de bacilos, cocos, espiroquetas y espírilos (Tortora et al. 2007).

Las bacterias son agentes importantes en la descomposición aerobia y anaerobia y son las principales responsables de la descomposición de la materia orgánica en medios anaerobios (Pritchett 1979; Paul y Clark 1996).

2) Arqueas. El dominio arquea es un único e interesante grupo de organismos (Cavicchioli 2007). Sus miembros tienen características moleculares distintas que los distinguen de los dominios Bacteria y Eucarya (Koga y Morii 2007). Como las bacterias, los miembros de arquea están formados por células procariontes pero si tienen paredes celulares. Fenotípicamente son muy parecidas a las bacterias: La mayoría son pequeñas (0.5-5 micras) y con formas de bastones, cocos, espirilos, triángulos, cuadrados (Das Sarma y Das Sarma 2008).

Muchas arqueas son extremófilas, estos microorganismos se dividen en tres grupos principales: 1) Los metanógenos producen metano como producto de desecho a partir de la respiración, 2) Los halófilos extremos que viven en ambientes extremadamente salinos y 3) Los termófilos extremos que viven en aguas cálidas y sulfurosas (Das Sarma y Das Sarma 2008).

3) Hongos. Los hongos son eucariontes, es decir organismos cuyas células poseen un núcleo diferenciado que contiene el material genético (ADN) de la célula, rodeado por una membrana nuclear. Los organismos del reino fungi pueden ser unicelulares o multicelulares. Las formas celulares de los hongos son microorganismos ovoides más grandes que las bacterias (Tortora et al. 2007).

Los microorganismos como las bacterias y los hongos son responsables de la descomposición de la materia orgánica. Muchos de estos organismos son heterotróficos y obtienen su energía de la materia orgánica para su crecimiento, metabolismo y reproducción (Richardson y Vepraskas 2001).

La ecología microbiana de los manglares empezó a tener importancia en la última década gracias a la obra de Gina Holguín que se concentró en el aislamiento y caracterización de microorganismos presentes en este entorno y la evaluación de los mismos en el metabolismo de nitrógeno y fósforo (fijación del nitrógeno atmosférico, desnitrificación y solubilización de fosfato inorgánico). Sin embargo, en los últimos años, el empleo de técnicas moleculares para evaluar la comunidad microbiana permitió una visión más profunda de las poblaciones microbianas que viven en los sedimentos de manglar (Metras 2011). Huellas moleculares se han utilizado para demostrar la influencia que la contaminación tiene sobre estos grupos microbianos, y se han identificado los filotipos microbianos que responden a, o se asocian con estos impactos. Adicionalmente, estas herramientas han sido empleadas para evaluar la variación espacial observada en los sedimentos de manglar y su relación con sus ecosistemas vecinos (Taketani et al. 2009).

1.6.1. Bacterias fijadoras de nitrógeno

Las bacterias son críticas para el ciclo del nitrógeno en el ambiente del manglar. Las cianobacterias son un componente importante de la microbiota, constituyendo una fuente de nitrógeno en el ecosistema de manglar (Hussain y Khoja 1993).

La biomasa microbiana usualmente representa del 0.5 al 3.0 % del total del nitrógeno y es el componente principal del ciclo del nitrógeno. La fijación de nitrógeno es una función metabólica ampliamente distribuida entre diferentes géneros bacterianos. Se ha demostrado que el crecimiento de las plantas ha mejorado con la presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno adyacentes a las raíces (Kristensen et al. 2008; Alongi 2009). En ecosistemas de manglar se han identificado miembros de los géneros: *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Rhizobium*, *Klebsiella*, *Paracoccus*, *Phyllobacterium*, *Oceanomonas* y *Vibrio* (Sengupta y Chaudhuri 1991; Holguin et al. 1992; Kathiresan y Selvam 2006; Flores-Mireles et al. 2007).

En los ecosistemas de manglar se ha descrito la presencia de otro componente importante de la microbiota, las cianobacterias, consideradas uno de los principales portadores de nitrógeno al sistema (Palaniselvam y Kathiresan 1998). Se han identificado cianobacterias como *Lynbya* sp., *Oscillatoria* sp. y *Microleus* sp. Cianobacterias fijadoras de N₂ aisladas de neumatóforos de *Avicennia* en la Reserva Manglares Beachwood, Sur de África que abastecen el 24.3 % de las necesidades anuales de nitrógeno de ese ecosistema.

Las tasas de fijación de N₂ son controlados por la luz y la temperatura y muestra tendencias estacionales (bajas en invierno y altas en el verano) (Mann y Steinke 1993). Las tasas de fijación son mayores cuando las cianobacterias se encuentran en el mangle que cuando se llevan a cabo en un medio de crecimiento artificial (Toledo et al. 1995). Se ha encontrado que las bacterias fijadoras de nitrógeno se encuentran en mayor número en la rizósfera de plantas en zonas inundadas y menor número de bacterias en las plantas ocasionalmente inundadas y en zonas degradadas (Sengupta y Choudhuri 1991).

1.6.2. Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico

El fósforo es un componente funcional y estructural esencial para todo ser viviente (Ehrlich 1990) y después del nitrógeno, es el segundo nutriente más requerido por plantas y microorganismos; su función principal radica en su participación en procesos de acumulación y liberación de energía durante el metabolismo celular (Alexander 1980).

El fósforo en suelos es inmovilizado o menos soluble principalmente por procesos de adsorción o precipitación química, o ambos; en estas condiciones, el papel de los microorganismos solubilizadores de fosfatos es de suma importancia ya que disuelven formas de fosfato que se encuentran inmovilizadas por cationes de calcio, hierro y aluminio, liberándolas en solución y permitiendo su asimilación por parte de las plantas (Vázquez et al. 2000).

Entre las bacterianas asociadas a la capacidad solubilizadora de fosfato están las aisladas a partir de muestras de la rizósfera de plántulas de *Avicennia germinans* y *Laguncularia racemosa* tales como *Bacillus licheniformis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. atrophaeus*, *Paenibacillus macerans*, *Enterobacter taylorae*, *E. aerogenes*, *E. asburiae*, *Kluyvera cryocrescens*, *Chryseomonas luteola*, *Xantobacter agilis*, *Pseudomonas stutzeri* y *Vibrio proteolyticus* (Vázquez et al. 2000).

1.6.3. Hongos solubilizadores de fosfato inorgánico

La actividad de los hongos del manglar es fundamental en el reciclaje de nutrientes y en la regulación del ecosistema (Kohlmeyer et al. 1995). El conocimiento actual sobre estos organismos se ha dirigido hacia su diversidad, distribución, ecología, producción de sustancias antimicrobianas e interacciones planta-hongos como fitopatógenos o como simbioses benéficos involucrados en procesos como la solubilización y movilización de fosfatos (Sosa-Rodríguez et al. 2009).

La solubilización de compuestos complejos de fósforo (como los fosfatos de calcio, hierro y aluminio) realizada por ciertas especies de bacterias y hongos contribuye a la regeneración de nutrientes en el ecosistema del manglar, porque los hace disponibles para las plantas y para otros microorganismos allí presentes. La actividad

solubilizadora de aislamientos fúngicos procedentes del manglar ha sido detectada en cepas como *Aspergillus candidus* (Prabhakaran et al. 1987), a las cuales se les ha evaluado la presencia de exoenzimas hidrolíticas producidas in vitro para solubilizar el fosfato de calcio.

También se ha determinado que dicha actividad presenta una correlación negativa altamente significativa con la salinidad (aún para aislamientos considerados con buena actividad solubilizadora), encontrando que existen límites diferenciales de tolerancia a la salinidad que afectan el crecimiento y la actividad de las cepas de hongos solubilizadores de fosfatos obtenidos a partir de bosques de manglar en las costas de la India (Sengupta y Chaudhuri 1991).

En los bosques de manglar de América los informes sobre dicha actividad son escasos. Vázquez et al. (2000) realizaron aislamientos a partir de la rizósfera de *Avicennia germinans* y *Laguncularia racemosa* y, aunque la mayoría de los aislamientos obtenidos con alguna capacidad para solubilizar fosfatos fueron de bacterias, también encontraron una cepa del hongo deuteromycete *Aspergillus niger*, que es una especie terrestre con reconocida capacidad de solubilizar fosfatos. La cepa aislada presentó niveles de solubilización similares a los registrados para los aislamientos en ecosistemas terrestres, que fueron mayores a los de cualquiera de las especies bacterianas obtenidas.

1.6.4. Bacterias reductoras de sulfatos

Las bacterias sulfato reductoras son de gran importancia como grupo metabólico funcional. Degradadores primarios de hasta un 50% de la materia orgánica bajo condiciones de anaerobiosis o microaerofilia en los sedimentos de manglar (Jorgensen 1982), son capaces de reducir formas oxidadas de azufre y por esto son denominadas de manera genérica como bacterias “sulfato reductoras”.

La disponibilidad de sulfato (concentraciones menores que 2 a 10 mM L⁻¹) puede limitar el desarrollo de las bacterias sulfato reductoras. Es probable que en aquellas zonas de manglar donde predomina el agua dulce y la concentración de sulfato es baja, se

favorezca el desarrollo de otros grupos bacterianos anaerobios sobre las bacterias sulfato reductoras (Sherman et al. 1998).

Las bacterias sulfato reductoras, además de ser los principales descomponedores de materia orgánica en suelos anaerobios, participan en la mineralización del azufre y en la disponibilidad de hierro y fósforo en manglares. Bajo condiciones aerobias, el fosfato se une fuertemente a oxihidróxidos de hierro, formando el complejo FeOOH-PO . Al reducirse el sulfato, como resultado de la actividad de las bacterias sulfato reductoras, se generan sulfuros solubles como sulfuro de hidrógeno (H_2S) y sulfuro ácido (HS^-), los cuales reducen el Fe (III) a Fe (II) y generan pirita (FeS_2), en marismas, la pirita es el principal producto de la reducción de sulfato. Al reducirse el Fe (III) a Fe (II), se libera el fosfato en solución. Una oxidación intensiva de los sedimentos puede revertir el proceso y reoxidar la pirita a óxidos de Fe (III) (Sherman et al. 1998).

Es probable que las bacterias sulfato reductoras también aporten nitrógeno al ecosistema a través de la fijación de nitrógeno (Zuberer y Silver 1978).

Las bacterias sulfato reductoras (ej. *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Desulfosarcina* y *Desulfococcus*) son los descomponedores primarios en sedimentos anóxicos del manglar (Chandrika et al. 1990; Bharathi et al. 1991).

1.7. Diversidad microbiana en el suelo

Biodiversidad o diversidad biológica es la variabilidad de organismos vivos de cualquier fuente, incluidos, entre otras cosas, los ecosistemas terrestres, marinos y otros ecosistemas acuáticos y los complejos ecológicos de los que forman parte; comprende la variación dentro de cada especie, entre las especies y los ecosistemas (IAvH 2000). La diversidad biológica dentro de una comunidad tiene dos componentes: 1) riqueza o número de especies y 2) la abundancia relativa de cada una de las especies o grado de equitatividad u homeogeneidad de las especies, es decir, qué tan uniformemente se encuentran distribuidas (Magurran 2004; Moreno 2001).

El término biodiversidad microbiana, describe el número de especies de microorganismos diferentes y su abundancia relativa en una comunidad determinada o hábitat dado (Garbeva et al. 2004). En términos de ecología microbiana, la

abundancia y distribución de las especies, pueden ser usados para describir la estructura de la comunidad. Existen índices para calcular la diversidad, los principales parámetros utilizados para estimar la diversidad en comunidades microbianas son riqueza de especie, índice de Shannon-Wiener e índice de Simpson. Shannon-Wiener asume que todas las especies están representadas en las muestras; indica qué tan uniformes están representadas las especies teniendo en cuenta todas las especies muestreadas. El índice de Simpson (D) mide la probabilidad de que dos individuos seleccionados al azar en un hábitat pertenezcan a la misma especie. En este índice mientras mayor sea su valor mayor será la diversidad de la comunidad, ya que este valor depende tanto de la riqueza de especies, como de la regularidad o equidad con que los individuos están distribuidos entre las especies. Una comunidad rica en especies, pero con una distribución irregular de individuos, tendrá un índice más bajo que otra comunidad con una riqueza menor pero con los individuos bien distribuidos (Magurran 2004).

El estudio de las comunidades microbianas, su diversidad y estatus metabólico era difícil, debido a que la mayoría de los microorganismos no son cultivados mediante el uso de las técnicas tradicionales de la microbiología. Esto obedece a diversas razones, condiciones ambientales, requerimientos nutricionales, desconocimiento de la fisiología del microorganismo de interés y fundamentalmente, a causa del amplio desconocimiento de las interacciones que tienen lugar en la comunidad microbiana. En la actualidad la aplicación de técnicas moleculares, permiten el análisis de las secuencias de genes específicos e incluso de genomas completos, permitiendo grandes avances en el estudio de los microorganismos en poco tiempo (Torsvik y Ovreas 2002).

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

2.1. Área de estudio

El área de estudio se encuentra localizada en el municipio de Progreso, Yucatán, al costado oeste del vértice formado por el entronque de la carretera que se dirige a puerto Progreso-Mérida en la carretera Yucalpetén-Chelém entre $21^{\circ}16'13''$ y $21^{\circ}16'18''$ de latitud norte y los $89^{\circ}42'54''$ y $89^{\circ}42'45''$ de longitud oeste (Figura 3).

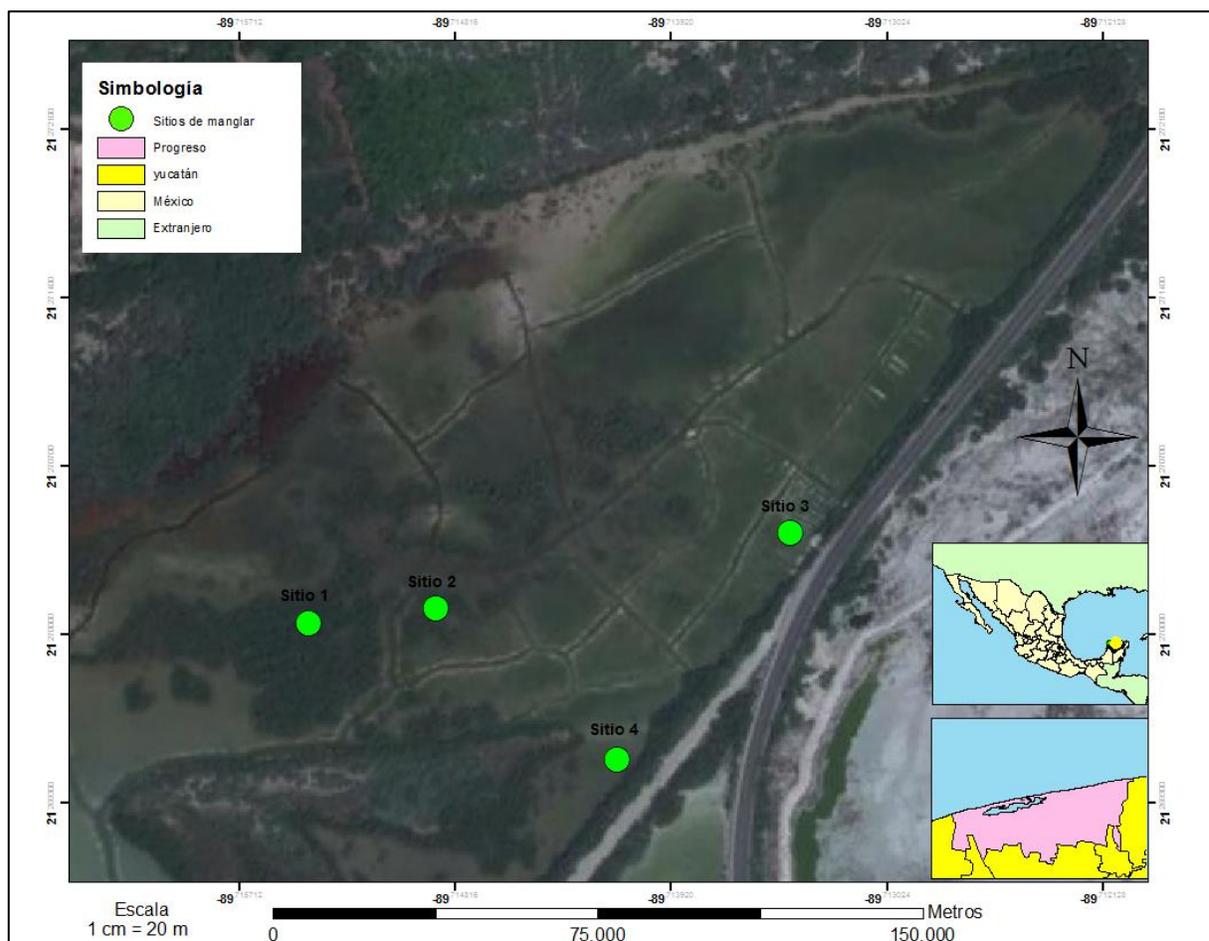


Figura 3. Localización del área de estudio.

Esta área se utilizó como sitio de disposición de los sedimentos provenientes de los dragados del puerto de Yucalpetén, esto ocasionó la interrupción del flujo natural de agua proveniente de la laguna debido a la construcción de la carretera. Ambas condiciones influyeron para interrumpir el hidroperíodo provocando el deterioro y muerte de la vegetación de manglar existente en la zona (Herrera-Silveira et al. 2012).

Esta área en puerto Progreso ha sido de interés para su recuperación desde el año 2005 y a partir del año 2008 diversas instituciones han participado para rehabilitar esta zona de manglar, entre ellas se encuentran, la Secretaría de Ecología, el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional Unidad Mérida (CINVESTAV), la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), Asesoría Técnica y Estudios Costeros Sociedad Civil Particular (ATEC SCP), Restauradores de la Comunidad de Puerto de Chelem, entre otros (Herrera-Silveira et al. 2012).

Las principales acciones de restauración que se han llevado a cabo en este sitio han sido el desazolve de canales de marea para rehabilitar el flujo hidrológico y la modificación de la topografía, lo que permitió el establecimiento de manera natural de *Avicennia germinans* (regeneración natural) (Echeverría-Ávila 2014).

2.2. Selección de sitios y toma de muestras

Se seleccionaron cuatro sitios de manglar con diferente estado ecológico (el estado ecológico está en función de la calidad de la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas), los sitios se muestran en el Apéndice A. El criterio de selección de los sitios fue con base en la estructura forestal. La caracterización se realizó marcando unidades de muestreo de 25 m², posteriormente se midió la altura de las plantas dentro de los sitios, se identificaron las plántulas, adultos y juveniles (son plántulas aquellas con altura menor a 50 cm y juveniles aquellas con altura igual o mayor a 50 cm), se midió el DAP (diámetro de altura de pecho) y se contó el número de individuos presentes.

Los sitios seleccionados se describen a continuación.

Sitio 1: Conservado con vegetación natural. Presenta vegetación manglar mono específica de *Avicennia germinans*. Es un manglar desarrollado con presencia de árboles con alturas promedio de 2.49 m, con un DAP promedio de 3.24 cm y la densidad de árboles de 124 individuos en 0.01 ha. Con densidad de juveniles de 104 individuos en 0.01 ha y 12 individuos de plántulas en 0.01 ha (Tabla 1).

Sitio 2: En restauración con regeneración abundante de manglar. En este sitio se han llevado a cabo acciones de restauración por medio de la construcción de canales de marea. Presenta vegetación manglar mono específica de *Avicennia germinans*, con 108 individuos juveniles en 0.01 ha, con alturas promedios de 1.31 m y 32 plántulas en 0.01 ha con alturas promedio de 0.24 m (Tabla 1).

Sitio 3: En restauración con regeneración escasa de manglar. En este sitio se han llevado a cabo acciones de restauración por medio de la construcción de canales de marea. Presenta vegetación manglar mono específica de *Avicennia germinans*, presencia de plántulas y juveniles con alturas promedio de 0.43 y 0.59 m respectivamente (Tabla 1).

Sitio 4: Degradado. Presenta vegetación muerta de manglar de *Avicennia germinans*. En éste sitio se midió la altura y DAP de los árboles muertos para tener una referencia de lo que había antes de los impactos. La estructura del sitio indica que existió un manglar desarrollado con árboles de alturas de hasta 1.4 m, con DAP promedio de 3.33 cm y juveniles de 0.8 m con DAP de 1.98 cm (Tabla 1).

En el mes de septiembre del año 2015, se realizó un muestreo de campo en el que se determinaron los parámetros fisicoquímicos del agua y del suelo in situ (salinidad, temperatura, sulfuro, pH y nutrientes inorgánicos: amonio, nitrito, nitrato, fosfato); también se tomaron muestras de agua y suelo para determinar en el laboratorio (sulfatos, densidad aparente, materia orgánica, metabolismo microbiano, nitrógeno total, fósforo total y extracción de ADN).

Tabla 1. Características estructurales de la vegetación de los sitios de muestreo.

N/A= No aplica.

Sitio	Estado ecológico	Cohorte	Densidad (indiv/0.01 ha)	Altura (m)	DAP (cm)
1	Conservado con vegetación natural	adulto	124	2.49 ± 0.62	3.24 ± 0.72
		juvenil	104	1.51 ± 0.72	1.98 ± 0.22
		plántula	12	0.36 ± 0.10	N/A
2	En restauración con regeneración abundante	juvenil	108	1.31 ± 0.38	<1.5
		plántula	32	0.24 ± 0.09	N/A
3	En restauración con regeneración escasa	juvenil	4	0.59	<1.0
		plántula	20	0.43 ± 0.03	N/A
4	Degradado	0	0	0	0

Se tomaron muestras de agua intersticial a 30 cm de profundidad con un sifón y jeringa (consiste en un tubo de acrílico conectado a una jeringa de 60 ml) para la determinación de la salinidad, temperatura, nutrientes inorgánicos, sulfuros y pH.

Se extrajeron núcleos de suelo a 30 cm de profundidad con un nucleador de acero inoxidable: se extrajeron cuatro núcleos del suelo por sitio, a los cuales se les eliminó los primeros 5 cm, estos núcleos sirvieron para la extracción de ADN, materia orgánica, metabolismo microbiano, nitrógeno y fósforo total, también se extrajeron dos núcleos de suelo para la determinación de densidad aparente.

Las muestras de agua y de suelo se conservaron en hielo y se transportaron al Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Yucatán para la determinación de los análisis correspondientes.

El control de calidad de las mediciones de los nutrientes y sulfuro realizadas en campo se realizó de acuerdo a las técnicas descritas en cada equipo de campo y que están basadas en APHA Standard Methods, EPA Methods for Chemical Analysis of water and Wastes y ASTM Test Methods. Los equipos usados en campo fueron calibrados de acuerdo al manual de operación de cada uno de ellos. Los análisis de laboratorio

se realizaron de acuerdo a las técnicas descritas en el Estándar Methods (APHA, AWWA, WPCF 1989).

2.3. Caracterización de sitios

2.3.1. Caracterización del agua

2.3.1.1. Hidroperíodo

Para la determinación del hidroperíodo (frecuencia, nivel y período de inundación), en el mes de Mayo de 2015 se instaló un sensor de presión HOB0 30-Foot Depth Titanium cerca del Sitio 2 (con regeneración de manglar abundante), para el registro de la temperatura y nivel de inundación a intervalos de una hora. Se analizaron los datos del nivel de inundación con respecto al suelo para el período que comprende del 4 mayo al 22 de agosto de 2015.

2.3.1.2. Potencial de hidrógeno (pH)

Se determinó el pH del agua intersticial *in situ* usando un tester ORP/pH metro modelo HI9126, de la marca HANNA.

2.3.1.3. Nutrientes y sulfuros

Se realizó el análisis de nutrientes inorgánicos (amonio, nitrito, nitrato y fosfato) y sulfuro *in situ*. Los análisis se realizaron cuatro veces por sitio. En la determinación se empleó el kit de prueba para análisis fotométricos de la marca Chemetrics basada en APHA Standard Methods, EPA Methods for Chemical Analysis of water and Wastes y ASTM D Test Methods, la absorbancia fue medida con un fotómetro V-2000 de la marca Chemetrics.

Los sulfatos se determinaron en el Laboratorio Ambiental de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Yucatán. En la determinación de sulfatos se empleó el método turbidimétrico.

2.3.1.4. Salinidad y temperatura

Las variables de salinidad y temperatura se midieron *in situ* con una sonda multiparamétrica marca YSI modelo 30. El equipo de medición se calibró de acuerdo al manual de operación.

2.3.2. Caracterización del suelo

2.3.2.1. Microtopografía

La determinación de la microtopografía se realizó con una estación total STONEX STS2-R, las alturas del suelo fueron establecidas respecto al nivel medio del mar. El levantamiento topográfico se realizó en todos los sitios de estudio con el objetivo de determinar la altura del suelo de cada sitio con respecto al nivel del mar y de esta manera inferir los hidroperiodos para cada sitio.

Se entiende por levantamiento topográfico al conjunto de actividades que se realizan en el campo con el objeto de capturar la información necesaria que permita determinar las coordenadas rectangulares de los puntos del terreno, ya sea directamente o mediante un proceso de cálculo.

2.3.2.2. Potencial redox

El potencial redox del suelo se midió con la ayuda de una punta de platino y un electrodo de referencia marca Hanna modelo HI1232B a diferentes profundidades del suelo (0, 10, 20 y 30 cm). Los electrodos y las puntas de platino fueron calibrados previamente.

2.3.2.3. Materia orgánica

En la determinación de materia orgánica se aplicó el método de ignición (basado en la pérdida de peso de la muestra calcinada respecto a la muestra original) descrito por Campos-García et al. (2011). Las muestras de suelo fueron secadas en estufa a 70 °C por 72 horas y tamizadas por un tamiz de malla N° 60 Norma ASTM E-11/95 (0.250 mm), posteriormente se pesaron 5 g de muestra en crisoles previamente puestos a peso constante, los cuales fueron colocados en una mufla por 4 horas a 550 °C, y posteriormente fueron pesadas. Se calculó el porcentaje de

materia orgánica por diferencia de pesos antes y después de la incineración empleando la fórmula: % Materia orgánica= [(Peso muestra seca - Peso calcinado)/ (peso muestra seca) *100].

2.3.2.4. Densidad aparente

Para el análisis de la densidad aparente se siguió el método propuesto por Chen y Twilley (1998). Se extrajeron muestras de suelo hasta 30 cm de profundidad con un nucleador de acero inoxidable. Las muestras se colocaron en una estufa a 70 °C para su secado hasta alcanzar un peso constante (72 horas aproximadamente). Las muestras secas fueron pesadas. Se determinó la densidad aparente mediante la siguiente fórmula: Densidad aparente = Peso del suelo seco (g) / Volumen del suelo saturado (cm³).

2.3.2.5. Carbono total y nitrógeno total

Se determinó la humedad de cada muestra, posteriormente se pesaron de 5-15 mg de suelo en cápsulas de estaño (esta prueba se realizó por triplicado), se añadieron 10 mg de pentóxido de vanadio (debido a que en los suelos de manglar a menudo están presentes iones sulfato es necesario añadir de 5-10 mg pentóxido de vanadio por cada 10-20 mg de suelo para asegurar la conversión completa de azufre inorgánico a dióxido de azufre), la muestra fue homogenizada y con ayuda de unas pinzas se formó una cápsula, la cual se colocó en el analizador de CHNS/O FLASH 2000 de la marca ThermoFisher scientific.

2.3.2.6. Fósforo total

El fósforo total se determinó por medio del método propuesto por Twilley et al. (2004) y (Parsons et al. 1984). Se pesaron 0.2 g de suelo, la muestra se calcinó a 550 °C por 2 horas, después de la calcinación se añadió 25 ml de HCl 1N y se agitó a 180 rpm por 16 horas, posteriormente se filtró la muestra con papel filtro Whatman 42 y se aforó hasta 50 ml. Se tomó 1 ml de la muestra aforada y se añadió 1 ml de NaOH, 8 ml de agua destilada y 1 ml de la mezcla de reactivos, dejando reaccionar por 10 minutos, finalmente se leyó en el espectrofotómetro a 855 nm.

2.3.3. Caracterización microbiana

2.3.3.1. Extracción del ADN metagenómico

Se tomaron muestras de suelo a una profundidad de 30 cm con un nucleador de acero inoxidable, se eliminaron los primeros cinco centímetros de cada núcleo, el suelo restante se mezcló para formar una muestra compuesta, las muestras se conservaron a -20°C hasta su análisis en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Autónoma de Yucatán.

La técnica para extracción de ADN fue modificada de Guillen-Navarro et al. (2015). Se centrifugó una porción de muestra para eliminar el exceso de agua, se pesaron 0.4 g de muestra en peso seco en tubos de micro centrífuga. Las muestras de suelo fueron lavadas, el proceso de lavado fue distinto para los Sitios 1 y 2 de los Sitios 3 y 4, debido a que se probaron varios métodos de extracción observando que el mismo método no funciona para todas las muestras (Apéndice B). El proceso de lavado fue realizado de la siguiente manera: Las muestras del Sitio 1 y 2 fueron lavadas dos veces con 1 ml de buffer salino 0.1 M (NaCl, Na₂HPO₄, pH8), resuspendiendo cada vez en vortex por 15 minutos y centrifugando a 6000 xg a 4 °C. Las muestras del Sitio 3 y 4 se lavaron 3 veces con 1 ml de buffer TEN (Tris-HCl 100 mM, EDTA 50 mM, NaCl 500 mM, pH 8) resuspendiendo en vortex y centrifugando por 10 minutos a 10 000 xg a 4 °C.

La pastilla lavada se resuspendió en 500 µl de solución de lisis (150 mM NaCl, 0.1 M EDTA), se añadió 500 µl de una solución de lisis con lisozima (150 mM NaCl, 0.1 M EDTA, 10 mg/ml lisozima) y se homogenizó suavemente por inversión. Las muestras se incubaron a 37 °C por 2 horas con agitación suave cada 30 min, posteriormente se añadió 200 µl de solución STS (0.1 M NaCl, 0.5 M de Tris-HCl, 10 % SDS) y se agitó en vortex por 5 minutos. Las muestras se sometieron a 3 ciclos de congelación descongelación (10 minutos en un baño de hielo/ alcohol y 5 minutos en un baño a 65 °C), se añadieron 50 µl de proteinasa K (2.5 mg/ml de buffer TE) y se incubó 15 minutos a 50 °C, después se resuspendió en vortex e inmediatamente se centrifugó por 5 minutos a 13 000 xg, se transfirió 500 µl del sobrenadante a un tubo de centrífuga nuevo y se añadieron 500 µl de cloroformo: alcohol isoamílico, se resuspendió en vortex por 1 min y se centrifugó a 13 000 xg por 5 minutos, se transfirieron 400 µl del

sobrenadante a un tubo de centrifuga nuevo. Para las muestras de los Sitios 1 y 2, el ADN se precipitó con 40 µl de acetato de sodio 3M y 800 µl de etanol al 96 % frío. Para las muestras de los Sitios 3 y 4 el ADN se precipitó con 40 µl acetato de amonio 10 M y 800 µl de etanol frío. Las muestras se incubaron a -20 °C toda la noche, al día siguiente las muestras se centrifugaron por 20 minutos a 13 000 xg, la pastilla se lavó dos veces con 1 ml de etanol al 70 % centrifugando cada vez 2 minutos a 16 000 xg a temperatura ambiente, se dejó evaporar el alcohol y se resuspendió la pastilla en 25 µl de agua destilada estéril. Las muestras se guardaron en congelación a -20 °C.

Las muestras de ADN extraídas, se enviaron para secuenciación al Laboratorio Research and Testing Laboratory, ubicado en Lubbock, Texas, Estados Unidos.

2.3.3.2. Metabolismo microbiano

2.3.3.2.1. Evaluación de la actividad solubilizadora de fósforo

La evaluación cualitativa de la solubilización de fosfato de los aislamientos se realizó siguiendo la metodología propuesta por Nautiyal (1999) sobre medio NBRIP con $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ como fuente de fósforo insoluble a pH 7. Se adicionó a la mitad del medio preparado 0.1 g/l de novobiocina disuelto en agua estéril para inhibir el crecimiento de bacterias y a la otra mitad del medio se le añadió 0.1 g/l de ciclohexamida disuelto en 2 ml de acetona para inhibir el crecimiento de hongos.

Se realizaron 6 diluciones de suelo y posteriormente fueron sembradas directamente sobre la superficie del medio e incubadas a 28 °C por 7 días. La capacidad de solubilizar fosfatos se determinó por la formación de halo transparente alrededor de la colonia.

2.3.3.2.1. Evaluación de la actividad de fijación de nitrógeno

La evaluación cualitativa de la fijación biológica de los aislamientos se realizó por la metodología propuesta por Elbeltagy et al. (2001) en medio selectivo agar ASHBY. Se adicionó a la mitad de medio 0.1 g/l de novobiocina disuelto en agua estéril para inhibir el crecimiento de bacterias y a la otra mitad del medio se le añadió 0.1 g/l de ciclohexamida disuelto en 2 ml de acetona para inhibir el crecimiento de hongos.

Se realizaron 6 diluciones de suelo y posteriormente fueron sembradas directamente sobre la superficie del medio e incubadas a 28 °C por 7 días, después de este tiempo se seleccionaron los morfotipos que fueron capaces de crecer en el medio, indicando la presencia de aquellas bacterias que poseen el sistema enzimático que les permite reducir el nitrógeno atmosférico y utilizarlo en su metabolismo. Las colonias seleccionadas fueron resembradas en el mismo medio para poder obtener cepas puras. Las cepas puras fueron sembradas en medio ASHBY líquido agitando durante 15 días, posteriormente se analizó el contenido de nitrógeno por medio del método Kjeldahl.

2.4. Análisis de datos

Debido a que las variables fisicoquímicas no presentaron distribuciones normales (pruebas de Anderson-Darling y Kolmogorov-Smirnov) se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis en el software JMP® 7.0 para conocer si existían diferencias significativas entre sitios, en los casos en que se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), se aplicó la prueba de Mann-Whitney (Wilcoxon) para comparar entre pares de medianas. La tendencia de los datos de cada variable se presenta en un gráfico de cajas.

Se utilizó el software PRIMER versión 6.1.1 para determinar la similitud entre sitios a través de un análisis de escalamiento multidimensional (MDS, por sus siglas en inglés). Para conocer la importancia de las variables fisicoquímicas, se realizó un análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) con el mismo software, a partir de las variables previamente normalizadas y transformadas logarítmicamente.

A partir de la secuenciación de ADN se obtuvo el número de secuencias de microorganismos presentes en cada uno de los sitios (bacterias, arqueas y hongos); para el manejo de estas secuencias se crearon bases de datos que incluyen los phylum, las clases, los órdenes, las familias, los géneros y las especies. Se realizó el análisis de diversidad con las especies presentes en cada uno de los sitios, este análisis se realizó con el software PRIMER versión 6.1.1, los índices de diversidad calculados fueron: el número de especies (S), la abundancia (N), el índice de Shannon-Wiener y el índice de Simpson. El índice de dominancia de Simpson (λ) muestra

resultados entre 0 a 1 en el cual los valores cercanos a 1 explican la dominancia de una especie por sobre las demás; entre más aumente el valor a 1. La diversidad puede calcularse como $D = 1 - \lambda$, debido a que el valor de dominancia es inverso a la equidad. El valor que se obtuvo de la aplicación de esta fórmula se presenta en la Tabla 9 como (D). Para una riqueza dada, D aumenta con la equidad, y para una equidad dada, D se incrementa con la riqueza.

Para evaluar la similitud/disimilitud entre la composición de arqueas, bacterias y hongos entre sitios se aplicó un análisis de SIMPER (similitud de porcentajes) y un análisis de escalamiento multidimensional (MDS).

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Caracterización de sitios

Los resultados de la caracterización fisicoquímica del agua y del suelo, así como los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis se presentan en la Tabla 2. A partir de la prueba de Kruskal-Wallis, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) para las variables salinidad, pH, potencial redox, amonio, sulfato, sulfuro, materia orgánica, carbono total, nitrógeno total, fósforo total, relación C:N y relación N:P. Las medianas para las variables: frecuencia, período y nivel de inundación, corresponden al mes de agosto, fecha en que se realizó el muestreo.

3.1.1. Caracterización del agua

3.1.1.1. Hidroperíodo

El hidroperíodo determina las condiciones de oxidación-reducción del suelo del manglar (Lewis 1982; Mitsch y Gosselink 2000). El hidroperíodo tiene una estrecha relación con la características físicas del terreno (topografía) y por la proximidad a otros cuerpos de agua (Mitsch et. al. 2009). La topografía determina las áreas de inundación (Tovilla 2009; Moreno-Casasola y Warner 2009).

Las frecuencias de inundación fueron mayores en los Sitios 1 y 4 (conservado y degradado), donde se registraron 2 inundaciones en el mes de mayo y 4 inundaciones en el mes de junio. En el Sitio 2 se registraron 2 inundaciones en el mes de mayo y 2 inundaciones en el mes de junio. La menor frecuencia de inundación correspondió al Sitio 3, donde se registraron solamente 2 inundaciones en el mes de mayo (Tabla 3).

Los periodos de inundación fueron mayores en el Sitio 4, con periodos que fueron de 17.957 a 27.469 horas/mes. El menor período de inundación se registró en el Sitio 3 con 5.246 horas/mes. El Sitio 1 presentó periodos de inundación que fueron de 13.568 a 15.013 horas/mes, estos periodos fueron mayores que los registrados en el Sitio 2 con periodos que fueron de 7 a 11.927 horas/mes (Tabla 3).

Tabla 2. Resultados de la caracterización fisicoquímica del agua y del suelo. Se muestran las medianas, el estadístico de prueba de Kruskal-Wallis y el valor de P. Se resaltan las variables con diferencias significativas.

Variable fisicoquímica		Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Estadístico de prueba	Valor de P
Agua	Período de inundación	0	0	0	0	-----	-----
	Frecuencia de inundación	0	0	0	0	-----	-----
	Nivel de inundación	0	0	0	0	-----	-----
	Salinidad (UPS)	62.500	57.800	44.300	69.000	9.455	0.023
	Temperatura (°C)	30.450	32.000	30.900	31.550	4.719	0.193
	pH	6.720	6.720	6.965	6.985	9.792	0.020
	Potencial redox (mV)	13.500	-15.500	-59.500	-38.500	10.522	0.014
	Nitrito+nitrato (µmol/l)	5.357	3.249	8.986	15.457	7.345	0.061
	Amonio (µmol/l)	2216.486	2337.698	3037.766	3162.037	11.382	0.009
	Fosfato (µmol/l)	2.710	3.284	4.210	6.478	6.727	0.081
	Sulfato (µmol/l)	745454.500	644976.100	388516.700	538756.000	11.029	0.011
	Sulfuro (µmol/l)	15.047	3.789	22.766	66.645	10.742	0.013
Suelo	Densidad aparente (g/cm ³)	0.637	0.688	0.674	0.817	4.500	0.212
	Materia orgánica (%)	14.058	12.762	22.577	22.335	12.705	0.005
	Carbono total (%)	13.490	13.233	12.575	11.005	11.933	0.007
	Nitrógeno total (%)	0.295	0.230	0.230	0.215	10.213	0.016
	Fósforo total (%)	0.042	0.036	0.056	0.050	8.558	0.035
	N:P	16.020	13.954	8.891	9.309	10.875	0.012
	C:N	52.244	66.998	64.143	59.046	11.404	0.009
	Microtopografía	0.116	0.126	0.145	0.115	5.721	0.126

Tabla 3. Frecuencia, período y nivel de inundación por mes de los sitios de monitoreo.

Sitio	Mes	Frecuencia (N° de inundaciones/mes)	Período de inundación (horas/mes)	Nivel de inundación (m/mes)	Nivel de inundación negativo (m/mes)
1	Mayo	2	15.013	0.017 ± 0.008	-0.162 ± 0.005
	Junio	4	13.568	0.007 ± 0.002	-0.087 ± 0.003
	Julio	0	0	0	-0.146 ± 0.004
	Agosto	0	0	0	-0.090 ± 0.003
2	Mayo	2	11.927	0.024 ± 0.010	-0.164 ± 0.005
	Junio	2	7	0.004 ± 0.002	-0.089 ± 0.003
	Julio	0	0	0	-0.149 ± 0.004
	Agosto	0	0	0	-0.093 ± 0.003
3	Mayo	2	5.246	0.009 ± 0.008	-0.185 ± 0.005
	Junio	0	0	0	-0.112 ± 0.003
	Julio	0	0	0	-0.172 ± 0.004
	Agosto	0	0	0	-0.116 ± 0.003
4	Mayo	2	17.957	0.024 ± 0.008	-0.152 ± 0.005
	Junio	4	27.469	0.009 ± 0.002	-0.079 ± 0.003
	Julio	0	0	0	-0.136 ± 0.004
	Agosto	0	0	0	-0.081 ± 0.003

Los niveles de inundación fueron mayores en el Sitio 4 (0.009-0.024 m/mes), los Sitios 1 y 2 presentaron niveles de inundación muy similares (0.004-0.024), mientras que el menor nivel de inundación se registró en el Sitio 3 con 0.009 m/mes (Tabla 3).

De acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis no se encontraron diferencias estadísticamente significativas de las medianas entre los sitios para el hidroperíodo (período, frecuencia y nivel de inundación).

Los niveles del suelo pueden explicar por qué unos sitios permanecieron más tiempo inundados que otros (Tabla 4). El Sitio 4 que fue el sitio más bajo topográficamente es el que presentó mayor frecuencia, periodo y nivel de inundación, mientras que el Sitio 3 que fue el más alto registró la menor frecuencia, período y nivel de inundación. El Sitio 1 presentó mayor frecuencia y periodo de inundación que el Sitio 2, debido a que es más bajo. Estos resultados coinciden con los resultados reportados por Echeverría-Ávila (2014), donde los sitios con topografía baja fueron los que permanecieron más tiempo inundados y con mayor nivel de inundación respecto a sitios con topografía alta.

Durante el período muestreado la frecuencia, el período y nivel de inundación fueron menores comparados con otros estudios en la misma área de estudio, donde se han registrado entre 4 y 8 inundaciones por mes con periodos de inundación de 282 a 680 horas/mes, con niveles de inundación de 0.07 a 0.24 m.s.n.m, reportando mayor número de inundaciones en la temporada de nortes (Echeverría-Ávila 2014), los bajos niveles de inundación en este estudio se deben a que durante el monitoreo no se presentaron lluvias o disturbios meteorológicos que influyeran en los niveles de inundación, siendo las mareas las que determinaron el comportamiento del hidroperíodo (CONAGUA 2015).

3.1.1. 2. Salinidad

Los valores de salinidad observados en los sitios fueron desde 44.3 a 69 UPS. El Sitio 4 presentó la mayor salinidad y el Sitio 3 la menor, mientras que las salinidades de los Sitios 1 y 2 fueron de 62.5 y 57.8 UPS, respectivamente (Figura 4).

La variación de la concentración de la salinidad fue estadísticamente significativa de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis ($F=9.455$, $p=0.023$), presentándose diferencias significativas entre las medianas de los Sitios 1 y el Sitio 3 de acuerdo a la prueba de Mann-Whitney (Wilcoxon) ($p<0.05$).

La salinidad del manglar depende del tipo de hidrología que prevalezca en él (altura y duración de la marea, de la estacionalidad e intensidad de la precipitación pluvial y de las variaciones estacionales en el volumen de agua que les aportan los ríos, canales y escurrimientos de tierras arriba) (Mitsch y Gosselink 2000).

La salinidad también está relacionada con la topografía y la evaporación (Cowardin et al. 1979; Davis 1940). El Sitio 4 (degradado) que presentó el valor más alto de salinidad es el sitio más bajo topográficamente, permitiendo mayor inundación; la mayor salinidad e inundación pueden explicarse por la interrupción del flujo hidrológico (entradas y salidas de marea), aunado al proceso de evaporación. Cuando no se presenta flujo hidrológico hay una tendencia hacia el aumento de la concentración de la salinidad del suelo, en combinación con escasa precipitación y alta temperatura, lo que favorece los procesos de evaporación (Mitsch y Gosselink 2000, Medina 1998). El Sitio 3 que fue el sitio más alto en topografía (0.146 m.s.n.m), es el que menos tiempo permaneció inundado (5.246 horas/mes), presentó el menor valor de salinidad (44.3 UPS).

Avicennia germinans tolera grandes fluctuaciones de salinidad, encontrándose por lo general entre 0 a 65 UPS (Tomlinson 1986; McKee 1995). Cuando la salinidad del agua intersticial es superior a 70 UPS provoca la disminución del desarrollo del manglar y llega a causar su muerte (Cintrón-Molero y Shaeffer Novelli 1983). Los Sitios 1, 2 y 3 presentaron valores menores a los reportados como normales mientras que la salinidad del Sitio 4 (degradado) se encontró cercana a los 70 UPS.

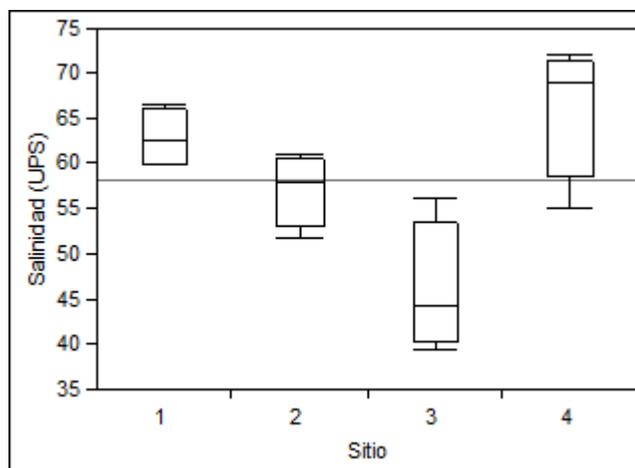


Figura 4. Diagrama de cajas de la variación de la salinidad entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medias).

En sitios de manglar dominados por *Avicennia germinans*, en la costa del estado de Yucatán se encuentran salinidades de 48.7 UPS en Sisal y 54.7 UPS en Celestún en sitios en buen estado de conservación (Herrera-Silveira et al. 2009); por otra parte, en sitios de Progreso donde existen sitios degradados se han registrado salinidades de hasta 99.78 UPS, siendo ésta una variable determinante en la estructura de la comunidad del manglar, ya que en los sitios con mayor salinidad se registra el menor desarrollo estructural con respecto a los demás sitios (Herrera-Silveira et al. 2009; Echeverría Ávila 2014).

3.1.1.3. Temperatura

Los valores de temperatura fueron de 30.45 a 32 °C; el Sitio 2 registró la mayor temperatura (32 °C) y el Sitio 1 la menor (30.45 °C). Las temperaturas de los Sitios 3 y 4 fueron de 30.9 °C y 31.55 °C, respectivamente (Figura 5). De acuerdo con la prueba de Kruskal- Wallis no existieron diferencias significativas de las medianas entre sitios. Se considera que no hay una relación con la condición ecológica del manglar. La temperatura mostró un comportamiento similar a lo reportado por Agraz-Hernández et al. (2010), al contemplar diferencias de solo 1 o 2 °C entre las zonas conservadas y degradadas.

La temperatura es un factor importante en la distribución del manglar (Chapman (1975). Se han realizado estudios en México relacionados a la composición de manglares y su relación con los cambios de temperatura y precipitación, se ha encontrado que los valores altos de temperatura y precipitación favorecen un mayor desarrollo de los manglares. Existe un gradiente biogeográfico en riqueza de especies y complejidad estructural que va desde manglares con poca diversidad y altura hasta bosques de manglar de mayor altura (de entre 25 y 30 m) en zonas más húmedas y de mayor temperatura (Lot et al. 1975).

La temperatura también tiene influencia en la distribución de los microorganismos, se ha demostrado que la temperatura del agua es el principal determinante de la distribución estacional de bacterias en sedimentos, específicamente en bacterias heterotróficas y hongos (Alongi 1988).

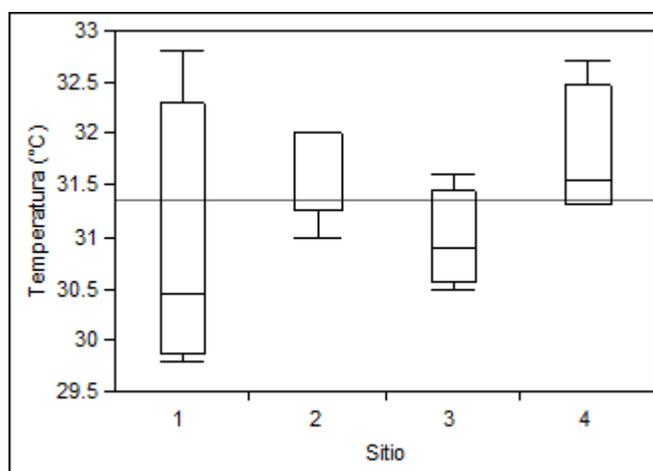


Figura 5. Diagrama de cajas de la variación de la temperatura entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medias).

3.1.1.4. Potencial de hidrógeno (pH)

Los valores de pH fueron de 6.72 a 6.98, cercanos a pH neutro. Los valores de pH de los Sitios 1 y 2 (conservado y con regeneración abundante) son ligeramente más ácidos que en los Sitios 3 y 4 (con regeneración escasa y degradado) (Figura 6).

La variación de pH fue estadísticamente significativa de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis ($F=9.792$, $p=0.020$), presentándose diferencias estadísticamente significativas entre pares de medianas de los Sitios 1 y 3, 2 y 3, 2 y 4, 3 y 4, de acuerdo a la prueba de Mann-Whitney (Wilcoxon) ($p<0.05$).

Los sitios de estudio presentan suelos minerales. Los suelos minerales a menudo tienen condiciones más neutras o alcalinas (Mitsch y Gosselink 1993), debido a la presencia de carbonatos. El pH también puede estar influenciado por la materia orgánica; la degradación de la materia orgánica libera protones H^+ ; los valores del pH se reducen a medida que la concentración de los iones de hidrógeno incrementan y esto vuelve más ácido el suelo; lo anterior concuerda con los valores más bajos de pH en los Sitios 1 y 2 (conservado y en regeneración abundante), los cuales tienen una mayor tasa de degradación de la materia orgánica como lo indican las relaciones N:P y C:N.

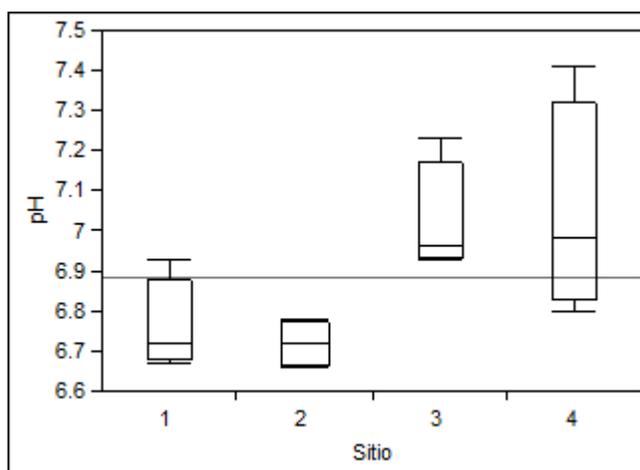


Figura 6. Diagrama de cajas de la variación del pH entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medias).

Estos resultados coinciden con otros estudios donde se compararon sitios de manglar degradados con sitios conservados, los valores de pH fueron más alcalinos en el sitio degradado, mientras que en la zona conservada fueron más ácidos (Cárdenas 2014, Vovides et al. 2010).

En manglares de Progreso, Yucatán, Herrera-Silveira et al. (2012) reportaron valores de pH de 7.9 en sitios de rehabilitación y pH de 7.3 en el sitios conservados, coincidiendo con los valores reportados en este estudio.

3.1.1.5. *Potencial de óxido-reducción*

Los valores de potencial redox a los 30 cm de profundidad fueron de -59.5 a 13.5 mV (Figura 7). Los valores de redox más negativos (condiciones reducidas) se registraron en los Sitios 3 y 4 con valores de -59.5 y -38.5 mV, respectivamente, lo que indica un ambiente anóxico; por otra parte, los Sitios 1 y 2 presentaron las condiciones más oxidadas con valores de potencial redox de 13.5 y 15.5 mV, respectivamente; estos valores fueron menores a los reportados en otros manglares donde el potencial redox puede ser de hasta -390 mV, indicando suelos altamente reducidos mientras que en los sitios conservados se reportan potenciales redox menos negativos (-100 mV) (Herrera-Silveira et al. 2012).

De acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis existieron diferencias significativas entre las medianas de los sitios ($F=10.522$, $p=0.014$), presentándose diferencias estadísticamente significativas entre pares de medianas de los sitios (1 y 3, 1 y 4, 2 y 3) de acuerdo a la prueba de Mann-Whitney (Wilcoxon) ($p<0.05$).

Generalmente, el potencial redox es afectado por la concentración de oxígeno disuelto. Los flujos de agua ayudan a disminuir las condiciones reducidas en los manglares porque dichas aguas contienen oxígeno disuelto que es difundido hacia los suelos (Mitsch y Gosselink 2000); debido a que se registraron pocas inundaciones en los sitios de estudio, los valores de potencial redox no pueden atribuirse únicamente a las condiciones hidrológicas. El potencial redox también es influenciado por la biota como la abundancia de raíces, el oxígeno entra por las lenticelas en los neumatóforos de las raíces y se mueve a través de las lenticelas a las raíces que crecen en el sedimento anaeróbico, creando una zona aeróbica en el área adyacente a las raíces (McKee 1996; Pi et al. 2009). Los Sitios 1 y 2 (conservado y con regeneración abundante) tuvieron mayor densidad de plantas, por lo tanto una mayor biomasa de raíces, lo que proporciona mayor oxígeno y un ambiente más oxidado en el suelo. Existen estudios que presentan evidencia de que *Avicennia germinans* podría oxidar su rizósfera y

controlar sus niveles de sulfuro en el suelo, demostrando así la influencia biótica en el ambiente del suelo (Thibodeau y Nikerson 1986).

Las condiciones menos reducidas cerca de las raíces indica una relación de la vegetación con las variables fisicoquímicas, especialmente en el potencial redox y los sulfuros. Resultados de otros estudios muestran resultados similares a este estudio, en una zona dominada por *A. germinans* tenía suelos fuertemente reducidos ($Eh \leq -100$ mV) con alto sulfuro (2-4 μM), donde se mostró que la zonificación del manglar reflejaba los efectos de los factores del suelo en la vegetación y los efectos de las raíces de las plantas en el potencial redox y el sulfuro (McKee 1993). Cuando el oxígeno no puede entrar en el sistema radicular a través de los neumatóforos, la rizósfera se vuelve tan reducida como el suelo sin vegetación y biomasa de raíces.

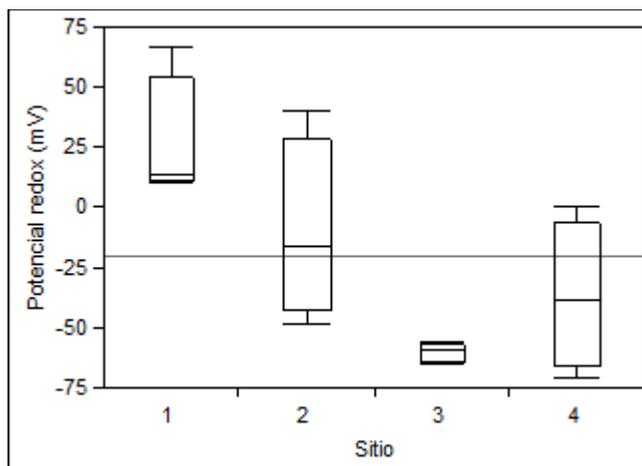


Figura 7. Diagrama de cajas de la variación del potencial de óxido-reducción entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medias).

3.1.1.6. Nitrito+nitrato y amonio

Las concentraciones de nitrito + nitrato ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) registradas fueron desde 3.24 a 15.45 $\mu\text{mol/l}$. Las mayores concentraciones se registraron en los Sitios 3 y 4 (con regeneración escasa y degradado) mientras que las menores concentraciones se registraron en los Sitios 1 y 2 (conservado y regeneración abundante), por lo que estas variables muestran una tendencia con respecto a la condición ecológica del manglar (Figura 8), sin embargo de acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis no existieron

diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ entre los sitios. En el año 2012, se encontraron valores similares en el mismo sitio que fueron de 4.2 a 17.01 $\mu\text{mol/l}$ (Herrera- Silveira et al. 2012), también se registraron concentraciones menores en sitios conservados con respecto a los demás sitios.

El amonio es la forma primaria de nitrógeno en los suelos de manglar, en parte como resultado de las condiciones anóxicas del suelo (Reef et al. 2010). Las concentraciones de amonio (NH_4^+) fueron de 2216.4 a 3162.03 $\mu\text{mol/l}$ (Figura 9). Esta variable también mostró una relación con la condición ecológica del manglar. Los valores encontrados fueron mayores a los encontrados en el municipio de Progreso, donde el máximo valor reportado fue de 158.8 $\mu\text{mol/l}$, sin embargo, los sitios conservados muestran menores valores de este nutriente.

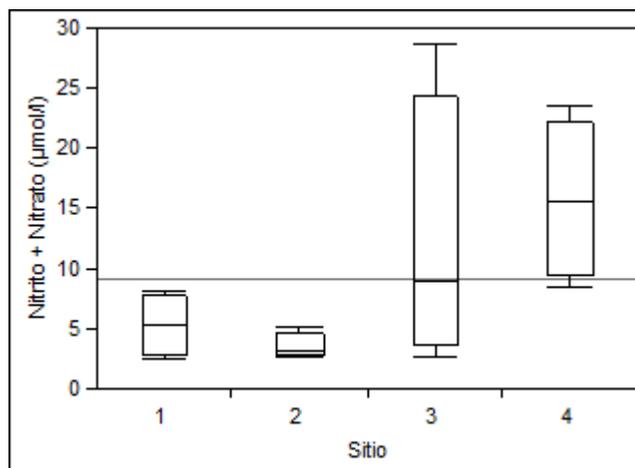


Figura 8. Diagrama de cajas de la variación de nitratos+ nitritos entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medias).

La variación de la concentración del amonio fue significativa de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis ($F=11.382$, $p=0.009$), presentándose diferencias estadísticamente significativas entre pares de medianas de los Sitios (1 y 3, 1 y 4, 2 y 3, 2 y 4) de acuerdo a la prueba de Mann-Whitney (Wilcoxon) ($p<0.05$), por lo tanto no existen diferencias estadísticamente significativas entre los Sitios 1 y 2, 3 y 4.

Una de las primeras reacciones que se producen en los suelos de los humedales después de la inundación es la reducción de nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-). La reducción de nitratos a amonio se da a partir de potenciales redox de 250 mV o menores. Las muestras se tomaron a los 30 cm donde se registraron potenciales redox de -60 a 26 mV, menor a los 250 mV, lo que indica que los nitratos se están transformando a amonio y que existe un ambiente reducido. La reducción de nitratos puede ser alta debido a las condiciones anaeróbicas en combinación con el alto contenido de materia orgánica (Alongi 1994; Corredor y Morell 1994). Las mayores concentraciones de nitritos+ nitratos y amonio se registraron en los Sitios 3 y 4 que son aquellos con condiciones más reducidas y mayor contenido de materia orgánica.

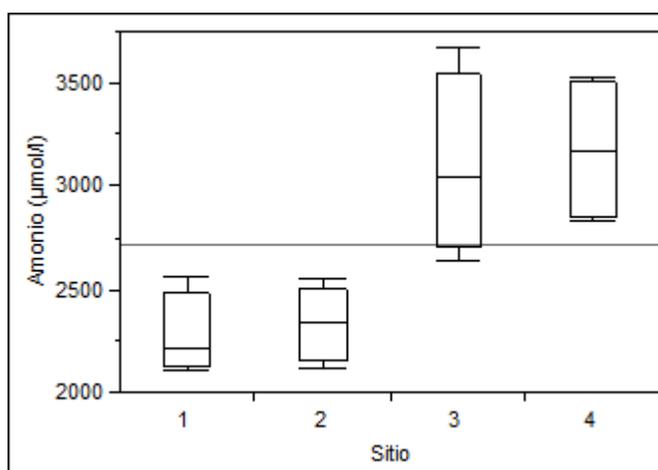


Figura 9. Diagrama de cajas de la variación del amonio entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medias).

3.1.1.7. Fosfatos

Se registraron valores de fosfatos de 2.71 a 6.47 $\mu\text{mol/l}$. Las mayores concentraciones se registraron en los Sitios 3 y 4 (regeneración escasa y degradado) mientras que las menores se registraron en los Sitios 1 y 2 (conservado y regeneración abundante) (Figura 10).

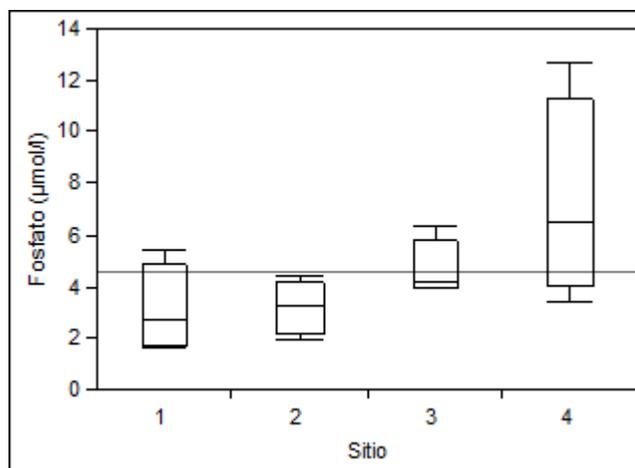


Figura 10. Diagrama de cajas de la variación de fosfatos entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medias).

Estos valores fueron mayores que los reportados por Herrera- Silveira et al. (2012), donde reporta valores que van de 2.28 μM a 3.95 μM , donde algunos sitios conservados presentaron menores valores de fosfatos (3.14 μM) que sitios en restauración. En el municipio de Celestún se registraron valores con mayor variabilidad en la concentración de fosfatos de 0.27 $\mu\text{mol/l}$ a 29.3 μmol , registrando los menores valores en los sitios conservados.

De acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis no existieron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de fosfatos entre sitios.

La retención de fósforo en suelos de humedales está regulada por diversas propiedades fisicoquímicas incluyendo el pH, el potencial redox, el hierro, el aluminio, el contenido de calcio y el contenido de materia orgánica. La solubilidad del fósforo es mayor a valores de potencial redox bajos, lo que explica las altas concentraciones de fosfatos en el agua intersticial de los Sitios 3 y 4, con valores más negativos de potencial redox. Además, durante la reducción del sulfato se libera fósforo en solución (Sherman et al. 1998). Los valores de sulfatos, sulfuros y fósforo (menores valores de sulfatos, mayores valores de sulfuro y fosfatos) en el agua intersticial de los Sitios 3 y 4 indicaron un ambiente más reducido que los Sitios 1 y 2.

3.1.1.8. Sulfatos y sulfuros

En los ecosistemas marinos y salobres, las concentraciones de sulfato son 10 a 1000 veces mayores que las de agua dulce (Marschner 1995). El sulfuro puede acumularse como resultado de la reducción del sulfato durante la anaerobiosis. Los microorganismos reductores de sulfato desempeñan un papel importante en la descomposición y la producción de sulfuros (Jørgensen 1982). El sulfato es la forma en que el azufre está más fácilmente disponible para las plantas mientras que los sulfuros son perjudiciales para los manglares. El papel del sulfuro como potencial tóxico en los sedimentos salinos ha sido bien establecido (Carlson y Forrest 1982; Ingold y Havill 1984; Raven y Scrimgeour 1997; Koch y Erskine 2001; Pedersen et al. 2004).

La mayor parte de la degradación de la materia orgánica ocurre a través de la reducción de sulfato (Kristensen et al. 1991). La oxidación del suelo alrededor de las raíces puede revertir la conversión del sulfato en sulfuros, reduciendo así la toxicidad del suelo. Se ha encontrado correlación entre la presencia de raíces de manglares y las concentraciones de sulfuro donde las concentraciones fueron de tres a cinco veces inferior cerca de los neumatóforos de *Avicennia germinans* comparados con sedimento sin vegetación, también se reportó potenciales redox más positivos cerca de las raíces (Mckee et al. 1988).

Bajo condiciones anóxicas, las bacterias reductoras del sulfato reducen Fe a formas que son desfavorables para la unión a P, liberando así fósforo al agua intersticial (Holmer et al. 1994).

A pesar de la alta tolerancia del manglar al sulfuro y a la anoxia, la acumulación de sulfuros en el sedimento afecta el crecimiento y la supervivencia de los manglares (McKee 1993; McKee et al. 1988; Nickerson y Thibodeau 1985).

Las concentraciones registradas para sulfatos fueron mayores en los Sitios 1 y 2, mientras que las menores se registraron en los Sitios 3 y 4 (Figura 11). El sulfato es adicionado por el movimiento de la marea, el cual entra a los suelos de manglar y en condiciones anóxicas es reducido a sulfuros (van Breemen y Buurman 1998). Las

concentraciones altas de sulfatos podría explicarse por el aporte de agua salina de la laguna hacia los sitios de muestreo. El contenido de sulfatos aumenta mientras mayor contenido de sales tenga el agua, debido a que aumenta la solubilidad. La salinidad del agua superficial que llega a los sitios es mayor a la del agua de mar (44 UPS).

Por el contrario las mayores concentraciones de sulfuros se registraron en los Sitios 3 y 4, indicando condiciones más reducidas en estos sitios (Figura 12). Esto puede ser resultado de la entrada de oxígeno a través de las raíces en los Sitios 1 y 2 y en menor proporción en el Sitio 3. Las concentraciones de sulfuro reportadas en este estudio son mayores que las reportadas en otros manglares. Moore et al. (2015) reporta que en manglares inundados durante períodos prolongados debido a la altura del suelo, se registró la mayor concentración de sulfuros (0.84 ± 0.29 y 0.85 ± 0.25 $\mu\text{mol/l}$) y que estos sitios tenían valores de potencial redox más negativos (-287.33 ± 61.01 mV).

Mckee et al. (1988) midió la la concentración de sulfuros en sitios de manglar que van de 0.03-3.70 $\mu\text{mol/l}$, los valores más altos se registraron en sitios donde no se encontraba vegetación, el potencial redox del suelo fue de -168 a -204 mV donde no había vegetación, mientras que donde había vegetación variaron de -45 a -161 mV. Boto y Wellington (1984) trabajaron en manglares de Australia encontrado que los suelos con menos plantas tienden a ser más reducidos. Estos resultados sugirieron la idea de que los manglares pueden trasportar oxígeno a través de sus raíces. La más completa evidencia de este mecanismo fue presentada por Thibodeau y Nickerson (1986).

De acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis existieron diferencias entre las medianas de sulfatos ($F=11.02$, $p=0.01$) y sulfuros ($F=10.74$, $p=0.013$), presentándose diferencias entre pares de medianas de sulfatos entre los Sitios 1 y 3, 2 y 3, 2 y 4, de acuerdo a la prueba de Mann-Whitney (Wilcoxon) ($p<0.05$) y para sulfuros diferencias en los Sitios 1 y 2, 2 y 3, 2 y 4.

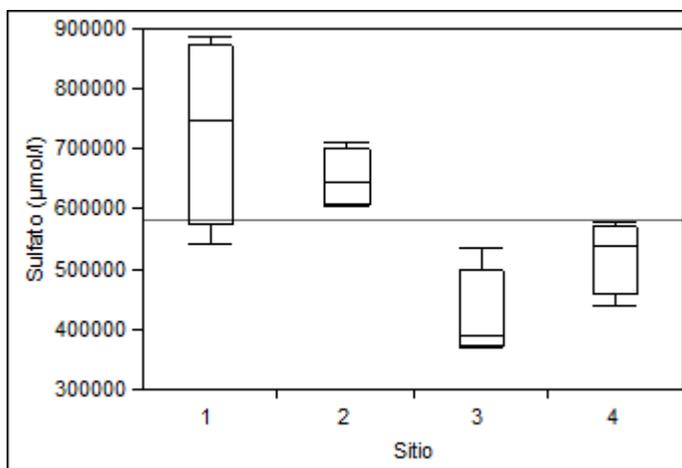


Figura 11. Diagrama de cajas de la variación de sulfatos entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medias).

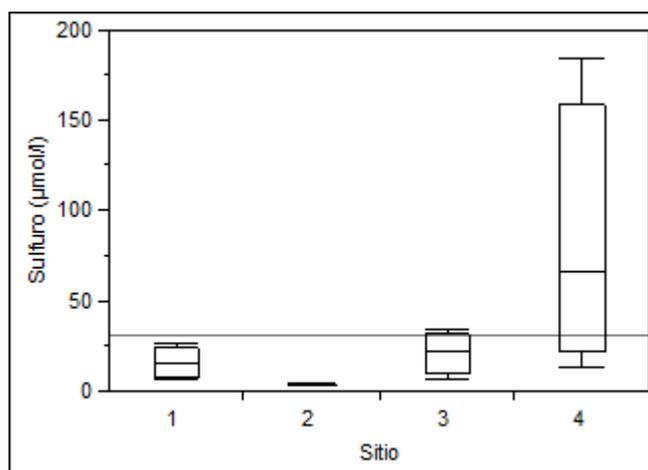


Figura 12. Diagrama de cajas de la variación de sulfuros entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medias).

3.1.2. Caracterización del suelo

3.1.2.1. Microtopografía

Los valores promedio del nivel del suelo fueron de 0.109 a 0.146 m.s.n.m (Tabla 4). Se determinó que el Sitio 4 (degradado) fue el más bajo y el Sitio 3 (en restauración

con regeneración escasa) el más alto, mientras que el nivel del suelo de los Sitios 1 y 2 fueron de 0.12 y 0.123 m.s.n.m, respectivamente. La prueba de Kruskal-Wallis indicó que no existieron diferencias estadísticamente significativas de las medianas entre los sitios.

Un factor que tiene influencia en el hidropérido es la microtopografía (Moreno-Casasola y Warner 2009). Los niveles del suelo pueden explicar por qué unos sitios permanecieron más tiempo inundados que otros. El Sitio 4 que fue el sitio más bajo es el que tuvo mayores periodos de inundación y el Sitio 3 que fue el más alto permaneció más tiempo seco, aunque estadísticamente no existieron diferencias significativas.

Hay que recalcar que en el Sitio 4 se encontraron árboles muertos por lo que en un principio la topografía no fue un problema para el establecimiento de *Avicennia germinans*, lo que indica que hubo otro factor que provocó un cambio en la biogeoquímica, lo cual impactó en la condición ecológica del manglar.

Tabla 4. Nivel del suelo por sitio (m.s.n.m).

Sitio	Nivel del suelo (m.s.n.m)	Descripción
1	0.12 ± 0.014	Conservado con vegetación natural
2	0.123 ± 0.006	En restauración con regeneración abundante
3	0.146 ± 0.009	En restauración con regeneración escasa
4	0.109 ± 0.007	Degradado

3.1.2.2. Densidad aparente

La densidad aparente es un indicador de la compactación del suelo y por consecuencia su salud. La compactación disminuye el volumen de poros y aumenta la densidad aparente (Baver et al. 1991), el aumento de la densidad afecta la disponibilidad del agua, provoca una deficiente aireación y un suministro inadecuado de oxígeno para el

desarrollo de las plantas, el desarrollo radicular, la disponibilidad de nutrientes e incluso la actividad de microorganismos en el suelo (Bengough 1991; Atwell 1993).

Los valores de densidad aparente fueron de 0.63 a 0.81 g/cm³. La mayor densidad correspondió al Sitio 4 y la menor al Sitio 1, mientras que las densidades de los Sitios 2 y 3 fueron de 0.68 y 0.67 g/cm³, respectivamente (Figura 13). Gutiérrez-Mendoza y Herrera-Silveira (2015) reportaron densidades de 0.74 a 0.79 g/cm³ en los municipios de Progreso y Dzilam Bravo, cercanos a los reportados en este estudio. Por lo general, la densidad de los sedimentos está relacionada con el contenido de materia orgánica, en lugares donde se observa mayor contenido de materia orgánica por lo general presenta menor densidad aparente. Herrera-Silveira et al. (2012) reportan que los sitios sujetos a restauración hidrológica presentaron mayores densidades a los sitios conservados, donde los valores de densidad en los sitios en restauración fueron entre 0.75 y 1.16 gr/cm³, en comparación con los manglares conservados en los que los valores de densidad están por debajo 0.68 gr/cm³.

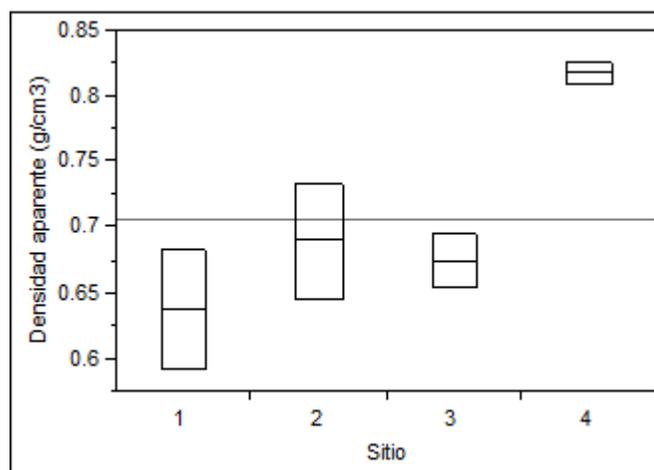


Figura 13. Diagrama de cajas de la variación de densidad aparente entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medias).

3.1.2.3. *Materia orgánica*

La materia orgánica (MO) es un factor importante para la formación de suelos en los ecosistemas de manglar. La acumulación de materia orgánica es una función del equilibrio entre la productividad primaria neta y los procesos de descomposición

abiótica y biótica. La materia orgánica es el sustrato del que dependen las reacciones que se llevan a cabo en el suelo.

Los suelos que tienen menos del 35 % de materia orgánica son considerados como suelos minerales. Los porcentajes de materia orgánica registrados en los sitios fueron de 12.7 a 22.5 %, por lo que son suelos minerales. Los menores porcentajes de materia orgánica se registraron para los Sitios 1 y 2, y los mayores para los Sitios 3 y 4 (Figura 14).

Los valores de materia orgánica presentaron diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis ($F=12.7$, $p=0.005$), presentándose diferencias significativas ($p<0.05$) entre pares de medianas de los sitios, a excepción de las medianas de los Sitios 3 y 4, de acuerdo a la prueba de Mann-Whitney (Wilcoxon).

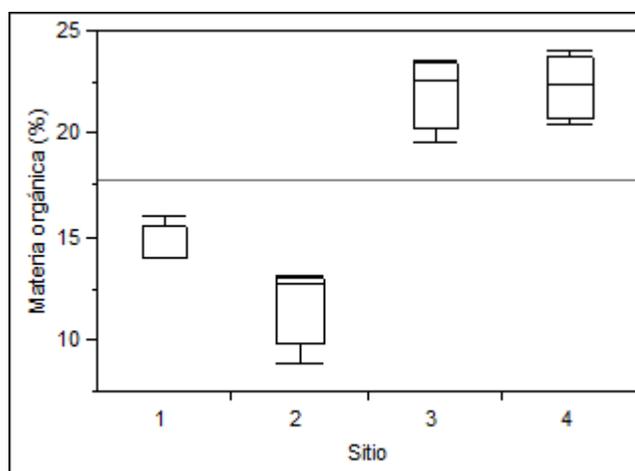


Figura 14. Diagrama de cajas de la variación de materia orgánica entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medianas).

Los resultados obtenidos difieren de otros estudios donde en los manglares conservados, Herrera-Silveira et al. (2012) reportan que para el mismo sitio de estudio los valores de materia orgánica variaron entre 12.4 y 20.4 %, estos los valores bajos los atribuyen a que el suelo fue rellenado con materiales de dragado. Echeverría-Ávila (2014) reporta en el área de restauración valores de 13.55 a 22.30 %, similares a los que encontramos en este trabajo, sin embargo, Herrera-Silveira et al. (2012) reportan

que en Celestún y Progreso, Yucatán, encontraron menores porcentajes de materia orgánica en los sitios en restauración con respecto a los sitios conservados. En otras investigaciones, también se encontró mayor contenido de materia orgánica en los sitios conservados que en los sitios degradados; Vovides et al. (2010) reportan valores de materia orgánica de 3 % en sitios degradados y valores de 18 % en sitios conservados, menores a los encontrados en este trabajo. Herrera-Silveira et al. (2012) explica que el alto contenido de materia orgánica en sitios degradados puede deberse a que estos sitios estaban poblados por árboles, lo que estructuralmente se demuestra por la presencia de árboles muertos como es el caso del Sitio 4 (degradado).

3.1.2.4. Nutrientes totales: carbono, nitrógeno y fósforo

El carbono total fue mayor en el Sitio 1 (conservado) con 13.49 %. Los valores registrados para los Sitios 2, 3 y 4 fueron de 13.23, 12.57 y 11.00 %, respectivamente (Figura 15). Estos valores son bajos comparados con el contenido de carbono total encontrado en Celestún donde el porcentaje de carbono registrado fue de 22.9 %, en un sitio de manglar conservado. En Sisal, se reporta que el contenido de carbono total es menor al 20 %, mientras que en el municipio de Progreso se ha reportado que el contenido de carbono asociado a zonas de manglar donde domina *Avicennia germinans* es bajo (<15 %), lo que coincide con lo encontrado en este trabajo (Herrera-Silveira et al. 2009).

Con respecto al nitrógeno total, el mayor valor fue para el Sitio 1 (0.29 %) mientras que el menor para el Sitio 4 (0.21 %), el contenido de nitrógeno en los Sitios 2 y 3 fue de 0.23 % (Figura 16), estos valores son bajos puesto que para Celestún se ha reportado concentraciones de 0.93 %. En cambio en Sisal el contenido de nitrógeno total fue menor (0.12 a 0.19 %) (Herrera-Silveira et al. 2009). Mientras que en Progreso se reportan valores de hasta 0.4 %. En el área de estudio se han reportado valores de nitrógeno total de 0.149-0.304 % (Herrera-Silveira et al. 2012), en sitios en restauración hidrológica, similares a los encontrados en este trabajo.

En cuanto al fósforo total, éste fue mayor en los Sitios 3 y 4 (con regeneración escasa y degradado) con valores de 0.056 y 0.05 %, respectivamente; mientras que los menores valores se registraron para los Sitios 1 y 2 (conservado y con regeneración

abundante) con 0.04 y 0.03 %, respectivamente (Figura 17). Las concentraciones de fósforo total son menores a las reportadas en Celestún, Sisal, y otros sitios en Progreso, con concentraciones de 0.12 % (Herrera-Silveira et al. 2009; Herrera-Silveira et al. 2012).

De acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis existieron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de carbono total ($F=11.93$, $p=0.007$), nitrógeno total ($F=10.21$, $p=0.016$) y fósforo total ($F=8.55$, $p=0.035$).

La relación N:P se ha utilizado para inferir las limitaciones de N y P (Güsewell 2004). Relaciones de N:P >32 indican que el P puede limitar el crecimiento de muchos hábitats de manglares (Lovelock et al. 2007). La relación N:P fue de 8.89 hasta 16.02, siendo mayor en los Sitios 1 y 2 (conservado y regeneración abundante). De acuerdo a la prueba de Kruskal- Wallis existieron diferencias estadísticamente significativas ($F=10.87$, $p=0.012$). Puesto que la relación N:P es menor a 32, el nutriente limitante es el nitrógeno, más limitante en los sitios cuya relación fue menor (Sitios 3 y 4, con regeneración escasa y degradado). Gutiérrez-Mendoza y Herrera-Silveira (2015) reportan que en Progreso y Dzilam, la relación N:P fue de 5.15 a 7.62, valores menores que los reportados en este trabajo. Vovides et al. (2010) reportan para sitios de manglar relaciones N:P de 14 a 45, siendo mayores en sitios degradados que en sitios conservados; lo que difiere de este trabajo, debido a que en los Sitios 3 y 4 (con regeneración escasa y degradado) la relación N:P fue menor que en los Sitios 1 y 2 (conservado y con regeneración abundante).

La relación C:N determina la capacidad de la microflora en la mineralización de nitrógeno. De acuerdo con Kristensen et al. (2000), las bacterias heterotróficas en suelos de manglar generalmente requieren sustratos orgánicos con una relación C: N de 10 o menos para su crecimiento y desarrollo. Si se superan las 20 unidades, la situación es de déficit de N por inmovilización de N en la biomasa microbiana, lo que provoca la ralentización de la descomposición de la materia orgánica. De acuerdo con Kristensen et al. (2000), manglares y marismas con relaciones elevadas que pueden alcanzar un valor de 100 son sustratos insuficientes para el metabolismo bacteriano. La relación C:N fue de 52.78 a 68.02, y de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis

existieron diferencias estadísticamente significativas ($F=11.4$, $p = 0.009$), siendo mayor en el Sitio 2 y menor en el Sitio 1. Estos valores indican un déficit de N, lo que coincide con la relación N:P, lo que provoca la ralentización de la descomposición de la materia orgánica.

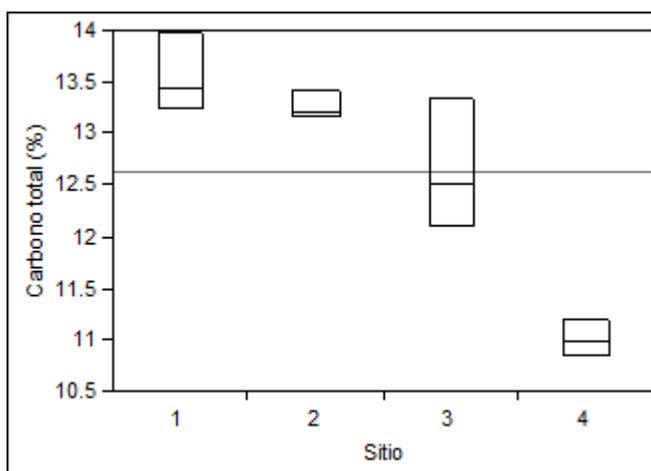


Figura 15. Diagrama de cajas de la variación de carbono total entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medias).

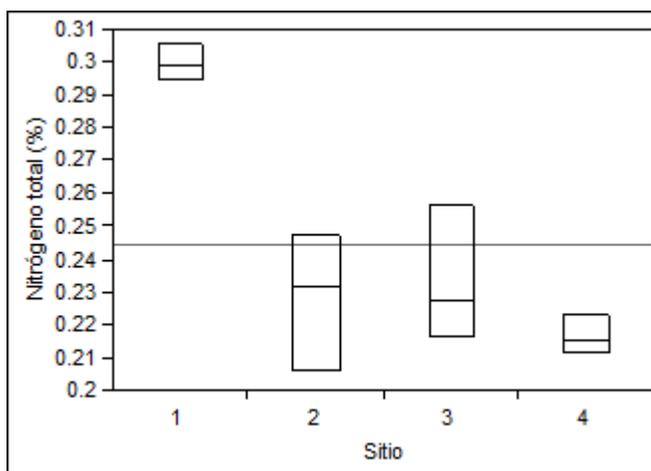


Figura 16. Diagrama de cajas de la variación de nitrógeno total entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medias).

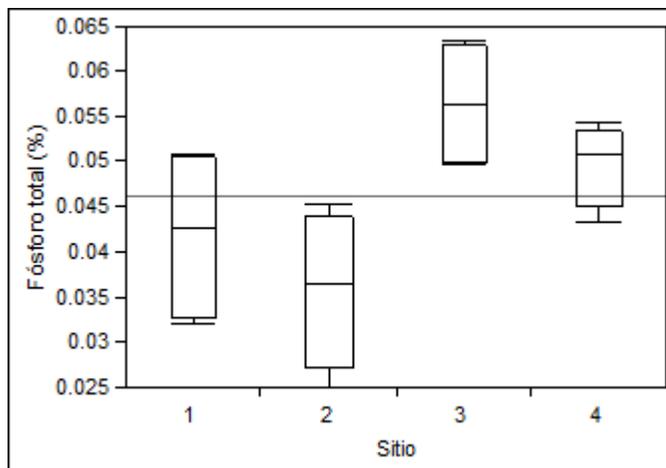


Figura 17. Diagrama de cajas de la variación de fósforo total entre sitios. Se muestran la mediana, los cuartiles y el valor mínimo y máximo. La línea gris representa la gran media (media de las medias).

Determinación de los gradientes ambientales

El resultado del análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) de las variables fisicoquímicas se presenta en la Figura 18. La variabilidad explicada por cada eje de variación, así como la contribución de las variables fisicoquímicas a cada uno de los mismos se presenta en la Tabla 5. Los primeros 3 componentes explicaron el 75.2 % de la variabilidad acumulada.

El primer componente (PC1) tiene la mayor correlación positiva con la relación nitrógeno-fósforo (coeficiente=0.326), sulfato (coeficiente=0.291), carbono total (coeficiente=0.289) y potencial redox (coeficiente=0.288), mientras que tiene correlación negativa con el amonio (coeficiente=-3.28) y materia orgánica (coeficiente=-3.11); indicando que mientras más positivo es el potencial redox hay un incremento en la relación nitrógeno-fósforo, sulfato y carbono total, mientras que los valores de amonio y materia orgánica serán menores, como es el caso de los Sitios 1 y 2 (conservados y con regeneración abundante; por el contrario, en los Sitios 3 y 4 (con regeneración escasa y degradado) mientras mayor es el la concentración de amonio y materia orgánica menor es la relación nitrógeno-fósforo, la concentración de sulfato y carbono total y más negativos son los valores del potencial redox.

En cuanto al PC2, éste tiene mayor correlación positiva con la salinidad (coeficiente=0.5), sulfuro (coeficiente=0.327), sulfato (coeficiente=0.276) y correlación negativa con la microtopografía (coeficiente=-0.49), la relación carbono-nitrógeno (coeficiente=-0.301) y carbono total (coeficiente=-0.282); indicando que un aumento en la concentración de sulfatos involucra un aumento en la salinidad y sulfuros; estas relaciones posiblemente se debieron a que los Sitios 1 y 4 presentaron las mayores concentraciones de salinidad, el Sitio 1 presentó la mayor concentración de sulfatos y el Sitio 4 la mayor concentración de sulfuros., sin embargo, en sitios de manglar donde se encuentran mayores concentraciones de sulfatos se encuentran valores menores de sulfuro. La correlación negativa con la topografía explica la importancia de este factor en la inundación de los suelos y su influencia en la salinidad y en los reguladores del suelo como el sulfato y los nutrientes del suelo como la relación carbono-nitrógeno y carbono total.

El PC3 tiene una correlación positiva con la temperatura (coeficiente=0.537), la relación carbono-nitrógeno (coeficiente=0.473), y negativa con nitrógeno total (coeficiente=-0.441), fósforo total (coeficiente=-0.333) y materia orgánica (coeficiente=-0.258), de tal manera que un aumento de la temperatura involucra un aumento de la relación carbono-nitrógeno y una disminución de nitrógeno total, fósforo total y materia orgánica. Los Sitios 1 y 2 que presentaron el menor contenido de materia orgánica presentaron los menores valores de fósforo total, sin embargo el patrón de la temperatura, la relación carbono-nitrógeno y nitrógeno total no es muy clara.

El análisis de componentes principales mostró dos grupos (Figura 18), el primero conformado por los Sitios 1 y 2 (conservado y con regeneración abundante), y el segundo conformado por los Sitios 3 y 4 (con regeneración escasa y degradado), esto sugiere que hay una relación con la condición ecológica.

Los Sitios 1 y 2 se correlacionaron con las variables : nitrógeno total, carbono total, sulfato, potencial redox y la relación nitrógeno-fósforo, por lo tanto incrementos en estas variables favorecen la salud del manglar (Figura 18).

El otro grupo conformado por los Sitios 3 y 4 (con regeneración escasa y degradado, respectivamente) se correlacionaron con las variables: microtopografía, fósforo total, amonio, relación carbono-nitrógeno, nitrito+nitrato, pH, sulfuro, materia orgánica y fosfatos, altos valores de algunas de estas variables son características de los sitios de manglar degradados como lo son altas concentraciones de amonio, sulfuros y fosfatos (Figura 18).

Los resultados del análisis de componentes principales sugieren que las variables ambientales que definen las diferencias en los sitios de manglar son la relación nitrógeno-fósforo, sulfato, carbono total, potencial redox, amonio, materia orgánica, salinidad, sulfuro, microtopografía, relación carbono-nitrógeno, temperatura, nitrógeno total y fósforo total.

Los resultados mostraron que existió una relación de las variables fisicoquímicas con la condición ecológica del manglar (conservado, con regeneración de manglar abundante, con regeneración de manglar escasa y degradado), estas diferencias se explican principalmente por la hidrología, la microtopografía y la presencia de raíces; que juntas tienen efectos en las condiciones oxidadas y reducidas del suelo y por lo tanto en la disponibilidad de nutrientes. Las condiciones reducidas fueron definidas principalmente por valores de potencial redox negativos y altas concentraciones de sulfuro y amonio, indicando condiciones más reducidas en los Sitios 3 y 4, con valores de potencial redox de -59.5 y -38.5 mV, respectivamente; y condiciones más oxidadas, en los Sitios 1 y 2, con valores de potencial redox de 13.5 y 15.5 mV, respectivamente.

Las condiciones oxidadas y reducidas estuvieron influenciadas por la abundancia de raíces, lo que proporcionó una mayor entrada de oxígeno al suelo a través de los neumatóforos, creando una zona aeróbica en el área adyacente a las raíces (McKee 1996; Pi et al. 2009). Se consideró que los Sitios 1 y 2 (conservado y con regeneración abundante) con mayor densidad de plantas (Figura 20) y mayor biomasa de raíces, proporcionó mayor oxígeno y un ambiente más oxidado en el suelo. Las condiciones menos reducidas cerca de las raíces indicó una relación de la vegetación con las variables fisicoquímicas, especialmente en el potencial redox, el sulfuro y el amonio; como fue el caso de los Sitios 3 y 4 con condiciones más reducidas donde se

Tabla 5. Resultados del Análisis de Componentes Principales (PCA). Se muestran los valores propios, los porcentajes de varianza explicada por cada componente y la contribución de las variables fisicoquímicas.

Componente principal	PC1	PC2	PC3
Valores propios	7.07	2.74	2.21
Porcentaje de varianza explicada	44.2	17.1	13.8
Porcentaje de varianza acumulada explicada por las variables fisicoquímicas	44.2	61.3	75.2
Variables fisicoquímicas			
NO ₂ ⁻ + NO ₃ ⁻	-0.283	0.237	0.054
NH ₄ ⁺	-0.328	0	0.01
PO ₄ ³⁻	-0.272	0.026	0.141
S ²⁻	-0.228	0.327	-0.213
SO ₄ ²⁻	0.291	0.276	0.048
SAL	0.094	0.5	0.051
TEMP	-0.047	0.099	0.537
MO	-0.311	0.121	-0.258
MTP	-0.039	-0.49	-0.159
N _{TOTAL}	0.245	0.063	-0.441
C _{TOTAL}	0.289	-0.282	-0.105
P _{TOTAL}	-0.268	-0.134	-0.333
C:N	-0.081	-0.301	0.473
N:P	0.326	0.137	0.075
pH	-0.285	0.122	0.016
Eh	0.288	0.143	-0.012

Variables: $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ = nitrito + nitrato, NH_4^+ = amonio, PO_4^{3-} = fosfato, S^{2-} = sulfuro, SO_4^{2-} = sulfato, SAL= salinidad, TEMP= temperatura, MO= materia orgánica, MTP= micro topografía, N_{TOTAL} = nitrógeno total, C_{TOTAL} = carbono total, P_{TOTAL} = fósforo total, C: N = relación carbono- nitrógeno, N: P= relación nitrógeno- fósforo, Eh= potencial redox. Nota: Se resaltan los coeficientes de las variables con mayor peso en cada componente.

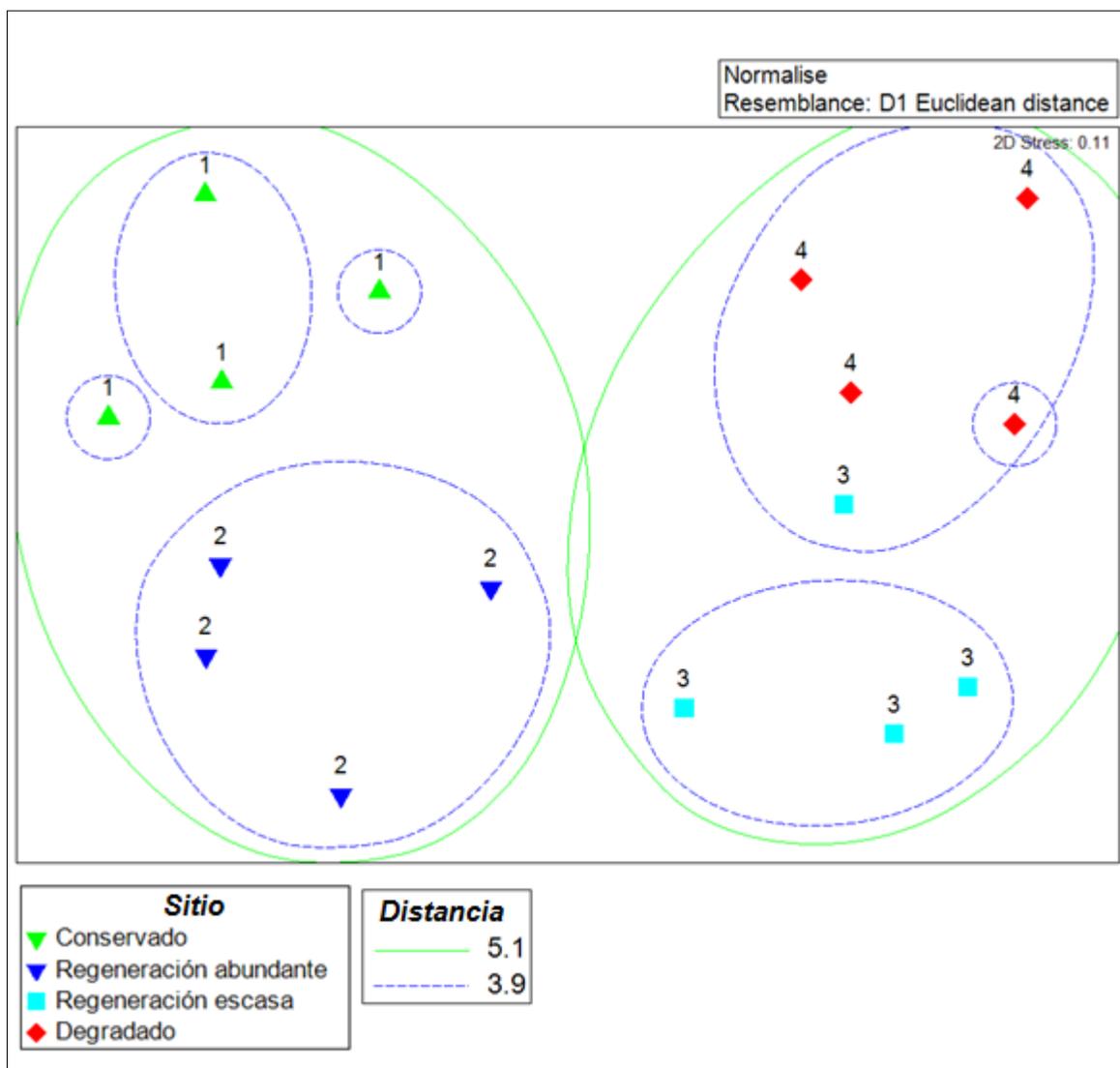


Figura 19. Diagrama de escalamiento multidimensional (MDS).

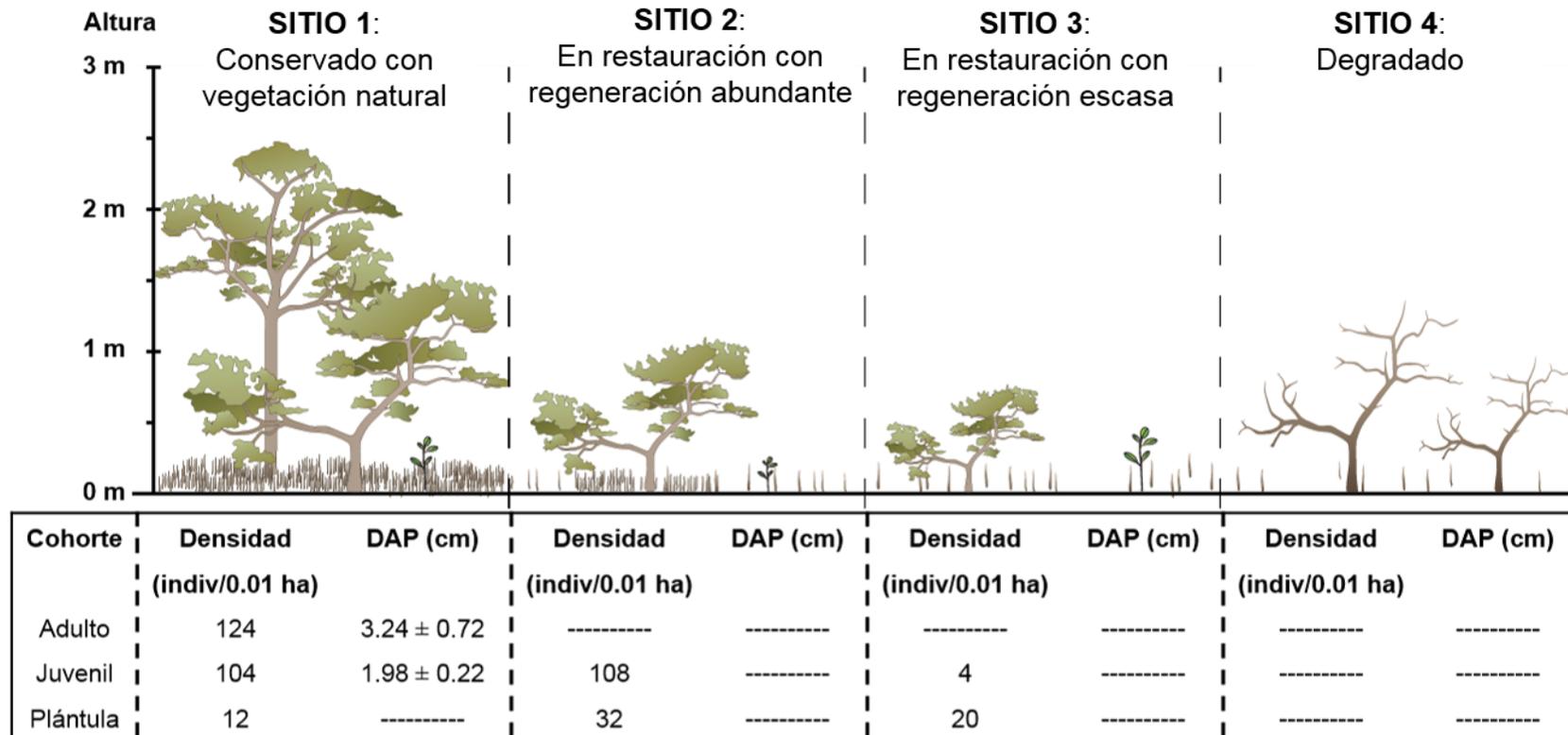


Figura 20. Estructura de los sitios de manglar. DAP (Diámetro a la altura de pecho).

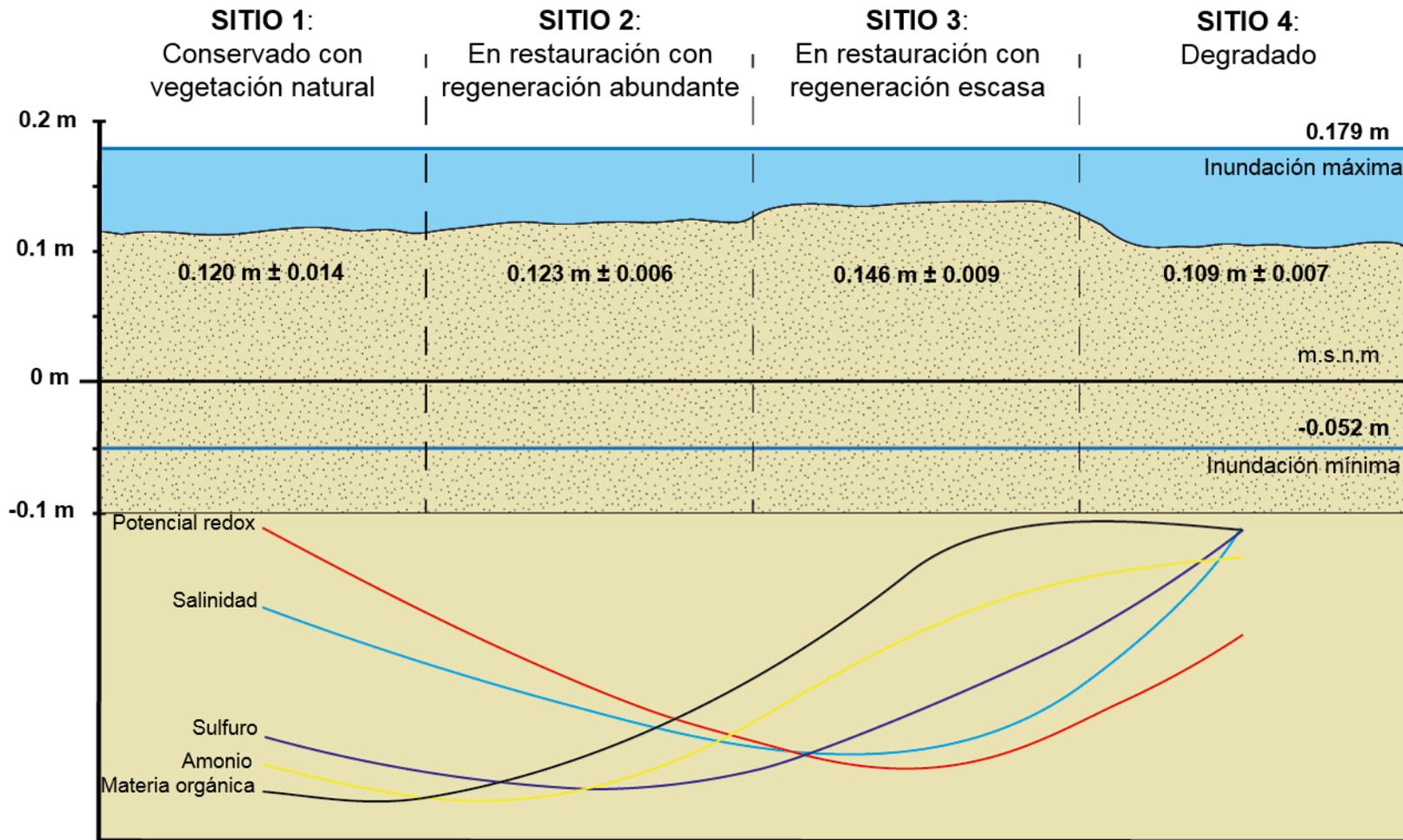


Figura 21. Topografía, niveles de inundación y variables del agua y del suelo.

3.1.3. Caracterización microbiana

3.1.3.1. Composición taxonómica

El análisis del metagenoma permite a partir de la secuenciación de un gen de interés, en este caso del gen 16S ARNr, estudiar la composición de las comunidades de microorganismos presentes en una mezcla compleja (diversidad y abundancia), como en la rizósfera de *Avicennia germinans*.

La secuenciación permitió identificar 332 especies de bacterias pertenecientes a 15 phylum, 28 clases, 64 órdenes, 122 familias y 261 géneros; se identificaron 31 especies de arqueas pertenecientes a 3 phylum, 4 clases, 8 órdenes, 9 familias y 24 géneros; también se identificaron 26 especies de hongos, pertenecientes a 2 phylum, 9 clases, 14 órdenes, 17 familias y 22 géneros.

La Figura 22 muestra la composición de microorganismos (bacterias, arqueas y hongos) por sitio. El número de secuencias de bacterias en orden decreciente en el área de estudio fue el siguiente, en el Sitio 3 se tuvo el valor más alto (33186), seguido del Sitio 2 (31867), después el Sitio 1 (24180) y finalmente, el menor porcentaje correspondió al Sitio 4 (16225). Las arqueas se encontraron en menor proporción que las bacterias, el mayor número de secuencias correspondió al Sitio 4 (15326), seguido del Sitio 2 (11446), el Sitio 1 (1603) y el Sitio 3 (1248). El número de secuencias de hongos fue mayor en el Sitio 2 (4043), seguido del Sitio 4 (1644), Sitio 3 (157) y el menor correspondió al Sitio 1 (25). El número de secuencias no mostró una tendencia con respecto a la condición del manglar. En manglares del Mar Rojo se han registrado de 370 a 2047 secuencias de hongos, un mayor número de secuencias que en los Sitios 1 y 3, y menor que en el Sitio 2 (Simões et al. 2015).

Por otra parte, en las estaciones de muestreo las bacterias constituyeron entre el 48.88 y 95.94 % de la composición taxonómica, mientras que las arqueas representaron del 3.61 al 46.17 % y los hongos del 0.1 a 8.54 %. En un estudio realizado en manglares de Australia se encontró que las bacterias también estaban presentes en proporción de hasta un 91%, asociándose esto con la amplia diversidad bioquímica de estos microorganismos, por ello son los más abundantes. Además, la productividad bacteriana es responsable de la mayor parte del flujo de carbono en sedimentos de manglar de zonas tropicales (Alongi 1988), sin embargo, estudios más recientes han demostrado que los hongos son muy importantes en el ciclo del carbono. Cuando la restauración de la naturaleza progresa, se verán nuevas especies que aparecen, pero los grupos principales de la vida del suelo siguen siendo los mismos y sus vínculos se hacen más fuertes. Aunque las bacterias representan la mayor abundancia, los hongos juegan un papel esencial en el ciclo del carbono; el análisis de carbono-13 (^{13}C), reveló que mientras más avance un sitio hacia la restauración habrá una mayor eficiencia de absorción de carbono y que las interacciones entre los microorganismos se hacen más fuertes (Morriën et al. 2017).

Las bacterias dominantes en el área de estudio fueron Proteobacterias, Firmicutes y Actinobacterias. A nivel de phylum, la comunidad de bacterias en los Sitios 1 y 2 fue dominado por Proteobacteria con un 72.61 y 86.56 %, respectivamente; en tanto que la abundancia de Firmicutes fue de 14.92 y 7.13 %, respectivamente. Los Sitios 3 y 4 fueron dominados por Proteobacteria con un 56.08 y 55.01 %, respectivamente y Actinobacteria con un 20.42 y 17.68 %, respectivamente.

Se encontraron cinco clases de Proteobacterias: Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Deltaproteobacteria, Epsilonproteobacteria y Betaproteobacteria. Se ha sugerido que las proteobacterias juegan un rol importante en los ciclos del nitrógeno, fósforo y azufre en sedimentos del manglar tales como la fijación del nitrógeno, la solubilización del fosfato y la reducción del sulfato (Holguin et al. 2001).

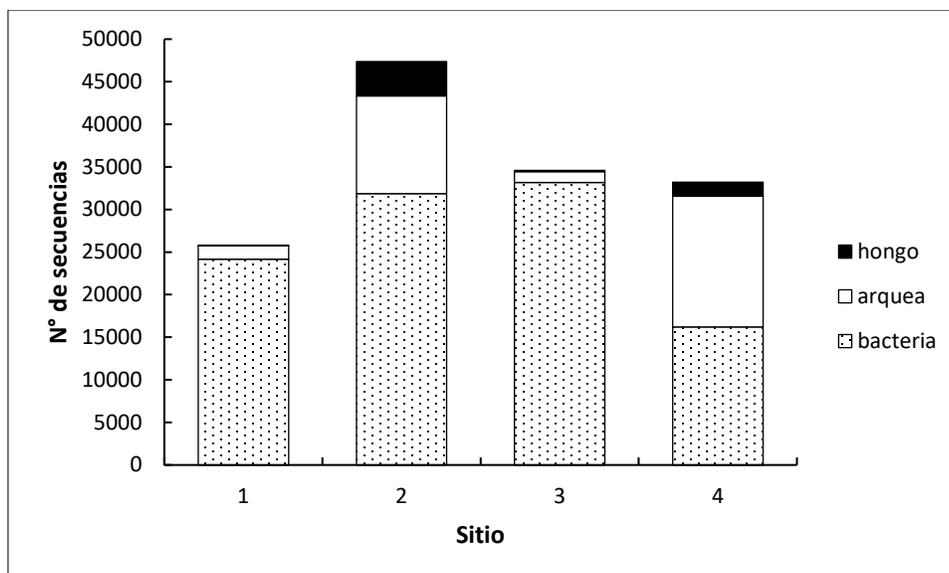


Figura 22. Composición microbiana por sitio.

Las proteobacterias de mayor abundancia reportadas en manglares se encuentran las Gammaproteobacteria, Epsilonproteobacteria y Deltaproteobacteria, donde muchos miembros de la clase Gammaproteobacteria y Deltaproteobacteria se relacionan con el ciclo del azufre (Liang et al. 2007).

El análisis de la estructura de las comunidades bacterianas usando el gen 16S ARNr ha identificado a la proteobacteria, especialmente la alfa, gama y deltaproteobacteria como el grupo dominante en los sedimentos de manglar correspondiendo al 80 % de las secuencias observadas.

Ghosh et al. (2010) identificaron 8 diferentes phylum de bacterias en los sedimentos del manglar, los más abundantes fueron Proteobacteria, Flexibacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Firmicutes, Planctomycetes y Gammatimonadates, el phylum más abundante fue la Proteobacteria, especialmente la gammaproteobacteria. En el sitio de estudio “curva Yucalpetén” se registraron todos los phylum reportados por Ghosh et al. (2010), excepto el phylum Flexibacteria.

El phylum Firmicutes encontrado en el área de estudio, abarcó las clases Bacilli y Clostridia (caracterizados por tener respiración aeróbica y por ser bacilos anaerobios

mayormente Gram positivos, respectivamente). Liang et al. (2007) reporta en otro manglar este phylum en un 4%, menor que lo reportado en este estudio.

Los miembros del phylum Actinobacteria realizan funciones biológicas importantes de degradación de compuestos orgánicos como celulosa (polisacárido estructural en las plantas) que pueden ser aprovechadas por otros organismos, en su mayoría saprófitos. Su crecimiento es mejor en suelos básicos y el aporte de materia orgánica incrementan su población. La acidificación del medio ($\text{pH} < 5$) limita radicalmente su abundancia (Liang et al. 2007). Los Sitios 3 y 4 con mayor materia orgánica y mayor pH presentaron mayor abundancia de Actinobacterias.

La comunidad de arqueas en el Sitio 1 fue dominado por el phylum Crenarchaeota (77.35 %) y Euryarchaeota (14.34 %), en tanto que Thaumarchaeota tuvo la menor abundancia (8.29). El Sitio 2 también fue dominado por Crenarchaeota (71.42 %) y Euryarchaeota (28.56 %) y en menor proporción se encontró Thaumarchaeota (0.01 %). El Sitio 3 fue dominado por Crenarchaeota (73.55 %) y Thaumarchaeota (14.50 %) y Euryarchaeota (11.93 %) tuvo la menor proporción. En el Sitio 4 el phylum dominante fue Crenarchaeota (85.85 %) y Euryarchaeota (17.16 %), el phylum Thaumarchaeota se encontró en un 0.98 %. El phylum dominante del dominio arquea identificado en los sedimentos de manglar ha sido Crenarchaeota, además de Euryarchaeota. Un análisis del gen 16S ARNr del suelo del manglar ubicado en la reserva natural Dongzhaigang, localizada en la isla Hainan, China, reveló que las arqueas encontradas comprenden las divisiones Crenarchaeota (80.4 %) y Euryarchaeota (19.6 %) (Yan et al. 2006). Estas divisiones fueron las más abundantes en los Sitios 1, 2 y 4 del área de estudio. La mayoría de los miembros del phylum Thaumarchaeota descritos hasta ahora son oxidantes del amoníaco (oxidación del amoníaco a nitritos) (Stahl y de la Torre 2012), este phylum aunque en menor proporción, se encuentra en todos los sitios.

La comunidad de hongos fue dominada por el phylum Ascomycota en todos los sitios. En el Sitio 1 se encontró en un 84 %, en el Sitio 2 en un 99.38 %, en el Sitio 3 en un 78.34 % y en el Sitio 4 en un 97.26 %. El segundo phylum de hongos registrado fue Basidiomycota, encontrándose en los Sitios 1, 2, 3 y 4 en un 16 %, 0.61 %, 21.65 % y

2.73 %, respectivamente. En manglares del Mar Rojo se encontró que el phylum de mayor abundancia era Ascomycota (76-85 %), mientras que Basidiomycota fue el de menor abundancia (14-24 %) (Simões et al. 2015).

3.1.3.1.1. *Especies de mayor abundancia*

El análisis de secuenciación permitió conocer cuáles son las especies de bacterias, arqueas y hongos presentes en cada uno de los sitios, y en qué proporciones se encontraban. Las Tablas 7, 8 y 9 presentan las especies de bacterias, arqueas y hongos de mayor abundancia encontrados en los sitios.

La bacteria de mayor abundancia en el Sitio 1 (conservado) fue *Halomonas aquamarina* en un 25.89 %, en el Sitio 2 (regeneración abundante) fue *Halomonas sp.* en un 69.60 %. *Halomonas aquamarina* y *Halomonas sp.* son proteobacterias, pertenecen a la clase Gammaproteobacteria, orden Oceanospirillales, familia Halomonadaceae. Las bacterias pertenecientes al orden Oceanospirillales son muy diversas en su fisiología y su ecología, algunos miembros de este grupo son importantes en el ciclo del azufre (Munn 2011). La familia Halomonadaceae consiste en su mayoría en microorganismos marinos y moderadamente halofílicos (Dworkin et al. 2006). *Halomonas sp.* y en general el género, presentan como rasgo distintivo el carácter halotolerante y alcalófilo (Ordoñez, et al. 2009) y tiene la capacidad de producir ácido 3- indol acético (AIA), relacionada con la estimulación del crecimiento vegetal (Gómez Gómez et al. 2012), esta bacteria también se encontró en el Sitio 1 en un 9.25 %, en un 2.51 % en el Sitio 3 y en un 1.38 % en el Sitio 4. En el Sitio 3 y 4 (regeneración escasa de manglar y degradado) la bacteria más abundante no está clasificada pero pertenece al phylum actinobacteria, las abundancias fueron de 16.42 y 13.03 %, respectivamente (Tabla 6).

Tabla 6. Abundancia relativa de bacterias. Número de secuencias totales en cada sitio: 1= 24180, 2=31867, 3= 33186, 4=16225; AR= abundancia relativa, BNC= bacteria no clasificada, NE= no encontrada.

Sitio	1	2	3	4
Especie	AR (%)	AR (%)	AR (%)	AR (%)
<i>Acinetobacter sp.</i>	<1	<1	1.45	<1
<i>Actinomadura sp.</i>	<1	<1	<1	1.64
<i>Alkalibacterium putridalgalicola</i>	<1	1.46	<1	NE
<i>Alkalibacterium sp.</i>	1.63	2.16	<1	NE
<i>Amphibacillus sp.</i>	5.09	2.90	<1	NE
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	1.04	<1	3.31	4.30
<i>Gracilimonas sp.</i>	<1	<1	<1	2.26
<i>Halomonas aquamarina</i>	25.89	8.95	1.46	<1
<i>Halomonas gomseomensis</i>	<1	<1	1.26	NE
<i>Halomonas sp.</i>	9.25	69.60	2.51	1.38
<i>Idiomarina sp.</i>	3.39	1.15	9.37	1.41
<i>Marinimicrobium sp.</i>	<1	NE	1.13	<1
<i>Marinobacter sp.</i>	5.31	2.00	4.29	9.82
<i>Marinomonas ostreistagni</i>	1.59	<1	<1	<1
<i>Micrococcus luteus</i>	<1	<1	1.04	<1
<i>Nitrospira sp.</i>	<1	<1	1.58	<1
<i>Oceanospirillum linum</i>	1.79	<1	NE	NE
<i>Planococcus sp.</i>	1.41	<1	<1	NE
<i>Planomicrobium sp.</i>	3.97	<1	<1	<1
<i>Pseudoalteromonas sp.</i>	1.63	NE	<1	<1
<i>Psychrobacter sp.</i>	8.32	<1	<1	<1
<i>Reinekea aestuarii</i>	1.08	<1	<1	<1
<i>Salegentibacter mishustinae</i>	1.04	2.12	<1	<1
BNC 8	4.09	1.13	16.42	13.03
BNC 14	<1	<1	<1	1.26
BNC 22	<1	<1	1.73	<1
BNC 24	<1	<1	1.74	1.92
BNC 36	<1	<1	1.61	1.13
BNC 38	<1	<1	1.92	2.17
BNC 42	1.01	<1	4.03	4.43
BNC 45	<1	<1	<1	1.82
BNC 46	<1	<1	3.00	2.26
BNC 48	2.24	<1	<1	1.10
BNC 49	<1	<1	1.71	1.79

BNC 53	<1	<1	2.58	4.52
BNC 55	<1	<1	<1	1.86
BNC56	<1	<1	1.26	1.97
BNC 57	<1	<1	1.51	1.35
BNC 58	2.79	1.39	7.53	8.06
Menores del 1 %	17.46	7.15	27.56	30.51

La especie de arqueas de mayor abundancia en todos los sitios fue *Desulfurococcus sp.*, perteneciente al phylum Crenarchaeota, con un porcentaje de 77.35, 71.42, 73.56 y 81.85 % en los Sitios 1, 2, 3 y 4, respectivamente (Tabla 7). La especie *Desulfurococcus sp.* es una sulfato reductora, utiliza sulfato u otros compuestos oxidados de azufre como aceptor final de electrones para la producción de H₂S. *Desulfurococcus sp.* es uno de los principales descomponedores en suelos de manglar (Kathiresan y Bingham 2001).

En los Sitios 1 y 2, la especie de hongo de mayor abundancia fue *Cladosporium cladosporioides* con un 48 y 96.02 %, respectivamente; en el Sitio 3 el de mayor abundancia fue *Aspergillus penicillioides* en un 29.94 % y en el Sitio 4 el de mayor abundancia fue *Hypocreales sp.* en un 78.41 % (Tabla 8); todas las especies encontradas son saprófitas y pertenecen al phylum Ascomycota.

Tabla 7. Abundancia relativa de arqueas. Número de secuencias totales en cada sitio: 1=1603, 2=11446, 3=1248, 4=15326; AR= abundancia relativa, NE= no encontrada.

Sitio	1	2	3	4
Especie	AR (%)	AR (%)	AR (%)	AR (%)
<i>Desulfurococcus sp.</i>	77.35	71.42	73.56	81.85
<i>Halogeometricum sp.</i>	<1	1.04	NE	<1
<i>Halogramum amylolyticum</i>	1.06	NE	NE	<1
<i>Haloplanus sp.</i>	NE	1.19	NE	NE
<i>Halorhabdus sp.</i>	2.93	4.59	3.13	2.77
<i>Methanolobus sp.</i>	2.87	NE	<1	2.64
<i>Methanosphaera sp.</i>	4.18	21.51	7.13	7.31
<i>Nitrososphaera viennensis</i>	8.30	NE	14.18	<1
Menores del 1 %	3.31	0.25	2.00	5.44

Tabla 8. Abundancia relativa de hongos. Número de secuencias totales en cada sitio: 1=25, 2=4043, 3=157, 4=1644; AR= abundancia relativa, NE= no encontrada.

Sitio	1	2	3	4
Especie	AR (%)	AR (%)	AR (%)	AR (%)
<i>Aspergillus gracilis</i>	NE	NE	8.28	<1
<i>Aspergillus penicillioides</i>	24	NE	29.94	1.64
<i>Aspergillus vitricola</i>	NE	NE	8.92	NE
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	48	96.02	7.64	NE
<i>Cladosporium sp.</i>	NE	2.92	NE	2.43
<i>Devriesia xanthorrhoeae</i>	NE	NE	NE	1.03
<i>Eurotium rubrum</i>	NE	NE	13.38	NE
<i>Fusarium solani</i>	NE	NE	NE	2.80
<i>Fusarium sp.</i>	NE	NE	NE	1.70
<i>Gloeophyllum striatum</i>	NE	NE	5.10	NE
<i>Hypocreales sp.</i>	12	NE	NE	78.41
<i>Malassezia restricta</i>	16	<1	13.38	1.82
<i>Nigrospora sp.</i>	NE	NE	NE	2.74
<i>Pestalotiopsis aff palmarum</i>	NE	NE	10.19	NE
<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	NE	NE	3.18	2.92
<i>Teratosphaeria bellula</i>	NE	NE	NE	2.91
Menores del 1 %	NE	1.06	NE	4.50

3.1.3.2. Medidas de diversidad

Debido a que la mayoría de los procesos que lideran la descomposición y reciclaje de nutrientes residen en la capacidad metabólica de los microorganismos presentes en el suelo, la biodiversidad microbiana y su abundancia se consideran como factores críticos en el mantenimiento de los ecosistemas (Dubey et al. 2006).

El número de especies permite obtener información rápida y sencilla de la diversidad (Magurran 1988). En la Tabla 9 se presentan los valores de diversidad obtenidos en el área de estudio. El número de especies es conocido como riqueza específica (S). La mayor riqueza específica de bacterias se encontró en el Sitio 3 (290 especies), la menor en el Sitio 2 (163 especies) y en los Sitios 1 y 4 se encontraron 230 y 255 especies, respectivamente. La riqueza específica muestra una tendencia en relación a la condición ecológica del manglar; mayor riqueza en los Sitios 3 y 4 (manglar con regeneración escasa y degradado) y la menor en los Sitios 1 y 2 (conservado y manglar

con regeneración abundante), Basak et al. (2015) reportan que en manglares de la India se encontraron 56547 especies de bacterias pertenecientes a 44 Phylum diferentes, esta riqueza es mucho mayor que la encontrada en los cuatro sitios en estudio, donde se registraron 332 especies de bacterias pertenecientes a 15 phylum.

La mayor riqueza específica de arqueas se encontró en el Sitio 4 (30 especies), la menor en el Sitio 2 (8 especies) y en los Sitios 1 y 3 se encontraron 14 y 11 especies, respectivamente; no se observó un patrón con respecto a la condición del manglar (Tabla 9).

La mayor riqueza específica de hongos se encontró en el Sitio 4 (19 especies), la menor en el Sitio 1 (4 especies) y en los Sitios 2 y 3 se encontraron 5 y 9 especies, respectivamente (Tabla 9), en total, se registraron 26 especies de hongos en los cuatro sitios. En comparación con otros sitios, el número de especies encontradas en el área de estudio fue bajo, en manglares de Mar Rojo. Simões et al. 2015 encontraron entre 12 y 91 especies de hongos en distintos sitios, con un total de 145 especies diferentes. La riqueza específica mostró una tendencia inversa en relación a la condición ecológica, los Sitios 1 y 2 tuvieron una menor riqueza y correspondieron a las condiciones conservado y con regeneración abundante, respectivamente. Los Sitios 3 y 4 mostraron mayor riqueza y correspondieron a manglares con regeneración escasa y degradado, respectivamente.

En la Tabla 9, se presenta el número de secuencias totales (Total de individuos) de bacterias, arqueas y hongos, como una medida de abundancia (Ver sección 3.1.3.1). No se observó una tendencia con respecto a la condición ecológica del manglar.

Otro índice de diversidad es el índice de Shannon-Wiener (H'), este índice se ha calculado en muchos estudios ecológicos, los cuales muestran que H' generalmente varía entre 1.5 y 3.5 y que raramente pasa de 4.5 (Magurran 1988). Los valores más bajos indican menor diversidad y los más altos mayor diversidad, en general valores inferiores a 2 se consideran bajos y superiores a 3 son altos, el valor máximo que puede expresar este índice es de 5.0 (Krebs 1999). Los resultados obtenidos a partir de este índice mostraron que el valor más alto de diversidad en bacterias correspondió al Sitio 4 (3.92), los valores intermedios de este índice correspondieron a los Sitios 1 y

3 (3.24 y 3.84, respectivamente). El valor más bajo correspondió al Sitio 2 con 1.53 (Tabla 10); por tanto, se considera que los Sitios 1, 3 y 4 tuvieron una diversidad alta, mientras que el Sitio 2 tuvo una diversidad baja. La diversidad de bacterias mostró una tendencia con respecto a la condición ecológica del manglar; en general, los Sitios 1 y 2 (conservado y manglar con regeneración abundante) tuvieron menor diversidad que los Sitios 3 y 4 (con regeneración escasa y degradado), esto coincide con el llamado “efecto rizósfera” en el cual la diversidad en la rizósfera es reducida pero se incrementa la abundancia de algunas bacterias especializadas (Campbell et al. 2006).

El valor más alto del índice de Shannon-Wiener para arqueas se presentó en el Sitio 1 (0.96) y el más bajo para el Sitio 2 (0.82). Los índices para los Sitios 3 y 4 fueron 0.91 y 0.86, respectivamente; puesto que los valores de diversidad se encontraron por debajo de 2, se considera que toda el área de estudio tuvo baja diversidad.

En cuanto a los hongos, el Sitio 3 presentó el valor más alto del índice de Shannon-Wiener (2.01) y el más bajo correspondió al Sitio 2 (0.20). Los índices para los Sitios 1 y 4 fueron 2.01 y 1.08, respectivamente. Todos los sitios presentaron baja diversidad de hongos. No existió una relación de la diversidad de hongos con la condición ecológica del manglar.

Otro de los índices reportados es el índice de Simpson, a partir de este índice se calculó el valor de D (Ver sección 2.4). Para una riqueza dada, D aumenta con la equidad, y para una equidad dada, D se incrementa con la riqueza. Los resultados obtenidos a partir del índice de Simpson mostraron que el valor más alto de diversidad para bacterias se presentó en el Sitio 4 (0.95) y el menor en el Sitio 2 (0.50), los valores intermedios correspondieron a los Sitios 1 y 3 con 0.90 y 0.94, respectivamente. La diversidad fue alta para los Sitios 1, 3 y 4, puesto que fue cercana a 1. Se observó una tendencia con respecto a la condición del manglar, similar a la tendencia del índice de Shannon-Wiener.

En cuanto a arqueas la mayor diversidad se presentó en el Sitio 2 (0.44), y la menor en el Sitio 4 (0.32), los valores intermedios correspondieron a los Sitios 1 y 3 con 0.39 y 0.43, respectivamente. Los valores de diversidad se consideraron bajos, no se observó una tendencia con respecto a la condición ecológica del manglar.

Tabla 9. Índices de diversidad de bacterias, arqueas y hongos.

	Sitio	Riqueza específica (S)	Total de individuos (N)	Índice de Shannon-Wiener (H')	Índice de Simpson (D)
Bacterias	1	230	24180	3.24	0.90
	2	163	31867	1.53	0.50
	3	290	33186	3.84	0.94
	4	255	16225	3.92	0.95
Arqueas	1	14	1603	0.96	0.39
	2	8	11446	0.82	0.44
	3	11	1248	0.91	0.43
	4	30	15326	0.86	0.32
Hongos	1	4	25	1.24	0.67
	2	5	4043	0.20	0.07
	3	9	157	2.01	0.84
	4	19	1644	1.08	0.38

El valor más alto del índice de Simpson para los hongos se registró en el Sitio 3 (0.84) y el valor más bajo para el Sitio 2 (0.07). Los valores intermedios se registraron en los Sitios 1 y 4 con 0.67 y 0.38, respectivamente. La diversidad en los Sitios 1 y 3 es alta, mientras que en los Sitios 2 y 4 es baja. En manglares de la India Simões et al. (2015), reportaron que los índices de Simpson para hongos (D) fue de 0.02 a 0.14, mucho más baja que la encontrada en el área de estudio; sin embargo, la riqueza fue más alta. La diversidad de hongos no presentó una relación con la condición ecológica del manglar.

Análisis SIMPER (similitud de porcentajes)

Los resultados obtenidos del análisis SIMPER para determinar la similitud/disimilitud se muestran en la Tabla 10. Las especies que más contribuyeron a la similitud/disimilitud se encuentran en el Apéndice C.

Las disimilitudes en cuanto a la composición de bacterias entre sitios se encontraron en un intervalo de 42.12 a 85.47 %. Los sitios más similares (menor disimilitud) fueron

el 3 y el 4, los sitios menos similares fueron el 2 y el 3, seguido de los Sitios 2 y 4 con un 84.69 % de disimilitud.

Las disimilitudes en cuanto a la composición de arqueas entre sitios se encontró en un intervalo de 18.27 a 85.82 %. La menor disimilitud se encontró entre los Sitios 1 y 3, y la máxima entre los Sitios 3 y 4.

El análisis reveló grandes diferencias en cuanto a la composición de hongos entre sitios, las diferencias estuvieron en un intervalo de 75.82 a 99.21 %. La menor disimilitud se encontró entre los Sitios 1 y 3 y la mayor entre los Sitios 1 y 2.

El análisis SIMPER no mostró un patrón definido en cuanto a la relación de los microorganismos con la condición ecológica del manglar. En general en cuanto a la composición de bacterias los Sitios 3 y 4 fueron más similares y en cuanto a arqueas y hongos los Sitios 1 y 3 fueron más similares.

Tabla 10. Resultados del análisis SIMPER. Se muestran los porcentajes de disimilitud entre sitios.

	Sitios	Disimilitud entre sitios (%)
Bacterias	1 y 2	62.17
	1 y 3	69.39
	2 y 3	85.47
	1 y 4	63.77
	2 y 4	84.69
	3 y 4	42.12
Arqueas	1 y 2	79.16
	1 y 3	18.27
	2 y 3	83.5
	1 y 4	81.52
	2 y 4	26.7
	3 y 4	85.82

Hongos	1 y 2	99.21
	1 y 3	75.82
	2 y 3	99
	1 y 4	98.44
	2 y 4	98.03
	3 y 4	94.34

Análisis Multidimensional (MDS)

Las Figuras 23, 24 y 25 muestran la similitud de los sitios considerando la composición de bacterias, arqueas y hongos. En cuanto a las bacterias, los Sitios 3 y 4 son similares en un 50 % y los Sitios 1 y 2, se encuentran separados; todos los sitios son similares entre sí en un 20 % (Figura 23). Estos resultados coinciden con el análisis SIMPER que muestra que los sitios con menor disimilitud, es decir con mayor similitud, fueron los Sitios 3 y 4 (42 % de disimilitud), y los Sitios 1 y 2 se encuentran más separados debido a que su disimilitud es del 62.17 %.

El diagrama MDS considerando a las arqueas muestra que los Sitios 1 y 3 son similares en un 70 %, al igual que los Sitios 2 y 4. Todos los sitios son similares en un 15 % (Figura 24). Se puede observar que los Sitios 1 y 3 se encuentran más cerca que los Sitios 2 y 4, esto se debe a que los Sitios 1 y 3 fueron más similares (18.27 % de disimilitud) y los Sitios 2 y 4 son menos similares con un 26.7 % de disimilitud.

En cuanto a la similitud considerando a los hongos, los Sitios 1 y 3 fueron similares en un 20 % y los Sitios 2 y 4 se encuentran separados, esto es porque tienen una disimilitud del 98.03 % (Figura 25).

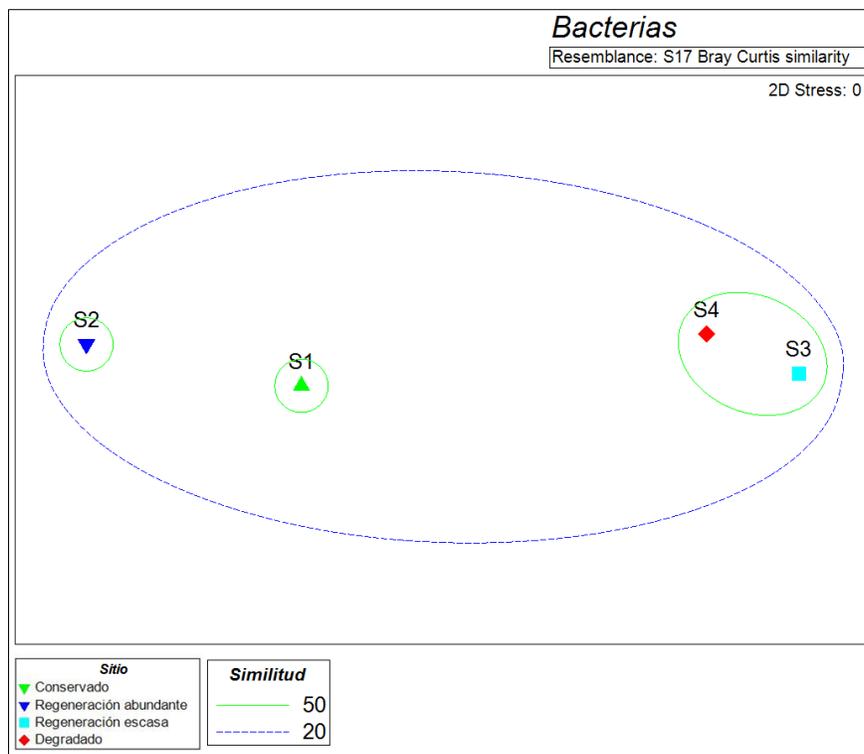


Figura 23. Diagrama de escalamiento multidimensional (MDS) para bacterias.

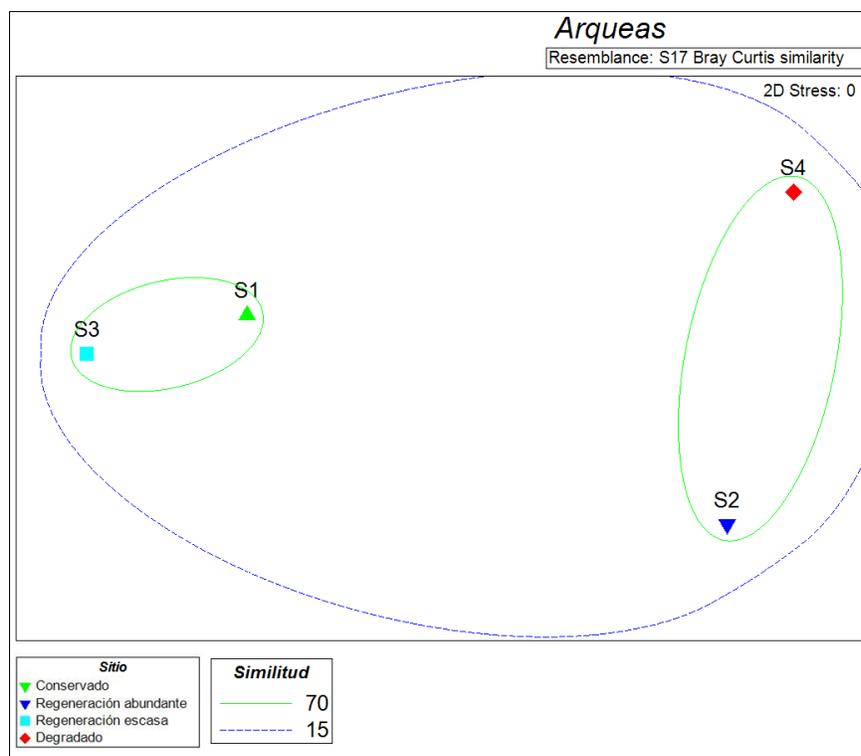


Figura 24. Diagrama de escalamiento multidimensional (MDS) para arqueas.

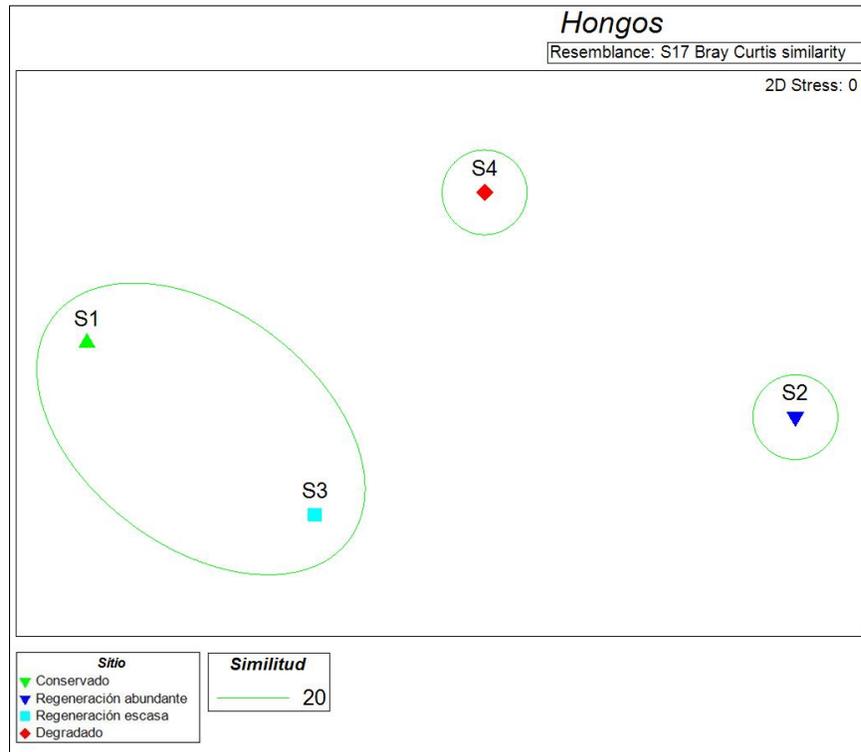


Figura 25. Diagrama de escalamiento multidimensional (MDS) para hongos.

3.1.3.3. *Metabolismo microbiano*

A pesar de la alta productividad, los ecosistemas de manglares son limitados en nutrientes, especialmente en nitrógeno y fósforo (Alongi et al. 2002; Holguin et al. 2001). El fósforo en el suelo se encuentra principalmente como fósforo mineral o fósforo orgánico que es insoluble y no está disponible para las plantas. Los microorganismos, tanto las bacterias como los hongos, juegan un papel central en el ciclo natural del fósforo y convierten las formas insolubles de fósforo en una forma accesible, importante para el crecimiento y la supervivencia de las plantas.

Las bacterias solubilizadoras de fosfato estuvieron presentes en todos los sitios, se observó crecimiento abundante en las cajas Petri, se identificó la misma bacteria solubilizadora en el área de estudio (misma morfología). También se encontraron hongos solubilizadores con distinta morfología en todos los sitios (Figura 26). En la

Tabla 12 se muestran los resultados obtenidos del conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias y hongos solubilizadores de fosfato. Los valores de las UFC de bacterias se encontraron entre 18300 y 66200 UFC/g de suelo, siendo el Sitio 3 el que registró el mayor número de UFC. Las UFC de hongos fueron de 1000 a 3000 UFC/g de suelo, siendo 1000 para los Sitios 1, 2 y 4.

En cuanto a la fijación de nitrógeno se observó crecimiento en todos los sitios. El mayor número de UFC se registró para el Sitio 2 con 20000 UFC/g de suelo y el menor, para el Sitio 1 con 1000 UFC/g de suelo (Tabla 12). Se observó que las bacterias que crecieron en el medio ASHBY pueden solubilizar hasta 50 mg/l de nitrógeno en 15 días, esto se probó cuantificando la solubilización de 10 bacterias en medio líquido donde solamente un tipo de bacteria encontrada en el Sitio 3 no fijó el nitrógeno (Figura 28).

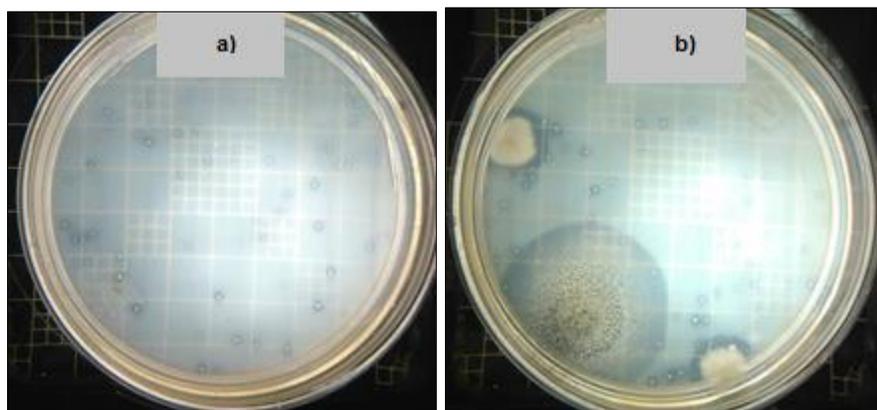


Figura 26. Bacterias y hongos solubilizadores de fosfato: a) bacterias y b) hongos. Se observan halos transparentes alrededor de las colonias como evidencia de la solubilización de fosfato.

Tabla 11. Unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias y hongos solubilizadores de fosfato.

SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO		
UFC/ g de suelo		
SITIO	Bacterias	Hongos
1	19300	1000
2	33500	1000
3	66200	3000
4	18300	1000



Figura 27. Bacterias fijadoras de nitrógeno que se desarrollaron en el medio ASHBY.

Tabla 12. Unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias fijadoras de nitrógeno.

BACTERIAS FIJADORAS DE NITRÓGENO	
SITIO	UFC /g suelo
1	1000
2	20000
3	2000
4	13000

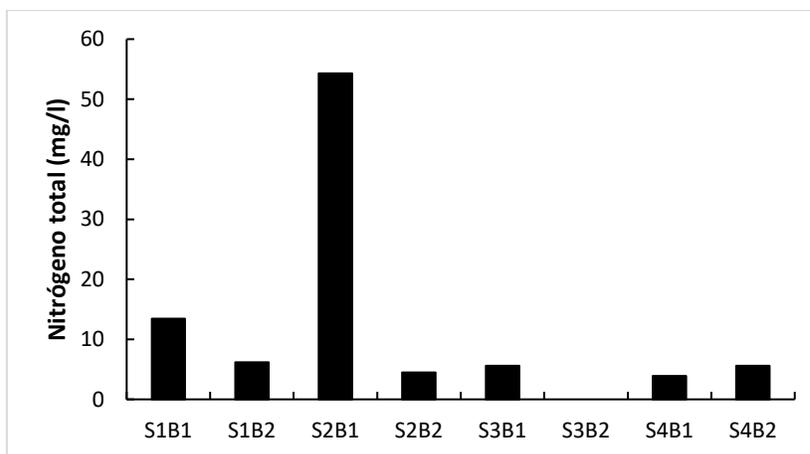


Figura 28. Nitrógeno total solubilizado por bacterias que crecieron en el medio ASHBY. S: sitio, B1: bacteria 1, B2: bacteria 2.

La secuenciación del gen 16S ARNr reveló varias especies microbianas que colonizan los sitios de manglar en estudio, que son conocidos por su importancia en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno y fósforo.

Se ha reportado que las bacterias fijadoras del nitrógeno abarcan miembros de Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria y Firmicutes (Franco Dias et al. 2012). Entre las bacterias fijadoras de nitrógeno se registraron las especies *Aeromonas hydrophila*, *Arthrobacter psychrochitiniphilus*, *Azospirillum spp.*, *Bacillus spp.*, *Clostridium sp.*, *Klebsiella sp.*, *Paracoccus homiensis*, *Paracoccus sp.*, *Rhizobium spp.* y *Vibrio sp.* (Tabla 13). Las variables ambientales como el pH, la salinidad, el amonio, el oxígeno y sulfuros inhiben las tasas de fijación de nitrógeno. Valores de pH y salinidades alto son supresores importantes de la actividad nitrogenasa, un estudio acerca de la actividad fijadora de manglares en distintos tipos de manglar mostró que cuando el pH y la salinidad son altas la fijación de nitrógeno es muy baja. Se ha encontrado que las tasas de fijación de nitrógeno en manglares conservados y reforestados son de siete a ocho veces mayores que en manglares deteriorados (Vovides et al. 2010).

El papel de los microorganismos solubilizadores de fosfatos es de suma importancia ya que disuelven formas de fosfato que se encuentran inmobilizadas por cationes de calcio, hierro y aluminio, liberándolas en solución y permitiendo su asimilación por

parte de las plantas. Entre las especies solubilizadores de fosfato inorgánico se encontraron *Bacillus amyloliquefaciens*, *Desulfovibrio sp*, *Paenibacillus polymyxa*, *Paenibacillus sp*, *Desulfurococcus sp* (Vázquez et al. 2000).

Tabla 13. Microorganismos fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fosfato.

Especie	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Función
Bacterias					
<i>Aeromonas hydrophila</i>	X	X	X	X	Fijación de nitrógeno
<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i>	-----	-----	X	-----	Fijación de nitrógeno
<i>Azospirillum spp.</i>	-----	-----	X	-----	Fijación de nitrógeno y modulador de estrés
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	X	-----	X	X	Solubilización de fosfato inorgánico
<i>Bacillus spp.</i>	X	X	X	X	Fijación de nitrógeno y modulador de estrés
<i>Clostridium sp.</i>	X	X	X	X	Fijación de nitrógeno
<i>Desulfosarcina sp.</i>	X	X	X	X	Mineralización del azufre, disponibilidad de hierro y fósforo, descomposición de materia orgánica
<i>Desulfovibrio sp.</i>	X	-----	X	X	Mineralización del azufre, disponibilidad de hierro y fósforo, descomposición de materia orgánica
<i>Klebsiella sp.</i>	-----	-----	X	X	Fijación de nitrógeno
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	-----	X	X	-----	Solubilización de fosfato inorgánico
<i>Paenibacillus sp.</i>	X	X	X	-----	Solubilización de fosfato inorgánico
<i>Paracoccus homiensis</i>	X	-----	X	X	Fijación de nitrógeno
<i>Paracoccus sp.</i>	X	-----	X	X	Fijación de nitrógeno
<i>Rhizobium spp.</i>	X	X	-----	X	Fijación de nitrógeno y modulador de estrés
<i>Vibrio sp.</i>	X	X	-----	X	Fijación de nitrógeno
Arqueas					
<i>Desulfurococcus sp.</i>	X	X	X	X	Mineralización del azufre, disponibilidad de hierro y fósforo, descomposición de materia orgánica

CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES

Los manglares mostraron dos grupos de condición ecológica: el primero a una condición conservada con la presencia de árboles adultos de *Avicennia germinans* y con alta regeneración de plántulas y juveniles (estado avanzado de restauración); por otra parte, un segundo grupo conformado por sitios de manglar con condición de escasa regeneración a degradado en donde la presencia de individuos de *A. germinans* fue escasa o nula. Las características biogeoquímicas en el suelo también fueron diferenciales entre la condición ecológica de los manglares. La materia orgánica, salinidad del suelo, concentración de amonio, sulfuro y potencial redox fueron las variables que mejor definieron a cada condición del manglar.

La riqueza y abundancia de organismos asociados a la rizósfera de *A. germinans* fue de 332 especies de bacterias, 31 especies de arqueas y 26 especies de hongos. Las bacterias dominantes en el área de estudio fueron Proteobacterias, Firmicutes y Actinobacterias. Por su parte las Arqueas dominantes en el suelo del manglar fueron la Crenarchaeota y Euryarchaeota. Por último la comunidad de hongos fue dominada por el phylum Ascomycota.

La riqueza específica de bacterias y hongos en relación a la condición ecológica del manglar, fue mayor en los sitios con regeneración escasa y degradado; en el caso de la riqueza de arqueas no se observó ningún patrón. Las bacterias de mayor abundancia en el Sitio conservado y con regeneración abundante fueron *Halomonas aquamarina* y *Halomonas sp.*, respectivamente. El arquea de mayor abundancia en todos los sitios fue *Desulfurococcus sp.* Estas especies son de importancia en el ciclo del azufre. El hongo de mayor abundancia fue *Cladosporium cladosporioides* en la condición conservada y para los degradados *Aspergillus penicillioides* y *Hypocreales sp.*, estas especies son saprófitas e intervienen en la descomposición de la materia orgánica.

La diversidad de bacterias depende de la condición ecológica; los sitios conservados y con regeneración abundante tuvieron menor diversidad. Las arqueas y los hongos fueron los menos diversos y no hubo evidencia suficiente de una relación con la condición ecológica del manglar.

Las bacterias solubilizadoras de fosfato estuvieron presentes en todos los sitios y tuvieron la misma morfología (análisis visual de la colonia) entre condición ecológica, en contraste con los hongos solubilizadores sí se observó distinta morfología en relación con el estado ecológico. La densidad poblacional (UFC/g) de bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos solubilizadores de fosfato fueron indistinta entre la condición ecológica del manglar. La secuenciación del gen 16S ARNr reveló varias especies microbianas que colonizan los sitios de manglar en estudio, que son conocidos por su importancia en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno y fósforo.

Con este trabajo se logró evaluar la diversidad, abundancia y metabolismo de los microorganismos presentes en la rizósfera de *Avicennia germinans*, observándose una relación entre los microorganismos y la condición ecológica, asociada con las variables fisicoquímicas del agua y del suelo, cumpliéndose con el objetivo general propuesto.

Las acciones de restauración hidrológica aplicadas previamente al área de estudio contribuyeron a mejorar la condición ecológica de los sitios que actualmente se encuentran con regeneración abundante y con regeneración escasa. La comparación de los cuatro sitios mostró que la condición ecológica influyó en la composición microbiana de los sitios y en las características fisicoquímicas del suelo. Los resultados de la presente investigación son importantes debido a que constituyen un aporte a la información referente a la comunidad microbiana en manglares y su relación con el grado de perturbación y su restauración. La recuperación de la estructura microbiana en manglares sometidos a restauración son una señal de la recuperación hidrológica y biogeoquímica en manglares del norte de Yucatán.

RECOMENDACIONES

Al evaluar el perfil microbiano de los sitios con diferente estado ecológico, podemos hacer las siguientes recomendaciones:

1. Aplicar la técnica de secuenciación del gen ARNr, debido a la ventaja que tiene ante el descubrimiento de microorganismos que no pueden ser cultivados mediante métodos tradicionales como el cultivo en placa.
2. Realizar una secuenciación completa de ADN que permita identificar genes específicos de cada una de las especies, para establecer cuál es la función específica de los microorganismos.
3. Aumentar el número de muestras de suelo para realizar la secuenciación de ADN, con el propósito de realizar análisis que permitan relacionar cada una de las variables del suelo y de la hidrología con la diversidad, riqueza y abundancia de los microorganismos.
4. Realizar estudios en el mismo sitio en la época de secas, lluvias y nortes para establecer la variación en el tiempo y de las inundaciones, con el estudio en manglares con diferente condición ecológica, porque ofrecen unas condiciones ambientales especiales y podrían ahondar en la comprensión de su dinámica.

REFERENCIAS

- Agráz-Hernández C., Noriega-Trejo R., López-Portillo J., Flores-Verdugo F. J., Jiménez-Zacarías J. J. (2006). Guía de Campo. Identificación de los Manglares en México, Universidad Autónoma de Campeche.
- Agraz-Hernández C., Osti-Sáenz J., García-Zaragoza C., Chan-Keb C., Chan Canul E., Arana-Lezama R., Torenato-Hidalgo M. (2010). Estrategias de Restauración de Ecosistemas de Manglar en México. "JAINA", 21 (2).
- Alexander M. (1980). Introducción a la microbiología del suelo, 2ª edición, AGT, México.
- Alongi D. M. (1994). The role of bacteria in nutrient recycling in tropical mangrove and other coastal benthic ecosystems. "Hydrobiologia", 285, 19-32.
- Alongi D. M. (2009). Paradigm shifts in mangrove biology. En "Coastal Wetlands: An Integrated Ecosystem Approach", Perillo G., Wolanski E., Cahoon D., Brinson M. (Eds.), London, Elsevier.
- Alongi D. M., Trott L. A., Wattayakorn G., Clough B. F. (2002). Below-ground nitrogen cycling in relation to net canopy production in mangrove forests of southern Thailand. "Marine Biology", 140, 855-864.
- Alongi D., Chiristoffersen M. P., Tirendi F. (1993). The influence of forest type on microbial-nutrient relationships in tropical mangrove sediments. "Journal of Experimental Marine Biology and Ecology", 171, 201-223.
- Alongi D.M. (1988). Bacterial productivity and microbial biomass in tropical mangrove sediments. "Microbial Ecology", 15, 59-79.
- APHA-AWWA-WPCF. (1989). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 17 th Edition.
- Astrálaga M. (2006). La convención Ramsar y los ecosistemas de manglar. Disponible en: http://archive.ramsar.org/pdf/speech/speech_campeche_manglares2006.pdf Recuperado el 5 de abril de 2015.
- Atwell B. J. (1993). Response of roots to mechanical impedance. "Environmental and Experimental Botany", 33, 27-40.
- Basak P., Pramanik A., Sengupta S., Nag S., Bhattacharyya A., Roy D., Bhattacharyya M. (2015). Bacterial diversity assessment of pristine mangrove microbial community from dhulibhashani, sundarban using 16S rRNA gene tag sequencing. "Genomics Data", 7, 76-78.
- Baver L. D., Gardner W. H., Gardner W. R. (1991). Física de Suelos. Limusa, México.

Bengough A. G. (1991). The penetrometer in relation to mechanical resistance to root growth. En "Soil Analysis: Physical Methods", Smith K. A., Mullins C. H. (Eds). Marcel Dekker, Inc. New York., 431-445.

Bharathi P., Oak S., Chandramohan D. (1991). Sulfate reducing bacteria from mangrove swamps II: Their ecology and physiology. "Oceanologica Acta", 14(2), 163-171.

Boto K. G., Wellington J. T. (1984). Soil characteristics and nutrient status in a northern Australian mangrove forest. "Estuaries", 7, 61-69.

Campbell B. J., Engel A. S., Porter M. L., Takai K. (2006). The versatile epsilon-proteobacteria: key players in sulphidic habitats. "Nature Reviews Microbiology", 4(6), 458-468.

Campos-García S., Canedo-López Y., Elvira-Antonio N., Herrera-Navarrete J., Pérez-Reda L. J., Reyes-García Z., Ruíz-Marín A., Sabido Pérez M. Y., Zavala-Loría J. C. (2011). Estudio de materia orgánica y nutrientes de suelos contaminados con hidrocarburos a tratamientos diferentes. "Tecnociencia", 5, 48-55.

Cárdenas del ángel S. I. (2014). Ensayos de reforestación en un área degradada de manglar en el sitio Ramsar No.1602. Tesis de maestría, Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Tuxpan, Veracruz.

Carlson P. R., Forrest J. (1982). Uptake of dissolved sulfide by *Spartina alterniflora*: Evidence from natural sulfur isotope abundance ratios. "Science", 216, 633-635.

Cavicchioli R. (2007). Archaea. Molecular and cellular Biology. ASM Press. Washington DC.

Chandrika V., Ramachandran Nair P. V., Khambhadkar L. R. (1990). Distribution of phototropic thionic bacteria in the anaerobic and microaerophilic strata of mangrove ecosystem of Cochin. "Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom", 32 (1 y 2), 77-84.

Chapman V. J. (1975). Mangrove biogeography. En: "Proceedings of the International Symposium on Biology and Management of Mangroves", Walsh G.E., Snedaker S.C., Teas H.T. (Eds). Universidad de Florida. Gainesville, 1, 3-22.

Chen R., Twilley R. R. (1998). A gap dynamic model of mangrove forest development along gradients of soil salinity and nutrient resources. "Journal of Ecology", 86, 37-51.

Cintrón-Molero G., Schaeffer-Novelli Y. (1983). Introducción a la ecología del manglar. UNESCO/ROSTLAC. Montevideo.

CONABIO. (2009). Manglares de México: Extensión y distribución. 2ª edición. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.

CONAGUA. (2015). Climatología. Servicio Meteorológico Nacional. Disponible en: <http://smn.cna.gob.mx/es/> Recuperado el 20 octubre de 2015.

Corredor J., Morell J. (1994). Nitrate depuration of secondary sewage effluents in mangrove sediments. "Estuaries and Coasts", 17, 295-300.

- Cowardin L. M., Carter V., Golet F. C., LaRoe E. T. (1979). Classification of Wetlands and Deepwater Habitats of the United States. United States Fish and Wildlife Service, Washington, D. C.
- Curl E., Truelove B. (1986). The rhizosphere. Springer-Verlag. Berlin.
- Das Sarma P., Das Sarma S. (2008). The origin of prokaryotic species: The taxonomy of halophilic Archaea. "Saline Systems", 4(5), 1-5.
- Davis J. H. (1940). The ecology and geologic role of mangroves in Florida. Carnegie Institution, Washington, 517, 305-412.
- Dawes C. J. (1986). Botánica Marina. Ed. Limusa, México.
- DeLong E. F. (2009). The microbial ocean from genomes to biomes. "Nature", 459, 200-206.
- Dubey S. K., Tripathi A. K., Upadhyay S. N. (2006). Exploration of soil bacterial communities for their potential as bioresource. "Bioresource Technology", 97, 2217-2224.
- Duke N C., Meynecke J. O., Dittmann S., Ellison A. M., Anger K., Berger U., Cannicci S., Diele K., Ewel K. C., Field C. D., Koedam N., Lee, S. Y., Marchand C., Nordhaus I., Dahdouh-Guebas F. (2007). A world without mangroves? "Science", 317, 41-42.
- Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K. H, Stackebrandt E. (2006). The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria. Vol. 4: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. 3rd edition. Springer Science & Business Media.
- Echeverría-Ávila S. C. (2014). Evaluación del crecimiento de *Avicennia germinans* (L.) Stearn en un sitio de restauración ecológica en el puerto de Progreso, Yucatán. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Yucatán, México.
- Ehrlich H. L. (1990). Geomicrobiology. 2^a edición, Marcel Dekker, New York.
- Elbeltagy A., Nishioka K., Sato T., Suzuki H., Ye B., Hamada T., Isawa T., Mitsui H., Minamisawa K. (2001). Endophytic Colonization and In Planta Nitrogen Fixation by a *Herbaspirillum* sp. Isolated from Wild Rice Species. "Applied and Environmental Microbiology", 67(11), 5285-5293.
- Ewel K. C., Twilley R. R., Ong J. E. (1998). Biodiversity and Function of Mangrove Ecosystems. "Global Ecology and Biogeography Letters", 7(1), 83-94.
- FAOa. (2007). The world's mangroves 1980-2005. Nations Forestry Paper 153, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy.
- FAOb. (2007). Los manglares de América del Norte y de América Central 1980-2005. Informes nacionales. Forest Resources Assessment Programme. Working Paper 137, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy.
- Flores-Mireles A. L., Winans S. C., Holguin G. (2007). Molecular characterization of diazotrophic and denitrifying bacteria associated with mangrove roots. "Applied and Environmental Microbiology", 73(22), 7308-7321.

Flores-Verdugo F. J. (1989). Algunos aspectos sobre la ecología, uso e importancia de los ecosistemas de manglar. En "Temas de Oceanografía Biología en México", Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada., 21-56.

Flores-Verdugo F. J., Agraz-Hernández C. M., Martínez-Cordero F. J. (1995). Programa de reforestación de manglares por el desarrollo acuícola de Aqunova-Boca Cegada (Nayarit): Evaluación ecológica integral y medidas de mitigación. Anteproyecto. Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental. Informe Final Técnico. Centro de investigación en Alimentación y Desarrollo y Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León, Mazatlán, Sinaloa.

Franco Dias A. C., Pereira e Silva M., Raposo Cotta S., Dini-Andreote F., Soares . F. L., Falcão Salles J., Azevedo J. L., van Elsas J. D., Dini Andreote F. (2012). Abundance and Genetic Diversity of nifH Gene Sequences in Anthropogenically Affected Brazilian Mangrove Sediments. "Applied and Environmental Microbiology", 78(22), 7960-7967.

Fuentes F., Massol-Deyá A. (2002). Manual de laboratorios: ecología de microorganismos. Universidad de Puerto Rico. Disponible en: <http://ocw.um.es/ciencias/ecologia/lectura-obligatoria-1/p1-intro.pdf> Recuperado el 23 de marzo de 2015.

Gambrell R.P., Patrick W.H. (1978). Chemical and microbiological properties of anaerobic soils and sediments. En "Plant Life in Anaerobic Environments", Ann Arbor Science Publishers, Inc. Ann Arbor, Michigan., 375-423.

Garbeva P., Van Veen J. A., Van Elsas J. D. (2004). Microbial Diversity in Soils: Selection of Microbial Populations by plant and Soil Type and implications for Disease Suppressiveness. "Annual Review Phytopathology", 42, 243-270.

Germida J., Siciliano S. (2001). Taxonomic diversity of bacteria associated with the roots of modern, recent and ancient wheat cultivars. "Biology and Fertility of Soils", 33(5), 410-415.

Ghosh A., Dey N., Bera A., Tiwari A., Sathyaniranjana K., Chakrabarti K., Chattopadhyay D. (2010). Culture independent molecular analysis of bacterial communities in the mangrove sediment of Sundarban, India. "Saline Systems", 6, 6-1.

Gómez Gómez L. C., Valero Valero N., Morales Avendaño E. (2012). Bacterias halotolerantes/alcalofilas productoras de ácido indol acético (AIA) asociadas a Arthrospira platensis (Cyanophyceae). "Revista Colombiana de Biotecnología", 14(2), 81-88.

Gosselink J. G., Turner R. E. (1978). The role of hydrology in freshwater wetland ecosystems. En "Freshwater wetlands: Ecological processes and management potential", Good R. E., Whigham D. F., Simpson R. L. (Eds). New York, Academic Press., 63-78.

Guillén-Navarro K., Herrera-López D., López-Chávez M. Y., Cancino-Gómez M., Reyes-Reyes A. L. (2015). Assessment of methods to recover DNA from bacteria, fungi

and archaea in complex environmental samples. "Folia Microbiologica", 60(6), 551-558.

Güsewell S. (2004). N: P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. "New Phytologist", 164, 243-266.

Gutiérrez-Mendoza J., Herrera-Silveira J. (2015). Almacenes de Carbono en manglares de tipo Chaparro en un escenario cárstico. En "Estado Actual del Conocimiento del Ciclo del Carbono y sus Interacciones en México: Síntesis a 2014". Paz F., Wong J. (Edit.). Texcoco, Estado de México, México., 460-469.

Hartmann A., Rothballer M., Schmid M. (2008). Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. "Plant Soil", 312, 7-14.

Herrera-Silveira J. A., Zaldívar-Jiménez A., Teutli-Hernández C., Pérez-Ceballos R., Caamal J., Andueza T. (2012). Rehabilitación de manglares en el estado de Yucatán sometidos a diferentes condiciones hidrológicas y nivel de impacto: el caso de Celestún y Progreso. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados. Unidad Mérida. Informe Final SNIB-CONABIO. Proyecto GH009. México, D.F.

Herrera-Silveira, J. A., Teutli H. C., Zaldívar J. A., Caamal S. J., Alvarado E., Andueza T., Pérez C. R., Morales, O. S., Cortés, B. O. (2009). Propuesta metodológica para evaluar el grado de deterioro de los ecosistemas de manglar: El caso Yucatán. CINVESTAV/SEMARNAT-INE. Informe Final.

Hoff R., Hensel P., Proffitt E., Delgado P., Shigenaka G., Yender R., Mearns A. J. (2002). Oil Spills in mangroves. Planning & Response Considerations. National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). EUA. Technical Report.

Holguin G., Flores A., Eberhard A., Winans S., Dávila-Lule A., Villicaña C., Geraldo N., Bacilio M., López de los Santos Y., Ruiz M. (2007). Microbiología de manglar y técnicas moleculares para su estudio. En: "Potencial biotecnológico de microorganismos en ecosistemas naturales y agroecosistemas", Sánchez J. (ed). Universidad Nacional de Colombia. Bogota.

Holguin G., Guzman M. A., Bashan Y. (1992). Two new nitrogen-fixing bacteria from the rhizosphere of mangrove trees, isolation, identification and in vitro interaction with rhizosphere *Staphylococcus* sp. "FEMS Microbiology Ecology", 101, 207-216.

Holguin G., Vazquez P., Bashan Y. (2001). The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of the mangrove ecosystems: an overview. "Biology and Fertility of Soils", 33, 265-278.

Holmboe N., Kristensen E., Andersen F.O. (2001). Anoxic decomposition in sediments from a tropical mangrove forest and the temperate wadden sea: implications of N and P additions. "Estuarine, Coastal and Shelf Science", 53, 125-140.

Holmer M., Kristensen E., Banta G., Hansen K., Jensen M. H., Bussawarit N. (1994). Biogeochemical cycling of sulfur and iron in sediments of a South-East Asian mangrove, Phuket Island, Thailand. "Biogeochemistry", 26, 145-161.

Hussain M. I., Khoja, T. M. (1993). Intertidal and subtidal blue-green algal mats of open and mangrove areas in the Farasab archipelago (Saudi Arabia) Red Sea. "Botánica Marina", 36, 377-388.

IAvH. (2000). Convenio de las Naciones Unidas sobre la diversidad biológica y protocolo de Cartagena sobre seguridad en la biotecnología. Instituto de investigaciones de Recursos Biológicos, Alexander von Humboldt. Bogotá, Colombia.

Ingold A., Havill D. C. (1984). The influence of sulphide on the distribution of higher plants in salt marshes. "Journal of Ecology", 72, 1043-1054.

Jørgensen B. B. (1982). Mineralization of organic matter in the sea bed – the role of sulphate reduction. "Nature", 296, 643-645.

Kathiresan K., Bingham B. L. (2001). Biology of Mangroves and Mangrove Ecosystems. "Advances in Marine Biology", 40, 81-251.

Kathiresan K., Selvam M. M. (2006). Evaluation of beneficial bacteria from mangrove soil. "Botánica Marina", 49, 86-88.

Koch M. S., Erskine J. M. (2001). Sulfide as a phytotoxin to the tropical seagrass *Thalassia testudinum*: interactions with light, salinity and temperature. "Journal of Experimental Marine Biology and Ecology", 266, 81-95.

Koga Y., Morii H. (2007). Biosynthesis of ether-type polar lipids in Archaea and evolutionary considerations. "Microbiology and molecular biology reviews", 71, 97-120.

Kohlmeyer J., Volkmann-Kohlmeyer B., Eriksson O. E. (1995). Fungi on *Juncus roemerianus*. New marine ascomycetes. "Mycological Research", 87, 532-542.

Krebs C. J. (1999). Ecological methodology. Ed. Addison Wesley Logman, 2nd edition. University of British Columbia, E. U. A.

Kristensen E., Andersen F., Holmboe N., Thongtham N. (2000). Carbon and nitrogen mineralization in sediments of the Bangrong mangrove area, Phuket, Thailand. "Aquatic microbial ecology", 22, 199-213.

Kristensen E., Bouillon S., Dittmar T., Marchand C. (2008). Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems: A review. "Aquatic Botany", 89, 201-219.

Kristensen E., Holmer M., Bussarawit N. (1991). Benthic metabolism and sulfate reduction in a southeast Asian mangrove swamp. "Marine Ecology Progress Series", 73, 93-103.

Lewis R. R. (1982). Mangrove forests. En "Creation and Restoration of Coastal Plant Communities", Lewis R.R (Ed.), Boca Raton: CRC Press, 153-172.

Liang J., Bin Chen Y. Q., Lan C. Y., Tam N. F. Y., Zan Q. J., Huang L. N. (2007). Recovery of novel bacterial diversity from mangrove sediment. "Marine Biology", 150(5), 739-747.

López-Portillo J., Ezcurra E. (1989). Response of three mangroves to salinity in two geofoms. "Functional Ecology", 3, 55-61.

López-Portillo J., Ezcurra E. (2002). Los manglares de México: una revisión. "Madera y Bosques", 8, 27-51.

Lot H A.; Vázquez Y C., Menéndez F. L. (1975). Physiognomic and floristic changes near the northern limit of mangroves in the Gulf Coast of Mexico. En "Proceedings of the International Symposium on Biology and Management of Mangroves", Walsh G. E., Snedaker S. C., Teas H. T. (Eds). Universidad de Florida, Gainesville, 1, 52-61.

Lovelock C. E., Feller I. C., Ball M. C., Ellis J., Sorrell B. (2007). Testing the growth rate vs. geochemical hypothesis for latitudinal variation in plant nutrients. "Ecology Letters", 10, 1154-1163.

Lovelock C. E., Ruess R. W., Feller I. C. (2006). Fine root respiration in the mangrove *Rhizophora mangle* over variation in forest stature and nutrient availability. "Tree Physiology", 26, 1601-1606.

Magurran A. E. (1988). Ecological diversity and its measurement. Princeton University Press. New Jersey, USA.

Magurran A. E. (2004). Measuring biological diversity. An Index of diversity. Blackwell Publishing. Oxford, UK.

Mann D., Steinke T. D (1993). Biological nitrogen fixation (acetylene reduction) associated with blue-green algal (cyanobacterial) communities in the Beachwood Mangrove Nature Reserve II. Seasonal variation in acetylene reduction activity. "South African Journal of Botany", 59, 1-8.

Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. 2nd. Edition. Academic Press, San Diego.

McKee K. L. (1993). Soil physicochemical patterns and mangrove species distribution-reciprocal effects?. "Journal of Ecology", 81, 477-487.

McKee K. L. (1996). Growth and physiological responses of neotropical mangrove seedlings to root zone hypoxia. "Tree Physiology", 16, 883-889.

McKee K. L., Mendelssohn I. A., Hester M. W. (1988). Reexamination of Pore Water Sulfide Concentrations and Redox Potentials Near the Aerial Roots of *Rhizophora mangle* and *Avicennia germinans*. "American Journal of Botany", 75(9), 1352-1359.

McKee L. K. (1995). Seedling recruitment patterns in a Belizean mangrove forest: effects of establishment ability and physico-chemical factors. "Oecologia", 101, 148-160.

Medina E. (1998). Mangrove physiology: the challenge of salt, heat and light stress under recurrent flooding. Anais do IV Simposio de Ecosistemas Brasileiros, 25-56.

Menéndez L. (2000). Bases Ecológicas para la Restauración de Manglares en Áreas Seleccionadas del Archipiélago Cubano y su relación con los Cambios Climáticos Globales. Programa Nacional de Cambios Globales y Evolución del Medio Ambiente Cubano.

- Metras J. N. (2011). Mangroves: Ecology, Biology and Taxonomy. New York: Nova Science Publishers, Inc.
- Mitsch W. J., Gosselink J. G. (2000). Wetlands, 3rd edition. John Wiley, New York.
- Mitsch W. J., Gosselink J. G., Anderson C., Zang L. (2009). Wetlands, John Wiley, New Jersey.
- Mitsch W.J., Gosselink J.G. (1993). Wetlands, 2nd edition. John Wiley, New York.
- Moore G. E., Grizzle R. E., Ward K. M., Alshih R. M. (2015). Distribution, Pore-Water Chemistry, and Stand Characteristics of the Mangroves of the United Arab Emirates. "Journal of Coastal Research", 31 (4), 957-963.
- Moreno C. E. (2001). Métodos para medir la biodiversidad. Manuales y Tesis SEA (Sociedad Entomológica Aragonesa), CYTED. Vol. 1. Zaragoza, España.
- Moreno-Casasola B. P., Warner B. (2009). Breviario para describir, observar y manejar humedales. Serie Costa sustentable N° 1. RAMSAR, Instituto de ecología A.C., CONANP.US Fish and Wildlife Service, US, Departament Xalapa, Ver. México., 159-165.
- Morriën E. Hannula E., Basten Snoek L., Helmsing N. R., Zweers H., et al. (2017). Soil networks become more connected and take up more carbon as nature restoration progresses. "Nature Communicatios", 8, 14349 doi: 10.1038/ncomms14349.
- Munn C. B. (2011). Marine Microbiology: Ecology & Applications. 2^a edición, Garland Science.
- Nautiyal C. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganism. "FEMS Microbiology Letters", 170, 264-270.
- Nedwell D.B, Blackburn T. H., Wiebe W. J. (1994). Dynamic nature of turnover of organic carbon, nitrogen and sulphur in the sediments of a Jamaican mangrove forest. "Marine Ecology Progress Series", 110, 203-212.
- Nickerson N. H., Thibodeau F.R. (1985). Association between pore water sulphide and distribution of mangroves. Biogeochemistry 1,183-192.
- Nogales B. (2005). La microbiología del suelo en la era de la biología molecular: descubriendo la punta del iceberg. "Ecosistemas", 14(2), 41-51.
- Ordoñez O. F., Flores M. R., Dib J. R., Paz A., Farías M. E. (2009). Extremophile Culture Collection from Andean Lakes: Extreme Pristine Environments that Host a Wide Diversity of Microorganisms with Tolerance to UV Radiation. "Microbial Ecology" 58 (3), 461-473.
- Palaniselvam V., Kathiresan K. (1998). Potential of a marine cyanobacterium Phormidium tenue (Menegh.) Gomont as a shrimp feed supplement. "Seaweed Research Utilization", 20 (1 y 2), 75-78.
- Parsons T. R., Maita Y., Lalli C. M. (1994). A Manual of chemical and biological methods for seawater analisis. Pergamon Press, New York.

Paul E. A., Clark F. E. (1996). Soil microbiology and biochemistry. 2nd edition. Academic Press, Inc. San Diego, CA, USA.

Pedersen O., Binzer T., Borum J. (2004). Sulfide intrusion in eelgrass (*Zostera marina* L.). "Plant Cell and Environment", 27, 595-602.

Pi N., Tam N. F. Y., Wu Y., Wong M. H. (2009). Root anatomy and spatial pattern of radial oxygen loss of eight true mangrove species. "Aquatic Botany", 90, 222-230.

Prabhakaran N., Gupta R., Krishnankutty M. (1987). Fungal activity in Mangalvan: An estuarine mangrove ecosystem. En "Nair N. B. (Ed.). Proc. Natl. Sem. Est. Manag. Trivandrum", India., 458-463.

Pritchett W.L. (1979). Properties and Management of Forest Soils. New York: John Wiley & Sons.

Raaijmakers J. M., Timothy P. C., Steinberg C., Alabouvette C., Moënne-Loccoz Y. (2009). The rizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. "Plant Soil", 321, 341-361.

Raven J. A., Scrimgeour C. M. (1997). The influence of anoxia on plants of saline habitats with special reference to the sulphur cycle. "Annals of Botany", 79, 79-86.

Reddy R., De Laune R. (2008). Biogeochemistry of wetlands: science and applications. CRC, Taylor & Francis, Boca Raton.

Reef R., Feller I. C., Lovelock C. E. (2010). Nutrition of mangroves. "Tree Physiology", 30,1148-1160.

Richardson J. L., Vepraskas M. J (2001). Wetland Soils: Genesis, Hydrology, Landscapes, and Classification, 2nd edition. Taylor and Francis. Boca Ratón.

Rodríguez-Zúñiga M. T., Troche-Souza C., Vázquez-Lule A. D., Márquez-Mendoza J. D., Vázquez-Balderas B., Valdarrama-Landeros L., Velásquez Salazar S., Cruz-López M. I., Ressler R., Uribe-Martínez A., Cerdeira-Estrada S., Acosta-Velázquez J., Díaz-Gallegos J., Jiménez-Rosenberg R., Fueyo-MacDonald L., Galindo-Leal C. (2013). Manglares de México / Extensión, distribución y monitoreo. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México D.F.

Sanjurjo E., Welsh S. (2005). Una descripción de los bienes y servicios ambientales prestados por los manglares. En "Gaceta ecológica de México". No.076:55-68. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=53907405&iCveNum=2360>. Recuperado el 25 de marzo de 2016.

Sengupta A., Chaudhuri S. (1991). Ecology of heterotrophic dinitrogen fixation in the rhizosphere of mangrove plant community at Ganges river estuary in India. "Oecología" 87, 560-564.

Sharpley A. N., Jones O. R., Berg W. A., Coleman G. A. (1992). The transport of bioavailable phosphorus in agricultural runoff. "Journal of Environmental Quality", 21, 30-35.

Sherman R. E., Fahey T. J., Howarth R. W. (1998). Soil-plant interactions in a neotropical mangrove forest: iron, phosphorus and sulfur dynamics. "Oecologia", 115, 553-563.

Simões M. F., Antunes A., Ottoni C. A., Amini M. S., Alam I., Alzubaidy H., Bajic V. B. (2015). Soil and Rhizosphere Associated Fungi in Grey Mangroves (*Avicennia marina*) from the Red Sea - A Metagenomic Approach. "Genomics, Proteomics and Bioinformatics", 13, 310-320.

Smalla K., Wieland G., Buchenr A., Zock A., Parzy J., Kaiser S., Roskot N., Heuer H., Berg G. (2001). Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant- dependent enrichment and seasonal shifts revealed. "Applied and Environmental Microbiology", 67, 4742-4751.

Sorensen J. (1997). The rhizosphere as a habitat for soil microorganisms. En "Modern Soil Microbiology", Elsas J. D. V., Trevors J. T., Wellington E. M. H. vol. 56, Marcel Dekker Incorporated, New York., 21-45.

Sosa-Rodríguez T., Sánchez-Nieves J., Melgarejo L. M. (2009). Papel funcional de los hongos en ecosistemas de manglar. "Boletín de investigaciones marinas y costeras" 38, 39-57.

Soto R., Jiménez J. (1982). Análisis fisionómico estructural del manglar de puerto Soley, La Cruz, Guanacaste, Costa Rica. "Revista Biológica Tropical", 30(2), 161-168.

Spalding M., Kainuma M., Collins L. (2010). World Atlas of Mangroves. A collaborative project of ITTO, ISME, FAO, UNEP-WCMC, UNESCO-MAB, UNU-INWEH and TNC. London (UK): Earthscan, London.

Stahl D. A., de la Torre J. R. (2012). Physiology and Diversity of Ammonia-Oxidizing Archaea. "Annual Review of Microbiology", 66, 83-101.

Taketani R. G., Cavalcante A., Días F., Andreote F. D. (2009). Microbial diversity from mangroves sediments: insights from culture independent approaches. En "Mangroves Ecology, Biology and Taxonomy". ISBN: 978-1-61728-991-0.

Thibodeau F. R., Nickerson N. H. (1986). Diferential oxidation of mangrove substrate by *Avicennia germinans* and *Rhizophora mangle*. "American Journal of Botany", 73, 512-516.

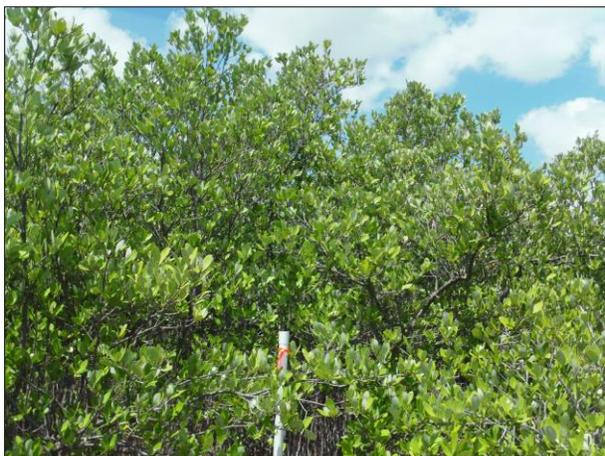
Toledo G., Bashan Y., Soeldner A. (1995). In vitro colonization and increase in nitrogen-fixation of seedling roots of black mangrove inoculated by a filamentous cyanobacteria. "Canadian Journal of Microbiology", 41, 1012-1020.

Tomlinson P. B. (1986). The botany of mangroves. Cambridge University Press.

Tomlinson, P.B. (2016). The Botany of Mangroves. Cambridge University Press. 2nd Edition. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/books/the-botany-of-mangroves/36A4F5E38510D0161443DB770E81BB7F>. Recuperado el 2 de mayo de 2016.

- Torsvik V., Ovreas L (2002). Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. "Current Opinión Microbiology", 5, 240-245.
- Tortora G. J., Funke B. R., Case C. L. (2007). Introducción a la microbiología. 9ª edición. Buenos Aires, Médica panamericana.
- Tovilla H. C. (2009). La reforestación de los manglares de la costa de Oaxaca. Manual Comunitario. Laboratorio de Ecología de Manglares y Zona Costera ECOSUR, 1ª Ed. Tapachula, Chiapas, México.
- Twilley R. R. (1998). Mangrove wetlands. En "Southern forested wetlands: Ecology and management", Messina M., Connor W. (Eds.), Boca Raton, FL: CRC Press., 445-473.
- Twilley R. R., Day J. W. Jr. (1999). The productivity and nutrient cycling of mangrove ecosystems. En "Ecosistemas de manglar en América tropical", Yañez- Arancibia A. y Lara-Domínguez A. L. (Eds.). Instituto de Ecología A. C. México, UICN/ORMA, Costa Rica, NOAA/NMFS Silver Spring MD USA, 127-152.
- Twilley R. R., Rivera- Monroy R. H., Castañeda E. (2004). Total Phosphorus Procedure (Dry Digestion) and Ashing Technique (For Soil And Plant Material). LSU Wetland Biogeochemistry Institute.
- Van Breemen N., Buurman P. (1998). Soil formation. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.
- Vázquez P., Holguin G., Puente M. E., López-Cortes A., Bashan Y. (2000). Phosphate solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of semiarid mangroves. "Biology and Fertility of Soils", 30, 460-468.
- Vepraskas M. J., Craft C. B (Eds). (2016). Wetland Soils: Genesis, Hydrology, Landscapes, and Classification. 2nd edition. CRC Press, Boca Ratón, FL.
- Vovides A. G., Bashan Y., López-Portillo J. A., Guevara R. (2010). Nitrogen fixation in preserved, reforested, naturally regenerated and impaired mangroves as an indicator of functional restoration in mangroves in an arid region of Mexico. "Restoration Ecology", 19, 236–244.
- Yan B., Hong K., Yu Z. N. (2006). Archaeal communities in mangrove soil characterized by 16S rRNA gene clones. "Microbiology", 44(5), 566-71.
- Zuberer D., Silver W. S. (1978). Biological dinitrogen fixation (acetylene reduction) associated with Florida mangroves. "Applied and Environmental Microbiology", 35(3), 567-75.

APÉNDICE A: SITIOS DE MUESTREO



Sitio 1: Conservado con vegetación natural



Sitio 2: En restauración con regeneración abundante

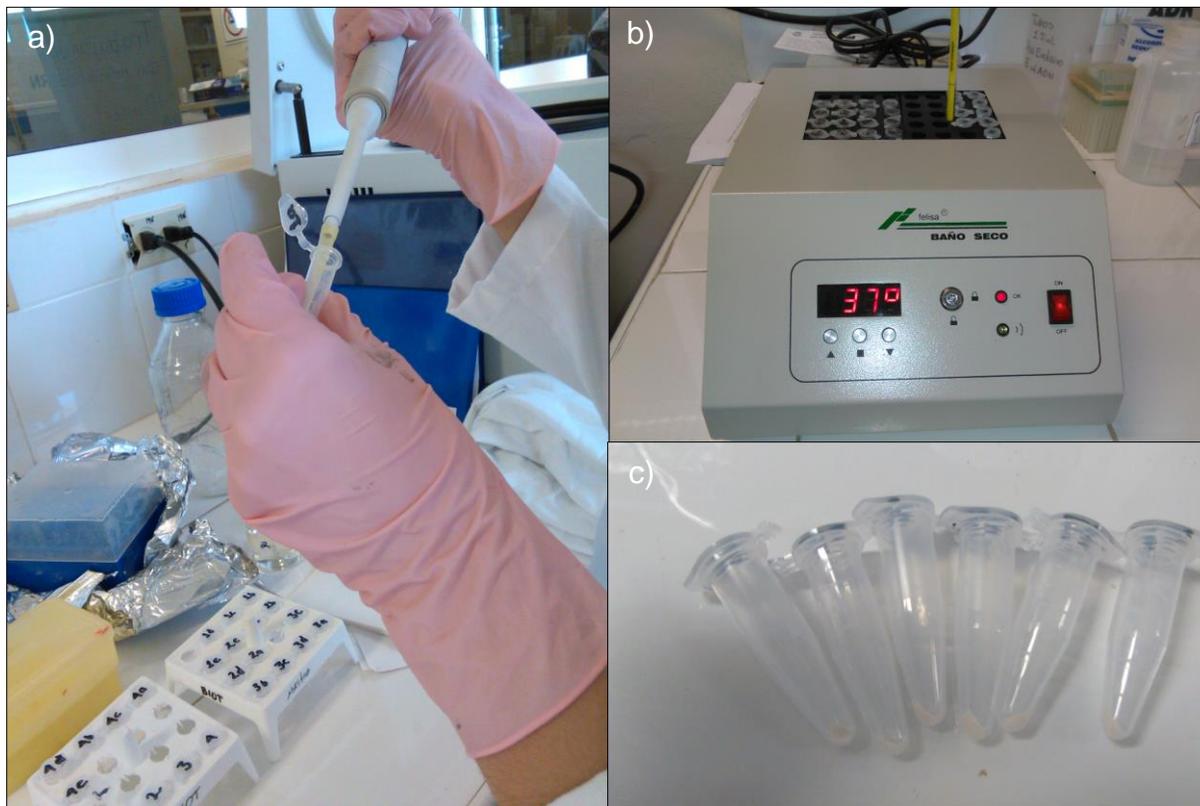


Sitio 3: En restauración con regeneración escasa

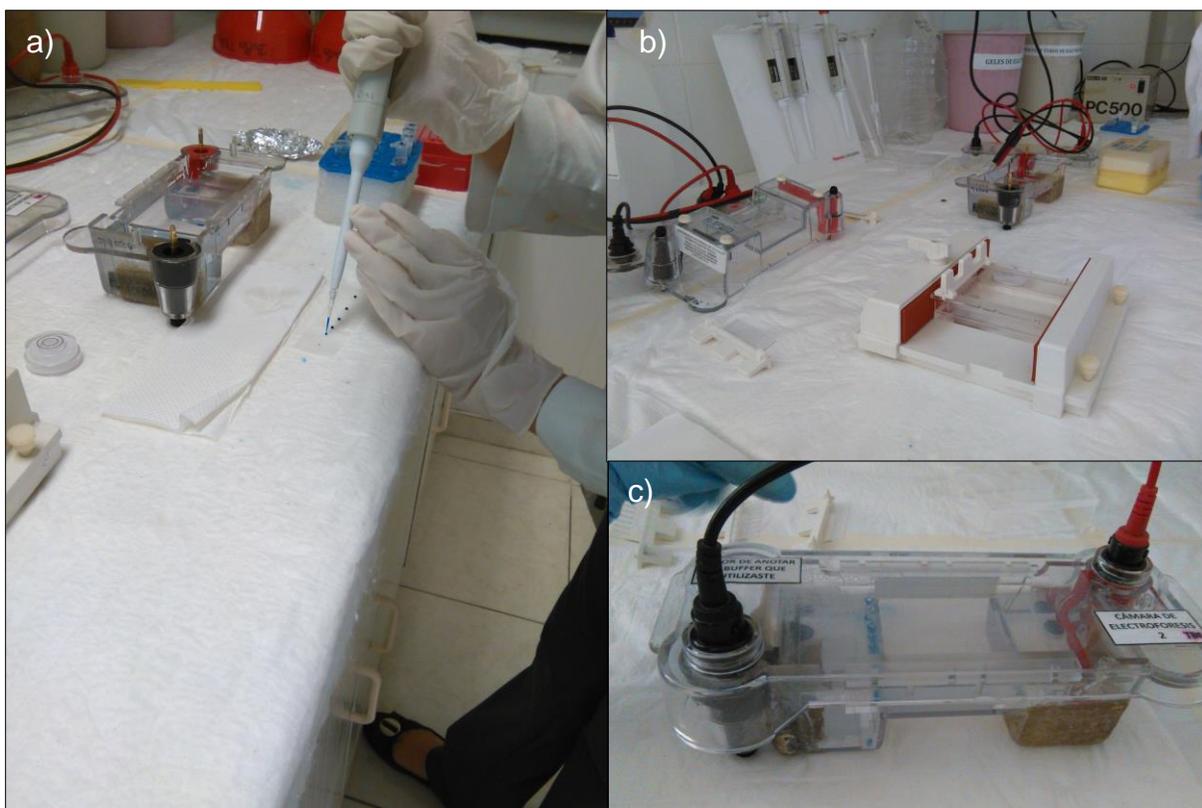


Sitio 4: Degradado

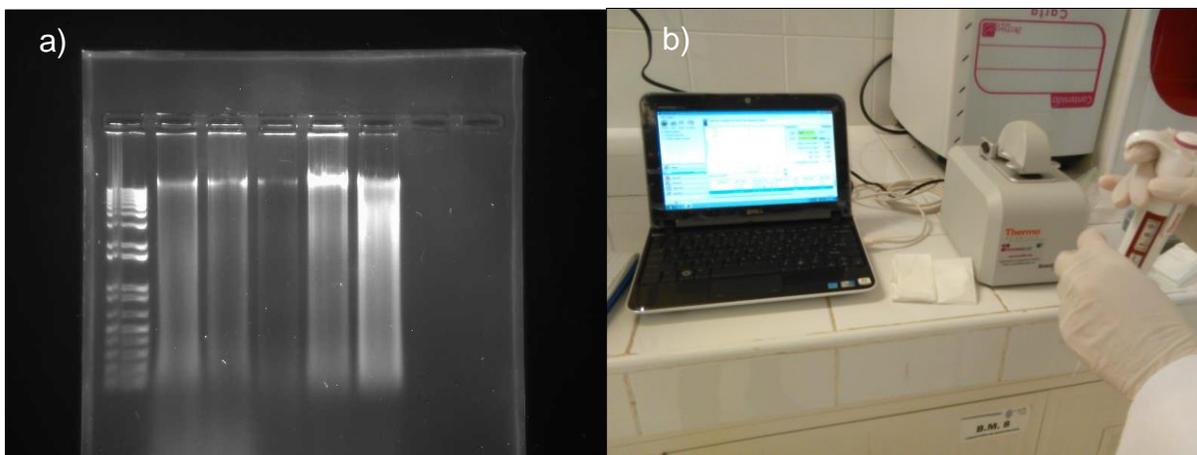
APÉNDICE B: EXTRACCIÓN DE ADN



Extracción y purificación de ADN: a) Lavado de suelos, b) Incubación de las muestras a 37°C durante el proceso de lisis celular, c) Microtubos de centrifuga conteniendo el ADN extraído.



Electroforesis para ADN: a) Siembra en el gel, b) Preparación del gel y c) Electroforesis.



a) Imágenes de bandas de ADN obtenidas en el transiluminador de luz blanca, b) Cuantificación de ADN en el equipo NanoDrop.

APÉNDICE C: RESULTADOS DE ANÁLISIS SIMPER

BACTERIAS

Especies características que definen tanto la similitud dentro de grupos de sitios de muestreo como la disimilitud entre ellos. Resultados obtenidos del análisis SIMPER de PRIMER. AP=abundancia promedio; DIP=disimilitud promedio; CTB=contribución porcentual; ACM=porcentaje acumulativo; BNC= bacteria no clasificada.

Sitios 1 y 2

Disimilitud promedio = 62.17

Especies	Sitio 1	Sitio 2	DIP	CTB %	ACM %
	AP	AP			
<i>Halomonas sp.</i>	2236	22181	35.59	57.24	57.24
<i>Halomonas aquamarina</i>	6260	2853	6.08	9.78	67.02
<i>Psychrobacter sp.</i>	2011	19	3.55	5.72	72.74
<i>Planomicrobium sp.</i>	961	2	1.71	2.75	75.49
<i>Marinobacter sp.</i>	1285	636	1.16	1.86	77.35
BNC 8	988	361	1.12	1.8	79.15
<i>Idiomarina sp.</i>	820	365	0.81	1.31	80.46
<i>Salegentibacter mishustinae</i>	252	677	0.76	1.22	81.68
<i>Pseudoalteromonas sp.</i>	395	0	0.7	1.13	82.81
<i>Oceanospirillum linum</i>	433	54	0.68	1.09	83.9
BNC 48	541	175	0.65	1.05	84.95
<i>Planococcus sp.</i>	340	3	0.6	0.97	85.92
<i>Marinomonas ostreistagni</i>	384	58	0.58	0.94	86.85
<i>Amphibacillus sp.</i>	1230	924	0.55	0.88	87.73
<i>Alkalibacterium sp.</i>	394	687	0.52	0.84	88.57
<i>Reinekea aestuarii</i>	260	23	0.42	0.68	89.25
BNC 58	674	442	0.41	0.67	89.92
<i>Alkalibacterium putridalgalicola</i>	239	464	0.4	0.65	90.56

Sitios 1 y 3

Disimilitud promedio = 69.39

Especies	Sitio 1 AP	Sitio 3 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Halomonas aquamarina</i>	6260	484	10.07	14.51	14.51
BNC 8	988	5449	7.78	11.21	25.72
<i>Idiomarina sp.</i>	820	3110	3.99	5.75	31.47
<i>Psychrobacter sp.</i>	2011	144	3.25	4.69	36.16
BNC 58	674	2498	3.18	4.58	40.74
<i>Halomonas sp.</i>	2236	833	2.45	3.52	44.26
<i>Amphibacillus sp.</i>	1230	4	2.14	3.08	47.34
BNC 42	244	1337	1.91	2.75	50.09
<i>Planomicrobium sp.</i>	961	2	1.67	2.41	52.5
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	251	1097	1.47	2.13	54.62
BNC 46	212	997	1.37	1.97	56.6
BNC 53	224	857	1.1	1.59	58.19
<i>Nitrospira sp.</i>	11	524	0.89	1.29	59.48
BNC 22	63	573	0.89	1.28	60.76
BNC 24	71	578	0.88	1.27	62.03
BNC 48	541	42	0.87	1.25	63.28
BNC 38	169	638	0.82	1.18	64.46
BNC 49	118	569	0.79	1.13	65.59
<i>Acinetobacter sp.</i>	30	481	0.79	1.13	66.73
BNC 57	54	500	0.78	1.12	67.85
<i>Oceanospirillum linum</i>	433	0	0.75	1.09	68.94
<i>Halomonas gomseomensis</i>	16	419	0.7	1.01	69.95
<i>Alkalibacterium sp.</i>	394	8	0.67	0.97	70.92
<i>Marinomonas ostreistagni</i>	384	1	0.67	0.96	71.88
BNC 36	161	533	0.65	0.93	72.81
<i>Marinimicrobium sp.</i>	5	375	0.64	0.93	73.74
BNC 56	48	418	0.64	0.93	74.67
<i>Pseudoalteromonas sp.</i>	395	38	0.62	0.9	75.57
<i>Planococcus sp.</i>	340	1	0.59	0.85	76.42
<i>Micrococcus luteus</i>	23	346	0.56	0.81	77.23
<i>Salmonella enterica</i>	7	264	0.45	0.65	77.88
<i>Desulfomicrobium sp.</i>	27	275	0.43	0.62	78.5
<i>Alkalibacterium putridalgicola</i>	239	2	0.41	0.6	79.1
<i>Salegentibacter mishustinae</i>	252	28	0.39	0.56	79.66
<i>Escherichia coli</i>	11	234	0.39	0.56	80.22
<i>Methylocaldum sp.</i>	70	290	0.38	0.55	80.77
<i>Providencia rustigianii</i>	11	222	0.37	0.53	81.3

<i>Desulfobacterium sp.</i>	14	204	0.33	0.48	81.78
<i>Actinomadura sp.</i>	66	253	0.33	0.47	82.25
<i>Acidobacterium sp.</i>	40	213	0.3	0.43	82.68
<i>Balneola sp.</i>	0	165	0.29	0.41	83.1
BNC 16	7	164	0.27	0.39	83.49
<i>Geothermobacter sp.</i>	14	169	0.27	0.39	83.88
<i>Reinekea aestuarii</i>	260	106	0.27	0.39	84.27
BNC 45	34	186	0.26	0.38	84.65
<i>Marinobacter sp.</i>	1285	1425	0.24	0.35	85
<i>Anaerolinea sp.</i>	26	163	0.24	0.34	85.35
<i>Halolactibacillus miurensis</i>	134	0	0.23	0.34	85.68
BNC 9	66	198	0.23	0.33	86.02
BNC 55	135	267	0.23	0.33	86.35
<i>Thiomicrospira crunogena</i>	0	131	0.23	0.33	86.68
<i>Rhodococcus sp.</i>	13	143	0.23	0.33	87
BNC 19	21	150	0.22	0.32	87.33
BNC 40	37	166	0.22	0.32	87.65
BNC 37	18	143	0.22	0.31	87.96
<i>Saccharospirillum sp.</i>	51	165	0.2	0.29	88.25
<i>Dehalococcoides sp.</i>	0	113	0.2	0.28	88.53
<i>Moorella sp.</i>	20	129	0.19	0.27	88.81
<i>Actinomyces sp.</i>	135	30	0.18	0.26	89.07
<i>Legionella sp.</i>	13	116	0.18	0.26	89.33
<i>Paenibacillus sp.</i>	4	106	0.18	0.26	89.59
<i>Microbulbifer gwangyangensis</i>	90	0	0.16	0.23	89.81
<i>Marinobacter lutaoensis</i>	5	92	0.15	0.22	90.03

Sitios 2 y 3**Disimilitud promedio = 85.47**

Especies	Sitio 2 AP	Sitio 3 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Halomonas sp.</i>	22181	833	32.82	38.39	38.39
BNC 8	361	5449	7.82	9.15	47.54
<i>Idiomarina sp.</i>	365	3110	4.22	4.94	52.48
<i>Halomonas aquamarina</i>	2853	484	3.64	4.26	56.74
BNC 58	442	2498	3.16	3.7	60.44
BNC 42	89	1337	1.92	2.24	62.68
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	64	1097	1.59	1.86	64.54
<i>Amphibacillus sp.</i>	924	4	1.41	1.65	66.2
BNC 46	120	997	1.35	1.58	67.77
BNC 53	64	857	1.22	1.43	69.2
<i>Marinobacter sp.</i>	636	1425	1.21	1.42	70.62
<i>Alkalibacterium sp.</i>	687	8	1.04	1.22	71.84
<i>Salegentibacter mishustinae</i>	677	28	1	1.17	73.01
BNC 22	22	573	0.85	0.99	74
BNC 38	89	638	0.84	0.99	74.99
BNC 24	47	578	0.82	0.95	75.94
BNC 49	39	569	0.81	0.95	76.89
<i>Nitrospira sp.</i>	5	524	0.8	0.93	77.83
BNC 57	17	500	0.74	0.87	78.7
BNC 36	60	533	0.73	0.85	79.55
<i>Alkalibacterium putridalgicola</i>	464	2	0.71	0.83	80.38
<i>Acinetobacter sp.</i>	44	481	0.67	0.79	81.16
<i>Marinimicrobium sp.</i>	0	375	0.58	0.67	81.84
<i>Halomonas gomseomensis</i>	46	419	0.57	0.67	82.51
BNC 56	48	418	0.57	0.67	83.17
<i>Micrococcus luteus</i>	14	346	0.51	0.6	83.77
<i>Desulfomicrobium sp.</i>	12	275	0.4	0.47	84.24
<i>Methylocaldum sp.</i>	30	290	0.4	0.47	84.71
<i>Salmonella enterica</i>	7	264	0.4	0.46	85.17
<i>Actinomadura sp.</i>	9	253	0.38	0.44	85.61
BNC 55	27	267	0.37	0.43	86.04
<i>Escherichia coli</i>	26	234	0.32	0.37	86.42
<i>Acidobacterium sp.</i>	6	213	0.32	0.37	86.79
<i>Providencia rustigianii</i>	16	222	0.32	0.37	87.16
<i>Desulfobacterium sp.</i>	7	204	0.3	0.35	87.52
BNC 9	6	198	0.3	0.35	87.86
BNC 45	18	186	0.26	0.3	88.16

<i>Balneola sp.</i>	0	165	0.25	0.3	88.46
<i>Geothermobacter sp.</i>	6	169	0.25	0.29	88.75
<i>Anaerolinea sp.</i>	4	163	0.24	0.29	89.04
BNC 40	14	166	0.23	0.27	89.31
BNC 16	14	164	0.23	0.27	89.58
<i>Saccharospirillum sp.</i>	21	165	0.22	0.26	89.84
<i>Rhodococcus sp.</i>	2	143	0.22	0.25	90.09

Sitios 1 y 4

Disimilitud promedio = 63.77

Especies	Sitio 1	Sitio 4	DIP	CTB %	ACM %
	AP	AP			
<i>Halomonas aquamarina</i>	6260	92	15.27	23.94	23.94
<i>Halomonas sp.</i>	2236	224	4.98	7.81	31.75
<i>Psychrobacter sp.</i>	2011	129	4.66	7.3	39.05
<i>Amphibacillus sp.</i>	1230	0	3.04	4.77	43.82
BNC B8	988	2114	2.79	4.37	48.19
<i>Planomicrobium sp.</i>	961	5	2.37	3.71	51.9
BNC 58	674	1308	1.57	2.46	54.36
<i>Idiomarina sp.</i>	820	228	1.47	2.3	56.66
BNC 53	224	733	1.26	1.98	58.64
BNC 42	244	719	1.18	1.84	60.48
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	251	697	1.1	1.73	62.21
<i>Oceanospirillum linum</i>	433	0	1.07	1.68	63.89
<i>Alkalibacterium sp.</i>	394	0	0.98	1.53	65.42
<i>Pseudoalteromonas sp.</i>	395	2	0.97	1.53	66.95
<i>Marinomonas ostreistagni</i>	384	1	0.95	1.49	68.43
BNC 48	541	179	0.9	1.4	69.84
<i>Gracilimonas sp.</i>	6	367	0.89	1.4	71.24
<i>Planococcus sp.</i>	340	0	0.84	1.32	72.56
<i>Marinobacter sp.</i>	1285	1593	0.76	1.2	73.75
BNC 56	48	319	0.67	1.05	74.8
BNC 45	34	296	0.65	1.02	75.82
BNC 24	71	311	0.59	0.93	76.75
<i>Alkalibacterium putridalgicola</i>	239	0	0.59	0.93	77.68
<i>Reinekea aestuarii</i>	260	31	0.57	0.89	78.57
<i>Salegentibacter mishustinae</i>	252	43	0.52	0.81	79.38
<i>Actinomadura sp.</i>	66	266	0.49	0.78	80.16

BNC 38	169	352	0.45	0.71	80.87
BNC 49	118	291	0.43	0.67	81.54
BNC 55	135	302	0.41	0.65	82.19
BNC 57	54	219	0.41	0.64	82.83
BNC 14	43	205	0.4	0.63	83.46
BNC 46	212	367	0.38	0.6	84.06
<i>Nitrospira sp.</i>	11	158	0.36	0.57	84.63
BNC 16	7	148	0.35	0.55	85.17
<i>Halolactibacillus miurensis</i>	134	0	0.33	0.52	85.69
BNC 19	21	148	0.31	0.49	86.19
<i>Micrococcus luteus</i>	23	137	0.28	0.44	86.63
<i>Planomicrobium glaciei</i>	14	125	0.27	0.43	87.06
<i>Saccharospirillum sp.</i>	51	162	0.27	0.43	87.49
<i>Desulfobacterium sp.</i>	14	101	0.22	0.34	87.83
<i>Methylocaldum sp.</i>	70	157	0.22	0.34	88.17
<i>Actinomyces sp.</i>	135	51	0.21	0.33	88.49
<i>Acinetobacter sp.</i>	30	110	0.2	0.31	88.8
<i>Escherichia coli</i>	11	87	0.19	0.29	89.1
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	0	75	0.19	0.29	89.39
<i>Rhodococcus sp.</i>	13	79	0.16	0.26	89.65
<i>Paenibacillus sp.</i>	4	66	0.15	0.24	89.89
<i>Moorella sp.</i>	20	78	0.14	0.23	90.11

Sitios 2 y 4

Disimilitud promedio = 84.69

Especies	Sitio 2	Sitio 4	DIP	CTB %	ACM %
	AP	AP			
<i>Halomonas sp.</i>	22181	224	45.66	53.91	53.91
<i>Halomonas aquamarina</i>	2853	92	5.74	6.78	60.69
BNC 8	361	2114	3.65	4.3	64.99
<i>Marinobacter sp.</i>	636	1593	1.99	2.35	67.34
<i>Amphibacillus sp.</i>	924	0	1.92	2.27	69.61
BNC 58	442	1308	1.8	2.13	71.74
<i>Alkalibacterium sp.</i>	687	0	1.43	1.69	73.42
BNC 53	64	733	1.39	1.64	75.07
<i>Salegentibacter mishustinae</i>	677	43	1.32	1.56	76.62
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	64	697	1.32	1.55	78.18
BNC 42	89	719	1.31	1.55	79.72

<i>Alkalibacterium putridalgicola</i>	464	0	0.96	1.14	80.86
<i>Gracilimonas sp.</i>	11	367	0.74	0.87	81.74
BNC 45	18	296	0.58	0.68	82.42
BNC 55	27	302	0.57	0.68	83.09
BNC 56	48	319	0.56	0.67	83.76
BNC 24	47	311	0.55	0.65	84.41
BNC 38	89	352	0.55	0.65	85.05
<i>Actinomadura sp.</i>	9	266	0.53	0.63	85.68
BNC 49	39	291	0.52	0.62	86.3
BNC 46	120	367	0.51	0.61	86.91
BNC 57	17	219	0.42	0.5	87.4
BNC 14	40	205	0.34	0.41	87.81
<i>Nitrospira sp.</i>	5	158	0.32	0.38	88.19
<i>Saccharospirillum sp.</i>	21	162	0.29	0.35	88.53
BNC 19	11	148	0.28	0.34	88.87
<i>Idiomarina sp.</i>	365	228	0.28	0.34	89.2
BNC 16	14	148	0.28	0.33	89.53
<i>Methylocaldum sp.</i>	30	157	0.26	0.31	89.85
BNC 36	60	184	0.26	0.3	90.15

Sitios 3 y 4

Disimilitud promedio = 42.12

Especies	Sitio 3	Sitio 4	DIP	CTB %	ACM %
	AP	AP			
BNC 8	5449	2114	6.75	16.02	16.02
<i>Idiomarina sp.</i>	3110	228	5.83	13.85	29.87
BNC 58	2498	1308	2.41	5.72	35.59
BNC 46	997	367	1.28	3.03	38.62
BNC 42	1337	719	1.25	2.97	41.58
<i>Halomonas sp.</i>	833	224	1.23	2.93	44.51
BNC 22	573	119	0.92	2.18	46.69
<i>Halomonas gomseomensis</i>	419	0	0.85	2.01	48.71
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	1097	697	0.81	1.92	50.63
<i>Halomonas aquamarina</i>	484	92	0.79	1.88	52.51
<i>Acinetobacter sp.</i>	481	110	0.75	1.78	54.29
<i>Nitrospira sp.</i>	524	158	0.74	1.76	56.05
<i>Gracilimonas sp.</i>	14	367	0.71	1.7	57.75
<i>Marinimicrobium sp.</i>	375	22	0.71	1.7	59.44

BNC 36	533	184	0.71	1.68	61.12
BNC 38	638	352	0.58	1.37	62.49
BNC 57	500	219	0.57	1.35	63.84
BNC 49	569	291	0.56	1.34	65.18
BNC 24	578	311	0.54	1.28	66.46
<i>Salmonella enterica</i>	264	16	0.5	1.19	67.65
<i>Desulfomicrobium sp.</i>	275	55	0.45	1.06	68.71
<i>Micrococcus luteus</i>	346	137	0.42	1	69.72
<i>Marinobacter sp.</i>	1425	1593	0.34	0.81	70.52
<i>Balneola sp.</i>	165	0	0.33	0.79	71.32
<i>Providencia rustigianii</i>	222	67	0.31	0.74	72.06
<i>Escherichia coli</i>	234	87	0.3	0.71	72.77
<i>Geothermobacter sp.</i>	169	29	0.28	0.67	73.44
BNC 48	42	179	0.28	0.66	74.1
<i>Anaerolinea sp.</i>	163	29	0.27	0.64	74.74
<i>Methylocaldum sp.</i>	290	157	0.27	0.64	75.38
<i>Acidobacterium sp.</i>	213	86	0.26	0.61	75.99
BNC 9	198	72	0.26	0.61	76.6
BNC 53	857	733	0.25	0.6	77.19
<i>Thiomicrospira crunogena</i>	131	8	0.25	0.59	77.78
BNC 45	186	296	0.22	0.53	78.31
BNC 40	166	61	0.21	0.5	78.82
BNC 29	104	0	0.21	0.5	79.32
<i>Desulfobacterium sp.</i>	204	101	0.21	0.49	79.81
<i>Dehalococcoides sp.</i>	113	13	0.2	0.48	80.29
BNC 56	418	319	0.2	0.48	80.77
<i>Microbulbifer yueqingensis</i>	26	124	0.2	0.47	81.24
BNC 14	115	205	0.18	0.43	81.67
<i>Reinekea aestuarii</i>	106	31	0.15	0.36	82.03
<i>Caulobacter sp.</i>	84	14	0.14	0.34	82.37
<i>Marinobacter lutaoensis</i>	92	22	0.14	0.34	82.7
<i>Legionella sp.</i>	116	47	0.14	0.33	83.03
BNC 37	143	75	0.14	0.33	83.36
BNC B1	88	21	0.14	0.32	83.68
<i>Rhodococcus sp.</i>	143	79	0.13	0.31	83.99
<i>Roseobacter sp.</i>	67	3	0.13	0.31	84.3
<i>Bacillus cereus</i>	62	2	0.12	0.29	84.59
<i>Microvirga sp.</i>	128	70	0.12	0.28	84.87
BNC 5	58	2	0.11	0.27	85.13
BNC 43	94	42	0.11	0.25	85.38
<i>Moorella sp.</i>	129	78	0.1	0.25	85.63
<i>Paracoccus sp.</i>	60	10	0.1	0.24	85.87
<i>Halochromatium sp.</i>	0	50	0.1	0.24	86.11

<i>Oceanospirillum nioense</i>	50	0	0.1	0.24	86.35
BNC 39	9	58	0.1	0.24	86.59
<i>Rhodoplanes sp.</i>	46	0	0.09	0.22	86.81
<i>Microbulbifer sp.</i>	15	61	0.09	0.22	87.03
<i>Flavobacterium sp.</i>	46	2	0.09	0.21	87.24
<i>Aciditerrimonas sp.</i>	47	5	0.09	0.2	87.44
BNC 21	79	38	0.08	0.2	87.64
<i>Paenibacillus sp.</i>	106	66	0.08	0.19	87.83
<i>Escherichia sp.</i>	43	3	0.08	0.19	88.02
<i>Roseovarius litoreus</i>	42	3	0.08	0.19	88.21
BNC 44	16	55	0.08	0.19	88.4
<i>Microbulbifer gwangyangensis</i>	0	39	0.08	0.19	88.58
<i>Thiohalophilus</i> <i>thiocyanatoxydans</i>	57	18	0.08	0.19	88.77
<i>Aeromonas hydrophila</i>	44	8	0.07	0.17	88.94
<i>Pseudoalteromonas sp.</i>	38	2	0.07	0.17	89.12
<i>Kordiimonas sp.</i>	35	0	0.07	0.17	89.29
BNC 55	267	302	0.07	0.17	89.45
<i>Chloroflexus sp.</i>	41	7	0.07	0.16	89.62
<i>Planomicrobium glaciei</i>	93	125	0.06	0.15	89.77
<i>Dichotomicrobium</i> <i>thermohalophilum</i>	19	51	0.06	0.15	89.92
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44	12	0.06	0.15	90.08

ARQUEAS

Especies características que definen tanto la similitud dentro de grupos de sitios de muestreo como la disimilitud entre ellos. Resultados obtenidos del análisis SIMPER de PRIMER. AP=abundancia promedio; DIP=disimilitud promedio; CTB=contribución porcentual; ACM=porcentaje acumulativo.

Sitios 1 y 2**Disimilitud promedio = 79.16**

Especies	Sitio 1 AP	Sitio 2 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Desulfurococcus sp.</i>	1240	8175	53.15	67.14	67.14
<i>Methanosphaera sp.</i>	67	2462	18.35	23.19	90.33

Sitios 1 y 3**Disimilitud promedio = 18.27**

Especies	Sitio 1 AP	Sitio 3 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Desulfurococcus sp.</i>	1240	918	11.29	61.8	61.8
<i>Nitrososphaera viennensis</i>	133	177	1.54	8.45	70.25
<i>Methanolobus sp.</i>	46	6	1.4	7.68	77.93
<i>Methanosphaera sp.</i>	67	89	0.77	4.22	82.15
<i>Halogranum amylolyticum</i>	17	0	0.6	3.26	85.41
<i>Methanosalsum zhilinae</i>	15	2	0.46	2.5	87.91
<i>Methanosaeta sp.</i>	11	0	0.39	2.11	90.02

Sitio 2 y 3**Disimilitud promedio = 83.50**

Especies	Sitio 2 AP	Sitio 3 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Desulfurococcus sp.</i>	8175	918	57.17	68.46	68.46
<i>Methanosphaera sp.</i>	2462	89	18.69	22.39	90.85

Sitios 1 y 4**Disimilitud promedio = 81.52**

Especies	Sitio 1 AP	Sitio 4 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Desulfurococcus sp.</i>	1240	12545	66.78	81.91	81.91
<i>Methanosphaera sp.</i>	67	1120	6.22	7.63	89.54
<i>Halorhabdus sp.</i>	47	424	2.23	2.73	92.28

Sitios 2 y 4**Disimilitud promedio = 26.70**

Especies	Sitio 2 AP	Sitio 4 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Desulfurococcus sp.</i>	8175	12545	16.32	61.14	61.14
<i>Methanosphaera sp.</i>	2462	1120	5.01	18.77	79.91
<i>Methanolobus sp.</i>	0	404	1.51	5.65	85.56
<i>Haloplanus sp.</i>	136	0	0.51	1.9	87.47
<i>Nitrososphaera viennensis</i>	0	105	0.39	1.47	88.93
<i>Halorhabdus sp.</i>	525	424	0.38	1.41	90.35

Sitios 3 y 4**Disimilitud promedio = 85.82**

Especies	Sitio 3 AP	Sitio 4 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Desulfurococcus sp.</i>	918	12545	70.15	81.74	81.74
<i>Methanosphaera sp.</i>	89	1120	6.22	7.25	88.99
<i>Methanolobus sp.</i>	6	404	2.4	2.8	91.79

HONGOS

Especies características que definen tanto la similitud dentro de grupos de sitios de muestreo como la disimilitud entre ellos. Resultados obtenidos del análisis SIMPER de PRIMER. AP=abundancia promedio; DIP=disimilitud promedio; CTB=contribución porcentual; ACM=porcentaje acumulativo.

Sitios 1 y 2

Disimilitud promedio = 99.21

Especies	Sitio 1 AP	Sitio 2 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	12	3882	95.13	95.89	95.89

Sitios 1 y 3

Disimilitud promedio = 75.82

Especies	Sitio 1 AP	Sitio 3 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Aspergillus penicillioides</i>	6	47	22.53	29.71	29.71
<i>Eurotium rubrum</i>	0	21	11.54	15.22	44.93
<i>Malassezia restricta</i>	4	21	9.34	12.32	57.25
<i>Pestalotiopsis aff palmarum</i>	0	16	8.79	11.59	68.84
<i>Aspergillus vitricola</i>	0	14	7.69	10.14	78.99
<i>Aspergillus gracilis</i>	0	13	7.14	9.42	88.41
<i>Gloeophyllum striatum</i>	0	8	4.4	5.8	94.2

Sitios 2 y 3

Disimilitud promedio = 99.00

Especies	Sitio 2 AP	Sitio 3 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	3882	12	92.14	93.07	93.07

Sitios 1 y 4**Disimilitud promedio = 98.44**

Especies	Sitio 1 AP	Sitio 4 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Hypocreales sp.</i>	3	1289	77.05	78.27	78.27
<i>Teratosphaeria bellula</i>	0	48	2.88	2.92	81.19
<i>Fusarium solani</i>	0	46	2.76	2.8	83.99
<i>Nigrospora sp.</i>	0	45	2.7	2.74	86.73
<i>Cladosporium sp.</i>	0	40	2.4	2.43	89.17
<i>Fusarium sp.</i>	0	28	1.68	1.7	90.87

Sitios 2 y 4**Disimilitud promedio = 98.03**

Especies	Sitio 2 AP	Sitio 4 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	3882	0	68.26	69.63	69.63
<i>Hypocreales sp.</i>	0	1289	22.67	23.12	92.75

Sitios 3 y 4**Disimilitud promedio = 94.34**

Especies	Sitio 3 AP	Sitio 4 AP	DIP	CTB %	ACM %
<i>Hypocreales sp.</i>	0	1289	71.57	75.87	75.87
<i>Teratosphaeria bellula</i>	0	48	2.67	2.83	78.69
<i>Fusarium solani</i>	0	46	2.55	2.71	81.4
<i>Nigrospora sp.</i>	0	45	2.5	2.65	84.05
<i>Cladosporium sp.</i>	0	40	2.22	2.35	86.4
<i>Fusarium sp.</i>	0	28	1.55	1.65	88.05
<i>Eurotium rubrum</i>	21	0	1.17	1.24	89.29
<i>Aspergillus penicillioides</i>	47	27	1.11	1.18	90.46