

# MICROBIOTA RIZOSFERICA DE UN CULTIVO MIXTO DE MAÍZ (*Zea mays* L.) EN LOS ALTOS DE JALISCO: ESTUDIO DESCRIPTIVO

## RHIZOSPHERE MICROBIOTA FROM A MIXED MAIZE (*Zea mays* L.) CROP IN THE JALISCO HIGHLANDS: A DESCRIPTIVE STUDY

**Martínez-Peña, M.D.<sup>1</sup>; Lara-Aguilera, J.<sup>1</sup>; Cadena-Zamudio, J.D.<sup>1</sup>; Salinas-Moreno, Y.<sup>2</sup>; Ramírez-Vega, H.<sup>3</sup>; Arteaga-Garibay, R.I.<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Boulevard de la Biodiversidad 400, Rancho las Cruces. C.P. 47600, Tepatitlán de Morelos, Jalisco. México. <sup>2</sup>Campo Experimental Altos de Jalisco (CE-Altos), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Carretera Libre Tepatitlán-Lagos de Moreno Km. 8. C.P. 47600, Tepatitlán de Morelos, Jalisco. México. <sup>3</sup>Centro Universitario de los Altos, Universidad de Guadalajara, Carretera a Yahualica, Km. 7.5, C.P. 47600, Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México.

**\*Autor de correspondencia:** arteaga.ramon@inifap.gob.mx.

### RESUMEN

Las siembra de maíz en los Altos de Jalisco es principalmente para producción de forraje y autoconsumo, de razas híbridas o de zamorano amarillo. Los estudios en esta región se han focalizado a las características de las plantas o del suelo, y no se conoce la composición de los microorganismos en este ambiente. Por lo anterior, el uso de NGS para la descripción de la microbiota de un cultivo de maíz mixto para autoconsumo y forraje en los Altos de Jalisco permitió tener una descripción inicial de la composición microbiana de la rizósfera. Los Phyla que predominaron en las dos muestras colectadas en diferentes tiempos fueron para la muestra sin cultivo con un 24.1% el *Actinobacteria*, 15.2% el *Proteobacteria*, y 5.3% *Firmicutes*; con cultivo predominó con el 24.6% el *Proteobacteria*, con el 8% *Actinobacteria* y 3.9% de *Bacteroidetes*. Se detectó una mayor diversidad OTUs con la presencia del cultivo de tres variedades de maíces para autoconsumo y forraje, lo cual se relaciona con el tipo de manejo agronómico y el tipo de maíces sembrados.

**Palabras clave:** Maíz, microbiota, NGS.

### ABSTRACT

Maize cultivation in the Jalisco Highlands, México, is primarily for production for fodder and auto-consumption, using hybrid cultivars or Zamorano Amarillo. Studies in this region have been focalized on the characteristics of the plants or the soil, and the composition of microorganisms in this environment is unknown. Because of this, the use of Next Generation Sequencing (NGS) for the description of the microbiota from a mixed maize (*Zea mays* L.) crop for auto-consumption and fodder in the Jalisco Highlands allowed having an initial description of the microbial composition of the rhizosphere. The Phyla that predominated in two samples evaluated at different times showed, for the plot without crop, 24.1% of *Actinobacteria*, 15.2% *Proteobacteria*, and 5.3% *Firmicutes*, while in the land cultivated, 24.6% of *Proteobacteria*, 8% *Actinobacteria* and 3.9% *Bacteroidetes* predominated. A greater diversity of OTUs was detected in the cultivation of three varieties of maize for auto-consumption and fodder, which is related to the type of agronomic management and the maize cultivars sown.

**Keywords:** Maize, microorganisms, NGS.

**Agroproductividad:** Vol. 9, Núm. 8, agosto, 2016. pp: 65-70.

**Recibido:** mayo, 2016. **Aceptado:** julio, 2016.

## INTRODUCCIÓN

**México** es considerado centro de origen y diversidad en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.), debido a las condiciones orográficas muy variadas y la amplia diversidad de nichos ecológicos (Rocandio *et al.*, 2014), lo cual beneficia para que este cultivo sea la principal gramínea (Poaceae) cultivada a nivel nacional con ocho millones de hectáreas en 2014, de las cuales en el 75% se cultivan semillas de variedades criollas que están adaptadas a diversas condiciones climáticas del país (Eakin *et al.*, 2014, SIAP, 2016). En décadas recientes se clasificaron a 209 accesiones de diferentes regiones de México, en 59 razas de maíz (Sánchez *et al.*, 2000), y posteriormente clasificadas en los grupos raciales: Cónico, Sierra de Chihuahua, Ocho hileras, Chapalote, Dentados tropicales, Tardíos y Olotillo (Reif *et al.*, 2006). La raza Zamorano Amarillo forma parte del grupo racial ocho hileras que se cultiva en el Valle de Zamora, Michoacán, y en los Altos de Jalisco, México, y sobresale de otras razas por alta producción de grano y plantas altas que son óptimas para forraje, incluso superior a los híbridos forrajeros de dicha región (González-Castro *et al.*, 2013; CONABIO, 2010; Wellhausen *et al.*, 1951). Las especies vegetales en entornos naturales y agrícolas interactúan continuamente con gran cantidad de microorganismos, principalmente en la rizósfera (Carvalhais *et al.*, 2013). El estudio de las interacciones, planta-microorganismos, en la rizósfera y su impacto en los sistemas agrícolas han sido abordados recientemente por técnicas cultivo-independientes, con plataformas de NGS (Next Generation Sequencing) con las cuales se ha logrado describir la diversidad de taxa que albergan en la rizósfera, además de mostrar la influencia de la planta sobre la estructura de la comunidad microbiana y viceversa (Carvalhais *et al.*, 2013; Bulgarelli *et al.*, 2012; Bulgarelli *et al.*, 2013; Cadena-Zamudio *et al.*, 2016). Algunos de estos estudios han demostrado la diversidad de taxa asociados a la rizósfera de maíz como Peiffer *et al.* (2013), quienes caracterizaron la diversidad bacteriana de la rizósfera de 27 líneas endogámicas de maíz, mediante pirosecuenciación de genes bacterianos con el gen 16S rRNA, y observaron variación sustancial en la riqueza bacteriana, diversidad y abundancia relativa de los taxones entre el suelo a granel y la rizósfera del maíz, teniendo como Phyla dominantes a Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes y Cianobacterias. Otro estudio similar fue realizado por Chauhan *et al.* (2011), en el cual se evaluaron 274 secuencias obtenidas de la estructura rizosférica de maíz

(*Zea mays* L.), en la cual los Phyla más relevantes fueron Proteobacterias con 48%, 10.3% de Actinobacteria, 9.9% de Bacteroidetes, 6.6% de Verrucomicrobia, 4.8% de Acidobacteria, 1.8% de Firmicutes, 1.5% de Chloroflexi, 1.5%, 0.7% de Planctomycetes, 0.7% y 0.4% Gemmatimonadetes cianobacterias. En 2015 Bakker y Chaparro describieron y contrastaron la microbiota de la rizósfera de dos genotipos de maíz (P9714XR y 35F40) en cuatro tipos de suelos con diferentes tratamientos; los principales Phyla descritos fueron Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Crenarchaeota, Acidobacteria, Planctomycetes y Gemmatimonadetes, los cuales variaron en su abundancia dependiendo del tratamiento. Con base en lo anterior, se realizó un estudio descriptivo de la microbiota asociada a la rizósfera de maíz.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de suelo se recolectaron en una parcela del municipio de Tepatitlán, Jalisco, México (AL: 20.873966, LT: -102.789430), se cultivaron en época de temporal (agosto-octubre) las variedades Pioneer, Amarillo zamorano y una raza criolla. La recolecta se realizó en dos etapas A) T0, sin cultivo de maíz y B) R4, durante el llenado de la mazorca. Se realizó el levantamiento de muestras de suelo con un nucleador. La muestra de suelo rizosférico fue a 10 cm de distancia de la orilla de la planta hacia afuera, con una profundidad de 30 cm. Se eliminó la capa superior de 5 cm aproximadamente para desechar la vegetación. En total se tomaron 25 muestras de acuerdo al protocolo de colecta cinco soles (Hernández-Ibáñez *et al.*, 2015). Las características fisicoquímicas evaluadas fueron; tipo de suelo: franco arcilloso, capacidad de campo: 34.5%, densidad aparente: 1.20 g cm<sup>-3</sup>, pH (1:2 agua): neutro con 6.77, materia orgánica: 1.66%, nitrógeno inorgánico: 21.7 mg kg<sup>-1</sup>, fósforo (Bray): 100 mg kg<sup>-1</sup>, hierro: 28.5 mg kg<sup>-1</sup>, manganeso: 46.7 mg kg<sup>-1</sup>. Se aplica cada año urea y fertilizantes comerciales.

### Extracción de DNA metagenómico y construcción de bibliotecas

El aislamiento del DNA metagenómico se realizó a partir de 0.2 g del stock de suelo rizosférico mediante el kit comercial EZ-10 Spin<sup>®</sup> Column soil DNA mini-preps kit<sup>®</sup> (Bio Basic Canada Inc., Canadá) con base a las instrucciones del fabricante. Se construyeron bibliotecas para la plataforma Ion Torrent mediante la amplificación de fragmentos de ≈300 pb que corresponden a las regiones hipervariables (V2-V4-V8, V3-V6-V7-V9) del gen 16S

rDNA, se amplificaron con el sistema comercial 16S metagenomics (ThermoFisher Scientific Inc., USA). Se purificaron las bibliotecas con el sistema Agentcourt Beads<sup>®</sup> XP (Beckman Coulter, Inc., Brea, CA, USA) y se cuantificaron con la plataforma Agilent<sup>®</sup> 2100 Bioanalyzer<sup>®</sup> (Agilent Technologies, Inc., CA, USA) para ajustar a una concentración de 50 ng/79  $\mu$ L. Se ligaron los adaptadores (A y P1) y los códigos de barras a los fragmentos de las bibliotecas con el sistema Ion Plus Fragment Library Kit (ThermoFisher Scientific Inc., USA), con base a las indicaciones para las cuantificaciones, End-Repair, amplificación, ligazón y purificaciones. Se calculó el factor de dilución (TDF) para ajustar la mezcla de bibliotecas a 26 pM. Se construyó el templado a partir de 25  $\mu$ L de la mezcla de bibliotecas en el sistema One Touch 2 (OT2) (ThermoFisher Scientific Inc., USA) con forme al protocolo del fabricante para la PCR clonal en emulsión. Se enriqueció el templado con el sistema Ion OneTouch<sup>™</sup> ES (enrichment system) (ThermoFisher Scientific Inc., USA); se cargaron 30  $\mu$ L de templado enriquecido en un Ion Chip 316 V2 (ThermoFisher Scientific Inc., USA). Se usó el sistema Ion PGM<sup>™</sup> Sequencing 400 Kit (ThermoFisher Scientific Inc., USA), con 850 flujos para la corrida de secuenciación masiva en paralelo. Se verificó el rendimiento del cargado y cantidad de secuencias útiles de la corrida en el Ion Browser (ThermoFisher Scientific Inc., USA). Se descargaron los archivos \*.bam de las muestras que se transformaron a formato \*.fastq y \*.fasta en la plataforma Galaxy (Afgan *et al.*, 2016). Los archivos \*.fastq se cargaron junto con el archivo de metadatos en la plataforma MG-RAST (Paarmann *et al.*, 2008). Se obtuvie-

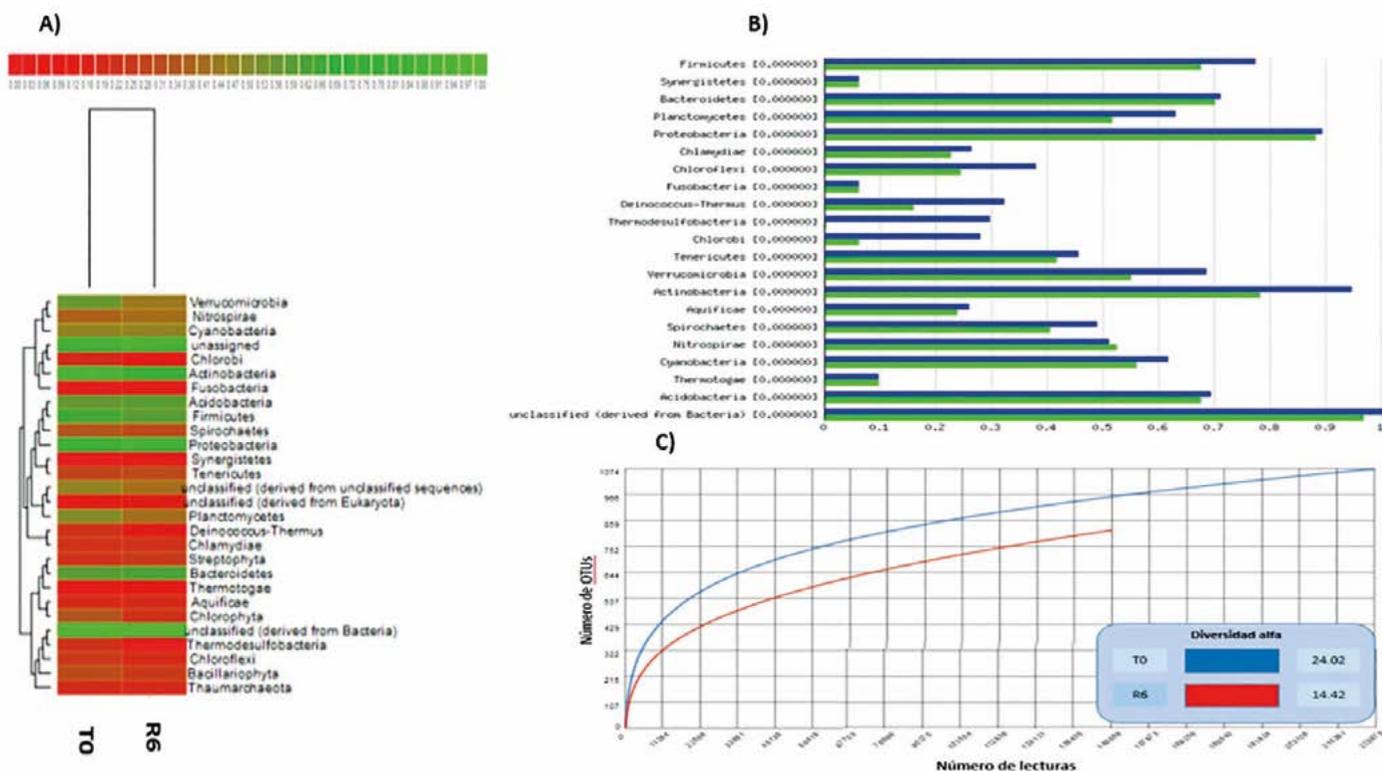
ron los resultados del análisis de diversidad alfa y beta preestablecido por la plataforma (curvas de rarefacción, heatmap, grafico de PCoA, dendograma de diversidad alfa).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

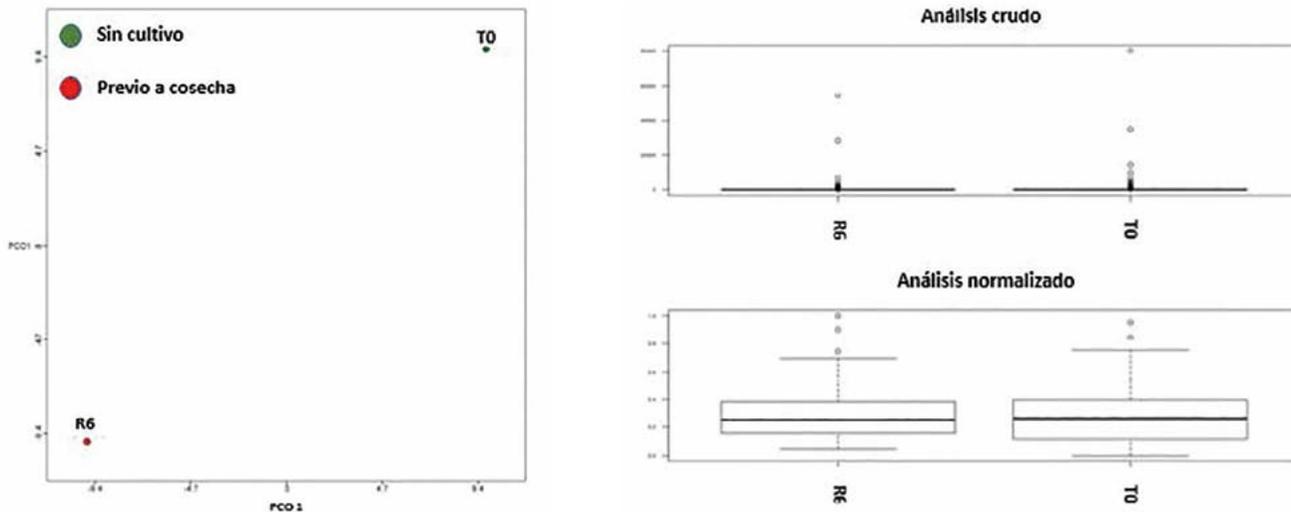
Se obtuvieron mediante la secuenciación masiva en paralelo con la plataforma Ion Torrent 296 110 secuencias útiles, 193 342 para la muestra con cultivo y 102 768 para la otra; estas se usaron para los análisis secundarios en la plataforma MG-RAST con los parámetros preestablecidos se detectaron 207 OTUs totales, 196 OTUs en la muestra sin cultivo y 188 OTUs en el suelo cultivado. Las dos muestras presentaron 177 OTUs en común, 17 OTUs fueron específicos con cultivo y 19 para la que no lo tenía. La muestra sin cultivo presentó 24.1% de secuencias para el Phylum de Actinobacteria, 15.2% en Proteobacteria y 5.3% en Firmicutes; la muestra con cultivo presentó 24.6% de Proteobacteria, 8% en Actinobacteria y 3.9% de Bacteroidetes; en relación a las secuencias que se agruparon en las no clasificadas derivadas de Bacteria para la muestra sin cultivo fue 48.8% y para la muestra con cultivo 38.7%. Los resultados mostraron que el grupo Actinobacteria disminuye en presencia del cultivo, y se observó un comportamiento inverso en el grupo Proteobacterias que aumentó con la presencia del cultivo, esto concuerda con lo descrito por Chávez-Romero *et al.* (2016) en los que determinaron este grupo de bacterias. Las Familias específicas para cada muestra presentaron porcentajes menores a 1%; sin embargo, es importante describirlas ya que marcan diferencias entre la composición de las dos muestras analizadas, en el caso del suelo sin

cultivo la Familia *Verrucomicrobiaceae* (seis secuencias) se ha asociado a diferentes ambientes y juega un papel importante en los ambientes acuáticos (Rocha *et al.*, 2010). Para el caso de la muestra con cultivo, las Familias *Brevibacteriaceae* y *Carnobacteriaceae* fueron las de mayor prevalencia, 103 y 105 secuencias respectivamente (Figura 1, 2, 3). La familia *Carnobacteriaceae* se ha registrado en diversos ambientes y destaca la presencia de sus miembros por su importancia en la industria alimentaria (Nicholson *et al.*, 2012). La familia *Brevibacteriaceae* se encuentra en diversos ambientes y presentan actividades proteolíticas y lipolíticas que las destacan en la industria de alimentos, principalmente en la maduración de quesos (Forquín-Gómez *et al.*, 2014).

Respecto a las Familias encontradas en mayor proporción en ambas muestras (Cuadro 1), destacan por presentar más del 1% de secuencias. *Micrococcaceae*, usos para producción de carnes fermentadas (Dastager *et al.*, 2014); *Nocardiodiaceae*, aislamientos de raíces de plantas herbáceas (Zhin *et al.*, 2009); *Pseudomonadaceae* (Garrity *et al.*, 2000); *Streptomycetaceae* se caracteriza por la producción de sustancias antimicrobianas (Ramazani *et al.*, 2013); En tanto la familia *Bacillaceae* algunos de sus miembros están asociados a la promoción de crecimiento vegetal (Mandic-Mulec *et al.*, 2015); *Oxalobacteraceae* asociado a ambientes con metales pesados y altas temperaturas (Gaspar *et al.*, 2015). Los estimadores de diversidad sugieren que las muestras son diversas con base al estimador de Shannon y Simpson que son considerados estimadores de estructura mostraron



**Figura 1.** Análisis de diversidad alfa y beta en la plataforma MG – Rast. A) Mapa de calor de la relación de los OTUs a nivel de phyla, se observa que las dos muestras presentaron características similares con respecto a la composición de su bioma. B) Gráfico de barras que permite visualizar la composición de las Phyla en las muestras analizadas; C) Curva de rarefacción que permite observar que la muestra R-4 es menos diversa con respecto a la T0.



**Figura 2.** Análisis de diversidad beta de muestras de suelo rizosférico de maíz en cultivo mixto. A) Gráfico de análisis de componentes principales de las muestras de suelo, las muestras T0 y R-4 no presentaron similitud en la composición de comunidades microbianas. B) datos crudos muestra que hay pocas secuencias que presentaron asignación de identidad con la base de datos y se observan varios datos externos. Los datos normalizados presentaron un comportamiento similar a los datos crudos, pero con mayor representatividad de secuencias identificadas, se observa que el gráfico R-4 tiene mayor número de muestras externas y cuartiles más pequeños con respecto a la muestra T-0.

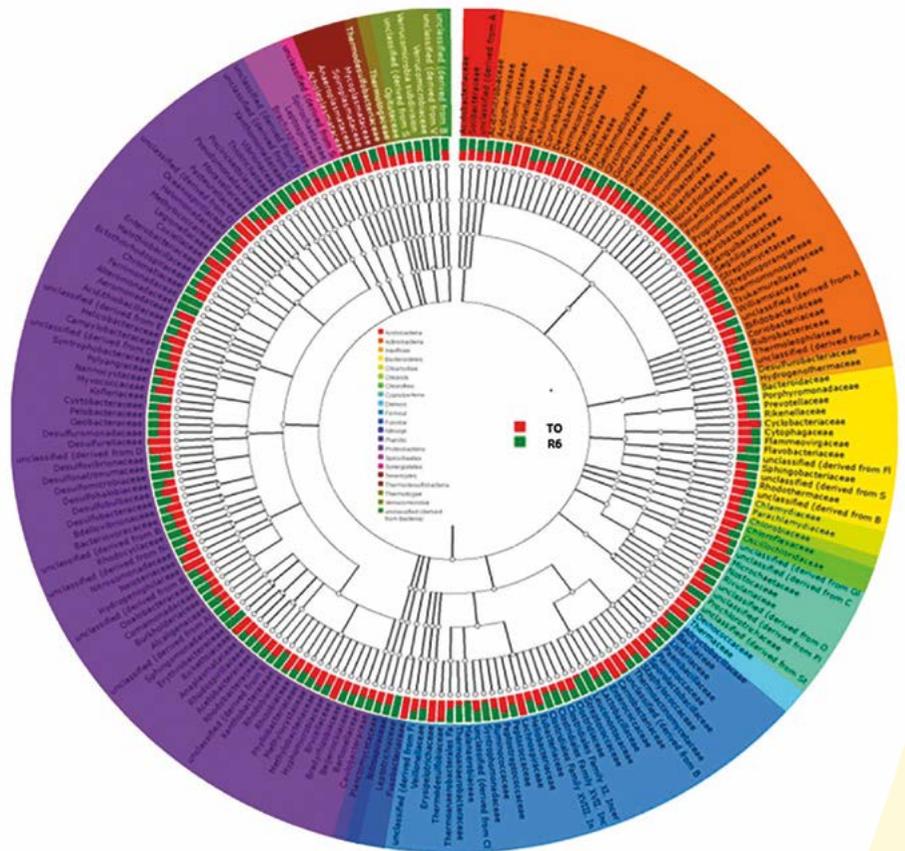
la posibilidad de encontrar nuevos OTU con respecto a la cantidad de OTU observados, estos resultados aunados a los OTU que se detectaron en mayor proporción indica que los grupos asociados a metabolismo de nitrógeno, fósforo y elementos trazas como Fe y Mn, son importantes para determinar la relación de las comunidades con el tipo de suelo. Esto concuerda con lo reportado con Chávez-Romero *et al.* (2016), donde describen aumento de la abundancia relativa de *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* y *Firmicutes* que pudieran estar relacionados con el tipo de manejo agronómico aplicado en las parcelas.

### CONCLUSIONES

Este trabajo permitió describir los grupos microbianos presentes en una parcela para cultivo de maíz, estos grupos se asocian a diversas funciones metabólicas importantes para generar componentes que benefician el adecuado desarrollo de las plantas, tales como solubilizadores de fósforo, fijadores de nitrógeno y resistencia a metales como hierro y cobre. El manejo agronómico que se da a la parcela se relaciona a los cambios detectados en la microbiota de suelo sin cultivo a la estructura con la presencia de las plantas.

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el proyecto de investigación "Estudio de la diversidad microbiana asociada a suelo rizosférico de 10 variedades de maíz" con recursos fiscales del INIFAP, con número de proyecto SIGI: 16131431995. Agradecimientos por el apoyo del Médico Enrique Casillas Gómez en el acceso a la parcela para la obtención de las muestras de suelo en la región de los Altos de Jalisco.



**Figura 3.** Árbol filogenético a nivel Phyla. En los nodos interiores se observa la relación que existe entre los diferentes muestreos y la familia de microorganismos, con base al código de colores que se encuentra en el centro de la gráfica al lado derecho; en los nodos externos se ejemplifica el tipo de familia y cada color representa la phyla a la que pertenecen las familias, con base al código de colores que se encuentra en el interior de la gráfica al lado izquierdo.

### LITERATURA CITADA

Afgan E., Baker D., Beek M., Blankenberg D., Bouvier D., Čech M., Chilton J., Clements D., Coraor N., Eberhard C., Grünig B, Guerler A., Hillman-Jackson J., Kuster G.V., Rasche E., Soranzo N., Turaga N., Taylor J., Nekrutenko A., and Goecks J. 2016. The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2016 update. *Nucleic Acids Research*; 2016, doi: 10.1093/nar/gkw343.

Bakker M.G., Chaparro J.M., Manter D.K., and Vivanco J.M. 2015. Impacts of bulk soil microbial community structure on rhizosphere microbiomes of *Zea mays*. *Plant Soil*; 392:115-126.

Bulgarelli D., Garrido-Oter R., Münch P.C., Weiman A., Dröge J., Pan Y., McHardy A.C., and Schulze-Lefert P. 2015. Structure and Function of the Bacterial Root Microbiota in Wild and Domesticated Barley. *Cell Host Microbe*; 17(3):392-403.

Bulgarelli D., Schlaeppi K., Spaepen S., Themaat E.V.L., and Schulze P. L., 2013. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology*; 64:807-838.

Cadena-Zamudio J.D., Martínez-Peña M.D., Guzmán-Ramírez L.F., Arteaga-Garibay R.I., 2016. Aplicación de la secuenciación masiva para el estudio y exploración de diversidad microbiana y su aprovechamiento biotecnológico. *AgroProductividad*; 9(2):70-83.

Carvalho L.C., Muzzi F., Tan C.H., Hsien-Choo J., and Schenk P.M. 2013. Plant growth in *Arabidopsis* is assisted by compost soil-derived microbial communities. *Frontiers in Plant Sciences*; 4:235.

Chauhan P.S., Chaudhry V., Mishra S., Nautiyal C.S. 2011. Uncultured bacterial diversity in tropical maize (*Zea mays* L.) rhizosphere. *Journal of Basic Microbiology*; 51:15-32.

Chávez-Romero Y., Navarro-Noya Y.E, Reynoso-Martínez S.C., Sarria-Guzmán Y., Govaerts B., Verhulst N., Dendooven L., and Luna-Guido M. 2016. 16S metagenomics reveals changes in the soil bacterial community driven by soil organic C, N-fertilizer and tillage-crop residue management. *Soil and Tillage Research*; 159(2016):1-8.

CONABIO. 2010. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Tabla descriptiva de razas de Maíz en México. Acceso: 05/mayo/16, en: [http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/proyecto/Anexo6\\_ReunionesTalleres/Tabla%20razas\\_marzo%202010.pdf](http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/proyecto/Anexo6_ReunionesTalleres/Tabla%20razas_marzo%202010.pdf).

- Dastager S.G., Krishnamurthi S., Rameshkumar N., Dharne M. 2014. The Family Micrococcaceae. In book: The Prokaryotes, pp.455-498. DOI: 10.1007/978-3-642-30138-4\_168.
- Eakin H., Perales H., Appendini K., and Sweeney S. 2014. Selling maize in Mexico: the persistence of peasant farming in an era of global markets. Economic Development and Cultural Change. 45: 133-155.
- Forquin-Gomez M.P., Weimer B.C. Sorieul L., Kalinowski J., and Vallaeys T. (2014). The Family Brevibacteriaceae. Rosenberg et al. (eds.), The Prokaryotes – Actinobacteria, DOI 10.1007/978-3-642-30138-4\_169, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Garrity G.M., Bell J.A. and Lilburn T. 2005. Order IX Pseudomonadales. Family I Pseudomonadaceae nov. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edn, vol. 2 (The Proteobacteria), part B (The Gammaproteobacteria), p. 1. Edited by Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T., and Garrity G.M. New York, Springer.
- Gaspar H., Ferreira R., González J.M., da Clara M.I., Santana M.M. 2015. Influence of Temperature and Copper on Oxalobacteraceae in Soil Enrichments. Current Microbiology; 71(6): DOI 10.1007/s00284-015-0960-1. Revista Fitotecnia Mexicana; 36(3-A):329-338.
- González-Castro ME, Palacios-Rojas N, Espinoza-Banda A, y Bedoya-Salazar CA. 2013. Diversidad genética en maíces nativos mexicanos tropicales.
- Hernández-Ibáñez A.M., Arteaga-Garibay R.I., Martínez-Peña M.D., Zaldívar-López H.A., Aragón-Cuevas F., y Avendaño-Arrazate C.H. 2015. Guía para toma de muestras de suelo rizosférico para análisis microbiológico. Folleto Técnico No. 1. Centro Nacional de Recursos Genéticos, Tepatlán de Morelos, Jalisco, México. 40 págs.
- Mandic-Mulec I., Stefanic P., van Elsas J.D. 2015. Ecology of Bacillaceae. Microbiology Spectrum; 3(2): TBS-0017-2013.
- Nicholson W.L., Krivushin K., Gilichinsky D., and Schuerger A.C., 2012. Growth of *Carnobacterium* spp. from permafrost under low pressure, temperature, and anoxic atmosphere has implications for Earth microbes on Mars. PNAS, 110(2):666-671.
- Paarmann D., D'Souza M., Olson R., Glass E.M., Kubal M., Paczian T., Rodriguez A., Stevens R., Wilke A., Wilkening J., and Edwards R.A. (2008). The metagenomics RAST server – a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes. BMC Bioinformatics; 9:386.
- Peiffer J.A., Spor A., Koren O., Jin Z., Tringe S.G., Dargatzis J.L., Buckler E.S., and Ley R.E., 2013. Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions. PNAS; 110(16):6548-6553.
- Ramazani A, Moradi S., Sorouri R., Javani S., and Garshabi M. 2013. Screening for antibacterial activity of *Streptomyces* species isolated from Zanjan province, Iran. International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences; 3(2):342-349.
- Reif J.C., Warburton M.L., Xia X.C., Hoisington D.A., Crossa J., Taba S., Muminović J., Bohn M., Frisch M., Melchinger A E (2006). Grouping of accessions of Mexican races of maize revisited with SSR markers. Theor. Appl. Genet. 113:177-85.
- Rocandio, R. M., Santacruz, V. A., Córdova, T. L., López, S. H., Castillo, G. F., Lobato, O. R., García Z. J. J., Ortega P. J. 2014. Caracterización Morfológica y Agronómica de Siete Razas de Maíz de los Valles Altos de México. Revista Fitotecnia Mexicana. 37: 351 - 361.

**Cuadro 1.** Proporción de Familias detectadas en un cultivo de maíz Zamorano Amarillo.

Secuencias y OTUs obtenidos			
Muestra	T0	R-6	Total
OTUs (familia)	195	187	207
Secuencias	n=193 342	n=102768	N=296 110
Estimadores de diversidad (EstimateS)			
Chao 1	214.25	207.41	NA
Chao 2	207.23	190.68	NA
Alpha	21.81	21.63	NA
Shannon	2.41	2.25	NA
Simpson	3.26	3.09	NA
Familias con una proporción mayor al 1% en la parcela (MG-RAST)			
sin clasificar (derivado de Bacteria)	51.32304414	60.76405107	54.59964202
Micrococcaceae	7.515180354	0.918573875	5.225760697
Nocardioidaceae	5.287521594	0.658765374	3.681064469
sin clasificar (derivado de Alphaproteobacteria)	2.726774317	4.16374747	3.225490527
sin clasificar (derivado de Betaproteobacteria)	3.420363915	1.89845088	2.892168451
Pseudomonadaceae	0.034653619	6.460182158	2.264698929
sin clasificar (derivado de Deltaproteobacteria)	1.582170454	1.111240853	1.418729526
Streptomycetaceae	2.059562847	0.067141523	1.368072676
Bacillaceae	1.711475003	0.529347657	1.301205633
Mycobacteriaceae	1.209773355	1.466409777	1.298841647
Oxalobacteraceae	0.4122229	2.391795111	1.099253656
sin clasificar (derivado de Proteobacteria)	1.194256809	0.867001401	1.080679477
Pseudonocardiaceae	1.257357429	0.525455395	1.003343352
Otros	20.26564326	18.17783746	19.54104893
Total (%)	100	100	100

Rocha U.N., Elsas J.D., Overbeek L.S. (2010). Real-time PCR detection of Holophagae (Acidobacteria) and Verrucomicrobia subdivision 1 groups in bulk and leek (*Allium porrum*) rhizosphere soils. Journal of Microbiological Methods; 83(2010):141-148.

SAGARPA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación-Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2016. Producción anual. Cierre de la producción agrícola por cultivo. SIAP-SAGARPA. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/> Accesado el: 19/20/16.

Sánchez G.J.J., Goodman M.M., Stuber C.W. 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. Economic Botany; 54:43-59.

Weinert N., Piceno Y., Ding G.C., Meincke R., Heuer H, Berg G, Schloter M., Andersen G., and Smalla K. 2011. PhyloChip hybridization uncovered an enormous bacterial diversity in the rhizosphere of different potato cultivars: many common and few cultivar-dependent taxa. FEMS Microbiology Ecology; 75(2011):497-506.

Wellhausen E. J., Roberts L. M., Hernandez X. E., and Mangelsdorf P. C. 1951. Razas de maíz en México. Su origen, características y distribución. Oficina de Estudios Especiales Secretaría de Agricultura y Ganadería. Folleto técnico 55. México, D.F.