



***EVALUACIÓN DEL USO DEL GLIFOSATO SOBRE LA MICROBIOTA DEL  
SUELO, EN LA ZONA DE AMORTIGUACIÓN DEL PARQUE NACIONAL  
NATURAL PARAMILLO, EN CÓRDOBA, COLOMBIA.***

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO  
TRABAJO DE GRADO  
BOGOTÁ D.C.  
2019- I**



***EVALUACIÓN DEL USO DEL GLIFOSATO SOBRE LA MICROBIOTA DEL  
SUELO, EN LA ZONA DE AMORTIGUACIÓN DEL PARQUE NACIONAL  
NATURAL PARAMILLO, EN CÓRDOBA, COLOMBIA.***

**DEBBYE CAROLINA CASTAÑEDA NEUTA  
ANGELICA MARIA CONTRERAS GARZON  
INGRID DANIELA AGUILAR LOPEZ**

**Mg. LIGIA CONSUELO SÁNCHEZ LEAL**

Asesora

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO  
TRABAJO DE GRADO  
BOGOTÁ D.C.**

**2019- I**

## DEDICATORIA

Especialmente a mi madre, por su amor incondicional y fuerza inquebrantable, te mereces el mundo entero.

A mi padre por su esfuerzo y trabajo constante, gracias por plasmar en mi tu arranque.

A Luis Angel, por su cariño, tiempo y paciencia, a lo largo de estos años nunca me has dejado combatir sola en el campo de batalla.

A ti mi pequeña niña "Sammy Kaori" por ser luz en la oscuridad, por ser mi maestra de la vida y mi mayor ejemplo.

A mis compañeras Angelica y Daniela, por los cientos de anécdotas juntas que siempre recordaré con amor.

Debbye

Este trabajo se debe al esfuerzo y apoyo de muchas personas, que me acompañaron en este camino. Dedico este trabajo a Dios por hacer posible la realización de este proyecto.

A mis padres Melba y Oswaldo, por estar presentes en cada uno de las etapas de mi vida y en los pasos que me llevaron a la culminación de esta etapa de mi vida.

A mis hermanos Ángela y Santiago por la compañía, la paciencia y por sentir mis logros como propios.

A mis abuelitos José y Luisa, por su amor, apoyo y compañía en todos los momentos importante de mi vida.

A mi novio, por estar presente en cada una de las facetas de este trabajo y brindarme su apoyo incondicional.

A mis compañeras de tesis, Angélica y Debbye, por ser amigas incondicionales y por afrontar con paciencia y dedicación la realización de este proyecto.

Daniela

Dedico este trabajo primeramente a Dios por permitirme culminar esta etapa de mi vida.

A mis papas Amanda y Saul, por su amor y apoyo incondicional especialmente en estos últimos 5 años, gracias por sus buenos consejos y por ser los principales promotores de este sueño.

A mis hermanos por su confianza y colaboración en todo momento

A mi novio por ser un compañero y amigo incondicional y sobre todo por su motivación constante

A mi bebe que estuvo en mi vientre y me acompañó en cada momento para poder culminar esta meta

A mis compañeras de tesis Daniela y Debbye por compartir momentos inolvidables a lo largo de la carrera y especialmente por su dedicación para realizar este trabajo.

Finalmente, a todos aquellos familiares y amigos por sus consejos y palabras que me acompañaron a lo largo de mi carrera.

Angelica

## **AGRADECIMIENTOS**

A la universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por habernos prestado sus instalaciones para la culminación de este proyecto y ser escenario de diferentes conocimientos y experiencias a lo largo de nuestra carrera

A la profesora Ligia Consuelo Sánchez por ser nuestra asesora y depositar su confianza, tiempo, esfuerzo y paciencia, por siempre escucharnos y aconsejarnos para cumplir nuestros sueños, especialmente la culminación de nuestro proyecto.

A la profesora Martha Lucía Posada, por su colaboración, consejos y disposición para transmitirnos sus conocimientos con paciencia, respeto y cariño.

A Don Agustín Hernández por permitirnos llevar a cabo este proyecto en su maravilloso hogar, por su amabilidad, compañía y guianza.

A Luis Angel Canchila, por su tiempo y disposición para ayudar desde el inicio de este gran camino.

A nuestras familias y amigos por el apoyo en todos los momentos de alegría y tristeza.

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>PAG</b>
INDICE DE FIGURAS .....	11
INDICE DE TABLAS .....	12
RESUMEN .....	13
INTRODUCCIÓN .....	16
OBJETIVOS .....	19
OBJETIVO GENERAL .....	19
OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	19
1. ANTECEDENTES.....	20
2. MARCO REFERENCIAL .....	25
2.1 Municipio de Tierralta.....	25
2.1.1 Parque Nacional Natural Paramillo.....	26
2.1.2 Vereda Tuis Tuis, finca Tuti Fruti .....	27
2.1.3 Zona de amortiguación Parque Nacional Natural Paramillo .....	28
2.2 Generalidades de Glifosato.....	29
2.2.1 Mecanismo de acción.....	31
2.2.2 Toxicidad .....	32
2.3 Historia en Colombia.....	33
2.4 Generalidades del suelo.....	35
2.4.1 Propiedades físicas del suelo .....	36
2.4.2 Propiedades químicas del suelo.....	36
2.4.3 Microorganismos del suelo .....	37
2.4.3.1 Bacterias.....	38
- Bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) .....	38
2.4.3.2 Actinomicetos .....	39
2.4.4 Grupos funcionales presentes en el suelo .....	39
2.4.4.1 Microorganismos fijadores de nitrógeno.....	39

2.4.4.2	Microorganismos celulolíticos.....	40
2.4.4.3	Microorganismos amilolíticos.....	41
2.4.4.4	Microorganismos proteolíticos .....	41
2.4.4.5	Microorganismos solubilizadores de fosfato .....	42
2.4.5	Vía del shikimato.....	42
2.5	Metagenómica como alternativa para conocer el microbioma de un ambiente .....	44
2.5.1	Pasos de la metagenómica .....	45
2.5.1.1	Extracción de ADN metagenómico .....	45
2.5.1.2	PCR.....	46
2.5.1.3	Electroforesis.....	47
2.5.1.4	Secuenciación de próxima generación .....	48
-	Illumina.....	48
-	<b>Illumina Miseq</b> .....	<b>49</b>
2.6	Identificación Procariota por ARNr 16S.....	49
2.7	Bioinformática .....	51
2.7.1	BLAST .....	51
2.7.2	QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology).....	52
2.7.3	DADA2.....	52
3.	DISEÑO METODOLÓGICO .....	54
3.1	Tipo de investigación .....	54
3.2	Universo, población, muestra.....	54
3.2.1	Universo.....	54
3.2.2	Población .....	54
3.2.3	Muestra .....	54
3.3	Variables, indicadores.....	54
3.3.1	Variable independiente: .....	54
3.3.2	Variable dependiente: .....	55

3.3.3. Indicadores .....	55
3.4 Hipótesis .....	56
3.5 Técnicas y procedimientos.....	56
3.5.1 Ubicación de la zona de muestreo.....	56
3.5.2 Recolección de muestras.....	57
3.5.3 Conservación de muestras .....	59
3.5.4 Análisis físico químico.....	59
3.5.5 Extracción de DNA genómico .....	60
3.5.6 PCR .....	61
3.5.7 Electroforesis .....	61
3.5.8 Cuantificación .....	62
3.5.9 Secuenciación .....	62
3.5.9.1 Preparación de la biblioteca 16S .....	62
3.5.9.2 Secuenciación .....	63
3.5.10 Análisis bioinformático .....	63
4 RESULTADOS .....	64
4.1 PCR y electroforesis .....	64
4.2 Análisis físico químico.....	65
4.3 Análisis metagenómico .....	67
4.3.1 Secuencias obtenidas.....	68
4.3.2 Análisis metagenómico del gen ARNr 16S .....	68
5 DISCUSIÓN .....	75
6 CONCLUSIONES.....	100
7. RECOMENDACIONES .....	101
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	102
ANEXOS .....	117

## INDICE DE FIGURAS

	<b>PAG</b>
FIGURA 1. MAPA DEL MUNICIPIO TIERRALTA, CÓRDOBA, COLOMBIA ..	25
FIGURA 2. MAPA DEL PARQUE NACIONAL NATURAL PARAMILLO, CÓRDOBA, COLOMBIA.....	26
FIGURA 3. MAPA DE LA FINCA TUTI FRUTI .....	27
FIGURA 4. MAPA DE LA VEREDA TUIS TUIS .....	28
FIGURA 5. FORMULA ESTRUCTURAL DE GLIFOSATO Y SAL ISOPROPIL AMINA DE GLIFOSATO.....	29
FIGURA 6. MECANISMO DE ACCIÓN DEL GLIFOSATO .....	31
FIGURA 7. RUTA DEL SHIKIMATO .....	43
FIGURA 8. RUTA DE CORISMATO .....	43
FIGURA 9. REGIONES ENCONTRADAS EN EL ARNR 16S.....	50
FIGURA 10. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA.....	56
FIGURA 11. MAPA VEREDA TUIS TUIS.....	57
FIGURA 12. MAPA DE LA FINCA TUTI FRUTI .....	58
FIGURA 13. PCR DE LA REGIÓN 16S DEL ARNR DE MUESTRAS DE SUELO DE LA ZONA DE AMORTIGUACIÓN DEL PARQUE NACIONAL NATURAL PARAMILLO, CÓRDOBA.....	64
FIGURA 14. MAPA DE CALOR DE LA COMPOSICIÓN E IDENTIFICACIÓN PROCARIOTA A NIVEL DE FILO. ....	69
FIGURA 15. MAPA DE CALOR DE LA COMPOSICIÓN E IDENTIFICACIÓN PROCARIOTA A NIVEL DE CLASE.....	70
FIGURA 16. MAPA DE CALOR DE LA COMPOSICIÓN E IDENTIFICACIÓN PROCARIOTA A NIVEL DE ORDEN.....	71
FIGURA 17. MAPA DE CALOR DE LA COMPOSICIÓN E IDENTIFICACIÓN PROCARIOTA A NIVEL DE FAMILIA.....	72
FIGURA 18. MAPA DE CALOR DE LA COMPOSICIÓN E IDENTIFICACIÓN PROCARIOTA A NIVEL DE GÉNERO .....	73
FIGURA 19. MAPA DE CALOR DE LA COMPOSICIÓN E IDENTIFICACIÓN PROCARIOTA A NIVEL DE ESPECIE .....	74

## INDICE DE TABLAS

	PAG
TABLA 1. INDICADORES .....	55
TABLA 2. DESCRIPCIÓN DE ZONAS DE MUESTREOS. ....	58
TABLA 3. CICLAJE Y TEMPERATURA DE LA PCR .....	61
TABLA 4. RESULTADOS ELEMENTOS MAYORES DE MUESTRAS DE SUELO DE LA ZONA DE AMORTIGUACIÓN DEL PARQUE NACIONAL NATURAL PARAMILLO, CÓRDOBA.....	65
TABLA 5. RESULTADOS RELACIONES CATIONICAS DE MUESTRAS DE SUELO DE LA ZONA DE AMORTIGUACIÓN DEL PARQUE NACIONAL NATURAL PARAMILLO, CÓRDOBA.....	66
TABLA 6. RESULTADOS DE OTROS PARÁMETROS ANALIZADOS EN MUESTRAS DE SUELO DE LA ZONA DE AMORTIGUACIÓN DEL PARQUE NACIONAL NATURAL PARAMILLO, CÓRDOBA .....	67
TABLA 7. NÚMERO DE SECUENCIAS OBTENIDAS .....	68



**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO**

**EVALUACIÓN DEL USO DEL GLIFOSATO SOBRE LA MICROBIOTA DEL  
SUELO, EN LA ZONA DE AMORTIGUACIÓN DEL PARQUE NACIONAL  
NATURAL PARAMILLO, EN CÓRDOBA, COLOMBIA.**

## **RESUMEN**

El glifosato es un herbicida de amplio espectro utilizado para la erradicación de cultivos ilícitos y para el control de malezas en cultivos lícitos de importancia agrícola. En Colombia, en los últimos años, su uso ha tenido un gran auge, debido al incremento de cultivos de coca, marihuana y amapola, ocasionando variaciones en la microbiota presente en el suelo, de acuerdo con investigaciones previas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del uso de glifosato sobre la diversidad de poblaciones microbianas presentes en el suelo de la zona de amortiguación del parque Nacional Natural Paramillo, Córdoba, Colombia. La metodología incluyó la recolección de muestras de suelo de dos zonas diferentes del parque: suelo impactado con glifosato y

suelo sin contacto previo con glifosato, para esto se tuvo en cuenta el formato de concepto técnico sobre daño ambiental emitido por el Parque Nacional Natural Paramillo. Se realizó extracción de ADN mediante el kit comercial ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep, el cual fue analizado mediante la plataforma de secuenciación de segunda generación Illumina Mi Seq, a partir de las región 16S del rRNA de procariontes. Para el suelo con glifosato se obtuvieron 55414 secuencias crudas y 219 OTU y para el suelo sin glifosato se obtuvieron 56656 secuencias crudas y 405 OTUs, respecto a los parámetros taxonómicos predominantes se encontró: Filo Proteobacterias (30.8% y 34.9%), Clase Alphaproteobacteria (18.27% y 24.56%), Orden Rhizobiales (12.2% y 15.2%), Familia Xanthomonadaceae (2.9% y 0.0%), Género *Acidothermus* (4.2% y 4.5%) y finalmente Especie *defluvii-equi-niigatensis* (2.0% y 0.9%).

## SUMMARY

Glyphosate is a broad-spectrum herbicide used for the eradication of illicit crops and for the control of weeds in licit crops of agricultural importance. In Colombia, in recent years, its use has had a great boom, due to the increase in coca, marijuana and poppy crops, causing variations in the microbiota present in the soil, according to previous research. The objective of this work was to evaluate the effect of the use of glyphosate on the diversity of microbial populations present in the soil of the buffer zone of the Parque Nacional Natural Paramillo, Córdoba, Colombia. The methodology included the collection of soil samples from two different areas of the park: soil impacted with glyphosate and soil without previous contact with glyphosate, for this the format of the technical concept on environmental damage emitted by the Parque Nacional Natural Paramillo was taken into account. DNA extraction was carried out using the commercial kit ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep, which was analyzed using the second generation sequencing platform Illumina Mi Seq, from the 16S region of prokaryotic rRNA. For the soil with glyphosate 55414 crude sequences and 219 OTU were obtained and for the soil without glyphosate 56656 crude sequences and 405 OTUs were obtained, with respect to the predominant taxonomic parameters found: Phylum Proteobacteria (30.8% and 34.9%), Class

Alphaproteobacteria ( 18.27% and 24.56%), Order Rhizobiales (12.2% and 15.2%), Family Xanthomonadaceae (2.9% and 0.0%), Genus *Acidothermus* (4.2% and 4.5%) and finally Species *defluvii-equi-niigatensis* (2.0% and 0.9% ).

**PALABRAS CLAVES:** Glifosato, sistemas agroforestales, microbiota, metagenómica, ARN, secuenciación de segunda generación, ilumina, Parque Nacional Natural Paramillo.

**Estudiantes** Ingrid Daniela Aguilar López

Debbye Carolina Castañeda Neuta

Angélica María Contreras Garzón

**Docentes** Ligia Consuelo Sánchez Leal

**Fecha** 2019-I

**Institución** UCMC

## INTRODUCCIÓN

El glifosato es un herbicida no selectivo de amplio espectro utilizado a nivel mundial desde los años 70, principalmente para el control de malezas o arvenses en diversos cultivos de importancia agrícola como el arroz, oliva, caña de azúcar, sorgo, entre otros (1). Algunas investigaciones afirman, que se han producido daños irreversibles en el ambiente, como la contaminación de fuentes hídricas, disminución de la biodiversidad de flora y fauna presentes en las zonas; afectando la salud de los pobladores, en especial a los cultivadores poniendo en peligro la seguridad alimentaria al afectar los cultivos comerciales(2). Todo esto implica una alteración en el ecosistema del suelo debido al efecto directo sobre varios componentes del microbioma, como bacterias, hongos y actinomicetos, las cuales son comunidades esenciales porque son los encargados de los ciclos biogeoquímicos. En este sentido, el uso del glifosato afecta las reacciones bioquímicas propias de cualquier planta, incidiendo en el desarrollo y la nutrición vegetal (3). Por otro lado, también se han reportado beneficios en el uso del glifosato para la producción de cultivos importantes para consumo humano, ya que asegura la eliminación de las malezas invasivas y nocivas que afectan o disminuyen su rendimiento (4). Sin embargo, los residuos de glifosato en cualquier alimento no presentan riesgos para los consumidores siempre y cuando cumplan con las tolerancias establecidas por la EPA (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos)(5).

Al respecto, un estudio realizado en plantaciones de olivo, en la provincia de Córdoba, Argentina demuestra que la aplicación de glifosato puede producir una rápida y duradera reducción de la actividad microbiana total y alterar su estructura, con un mayor impacto en suelos sin historial de aplicación de herbicidas (6). La metagenómica es una herramienta de última generación que se utiliza en la actualidad para realizar el análisis de las diferentes especies que conforman un nicho ambiental, sin utilizar un proceso de aislamiento y recuperación por microbiología tradicional. Los datos que se obtienen permiten

construir librerías para la identificación de nuevos microorganismos y los ya descritos, mediante técnicas de secuenciación.

De acuerdo con los datos recolectados para esta investigación, el día 12 de enero del año 2013, la Dirección Nacional de Estupefacientes realizó por primera y única vez la fumigación aérea con glifosato en la vereda Tuis Tuis del municipio de Tierralta, donde fueron afectadas áreas de establecimiento de sistemas agroforestales en la finca Tuti Fruti, ubicada en la zona de amortiguación del Parque Nacional Natural Paramillo. Los cultivos que ha producido esta finca, son variedades forestales maderables de gran valor comercial, forestales no maderables y varias plantaciones frutales. En total, el área afectada fue de aproximadamente 2 hectáreas y se registraron en total mil seiscientos cincuenta (1.650) árboles afectados. Dichos datos obtenidos a partir del inventario forestal realizado por el Parque Nacional Natural Paramillo, constituyen la justificación para la presente investigación. El objetivo fue evaluar el efecto que tiene el uso de glifosato sobre la diversidad de poblaciones microbianas en suelos de dos zonas diferentes de la finca Tuti Fruti; 1) zona con vegetación, animales y suelo impactado con glifosato por error, en proceso de reforestación desde el año 2014 y 2) zona sin impacto con glifosato, mediante análisis metagenómico. Para determinar la diferencia entre los dos suelos se tuvo en cuenta el concepto técnico sobre daño ambiental ocasionado por la fumigación aérea con glifosato sobre área con sistemas agroforestales, emitido por la oficina de Tierralta del Parque Nacional Natural Paramillo, donde se realizó un inventario forestal al cien por ciento, para tener precisión de la cantidad de árboles afectados y los datos silviculturales de cada uno de ellos.

Los resultados del análisis metagenómico permiten establecer que para la muestra de suelo con glifosato y suelo sin glifosato, predominan los Filos Proteobacteria (30.8% y 34.9%), Acidobacteria (15.7% y 33.0%) y Actinobacteria (13.9% y 8.7%), a nivel de Clase se presentó alta abundancia de Alphaproteobacteria (18.3% y 24.6%), Acidobacteria (14.7% y 32.7%) y Actinobacteria (11.3% y 7.1%), a nivel de Orden tuvo mayor relevancia Acidobacteriales (5.7% y 10.6%), Rhizobiales (12.2% y 15.2%) y

Rhodospirillales (5.8% y 9.0%), en el caso de las familias se encontró en mayor cantidad Xanthobacteraceae (4.8% y 8.2%), Planctomycetaceae (7.1% y 3.9%), a nivel de género predominó *Acidothermus* (4.2% y 4.5%) y *Solibacter* (1.1% y 4.6%) y finalmente las especies más representativas fueron *defluvii-equi-niigatensis* (2.0% y 0.9%) y *paradoxus* (0.1% y 1.8%).

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto que tiene el uso de glifosato sobre la diversidad de poblaciones microbianas presentes en el suelo de la zona de amortiguación del Parque Nacional Natural Paramillo, en Córdoba, Colombia.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Caracterizar las diferentes comunidades procariotas presentes en el suelo de áreas de establecimiento de sistemas agroforestales, de la zona de amortiguación del Parque Nacional Natural Paramillo, en Córdoba, Colombia por medio de metagenómica.
- Relacionar las propiedades fisicoquímicas de los diferentes suelos: suelo impactado con glifosato y suelo sin contacto previo con glifosato, con los resultados obtenidos del análisis metagenómico.
- Comparar la microbiota presente en el suelo con previa exposición a glifosato, frente a la microbiota presente en el suelo que no ha sido tratado con dicho herbicida.

## 1. ANTECEDENTES

El uso de herbicidas para control de malezas es reconocido ampliamente a nivel mundial, en el manejo de cultivos de importancia para el consumo humano desde hace más de 30 años. Dentro del grupo de los herbicidas, el más importante y de mayor uso es el glifosato (2). Diversos estudios han centrado sus investigaciones en evidenciar el impacto que tiene el uso del glifosato sobre los seres vivos y en particular en las comunidades microbianas presentes en el suelo. Los interrogantes sobre si este herbicida altera o no la microbiota ha sido tema de diversas discusiones, debido a los diferentes resultados y conclusiones de los investigadores.

Malty JS, Siqueira JO, Moreira FMS en 2006 (7) centraron sus investigaciones en el efecto que tiene la aplicación *in vitro* de glifosato en concentraciones crecientes (0–454  $\mu\text{M}$ ) sobre *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium japonicum* y sobre tres especies de hongos micorrízicos arbusculares (AMF): *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* y *Scutellospora heterogaman*, donde se encontró que el glifosato inhibió el crecimiento de las cepas de *Bradyrhizobium spp* y AMF en los medios de cultivo solo cuando las concentraciones fueron mayores a 7 $\mu\text{M}$ , concentración recomendada para el uso en el campo.

Un estudio realizado en Colombia por Cuervo Andrade JL en 2007 (1), demostró la interacción del glifosato con la microbiota del suelo y su comportamiento en suelos utilizados para fines agrícolas en el departamento del Tolima. Este estudio se realizó por microbiología convencional en materas y bajo condiciones de invernadero que simulaban las condiciones de uso del herbicida en cultivos de arroz. Como resultado se obtuvo que las bacterias fueron el grupo más sensible al glifosato en comparación con los hongos y actinomicetos, aunque diversos morfotipos bacterianos fueron tolerantes al compuesto, a concentraciones más altas del herbicida, las poblaciones microbianas se redujeron de manera considerable y en muchos casos desaparecieron.

Por otra parte, Martínez Nieto P, Bernal Castillo J, Fonseca Agudelo E, Bernier Lopez S. en 2012 (8), evaluaron la degradación del glifosato y la resistencia que presentan determinadas bacterias a diferentes concentraciones de este

compuesto, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia gladioli* y *Flavimonas oryzihabitans*, mediante técnicas analíticas como la curva de crecimiento bacteriano, prueba turbidimétrica, pruebas de antagonismo, toxicidad y cromatografía. En este estudio, se obtuvo como resultado diferentes patrones de tolerancia al herbicida; en el caso de *P. aeruginosa* se obtuvo un 10%, *P. fluorescens* y *B. gladioli* un 2.0 % y para *F. oryzihabitans* 0.25%. En el caso de los consorcios *B. gladioli* + *P. fluorescens* + *F. oryzihabitans* se observó una tolerancia del 20% en relación al consorcio *P. fluorescens* + *P. aeruginosa*, el cual presentó una tolerancia del 30%.

Un estudio similar, ejecutado por Chaves Bedoya G, Ortíz Moreno ML, Ortiz Rojas LY en 2013 (9), en cultivos de arroz en los Llanos orientales de Colombia, demostró que la aplicación de glifosato, así como de otros agroquímicos, pueden impactar de diferentes maneras los microorganismos que se encargan de la descomposición de la materia orgánica en el suelo. En el caso del suelo con glifosato, se encontró que poblaciones como los actinomicetos no fueron afectadas de forma negativa, en comparación con los microorganismos solubilizadores de fósforo, los cuales disminuyeron su abundancia cuando se comparó el suelo control ( $8 \times 10^5$  UFC/g) con el suelo tratado con glifosato ( $< 1 \times 10^5$  UFC/g). Por otro lado hongos como *Penicillium* y *Fusarium* fueron eliminados completamente por este herbicida.

Uno de los puntos más importantes que parece tener mucha importancia por la toxicidad que se produce, es la tolerancia que presentan ciertos cultivos a herbicidas como el glifosato, ya sea a su ingrediente activo o a la formulación comercial. A partir de esta premisa, Allegrini M, Zabaloy MC, Gómez Edel V. en 2015 (10) evaluaron la tolerancia al glifosato por parte de la microbiota mediante la extracción y cuantificación de ADN, PCR en tiempo real y electroforesis en gel de gradiente desnaturizante (DGGE). Se encontró, que en suelos con previa exposición al herbicida existe una mayor tolerancia al glifosato en comparación con suelos sin historial de exposición.

Aunque se han llevado a cabo investigaciones sobre la respuesta a corto plazo al glifosato, aún se dispone de poca información sobre los efectos a largo plazo, es por esto que Newman MM, Hoilett N, Lorenz N, Dick RP, Liles MR, Ramsier C, et al. en 2016 (11) investigaron los cambios en la comunidad bacteriana de la rizosfera después de la aplicación de glifosato a largo plazo en plantas de maíz y soja de invernadero, haciendo uso de secuenciación de próxima generación en la que se comparó la composición bacteriana entre rizosferas tratadas y no tratadas con glifosato, después de 4 periodos de crecimiento. Se encontró que en microorganismos como las Proteobacterias su abundancia aumentó, mientras que en las Acidobacterias la abundancia relativa, disminuyó, en las rizosferas tratadas con glifosato

Como se puede evidenciar, hay diferencias entre los resultados obtenidos en las distintas investigaciones. La investigación realizada por Nguyen DB, Rose MT, Rose TJ, Morris SG, van Zwieten L. en 2016 (12), en donde se hizo un meta-análisis, y se evaluaron variables como: la concentración de glifosato, el pH del suelo, el carbono orgánico (CO), presencia o ausencia de plantas y además, si el experimento se realizó en campo abierto o maceta. Los resultados obtenidos en ese estudio, no pudieron confirmar que el glifosato tenga un impacto positivo o negativo en las comunidades microbianas del suelo, pero se determinó, que el impacto del glifosato sobre la microbiota presente en el suelo y su respiración es muy variable y depende de parámetros experimentales específicos, como la dosis de glifosato aplicado, el tiempo de incubación y las características del suelo, incluyendo carbono orgánico y pH.

En países como Dinamarca, el uso del glifosato representa el 35% de todos los pesticidas utilizados con fines agrícolas. Imperato V, Santos SS, Johansen A, Geisen S, Winding A en 2016 (13), evaluaron el efecto indirecto del glifosato en las plantas y comunidades microbianas de la rizosfera en plantas de cebada. El estudio se llevó a cabo mediante la utilización de diferentes técnicas, que van desde cultivo microbiológico tradicional hasta técnicas moleculares como el análisis del gen ARNr 16S por medio de la electroforesis de gel de gradiente desnaturante (DGGE). Como resultado se obtuvo que las raíces se ven afectadas con la aplicación de este herbicida; por otro lado, se evidenció que la

aplicación foliar del herbicida a concentraciones idóneas duplicó la abundancia tanto de bacterias como de protistas cultivables en la rizosfera.

El desarrollo de la metagenómica, metatranscriptómica y metabolómica como parte de las técnicas moleculares permite tener una información a través de la cual se realiza el análisis del material genético total (metagenoma) de las comunidades pertenecientes a un nicho ambiental específico, su distribución y funcionalidad. Estas nuevas tecnologías estudian la interacción de diferentes compuestos con la cantidad y diversidad de microorganismos que se encuentran en el suelo.

Por su parte, Newman MM, Lorenz N, Hoilett N, Lee NR, Dick RP, Liles MR, et al. en 2016 (14) investigaron los cambios en la expresión de genes bacterianos de microorganismos presentes en la rizosfera, después de la aplicación de glifosato en plantas de maíz tolerantes al herbicida y plantas de soja como respuesta a un tratamiento de largo plazo en condiciones de invernadero, por medio del análisis de ácidos grasos derivados de fosfolípidos (PLFA) a partir de 2g de suelo, utilizando una mezcla de una sola fase de cloroformo, metanol y tampón de citrato acuoso para su extracción, posteriormente dichos lípidos fueron separados por medio de columnas de ácido salicílico y analizados por Cromatografía de Gases (CG) y análisis de ARN-Seq . Como resultado se encontró que, el tratamiento con glifosato aumentó la expresión de 22 genes relacionados con el metabolismo de aminoácidos y carbohidratos; sin embargo, se evidenció una disminución de los biomarcadores bacterianos (PLFA) y de todos los hongos después del tratamiento con dicho herbicida a largo plazo.

Por otra parte, una de las investigaciones más recientes realizada por Zabaloy MC, Allegrini M, Tebbe DA, Schuster K, Gomez Edel V. en 2017 (15) evaluaron el efecto del glifosato en la actividad microbiana global y la actividad de nitrificación de los microorganismos presentes, mediante la extracción de ADN y el uso de técnicas como PCR cuantitativa y electroforesis. En este estudio, se determinó que las procariontes nitrificantes no se vieron afectadas por la aplicación de glifosato, ni por el tiempo de incubación al que fue

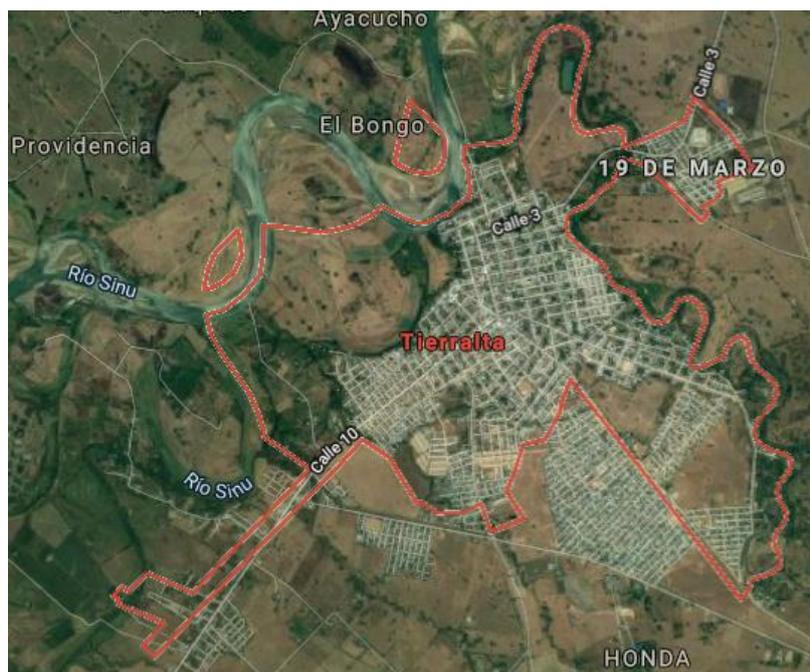
expuesto; por el contrario, el tiempo de incubación mostró una interacción significativa de los microorganismos con el herbicida, que influyó en la abundancia de bacterias oxidantes de amoníaco y Arqueas.

## 2. MARCO REFERENCIAL

### 2.1 Municipio de Tierralta

El Municipio de Tierralta está ubicado en la parte sur-occidental del Departamento de Córdoba, Colombia (Figura 1); por el norte, con una latitud de  $8^{\circ} 10'$  y por el oeste con una longitud  $76^{\circ} 04'$  del meridiano de Greenwich. Presenta una altitud de 51 metros sobre el nivel del mar y una superficie territorial de 5.079 km<sup>2</sup>, lo que lo convierte en el municipio más extenso del departamento (16).

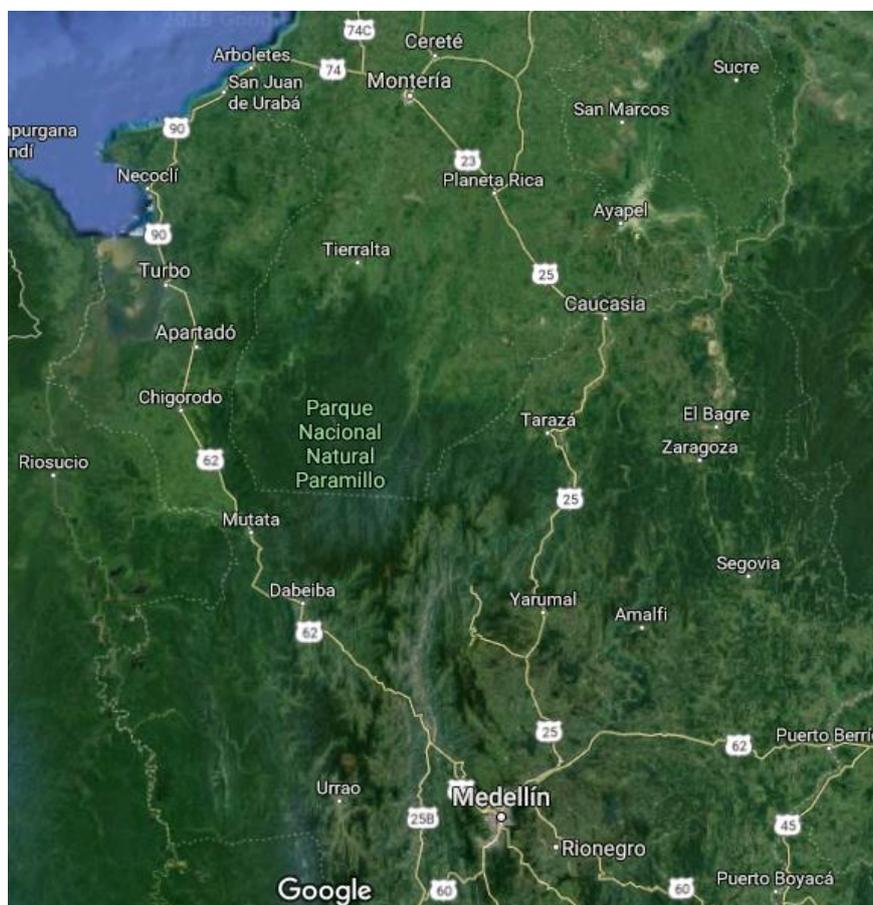
El Municipio se encuentra en la zona de influencia de la cuenca alta del río Sinú, el cual, en su recorrido, es alimentado por sus principales afluentes: El Río Verde, El Río Esmeralda y el Río Manso (17).



**Figura 1.** Mapa del municipio Tierralta, Córdoba, Colombia (18)

### 2.1.1 Parque Nacional Natural Paramillo

El Parque Nacional Natural Paramillo es una de las 59 áreas protegidas del Sistema de Parques Nacionales Naturales de Colombia, creada en el año 1977, reservándose 460.000 ha. Este parque busca conservar la diversidad biológica, el patrimonio cultural y los servicios ambientales de la nación y en particular de la región noroccidental de Colombia. Tiene una ubicación privilegiada pues allí nacen los ríos Sinú y San Jorge, con ecosistemas de páramo, ciénagas, entre otros. Recibe su nombre de Paramillo, debido al área protegida de páramos que se encuentra en Antioquia, más específicamente en el municipio de Ituango y que hace parte del parque (Figura 2) (19).



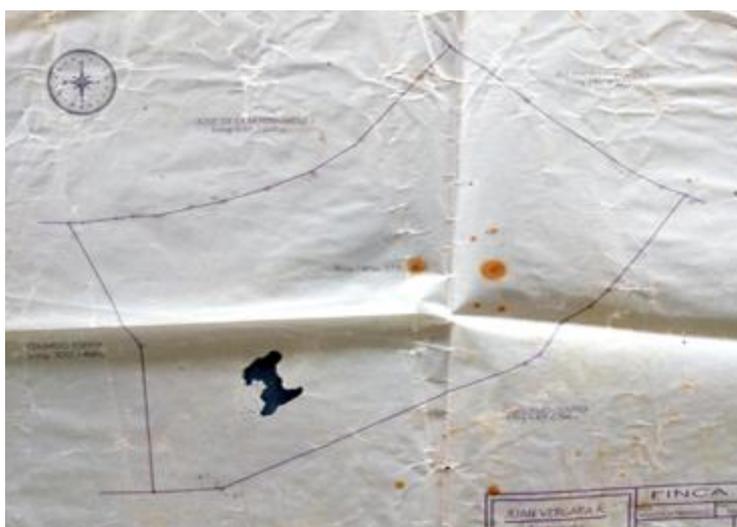
**Figura 2.** Mapa del Parque Nacional Natural Paramillo, Córdoba, Colombia(20)

El parque Paramillo integra diversidad de ecosistemas y concentración de biodiversidad, siendo una de las más importantes del país. Tiene elementos de

ecosistemas ubicados en el Caribe y Chocó. Se destaca su importancia para la cultura al estar en el punto exacto de la unión entre centro y Suramérica, la última ramificación de los Andes y ser una conexión entre Oriente y Occidente colombiano. Aunque es un parque muy especial e importante para Colombia, es uno de los menos conocidos del país, de los menos estudiados y con más problemáticas de tipo ambiental como la minería, ocupación campesina, entre otras (19).

### 2.1.2 Vereda Tuis Tuis, finca Tuti Fruti

La finca Tuti Fruti (Figura 3) se encuentra ubicada en la Vereda Tuis Tuis (Figura 4), del municipio de Tierralta en el departamento de Córdoba, haciendo parte de la zona amortiguadora del Parque Nacional Natural Paramillo, la cual es considerada una de las reservas forestales turísticas más visitadas de la región. En la actualidad la vereda Tuis Tuis, junto con los demás corregimientos del municipio se encuentran inmersos en el Plan de Desarrollo Municipal 2016-2019 y el anterior Plan de Desarrollo Ambiental 2012-2015, los cuales se vienen trabajando en los últimos años con el fin de reconocer, indagar y dar solución a los diferentes problemas tanto socioeconómicos como ambientales del municipio.



**Figura 3.** Mapa de la finca Tuti Fruti

*Foto Tomada del cuaderno topográfico de la vereda*



**Figura 4.** Mapa de la Vereda Tuis Tuis (21)

### **2.1.3 Zona de amortiguación Parque Nacional Natural Paramillo**

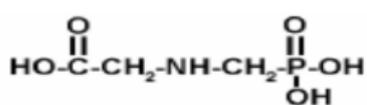
“Las áreas de amortiguación son zonas externas, aledañas y circunvecinas a las áreas protegidas del Sistema de Parques Nacionales Naturales para el caso de Colombia. Tienen un régimen de uso y manejo diferente, con el fin de atenuar las perturbaciones causadas por la actividad humana en las zonas circunvecinas de las áreas protegidas, para impedir que se causen disturbios o alteraciones en la ecología o en la vida silvestre” (22)

Las áreas protegidas tiene como objetivo conservar una gran diversidad biología de los recursos naturales de la zona, por medio de la implementación de acciones de control y vigilancia, debido a los procesos de degradación ambiental causados por el hombre. La zona amortiguadora del Parque Nacional Natural Paramillo se localiza en la jurisdicción de once municipios; 3 localizados en el departamento de Córdoba y ocho en Antioquia. Para el plan de manejo se identifican trece áreas dentro de la zona propuesta como amortiguadora de los once municipios: Tierralta, Puerto Libertador, Montelíbano, Tarazá, Ituango, Peque, Dabeiba, Mutatá, Chigorodó, Carepa y Apartadó. Se trabaja con las autoridades ambientales regionales como: Corporación Autónoma Regional de Los Valles del Sinú y el San Jorge- CVS-,

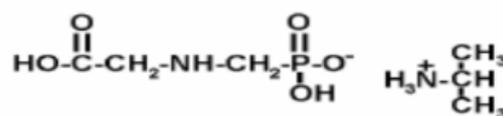
La Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá-Corpourabá- y la Corporación para el Desarrollo del Centro de Antioquia-Corantioquia- (23).

## 2.2 Generalidades de Glifosato

El glifosato (N-fosfometil glicina) con fórmula molecular  $C_3H_8NO_5P$ , es un herbicida de amplio alcance utilizado especialmente por los agricultores para erradicar plantas consideradas maleza y cultivos ilícitos que puedan crecer en el área rural (24). Las plantas absorben el glifosato y dejan de producir aminoácidos que son esenciales para su crecimiento como: Tirosina, fenilalanina y triptófano; de esta manera, el producto impide el desarrollo de la planta (25). Dicho herbicida es formulado comercialmente como sal isopropilamina (Figura 5) y pertenece al grupo de las glicinas, está constituido por tres componentes básicos: 1) Sal isopropilamina de glifosato, que es su ingrediente activo, 2) Un agente tensoactivo, donde el más común es el POEA (Polioxietil amina) y 3) agua (1).



Glifosato



sal isopropil amina de glifosato

**Figura 5.** Fórmula estructural de Glifosato y sal isopropil amina de glifosato (1).

El glifosato fue patentado por primera vez por la compañía estadounidense Stauffer Chemical en 1964, era utilizado como un quelante de metal para la limpieza y descalcificación de calderas comerciales y tuberías que eliminaban minerales como: calcio, magnesio, manganeso, cobre y zinc (26). En 1970 fue patentado por la empresa Monsanto de origen estadounidense; su uso se incrementó sustancialmente a través del tiempo, principalmente por la aparición de las semillas de soya transgénicas que son resistentes a este producto (27). La empresa Monsanto aplicó un audaz plan de negocios con su producto estrella: el glifosato, para lo cual invirtieron en innovación de semillas

transgénicas de diversos rasgos genéticos; éstas debían ser resistentes al plaguicida para asegurar la venta tanto de las semillas como del glifosato. Es por esto que Monsanto se conoció por mucho tiempo como el “zar de los transgénicos y del glifosato” (28).

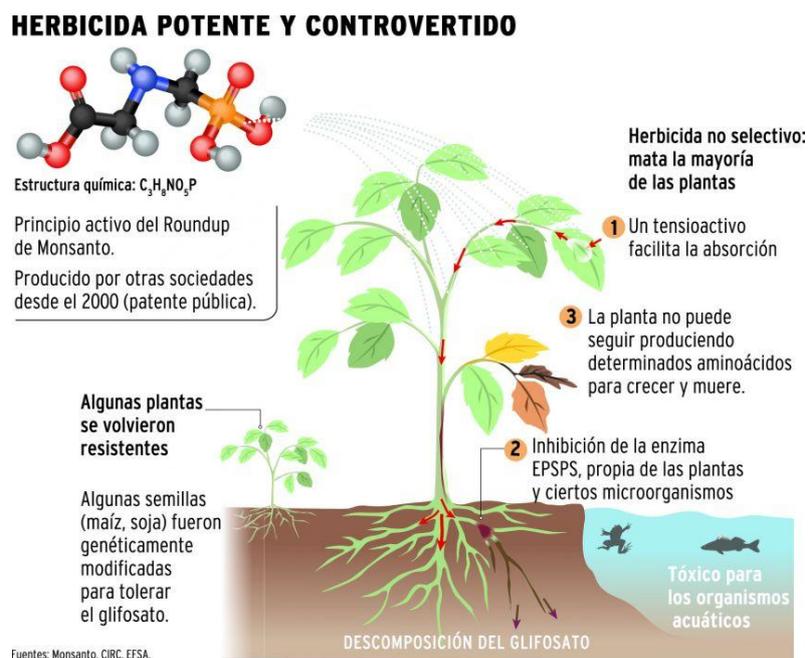
El uso de este tipo de productos se debe al crecimiento demográfico que conlleva a la necesidad de más alimentos por lo que los productores deben asegurar el éxito de sus cosechas y el rendimiento de la producción para evitar pérdidas tanto económicas como de alimentos. En este sentido, el glifosato es utilizado como uno de los métodos de prevención y/o emergencia contra plagas que permitan satisfacer la demanda de productos agrícolas (8).

Sin embargo, la preocupación por los efectos que puedan causar estos plaguicidas en la salud de forma directa o indirecta ha venido en aumento en los últimos años. Al respecto, la Organización Mundial de la Salud en el año 2015 reclasificó el glifosato como probablemente cancerígeno para los humanos (29). En 2016 un Tribunal de San Francisco, California, condenó a la compañía Monsanto, quien produce el conocido Round up (nombre comercial del glifosato) por 286 millones de dólares, al encontrar que la línea de atención médica de Monsanto había ignorado las solicitudes de información sobre la relación del glifosato y el cáncer de linfoma no hodgkiniano que hizo Dewayne Johnson, un jardinero que usó el producto durante dos años. “Una vez diagnosticado, Johnson siguió usando el producto, lo que según el dictamen médico agravó su estado de salud y derivó en que su cáncer pasara de tratable a terminal” (30). Para el año 2018 un estudio realizado por la Universidad de Oxford encontró que personas con una exposición continua al glifosato mayor a 108 días tienen mayor riesgo de desarrollar leucemia mieloide aguda (31). En el último comunicado de prensa publicado por la EPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estado Unidos) el día 30 de Abril del año 2019, se declara que el glifosato no presenta ningún riesgo para la salud pública, siempre y cuando sea utilizado de la forma correcta, siguiendo las especificaciones descritas en el producto (32).

### 2.2.1 Mecanismo de acción

“El glifosato es una sal isopropilamina de N-(fosfonometil) glicina, con un peso molecular de 169.073 g/mol, el cual es un herbicida no selectivo, sistémico de acción foliar” (2), por lo que es absorbido por la planta mediante sus hojas y una vez dentro, se desplaza por el tejido vegetal donde es poco metabolizado.

El mecanismo de acción del glifosato consiste principalmente en la inhibición de la biosíntesis de aminoácidos aromáticos (triptófano, fenilalanina y tirosina) en las plantas, además de inhibir la enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato-sintetasa (EPSPS), disminuyendo la producción y desarrollo de proteínas. Posteriormente, se altera el proceso de catálisis por la enzima EPSPS en la vía del shikimato, reduciendo la biosíntesis de otros compuestos tales como; tetrahidrofolato, ubiquinona y vitamina K (Figura 6) (2).



**Figura 6.** Mecanismo de acción del glifosato (33)

Esto puede explicar, por qué las plantas a las que se les aplican herbicidas tipo glifosato no continúan el proceso de fotosíntesis, incluso antes de que la inhibición de la síntesis de aminoácidos sea descubierta. Todos estos procesos en conjunto son los que originan poco a poco la muerte de las plantas que son expuestas al glifosato, primero muestran clorosis y luego necrosis.

### 2.2.2 Toxicidad

“En el aspecto regulatorio la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (EPA) considera al glifosato como de toxicidad clase II, toxicidad aguda dérmica y oral relativamente baja (los químicos de clase I, son los de mayor toxicidad en la escala de I a IV)” (34).

En el uso de glifosato, la verdadera toxicidad la causa el surfactante con el cual se mezcla para ser aplicado en las plantas. El surfactante más utilizado es el POEA que desacopla elementos de la fosforilación oxidativa, provocando estrés oxidativo (2).

Por otro lado, un estudio realizado por Camacho A. y Mejia D (35), donde analizaron un conjunto de datos recopilados por el Ministerio de Salud, demostró el aumento en el número de consultas médicas asociadas a problemas dermatológicos, respiratorios y abortos involuntarios. Estos problemas se han relacionado con el daño en el material genético de los individuos, desencadenando mutaciones involucradas en el desarrollo de cáncer y aborto. Así mismo, diferentes investigaciones han basado sus estudios en el surfactante POEA, ya que puede causar daño gastrointestinal, dificultad para respirar, afecciones al sistema nervioso central y destrucción de eritrocitos (2)

Si bien el glifosato y sus metabolitos han demostrado tener potencial tóxico de manera individual, también es conocido que las preparaciones comerciales sí son más citotóxicas que el glifosato como tal, lo cual refuerza la idea de que son los aditivos que componen las formulaciones comerciales los que aumentan la toxicidad que se le atribuye a los productos herbicidas a base de glifosato (2).

### 2.3 Historia en Colombia

El gobierno de Colombia desde el año 2000 ha estado utilizando fumigaciones con herbicidas a gran escala con el propósito de acabar con los cultivos ilegales de coca y plantas de amapola. Sin embargo, este mecanismo ha sido ampliamente cuestionado, principalmente desde la perspectiva de los derechos humanos. El inicio fue con el Plan Colombia del presidente Pastrana quien quería lograr la paz mediante las negociaciones. Además, su plan de Gobierno contemplaba una lucha antinarcóticos en todas las fases de este negocio, desde la producción hasta la comercialización. Por ello, un mecanismo fue la fumigación de los cultivos con herbicidas, asegurando que si destruyen la materia prima, reduciría el suministro o la producción. Posteriormente, con la llegada de Álvaro Uribe a la presidencia, el Plan Colombia inicia otra etapa, pues, aunque no se logró la paz negociada, si se logró una lucha contra el narcotráfico, especialmente de drogas ilícitas. Así, en el gobierno de Uribe, se aumentó la erradicación de estos cultivos, mediante fumigación aérea y manual por parte de los campesinos que accedían de manera voluntaria (36).

Más de 1.8 millones de hectáreas de coca han sido fumigadas con glifosato en el país desde 1994, y 282.075 hectáreas en el Departamento del Putumayo desde 1997. Las variaciones climáticas, la velocidad del avión, errores humanos y tecnológicos, junto con otros factores, hicieron que bosques, suelos, pastos, animales, cuencas, cultivos de consumo propio y personas fueran constantemente rociados con glifosato en Colombia. Respecto a la normativa en Colombia en la Resolución 1065 del 26 de noviembre de 2001, el entonces Ministerio del Medio Ambiente, impuso el Plan de Manejo Ambiental presentado por la Dirección Nacional de Estupefacientes (DNE), para la actividad denominada “Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos mediante la Aspersión Aérea con el herbicida Glifosato (PECIG), en el territorio nacional. De acuerdo con los datos aprobados por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), el Ministerio acogió la dosis de 8 Litros/ha de la mezcla (Roundup 480 SL + Cosmoflux 411), siendo la máxima dosis a aplicar. De acuerdo a los

estudios realizados por el ICA, la DNE repetía la evaluación a los dos, tres, y seis meses siguientes a la aspersión, con el fin de observar el estado de recuperación de las plantas (37).

Mediante la Resolución 1214 del 30 de septiembre de 2015, la Autoridad Nacional de Licencias Ambientales (ANLA), ordenó la suspensión del Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos mediante la aspersión aérea con Glifosato, en el territorio nacional. Sin embargo, en el año 2016 mediante la Resolución 708 del 11 de julio, la ANLA, modificó el Plan de Manejo Ambiental impuesto a la DNE en el sentido de autorizar la inclusión de una intervención piloto inicial del Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos mediante Aspersión Terrestre con el Herbicida Glifosato (PECAT), en las zonas focalizadas por la Dirección de Antinarcóticos de la Policía Nacional, en los departamentos de Antioquia, Córdoba, Norte de Santander, Santander, Bolívar, César, Caquetá, Putumayo, Valle del Cauca, Cauca, Nariño, Chocó, Guaviare, Meta y Vichada. El producto comercial a utilizar para el PECAT es el herbicida CUSPIDE 480 SL, con base en el ingrediente activo grado técnico Glifosato. La erradicación de cultivos por aspersión terrestre se realizará una vez al año por lote, y será desarrollada por fases, definidas como: “FASE: periodo de trabajo establecido para realizar la erradicación de cultivos ilícitos por un término de 60 días.”. La dosis a utilizar en la aplicación no superará los 10,4 L/ha de producto formulado, la cual es la autorizada en el registro del producto CUSPIDE 480 SL, en las modalidades: aspersora de espalda y aspersora Estacionaria y EATBAND(38)(25).

Para el año 2017 el personero del municipio de Nóvita en Chocó, interpuso una tutela (sentencia T-236 de 2017) en la que se reclamó la protección de los derechos humanos, a la salud, a la identidad cultural y étnica y a la libre determinación de los pueblos indígenas y afrodescendientes asentados en varios corregimientos del municipio, ya que estas poblaciones fueron afectadas por la aspersión aérea de glifosato que se venía desarrollando en el departamento, debido a su presentación comercial en estado líquido, este por

medio de vientos y lluvia “van a parar a los cultivos lícitos, de los agricultores, a las fuentes hídricas y a las zonas habitadas” (39).

En la actualidad, la sentencia T-236 DE 2017 sigue en proceso de investigación por la Corte Constitucional, encargada de discutir el grado de avance en la implementación de la misma, verificando el cumplimiento de las órdenes para la reanudación correcta del PECIG (Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos mediante la aspersión aérea con el herbicida Glifosato) en Colombia. Por último, se encontró que la audiencia pública realizada el 7 de marzo del 2019 llevada a cabo en la Corte Constitucional, consideró que los derechos de los pueblos indígenas, afro descendientes y campesinos de Nóvita, Chocó fueron vulnerados (39).

## **2.4 Generalidades del suelo**

El suelo es la capa superficial que envuelve la corteza terrestre, siendo uno de los recursos naturales más importantes en el planeta. Se forma a partir de la meteorización de las rocas a lo largo del tiempo, bajo condiciones ambientales determinadas y sometido a la actividad de organismos vivos. Su importancia radica en que es un elemento natural vivo y dinámico que constituye la interfaz entre la atmósfera, litosfera, biosfera y la hidrosfera, sistemas con los cuales mantiene un continuo intercambio de materia y energía. Así mismo, se considera como un elemento frágil del medio ambiente, un recurso natural no renovable ya que su velocidad de formación y regeneración es muy lenta, mientras que los procesos que contribuyen a su degradación, deterioro y destrucción son mucho más rápidos, por lo tanto, es clave en el desarrollo de los ciclos biogeoquímicos, además de contribuir a elementos ambientales, ecológicos, económicos, sociales y culturales (40).

### **2.4.1 Propiedades físicas del suelo**

Las propiedades físicas del suelo pueden observarse y medirse sin alterar químicamente la composición del suelo, son el resultado de la interacción con diversos elementos por ejemplo agua y aire, estas condiciones determinan la rigidez, fuerza de sostenimiento, facilidad para la penetración de las raíces, aireación, capacidad de drenaje y de almacenamiento de agua, plasticidad, y la retención de nutrientes (41).

Una de las principales propiedades físicas del suelo es su estructura, la cual hace referencia a la disposición física de las partículas (arena, limo y arcilla), los poros que pueden ser macroporos o microporos y a la capacidad de las partículas para formar agregados (42). Dicha estructura se encuentra estrechamente relacionada con la textura del suelo y la disponibilidad de agua. Otra característica física importante en el suelo, es el color, el cual puede usarse para identificar algún tipo de suelo, está relacionado con los procesos de pedogénesis y depende de factores como humedad, humus, materia orgánica, compuestos minerales como: óxidos, sulfuros, sulfatos, carbonatos que pueden estar presentes (41).

### **2.4.2 Propiedades químicas del suelo**

Las propiedades químicas de los suelos son importantes para su fertilidad; por ejemplo, la disponibilidad de nutrientes y la capacidad de intercambio de cationes como: calcio, potasio y magnesio. Además, características químicas de la solución del suelo llegan a afectar el pH y la salinidad del mismo(43).

En relación con el pH, su función es medir la concentración de iones de hidrógeno cargados positivamente ( $H^+$ ) en la solución del suelo en una escala logarítmica que va de 0 a 14. La solución del suelo puede ser neutra, ácida o alcalina; cuando una solución de suelo contiene más iones  $H^+$ , es ácida y cuando hay menos iones  $H^+$  y hay más iones hidroxilo ( $OH^-$ ) la solución del

suelo es alcalina. El nivel de acidez o alcalinidad en un suelo afecta la disponibilidad de nutrientes, la actividad de los microorganismos del suelo y el nivel de aluminio intercambiable(43)(44).

Por otro lado, se encuentra la materia orgánica que incluye residuos vegetales y animales en diferentes estados de descomposición, tejidos y células de organismos que viven allí y sustancias producidas por estos. La materia orgánica interviene en procesos como el suministro de elementos nutritivos, la liberación de nitrógeno, fósforo, azufre y micronutrientes disponibles para las plantas; así mismo contribuye a la estabilización de la acidez del suelo por su poder amortiguador, regulariza la disponibilidad de nutrientes principales y elementos menores (45). Dentro de los procesos que se dan en el suelo, uno de los más importantes es el intercambio iónico, es por esto que la capacidad de intercambio catiónico (CIC) representa la cantidad de cationes que la superficie total puede retener como calcio, potasio, sodio, magnesio, entre otros (45).

Por último, se encuentran los nutrientes del suelo, divididos en dos categorías: macronutrientes, los cuales se dividen en nutrientes primarios y secundarios, y los micronutrientes o microelementos. Dentro de los macronutrientes primarios se encuentra el nitrógeno, fósforo y potasio, respecto a los nutrientes secundarios está el magnesio, azufre y calcio. (46). Los micronutrientes o microelementos son el hierro, el manganeso, el zinc, el cobre, el molibdeno, el cloro y el boro, estos son absorbidos en cantidades minúsculas, su disponibilidad en las plantas depende principalmente de la reacción del suelo. Algunos microelementos pueden ser tóxicos para las plantas en concentraciones mayores a lo normal. En la mayoría de los casos esto ocurre cuando el pH es bajo o muy bajo (46).

### **2.4.3 Microorganismos del suelo**

Los efectos de los microorganismos en numerosas propiedades del suelo son de gran alcance, representan el grupo biótico más diverso, con una estimación

de un millón a unos mil millones de microorganismos por gramo de suelo. La microbiota ayuda a la estructura del suelo al rodear físicamente partículas y 'pegarlas' a través de la secreción de compuestos orgánicos, principalmente azúcares. Los microbios del suelo incluyen bacterias, protozoos, algas, hongos y actinomicetos (47).

#### **2.4.3.1 Bacterias**

Las bacterias poseen una gran variedad de funciones en el suelo. La descomposición de animales, plantas y residuos microbianos es llevada a cabo por bacterias heterótrofas. Estas bacterias tienden a ser los miembros más numerosos de la comunidad microbiana y su selectividad de los sustratos varía de una especie de bacteria a otra. Las bacterias quimioautótrofas del suelo, juegan un papel importante en los ciclos de nutrimentos. La composición de la población bacteriana del suelo frecuentemente puede indicar las condiciones físicas y químicas del mismo (3)(48).

##### **- Bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB)**

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) se asocian con todas las especies de plantas, y se encuentran presentes en una gran variedad de ambientes. El grupo más estudiado de PGPB son las llamadas PGPR's (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) que colonizan la superficie de la raíz y el suelo adherido denominado rizósfera. Estas bacterias pueden ser de vida libre o asociativas; aerobias, anaerobias o facultativas y, generalmente, han sido aisladas de suelos y de climas en donde predomina la vegetación gramínea, como pastos de zonas tropicales, templadas, de suelos salinos y pastizales de zonas áridas, así como de gramíneas cultivadas (49)

Cuando se reconoció el papel de las bacterias de la rizósfera en la promoción del crecimiento vegetal, su efecto se atribuyó a su facultad para fijar nitrógeno. Sin embargo, en las últimas décadas se ha destacado su importancia como promotoras del desarrollo debido a su capacidad para sintetizar sustancias

reguladoras del crecimiento, llamadas fitohormonas. Estas sustancias son compuestos naturales que afectan los procesos metabólicos de las plantas a concentraciones más bajas de las que presentan los nutrientes o las vitaminas. Entre los principales géneros bacterianos pertenecientes a este grupo tenemos a: *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Gluconacetobacter*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Klebsiella*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Beijerinckia* y *Clostridium*, entre otros (49).

#### **2.4.3.2 Actinomicetos**

Muchos de los actinomicetos del suelo, son saprófitos de vida libre, capaces de descomponer una gran cantidad de sustratos carbonados. Tienen la habilidad para degradar compuestos altamente recalcitrantes tales como quitina, celulosa y hemicelulosa, en condiciones particulares de valores altos de pH del suelo, lo que hace que los actinomicetos sean altamente especializados (48). En el suelo, el tamaño y número de la comunidad de actinomicetos depende de diversos factores, principalmente de las características físicas y químicas como pueden ser la textura, humedad, pH y contenido de materia orgánica. Cuando se aíslan actinomicetos del suelo mediante medios de cultivo, el género predominante suele ser *Streptomyces*, con el 70 al 90% de las colonias, seguido por *Nocardia* con 10 a 30%, y el tercero puede ser *Micromonospora* que constituye del 1 al 15% de actinomicetos (50). Entre los actinomicetos del suelo se encuentran especies patógenas, como es el caso de *Streptomyces scabies* (48).

#### **2.4.4 Grupos funcionales presentes en el suelo**

##### **2.4.4.1 Microorganismos fijadores de nitrógeno**

Las bacterias en simbiosis con una planta hospedante fijan el nitrógeno del aire, es decir, originan compuestos solubles por las plantas, como amoníaco, entrando en la cadena alimenticia mediante su incorporación a los aminoácidos y proteínas. El proceso de fijación lo realizan organismos procariontes, que son

capaces de reducir el nitrógeno molecular a amonio, tanto en vida libre como en simbiosis con organismos superiores como: *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Desulfovibrio*, *Methanosarcina*, *Chromatium*, *Thiopedia*, *Ectothiorhodospira*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Badilas*, *Propionibacterium*, *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas*, *Azospirillum*, *Aquaspirillum*, *Azotobacter*, *Azomonas*, *Beijerinckia*, *Derxia*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Thiobacillus*, *Corynebacterium*, *Gloeocapsa*, *Anabaena*, *Calothrix*, *Nostoc*, *Spirulina*, *Oscillatoria*, *Lyngbya*, entre otras (51).

#### **2.4.4.2 Microorganismos celulolíticos**

La celulosa es un importante constituyente carbonado de las plantas superiores y probablemente el compuesto orgánico más abundante en la naturaleza, debido a que gran parte de la vegetación que pasa a formar parte del suelo es celulósica, la descomposición de este carbohidrato tiene una importancia muy especial en el ciclo biológico del carbono, consecuentemente los microorganismos del suelo que catabolizan la hidrólisis del material vegetal influyen en el flujo de energía desde este hasta la formación de CO<sub>2</sub> y su liberación a la atmosfera (52).

Los microorganismos degradadores de celulosa incluyen hongos y bacterias, aerobios y anaerobios, mesofílicos y termofílicos. Entre los hongos celulolíticos se destacan: *Trichoderma reesei*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Fusarium solani*, *Penicillium funiculosum*, *Trichoderma koningii*, *Sporotrix* sp., *Alternaria* sp., *Geotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp., *Trametes* sp., *Paecilomyces* sp., *Mucor* sp., *Cladosporium* sp., *Bulgaria* sp., *Chaetomium* sp., *Helotium* sp., *Aspergillus* sp., Las bacterias más abundantes y conocidas son las aerobias entre las cuales están: *Cellulomonas* sp., *Microbi* sp *orabispora*, *Thermomonospora* sp., *Cytophaga* sp., *Corynebacterium* sp., *Vibrio* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Thermobifida* sp. Además, se encuentran algunas anaerobios como: *Acetivibrio cellulolyticus*, *Butiri vibrio* sp., *Bacteroides cellulosolvans*, *Bacteroides succinogenes*, *Clostridium cellulovorans*, *Clostridium thermocellum*, *Ruminococcus salbus*, *Tuminococcus flavofaciens* (52).

#### **2.4.4.3 Microorganismos amilolíticos**

El almidón y la celulosa son las dos fuentes de carbono más distribuidas en la naturaleza. Estos polímeros están compuestos de unidades de glucosa y se requieren de diferentes sistemas enzimáticos para degradarlos. Los grupos microbianos con actividad amilolítica juegan un papel fundamental en el ciclaje de nutrientes a nivel de suelo, pues actúan sobre el almidón gracias a la producción de enzimas extracelulares denominadas amilasas, liberando glucosa que es un sustrato más fácilmente asimilable por el resto de las poblaciones heterótrofas de microorganismos (53).

Los microorganismos degradadores de almidón incluyen diversos grupos de hongos y bacterias en los que se encuentran: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Trichoderma* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., *Monilia* sp., *Curvularia* sp. y *Cladosporium* sp., y *Bacillus* sp., *Klebsiella* sp., *Micrococcus* sp., *Lactobacillus* sp., respectivamente (54).

#### **2.4.4.4 Microorganismos proteolíticos**

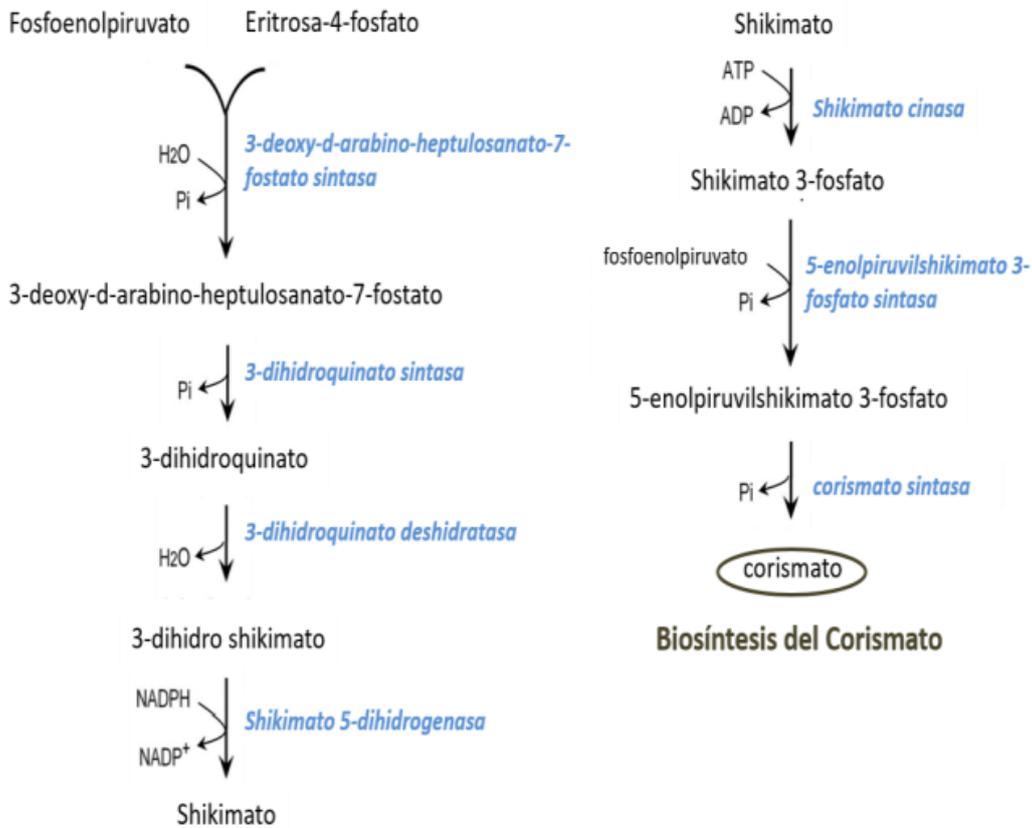
Los microorganismos proteolíticos fragmentan las proteínas en unidades menores hasta aminoácidos libres. Esta etapa se puede considerar como un primer paso dentro del complejo proceso de la degradación de la materia orgánica, en el que interviene una amplia variedad de microorganismos con actividades enzimáticas dispares y específicas para cada sustrato orgánico. La microflora proteolítica actúa en las etapas iniciales de la mineralización de los compuestos orgánicos nitrogenados y a continuación participan los microorganismos amonificantes que rinden amonio como producto final del proceso degradativo. Existen bacterias y hongos que poseen enzimas proteolíticas como: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Serratia* y *Micrococcus*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium* y *Rhizopus*, respectivamente (55)

#### 2.4.4.5 Microorganismos solubilizadores de fosfato

La solubilización del fósforo en el suelo es el proceso por el cual las reacciones de precipitación se revierten, liberando fósforo en la solución del suelo, mediado generalmente por la acción metabólica de los microorganismos y las raíces de las plantas. Dentro de las bacterias solubilizadoras de fosfato están: *Pseudomonas* sp., *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia gladioli*, *Xanthomonas* sp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pantoea agglomerans*, *Chromobacterium* sp. Entre los hongos solubilizadores de fosfato se encuentra: *Penicillium* sp., *P. implicatum*, *P. citreo-viridae*, *Paecilomyces* sp., *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *Scopulariopsis* sp., *Moniliella* sp. y *Mortierella* sp. (56).

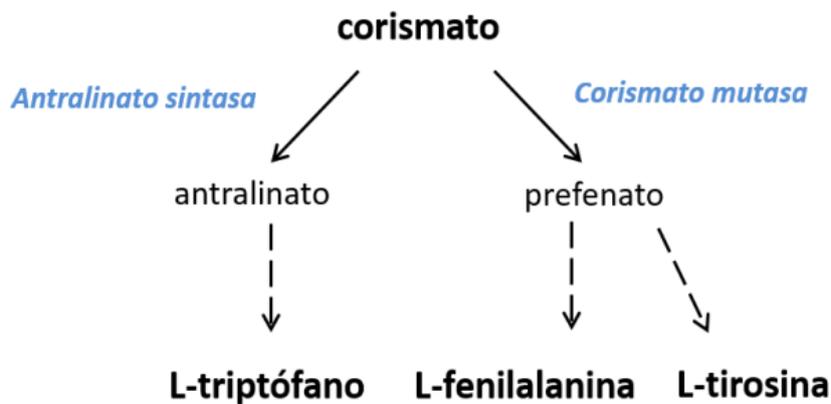
#### 2.4.5 Vía del shikimato

La vía del shikimato es común en las bacterias, hongos y plantas, pero no se encuentra en los animales. Se caracteriza por convertir dos metabolitos, el fosfoenolpiruvato (PEP) de la vía de la glucólisis y el eritrosa 4- fosfato (E4-P) proveniente de la ruta de la pentosa fosfato, en corismato. La conversión de PEP y E4-P en corismato comprende siete reacciones catalizadas por seis enzimas (Figura 7). La primera enzima de la vía es la 3-deoxy-d-arabino-heptulosonato-7-fosfato sintasa (DAHPS) convirtiendo PEP y E4-P en 3-deoxy-d-arabino-heptulosonato-7-fosfato, la segunda enzima de es la 3-dihidroquinato sintasa, que convierte el 3-deoxy-d-arabino-heptulosonato-7-fosfato en 3-dihidroquinato. Los pasos enzimáticos tercero y cuarto son catalizados por la enzima bi-funcional 3-dihidroquinato deshidratasa / shikimato 5-dihidrogenasa (DHQ / SD), lo que lleva a la formación de shikimato. El quinto paso enzimático es catalizado por shikimato quinasa (SK), que convierte shikimato en shikimato 3-fosfato. La sexta etapa enzimática es catalizada por 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintetasa (EPSPS) lo que conduce a la síntesis de 5-enolpiruvilshikimato 3-fosfato (EPSP). El paso final en la ruta del shikimato es catalizado por corismato sintasa (CS), que convierte EPSP en corismato (57).



**Figura 7.** Ruta del Shikimato (57)

El corismato, es el metabolito terminal de la vía del shikimato sirve como metabolito iniciador para la síntesis de aminoácidos aromáticos como: fenilalanina, triptófano y tirosina, sirviendo de sustrato de dos enzimas la Antralinato sintasa y Corismato mutasa que actúan para definir diferentes rutas específicas terminales que conducen a la formación de dichos aminoácidos. (Figura 8) (58).



**Figura 8.** Ruta de corismato (58)

## **2.5 Metagenómica como alternativa para conocer el microbioma de un ambiente**

La metagenómica es una rama de la genómica que se encarga del aislamiento y estudio del metagenoma asociado a un determinado ambiente natural (59). Tradicionalmente, los estudios utilizados para caracterizar la diversidad bacteriana en diferentes ambientes, se basaban principalmente en el cultivo microbiológico; sin embargo, sólo entre el 0.1 y el 10% de las bacterias del ambiente son cultivables (60), además, hay microorganismos que a pesar de ser cultivables, por estrés ambiental pueden no recuperarse por cultivo, denominándose “viables pero incultivables” (61).

El hecho de que la mayoría de microorganismos del suelo (más del 90%) no sea cultivable, se ha relacionado principalmente con el hecho de que no se conocen los requerimientos nutricionales y ambientales específicos necesarios para su aislamiento y posterior crecimiento. Por otro lado, se cree que los organismos desarrollan una relación simbiótica con otros microorganismos y con su microambiente, lo que genera un desequilibrio al ser aislados individualmente, esto obstaculizara su cultivo y desarrollo in vitro, y por ende, los procesos del laboratorio (62).

El análisis metagenómico tiene como objetivo analizar fragmentos de ADN contenidos en las muestra de suelo, previamente sometidos a un proceso de extracción, con los cuales se espera secuenciar todos los genomas a la vez, y en algunos estudios, compararlas con huella genéticas o también llamadas librerías metagenómicas, almacenadas en diferentes bases de datos (63).

El uso de la metagenómica como herramienta de identificación molecular basada en el análisis del ADN, permite obtener información de la composición genética y filogenética de la comunidad de microorganismos que habitan en el lugar muestreado, sin importar si son cultivables o no (64). Una de las características de la utilización de la metagenómica, es que se pueden obtener

genes de microorganismos al azar, provenientes de ambientes extremos, sin la necesidad de identificar previamente el tipo de microorganismos, estos genes posteriormente podrán expresarse y obtener de esta manera una proteína específica, mediante la clonación de vectores, lo que es de ayuda en diversos procesos biotecnológicos y de biorremediación (65).

### **2.5.1 Pasos de la metagenómica**

La metagenómica se desarrolla en una serie de pasos secuenciales, que dará como resultado una caracterización apropiada y confiable de los microorganismos presentes en una muestra estudiada. Por lo general, el proceso metagenómico, inicia con la elección del sitio de muestreo y la recolección del espécimen a estudiar; en segunda instancia la muestra se somete a los procesos propios del laboratorio. Finalmente, las secuencias obtenidas en los procedimientos se comparan con distintas bases bioinformáticas o se procede a la construcción de una librería metagenómica (66).

#### **2.5.1.1 Extracción de ADN metagenómico**

La extracción de ADN es el primer paso en el análisis molecular de una muestra. Para obtener el ADN a estudiar, se cuenta con diferentes técnicas que tienen como objetivo separar los componentes celulares, para finalmente obtener una muestra de alta pureza, integridad y calidad (67), para esto se debe seguir cuatro pasos esenciales: ruptura celular, remoción de proteínas y ARN, concentración de ADN y determinación de la pureza y calidad del ADN (68). Dentro de los métodos utilizados para la extracción de ADN encontramos métodos físicos y químicos. Existen diferentes métodos físicos empleados para la extracción de ADN, tal es el caso de la congelación-descongelación, homogeneización en una base de perlas, ultrasonificación, entre otros; sin embargo, los tratamientos físicos pueden fragmentar el ADN en tamaños de 5-10 kb e incrementar el riesgo de la formación de quimeras durante la subsecuentes PCR. Los métodos químicos incluyendo el SDS (dodecilsulfato

sódico) proporcionan un mayor rendimiento de ADN en comparación con algunos métodos físicos. La combinación de métodos químicos y físicos indica un mayor rendimiento en la extracción de ADN, dependiendo del hábitat natural y de la diversidad microbiana presente (66).

El proceso de extracción de ADN variará de acuerdo a la muestra y a la investigación que se esté llevando a cabo; sin embargo, se recomienda que la muestra se seque en un lugar fresco y con ausencia de luz durante 24 horas. Adicionalmente se recomienda homogenizar la muestra y eliminar los restos de tejidos vegetales, insectos y piedras. Posteriormente, se realiza la extracción de ADN, por cuestiones de facilidad y calidad, en la mayoría de investigaciones, se utiliza un kit comercial siguiendo las recomendaciones del fabricante. Finalmente para verificar la extracción exitosa y cantidad del ADN metagenómico, se somete el ADN extraído a una electroforesis en gel de agarosa (69)(70).

#### **2.5.1.2 PCR**

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una reacción enzimática *in vitro* que tiene como objetivo obtener la mayor cantidad de copias de un fragmento de ADN a partir de un mínimo, donde la secuencia blanco es copiada fielmente (71). El ADN metagenómico que se aísla en las diferentes muestras, se utiliza como molde para amplificar, alguna región específica en el genoma, para esto se utilizan cebadores o primers universales, los cuales son secuencias de ADN cortas que se utilizan para hibridar el ADN de la muestra y definir la región del ADN que será amplificada. También se utiliza una polimerasa termoestable, que es capaz de sintetizar la cadena complementaria de cada una de las hebras de ADN, a partir de los primers.

Para la realización de la PCR se necesita un termociclador, el cual permite la repetición de ciclos de: desnaturalización, hibridación y polimerización del ADN, lo que genera la separación y amplificación del ADN en millones de copias del fragmento inicial (72). La PCR varía de acuerdo al tipo de microorganismo

(bacterias, virus u hongos) y al tipo de la muestra que se esté trabajando o que sean de interés para el investigador (73).

### **2.5.1.3 Electroforesis**

La electroforesis es la técnica que permite la migración de solutos bajo la influencia de un campo eléctrico; estas partículas (proteínas, aminoácidos, péptidos, nucleótidos, ácidos nucleicos) migran hacia el cátodo (-) o ánodo (+), dependiendo de factores como su carga, peso molecular y estructura tridimensional. El tipo de electroforesis que más se utiliza es la zonal, que es útil para separar componentes de mezclas complejas; para la utilización de esta técnica se requiere un soporte (celulosa, almidón, poliacrilamida, agarosa, acetato de celulosa, entre otros) y una solución tampón. El soporte por lo general está constituido por polímeros, los cuales forman un gel poroso que limita el movimiento de las moléculas durante la electroforesis (74). Al generar un campo eléctrico en el gel, las moléculas empiezan a desplazarse en forma de pequeñas bandas (zonas), dependiendo de su tamaño, forma, carga y peso molecular, generando así patrones de diferentes tamaños y distancia en el gel. La distancia recorrida por la molécula, es inversamente proporcional al peso molecular. Para la medición de los patrones observables sobre el gel, es importante utilizar marcadores de tamaños ya conocidos, que servirán de puntos de referencia y ayudarán a calcular los pesos moleculares de la muestra problema (72),

Existen diferentes tipos de electroforesis, entre ellas se encuentra la electroforesis en gel con gradiente desnaturizante (DGGE) que permite la separación de fragmentos de ADN del mismo tamaño, pero con diferentes secuencias nucleotídicas, lo que permite obtener un perfil representativo de las comunidades analizadas, puesto que habrá una separación por la secuencia nucleotídica de la muestra (73).

Sin importar el tipo de electroforesis que se utilice, es de suma importancia comprobar el producto de la PCR por medio de la electroforesis en gel,

asegurando la presencia de un único fragmento y del tamaño adecuado, para la realización de los subsecuentes pasos en el análisis metagenómico (74).

#### **2.5.1.4 Secuenciación de próxima generación**

La secuenciación de próxima generación (NGS, por sus siglas en inglés: Next-Generation Sequencing) es una herramienta emergente para estudiar comunidades de microorganismos no-cultivables; por su capacidad de obtener grandes volúmenes de datos de secuencia, con lo cual aumenta la accesibilidad de los recursos genéticos contenidos, por ejemplo, en un suelo. Los estudios con plataformas de NGS en ácidos nucleicos extraídos de rizósfera proveen un amplio espectro de los microorganismos que la habitan, además de obtener y amplificar fragmentos a partir del DNA genómico de la comunidad y ser analizados por técnicas cultivo-independientes, capaces de mostrar la composición de la microbiota bacteriana en la rizósfera (75).

La secuenciación de próxima generación ha abierto la posibilidad de detectar de manera rápida y eficiente el genoma de microorganismos, de forma simultánea, masiva y con bajos costos (76); esta metodología permite la producción de grandes volúmenes de datos de secuencias nucleotídicas en magnitud de que pueden alcanzar un terabytes de información para una sola muestra de suelo (77).

#### **- Illumina**

Illumina es la tecnología de secuenciación basada en pirosecuenciación, más utilizada hoy en día debido a que ofrece plataformas efectivas (MiniSeq o HiSeq XTen, entre otras) capaces de ofrecer resultados competentes a precios razonables. Esta metodología se caracteriza por el uso de nucleótidos marcados con fluoróforos que bloquean de forma reversible la elongación de la cadena. De tal modo, tras la detección de la incorporación del fluoróforo, y la eliminación del mismo, es posible continuar con un nuevo ciclo de adición de

un nuevo nucleótido esto se conoce como secuenciación por síntesis. Illumina ha permitido disminuir los costes y ofrecer lecturas más largas, sin embargo, se requiere de una gran inversión inicial y de mantenimiento, para poder adquirir y mantener uno de los equipos que ofrece (78).

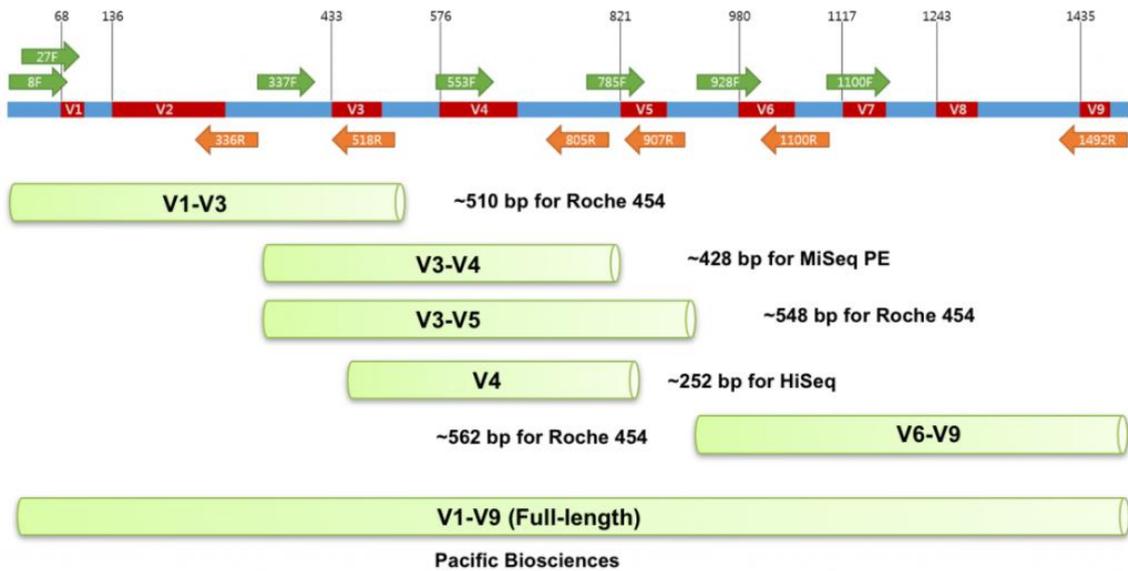
#### - **Illumina Miseq**

El sistema Illumina MiSeq es una herramienta de secuenciación de próxima generación, que realiza diferentes procesos de manera rápida, integral y rentable; tiene la capacidad de combinar la generación de grupos, la amplificación, la secuenciación y el análisis de datos en un único instrumento. El sistema illumina Miseq utiliza la tecnología de secuenciación por síntesis (SBS) de illumina, la cual se basa en terminadores reversibles que detectan bases a medida que se incorporan a cadenas de ADN masivamente paralelas. Los colorantes fluorescentes de los terminadores se fotografían con la adición de cada dNTP y se eliminan para permitir la incorporación de la siguiente base. El resultado es una secuenciación base por base que elimina los errores específicos del contexto de la secuencia. El sistema Miseq puede secuenciar bibliotecas rápidamente, producir cientos de Gb de datos y realizar análisis de datos en una única ejecución de secuenciación integrada. Una sola ejecución puede producir datos de salida de hasta de 15 Gb en tan solo 4 horas de tiempo de ejecución, dependiendo de las longitudes de lectura, y puede generar hasta 25 millones de lecturas únicas y 50 millones de lecturas de extremo pareado(79)(80).

### **2.6 Identificación Procariota por ARNr 16S**

El ARNr 16S es un polirribonucleótido de aproximadamente 1500 nucleótidos codificado por el gen *rrs*, también denominado ADN ribosomal 16S. El ARNr 16S se pliega y adquiere una estructura secundaria que se identifica por tener segmentos de doble cadena que permiten la formación de asas y hélices. Se caracteriza por presentar regiones comunes a todos los organismos, pero contienen además variaciones que se concentran en zonas específicas. El

ARNr 16S contiene nueve regiones (V1-V9) menos conservadas o hipervariables, que son las que aportan información útil para estudios de filogenética y taxonomía (Figura 9). Las regiones conservadas son de gran ayuda para diseñar iniciadores universales que permitan la amplificación de diversas regiones hipervariables de la gran mayoría de los ARNr 16S de los microorganismos presentes en una comunidad (81).



**Figura 9.** Regiones encontradas en el ARNr 16S.

En color rojo se evidencian las regiones hipervariables y en azul las regiones conservadas. Por otro lado, se evidencian las regiones necesarias para las diversas técnicas de secuenciación (82).

El ácido ribonucleico ribosomal 16S, fue presentado por Pace et al. en 1986 (83), como una buena opción para la clasificación de bacterias y Archaea, esto ha permitido que las secuencias del ARNr 16S sean utilizadas como una herramienta importante en la reconstrucción de relaciones filogenéticas. Pese a algunas controversias y dificultades técnicas, el ARNr 16S sigue siendo utilizado como un excelente marcador molecular.

## **2.7 Bioinformática**

La bioinformática es una ciencia interdisciplinaria, donde se combina diferentes áreas como biología, matemáticas, informática y estadística para desarrollar métodos de almacenamiento, recuperación y análisis de datos. El término "Bioinformática" fue utilizado por primera vez en 1970 por el biólogo Holandés Paulien Hogeweg, refiriéndose al uso de la tecnología de la información para estudiar sistemas biológicos (84). Sin embargo, uno de los primeros acercamientos a la bioinformática se le atribuye al trabajo de Margaret O. Dayhoff, Richard V. Eck y Robert S. Ledley, quienes produjeron la primera colección de secuencias de proteínas basada en computadora, publicaron en 1965 una compilación de secuencias de aminoácidos, con el nombre de Atlas of Protein Structure and Sequence, como resultado de recolectar, comparar y analizarlas computacionalmente, cuyo fin era producir conocimiento sobre la estructura, función y evolución de las proteínas (85).

### **2.7.1 BLAST**

BLAST o "Basic Local Alignment Search Tool" es un programa informático que permite el alineamiento de secuencias problema (secuencias query o blanco) frente a secuencias caracterizadas con anterioridad (secuencias target u objetivo) que se encuentran en una base de datos, permitiendo inferir relaciones funcionales, estructurales o evolutivas entre dos secuencias. La idea fundamental del algoritmo BLAST es que, en cualquier alineamiento estadísticamente significativo, suelen existir pares de segmentos muy similares (denominados como HSPs o High Scoring Pairs). BLAST busca todos los HSP entre la secuencia de búsqueda y las secuencias de la base de datos, utiliza el algoritmo Smith-Waterman para que el alineamiento encontrado sea óptimo, además de utilizar matrices tipo BLOSUM o PAM que permite a BLAST dar una puntuación a los alineamientos que realiza, ya sea un nucleótido o un aminoácido (86) (87).

### **2.7.2 QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology)**

Es una aplicación de software de código abierto que por sus siglas traduce "conocimientos cuantitativos sobre ecología microbiana", realiza el análisis de las comunidades microbianas interpretando datos de secuencias de ácidos nucleicos de comunidades de hongos, virus, bacterias y arqueas. Se basa principalmente en datos de secuenciación de amplicones de alto rendimiento generados en una variedad de plataformas, pero también en análisis de otros tipos de datos, como los datos de metagenómica balística (88)

Un análisis QIIME estándar comienza con datos de secuencia de una o más tecnologías de secuenciación, como Sanger, Roche / 454, Illumina u otras. El uso de QIIME para analizar datos de comunidades microbianas consiste en escribir una serie de comandos en una ventana terminal y luego ver la salida gráfica y textual, con el fin de proporcionar un flujo de trabajo de principio a fin, comenzando con lecturas de secuencias multiplexadas y terminando con perfiles taxonómicos, filogenéticos y comparaciones de las muestras en el estudio. Con esta información, es posible determinar factores biológicos y ambientales que alteran la ecología de la comunidad microbiana (89).

### **2.7.3 DADA2**

"Divisive Amplicon Denoising Algorithm" Es un paquete de software que implementa un algoritmo el cual modela y corrige los errores generados durante la secuenciación de amplicones realizado por Illumina, utiliza ese modelo de error para deducir la verdadera composición de la muestra. DADA2 reemplaza el paso tradicional de "selección de OTU" en los flujos de trabajo de secuenciación de amplicones, generando en su lugar tablas de mayor resolución de variantes de secuencias de amplicones (ASV) (90).

El punto de partida de DADA2 es un conjunto de archivos demultiplexados fastq correspondientes a las muestras estudio de secuenciación, esperando que haya un archivo individual para cada muestra. Una vez que los archivos demultiplexados fastq sin nucleótidos no biológicos están disponibles, el

programa procede de la siguiente manera: 1) Filtrar y recortar, 2) Deduplicar, 3) Conocer las tasas de error, 4) Inferir composición de la muestra, 5) Fusionar lecturas pareadas, 6) Hacer tabla de secuencias, 7) Remove las quimeras. Como resultado se obtiene una tabla de características de variantes de secuenciación de amplicones (una tabla de ASV), esta tabla es análoga a la tabla OTU tradicional con una resolución más alta (91).

### **3. DISEÑO METODOLÓGICO**

#### **3.1 Tipo de investigación**

Estudio cuantitativo, de tipo descriptivo exploratorio.

#### **3.2 Universo, población, muestra**

##### **3.2.1 Universo**

Suelo del departamento de Córdoba, Colombia

##### **3.2.2 Población**

Suelo de la zona de amortiguación del Parque Nacional Natural Paramillo.

##### **3.2.3 Muestra**

Suelo de 2 zonas diferentes de la finca Tuti Fruti, en la vereda Tuis Tuis, municipio de Tierralta, Córdoba en el Parque Nacional Natural Jaramillo, recolectadas en el mes de Julio del año 2018.

#### **3.3 Variables, indicadores**

**3.3.1 Variable independiente:** suelo de dos zonas diferentes de la finca Tuti Fruti, Tierralta, Córdoba, Colombia

**3.3.2 Variable dependiente:** Familias, géneros y especies de microorganismos presentes en el suelo de dos zonas diferentes de la finca Tuti Fruti ubicada en el municipio de Tierralta en el departamento de Córdoba, Colombia

### 3.3.3. Indicadores

**Tabla 1.** Indicadores

<b>Objetivo</b>	<b>Resultado</b>	<b>Indicador</b>
Caracterizar las diferentes comunidades procariotas presentes en el suelo de áreas de establecimiento de sistemas agroforestales, de la zona de amortiguación del Parque Nacional Natural Paramillo, en Córdoba, Colombia por medio de metagenómica.	Comunidades de microorganismos presentes en el suelo de la zona de amortiguación del Parque Nacional Natural Paramillo	Número de microorganismos identificados y organizados en phylum, clase, orden, familia, género y especie identificadas en las muestras, por metagenómica
Relacionar las propiedades fisicoquímicas de los diferentes suelos: suelo impactado con glifosato y suelo sin contacto previo con glifosato, con los resultados obtenidos del análisis metagenómico.	Establecer la relación existente entre las propiedades fisicoquímicas del suelo y la microbiota presente.	Géneros y especies presentes en los dos suelos y su relación con los resultados fisicoquímicos
Comparar la microbiota presente en un suelo con previa exposición a glifosato	Comparación de los microorganismos identificados en zonas	Número y tipo de microorganismos identificados en las dos

frente a la microbiota presente en el suelo que no ha sido tratado con dicho herbicida.	expuestas a glifosato de las que no han estado en contacto con dicho herbicida.	zonas analizadas.
---	---	-------------------

### 3.4 Hipótesis

1. La diversidad y distribución de la microbiota está relacionada con la aplicación de glifosato.
2. Existe relación entre la microbiota encontrada y las características fisicoquímicas de los suelos analizados.

### 3.5 Técnicas y procedimientos

#### 3.5.1 Ubicación de la zona de muestreo

Las muestras de suelo fueron recolectadas en la finca Tuti Fruti, en la vereda de Tuis Tuis, municipio de Tierralta en el departamento de Córdoba, Colombia. En la Figura 10 se observa la ubicación geográfica del departamento de Córdoba, Colombia; el municipio de Tierralta (Figura 1) y la vereda Tuis Tuis (Figura 11).

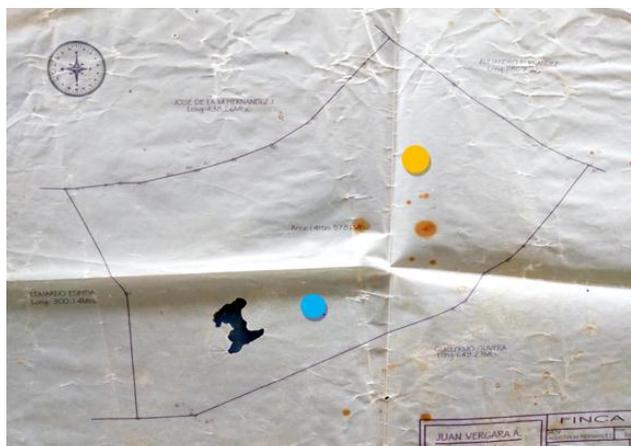


**Figura 10.** Ubicación geográfica del departamento de Córdoba

*Tomado de gobernación de Córdoba(92)*



Para la recolección de los suelos a utilizar en el análisis metagenómico y físico químico, el muestreo se realizó de acuerdo con el protocolo en zigzag recomendando por el centro de Bio-sistemas de la Universidad Jorge Tadeo Lozano (UJTL) (93).



**Figura 12.** Mapa de la finca Tuti Fruti

El punto azul: Indica la zona donde se realizó el muestreo del suelo sin aplicación de glifosato, mientras que el punto naranja indica la zona donde se realizó el muestreo del suelo con aplicación de glifosato.

*Foto Tomada del cuaderno topográfico de la vereda*

**Tabla 2.** Descripción de zonas de muestreos.

Zonas de muestreo	Descripción
	Se tomaron 10 submuestras de suelo, a una profundidad entre 0-25 cm con un barreno para la zona impactada con glifosato y zona sin impacto de glifosato. Las muestras se depositaron en un balde plástico, donde fueron mezcladas, finalmente de cada zona se recolectó 1.0 Kg de suelo para su posterior análisis.

<p><b>Zona impactada con glifosato</b></p>	
<p><b>Zona sin impacto de glifosato</b></p>	

### 3.5.3 Conservación de muestras

Las muestras fueron conservadas en bolsas plásticas de 1.0 Kg, debidamente marcadas y refrigeradas de 4-6 °C hasta la realización de los análisis.

### 3.5.4 Análisis físico químico

Para el análisis físico químico fueron enviadas al Laboratorio de Suelos y Aguas del Centro de Bio-sistemas de la Universidad JorgeTadeo Lozano UJTL 2 bolsas plásticas con cierre ziploc, cada una con 1.0 Kg de suelo de las 2 zonas muestreadas.

### 3.5.5 Extracción de DNA genómico

Se utilizó el Kit ZR Soil Microbe DNA MiniPrep™ (Zymoresearch, CA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante, como se muestra a continuación:

- 1) Adicionar la muestra acorde con la referencia (250 mg) al ZymoBIOMICS Lysis Tube. Agregar 100 µl de ZymoBIOMICS Lysis Solution junto con la muestra.
- 2) Agitar en vortex por 30 minutos.
- 3) Centrifugar el ZymoBIOMICS Lysis Tube en una microcentrifuga a 10000 rpm por 1 minuto.
- 4) Transferir 400µl del sobrenadante al Zymo-Spin IIIF Filter en un tubo de colección y centrifugar a 8000 rpm por 1 minuto.
- 5) Agregar 1200µl de ZymoBIOMICS DNA Binding Buffer al tubo de colección del paso 4.
- 6) Transferir 800µl de la muestra del paso 5 al Zymo-Spin IIC-Z Column en un tubo de colección y centrifugar a 10000 rpm por 1 minuto.
- 7) Descartar el fluido del tubo de colección y repetir el paso 6.
- 8) Agregar 400µl de ZymoBIOMICS DNA Wash Buffer 1 a la columna al Zymo-Spin IIIC-Z en un nuevo tubo de colección y centrifugar a 10000 rpm por 1 minuto. Descartar el fluido.
- 9) Agregar 700µl de ZymoBIOMICS DNA Wash Buffer 2 a la columna al Zymo-Spin IIIC-Z en un nuevo tubo de colección y centrifugar a 10000 rpm por 1 minuto. Descartar fluido.
- 10) Agregar 200µl de ZymoBIOMICS DNA Wash Buffer 2 a la columna al Zymo-Spin IIIC-Z en un nuevo tubo de colección y centrifugar a 10000 rpm por 1 minuto.
- 11) Transferir el Zymo-Spin IIIC-Z Column a un tubo limpio de microcentrifuga 1.5 ml y agregar 100µl de ZymoBIOMICS™ DNase/RNase Free Water directamente a la columna e incubar durante 1 minuto. Centrifugar en 1000 rpm por 1 minuto para eluir el ADN.
- 12) Colocar un filtro Zymo-Spin III-HRC en un nuevo tubo de recolección y agregar 600 µl ZymoBIOMICS HRC Prep Solution. Centrifugar a 8000 rpm por 3 minutos.

- 13) Transferir el ADN eluido (Paso 11) a un filtro preparado Zymo-Spin III-HRC en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml limpio y centrifugar a exactamente 16000 rpm por 3 minutos.

### 3.5.6 PCR

Para verificar la calidad del ADN extraído, se realizó una PCR (Tabla 3) para procariotas utilizando primers universales de la región 16S del ADNr (16S-8F 5'- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG - 3' y 16S-1492R 5' - CGGTTACCTTGTTACGACTT - 3'). Se utilizó la enzima OneTaq Quick Load 2X Master Mix With Standard Buffer (New England Biolabs, Inglaterra). La PCR se llevó a cabo en el termociclador Labnet Multigene Optimax (Labnet, USA), en un volumen final de reacción de 12.5 µL.

**Tabla 3. Ciclaje y temperatura de la PCR**

Proceso	Temperatura	Tiempo	Total de ciclos
<b>Desnaturalización</b>	94.0°C	10:00 Min	30 ciclos
	94.0°C	0:30 Seg	
<b>Anillamiento</b>	50.0°C	1:30 Min	
<b>Extensión</b>	72.0°C	2:00 Min	
<b>Extensión final</b>	72.0°C	15:00 Min	

### 3.5.7 Electroforesis

Se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 0.5%, teñido con GelGreen® Nucleic Acid Gel Stain y corrido en buffer TBE 0.5X para observar los productos de PCR.

### **3.5.8 Cuantificación**

El producto final de la extracción de ADN fue enviado a la Universidad Nacional de Colombia, donde se empleó el equipo Thermo Scientific™ NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, USA) para su cuantificación.

### **3.5.9 Secuenciación**

El ADN genómico fue llevado a una concentración de 40µl para la elaboración de las genotecas. Las muestras se procesaron y analizaron con el servicio de secuenciación dirigida ZymoBIOMICS® para análisis de microbiomas (Zymo Research, Irvine, CA), incluyendo los siguientes pasos:

#### **3.5.9.1 Preparación de la biblioteca 16S**

La secuenciación dirigida del gen del ARN ribosomal 16S bacteriano se realizó con el kit de preparación de biblioteca *Quick -16S™* Primer Set V3-V4 (Zymo Research, Irvine, CA). Los cebadores 16S bacterianos amplificaron la región V3-V4 del gen 16S rRNA. Estos cebadores fueron diseñados por Zymo Research para brindar la mejor cobertura del gen 16S a la vez que mantienen una alta sensibilidad. Los primers utilizados fueron descritos por Klindworth et al. 2013 (94).

La biblioteca de secuenciación para 16S, se preparó realizando ensayos de PCR en tiempo real para controlar ciclos y, por lo tanto, evitar la formación de quimeras de PCR. Los productos finales de PCR se cuantificaron con lecturas de fluorescencia (qPCR). Después de la PCR, se realizó la limpieza de la librería usando Selecta Size DNA Clean & Concentrator (Zymo Research, Irvine, CA), luego se cuantificó con TapeStation® (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) y Qubit® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, WA).

### **3.5.9.2 Secuenciación**

La biblioteca final se secuenció en Illumina® MiSeq™ con un kit de reactivo v3 (600 ciclos). La secuenciación se realizó con un aumento del 10% de PhiX.

### **3.5.10 Análisis bioinformático**

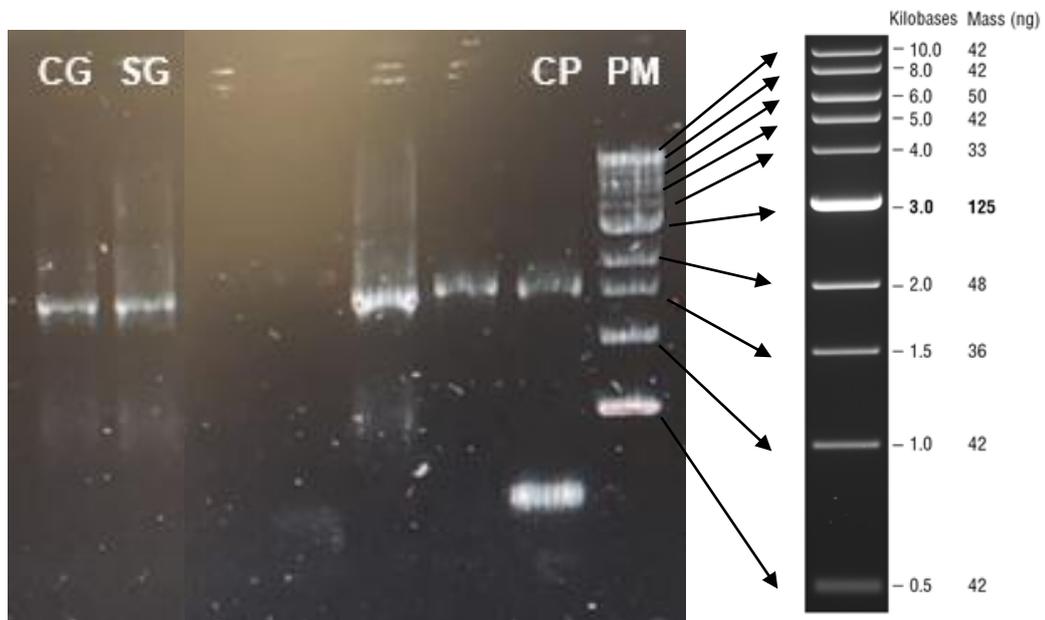
Las secuencias de amplicón únicas se infirieron a partir de lecturas sin procesar utilizando el programa Dada2. Las secuencias quiméricas también se eliminaron con Dada2. La asignación de taxonomía se realizó utilizando Uclust de Qiime v.1.9.1. Taxonomy se asignó con la Base de datos de investigación Zymo, una base de datos 16S que está diseñada y curada internamente, como referencia.

Los análisis de visualización de la composición, diversidad alfa y diversidad beta se realizaron con Qiime v.1.9.1. Si corresponde, la taxonomía que tiene una abundancia significativa entre los diferentes grupos se identificó por LEfSe utilizando la configuración predeterminada. Otros análisis, como mapas de calor, Taxa2SV\_deomposer y gráficos de PCoA se realizaron con scripts internos.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 PCR y electroforesis

Después de haber realizado la extracción del ADN y PCR, se evaluó la calidad del producto obtenido por medio de electroforesis en gel de agarosa al 0.5%, donde se evidencio que tanto el suelo con glifosato y el suelo sin glifosato presentaron un producto de aproximadamente 1.5Kb, equivalente a una masa de 36ng (Figura 13).



**Figura 13.** PCR de la región 16S del ARNr de muestras de suelo de la Zona de amortiguación del Parque Nacional Natural Paramillo, Córdoba.

Electroforesis en gel de agarosa 0.5% en TBE 0.5X. (Voltaje 100V, Tiempo 60m).

**CG:** Suelo impactado con glifosato

**SG:** Suelo sin contacto previo con glifosato

**CP:** Control positivo

**PM:** Marcador de peso molecular (1kb ADN Ladder. New England. BioLabs )

## 4.2 Análisis físico químico

Respecto a los resultados obtenidos del análisis físico químico realizado en el Laboratorio de Suelos y Aguas del Centro de Bio-sistemas de la Universidad Jorge Tadeo Lozano, se analizaron diferentes parámetros entre ellos: elementos mayores (Tabla 4) donde se evidencia una deficiencia de estos elementos en los dos suelos analizados a excepción del Nitrógeno y Magnesio; este último solo se encontró en exceso en el suelo con glifosato. Por otro lado, en los resultados obtenidos de las relaciones catiónicas (Tabla 5) se puede evidenciar que en el suelo con glifosato estas relaciones estaban en exceso, excepto la relación Ca/Mg que se encontró deficiente en el suelo con glifosato, mientras que en el suelo sin glifosato los resultados fueron óptimos para las relaciones catiónicas de Mg/K y (Ca+Mg)/K, pero las relaciones Ca/Mg y Ca/K fueron deficientes. Finalmente se analizaron otros parámetros de la muestra como porcentaje de agua, porcentaje de saturación, porcentaje de carbón orgánico, porcentaje de materia orgánica y capacidad de intercambio catiónico (Tabla 6).

**Tabla 4.** Resultados elementos mayores de muestras de suelo de la Zona de amortiguación del Parque Nacional Natural Paramillo, Córdoba.

<b>ANALISIS FISICOQUÍMICO</b>		
<b>Elementos Mayores</b>		
<b>Elemento/parámetro analizado</b>	<b>Suelo con aplicación de glifosato</b>	<b>Suelo sin aplicación de glifosato</b>
pH	5.2	4.6
C.E. Extracto de saturación.	0.11 dS/m	0.15 dS/m
N-NH <sup>+</sup> <sub>4</sub> Amonio	30.0 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm	30.0 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm

N-NO <sub>3</sub> Nitrato	8.4 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm	11.1 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm
N-Min. Nitrógeno	38.4 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm	41.0 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm
P Fosforo	3 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm	2 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm
K Potasio	91 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm	136 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm
Ca Calcio	1269 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm	574 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm
Mg Magnesio	480 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm	223 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm
Na Sodio	13 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm	15 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm
Al Acidez Int	1.16 cmol+*kg <sup>-1</sup>	4.21 cmol+*kg <sup>-1</sup>
S Azufre	0.5 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm	0.6 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm
Cl- Cloruro	15 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm	44 mg*kg <sup>-1</sup> ó ppm

**Tabla 5.** Resultados relaciones catiónicas de muestras de suelo de la Zona de amortiguación del Parque Nacional Natural Paramillo, Córdoba.

<b>ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO</b>		
<b>Relaciones catiónicas</b>		
<b>Elemento/parámetro analizado</b>	<b>Suelo con aplicación de glifosato</b>	<b>Suelo sin aplicación de glifosato</b>
Ca/Mg	1.60	1.56
Ca/K	27.32	8.26

Mg/K	17.03	5.30
(Ca+Mg)/K	44.35	13.56

**Tabla 6.** Resultados de otros parámetros analizados en muestras de suelo de la Zona de amortiguación del Parque Nacional Natural Paramillo, Córdoba

<b>ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO</b>		
<b>Otros análisis y parámetros de la muestra</b>		
<b>Elemento/parámetro analizado</b>	<b>Suelo con aplicación de glifosato</b>	<b>Suelo sin aplicación de glifosato</b>
Porcentaje de agua Pw %	2.0 %	2.5 %
Porcentaje de saturación Ps%	58.2 %	80.0 %
%carbón orgánico	0.83 %	1.12 %
% materia orgánica	1.43 %	1.93 %
Capacidad de Intercambio Catiónico CIC	26.3 cmol+*kg <sup>-1</sup>	30.0 cmol+*kg <sup>-1</sup>
Capacidad de intercambio catiónico efectiva CICE	11.7 cmol+*kg <sup>-1</sup>	9.3 cmol+*kg <sup>-1</sup>

### 4.3 Análisis metagenómico

El análisis de la secuenciación del gen 16S es de gran utilidad al momento de conocer la composición de los diferentes microorganismos encontrados en un nicho ambiental, permitiendo la reconstrucción filogenética e identificación bacteriana. La presencia del gen 16S en todas las bacterias y la conservación de algunas regiones universales, permite la elaboración de primers capaces de

amplificar regiones específicas para la identificación de bacterias a nivel taxonómico desde filo hasta especie.

#### 4.3.1 Secuencias obtenidas

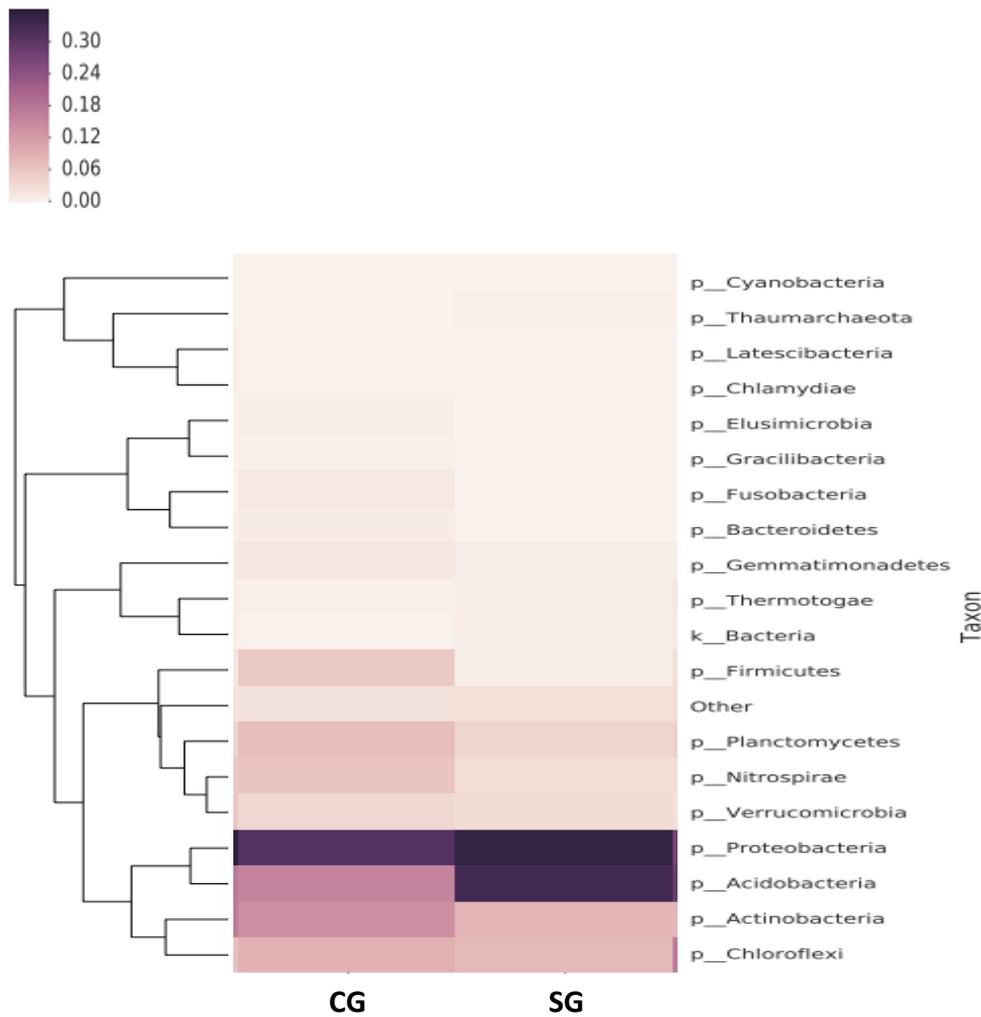
En la Tabla 7 se pueden observar las secuencias obtenidas en cada una de las fases del procesamiento en el análisis bioinformático.

**Tabla 7. Número de secuencias obtenidas**

SECUENCIAS OBTENIDAS DURANTE EL PROCESAMIENTO DEL ANÁLISIS DEL ARNr 16S								
Muestra	Secuencias crudas generadas	Secuencias recortadas	Análisis Dada2	Secuencias quiméricas	Secuencias libres de secuencias quiméricas	Secuencias únicas	Secuencias después de la filtración de tamaño	OTUs
Suelo con glifosato	55414	52626	25846	558	25288	230	25220	219
Suelo Sin glifosato	56656	53450	22112	1698	20414	476	19925	405

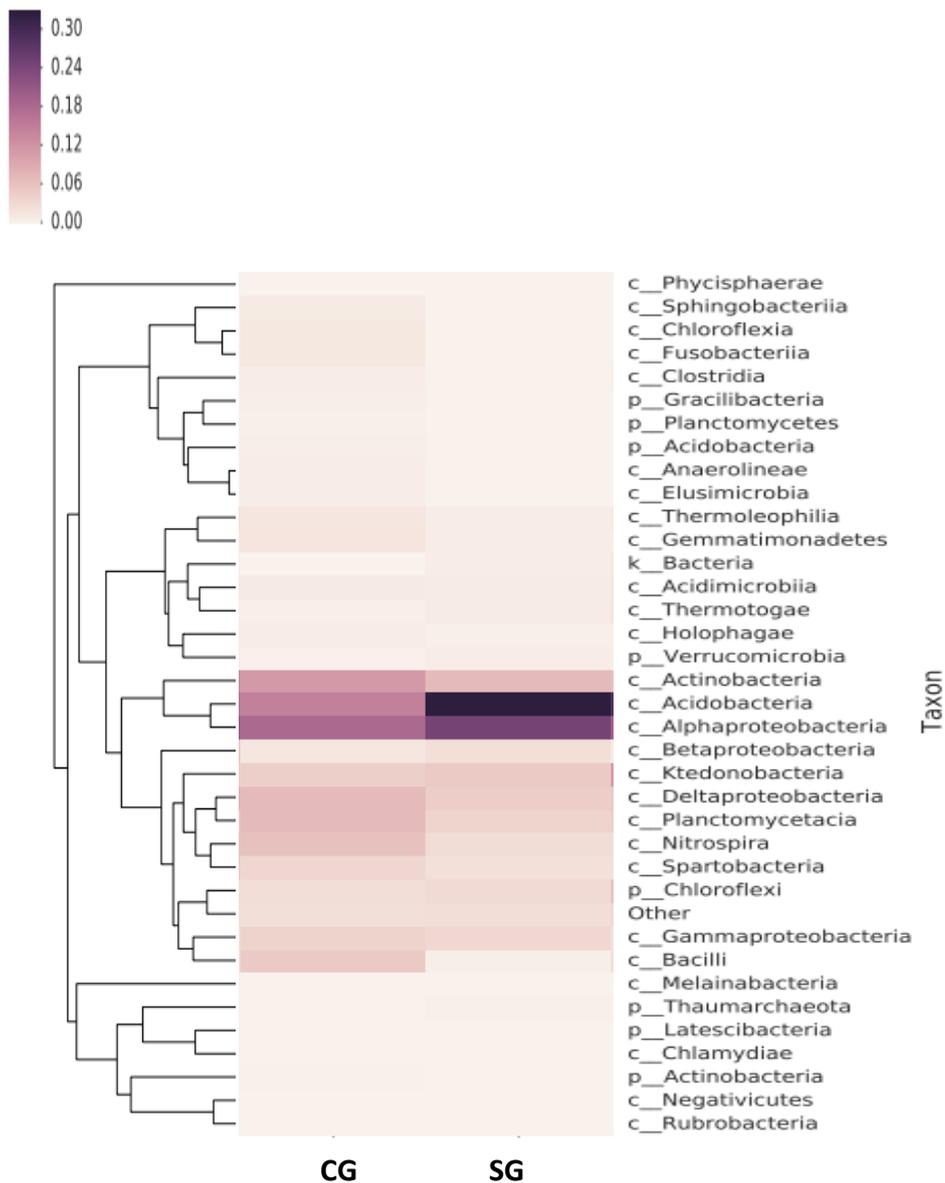
#### 4.3.2 Análisis metagenómico del gen ARNr 16S

La caracterización metagenómica dirigida al 16S, en las muestras de suelo indicó predominancia de once Filos: Acidobacteria (15.7% y 33.0%), Actinobacteria (13.9% y 8.7%), Bacteroidetes (0.9% y 0.0%), Chloroflexi (9.1% y 8.0%), Firmicutes (5.8% y 0.4%), Fusobacteria (1.3% y 0.0%), Gemmatimonadetes (1.6% y 0.7%), Nitrospirae (6.2% y 2.7%), Planctomycetes (7.4% y 3.9%), Proteobacteria (30.8% y 34.9%) y Verrucomicrobia (3.6% y 3.0%), en el suelo con glifosato y suelo sin glifosato respectivamente (Figura 14 y Anexo 1.1).



**Figura 14.** Mapa de calor de la composición e identificación procariota a nivel de Filo.

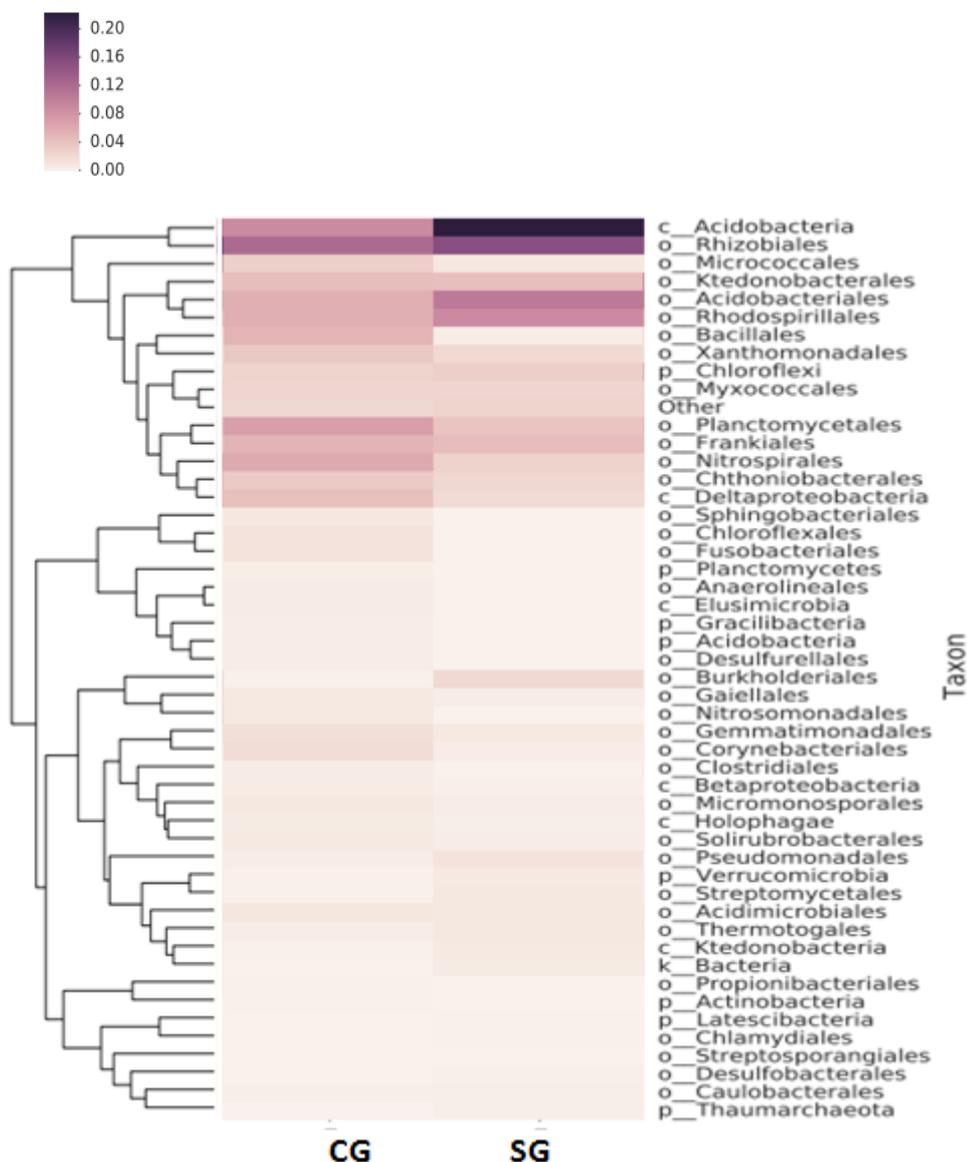
A nivel de Clase, la comunidad microbiana de los suelos analizados presentó alta abundancia de: Acidobacteria (14.7% y 32.7%), Actinobacteria (11.3% y 7.1%), Thermoleophilia (1.5% y 0.7%), Chloroflexia (1.3% y 0.3%), Bacilli (5.2% y 0.4%), Fusobacteriia (1.3% y 0.0%), Gemmatimonadetes (1.6% y 0.7%), Nitrospira (6.2% y 2.7%), Planctomycetacia (7.1% y 3.9%), Alphaproteobacteria (18.3% y 24.6%), Betaproteobacteria (1.4% y 2.3%), Deltaproteobacteria (7.1% y 4.6%) y Gammaproteobacteria (4.1% y 3.4%), el suelo con glifosato y suelo sin glifosato respectivamente (Figura 15 y Anexo 1.2).



**Figura 15.** Mapa de calor de la composición e identificación procariota a nivel de Clase.

A nivel de Orden, la comunidad microbiana de los suelos analizados presentó alta abundancia de: Acidobacteriales (5.7% y 10.6%), Corynebacteriales (1.9% y 0.5%), Frankiales (5.4% y 4.5%), Micrococcales (3.0% y 0.9%), Streptomycetales (0.2% y 0.9%), Chloroflexales (1.3% y 0.0%), Bacillales (5.2% y 0.4%), Fusobacteriales (1.3% y 0.0%), Gemmatimonadales (1.6% y 0.7%), Nitrospirales (6.2% y 2.7%), Planctomycetales (7.1% y 3.9%), Rhizobiales (12.2% y 15.2%), Rhodospirillales (5.8% y 9.0%), Burkholderiales (0.2% y 2.1%), Pseudomonadales (0.5% y 1.4%) y Xanthomonadales (3.6% y 2.0%),

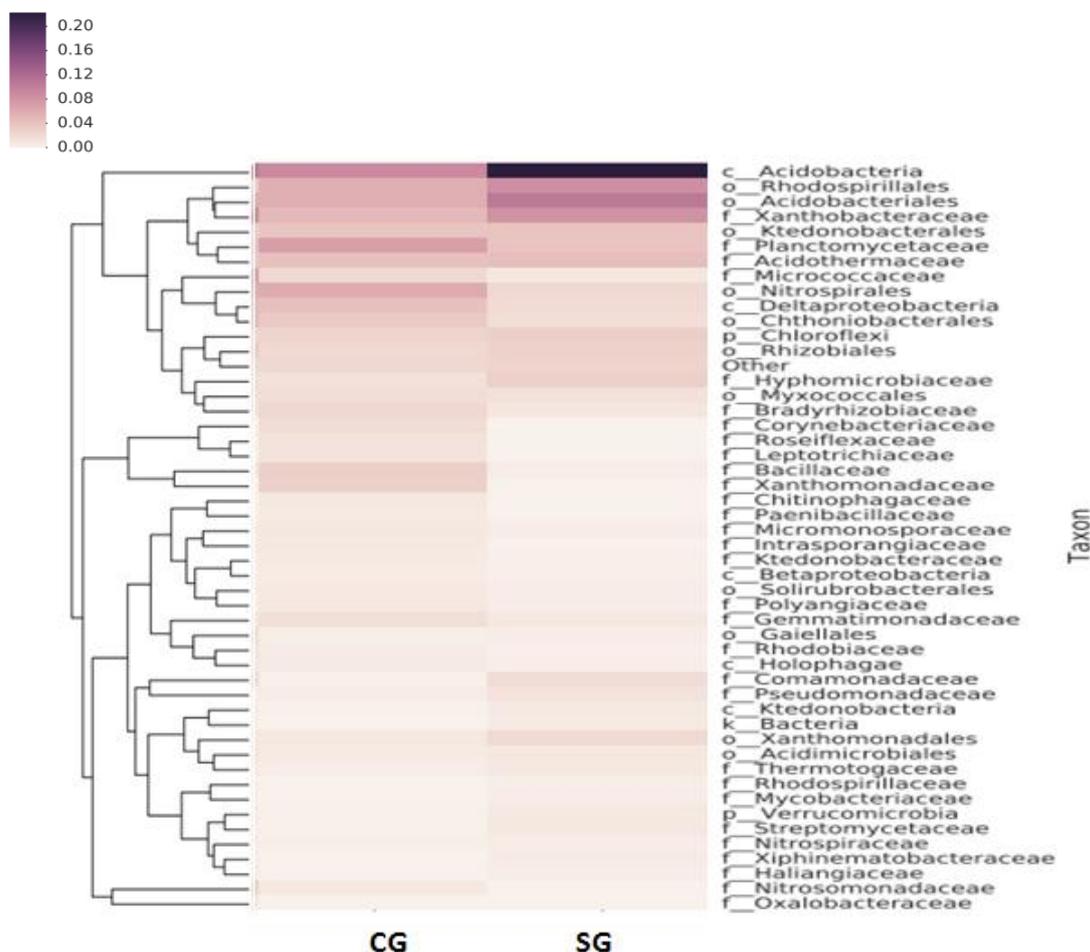
en el suelo con glifosato y suelo sin glifosato respectivamente (Figura 16 y Anexo 1.3).



**Figura 16.** Mapa de calor de la composición e identificación procariota a nivel de Orden.

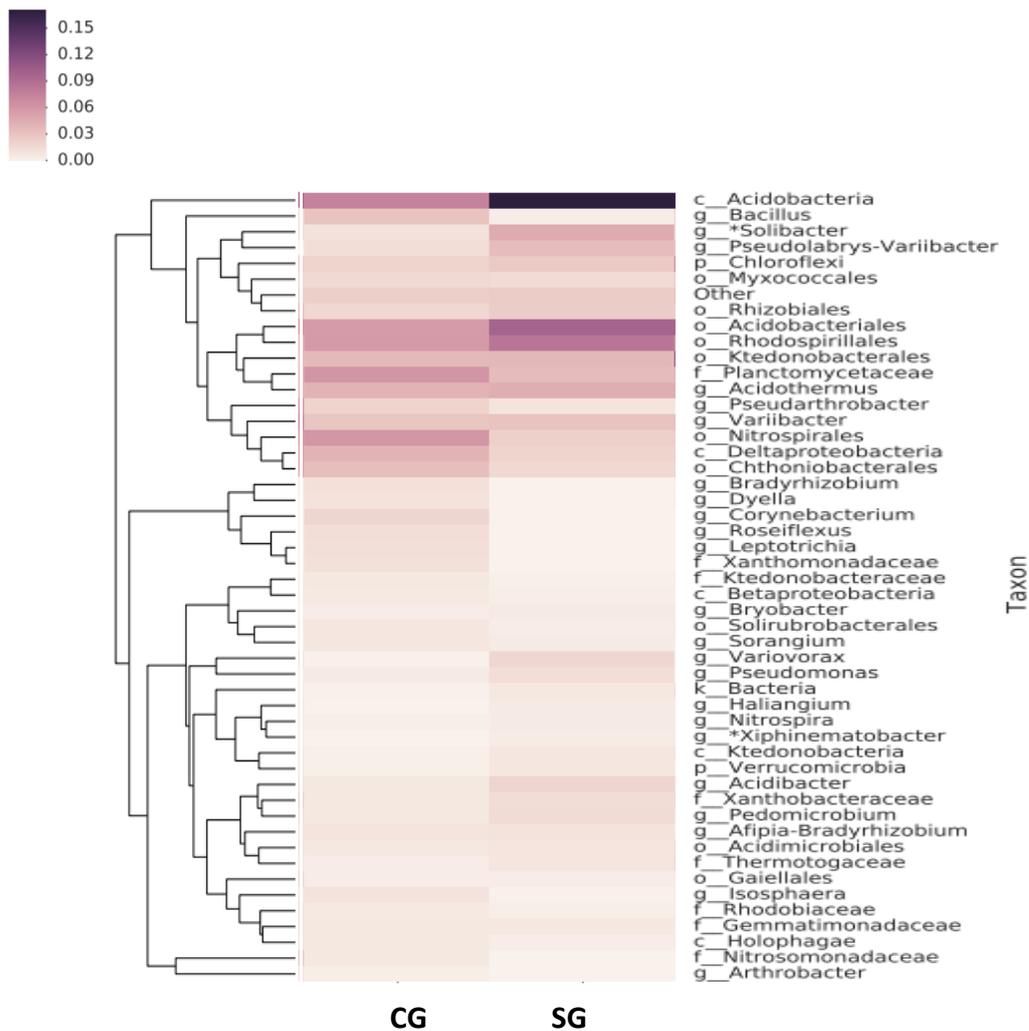
A nivel de Familia, la comunidad microbiana de los suelos analizados presentó alta abundancia de: Corynebacteriaceae (1.9% y 0.0%), Acidothermaceae (4.2% y 4.5%), Micrococcaceae (2.2% y 0.9%), Bacillaceae (3.1% y 0.4%), Gemmatimonadaceae (1.6% y 0.7%), Planctomycetaceae (7.1% y 3.9%), Bradyrhizobiaceae (2.3% y 1.0%), Xanthobacteraceae (4.8% y 8.2%), Pseudomonadaceae (0.5% y 1.4%) y Xanthomonadaceae (2.9% y 0.0%), en el

suelo con glifosato y suelo sin glifosato respectivamente (Figura 17 y Anexo 1.4).



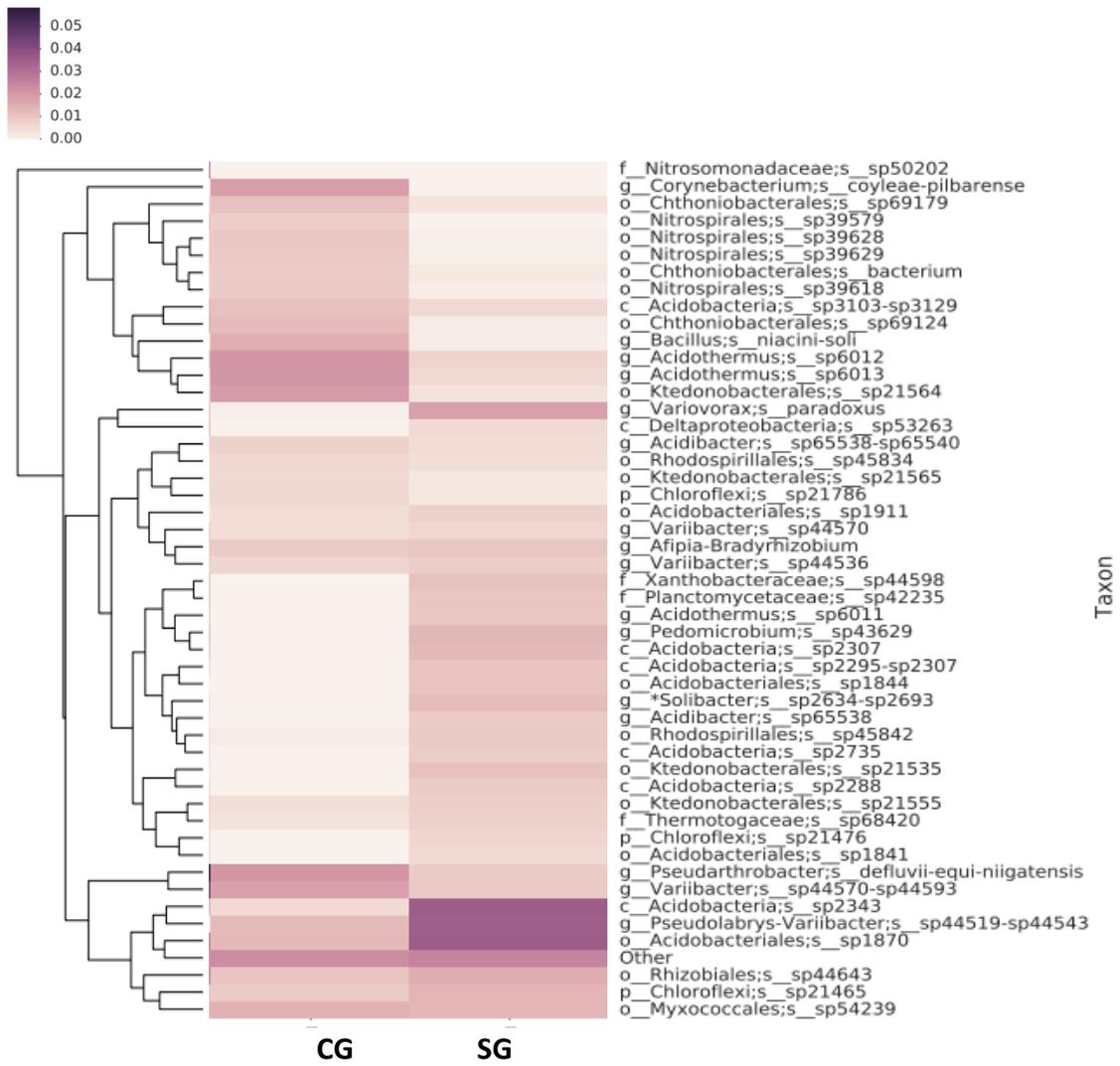
**Figura 17.** Mapa de calor de la composición e identificación procariota a nivel de Familia

A nivel de Género, la comunidad microbiana de los suelos analizados presentó alta abundancia de: *Solibacter* (1.1% y 4.6%), *Corynebacterium* (1.9% y 0.0%), *Acidothermus* (4.2% y 4.5%), *Pseudarthrobacter* (2.0% y 0.9%), *Streptomyces* (0.2% y 0.3%), *Parafilimonas* (0.9% y 0.0%), *Roseiflexus* (1.3% y 0.0%), *Bacillus* (3.1% y 0.4%), *Gemmatimonas* (1.0% y 0.1%), *Nitrospira* (6.0% y 2.2%), *Bradyrhizobium* (1.2% y 0.0%), *Pseudolabrys-Variibacter* (1.3% y 3.5%), *Variovorax* (0.1% y 1.8%), *Pseudomonas* (0.5% y 1-4%), *Acidibacter* (0.7% y 1.9%), en el suelo con glifosato y suelo sin glifosato respectivamente (Figura 18 y Anexo 1.5).



**Figura 18.** Mapa de calor de la composición e identificación procaríota a nivel de Género

A nivel de Especie, la comunidad microbiana de los suelos analizados presentó una abundancia relativa de: *aggregans-modestus* (0.0% y 0.4%), *coyleae-pilbarensis* (1.9% y 0.0%), *defluvii-equi-niigatensis* (2.0% y 0.9%), *niacini-soli* (1.5% y 0.1%), *canariense-lupini* (0.8% y 0.0%), *paradoxus* (0.1% y 1.8%), *azotoformans-fluorescens-synxantha* (0.0% y 1.4%), en el suelo con glifosato y suelo sin glifosato respectivamente (Figura 19 y Anexo 1.6).



**Figura 19.** Mapa de calor de la composición e identificación procariota a nivel de Especie

## 5 DISCUSIÓN

El uso de glifosato como herbicida responde a la necesidad creciente de producir con más eficacia cultivos que puedan generar alimento para la población en general que crece exponencialmente. En Colombia, además de asegurar los cultivos de consumo, este herbicida es utilizado principalmente para la erradicación de cultivos ilícitos, un problema al que se ha enfrentado el país durante muchas décadas y que ha supuesto un verdadero inconveniente para el gobierno nacional. Si bien las propiedades del glifosato son varias, e inicialmente su función es brindar un beneficio para el que lo implementa, no se puede ignorar que ha traído consecuencias negativas en la salud no solo del suelo y de los microorganismos que lo habitan, sino en la salud de los animales y humanos que han estado expuestos al contacto con este compuesto.

Por otro lado se sabe que el suelo es uno de los ambientes naturales más biodiversos que existe en nuestro planeta, siendo el hogar de una gran cantidad de microorganismos de diferente naturaleza. Los microorganismos son responsables de una parte importante de los ciclos biogeoquímicos, y por lo tanto, influyen significativamente en la vida terrestre. Sin embargo, el conocimiento que se tiene acerca de la vida microbiana, y el papel que ésta juega en el ambiente, es todavía poco entendido. En particular, se ha propuesto que entre 80-90% de los microorganismos que habitan en el suelo son desconocidos. Es por esto que en la actualidad la metagenómica ha tomado un papel relevante en los estudios en los cuales el suelo es el campo de investigación, debido a que gracias a esta tecnología se ha logrado conocer y estudiar de manera más detallada todo el material genómico desconocido y su interacción en diversos ambientes y frente a diferentes sustancias que pueden llegar a afectarlo de manera positiva o negativa como es el caso del glifosato (95).

Teniendo en cuenta los parámetros anteriores como: el impacto que tiene el glifosato en el suelo y el uso de la metagenómica para conocer las comunidades microbianas de un ecosistema específico, los resultados obtenidos en el presente estudio evidencian la presencia de determinadas

comunidades bacterianas en los dos suelos analizados: suelo impactado con glifosato y suelo sin impacto de glifosato.

El filo de las Acidobacterias y la clase Acidobacteria, son uno de los linajes bacterianos que más se ha asociado a muestras ambientales, se caracterizan por ser heterótrofos y sus especies ser aeróbicas o microaerófilas y algunas anaerobias facultativas, poseen glucosidasas, enzimas encargadas de la degradación de polisacáridos especialmente celulosa y almidón, además de utilizar como fuente de nitrógeno el amonio. Finalmente se caracterizan por la producción de exopolisacáridos (EPS), utilizados para la producción de celulosa bacteriana, se ha sugerido que esta propiedad les confiere una protección para sobrevivir largos períodos en el suelo (96).

Respecto al filo Acidobacteria se obtuvo un porcentaje de 15.7% y 33.0%, a nivel clase Acidobacteria 14.7% y 32.7% y en el género *Solibacter* 1.1% y 4.6% para el suelo con glifosato y suelo sin glifosato, respectivamente. Se puede evidenciar que el suelo con glifosato presentó una disminución de Acidobacteria respecto al suelo sin glifosato, teniendo en cuenta la información anterior, este filo y clase están relacionados con las condiciones del suelo. En los resultados obtenidos del análisis físico químico (Tabla 4), se evidencia que el suelo sin glifosato tiene un pH ácido (4.6) lo que se relaciona con el aumento de este filo en dicho suelo, resultado que concuerda con lo expresado por Rampelotto PH, de Siqueira Ferreira A, Barboza ADM, Roesch LFW, donde se concluye que el pH del suelo regula la abundancia del filo y clase Acidobacteria (97). Por otro lado, en este mismo estudio se evaluaron las comunidades bacterianas por medio de pirosecuenciación de alto rendimiento del gen 16S en el suelo brasileño, caracterizado por tener pH ácido y ser pobre en nutrientes, como resultados se encontró una predominancia de los filos Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, y Gemmatimonadetes. Los datos anteriores resultan similares a los obtenidos en nuestro estudio, ya que los suelos analizados presentaron un pH ácido, una deficiencia de nutrientes (Tabla 4 y 5) y se evidenció una abundancia de algunos de los filos mencionados anteriormente. Sin embargo, un estudio realizado en 2016 por Newman MM, Hoilett N, Lorenz N, Dick RP, Liles MR, Ramsier C, et al. en rizosferas de maíz y soja se encontró abundancia de los filos

Proteobacterias, Acidobacterias y Actinobacterias. Por otro lado, la abundancia relativa de Acidobacterias disminuyó en respuesta a la exposición al glifosato de dichos cultivos, datos que presentan similitud a lo encontrado en el suelo con glifosato, donde el filo y clase Acidobacteria disminuyeron en relación al suelo sin glifosato, resaltando la importancia de algunos miembros de las Acidobacterias que están involucradas en procesos biogeoquímicos, y una disminución en su abundancia podría llevar a cambios significativos en el estado nutricional de la rizosfera (11).

Las Actinobacterias constituyen uno de los filos y clases más importantes entre las bacterias Gram positivas con un alto contenido de G+C en su genoma. Están ampliamente distribuidas en los ecosistemas terrestres y acuáticos, especialmente en el suelo, donde desempeñan un papel crucial en el reciclaje de biomateriales refractarios por descomposición y formación de humus (98). La mayoría de las Actinobacterias que viven en el suelo pasan la mayor parte de sus ciclos de vida como esporas semiactivas, especialmente en condiciones de nutrientes limitados. Factores como la temperatura, el pH y la humedad del suelo, influyen en su crecimiento, las Actinobacterias son en su mayoría mesófilas, tienen un crecimiento óptimo a temperaturas entre 25 y 30°C. La mayoría crecen en suelos con un pH neutro. Sin embargo, algunas cepas de *Streptomyces* se han aislado de suelos ácidos (99).

Dentro del filo Bacteroidetes, sus miembros se caracterizan por ser bacterias Gram negativas, abarcan una mezcla de diversos tipos fisiológicos, desde Bacteroides estrictamente anaeróbicos hasta Flavobacterias estrictamente aeróbicas. Los miembros del filo Bacteroidetes han colonizado diversos nichos ecológicos como: suelo, océano, sitios de agua dulce y el tracto gastrointestinal de los animales, donde presentan diversas funciones biológicas. En particular, son degradadores conocidos de la materia orgánica polimérica y desempeñar funciones de oxigenación (100). Se cree que los Bacteroidetes ambientales están especializados en la degradación de la materia orgánica compleja en la biosfera, especialmente en forma de polisacáridos y proteínas, que pueden usar como fuente de energía y carbono (101).

Respecto a los resultados obtenidos, el suelo con glifosato presento una abundancia relativa de los filos Actinobacteria 13.9% y Bacteroidetes 0.9%, y las clases Actinobacteria 11.3% y Thermoleophilia 1.5% en comparación con el suelo sin glifosato 8.7%, 0.0% y 7.1%, 0.7%, respectivamente. En relación a estos resultados, en un estudio realizado en suelos de diferentes ecosistemas por medio de secuenciación metagenómica, se encontró que los filo Actinobacteria, Bacteroidetes y Cyanobacteria fueron más abundantes en los suelos con pH cercano a la neutralidad en comparación con los suelos más ácidos, esto concuerda con lo encontrado en nuestro estudio ya que el suelo con glifosato presenta un pH de 5.2 en comparación con el suelo sin glifosato que presenta un pH más ácido (4.6) (102). Resultados que también son respaldados por un estudio realizado por Lauber CL, Hamady M, Knight R, Fierer N., donde encontraron abundancias relativas de Actinobacteria y Bacteroidetes cuando el pH del suelo fue mayor o cercano a la neutralidad, mientras que la abundancia relativa de Actinobacteria se vio afectada cuando el pH disminuyó (103).

Por otro lado, el suelo con glifosato presento una abundancia de Actinobacterias y Bacteroidetes, esto se encuentra relacionado con un estudio donde se evidencia que los suelos con aplicación de glifosato tienen un aumento de dichos filos en relación a suelos sin aplicación de dicho herbicida (104), lo que puede explicar también el aumento de la clase Thermoleophilia perteneciente al filo Actinobacteria en el suelo con glifosato. Sin embargo, en el orden Acidobacteriales los resultados fueron diferentes al encontrarse un porcentaje menor de dicho orden en el suelo con glifosato 5.7% en relación al suelo sin glifosato 10.6%.

El filo Chloroflexi estaba predominantemente ocupado por bacterias fototróficas anoxigénicas a finales del siglo XX, una gran cantidad de organismos no fototróficos pertenecientes al filo se encontraron y se propusieron durante la última década, la mayoría de sus miembros son ahora bacterias no fototróficas. El filo contiene seis clases de las cuales Chloroflexia, es la más relevante. Los fotótrofos solo se encuentran en la clase Chloroflexia, mientras que otras cinco clases están totalmente compuestas por bacterias no fototróficas (105).

Algunos resultados han demostrado que los miembros del filo Chloroflexi son degradadores de celulosa y la utilización de polímeros vegetales puede estar generalizada en todo el filo (106).

En los resultados observados en nuestro estudio se encontró una abundancia del filo Chloroflexi 9.1% y 8.0% y la clase Chloroflexia 1.3% y 0.3%, para suelo con glifosato y suelo sin glifosato respectivamente, aunque en los dos suelos se presentó altos porcentaje de este filo y clase, el suelo con glifosato presentó un mayor porcentaje en relación al suelo sin glifosato. En la actualidad no se ha encontrado una relación significativa del filo Chloroflexi con las propiedades físico químicas del suelo por lo que no se puede determinar si el pH o alguna propiedad físico química de los suelos tuvo un impacto en estas comunidades microbianas.

Por otro lado, al analizar el resultado que presentó el suelo con glifosato en el filo Chloroflexi con otros estudios, se encontró que una investigación realizada por Lancaster SH, Hollister EB, Senseman SA, Gentry TJ, donde evaluaron el impacto del glifosato sobre las comunidades microbianas, determinó que el filo Chloroflexi mostró una disminución en los suelos que presentaban alguna aplicación de dicho herbicida, datos que difieren a los encontrados en nuestro estudio, donde se evidenció un mayor porcentaje de dicho filo en relación al suelo sin glifosato (104). Similar a los resultados encontrados para el orden Chloroflexales donde su porcentaje fue mayor en suelo con glifosato 1.3% en relación al suelo sin glifosato 0.0%.

Las bacterias del orden Frankiales son bacterias Gram positivas, no móviles que se caracterizan por fijar el nitrógeno y establecer nódulos radiculares en plantas y suelo (107). Respecto a los resultados obtenidos se presentó un mayor porcentaje de dicho orden en el suelo con glifosato 5.4% en relación al suelo sin glifosato 4.5%, permitiendo establecer que el suelo con glifosato tiene una buena fijación del nitrógeno en relación a esta comunidad microbiana.

La familia Corynebacteriaceae está compuesta por el género *Corynebacterium* con casi 90 especies y el género monoespecífico *Turicella*, ambos taxones se

encuentran en el orden Corynebacteriales, se ha informado una variabilidad significativa en el contenido de G+C en el ADN genómico que varía desde aproximadamente 46% en moles hasta 74% en moles. Los miembros de la familia Corynebacteriaceae se encuentran en diversos entornos, se caracterizan por ser microorganismos fijadores de nitrógeno y celulolíticos (108).

Respecto a los resultados obtenidos se encontró que en el orden Corynebacteriales, este presentó en el suelo con glifosato un valor de 1.9% y de 0.5% en el suelo sin glifosato, mientras que la familia Corynebacteriaceae presentó un porcentaje en el suelo con glifosato de 1.9% en relación al suelo con glifosato 0.0%, donde en este último no se evidenció presencia de esta comunidad, datos que evidencian que el suelo con glifosato presenta una óptima fijación del nitrógeno y una mejor capacidad celulítica, procesos importantes en el ciclo biológico del carbono (52).

La familia Micrococcaceae se define por una amplia gama de propiedades morfológicas y quimiotaxonómicas, como los lípidos polares, los ácidos grasos, los aminoácidos de peptidoglicano y los azúcares de células que se utilizan para la delimitación de géneros y especies. Los miembros de la familia se encuentran principalmente en la piel de mamíferos, muestras clínicas, hemocultivos y en varias muestras de suelo, así como en ambientes marinos. Se caracterizan por que los microorganismos pertenecientes a este orden presentan características proteolíticas (109).

Respecto a los resultados obtenidos se encontró que para el orden Micrococcales el suelo con glifosato presentó un valor de 3.0% en relación al suelo sin glifosato de 0.9%, similar a los resultados encontrados para la familia Micrococcaceae en el suelo con glifosato 2.2% y 0.9% para el suelo sin glifosato, resaltando la importancia de estos microorganismos proteolíticos en el suelo con glifosato, donde pueden desempeñar mejor las funciones de degradación de la materia orgánica, además de actuar en etapas iniciales de la mineralización de los compuestos orgánicos nitrogenados (54).

El orden Streptomycetales se caracteriza por tener bacterias Gram positivas del suelo que forman micelios, desempeñan un papel importante en los procesos de mineralización en la naturaleza y son productores abundantes de metabolitos secundarios. Las condiciones de laboratorio permiten determinar una temperatura de crecimiento entre 28 a 30°C (110). Se consideran saprofitos de vida libre capaces de descomponer una gran cantidad de sustratos carbonados, tienen la habilidad para degradar compuestos altamente recalcitrantes tales como quitina, celulosa y hemicelulosa, en condiciones particulares de valores altos de pH del suelo (48). En el suelo, el tamaño y número de la comunidad depende de diversos factores, principalmente de las características físicas y químicas como pueden ser la textura, humedad, pH y contenido de materia orgánica.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio, mostraron un porcentaje de 0.2% en el suelo con glifosato para el orden Streptomycetales, en relación al suelo sin glifosato 0.9% donde su porcentaje fue mayor, similar a los resultados para el género *Streptomyces* donde el suelo con glifosato presentó un valor de 0.2% en relación al suelo sin glifosato 0.3%, esto puede estar relacionado con el aumento del porcentaje de materia orgánica que tiene este suelo (1.93) y su pH bajo (4.6) en relación al suelo sin glifosato con un valor de 1.43% para materia orgánica y de 5.2 para pH. Por otro lado, un estudio realizado bajo condiciones de laboratorio para investigar los efectos de los herbicidas, entre ellos el glifosato, se encontró que el tratamiento a concentraciones altas de los herbicidas causó una inhibición del número y actividad de diferentes *Streptomyces* en el suelo, datos que se pueden correlacionar con lo encontrado en nuestro estudio, ya que el suelo con glifosato presentó un menor porcentaje del orden Streptomycetales y género *Streptomyces*, en comparación con el suelo sin glifosato (111).

El orden Corynebacteriales se caracteriza por tener bacterias Gram positivas de morfología bacilar, poseen gránulos de polifosfato para algunas especies, además de ser algunas anaerobias facultativas o aerobias, se caracterizan por ser quimioorganótrofas. Las especies de *Corynebacterium* se han caracterizado por tener metabolismos fermentativos, oxidativos o no

fermentativos, además de participar en la fijación del nitrógeno, reduciendo el nitrógeno molecular a amonio (51). Las especies *coyleae-pilbarensis*, se caracterizan por ser bacterias difteroides Gram positivas, anaerobias facultativas, no lipofilicas, quimioorganótrofas, la especie *coyleae* en su genoma contiene 62–64 % en moles de G+C, mientras que no se conoce información de la especie *pilbarensis* (112). Respecto a los resultados encontrados, el suelo con glifosato presentó un mayor porcentaje del orden Corynebacteriales y el género *Corynebacterium* de 1.9% en relación al suelo sin glifosato 0.5% y 0.0%, datos similares para las especies *coyleae-pilbarensis*, en el suelo con glifosato 1.9% y suelo sin glifosato 0.0%. Respecto a la poca información que se tiene sobre la relación de esta comunidad microbiana y las propiedades fisicoquímicas del suelo, se puede determinar que su presencia en el suelo con glifosato está relacionada con la función de reducir el nitrógeno molecular a amonio.

La familia Acidothermaceae contiene bacterias termofílicas aisladas de fuentes termales y ubicadas en el género *Acidothermus*. El género *Acidothermus* se encontró y aisló en el Parque Nacional Yellowstone, Wyoming, EE. UU. Se han caracterizado varios genes para la degradación de la biomasa vegetal; las propiedades termoestables de las enzimas de *A. cellulolyticus* para la degradación tanto de celulosa como de hemicelulosa tienen valor para aplicaciones biotecnológicas (113).

Respecto a los resultados obtenidos se encontró un porcentaje de 4.2% y 4.5% para la familia Acidothermaceae y el género *Acidothermus*, para el suelo con glifosato y suelo sin glifosato respectivamente. Respecto a un estudio realizado para comprender la relación de las comunidades bacterianas del suelo, las propiedades físico químicas y el uso de la tierra, se encontró que los suelos forestales exhibían alto contenido de carbono y nitrógeno, un pH ácido, además de presentar un aumento del género *Acidothermus*, resultado que presenta relación a los datos encontrados en nuestro estudio, ya que el suelo sin glifosato fue el que presentó un mayor porcentaje de la familia Acidothermaceae y el género *Acidothermus*, lo que se puede relacionar con el aumento del carbono orgánico (1.12%), el nitrógeno (41.0 ppm) y el pH ácido

(4.6) de este suelo en relación al suelo con glifosato donde el carbón orgánico y el nitrógeno fueron menores y el pH fue más alto (114).

Las bacterias del género *Pseudarthrobacter* se caracterizan por ser Gram positivas, tienen morfología bacilar cuando crecen exponencialmente y de forma de coco cuando están en fase de crecimiento estacionario, *Pseudarthrobacter* contiene las especies *chlorophenicus*, *defluvii*, *equi*, *niigatensis*, *oxydans*, *phenanthrenivorans*, *scleromae*, *siccitolerans*, y *sulfonivorans*, que se caracterizan por heterótrofas y aisladas de diferentes tipos de suelos, siendo este el hábitat preferido para este género. Son bacterias mesófilas con preferencias de pH entre 6 y 9 (115). En general el crecimiento de la especie *defluvii* se produce entre 5–37°C y con un pH entre 6-10. La especie *equii* crece a pH de 6.0–9.0 y la especie *nigatensis* tiene un crecimiento óptimo a 30°C, con un rango de pH para el crecimiento de 6 a 11 (115).

Respecto a los resultados obtenidos el suelo con glifosato presentó el mismo porcentaje (2.0%) para el género *Pseudarthrobacter* y las especies *defluvii*-*equi*-*niigatensis*, el suelo sin glifosato obtuvo un porcentaje de 0.9% para ambos taxones. Sin embargo, el suelo con glifosato presentó un aumento en el porcentaje de esta comunidad microbiana en relación al suelo sin glifosato, lo que puede estar relacionado con el pH que presentaba este suelo (5.2) ya que se encuentra cercano al rango de crecimiento para estas bacterias.

El género *Parafilimonas* es una bacteria Gram negativa aeróbica no flagelada, presentan un crecimiento a 15–40 ° C y pH 5.0–8.0. Fue aislada de un suelo de invernadero en Yongjin – myeon, Gwangju-gun, República de Corea (116). Respecto a los resultados obtenidos, la presencia de este género fue de 0.9% y 0.0% en el suelo con glifosato en relación al suelo sin glifosato respectivamente. Sin embargo, se conoce poco de la importancia o relación de este género en el suelo, lo que sugiere que la presencia de esta comunidad bacteriana en el suelo con glifosato puede estar relacionada con el pH del suelo (5.2), un pH que corresponde al rango de crecimiento de esta bacteria.

El género *Roseiflexus* se caracteriza por tener bacterias termofílicas, fotosintéticas, fue aislada de una esterilla bacteriana en una fuente termal japonesa. Crece fotoheterotróficamente bajo condiciones anaeróbica de luz y también quimioheterótrofamente en condiciones oscuras aeróbicas. El crecimiento óptimo ocurre a 50°C y pH 7.5-8.0 (117). En algunos estudios se ha evidenciado su papel en el uso del nitrógeno atmosférico, donde su actividad es más intensa durante la noche. Por lo tanto, estudios más profundos sobre la vida en el suelo de *Roseiflexus* spp. y sus rasgos funcionales contribuirían a una mejor comprensión del ciclo del nitrógeno en los suelos (106) (117).

Respecto a los resultados obtenidos se evidencio la presencia de este género en el suelo con glifosato (1.3%) en relación al suelo sin glifosato (0.0%), esto puede deberse a las condiciones de crecimiento que presenta esta comunidad bacteriana ya que su crecimiento optimo es a temperaturas de 50°C y pH de 7.5-8.0. Sin embargo el suelo con glifosato presenta un pH de 5.2 respecto al análisis fisicoquímico, lo que sugiere que esta comunidad bacteriana puede crecer a pH ácidos.

Respecto a la especie *aggregans-modestus*, fueron identificadas en un estudio realizado por Koch IH, Gich F, Dunfield PF, Overmann J, donde se aislaron dos cepas nuevas de Acidobacterias de dos suelos diferentes, estos dos aislamientos corresponde a bacterias quimioheterótrofas aeróbicas, pero solo están relacionados de manera filogenética distante con *Terriglobus roseus* y *Acidobacterium capsulatum*, dos bacterias pertenecientes al filo Acidobacteria (118).

En los resultados obtenidos se evidencio presencia de las especies *aggregans-modestus* pertenecientes al género *Edaphobacter* con un porcentaje de 0.0% y 0.4%, para suelo con glifosato y suelo sin glifosato respectivamente. Respecto a *Edaphobacter modestus* su contenido de G+C en el ADN genómico es de 55.8% en moles, presenta morfología bacilar entre 1.0–1.8 µm de largo y 0.5–0.7 µm de ancho, las condiciones óptimas para su crecimiento son 30°C y pH de 5.5. Por otro lado, *Edaphobacter aggregans* tiene una morfología bacilar de

1.5–2.1  $\mu\text{m}$  de largo y 0.7–0.9  $\mu\text{m}$  de ancho, las condiciones óptimas para el crecimiento son 30 ° C y pH 5.5.(118). Las dos nuevas especies se adaptan a bajas concentraciones de carbono y a condiciones neutras o ligeramente ácidas, datos que se pueden relacionar con las propiedades fisicoquímicas encontradas en los suelos analizados, ya que el suelo con glifosato y el suelo sin glifosato presentaban un pH de 4.6 y 5.2, respectivamente. Sin embargo, el porcentaje de estas especies fue mayor en el suelo sin glifosato 0.4% en relación al suelo con glifosato 0.0%, donde no se encontró comunidades bacterianas pertenecientes a este género.

El filo Firmicutes es caracterizado por su alta capacidad de resistencia a diversas condiciones extremas como la desecación, la radiación UV, el calor, etc.. al formar endosporas, las cuales le permiten sobrevivir en dichos ambientes. Dentro de este filo se encuentran dos clases relevantes: *Clostridia* y *Bacilli*, en esta última se identifica el género *Bacillus* que generalmente viven en el suelo, agua del mar y ríos. Una de sus principales funciones en los ciclos biogeoquímicos radica en la solubilización de fosfatos, necesarios para el desarrollo vegetal, clasificado como un nutriente primario al no poder ser sustituido por otro elemento (119). Un estudio realizado por Wolmarans K, Swart WJ, en donde se evaluó la influencia del glifosato y otros herbicidas sobre la microbiota del suelo, demostró que la estructura biótica del suelo se ve afectada por la mayoría de las variables comunes en las prácticas agrícolas, incluidas las especies de cultivos, el estrés hídrico, la fertilización, la labranza del suelo, los regímenes de herbicidas, el pH, el contenido de arcilla y la profundidad, convirtiéndolos así en cultivos resistentes al glifosato. Para el año 2005 casi el 90% de los 100 millones de cultivos transgénicos que se cultivan anualmente en todo el mundo eran resistentes al glifosato los cuales se caracterizaban por una amplia aplicación de genes de *Bacillus thuringiensis* (120).

En relación con nuestros resultados se puede identificar que en el suelo con aplicación de glifosato existe una mayor abundancia en cuanto al filo Firmicutes con 5.8% en comparación con el suelo sin aplicación de glifosato en donde su porcentaje es de 0.4%, de la misma manera esta diferencia se puede

evidenciar en el género *Bacillus*, donde para el suelo con glifosato existe un porcentaje de 3.1% y para el suelo sin glifosato un 0.4%. Lo anterior demuestra que en los suelos con aplicación de glifosato existe una posible resistencia por parte de dicho filo a la exposición del herbicida, aumentando su presencia en suelos con históricos de aplicación de glifosato apoyando el estudio descrito anteriormente, aún así su presencia no es suficiente para la producción necesaria de fosfatos como se demuestra en la Tabla 4.

Las bacterias que pertenecen al filo Gemmatimonadetes constituyen aproximadamente el 2% de las comunidades bacterianas del suelo, fue descubierta en 2003 y en la actualidad poco se sabe de este filo (121) . Cuenta con un único género denominado *Gemmatimonas*. Un estudio realizado por Lancaster SH, Hollister EB, Senseman SA, Gentry TJ, en el que evaluaron el efecto que tiene la aplicación repetida de glifosato en la composición de las comunidades microbianas y la mineralización del glifosato, se encontró que el filo Gemmatimonadetes disminuyó cuando se realizó una única aplicación del herbicida, en comparación de repetidas aplicaciones en donde no hubo mucha variabilidad en cuanto a esta única aplicación (104). En los resultados obtenidos en nuestro trabajo se evidencia que el filo Gemmatimonadetes presentó un mayor porcentaje en el suelo con aplicación de glifosato 1.6% en contraste con los resultados obtenidos en el estudio de Lancaster et al. Lo que sugiere que los cambios en la distribución de las comunidades microbianas del suelo no solo dependen de la aplicación propia del glifosato, sino de otros factores ambientales.

El filo Nitrospirae es un grupo de diversas bacterias Gram negativas que actualmente contienen sólo tres géneros, siendo *Nitrospira* el más relevante debido a que las especies pertenecientes a este género son aerobios que oxidan el nitrito. Debido a la cantidad relativamente pequeña de información sobre los organismos del filo Nitrospirae, es difícil determinar el potencial de este grupo en los ciclos biogeoquímicos. Hay muchos informes de *Nitrospira* no cultivable en estudios de diversidad ambiental, en las que es imposible hacer uso de la microbiología tradicional, es por esto que en la mayoría de los casos,

aparte de la secuencia del gen 16S rRNA, no se sabe nada con respecto a estos organismos (122). En la actualidad el género *Nitrospira* es un microorganismo considerado quimiolitotrófico con la capacidad de oxidar el amonio a través de nitrito a nitrato, debido a que su genoma codifica las vías de oxidación de amoníaco y nitrito. Estos hallazgos encaminan a *Nitrospira* como un componente clave de las comunidades microbianas que participan en el ciclo del nitrógeno (123) En una investigación llevada a cabo por Han S, Luo X, Liao H, Nie H, Chen W, Huang Q, en suelos de cultivos de arroz, se encontró que la presencia del género *Nitrospira* en suelos es altamente sensible cuando el pH de este es ácido, lo que se puede relacionar con los resultados obtenidos en nuestra investigación, para lo cual se obtuvo en suelos con glifosato un porcentaje de 6.2% tanto del filo, clase, orden y género de *Nitrospira* con un pH de 5.2 y para suelos sin aplicación de glifosato un porcentaje de 2.7% para las mismas entidades taxonómicas con un pH de 4.6, sugiriendo que la acidez del suelo si es un factor determinante en la presencia de *Nitrospira* en el suelo (124).

En relación al filo Planctomycetes, su presencia se ha relacionado con diversos ambientes naturales, pero hasta hace poco se describió en ambientes acuáticos. Sin embargo, en un estudio realizado por Buckley DH, Schmidt TM, en 2003, donde se utilizó el análisis molecular 16S rRNA para determinar las comunidades microbianas presentes en suelos de agricultura, se encontró alta prevalencia de este filo, y se determinó como uno de los más frecuentes en el suelo dedicado a este fin. Adicional al filo Planctomycetes, se hallaron altos porcentajes de Proteobacteria, Verrucomicrobia, Acidobacteria y Actinobacterias, comunidades que se presentan en nuestro estudio (125).

El filo Planctomycetes se ha relacionado con la capacidad de oxidar anaeróbicamente el ion amonio (ANAMMOX), lo que lo convierte en un actor importante en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno, ya que este proceso se caracteriza por la fijación de nitrógeno atmosférico, convirtiéndolo en nitrato para su absorción por las plantas y animales, posterior al uso de los nitratos, se

generarán desechos (nitritos o amonio), que podrán ser reabsorbidos o convertidos en gas nitrógeno nuevamente, siendo esta última etapa donde las bacterias con capacidad ANAMMOX, efectuaran su habilidad de oxidación (126). En los resultados obtenidos en nuestro estudio, se observa que en el suelo impactado con glifosato hay un aumento en el porcentaje de este filo (7,4%) en comparación con el suelo sin glifosato (3,9%); basados en las características ya mencionadas y en los resultados obtenidos del análisis fisicoquímico, encontrados en la Tabla 4, se observa una variación importante en las concentración de compuestos como nitrógeno y nitrito en los suelos estudiados, donde se encontró para el nitrógeno un porcentaje de 8,4% y 38,4%, y nitritos de 11,1% y 41,0% para suelo con glifosato y suelo sin glifosato respectivamente. Correlacionando el análisis fisicoquímico y metagenómico, se puede concluir que el suelo con glifosato presenta una menor concentración de compuestos propios del ciclo del nitrógeno, debido al metabolismo de estos compuestos, ligada a la abundancia del filo Planctomycetes encontrado en el suelo.

Con respecto a la clase Planctomycetacia, orden Planctomycetales y familia Planctomycetaceae, se han relacionados con las mismas características que posee el filo Planctomycetes, el cual como se mencionó anteriormente, tiene una importante participación en el ciclo del nitrógeno, gracias a su función de oxidación anaerobia del amonio (ANAMMOX) (127). En los resultados de nuestro estudio, se observó que hubo un mayor porcentaje de estos microorganismos (Planctomycetacia, Planctomycetales y Planctomycetaceae) en el suelo con glifosato (7.1%) en comparación al suelo sin glifosato (3.9%), respondiendo de manera similar a los resultados encontrados en el filo Planctomycetes al cual pertenecen.

El filo Verrucomicrobia se puede considerar ubicuo y bastante abundante en diferentes tipos de suelo, lo que sugiere que son microorganismos importantes en los ecosistemas terrestres y cumplen diversas funciones en el nicho ambiental en el que se encuentren. En la investigación de Fierer N, Leff JW, Adams BJ, Nielsen UN, Bates ST, Lauber CL, et al, se encontró que si bien estaba presente en todos los suelos estudiados, hubo una predominancia en suelos que no eran desérticos, parámetro que se relaciona con las

características físicas de las muestras procesadas en nuestra investigación (102).

Respecto a los resultados hallados en nuestro estudio, se puede concluir que la diferencia entre el porcentaje de esta comunidad microbiana en el suelo con glifosato (3,6%) y el suelo sin glifosato (3,0%) no es relevante, puesto que sus porcentajes son muy similares; adicional a esto, si se compara la concentración del filo Verrucomicrobia con otros filos hallados en este estudio, se puede determinar que su porcentaje no es muy alto. Esta aseveración se ve relacionada con el estudio de Carbonetto B, Rascovan N, Álvarez R, Mentaberry A, Vázquez MP, donde se determinó que este filo se encontraba en mayores proporciones en suelos que no han sido utilizados para agricultura (128), parámetro que concuerda con nuestros resultados, puesto que el suelo con glifosato, ha sido manejado para el cultivo de diversas especies vegetales. Otra investigación que corrobora nuestros resultados, fue la desarrollada por Navarrete AA, Soares T, Rossetto R, van Veen JA, Tsai SM, Kuramae EE, donde se estableció que Verrucomicrobia, aun estando en diversidad de ambientes terrestres, presenta alta sensibilidad a los cambios en el ambiente y así mismo al déficit o aumento de nutrientes presentes en el suelo (129).

Las bacterias de la clase Proteobacterias abarcan gran diversidad morfológica, fisiológica y metabólica, siendo importantes en el ciclo de carbono, nitrógeno y azufre, sin embargo, la gran mayoría de las Proteobacterias del suelo aún no se han cultivado (130). Las comunidades bacterianas pertenecientes a este filo se caracterizan por ser ubicuos y abundantes en el suelo, especialmente en los suelos cálidos.

En los resultados obtenidos en nuestro estudio, se evidenció que los porcentajes para este filo no variaron en gran medida, si se compara el suelo con glifosato (30,8%) y el suelo sin glifosato (34,9 %), lo que podría deberse a las propiedades fisicoquímicas del suelo, las cuales fueron similares en las dos zonas de muestreo, lo que conseguiría una similitud en el crecimiento y desarrollo de este filo, al proporcionar igualdad en condiciones y nutrientes. En contraste con los resultados obtenidos en nuestro análisis, el estudio realizado en 2016 por Newman MM, Hoilett N, Lorenz N, Dick RP, Liles MR, Ramsier C,

et al, en cultivos de maíz y soja, demostró que filos como Proteobacteria (especialmente la clase Gammaproteobacterias) presentaron una estimulación y posterior aumento de la población de bacterias al exponerse a concentraciones de glifosato (11).

Al igual que las características del filo, las clases derivadas de las Proteobacterias varían ampliamente en morfología, funcionalidad y géneros, demostrando amplios rangos de aerobicidad, trofismo y adaptación a la temperatura, adicionando propiedades de simbiosis con otros seres vivos, característica fundamental para su supervivencia en el ambiente (131). Las características y requerimientos de las diversas clases mencionadas (Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria y Deltaproteobacteria), por lo general responden a un mismo patrón, o muy similar, sin embargo, en el estudio llevado a cabo por Kim HM, Jung JY, Yergeau E, Hwang CY, Hinzman L, Nam S, et al, demostró que el pH y la profundidad del suelo, puede afectar de manera diferente la clase de Proteobacterias que se encuentren en la zona, mostrando que Alphaproteobacteria, disminuyó al aumentar la profundidad del suelo, lo que en el estudio se relacionó con la preferencia de esta clase por los nutrientes ambientales presentes en mayor cantidad en la superficie. Con respecto al pH se observó que clases como Alphaproteobacteria y Gammaproteobacteria, disminuyeron al aumentar el pH, a diferencia de las Betaproteobacterias y Deltaproteobacterias las cuales aumentaron proporcionalmente al pH, conclusiones que se pueden relacionar con los resultados obtenidos en nuestro análisis de datos (132).

Respecto a las clases que se presentaron con mayor abundancia, fueron Alphaproteobacteria (18,3% y 24,6%), Deltaproteobacteria (7.1% y 4.6%) Gammaproteobacteria, (4.1% y 3.4%) y Betaproteobacteria (1.4% y 2.3) para suelo con glifosato y sin glifosato respectivamente, todos pertenecientes al filo Proteobacteria, estos resultados que se relacionan con el estudio realizado por Lauber CL, Hamady M, Knight R, Fierer N, donde por medio de pirosecuenciación se caracterizó las comunidades bacterianas en suelos de América del Norte y del Sur, en relación con los parámetros físico químicos, este estudio demostró que la abundancia de Alpha y Beta /

Gammaproteobacterias no muestran una relación significativa con el pH del suelo (103). Sin embargo, en un estudio realizado en el Parque Nacional Jirisan (Corea del sur) caracterizado por tener un pH ácido la clase Alphaproteobacteria fue predominante en relación a la clase Beta, Gamma, Delta, Zeta y Epsilon (133)

Dentro de los órdenes más relevantes en nuestro estudio encontramos a los Rhizobiales y Xanthomonadales, de estos dos órdenes se puede decir que pertenecen a las Proteobacterias y que tiene capacidad de fijar nitrógeno, convirtiéndolos en microorganismos importantes en este ciclo biogeoquímico(132). En nuestro estudio, se observó que los porcentajes del orden Rhizobiales presentaron valores de 12.2% y 15.2% para suelo con glifosato y suelo sin glifosato respectivamente, estos porcentajes se asemejan a los resultados obtenidos en las Alphaproteobacterias analizadas con anterioridad, lo que podría relacionar las características de esta clase, con los Rhizobiales. Mostrando un patrón diferente, en nuestro estudio se obtuvo porcentajes variantes del orden Xanthomonadales, encontrando valores de 1.9% y 0.0% para el suelo con glifosato y sin glifosato respectivamente. En el estudio desarrollado por Ren C, Sun P, Kang D, Zhao F, Feng Y, Ren G, et al, se determinó que de las Proteobacterias los órdenes que más resaltaron fueron Rhizobiales y Xanthomonadales, con una relevancia del primero (134).

El orden Pseudomonadales, la familia Pseudomonadaceae y principalmente el género *Pseudomonas*, hacen parte de la clase Gammaproteobacterias y se han caracterizado por tener una amplia diversidad metabólica lo que permite la colonización de diferentes nichos ambientales, como características son bacterias Gram negativas móviles, frecuentemente relacionados con patología en humanos, animales y plantas. En diferentes estudios desarrollados a lo largo de la historia se ha establecido la resistencia que tienen diferentes cepas de *Pseudomonas* frente a la aplicación y exposición de glifosato, demostrando que estas bacterias son capaces de mineralizar el glifosato y usarlo como fuente de fósforo, y de esta manera degradarlo (104)(135)(136)(137).

El orden Burkholderia hace parte de las Betaproteobacterias y se caracterizan por ser bacterias aerobias, con morfología bacilar y Gram negativas, de la clase

a la que pertenecen son las más relevantes y están ampliamente distribuidas. Ecológicamente son saprófitos que intervienen en el reciclaje de materia orgánica (138).

Los porcentajes obtenidos del orden Burkholderiales fueron de 0.2% en suelo con glifosato y de 2.1% en suelo sin glifosato y los resultados del orden Pseudomonadales, familia Pseudomonadaceae y género *Pseudomonas* son iguales en el suelo con glifosato (0.5%) y suelo sin glifosato (1.4%). En los dos grupos de bacterias se ve bajas concentraciones de la comunidad en el suelo con glifosato en comparación al suelo sin glifosato. En una primera oportunidad se podría relacionar estos datos con el hecho de que el glifosato afectó el desarrollo de estas comunidades, disminuyendo consistentemente la población hallada; sin embargo, existen estudios como el realizado por Kuklinsky-Sobral J, Araújo WL, Mendes R, Pizzirani-Kleiner AA, Azevedo JL, donde buscaban determinar cuáles eran las comunidades bacterianas que podrían seguir su crecimiento en un cultivo de soja que había sido tratado con glifosato, dentro de los resultados de este estudio se encontró que géneros como *Pseudomonas* y *Burkholderia* se encontraban en los suelos estudiados después de la aplicación de este herbicida, carácter que difiere de nuestro resultados, al verse disminuida las poblaciones de estas dos comunidades en el suelo impactado con glifosato (139).

La familia Bradyrhizobiaceae y el género Bradyrhizobium son bacterias pertenecientes a las Proteobacterias, Gram negativas y se han relacionado con la fijación de nitrógeno, junto con otros géneros (*Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* y *Azorhizobium*) son conocidos como rizobios y forman nódulos en la planta anfitrión (140). En los resultado obtenidos en nuestra investigación, se obtuvo que Bradyrhizobiaceae presentó un porcentaje de 2.3% en el suelo con glifosato y 1.0% en el suelo sin glifosato, anexo a esto el género *Bradyrhizobium* presento un porcentaje de 1.2% en el suelo con glifosato y 0.0% en el suelo sin glifosato, si bien estos valores no son iguales entre sí, se puede observar el incremento de estas comunidades en el suelo con glifosato en comparación con el suelo sin glifosato. Estos resultados concuerdan con algunas investigaciones en las que se evaluó la resistencia de *Rhizobium* a la aplicación del glifosato, demostrando que son pocos los efectos

que tiene este herbicida sobre dicha comunidad, aunque se hace la salvedad del aumento de su toxicidad cuando es aplicado en las primeras fases del crecimiento de la planta, afectando el proceso de nodulación de *Bradyrhizobium* (141)(142).

El género *Acidibacter* es un grupo de bacterias acidófilas perteneciente a las Gammaproteobacterias, es considerado un microorganismos novedoso, ya que se le ha atribuido cierta resistencia al arsénico y sensibilidad al cobre, el cual disminuye su crecimiento (143). Los resultados obtenidos con respecto a estos microorganismos en nuestra investigación, fue un porcentaje de 0.7% en el suelo con glifosato y de 1.9% en el suelo sin glifosato; en comparación con otros géneros, no son resultados relevantes, sin embargo su presencia en las muestras analizadas se puede relacionar con la acidez de los dos suelos.

Otro de los géneros encontrados en los resultados fue *Pseudolabrys* y *Variibacter* ambos microorganismos mostraron resultados porcentuales iguales tanto para el suelo con glifosato (1.3%) y el suelo sin glifosato (3.5%), es poca la información que se encuentra de estos géneros gracias a su reciente descubrimiento, sin embargo se sabe, que los dos poseen solo una especie: *Variibacter gotjawalensis* y *Pseudolabrys taiwanensis*, estos dos géneros han sido aislados en zonas boscosas o de forestación, propiedad similar a las características de la zona de muestreo de la investigación (144)

En las especies encontrados en el análisis, tenemos a *Variovorax paradoxus*, el cual es un microorganismo de gran interés debido a sus características metabólicas, como la biodegradación de compuestos biogénicos y contaminantes como herbicidas y pesticidas, pertenece a las Proteobacterias y tiene la capacidad de generar interacciones mutuamente beneficiosas con otras bacterias y plantas (145). En los resultados obtenidos en nuestro análisis, se observa que el porcentaje de la comunidad para el suelo con glifosato es de 0.1% y para el suelo sin glifosato de 1.8%, si bien los porcentajes de este microorganismo en el suelo resultan bajos, estos resultados podrían relacionarse con el hecho de que esta especie es promotora del crecimiento vegetal por medio de sus relaciones simbiotes con otros organismos (146).

Respecto a las propiedades fisicoquímicas del suelo se puede evidenciar que estas tienen un papel importante en la actividad de las comunidades microbianas del suelo y en su estado nutricional. Uno de los parámetros que más se ha estudiado en relación a las características del suelo, su composición nutricional y microbiológica es el pH. En nuestro estudio se pudo determinar que el pH fue uno de los parámetros que se asoció con la presencia o reducción de diferentes comunidades microbianas en los dos suelos analizados. Se evidenció que algunas comunidades bacterianas como: Acidobacterias, Acidothermus y Alphaproteobacterias, presentaron porcentajes mayores en el suelo sin glifosato, debido a que este suelo presentó un pH ácido de 4.6. Sin embargo, en el suelo con glifosato se encontró que comunidades como: Actinobacterias, Bacteroidetes, Pseudarthrobacter y Nitrospirae fueron predominantes, ya que este suelo se caracterizó por tener un pH cercano a la neutralidad. Resultados que permiten determinar que el pH en el suelo juega un papel importante en el desarrollo de ciertas comunidades bacterianas en diferentes nichos ecológicos.

Por otro lado, se ha relacionado el papel del pH del suelo con las concentraciones de aluminio intercambiable. Cuando el pH del suelo se caracteriza por ser ácido se producen una mayor concentración de aluminio intercambiable, resultando tóxico para las plantas, así mismo altera las poblaciones y actividades de los microorganismos que intervienen en la mineralización de la materia orgánica y en la transformación de nitrógeno y azufre. De igual manera afecta la disponibilidad del fósforo debido a que forma compuestos insolubles con el hierro y aluminio, dejando así de estar disponible para las plantas (147).

Respecto a los resultados obtenidos en el análisis físico químico de los suelos estudiados, se puede evidenciar que el suelo con glifosato presentó un pH bajo de 5.2 y una acidez intercambiable de  $1.16 \text{ cmol}^+ \text{ kg}^{-1}$  en relación al suelo sin glifosato que presentó un pH de 4.6 y una acidez intercambiable de 4.21, así mismo el fósforo encontrado en los dos suelos presentó un valor de 3 y 2  $\text{mg} \text{ kg}^{-1}$  ó ppm para cada suelo respectivamente. Estos resultados permiten

determinar que el suelo sin glifosato tendría una toxicidad mayor para las plantas que el suelo con glifosato; sin embargo, al momento de la inspección visual realizada en el muestreo se evidenció que la zona del suelo sin glifosato presentaba una gran diversidad de especies vegetales saludables, mientras que en la zona del suelo con glifosato se presentaban especies vegetales con problemas de crecimiento, clorosis y necrosis. Esto permite determinar un patrón que difiere a lo referenciado en la literatura acerca de la relación de la acidez intercambiable con el crecimiento vegetal.

Dentro de los macronutrientes más importantes para la nutrición y el crecimiento vegetal se encuentra el calcio, factores como pH y CIC determinan la disponibilidad de este macronutriente. En suelos que presenta un pH ácido el calcio no se encuentra disponible de forma rápida para las plantas, pues conforme decrece el porcentaje de calcio en proporción a la CIC total, también decrece la cantidad de Ca absorbido por las plantas (148). Aplicando esto a nuestra investigación se puede evidenciar que para los dos tipos de suelos estudiados: con y sin aplicación de glifosato, la cantidad de calcio presente es deficiente, esto puede estar relacionado con el pH ácido de los suelos, esto se ve reflejado en los resultados obtenidos en la Tabla 4 donde el suelo sin glifosato tiene el pH más ácido (4.6) y la cantidad de calcio es inferior (574 mg \* kg<sup>-1</sup> ó ppm) en comparación con el suelo con glifosato que aunque presenta un pH ácido (5.2) la cantidad de calcio es de 1269 mg \* kg<sup>-1</sup> ó ppm.

En el caso del potasio podemos ver una disminución en los dos suelos estudiados; esta pérdida puede deberse a los procesos de erosión y lixiviación propios de la zona, para el suelo sin glifosato se evidencia una deficiencia de potasio (91 mg \* kg<sup>-1</sup> ó ppm.) y para el suelo con glifosato se encuentra en niveles bajos (136 mg \* kg<sup>-1</sup> ó ppm.), lo cual puede deberse a los procesos nombrados con anterioridad.

Respecto a las relaciones catiónicas que se forman a partir de los diferentes elementos presentes en el suelo como Ca, Mg o K se relacionan principalmente con la fertilidad del suelo, por lo que es importante conocer la concentración de estos compuestos. Estas relaciones se utilizan como indicador de los nutrientes y fertilidad que puede presentar el suelo para el uso en agricultura, se debe

recordar que las relaciones catiónicas dependen de las concentraciones individuales de estos compuestos en el suelo. En nuestro estudio, estas relaciones presentaron variación en los suelos estudiados, en el caso de la relación Ca/K, se observa una gran diferencia entre el suelo con glifosato y el suelo sin glifosato, ya que en el primero se encuentra un valor de 27,32 el cual se considera excesivo, y en el caso del suelo sin glifosato se presenta un valor de 8,26 lo que se considera deficiente. Para la relación de Mg/K se presentó un valor de 17,03 (exceso) en el suelo con glifosato y de 5,30 (óptimo) en el suelo sin glifosato. Por el contrario, en el caso de la relación Ca/Mg se observó que tanto en el suelo con glifosato (1,60) como en el suelo sin glifosato (1.56) el valor de la relación fue deficiente, situación que difiere a las relaciones catiónicas anteriormente nombradas. Finalmente, la relación antagónica Ca+Mg/K que se presenta en nuestro estudio se encuentra en un valor excesivo (44.35) en el suelo con glifosato y óptimo (13.56) en el suelo sin glifosato, esta relación antagónica se relaciona con la gran variación que se presenta en los valores individuales de los elementos evaluados (148) (149).

Respecto al papel del glifosato es importante conocer que Inicialmente el glifosato se vendió como un herbicida eficaz y que no presentaba riesgos para la salud humana, ni para el medio ambiente, si era utilizado de la manera adecuada y bajo las recomendaciones incluidas en la etiqueta del producto; sin embargo, en la actualidad se ha incrementado la atención del mundo sobre el posible daño que representa el uso y exposición prolongada a este producto químico, los cuestionamientos se presentaron en distintos años, pero tomaron interés mundial con el caso de Dewayne Johnson un jardinero, que fue diagnosticado con cáncer (Leucemia No Hodking) el cual pasó de ser tratable a terminal, debido a que siguió usando el producto (30).

A lo largo de los años se han presentado diferentes investigaciones relacionadas con el posible daño del glifosato, si bien la mayoría se enfocan en distintas células o zonas anatómicas, finalmente todos concluyen la toxicidad del glifosato, toxicidad que puede variar dependiendo de la concentración y tiempo de exposición. En el estudio llevado a cabo por Martínez A, Reyes I y

Reyes N, en el 2007 se estableció la toxicidad *in vitro* de este herbicida para las células humanas (mononucleares), se observó que las preparaciones comerciales (Roundup®) mostraban más toxicidad que el compuesto activo, lo que apoya la idea de que los aditivos de las preparaciones comerciales juegan un papel importante en la toxicidad del compuesto (150).

Existen estudios centrados en la revisión de literatura y documentos que puedan esclarecer las consecuencias del uso del glifosato sobre la salud humana y consecuentemente cómo afecta la salud pública, algunos de estos estudios son: Efectos del glifosato sobre la salud humana (2015) realizado por investigadores de la Universidad libre de Colombia, el cual después de una revisión bibliográfica de diferentes publicaciones sobre el glifosato en el contexto nacional, concluyeron que el uso de este herbicida se relaciona con enfermedades o afecciones respiratorias, dermatológicas, alergias, ansiedad, cáncer, trastornos gastrointestinales, malformaciones en fetos, problemas de fecundidad y abortos (151).

Otro de los estudios relacionados con este tipo de investigación es: Verdades científicas sobre glifosato y salud pública (2016) realizado por la fundación ideas para la paz, con el fin de contribuir al conocimientos sobre el tema sin estar a favor o en contra del uso del glifosato y de esta manera invitar a expertos a continuar el debate sobre la utilización de este herbicida. En esta investigación se dividieron los estudios en: realizados en células (8), en animales (7), en humanos (16) y en ecosistemas (1). En los estudios implementados en células se evidencio que el glifosato puede acelerar la muerte celular, disminuir el proceso de mitosis y dañar el ADN, sin embargo, se debe tener en cuenta que este tipo de estudios se realiza exponiendo directamente las células a la sustancia problema, además que la concentración es diferente a la que estarían sometidas estas células en condiciones normales, por lo que estos resultados no se consideran definitivos en términos de evidencia de daño sobre la salud humana.

También es importante entender y saber que el uso de glifosato no solo podría llevar a una afectación de la salud humana, ya que de la misma manera tiene un impacto sobre los animales expuestos a este herbicida. Es por esto que en diferentes estudios llevados a cabo en animales, se observó problemas en los ciclos reproductivos en ratas y en los fetos; en especies acuáticas se evidencio que puede afectar la capacidad de manejo del estrés oxidativo y el desarrollo de huevos y embriones. Estos resultados permiten evaluar los daños eventuales en la fauna silvestre o doméstica. En estudios en humanos, no se demostró relación entre este herbicida y el desarrollo de cáncer, sin embargo se estableció como factor de riesgo la contaminación ambiental y de fuentes hídricas con este producto. No obstante se estableció que el riesgo de intoxicación por el uso de glifosato en labores agrícolas es común. Con respecto a afecciones reproductivas, se muestran conclusiones contradictorias en algunos estudios, ya que se ha relacionado con aumentos de tasa de abortos en las personas en contacto con el herbicida y en otros estudios se ha establecido que no tiene relación. Finalmente, concluyeron que no es posible comprobar bioacumulación de glifosato en tejidos animal y no hay evidencia sólida que apoye los efectos negativos en la fertilidad, desarrollo de cáncer o problemas mutagénicos (152).

Una revisión bibliográfica desarrollada por Campuzano C, Feijoo L, Pineda K, Palacio M, Fonnegra J, Zapata J (2017), concluyó que el glifosato es altamente tóxico por el compromiso negativo generado en los diversos sistemas del cuerpo, lo que produce un factor de riesgo constante en las personas que lo utilizan diariamente en las labores agrícolas o de jardinería (153).

Finalmente, es importante resaltar que nuestro estudio no tuvo como finalidad evaluar el impacto que tiene el uso del glifosato sobre la salud humana y animal, pero si su papel en la interacción con la microbiota del suelo. Adicional a esto, basados en la interacción que se tuvo con la comunidad de la vereda Tuis Tuis y de la inspección visual que se realizó al momento del muestreo se pudo corroborar el daño generado en la vegetación a partir de la aspersion aérea del glifosato realizada de manera accidental en el año 2013, lo que condujo a un proceso de deforestación y afectación a la fauna propia de la

región. Es de gran importancia destacar que el mayor impacto de esta problemática se vio reflejado en el ámbito económico, puesto que las especies forestales maderables tienen un gran valor comercial, las no maderables establecidas con el propósito de servir de alimento a la fauna endémica de la región y las especies frutales que se comercializan con el fin de generar un ingreso económico.

## 6 CONCLUSIONES

- En el análisis metagenómico se logró identificar la diversidad procariota de las muestras de suelo en la zona de amortiguación del Parque Nacional Natural Paramillo, en Córdoba, para lo cual se obtuvo que el filo más predominante fue Proteobacterias, el orden Rhizobiales, la familia Xanthomonadaceae, el género *Acidothermus* y *Nitrospira* y finalmente a nivel de especie *defluvii-equi-niigatensis*.
- Las propiedades fisicoquímicas tales como pH, materia orgánica, Carbono orgánico y nutrientes, tienen un alto impacto sobre las diferentes comunidades procariotas halladas, debido a que de dichas propiedades depende el crecimiento, desarrollo, actividad, metabolismo, resistencia o sensibilidad de los diversos microorganismos presentes en los suelos con y sin glifosato.
- Se determinó mayor cantidad de microorganismos procariotas en el suelo sin glifosato, las OTUs obtenidas en dicho suelo duplicó las contenidas en el suelo con aplicación de glifosato, por ende se encontró un mayor porcentaje en los filo, clase, orden, familia y género de este suelo, a excepción de las Actinobacterias, quienes se presentaron en mayor cantidad en el suelo con glifosato. Lo anterior evidencia un impacto negativo en las comunidades procariotas del suelo cuando son expuestas al glifosato, disminuyendo su presencia en los suelos analizados en este trabajo.

## 7. RECOMENDACIONES

- Hacer uso correcto de las concentraciones establecidas por el Instituto Colombiano Agropecuario para el uso del glifosato, con el fin de evitar la contaminación de fuentes hídricas y la sobreexposición de la persona que lo manipule.
- Utilizar el glifosato siguiendo las recomendaciones establecidas en la etiqueta del producto. Por ejemplo hacer uso del equipo de protección personal al momento de la manipulación del producto y no reutilizar el envase del mismo con fines de actividades diarias (almacenamiento de agua o alimentos).
- Buscar nuevos métodos que sirvan como alternativa para la erradicación de cultivos ilícitos y el aseguramiento de los cultivos lícitos.
- Debido a la gran diversidad de suelos que se encuentra en el territorio colombiano, se recomienda que las diferentes instituciones gubernamentales, universitarias e institutos de interés ambiental, promuevan la investigación de la interacción del glifosato en otros tipos de suelos y ambientes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Cuervo Andrade JL. INTERACCIÓN DEL GLIFOSATO (ROUNDUP®) CON LA BIOTA MICROBIANA DEL SUELO Y COMPORTAMIENTO DE ESTE HERBICIDA EN TRES SUELOS DEL TOLIMA-COLOMBIA, BAJO CONDICIONES CONTROLADAS. [Tesis Doctoral]. Bogota: Universidad Nacional de Colombia; 2007.
2. Salazar Lopez NJ, Aldana Madrid ML. Herbicida Glifosato: Usos, Toxicidad Y Regulacion. *Biocencia* [Internet]. 2011;13(2):23-28 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <http://www.biocencia.uson.mx/revistas/articulos/16-BIO-11-DPA-04.pdf>
3. Acuña O, Wagner P, Serrano E, Pocasangre L, Rosales F, Delgado E, et al. LA IMPORTANCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN LA CALIDAD Y SALUD DE SUELOS [Internet]. [Consultado 12 Ene 2019]; Disponible en: [http://www.musalit.org/viewPdf.php?file=IN060651\\_spa.pdf&id=10470](http://www.musalit.org/viewPdf.php?file=IN060651_spa.pdf&id=10470)
4. Unites States Environmental Protection Agency. Glyphosate [Internet]. Estados Unidos. [Consultado 24 May 2019]. Disponible en: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/glyphosate>
5. Unites States Environmental Protection Agency. Glyphosate; tolerances for residues. [Internet]. [Consultado 23 May 2019]; 2010. Disponible en: <https://www.govinfo.gov/content/pkg/CFR-2010-title40-vol23/pdf/CFR-2010-title40-vol23-sec180-364.pdf>
6. Bórtoli P V., Verdenelli RA, Conforto C, Vargas Gil S, Meriles JM. Efectos del herbicida glifosato sobre la estructura y el funcionamiento de comunidades microbianas de dos suelos de plantaciones de olivo. *Ecol Austral*. 2012;22(1):33-42.
7. Maly JDS, Siqueira JO, De Souza Moreira FM. Effects of glyphosate on soybean symbiotic microorganisms, in culture media and in greenhouse. *Pesqui Agropecu Bras* [Internet]. 2006;41(2):285-291 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/pab/v41n2/a13v41n2.pdf>
8. Martínez Nieto P, Bernal Castillo J, Fonseca Agudelo E, Bernier Lopez S. TOLERANCIA Y DEGRADACION DEL GLIFOSATO POR BACTERIAS AISLADAS DE SUELOS CON APLICACIONES FRECUENTES DE ROUNDUP SL®. *Rev Pilquen* [Internet]. 2012;14(12):1-7 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <https://docplayer.es/13188573-Tolerancia-y-degradacion-del-glifosato-por-bacterias-aisladas-de-suelos-con-aplicaciones-frecuentes-de-roundup-sl.html>
9. Chaves Bedoya G, Ortíz Moreno ML, Ortiz Rojas LY. Efecto de la aplicación de agroquímicos en un cultivo de arroz sobre los microorganismos del suelo. *Acta Agron* [Internet]. 2013;62(1):66-72 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169929770011>
10. Allegrini M, Zabaloy MC, Gómez E del V. Ecotoxicological assessment of soil microbial community tolerance to glyphosate. *Sci Total Environ* [Internet]. 2015;533:60-68 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.096>
11. Newman MM, Hoilett N, Lorenz N, Dick RP, Liles MR, Ramsier C, et al. Glyphosate effects on soil rhizosphere-associated bacterial

- communities. *Sci Total Environ* [Internet]. 2016;543:155-160 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.008>
12. Nguyen DB, Rose MT, Rose TJ, Morris SG, van Zwieten L. Impact of glyphosate on soil microbial biomass and respiration: A meta-analysis. *Soil Biol Biochem* [Internet]. 2016;92:50-57 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.09.014>
  13. Imparato V, Santos SS, Johansen A, Geisen S, Winding A. Stimulation of bacteria and protists in rhizosphere of glyphosate-treated barley. *Appl Soil Ecol* [Internet]. 2016;98:47-55 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.09.007>
  14. Newman MM, Lorenz N, Hoilett N, Lee NR, Dick RP, Liles MR, et al. Changes in rhizosphere bacterial gene expression following glyphosate treatment. *Sci Total Environ* [Internet]. 2016;553:32-41 [Consultado 12 ene 2019]. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.078>
  15. Zabaloy MC, Allegrini M, Tebbe DA, Schuster K, Gomez E del V. Nitrifying bacteria and archaea withstanding glyphosate in fertilized soil microcosms. *Appl Soil Ecol* [Internet]. 2017;117-118:88-95 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.04.012>
  16. Alcaldía Municipal de Tierralta-Córdoba. Plan de desarrollo de Tierralta “Por Ustedes” 2012 – 2015 [Internet]. p. [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <http://tierralta-cordoba.gov.co/Transparencia/PlaneacionGestionControl/Plan de Desarrollo de Tierralta.pdf>
  17. Alcaldía Municipal de Tierralta-Córdoba. Plan de Desarrollo Municipal 2016-2019 [Internet]. p. [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <http://www.tierralta-cordoba.gov.co/Transparencia/PlaneacionGestionControl/Plan de Desarrollo 2016-2019.pdf>
  18. Google maps. Mapa del municipio Tierralta, Córdoba. Colombia [Internet]. 2019 [Consultado 17 May 2019]. Disponible en:  
<https://www.google.com/maps/place/Tierralta,+Córdoba/@8.1716126,-76.0798232,5905m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x8e5af494d417640d:0xd65a3a8e090ab9ae!8m2!3d8.171571!4d-76.062313>
  19. Estupiñán González AC, Jimenez Escobar N, Avella Muñoz A. Composición florística y estructural de dos sectores de bosque primario en la franja tropical del Parque Nacional Natural Paramillo (Córdoba, Colombia). En: Perez Torres J, Vidal Pastrana C, Racero Casarrubia J, editores. Biodiversidad asociada a los sectores Manso y Tigre del Parque Nacional Natural Paramillo Bogota. p. 245.
  20. Google maps. Mapa del Parque Nacional Natural Paramillo, Córdoba, Colombia [Internet]. 2019 [Consultado 17 May 2019]. Disponible en:  
<https://www.google.com/maps/place/Parque+Nacional+Natural+Paramillo/@7.5476744,-77.2468198,379503m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x8e454a9af690aa31:0x87f727372794a238!8m2!3d7.5473875!4d-76.1260344>
  21. Google maps. Mapa de la Vereda Tuis Tuis [Internet]. 2019

- [Consultado 17 May 2019]. Disponible en:  
[https://www.google.com/maps?q=VEREDA+TUIS+TUIS+TIERRALTA&rlz=1C1CHZL\\_esCO748CO749&um=1&ie=UTF-8&sa=X&ved=0ahUKEwiN8eiRrdHiAhVhu1kKHZH3DJwQ\\_AUIESgC](https://www.google.com/maps?q=VEREDA+TUIS+TUIS+TIERRALTA&rlz=1C1CHZL_esCO748CO749&um=1&ie=UTF-8&sa=X&ved=0ahUKEwiN8eiRrdHiAhVhu1kKHZH3DJwQ_AUIESgC)
22. Subgerencia Cultural del Banco de la República. Área de amortiguación. [Internet]. 2015 [citado 4 de junio de 2019]. Disponible en: [http://enciclopedia.banrepcultural.org/index.php/Área\\_de\\_amortiguación](http://enciclopedia.banrepcultural.org/index.php/Área_de_amortiguación)
  23. Martínez, A. J., Arboleda, G., Montalvo, E., Puche, M., Naranjo, L. E., Rodríguez, H., & Giraldo A. Plan de Manejo Parque Nacional Natural de Paramillo. [Internet]. 2005. Disponible en: <http://www.parquesnacionales.gov.co/portal/wp-content/uploads/2013/12/Paramillo.pdf>
  24. Campuzano Cortina C, Feijoó Fonnegra LM, Manzur Pineda K, Palacio Muñoz M, Rendón Fonnegra J, Zapata Díaz JP. Efectos de la intoxicación por glifosato en la población agrícola: revisión de tema. Rev CES Salud Pública [Internet]. 2017;8(1):121-133 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: [http://revistas.ces.edu.co/index.php/ces\\_salud\\_publica/article/view/4427](http://revistas.ces.edu.co/index.php/ces_salud_publica/article/view/4427)  
[http://revistas.ces.edu.co/index.php/ces\\_salud\\_publica/article/viewFile/4427/2824](http://revistas.ces.edu.co/index.php/ces_salud_publica/article/viewFile/4427/2824)
  25. Marie Lyons K. Guerra química en Colombia, ecologías de la evidencia y senti-actuar prácticas de justicia [Internet]. p. [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/univhumanistica/article/view/18750>
  26. Bolaños Muñoz E. La “Suspensión” del glifosato en la erradicación de cultivos ilícitos en Colombia: ¿Una solución humanitaria o un cambio para que todo siga igual?. [Trabajo de grado] Bogota. Universidad Católica de Colombia; 2016.
  27. Ostera JM, Malanga G, Puntarulo S, Para A. Actualización Sobre Aspectos Oxidativos Del Efecto Del Glifosato En Sistemas Biológicos an Update on the Effects of Glyphosate on the Oxidative State in Biological Systems. Biotecnia [Internet]. 2016;18(2):3-10 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <http://biotecnia.ojs.escire.net>
  28. Naranjo A, Bravo E, Naranjo A. América Latina fumigada y crisis de las commodities . El caso del glifosato de Monsanto. 2016;11(21):229-250 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/cienciapol/article/view/60295>
  29. Van Bruggen AHC, He MM, Shin K, Mai V, Jeong KC, Finckh MR, et al. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. Sci Total Environ [Internet]. 2018;616-617:255-268 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969717330279?via%3Dihub>
  30. Superior Court of the State of California. County of San Francisco. Dewayne Johnson (plaintiff) vs. Monsanto company (defendant). [Internet]. 2018. Disponible en: <https://usrtk.org/wp-content/uploads/2018/10/Johnson-vs.-Monsanto-10.22.18-Order-re-JNOV-and-New-Trial.pdf>
  31. Andreotti G, Koutros S, Hofmann JN, Sandler DP, Lubin JH, Lynch

- CF, et al. Glyphosate Use and Cancer Incidence in the Agricultural Health Study. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2018;110(5):1-8. Disponible en: <https://www.baumhedlundlaw.com/pdf/monsanto-documents/johnson-trial/PTX-0669-Gly-Use-Cancer-Incidence-AHS.pdf>
32. Unites States Environmental Protection Agency. EPA Takes Next Step in Review Process for Herbicide Glyphosate, Reaffirms No Risk to Public Health [Internet]. [Consultado 17 May 2019]. Disponible en: <https://www.epa.gov/newsreleases/epa-takes-next-step-review-process-herbicide-glyphosate-reaffirms-no-risk-public-health>
  33. Agence France Presse. Monsanto ordered to pay \$2 bn in latest Roundup blow [Internet]. [Consultado 17 May 2019]. Disponible en: <https://www.afp.com/en/news/15/monsanto-ordered-pay-2-bn-latest-roundup-blow-doc-1gf2rn2>
  34. Orozco Caña C. Ordenamiento territorial y medio ambiente: incidencia de las normas jurídicas Valle del Cauca, 1990 - 1998. 2003. 532 p.
  35. Camacho A, Mejía D. The health consequences of aerial spraying illicit crops: The case of Colombia. *J Health Econ* [Internet]. 2017;54:147-60. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhealeco.2017.04.005>
  36. Andrade Cadena N. COLOMBIAN FUMIGATION OF HERBICIDES AND INTERNATIONAL HUMANITARIAN LAW. *Rev Derecho* [Internet]. 2017;6:173-184 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <https://www.iushumani.org/index.php/iushumani/article/view/123>
  37. Colombia.Ministerio del Medio Ambiente. Plan Manejo Ambiental, Resolución N. 1065 26 de noviembre de 2001 " Por medio de la cual se impone un plan de manejo y se toman otras determinaciones ". Bogota. Ministerio de Ambiente (26 nov 2001);
  38. Colombia. Autoridad Nacional de Licencias Ambientales - ANLA. Resolución N° 01524 "Por la cual se modifica la resolución 1065 del 26 de noviembre de 2001 modificada por las resoluciones 99 del 31 de enero de 2003, 1054 del 30 de septiembre de 2003, 672 del 4 de julio de 2013, y 708 del 11 de julio de 2016 y se toman otras determinaciones". Bogota: ANLA (12 dic 2016);
  39. Franco DR. Intervención del Centro de Estudios de Derecho, Justicia y Sociedad –Dejusticia– en audiencia pública citada mediante auto del 23 de enero de 2019, en seguimiento de la Sentencia T 236 de 2017. [Internet]. 2019. Disponible en: <https://cdn.dejusticia.org/wp-content/uploads/2019/03/Intervención-Escrita-Audiencia-Glifosato.pdf>
  40. Ortiz Silla R. Síntesis de la evolución del conocimiento en Edafología. *Rev Eubacteria* [Internet]. 2015;34:51-64 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5370380>
  41. Rucks L, Garcia F, Ponce de Leon J, Hill M. Propiedades Físicas del Suelo [Internet]. 2004. Disponible en: <http://bibliofagro.pbworks.com/f/propiedades+fisicas+del+suelo.pdf>
  42. Dairy Australia. Chapter 4 - Soil Properties [Internet]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AC172E/AC172E04.htm>
  43. Gardi C, Angelini M, Barceló S, Comerma J, Cruz Gaistardo C, Encina Rojas A, et al. ATLAS DE SUELOS DE AMÉRICA LATINA Y EL

- CARIBE [Internet]. 2014. p. 176. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/262731098\\_Atlas\\_de\\_suelos\\_d\\_e\\_America\\_Latina\\_y\\_el\\_Caribe](https://www.researchgate.net/publication/262731098_Atlas_de_suelos_d_e_America_Latina_y_el_Caribe)
44. Delgado A, Gomez JA. The Soil. Physical, Chemical and Biological Properties [Internet]. 2016. p. 15-27. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-46116-8>
  45. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Propiedades Físicas del Suelo [Internet]. Disponible en: <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/propiedades-del-suelo/propiedades-fisicas/es/>
  46. Asociación Internacional de la Industria de los Fertilizantes. Los fertilizantes y su uso [Internet]. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. 1993. p. 83. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-x4781s.pdf>
  47. McCauley A, Jones C, Jacobsen J. Basic Soil Properties: Soil and Water management [Internet]. Vol. 4481. 2005. p. 1-12. Disponible en: [http://landresources.montana.edu/swm/documents/Final\\_proof\\_SW1.pdf](http://landresources.montana.edu/swm/documents/Final_proof_SW1.pdf)
  48. Zapata JAR. Microorganismos del suelo. En: Técnicas de muestreo para manejadores de recursos naturales. Mexico; 2004. p. 183-303.
  49. Loredó OC, López RL, Espinoza VD. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: una revisión. Plant Growth-Promoting Bacteria in Association with Graminaceous Species: A Review. TERRA Latinoam. 2004;22(2):225-39.
  50. Quiñones-aguilar EE, Evangelista-martínez Z, Rincón-enríquez G. Los actinomicetos y su aplicación biotecnológica. Elementos [Internet]. 2016;101:59-64. Disponible en: <https://elementos.buap.mx/num101/pdf/59.pdf>
  51. Fernández-Pascual MN de M y MR de F. Fijación Biológica de nitrógeno: Factores limitantes. Cienc y Medio Ambient [Internet]. 2002;1-8. Disponible en: [http://digital.csic.es/bitstream/10261/128283/1/Fijación\\_Biológica391\(MC\\_F\\_Pascual\).pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/128283/1/Fijación_Biológica391(MC_F_Pascual).pdf)
  52. Alcivar Vega MD, Vera Vargas VE. Escuela superior politécnica agropecuaria tema : aislamiento de bacterias celulolíticas a diferentes profundidades en plantación de teca ( *Tectona grandis* ) y pechiche ( *Vitex gigantea* ). [Tesis previa a la obtención del título de ingeniero ambiental]. Calceta: Escuela Superior Politecnica Agropecuaria de Manabí «Manuel Felix Lopez»; 2013.
  53. Beltrán Pineda Mayra Eleonora , Rocha Gil Zulma Edelmira BFAA y PMLA. MICROORGANISMOS FUNCIONALES EN SUELOS CON Y SIN REVEGETALIZACIÓN EN EL MUNICIPIO DE VILLA DE LEYVA, BOYACÁ. Colomb For [Internet]. 2017;2(2):158-70. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4239/423951477005.pdf>
  54. Sohail M, Ahmad A, Shahzad S, Khan SA. A survey of amyolytic bacteria and fungi from native environmental samples. Pakistan J Bot. 2005;37(1):155-61.
  55. Gonzales JMP. ESTUDIO DE GRUPOS FUNCIONALES DE MICROORGANISMOS EDAFICOS EN LA RIZOSFERA DE ALNUS GLUTINOSA (L.) GAERTN. [Internet]. Universidad Complutense Madrid; 1991. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/3428/1/T17025.pdf>

56. Useche YM, Valencia H, Perez H. Caracterización de bacterias y hongos solubilizadores de fosfato bajo tres usos de suelo en el Sur del Trapecio Amazónico [Internet]. Universidad Nacional de Colombia; 2004. Disponible en:  
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/27408/27668>
57. Tzin V, Galili G. The Biosynthetic Pathways for Shikimate and Aromatic Amino Acids in *Arabidopsis thaliana*. *Arab B* [Internet]. 2010;8:1-18. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3244902/pdf/tab.0132.pdf>
58. Herrera MD, Reveles-Torres LR, Velásquez-Valle R. Cambios en el metabolismo de los fenilpropanoides en plantas de Chile tipo mirasol infectadas por fitoplasma. [Internet]. 2016. Disponible en:  
<http://www.zacatecas.inifap.gob.mx/publicaciones/Fenilpropanoides.pdf>
59. Villamil C, Del Portillo P, Mongui A. Clonación, expresión y caracterización de una nueva esterasa derivada de metagenomas de suelos agrícolas colombianos Cloning, expression and characterization of a novel esterase derived from Colombian agricultural soils metagenomes. *Rev Colomb Biotecnol* [Internet]. 2016;18(2):48-55 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en:  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77649147006>
60. Escalante Lozada A, Gosset Lagarda, Guillermo Martínez Jiménez, Alfredo Bolívar Zapata F. Diversidad Bacteriana Del Suelo: Métodos De Estudio No Dependientes Del Cultivo Microbiano E Implicaciones Biotecnológicas. *Agrociencia* [Internet]. 2004;38(6):583-592 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en:  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30238602>
61. Goel R, Chandra Suyal D, Narayan, Dash B, Soni R. Soil Metagenomics: A Tool for Sustainable Agriculture. En: Chandra Kalia V, Shouche Y, Purohit HJ, Rahi P, editores. *Mining of Microbial Wealth and MetaGenomics*. 2017. p. 461.
62. Rascovan N. Abriendo la caja negra de los microbiomas ambientales argentinos. Caracterizaciones funcionales y ecológicas en lagunas de altura andinas y suelos de la pampa húmeda con secuenciación de alto rendimiento. [Tesis Doctoral]. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires; 2013.
63. Navas M, Pérez J, Godoy Prieto M, Rodríguez Iglesias A, Masaguer A, Moliner A. Diversidad bacteriana en suelos de zonas contaminadas y no contaminadas de una mina de cobre [Internet]. 2018. p. 627-629 [Consultado 12 Ene 2019]. Disponible en:  
<http://oa.upm.es/51373/>
64. Suárez Silva YA. Análisis de la funcionalidad y diversidad microbiana en suelos dedicados al cultivo de papa criolla (*Solanum phureja*) mediante una aproximación metagenómica. [Trabajo de grado para optar al título de Magister en Microbiología]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2010.
65. Ospina MC. Caracterización preliminar de una enzima con actividad lipolítica obtenida de una librería metagenómica. [Tesis de pregrado en Microbiología]. Bogotá: Universidad de los Andes; 2013.
66. Hernandez De Lira I Omar, Huber D, Escareño Luevanos MP, Hernandez Teran F, Sáenz Mata J, Balagurusamy N. Metagenómica:

- Concepto y Aplicaciones en el Mundo Microbiano. En: Cueto Wong MC, De la Fuente Salcido NM, Luévanos Escareño MP, editores. Fronteras en Microbiología Aplicada. 1.<sup>a</sup> ed. 2015. p. 154-70.
67. Zapata Erazo GG. DISEÑO Y OPTIMIZACIÓN DE UN SISTEMA DE AMPLIO ESPECTRO BASADO EN LA AMPLIFICACIÓN DE UN FRAGMENTO DEL GEN ADN RIBOSOMAL 16S MEDIANTE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL PARA SU APLICACIÓN COMO MÉTODO DE DIAGNÓSTICO E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR. [Tesis para obtener el título de Ingeniera en Biotecnología]. Sangolqui: Escuela Politecnica Del Ejercito; 2011.
  68. Surzycki S. Basic Techniques in Molecular Biology [Internet]. 1.<sup>a</sup> ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2000. [Consultado 13 Ene 2019]. Disponible en:  
<https://www.springer.com/la/book/9783540666783#reviews>
  69. Giler Mendoza JE. Caracterización de las comunidades microbianas en suelos cultivados con banano bajo sistemas de manejo orgánico y convencional. [Tesis de grado para obtener el título de Ingeniero Agronomo]. Cuenca: Universidad de Cuenca; 2016.
  70. Carbonetto MB. Diversidad de las comunidades microbianas de los suelos pampeanos . [Tesis para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en Ciencias Biológicas]. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires; 2014.
  71. Tamay de Dios L, Ibarra C, Velasquillo C. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. Investig en Discapac [Internet]. 2013;2(2):70-78 [Consultado 13 Ene 2019]. Disponible en: <http://dl.acm.org/citation.cfm?id=1854369>
  72. Guzman Arias LC, Moreno Muñoz DA. MEJORAMIENTO DEL CEPARIO DE LA UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA MEDIANTE LA CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA COLECCIÓN DE CEPAS GRAM NEGATIVAS. [Tesis de grado]. Bogota: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca; 2018.
  73. Livicura Yunga MA, Pañi Arevalo MP. Metagenómica de las comunidades microbianas en suelos hortoflorícolas bajo sistemas de manejo orgánico y convencional. [Tesis para obtener el título de Ingeniera Agronoma]. Cuenca: Universidad de Cuenca; 2017.
  74. Marilín García Pérez H. Electroforesis en geles de poliacrilamida : fundamentos , actualidad e importancia. Univ Diag [Internet]. 2000;1(2):31-41 [Consultado 13 Ene 2019]. Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/uni/vol1\\_2\\_00/uni07200.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/uni/vol1_2_00/uni07200.htm)
  75. Cadena Zamudio JD, Martínez Peña MD, Guzmán Rodríguez LF, Arteaga Garibay RI. Aplicación de secuenciación masiva para el estudio y exploración de diversidad microbiana y su aprovechamiento biotecnológico. agroproductividad [Internet]. 2016;9(2):70-83 [Consultado 13 Ene 2019]. Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/298352046\\_APLICACION\\_DE\\_SECUENCIACION\\_MASIVA\\_PARA\\_EL\\_ESTUDIO\\_Y\\_EXPLORACION\\_DE\\_DIVERSIDAD\\_MICROBIANA\\_Y\\_SU\\_APROVECHAMIENTO\\_BIOTECNOLOGICO](https://www.researchgate.net/publication/298352046_APLICACION_DE_SECUENCIACION_MASIVA_PARA_EL_ESTUDIO_Y_EXPLORACION_DE_DIVERSIDAD_MICROBIANA_Y_SU_APROVECHAMIENTO_BIOTECNOLOGICO)
  76. Garavito A, González Muñoz A, Mosquera Rendón J, Alvarez Yela AC, López Álvarez D, Cristancho Ardila MA. Biodiversidad

- latinoamericana y sus perspectivas de estudio con tecnologías 'ómicas'. Mex J Biotechnol [Internet]. 2017;2(2):98-129 [Consultado 13 Ene 2019]. Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/323128845\\_Biodiversidad\\_latinoamericana\\_y\\_sus\\_perspectivas\\_de\\_estudio\\_con\\_tecnologias\\_omicas](https://www.researchgate.net/publication/323128845_Biodiversidad_latinoamericana_y_sus_perspectivas_de_estudio_con_tecnologias_omicas)
77. Bernabé Salomón LA. IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE BACTERIAS CULTIVADAS Y NO CULTIVADAS ASOCIADAS A LA RIZÓSFERA DE *Opuntia ficus-indica* (L.) mill. (CACTACEAE) EN ECOSISTEMAS ÁRIDOS. [Tesis de Maestro en ciencias]. Tumbes: Universidad Nacional de Tumbes; 2016.
  78. Garrigues F. NGS: Secuenciación de Segunda Generación. [Consultado 13 Ene 2019].
  79. Illumina. Sistema MiSeq [Internet]. 2016. Disponible en:  
<https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/miseq-data-sheet-770-2011-001-translations/miseq-specification-sheet-770-2011-001-esp.pdf>
  80. Ravi RK, Walton K, Khosroheidari M. Miseq: A next generation sequencing platform for genomic analysis. En: Methods in Molecular Biology [Internet]. 2018. p. 223-32. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29423801>
  81. Valenzuela González F, Casillas Hernández R, Villalpando E, Vargas Albores F. The 16S rRNA gene in the study of marine microbial communities. Ciencias Mar [Internet]. 2015;41(4):297-313 [Consultado 13 Ene 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.7773/cm.v41i4.2492>
  82. EZ BioCloud. 16S rRNA and 16S rRNA Gene [Internet]. 2019 [citado 25 de marzo de 2019]. Disponible en:  
<https://help.ezbiocloud.net/16s-rrna-and-16s-rrna-gene/>
  83. Pace NR, Stahl DA, Lane DJ, Olsen GJ. The Analysis of Natural Microbial Populations by Ribosomal RNA Sequences. En: Marshall K., editor. Advances in Microbial Ecology. 1.<sup>a</sup> ed. New York: Springer US; 1986. p. 550.
  84. Hogeweg P. The roots of bioinformatics in theoretical biology. PLoS Comput Biol [Internet]. 2011;7(3):1-5 [Consultado 13 Ene 2019]. Disponible en:  
<https://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.1002021>
  85. Strasser BJ. Collecting, Comparing, and Computing Sequences: The Making of Margaret O. Dayhoff's Atlas of Protein Sequence and Structure, 1954-1965. J Hist Biol [Internet]. 2010;43:623-660 [Consultado 13 Ene 2019]. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20665074>
  86. Gálvez EC. BlasStorP HERRAMIENTA NCBI-BLAST A NIVEL LOCAL [Internet]. España; 2010. Disponible en:  
[https://dspace.unia.es/bitstream/handle/10334/401/0102\\_Chicano.pdf?sequence=1](https://dspace.unia.es/bitstream/handle/10334/401/0102_Chicano.pdf?sequence=1)
  87. Collado AAC. Análisis y caracterización de trabajos BLAST para la planificación eficiente en entornos Grid y Supercomputación. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA; 2010.
  88. Kuczynski J, Stombaugh J, Anton Walters W, Gonzales A, Caporaso G, Knight R. Using QIIME to Analyze 16S rRNA Gene

- Sequences from Microbial Communities. *Genet Mol Biol* [Internet]. 2011;36(1):189-194 [Consultado 13 Ene 2019]. Disponible en: <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/0471250953.bi1007s36>
89. Quantitative Insights Into Microbial Ecology. QIIME Overview Tutorial [Internet]. [Consultado 13 Ene 2019]. Disponible en: <http://qiime.org/1.5.0/tutorials/tutorial.html>
  90. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP. DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods* [Internet]. 2013;13(7):581-583 [Consultado 13 Ene 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4927377/>
  91. Callahan B, McMurdie J, Holmes S. Introduction to dada2 [Internet]. [Consultado 13 Ene 2019]]. 2019. Disponible en: <https://bioconductor.org/packages/release/bioc/vignettes/dada2/inst/doc/dada2-intro.html>
  92. Gobernación de Córdoba. GEOGRAFÍA DE CÓRDOBA [Internet]. [Consultado 13 Ene 2019]. Disponible en: <http://www.cordoba.gov.co/cordoba/geografia.html>
  93. UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO. MUESTREO PARA EL ANÁLISIS DE FERTILIDAD DE SUELOS. 2011.
  94. Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2013;41(1):e1. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22933715><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3592464>
  95. Hernandez Leon R, Velazquez Sepulveda I, Orozco Mosquera M, Santoyo G. Metagenómica de suelos: grandes desafíos y nuevas oportunidades biotecnológicas. *Rev Int BOTÁNICA Exp* [Internet]. 2010;(79):133-139 [Consultado 13 Ene 2019]. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-56572010000200004](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572010000200004)
  96. Kielak AM, Barreto CC, Kowalchuk GA, van Veen JA, Kuramae EE. The ecology of Acidobacteria: Moving beyond genes and genomes. *Front Microbiol* [Internet]. 2016;7(MAY):1-16 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4885859/pdf/fmicb-07-00744.pdf>
  97. Rampelotto PH, de Siqueira Ferreira A, Barboza ADM, Roesch LFW. Changes in Diversity, Abundance, and Structure of Soil Bacterial Communities in Brazilian Savanna Under Different Land Use Systems. *Microb Ecol*. 2013;66(3):593-607.
  98. Ventura M, Canchaya C, Tauch A, Chandra G, Fitzgerald GF, Chater KF, et al. Genomics of Actinobacteria: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum. *Microbiol Mol Biol Rev* [Internet]. 2007;71(3):495-548 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2168647/pdf/0005-07.pdf>
  99. Barka EA, Vatsa P, Sanchez L, Gaveau-Vaillant N, Jacquard C, Klenk H-P, et al. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of. *Am Soc*

- Microbiol [Internet]. 2016;80(1):1-43 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://mibr.asm.org/content/mibr/80/1/1.full.pdf>
100. Ortiz-Reyes A, Giraldo-Jaramillo TM, Moreno-Herrera CX. Análisis molecular de las bacterias asociadas a los depósitos de desechos de *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae). *Rev Colomb Entomol* [Internet]. 2016;42(2):162-170 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v42n2/v42n2a09.pdf>
  101. Thomas F, Hehemann JH, Rebuffet E, Czjzek M, Michel G. Environmental and gut Bacteroidetes: The food connection. *Front Microbiol* [Internet]. 2011;2(MAY):1-16 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3129010/pdf/fmicb-02-00093.pdf>
  102. Fierer N, Leff JW, Adams BJ, Nielsen UN, Bates ST, Lauber CL, et al. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *Proc Natl Acad Sci*. 2012;109(52):21390-5.
  103. Lauber CL, Hamady M, Knight R, Fierer N. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. Vol. 75, *Applied and Environmental Microbiology*. 2009. p. 5111-5120 [Consultado 5 Abr 2019].
  104. Lancaster SH, Hollister EB, Senseman SA, Gentry TJ. Effects of repeated glyphosate applications on soil microbial community composition and the mineralization of glyphosate. *Pest Manag Sci* [Internet]. 2010;66(1):59-64 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19697445>
  105. Hanada S. The Phylum Chloroflexi, the Family Chloroflexaceae, and the Related Phototrophic Families Oscillochloridaceae and Roseiflexaceae. En: *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry* [Internet]. Japon; 2012. p. 119-44. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/287126887\\_The\\_Phylum\\_Chloroflexi\\_the\\_Family\\_Chloroflexaceae\\_and\\_the\\_Related\\_Phototrophic\\_Families\\_Oscillochloridaceae\\_and\\_Roseiflexaceae](https://www.researchgate.net/publication/287126887_The_Phylum_Chloroflexi_the_Family_Chloroflexaceae_and_the_Related_Phototrophic_Families_Oscillochloridaceae_and_Roseiflexaceae)
  106. Pitombo LM, do Carmo JB, de Hollander M, Rossetto R, López M V., Cantarella H, et al. Exploring soil microbial 16S rRNA sequence data to increase carbon yield and nitrogen efficiency of a bioenergy crop. En: *GCB Bioenergy* [Internet]. 2016. p. 867-879 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: [http://somicoc.unal.edu.co/fileadmin/content/eventos/somicoc/KURAM\\_AE\\_E\\_EXPLORING\\_SOIL\\_MICROBIAL\\_16S\\_RRNA\\_SEQUENCE\\_DATA\\_TO\\_INCREASES\\_CARBON\\_YIELD.pdf](http://somicoc.unal.edu.co/fileadmin/content/eventos/somicoc/KURAM_AE_E_EXPLORING_SOIL_MICROBIAL_16S_RRNA_SEQUENCE_DATA_TO_INCREASES_CARBON_YIELD.pdf)
  107. Normand P, Benson DR, Berry AM, Tisa LS. The Family Frankiaceae. En: *The Prokaryotes*. 2012. p. 119-44.
  108. Spinler JK. Corynebacteriaceae. *Encycl Metagenomics* [Internet]. 2015;112-119 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9781118960608.fbm00011>
  109. Dastager SG, Krishnamurthi S, Rameshkumar N, Dharne M. The Family Micrococcaceae. 27.<sup>a</sup> ed. *The Prokaryotes*. India; 2012. 119-144 p.
  110. Manteca A, Sanchez J. *Streptomyces* development in colonies and soils. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2009;75(9):2920-2924

- [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en:  
<https://aem.asm.org/content/aem/75/9/2920.full.pdf>
111. Santric L, Radivojevic L, Gajic-Umiljendic J, Saric-Krsmanovic M, Djurovic-Pejcev R. Effects of herbicides on growth and number of actinomycetes in soil and in vitro. *Pestic i fitomedicina* [Internet]. 2017;31(3-4):121-128 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://scindeks-clanci.ceon.rs/data/pdf/1820-3949/2016/1820-39491604121S.pdf>
  112. Mateos L, Letek M, Villadangos A, Fiuza M, Ordoñez E, Gil J. *Corynebacterium*. *Molecular Detection of Human Bacterial Pathogens*. 2011. 59-73 p.
  113. Berry AM, Barabote RD, Normand P. The Family Acidothermaceae. En: *The Prokaryotes*. Francia; 2012. p. 119-44.
  114. Plassart P, Prévost-Bouré NC, Uroz S, Dequiedt S, Stone D, Creamer R, et al. Soil parameters, land use, and geographical distance drive soil bacterial communities along a European transect. *Sci Rep*. 2019;9(1):1-17 [Consultado 5 Abr 2019].
  115. Busse H-J, Wieser M. *Pseudarthrobacter*. *Bergey's Man Syst Archaea Bact*. 2018;1-13.
  116. Kim SJ, Park JH, Lim JM, Ahn JH, Anandham R, Weon HY, et al. *Parafilimonas terrae* gen. nov., sp. nov., isolated from greenhouse soil. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2014;64(May):3040-3045 [Consultado 5 Abr 2019].
  117. Hanada S, Takaichi S, Matsuura K, Kazunori N. *Roseiflexus castenholzii* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, filamentous, photosynthetic bacterium that lacks chlorosomes. *Int J Syst Evol Microbiol* [Internet]. 2002;52:187-193 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/11524200\\_Roseiflexus\\_castenholzii\\_gen\\_nov\\_sp\\_nov\\_a\\_thermophilic\\_filamentous\\_photosynthetic\\_bacterium\\_that\\_lacks\\_chlorosomes](https://www.researchgate.net/publication/11524200_Roseiflexus_castenholzii_gen_nov_sp_nov_a_thermophilic_filamentous_photosynthetic_bacterium_that_lacks_chlorosomes)
  118. Koch IH, Gich F, Dunfield PF, Overmann J. *Edaphobacter modestus* gen. nov., sp. nov., and *Edaphobacter aggregans* sp. nov., acidobacteria isolated from alpine and forest soils. *Int J Syst Evol Microbiol* [Internet]. 2008;58(5):1114-1122 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/ijsem/58/5/1114.pdf?expires=1557205164&id=id&accname=guest&checksum=BE32D8D1DCBE00698A261EA9BCBC55B2>
  119. Corrales Ramírez, MSc LC, Sánchez Leal, MSc LC, Arévalo Galvez ZY, Moreno Burbano VE. *Bacillus*: género bacteriano que demuestra ser un importante solubilizador de fosfato. *Nova* [Internet]. 2017;12(22):165 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <http://hemeroteca.unad.edu.co/entrenamiento/index.php/nova/article/view/1041/1037>
  120. Wolmarans K, Swart WJ. Influence of glyphosate , other herbicides and genetically modified herbicide-resistant crops on soil microbiota : a review. *South African J Plant Soil* [Internet]. 2014;31(4):177-186 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/02571862.2014.960485?needAccess=true>
  121. DeBruyn JM, Nixon LT, Fawaz MN, Johnson AM, Radosevich M.

- Global Biogeography and Quantitative Seasonal Dynamics of Gemmatimonadetes in Soil. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2011;77(17):6295-6300 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://aem.asm.org/content/aem/77/17/6295.full.pdf>
122. Lefevre CT, Frankel RB, Abreu F, Lins U, Bazylinski DA. Culture-independent characterization of a novel, uncultivated magnetotactic member of the Nitrospirae phylum. *Environ Microbiol* [Internet]. 2011;13(2):538-549 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20977572>
123. Daims H, Lebedeva E V., Pjevac P, Han P, Herbold C, Albertsen M, et al. Complete nitrification by Nitrospira bacteria. *Nature* [Internet]. 2015;528(7583):504-509 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/nature16461>
124. Han S, Luo X, Liao H, Nie H, Chen W, Huang Q. Nitrospira are more sensitive than Nitrobacter to land management in acid, fertilized soils of a rapeseed-rice rotation field trial. *Sci Total Environ* [Internet]. 2017;599-600:135-144 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.086>
125. Buckley DH, Schmidt TM. Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems. *Environ Microbiol* [Internet]. 2003;5(6):441-452 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00404.x>
126. Francis CA, Beman JM, Kuypers MMM. New processes and players in the nitrogen cycle: The microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation. *ISME J* [Internet]. 2007;1(1):19-27 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://sci-hub.tw/10.1038/ismej.2007.8>
127. Owa FW. International Letters of Natural Sciences ILNS [Internet]. Vol. 74, International Letters of Natural Sciences. 2019. Disponible en: <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.agro-0c6457fb-fa78-4aa1-9eca-5f4483681a90;jsessionid=A5FD306CF6A612D71474B94727119939>
128. Carbonetto B, Rascovan N, Álvarez R, Mentaberry A, Vázquez MP. Structure, composition and metagenomic profile of soil microbiomes associated to agricultural land use and tillage systems in Argentine Pampas. *Microbiomes Agric Soils*. 2014;9(6):[Consultado 5 Abr 2019].
129. Navarrete AA, Soares T, Rossetto R, van Veen JA, Tsai SM, Kuramae EE. Verrucomicrobial community structure and abundance as indicators for changes in chemical factors linked to soil fertility. *Antonie van Leeuwenhoek, Int J Gen Mol Microbiol* [Internet]. 2015;108(3):741-752 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4525199/pdf/10482\\_2015\\_Article\\_530.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4525199/pdf/10482_2015_Article_530.pdf)
130. Spain AM, Krumholz LR, Elshahed MS. Abundance, composition, diversity and novelty of soil Proteobacteria. *ISME J* [Internet]. 2009;3(8):992-1000. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/ismej.2009.43>
131. Kelly □, Williams P, Gillespie JJ, Sobral BWS, Nordberg EK, Snyder EE, et al. Phylogeny of Gammaproteobacteria. *J Bacteriol* [Internet]. 2010;192(9):2305-2314 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible

- en: <http://jb.asm.org/content/192/9/2305.full.pdf>
132. Kim HM, Jung JY, Yergeau E, Hwang CY, Hinzman L, Nam S, et al. Bacterial community structure and soil properties of a subarctic tundra soil in Council, Alaska. *FEMS Microbiol Ecol* [Internet]. 2014;89(2):465-475 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4143960/pdf/fem0089-0465.pdf>
  133. Cho SJ, Kim MH, Lee YO. Effect of pH on soil bacterial diversity. *J Ecol Environ* [Internet]. 2016;40(1):1-9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s41610-016-0004-1>
  134. Ren C, Sun P, Kang D, Zhao F, Feng Y, Ren G, et al. Responsiveness of soil nitrogen fractions and bacterial communities to afforestation in the Loess Hilly Region (LHR) of China. *Sci Rep* [Internet]. 2016;6:1-11 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/srep28469>
  135. Shinabarger DL, Braymer HD. Glyphosate catabolism by *Pseudomonas* sp. strain PG2982. *J Bacteriol* [Internet]. 1986;168(2):702-707 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://jb.asm.org/content/jb/168/2/702.full.pdf>
  136. Shinabarger DL, Schmitt EK, Braymer HD, Larson AD. Phosphonate utilization by the glyphosate-degrading *Pseudomonas* sp. strain PG2982. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 1984;48(5):1049-1050 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://aem.asm.org/content/aem/48/5/1049.full.pdf>
  137. Gimsing AL, Borggaard OK, Jacobsen OS, Aamand J, Sørensen J. Chemical and microbiological soil characteristics controlling glyphosate mineralisation in Danish surface soils. *Appl Soil Ecol* [Internet]. 2004;27(3):233-242 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0929139304000794>
  138. Voronina OL, Kunda MS, Ryzhova NN, Aksenova EI, Semenov AN, Lasareva A V., et al. The Variability of the Order Burkholderiales Representatives in the Healthcare Units. *Biomed Res Int* [Internet]. 2015;2015:1-9 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4465658/pdf/BMRI2015-680210.pdf>
  139. Kuklinsky-Sobral J, Araújo WL, Mendes R, Pizzirani-Kleiner AA, Azevedo JL. Isolation and characterization of endophytic bacteria from soybean (*Glycine max*) grown in soil treated with glyphosate herbicide. *Plant Soil* [Internet]. 2005;273(1-2):91-99 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1007/s11104-004-6894-1>
  140. Cuadrado B, Rubio G, Santos W. Caracterización de cepas de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (con habilidad de nodulación) seleccionados de los cultivos de frijol caupi (*Vigna unguiculata*) como potenciales bioinóculos. *Rev Colomb Cienc Quím Farm* [Internet]. 2009;38(1):78-104 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v38n1/v38n1a06.pdf>
  141. Zablutowicz RM, Reddy KN. Impact of Glyphosate on the Symbiosis with Glyphosate-Resistant Transgenic Soybean. *J Environ Qual* [Internet]. 2010;33(3):825 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en:

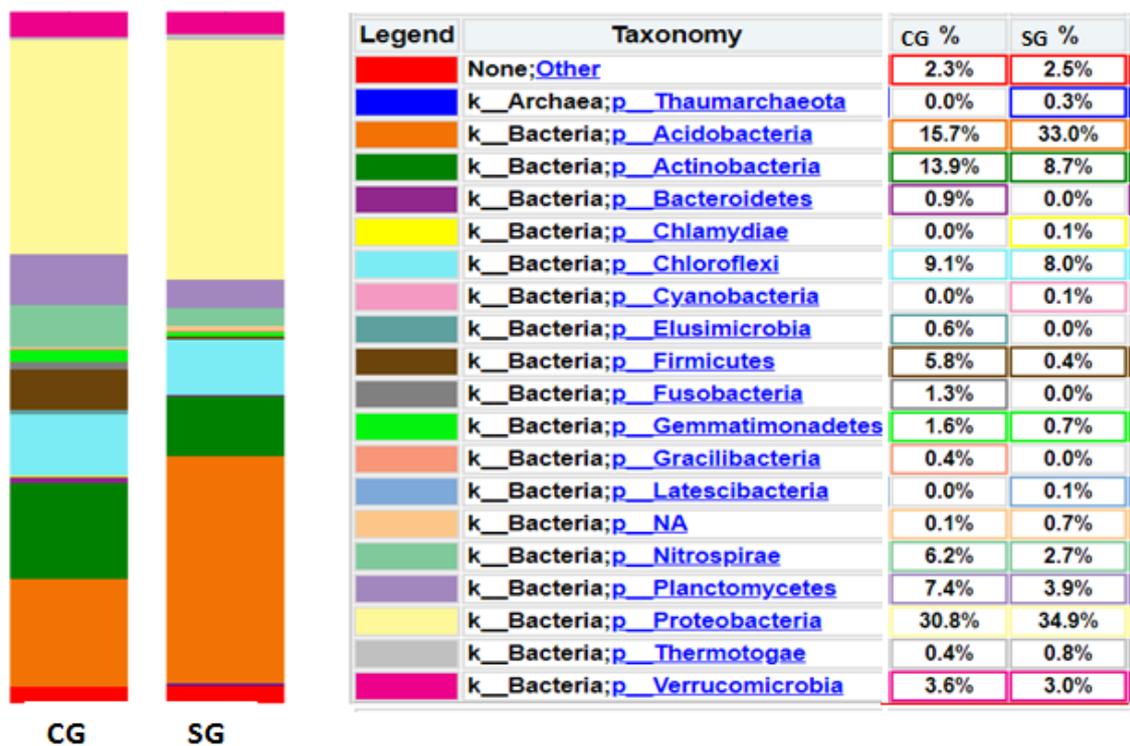
- <https://sci-hub.tw/10.2134/jeq2004.0825>
142. Dos Santos JB, Ferreira EA, Kasuya MCM, Da Silva AA, Procópio SDO. Tolerance of Bradyrhizobium strains to glyphosate formulations. Crop Prot [Internet]. 2005;24(6):543-547 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219404002789>
  143. Falagán C, Johnson DB. Acidibacter ferrireducens gen. nov., sp. nov.: an acidophilic ferric iron-reducing gammaproteobacterium. Extremophiles [Internet]. 2014;18(6):1067-1073 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00792-014-0684-3>
  144. Kämpfer P, Young CC, Arun AB, Shen FT, Jäckel U, Rosselló-Mora R, et al. Pseudolabrys taiwanensis gen. nov., sp. nov., an alphaproteobacterium isolated from soil. Int J Syst Evol Microbiol [Internet]. 2006;56(10):2469-2472 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/6781675\\_Pseudolabrys\\_taiwanensis\\_gen\\_nov\\_sp\\_nov\\_an\\_alphaproteobacterium\\_isolated\\_from\\_soil](https://www.researchgate.net/publication/6781675_Pseudolabrys_taiwanensis_gen_nov_sp_nov_an_alphaproteobacterium_isolated_from_soil)
  145. Han JI, Choi HK, Lee SW, Orwin PM, Kim J, LaRoe SL, et al. Complete genome sequence of the metabolically versatile plant growth-promoting endophyte Variovorax paradoxus S110. J Bacteriol [Internet]. 2011;193(5):1183-1190 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3067606/pdf/0925-10.pdf>
  146. Sun S-L, Yang W-L, Fang W-W, Zhao Y-X, Guo L, Daia Y-J. The Plant Growth-Promoting Rhizobacterium Variovorax boronicumulans CGMCC 4969 Regulates the Level of Indole-3-Acetic Acid Synthesized from Indole-3-Acetonitrile. 2018;84(16):1-14 [Consultado 5 Abr 2019]. Disponible en: <https://aem.asm.org/content/aem/84/16/e00298-18.full.pdf>
  147. Siavosh Sadeghian Khalajabadi. La acidez del suelo, una limitante común para la producción de café. Av Técnicos Cenicafé [Internet]. 2016;1-12 [Consultado 4 Jun 2019]. Disponible en: <https://www.cenicafe.org/es/publications/AVT0466.pdf>
  148. Khalajabadi SS. Efecto de los cambios en las relaciones de calcio, magnesio y potasio intercambiables en suelos de la zona cafetera colombiana sobre la nutrición de café (Coffea arabica L.) en la etapa de almácigo. Bogota; Universidad Nacional de Colombia.[Tesis de grado para optar el título de Doctor en Ciencias Agrarias ]; 2012.
  149. Molina E. ANÁLISIS DE SUELOS Y SU INTERPRETACIÓN [Internet]. Costa Rica; 2015. Disponible en: [www.aminogrowinternacional.com](http://www.aminogrowinternacional.com)
  150. Martínez A, Reyes I, Reyes N. Citotoxicidad del glifosato en células mononucleares de sangre periférica humana. Biomedica [Internet]. 2007;27:594-604 [Consultado 31 May 2019 ]. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/176/167>
  151. Aranda G, Valenzuela A, Garcia D, Almeira J. Efectos del glifosato sobre la salud humana. El Centauro [Internet]. 2015;(11):71-86 [Consultado 31 May 2019 ]. Disponible en: <https://revistas.unilivre.edu.co/index.php/centauro/article/view/2473/1908>
  152. Rico D, Scoppetta O, Alzate JP, Ferro AG. Verdades científicas sobre glifosato y salud pública [Internet]. Vol. 1. 2016. Disponible en:

<http://cdn.ideaspaz.org/media/website/document/580a336fc9e1c.pdf>  
153. Cortina C, Fonnegra F, Pineda M, Muñoz P, Fonnegra R, Díaz Z, et al. Effects of glyphosate intoxication in farming population: topic review. Rev CES Salud Pública [Internet]. 2017;8(1):121-133 [Consultado 31 May 2019 ]. Disponible en:  
[http://revistas.ces.edu.co/index.php/ces\\_salud\\_publica/article/viewFile/4427/2824](http://revistas.ces.edu.co/index.php/ces_salud_publica/article/viewFile/4427/2824)

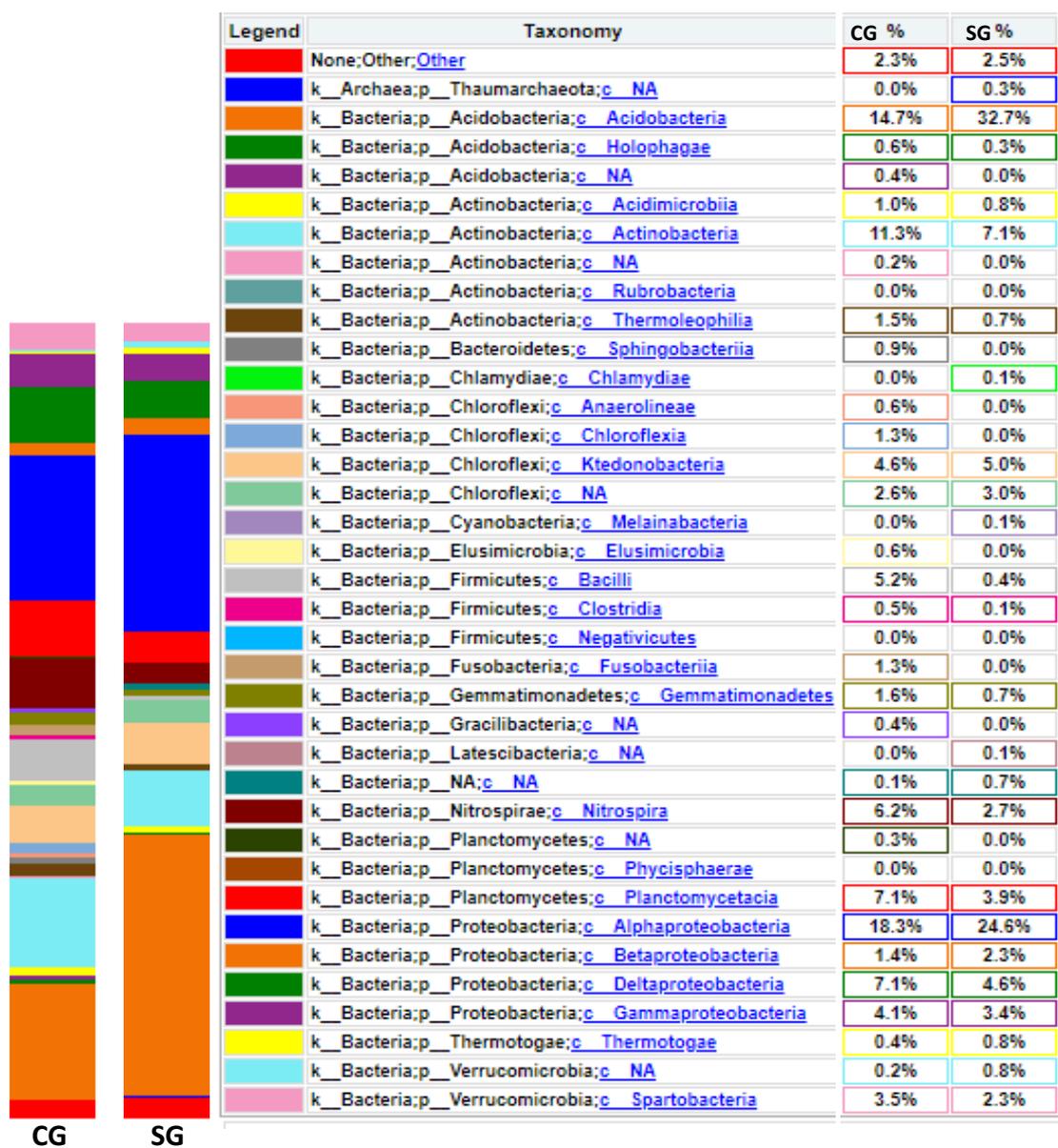
## ANEXOS

### ANEXO N°1 Composición procaríota 16S

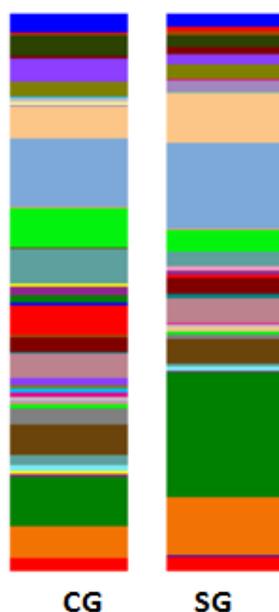
#### 1.1 Tabla de composición e identificación procaríota a nivel de Filo.



## 1.2 Tabla de composición e identificación procariota a nivel de Clase.



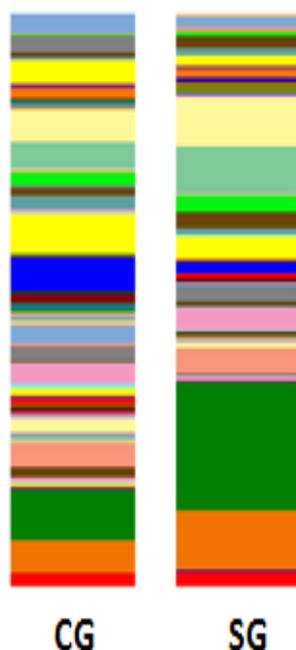
### 1.3 Tabla de composición e identificación procariota a nivel de Orden.



Legend	Taxonomy	CG %	SG %
	None;Other;Other;Other	2.3%	2.5%
	k_Archaea;p_Thaumarchaeota;c_NA;o_NA	0.0%	0.3%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales	5.7%	10.6%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA	9.0%	22.2%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Holophagae;o_NA	0.6%	0.3%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_NA;o_NA	0.4%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobia;o_Acidimicrobiales	1.0%	0.8%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Catenulisporales	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Corynebacteriales	1.9%	0.5%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Frankiales	5.4%	4.5%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales	3.0%	0.9%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales	0.8%	0.4%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Pseudonocardiales	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptomycetales	0.2%	0.9%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptosporangiales	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_NA;o_NA	0.2%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Rubrobacteria;o_Rubrobacteriales	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophilia;o_Gaiellales	0.7%	0.4%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophilia;o_Solirubrobacteriales	0.8%	0.4%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacteriia;o_Sphingobacteriales	0.9%	0.0%
	k_Bacteria;p_Chlamydiae;c_Chlamydiae;o_Chlamydiales	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Anaerolineales	0.6%	0.0%
	k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Chloroflexia;o_Chloroflexales	1.3%	0.0%
	k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacteriales	4.4%	4.3%
	k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_NA	0.2%	0.7%
	k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA	2.6%	3.0%
	k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Melainabacteria;o_Obscuribacteriales	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Elusimicrobia;c_Elusimicrobia;o_NA	0.6%	0.0%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales	5.2%	0.4%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales	0.5%	0.1%
	k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Negativicutes;o_Selenomonadales	0.0%	0.0%

k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriia;o_Fusobacteriales	1.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_Gemmatimonadales	1.6%	0.7%
k_Bacteria;p_Gracilibacteria;c_NA;o_NA	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Latescibacteria;c_NA;o_NA	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_NA;c_NA;o_NA	0.1%	0.7%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales	6.2%	2.7%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_NA;o_NA	0.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Phycisphaerae;o_NA	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetacia;o_Planctomycetales	7.1%	3.9%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacteriales	0.3%	0.3%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales	12.2%	15.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales	5.8%	9.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales	0.2%	2.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_NA	0.6%	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Nitrosomonadales	0.7%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfobacteriales	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfurellales	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfuromonadales	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales	2.5%	2.5%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_NA	4.2%	2.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Syntrophobacteriales	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Legionellales	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales	0.5%	1.4%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales	3.6%	2.0%
k_Bacteria;p_Thermotogae;c_Thermotogae;o_Thermotogales	0.4%	0.8%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_NA;o_NA	0.2%	0.8%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales	3.5%	2.3%

## 1.4 Tabla de composición e identificación procariota a nivel de Familia

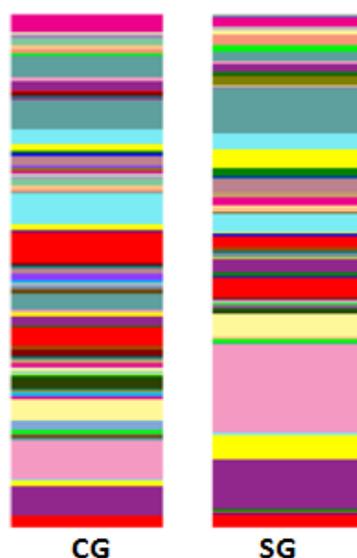


Legend	Taxonomy	CG %	SG %
	None;Other;Other;Other;Other	2.3%	2.5%
	k_Archaea;p_Thaumarchaeota;c_NA;o_NA;f_NA	0.0%	0.3%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA	5.7%	10.6%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA	9.0%	22.2%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Holophagae;o_NA;f_NA	0.6%	0.3%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_NA;o_NA;f_NA	0.4%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobia;o_Acidimicrobiales;f_Acidimicrobiaceae	0.3%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobia;o_Acidimicrobiales;f_NA	0.6%	0.8%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Catenulisporales;f_Catenulisporaceae	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Corynebacteriales;f_Corynebacteriaceae	1.9%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Corynebacteriales;f_Mycobacteriaceae	0.0%	0.5%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Corynebacteriales;f_Nocardiaceae	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Frankiales;f_Acidothermaceae	4.2%	4.5%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Frankiales;f_Frankiaceae	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Frankiales;f_NA	0.5%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Frankiales;f_Sporichthyaceae	0.7%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Intrasporangiaceae	0.7%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Micrococcaceae	2.2%	0.9%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae	0.8%	0.4%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioideaceae	0.1%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Pseudonocardiales;f_Pseudonocardiaceae	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptomycetales;f_Streptomycetaceae	0.2%	0.9%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptosporangiales;f_Streptosporangiaceae	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptosporangiales;f_Thermomonosporaceae	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_NA;o_NA;f_NA	0.2%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Rubrobacteria;o_Rubrobacteriales;f_Rubrobacteriaceae	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_Gaiellaceae	0.5%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA	0.3%	0.4%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Solirubrobacteriales;f_NA	0.8%	0.4%
	k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacteriia;o_Sphingobacteriales;f_Chitinophagaceae	0.9%	0.0%

k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacterii;o_Sphingobacteriales;f_Sphingobacteriaceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chlamydiae;c_Chlamydiae;o_Chlamydiales;f_Parachlamydiaceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chlamydiae;c_Chlamydiae;o_Chlamydiales;f_Simkaniaceae	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Anaerolineales;f_Anaerolineaceae	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Chloroflexia;o_Chloroflexales;f_Roseiflexaceae	1.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacteriales;f_Ktedonobacteraceae	0.7%	0.2%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacteriales;f_NA	3.8%	3.8%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacteriales;f_Thermosporotrichaceae	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_NA;f_NA	0.2%	0.7%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA;f_NA	2.6%	3.0%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Melainabacteria;o_Obscuribacteriales;f_NA	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Elusimicrobia;c_Elusimicrobia;o_NA;f_NA	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae	3.1%	0.4%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Paenibacillaceae	0.7%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae	0.5%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Staphylococcaceae	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Thermoactinomyetaceae	0.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_NA	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptococcaceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptostreptococcaceae	0.5%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Negativicutes;o_Selenomonadales;f_Veillonellaceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacterii;o_Fusobacteriales;f_Leptotrichiaceae	1.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_Gemmatimonadales;f_Gemmatimonadaceae	1.6%	0.7%
k_Bacteria;p_Gracilibacteria;c_NA;o_NA;f_NA	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Latescibacteria;c_NA;o_NA;f_NA	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_NA;c_NA;o_NA;f_NA	0.1%	0.7%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales;f_NA	6.0%	2.2%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales;f_Nitrospiraceae	0.2%	0.5%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_NA;o_NA;f_NA	0.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Phycisphaerae;o_NA;f_NA	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetacia;o_Planctomycetales;f_Planctomycetaceae	7.1%	3.9%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacterales;f_Caulobacteraceae	0.3%	0.3%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Beijerinckiaceae	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Bradyrhizobiaceae	2.3%	1.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae	1.4%	2.9%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Methylobacteriaceae	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_NA	2.2%	2.9%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Phyllobacteriaceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhodobiaceae	0.5%	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Xanthobacteraceae	4.8%	8.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Acetobacteraceae	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_NA	5.8%	8.6%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Rhodospirillaceae	0.0%	0.3%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Alcaligenaceae	0.0%	0.3%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Burkholderiaceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae	0.2%	1.8%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Oxalobacteraceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_NA;f_NA	0.6%	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Nitrosomonadales;f_Nitrosomonadaceae	0.7%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfobacteriales;f_Nitrospinaceae	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfurellales;f_Desulfurellaceae	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfuromonadales;f_Geobacteraceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_Cystobacteraceae	0.0%	0.0%

k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_Haliangiaceae	0.0%	0.5%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_NA	1.7%	1.5%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_Phaselicystidaceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_Polyangiaceae	0.8%	0.5%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_NA;f_NA	4.2%	2.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Syntrophobacterales;f_Syntrophaceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Legionellales;f_Coxiellaceae	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;f_Pseudomonadaceae	0.5%	1.4%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_NA	0.7%	2.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Xanthomonadaceae	2.9%	0.0%
k_Bacteria;p_Thermotogae;c_Thermotogae;o_Thermotogales;f_Thermotogaceae	0.4%	0.8%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_NA;o_NA;f_NA	0.2%	0.8%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacterales;f_NA	3.4%	1.7%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacterales;f_Xiphinematobacteraceae	0.1%	0.6%

## 1.5 Tabla de composición e identificación procariota a nivel de Género



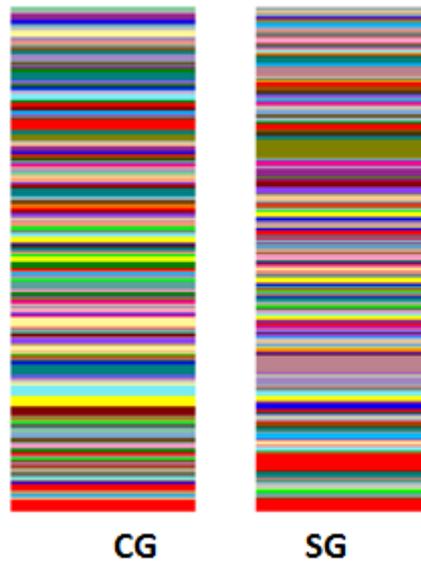
Legend	Taxonomy	CG %	SG %
	None;Other;Other;Other;Other;Other	2.3%	2.5%
	k_Archaea;p_Thaumarchaeota;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA	0.0%	0.3%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_Koribacter	0.0%	0.4%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_Edaphobacter	0.0%	0.4%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA	5.7%	9.8%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_Solibacter	1.1%	4.6%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_Bryobacter	0.4%	0.5%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA	7.5%	17.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Holophagae;o_NA;f_NA;g_NA	0.6%	0.3%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA	0.4%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobia;o_Acidimicrobiales;f_Acidimicrobiales;g_NA	0.3%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobia;o_Acidimicrobiales;f_NA;g_NA	0.6%	0.8%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Catenulisporales;f_Catenulisporaceae;g_Catenulispora	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Corynebacteriales;f_Corynebacteriaceae;g_Corynebacterium	1.9%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Corynebacteriales;f_Mycobacteriaceae;g_Mycobacterium	0.0%	0.5%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Corynebacteriales;f_Nocardiaceae;g_Nocardia	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Corynebacteriales;f_Nocardiaceae;g_Rhodococcus	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Frankiales;f_Acidotherraceae;g_Acidotherrus	4.2%	4.5%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Frankiales;f_Frankiaceae;g_Jatrophihabitans	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Frankiales;f_NA;g_NA	0.5%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Frankiales;f_Sporichthyaceae;g_Sporichthya	0.7%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Intrasporangiaceae;g_Intrasporangium	0.3%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Intrasporangiaceae;g_Oryzihumus	0.4%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Intrasporangiaceae;g_Phycococcus	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Intrasporangiaceae;g_Terrabacter	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Micrococaceae;g_Arthrobacter	0.2%	0.0%

k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Micrococaceae;g_Paenarthrobacter	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Micrococaceae;g_Pseudarthrobacter	2.0%	0.9%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Micrococaceae;g_Sinomonas	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Actinoplanes-Dactylosporangium	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Catelliglobosipora	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Krasilnikovia-Luedemannella	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Luedemannella	0.5%	0.1%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_NA	0.0%	0.3%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Virgisporangium	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_Kribbella	0.1%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_Nocardioides	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Pseudonocardiales;f_Pseudonocardaceae;g_Pseudonocardia	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptomyetales;f_Streptomyetaceae;g_Kitasatospora-Streptomyces	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptomyetales;f_Streptomyetaceae;g_Streptacidiphilus	0.0%	0.6%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptomyetales;f_Streptomyetaceae;g_Streptomyces	0.2%	0.3%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptosporangiales;f_Streptosporangiaceae;g_NA	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptosporangiales;f_Thermomonosporaceae;g_Actinoallomurus	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptosporangiales;f_Thermomonosporaceae;g_Actinomadura	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA	0.2%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Rubrobacteria;o_Rubrobacteriales;f_Rubrobacteriaceae;g_Rubrobacter	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophilia;o_Gaiellales;f_Gaiellaceae;g_Gaiella	0.5%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophilia;o_Gaiellales;f_NA;g_NA	0.3%	0.4%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophilia;o_Solirubrobacteriales;f_NA;g_NA	0.8%	0.4%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;o_Sphingobacteria;o_Sphingobacteriales;f_Chitinophagaceae;g_NA	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;o_Sphingobacteria;o_Sphingobacteriales;f_Chitinophagaceae;g_Parafilimonas	0.9%	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;o_Sphingobacteria;o_Sphingobacteriales;f_Sphingobacteriaceae;g_Mucilagibacter	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chlamydiae;c_Chlamydiae;o_Chlamydiales;f_Parachlamydiaceae;g_Protochlamydia	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chlamydiae;c_Chlamydiae;o_Chlamydiales;f_Simkaniaceae;g_Rhabdochlamydia	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Anaerolineales;f_Anaerolineaceae;g_NA	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Chloroflexia;o_Chloroflexales;f_Roseiflexaceae;g_Roseiflexus	1.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacteriales;f_Ktedonobacteraceae;g_Ktedonobacter	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacteriales;f_Ktedonobacteraceae;g_NA	0.7%	0.2%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacteriales;f_NA;g_NA	3.8%	3.8%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacteriales;f_Thermosporotrichaceae;g_NA	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacteriales;f_Thermosporotrichaceae;g_Thermosporothrix	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_NA;f_NA;g_NA	0.2%	0.7%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA	2.0%	2.7%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA;f_NA;g_bacterium	0.6%	0.3%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Melainabacteria;o_Obscuribacteriales;f_NA;g_NA	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Elusimicrobia;c_Elusimicrobia;o_NA;f_NA;g_NA	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus	3.1%	0.4%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Paenibacillaceae;g_Paenibacillus	0.7%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Domibacillus	0.5%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_NA	0.0%	0.0%

k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococaceae;g_Solibacillus	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Staphylococaceae;g_Staphylococcus	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Thermoactinomycetaceae;g_Geothermomicrobium	0.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Thermoactinomycetaceae;g_Shimazuella	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_Clostridium	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Lachnoclostridium	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_NA;g_NA	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptococaceae;g_Desulfotobacterium-Desulfosporosinus	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptostreptococaceae;g_Paraclostridium-Peptoclostridium	0.5%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococaceae;g_NA	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Negativicutes;o_Selenomonadales;f_Veillonellaceae;g_Sporomusa	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteria;o_Fusobacteriales;f_Leptotrichiaceae;g_Leptotrichia	1.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_Gemmatimonadales;f_Gemmatimonadaceae;g_Gemmatimonas	1.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_Gemmatimonadales;f_Gemmatimonadaceae;g_NA	0.6%	0.6%
k_Bacteria;p_Gracilbacteria;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Latescibacteria;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_NA;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA	0.1%	0.7%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales;f_NA;g_NA	6.0%	2.2%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales;f_Nitrospiraceae;g_Nitrospira	0.2%	0.5%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA	0.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Phycisphaerae;o_NA;f_NA;g_NA	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetacia;o_Planctomycetales;f_Planctomycetaceae;g_Gemmata	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetacia;o_Planctomycetales;f_Planctomycetaceae;g_Isoosphaera	1.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetacia;o_Planctomycetales;f_Planctomycetaceae;g_NA	6.2%	3.6%
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetacia;o_Planctomycetales;f_Planctomycetaceae;g_Planctomyces	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacterales;f_Caulobacteraceae;g_Brevundimonas	0.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacterales;f_Caulobacteraceae;g_NA	0.0%	0.3%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacterales;f_Caulobacteraceae;g_Phenylobacterium	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Beijerinckiaceae;g_Beijerinckia-Methylocella	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Beijerinckiaceae;g_Methylocella	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Beijerinckiaceae;g_Methylovirgula	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Bradyrhizobiaceae;g_Afipia-Bradyrhizobium	0.9%	1.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Bradyrhizobiaceae;g_Bradyrhizobium	1.2%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Bradyrhizobiaceae;g_NA	0.2%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Blastochloris	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_NA	0.8%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Pedomicrobium	0.7%	1.5%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Rhodomicrobium	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Rhodoplanes	0.0%	1.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Methylobacteriaceae;g_Methylobacterium	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_NA;g_Bauldia	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_NA;g_NA	1.7%	2.5%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_NA;g_Rhizomicrobium	0.0%	0.3%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_NA;g_bacterium	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Phyllobacteriaceae;g_Mesorhizobium	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Phyllobacteriaceae;g_Phyllobacterium	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae;g_Ensifer	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhodobiaceae;g_NA	0.5%	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Xanthobacteraceae;g_Labrys	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Xanthobacteraceae;g_NA	0.6%	1.4%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Xanthobacteraceae;g_Pseudolabrys	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Xanthobacteraceae;g_Pseudolabrys-Variibacter	1.3%	3.5%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Xanthobacteraceae;g_Variibacter	2.9%	3.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Aetobacteraceae;g_NA	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_NA;g_NA	5.8%	8.5%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_NA;g_Reyranella	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Rhodospirillaceae;g_Defluviococcus	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Rhodospirillaceae;g_NA	0.0%	0.0%

k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Rhodospirillaceae;g_Skermanella	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae;g_Sphingomonas	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Alcaligenaceae;g_NA	0.0%	0.3%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Burkholderiaceae;g_Burkholderia	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Burkholderiaceae;g_Burkholderia-Burkholderia-Paraburkholderia	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Burkholderiaceae;g_Cypriviadus	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_NA	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Pelomonas	0.1%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Rhizobacter-Variovorax	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Rhodoferax	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Comamonadaceae;g_Variovorax	0.1%	1.8%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Oxalobacteraceae;g_Janthinobacterium	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Burkholderiales;f_Oxalobacteraceae;g_Undibacterium	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_NA;f_NA;g_NA	0.6%	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Nitrosomonadales;f_Nitrosomonadaceae;g_NA	0.7%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfobacterales;f_Nitrospinaeae;g_Enotheonella	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfobacterales;f_Nitrospinaeae;g_NA	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfurellales;f_Desulfurellaceae;g_NA	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Desulfuromonadales;f_Geobacteraceae;g_Geobacter	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_Cystobacteraceae;g_Anaeromyxobacter	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_Haliangiaceae;g_Haliangium	0.0%	0.5%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_NA;g_NA	1.7%	1.5%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_Phaselicystidaceae;g_Phaselicystis	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_Polyangiaceae;g_Byssovorax	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Myxococcales;f_Polyangiaceae;g_Sorangium	0.8%	0.5%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_NA;f_NA;g_NA	4.2%	2.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Syntrophobacterales;f_Syntrophaceae;g_NA	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Legionellales;f_Coxiellaceae;g_Aquicella	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;f_Pseudomonadaceae;g_Pseudomonas	0.5%	1.4%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_NA;g_Acidibacter	0.7%	1.9%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_NA;g_NA	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Xanthomonadaceae;g_Dyella	0.9%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Xanthomonadaceae;g_NA	1.2%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Xanthomonadaceae;g_Rhodanobacter	0.8%	0.0%
k_Bacteria;p_Thermotogae;c_Thermotogae;o_Thermotogales;f_Thermotogaceae;g_NA	0.4%	0.8%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA	0.2%	0.8%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacterales;f_NA;g_NA	3.4%	1.7%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacterales;f_Xiphinematobacteraceae;g_Xiphinematobacter	0.1%	0.4%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacterales;f_Xiphinematobacteraceae;g_Candidatus	0.0%	0.1%

## 1.6 Tabla de composición e identificación procariota a nivel de Especie



Legend	Taxonomy	%	%
	None;Other;Other;Other;Other;Other	2.3%	2.5%
	k_Archaea;p_Thaumarchaeota;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp1564	0.0%	0.1%
	k_Archaea;p_Thaumarchaeota;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp1568	0.0%	0.0%
	k_Archaea;p_Thaumarchaeota;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp1569	0.0%	0.1%
	k_Archaea;p_Thaumarchaeota;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp1580	0.0%	0.0%
	k_Archaea;p_Thaumarchaeota;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp1588	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_Koribacter;s_sp1705	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_Koribacter;s_sp1715	0.0%	0.4%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;g_Edaphobacter;s_aggregans-modestus	0.0%	0.4%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_NA	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1764	0.0%	0.2%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1764-sp1827-sp1872	0.0%	0.6%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1766	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1769-sp1778-sp1834	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1778	0.6%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1782-sp1814	0.0%	0.2%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1784	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1793-sp1864	0.0%	0.3%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1801	0.0%	0.9%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1805	0.0%	0.2%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1808	0.5%	0.2%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1825	0.7%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1827	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1827-sp1872	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1841	0.0%	0.6%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1844	0.0%	1.1%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1844-sp1923	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1854	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1867	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1870	1.3%	3.6%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1872	0.5%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1876	0.3%	0.2%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1878	0.0%	0.2%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1879	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1903	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1911	0.4%	0.7%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1917-sp1932-sp1953	0.0%	0.2%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1917-sp1953	0.7%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1923	0.2%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1926	0.4%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1934	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1938	0.0%	0.3%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_Acidobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp1960	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2604	0.2%	0.1%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2608	0.3%	0.2%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2628	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2631	0.0%	0.3%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2631-usitatus	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2634	0.0%	0.4%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2634-sp2693	0.0%	1.2%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2636	0.0%	0.3%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2651-sp2658-sp2703	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2668	0.0%	0.2%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2668-sp2704	0.0%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2671	0.0%	0.6%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2675	0.3%	0.0%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2675-sp2693	0.0%	0.4%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2677	0.0%	0.7%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2688-sp2695	0.0%	0.1%
	k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_Solibacter;s_sp2695	0.0%	0.2%





k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_Gaiellales;g_Gaiella;s_sp10796	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10830	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10830-sp10861-sp10906	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10855	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10856-sp10899	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10861-sp10887	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10900	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10906	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10915	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10933	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10937	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10939	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10943-sp10951	0.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10948	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Solirubrobacterales;f_NA;g_NA;s_sp11120	0.0%	0.4%
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophila;o_Solirubrobacterales;f_NA;g_NA;s_sp11133	0.8%	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacteria;o_Sphingobacterales;f_Chitinophagaceae;g_NA;s_sp18454-sp18499	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacteria;o_Sphingobacterales;f_Chitinophagaceae;g_NA;s_sp18456-sp18578	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacteria;o_Sphingobacterales;f_Chitinophagaceae;g_Parafilimonas;s_terrae	0.9%	0.0%
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacteria;o_Sphingobacterales;f_Sphingobacteriaceae;g_Mucilaginibacter;s_kameinonensis	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chlamydiae;c_Chlamydiae;f_Parachlamydiae;g_Protochlamydia;s_sp19939	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chlamydiae;c_Chlamydiae;f_Simkaniaceae;g_Rhaddochlamydia;s_sp19953	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Anaerolineae;o_Anaerolineales;f_Anaerolineaceae;g_NA;s_sp20745	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Chloroflexia;o_Chloroflexales;f_Roseiflexaceae;g_Roseiflexus;s_sp21172	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Chloroflexia;o_Chloroflexales;f_Roseiflexaceae;g_Roseiflexus;s_sp21177	0.9%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_Roseiflexaceae;g_Roseiflexus;s_sp21206	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_Ktedonobacteraceae;g_Ktedonobacter;s_sp21585	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_Ktedonobacteraceae;g_NA;s_sp21591	0.3%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_Ktedonobacteraceae;g_NA;s_sp21596	0.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_Ktedonobacteraceae;g_NA;s_sp21599	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_Ktedonobacteraceae;g_NA;s_sp21601	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21529	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21532	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21534	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21534-sp21535	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21535	0.0%	1.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21535-sp21536	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21536	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21537	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21538	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21549	0.4%	0.4%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21550	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21555	0.4%	0.8%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21556	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21557	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21563	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21563-sp21567	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21564	1.9%	0.3%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21564-sp21565	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21565	0.5%	0.2%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21566	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21567	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_NA;g_NA;s_sp21572	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_Thermosporotrichaceae;g_NA;s_sp21574-sp21605	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_Thermosporotrichaceae;g_NA;s_sp21605	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_Ktedonobacterales;f_Thermosporotrichaceae;g_Thermosporotrix;s_sp21604	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21497	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21498	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21514	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21515	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21517	0.2%	0.4%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21518	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21519	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Ktedonobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21520	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21452	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21461	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21465	0.9%	1.4%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21465-sp21466	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21472	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21474	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21475	0.0%	0.1%

k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp21476	0.0%	0.7%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp21477	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp21481-sp21491-sp21493	0.1%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp21484	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp21786	0.6%	0.3%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp21793	0.4%	0.1%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp21881	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA:f_NA:g_bacterium:s_sp24785	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA:f_NA:g_bacterium:s_sp24785-sp24786	0.0%	0.3%
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Melainabacteria;o_Obscuribacteriales:f_NA:g_NA:s_sp23766	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Elusimicrobia;c_Elusimicrobia;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp24265	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_NA	0.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_acidiceler-luciferensis	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_acidicola	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_cereus-mycoides	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_cereus-pseudomycooides-toyonensis	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_circulans-nealsonii-sp25935	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_foraminis	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_jeotgali-nealsonii-niabensis	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_jeotgali-niacini	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_luciferensis	0.7%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_mycoides	0.1%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_nealsonii-sp25935	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_niabensis	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_niacini	0.5%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_niacini-soil	1.5%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_sp25907	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Bacillaceae:g_Bacillus:s_thermoamylovorans	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Paenibacillaceae:g_Paenibacillus:s_NA	0.5%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Paenibacillaceae:g_Paenibacillus:s_cellulostrophicus	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Paenibacillaceae:g_Paenibacillus:s_gansuensis	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Paenibacillaceae:g_Paenibacillus:s_sacheonensis-sp27142	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Paenibacillaceae:g_Paenibacillus:s_sp27268	0.2%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Planococcaceae:g_Domibacillus:s_encensis	0.5%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Planococcaceae:g_NA:s_sp27607	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Planococcaceae:g_Solibacillus:s_silvestris	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Planococcaceae:g_Solibacillus:s_silvestris-sp27608-sp27609	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Staphylococcaceae:g_Staphylococcus:s_epidermidis-hominis	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Thermoactinomycetaceae:g_Geothermomicrobium:s_sp28075-terrae	0.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales:f_Thermoactinomycetaceae:g_Shimazuella:s_sp28059	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales:f_Clostridiaceae:g_Clostridium:s_beiierinckii-diolis-saccharoperbutylacetonicum	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales:f_Clostridiaceae:g_Clostridium:s_magnum	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales:f_Lachnospiraceae:g_Lachnoclostridium:s_sp32389-sp32434	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales:f_NA:g_NA:s_sp30508	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales:f_NA:g_NA:s_sp30568	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales:f_Peptococcaceae:g_Desulfotobacterium-Desulfosporosinus:s_sp33875-sp33923	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales:f_Peptostreptococcaceae:g_Paraclostridium-Peptoclostridium:s_bifermentans-difficile	0.5%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales:f_Ruminococcaceae:g_NA:s_sp34681-sp34694	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Negativitices;o_Selenomonadales:f_Veillonellaceae:g_Sporomusa:s_acidovorans	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Fusobacteria;c_Fusobacteriales:f_Leptotrichiaceae:g_Leptotrichia:s_sp37520	1.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_Gemmatimonadales:f_Gemmatimonadaceae:g_Gemmatimonas:s_sp37832	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_Gemmatimonadales:f_Gemmatimonadaceae:g_Gemmatimonas:s_sp37873	1.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_Gemmatimonadales:f_Gemmatimonadaceae:g_NA:s_sp37863	0.0%	0.3%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_Gemmatimonadales:f_Gemmatimonadaceae:g_NA:s_sp37901	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_Gemmatimonadales:f_Gemmatimonadaceae:g_NA:s_sp37917	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_Gemmatimonadales:f_Gemmatimonadaceae:g_NA:s_sp37924	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_Gemmatimonadales:f_Gemmatimonadaceae:g_NA:s_sp37954	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_Gemmatimonadales:f_Gemmatimonadaceae:g_NA:s_sp38010	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Gracilibacteria;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp38180-sp38185	0.4%	0.0%
k_Bacteria;p_Latescibacteria;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp38557	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Latescibacteria;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp38557-sp38686	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Latescibacteria;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp38571	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Latescibacteria;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp38703	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_NA;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_NA	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_NA;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp67320	0.1%	0.0%
k_Bacteria;p_NA;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp69487	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_NA;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp69487-sp69489	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_NA;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp69491	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_NA;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp69497	0.0%	0.3%
k_Bacteria;p_NA;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp69498	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39578	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39579	0.8%	0.0%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39584	0.1%	0.1%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39591	0.5%	0.0%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39599	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39600	0.0%	0.8%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39600-sp39627	0.2%	0.5%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39601	0.3%	0.1%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39604	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39608	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39613	0.9%	0.2%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39618	0.9%	0.1%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39619	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39621	0.1%	0.0%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39622	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39627	0.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39628	1.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39629	0.9%	0.1%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_NA:g_NA:s_sp39908	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_Nitrospiraceae:g_Nitrospira:s_sp39710	0.1%	0.0%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_Nitrospiraceae:g_Nitrospira:s_sp39716	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Nitrospirae;c_Nitrospira;o_Nitrospirales:f_Nitrospiraceae:g_Nitrospira:s_sp39766	0.1%	0.5%
k_Bacteria;p_Plancotmycetes;c_NA;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp40406	0.3%	0.0%
k_Bacteria;p_Plancotmycetes;c_Phycisphaerae;o_NA:f_NA:g_NA:s_sp41153	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Plancotmycetes;c_Plancotmycetacia;o_Plancotmycetales:f_Plancotmycetaceae:g_Gemmata:s_sp41492	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Plancotmycetes;c_Plancotmycetacia;o_Plancotmycetales:f_Plancotmycetaceae:g_Gemmata:s_sp41500	0.0%	0.0%





k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp54611	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp54674	0.6%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp54682	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp54727	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp54744	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp54835	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp54844	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Deltaproteobacteria;o_Syntrophobacteriales;f_Syntrophaceae;g_NA;s_sp55100	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Legionellales;f_Coxiellaceae;g_Aquicella;s_siphonis	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;f_Pseudomonadales;g_Pseudomonas;s_azotoformans-fluorescens-synxantha	0.0%	1.4%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;f_Pseudomonadales;g_Pseudomonas;s_chlororaphis	0.5%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_NA;g_Acidibacter;s_NA	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_NA;g_Acidibacter;s_sp65539	0.0%	0.9%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_NA;g_Acidibacter;s_sp65539-sp65539-sp65606	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_NA;g_Acidibacter;s_sp65539-sp65540	0.7%	0.5%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_NA;g_Acidibacter;s_sp65541	0.0%	0.4%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_NA;g_NA;s_sp65599	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_NA;g_NA;s_sp65606	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Xanthomonadaceae;g_Dyella;s_kyungheensis	0.9%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Xanthomonadaceae;g_NA;s_sp65520	1.2%	0.0%
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Xanthomonadaceae;g_Rhodanobacter;s_sp65238	0.8%	0.0%
k_Bacteria;p_Thermotogae;c_Thermotogae;o_Thermotogales;f_Thermotogaceae;g_NA;s_sp68414	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Thermotogae;c_Thermotogae;o_Thermotogales;f_Thermotogaceae;g_NA;s_sp68420	0.4%	0.7%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp68522	0.2%	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp68540	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp68561	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp68561-sp68586-sp68705	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp68644	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp68701-sp68791	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp68705	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp68782	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp68791	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_bacterium	0.9%	0.2%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69112-sp69172	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69120	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69124	1.2%	0.1%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69133	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69154	0.0%	0.2%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69154-sp69177	0.2%	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69155	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69161	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69167	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69169	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69170	0.0%	0.1%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69172	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69177	0.0%	0.3%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_NA;g_NA;s_sp69179	1.1%	0.3%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_Xiphinematobacteraceae;g_Xiphinematobacter;s_sp69221	0.1%	0.4%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_Xiphinematobacteraceae;g_Xiphinematobacter;s_sp69223	0.0%	0.0%
k_Bacteria;p_Verrucomicrobia;c_Spartobacteria;o_Chthoniobacteriales;f_Xiphinematobacteraceae;g_Candidatus;s_sp69225	0.0%	0.1%