



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD ZACATENCO

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA

**Efecto de estrés hídrico sobre el crecimiento, las comunidades
microbianas y contenido fenólico en cultivos de *Ricinus communis* L.**

Tesis que presenta:

Stephanie Elizabeth Hereira Pacheco

Para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

EN LA ESPECIALIDAD DE BIOTECNOLOGÍA

Directores de tesis:

Dr. Luc Dendooven – DBB CINVESTAV.

Dra. Yendi Navarro Noya – Centro Tlaxcala de Biología de la

Conducta, UATx

Ciudad de México.

Noviembre de 2020.

Agradecimientos

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada con el número de registro 298965 durante el período de enero de 2016 a diciembre de 2019 para la realización de mis estudios de Doctorado y el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A mis directores de Tesis, Dr. Luc Dendooven y Dra. Yendi Navarro Noya, por su apoyo, su asesoría, recomendaciones y su motivación para la realización y culminación de este proyecto.

A mis asesores, Dr. Víctor Manuel Ruíz Valdiviezo, Dr. Federico Antonio Gutiérrez Miceli, Dr. Frederic Thalasso y Dr. Rodolfo Marsch Moreno, por su asesoría y disposición durante el desarrollo del presente trabajo.

Al Dr. Marco Luna, Aux. Tec. Blanca Ramírez por su apoyo técnico durante el desarrollo de este estudio y sus consejos sabios.

A todos mi amigos y compañeros de Laboratorio por su ayuda, consejos, asesoría, quienes se convirtieron en mi familia presente y por dejarme ser parte de sus vidas en este hermoso país.

Dedicatoria

A Dios por iluminar mi camino en todo momento y hacerme posible llegar hasta aquí.

A Néstor y Clara Gaspar por su amor infinito y por ser parte de mi vida, sin ustedes, nada de esto tendría sentido alguno.

A mis ángeles en el cielo, que no pudieron llegar a ver el final de esta etapa, mi abuela Isabel de la Hoz y mi papá Arturo Hereira. Gracias por tantos años de apoyo y por tanto amor.

A mi mamá Arelys Pacheco de la Hoz, por su apoyo incondicional, su amor y por su gran ayuda en cada momento de mi vida.

A mis hermanos Osmany y Julio Hereira, mis sobrinos Daniel y Daniella Cabarcas, Abigail y Benjamín Hereira, por su apoyo, motivación y por su comprensión en esta lejanía, porque han seguido creciendo en mi ausencia y esa grandeza es mi motivación para seguir en este camino.

Contenido

Resumen.....	8
Abstract.....	9
1. INTRODUCCIÓN.....	10
1.1. <i>Ricinus communis</i> L.....	10
1.1.1. Descripción botánica	10
1.1.2. Usos biotecnológicos de <i>Ricinus communis</i> L.....	11
1.1.3. Distribución de <i>Ricinus communis</i> L.....	12
1.2. Tipos de estrés	13
1.2.1. Estrés hídrico o por sequía.....	13
1.2.2. Métodos de supervivencia al estrés.	14
1.3. Comunidades microbianas asociadas a las plantas	15
1.3.1. Comunidades microbianas rizosféricas	15
1.3.2. Microbiota endofítica	16
1.3.3. Hongos micorrícicos arbusculares.....	18
1.4. Fitoquímicos en <i>Ricinus communis</i> L.....	19
2. JUSTIFICACIÓN	20
3. OBJETIVOS	20
3.1. Objetivo general.....	20
3.2. Objetivos específicos	20
4. MATERIALES Y MÉTODOS	21
4.1. Estrategia Experimental.....	21
4.2. Muestreo de suelo y semillas.....	22
4.3. Ensayo de germinación de semillas.....	22
4.4. Caracterización fisicoquímica del suelo.	25
4.5. Experimento de estrés hídrico.	26
4.6. Muestreo de suelos y plantas.	29
4.7. Extracción de ADN y amplificación por PCR de genes ribosomales.....	29
4.7.1. Extracción de ADN de suelos.....	29
4.7.2. Extracción de ADN de semillas y raíces de <i>Ricinus communis</i> L.....	30
4.7.3. Amplificación del gen 16S rRNA específico de bacterias y 18S rRNA para eucariontes microscópicos.	31

4.8. Observación de estructuras fúngicas y determinación de porcentaje de colonización de micorrizas.....	32
4.9. Determinación del contenido fenólico.....	33
4.9.1. Extractos de plantas.....	33
4.9.2. Contenido fenólico.....	33
4.10. Análisis bioinformático y manejo de secuencias.....	33
4.11. Análisis estadísticos de los resultados.....	34
5. RESULTADOS.....	36
5.1. Caracterización fisicoquímica del suelo.....	36
5.2. Caracterización morfológica de las plantas durante el experimento de estrés hídrico.....	36
5.3. Observación de estructuras fúngicas, determinación de porcentaje de colonización de micorrizas y contenido fenólico.....	39
5.4. Extracción de ADN y amplificaciones.....	42
5.5. Diversidad alfa de las comunidades microbianas.....	43
5.6. Efecto de los compartimentos sobre la estructura de la comunidad bacteriana.....	47
5.7. Efecto de los regímenes de riego sobre la estructura de la comunidad bacteriana.....	58
5.8. Efecto de los comportamientos sobre la estructura de la comunidad eucariótica.....	63
5.9. Efecto de los regímenes de riego sobre la estructura de las comunidades eucarióticas.....	69
6. DISCUSIÓN.....	72
6.1. Desarrollo de la planta.....	72
6.2. Efecto de la sequía en la interacción ricino-micorriza, características morfológicas y contenido fenólico.....	73
6.3. Diversidad alfa.....	74
6.4. Efecto del contenido de los compartimentos sobre las comunidades microbianas.....	75
6.5. Efecto de los regímenes de riego sobre la estructura de las comunidades microbianas.....	80
7. CONCLUSIONES.....	83
8. RECOMENDACIONES.....	84
BIBLIOGRAFÍA.....	85

Listado de figuras

Figura 1. Diagrama general del experimento	21
Figura 2. Ensayo de germinación de semillas de ricino	23
Figura 3. Desarrollo de plántulas y transplante	27
Figura 4. Tiempos de muestreo y la dinámica de agua y regímenes de riego.	28
Figura 5. Diagrama de trabajo de extracciones de ADN de suelo.....	30
Figura 6. Órganos aéreos y raíces de <i>Ricinus communis</i> L. a los 6 meses de crecimiento	38
Figura 7. Estructuras fúngicas observadas en raíces de <i>Ricinus communis</i> L.	39
Figura 8. Micorrizas y contenido fenólico en raíces y hojas de <i>Ricinus communis</i> L.	41
Figura 9. Geles de agarosa de extracciones y amplificaciones.....	42
Figura 10. Curva de rarefacción de 16S	44
Figura 11. Curva de rarefacción de 18S	45
Figura 12. Heatmap de las abundancias relativas (%) a nivel de filo bacteriano.	50
Figura 13. Heatmap abundancia relativa (%) a nivel de género bacteriano.....	51
Figura 14. Heatmap de la razón de cambio relativo de los suelos sin cultivar en comparación con los diferentes compartimentos a nivel de filo.	53
Figura 15. Heatmap de la razón de cambio relativo de los suelos sin cultivar en comparación con los diferentes compartimentos a nivel de género.....	54
Figura 16. Análisis de componentes principales con las OTUs en el suelo, en la rizósfera y en las raíces de <i>Ricinus communis</i> L.	55
Figura 17. Análisis de componentes principales con los géneros bacterianos en el suelo, en la rizósfera y en las raíces de <i>Ricinus communis</i> L.	56
Figura 18. Heatmap de la razón de cambio relativo de los suelos Control en comparación con los tratamientos de Sequía y Sequía severa nivel de filo.....	60
Figura 19. Heatmap de la razón de cambio relativo de los suelos Control en comparación con los tratamientos de Sequía y Sequía severa nivel de género.....	61
Figura 20. Análisis de componentes principales con los géneros bacterianos en el suelo, en la rizósfera y en las raíces de <i>Ricinus communis</i> L.	62
Figura 21. Abundancias relativas de grupos de eucariontes en el suelo, en la rizósfera y en las raíces de <i>Ricinus communis</i> L.	65
Figura 22. Heatmap de la razón de cambio relativo de los suelos Sin cultivar en comparación con los otros compartimentos a nivel de género eucariótico.	67

Figura 23. Análisis de componentes principales con los OTUs y géneros eucarióticos en el suelo, en la rizósfera y en las raíces de <i>Ricinus communis</i> L.	68
Figura 24. Heatmap de la razón de cambio relativo de los tratamientos Control en comparación con los tratamientos de Sequía y Sequía severa a nivel de género eucariótico.....	71

Listado de tablas

Tabla 1. Clasificación científica taxonómica de <i>Ricinus communis</i> L.	11
Tabla 2. Solución de micronutrientes para la germinación de las semillas.	24
Tabla 3. Solución de macronutrientes para germinación de las semillas.....	24
Tabla 4. Métodos para la caracterización fisicoquímica del suelo.....	25
Tabla 5. Descripción de los tratamientos del experimento de estrés hídrico.	27
Tabla 6. Características morfológicas de las plantas de <i>Ricinus communis</i> L.	37
Tabla 7. Efecto de los tratamientos y compartimentos sobre los índices de diversidad alfa de bacterias.....	46
Tabla 8. Efecto de los tiempos de muestreo y compartimento sobre los índices de diversidad alfa de bacterias.	46
Tabla 9. Efecto de los tratamientos y compartimento sobre los índices diversidad alfa de eucariontes.....	47
Tabla 10. Efecto de los compartimentos sobre las comunidades bacterianas en los tratamientos.	52
Tabla 11. Efecto de los compartimentos y tiempo sobre la estructura de las comunidades bacterianas.	57
Tabla 12. Grupos bacterianos diferencialmente abundantes entre diferentes regímenes de riego en el suelo, en la rizófera y en las raíces de <i>Ricinus communis</i> L.	59
Tabla 13. Efecto de los regímenes de riego (RR) en los tiempos de muestreo y sus interacciones sobre las comunidades bacterianas (perMANOVA).....	63
Tabla 14. Efecto de los compartimentos y los regímenes de riego sobre la estructura de las comunidades eucarióticas fúngicas y no fúngicas.....	66
Tabla 15. Grupos eucarióticos diferencialmente abundantes por efecto de los compartimentos en los tratamientos	66
Tabla 16. Efecto de los regímenes de riego sobre la estructura de las comunidades eucarióticas fúngicas y no fúngicas.....	69
Tabla 17. Géneros eucarióticos diferencialmente abundantes entre los tratamientos Control, Sequía y Sequía severa.	70

Resumen

En los últimos años se ha incrementado el interés por el estudio de plantas con capacidad de adaptación a condiciones adversas, en especial aquellas que tienen un interés comercial. *Ricinus communis* L. es una planta de uso extensivo y cultivada para la producción del aceite de ricino y estudiada por su capacidad para crecer en condiciones adversas o diferentes tipos de estrés de tipo abiótico como lo son sequía y metales pesados. Por lo que el propósito de este trabajo fue estudiar el efecto del estrés hídrico o sequía sobre el crecimiento, comunidades microbianas en la rizósfera y la raíz y el contenido fenólico en plantas de ricino.

Las plantas se cultivaron en invernadero bajo tres diferentes regímenes de riego, y se muestrearon a los 0, 2, 4 y 6 meses. A los 6 meses de aplicar los diferentes tratamientos a las plantas se encontró que las comunidades bacterianas en la rizósfera fueron similares a las encontradas al inicio de experimento y la comunidad bacteriana de las raíces fue similar a la de las semillas independientemente de los regímenes de riego. Se observó también que los regímenes de riego aplicados tuvieron un efecto limitado en la comunidad bacteriana pero la planta y el tiempo se encontraron como factores determinantes de su composición.

En el caso de las poblaciones eucarióticas después de 2 meses de aplicados los tratamientos se encontraron diferencias entre el microbioma de las raíces en comparación con los otros compartimentos. Se observó un efecto de los regímenes de riego en las raíces sobre las comunidades de eucariontes microscópicos.

Abstract

In the last few years, the interest in the study of plants with ability to tolerate adverse conditions have been increasing, especially the ones with commercial purposes. *Ricinus communis* L. is a plant with extensive use and cultivated to obtain castor oil, besides being studied for its ability to grow in stress like abiotic such as drought and heavy metals presence. Due to, the aim of this study was to study the effect of drought on growth, microbial populations in the rhizosphere and roots, and phenolic content of castor bean.

Plants were grown in greenhouse conditions under three different water regimes, sampling at the onset of the experiment and at 2, 4 and 6 months. After 6 months, it was found that bacterial populations in the Rhizosphere were similar to the ones at the onset of the experiment and the ones of the Roots were similar to the ones of the seeds independently of the water regimes. Also, the water regimes had a limited effect on bacterial community, but plant and time were found to be the main factors of its composition.

In the case of eukaryotic populations after 2 months of applying treatments, differences were found between root microbiome compared to the other compartments. An effect of water regimes was observed in roots microscopic eukaryotic communities.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. *Ricinus communis* L.

Ricinus communis L. es una planta perteneciente a la familia Euphorbiaceae. Es un arbusto anual y perenne encontrado principalmente en África y en el sureste de Asia; es ampliamente cultivado en los trópicos y subtropicos para la obtención de su aceite debido a que es un cultivo oleaginoso. Existe controversia sobre el origen de esta planta pues se ha referido que es Egipto, África, el Sureste de Asia o India. En español se le conoce con varios nombres como higuera, tártago, higuera del infierno, ricino y palma de cristo; en inglés, *castor oil plant* y *castor bean* (Singh et al., 2009).

1.1.1. Descripción botánica

Ricinus communis es una planta de rápido crecimiento, en países cálidos la planta es perenne y puede crecer hasta 9 y 10 m de altura, en otras regiones puede alcanzar sólo de 4 a 5 m (Scarpa & Guerci, 1982). Sus raíces son fibrosas, profundas y constituyen el anclaje principal de la planta, presenta raíces secundarias y terciarias que se encuentran poco profundas. El tronco es recto con hojas alternas, pecioladas, divididas en siete o nueve lóbulos. Las flores surgen en la parte superior y se marchitan después de ceder su polen. Los frutos también se encuentran en la parte superior y están formados por tres compartimentos que se separan al madurar; cada uno contiene una semilla que es como un grano que contiene el 50% del aceite, ésta semilla es ovalada de 8-18 mm de largo y de 4-12 mm de ancho. La semilla contiene toxinas como la ricina y la ricenina, además de contener ácido ricinoleico (Jena & Gupta, 2012). Su clasificación taxonómica se encuentra detallada en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación científica taxonómica de *Ricinus communis* L

Clasificación Científica	
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Tracheobionta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Malpighiales</i>
Familia	<i>Euphorbiaceae</i>
Subfamilia	<i>Acalyphoideae</i>
Tribu	<i>Acalypheae</i>
Género	<i>Ricinus</i>
Especie	<i>Ricinus communis</i> L.

1.1.2. Usos biotecnológicos de *Ricinus communis*

Ricinus communis se cultiva en todo el mundo por el uso tradicional de su aceite con propiedades laxantes, y hoy día se le reconocen otras actividades biológicas como hepatoprotectora, insecticida, anticonceptiva, antioxidante, antidiabética, antiinflamatoria, entre otras (Jena & Gupta, 2012). La presencia de fitoquímicos con actividades farmacológicas demuestra que la planta de ricino tiene cierto potencial en el desarrollo de nuevas medicinas (Jena & Gupta, 2012). El aceite se usa en la industria de barnices y pinturas, manufactura de productos como fibras de nylon, fluidos hidráulicos, fibras ópticas, lubricantes y plástico (Sujatha et al., 2008). También, se ha demostrado que ricino es capaz de sintetizar algunos compuestos de origen fenólico como la quercetina, y flavonoides con acción microbiciada y plaguicida (Upasani et al., 2003). La planta de ricino es ampliamente estudiada por su potencial

fitoremediador debido a su tolerancia para crecer en suelos altamente contaminados. Se ha reportado como una planta que crece en condiciones adversas como sequía y en años recientes se ha vuelto atractiva como planta con semilla oleaginosa no alimentaria para la producción de biodiesel (Ruiz Olivares et al., 2013).

1.1.3. Distribución de *Ricinus communis*

1.1.3.1. Regiones de cultivo

Ricinus communis se desarrolla de manera excelente en zonas cálidas tales como los trópicos y subtrópicos. Sin embargo, se adapta bien a una gran variedad de temperaturas y condiciones. Puede cultivarse desde el nivel del mar hasta 2,400 msnm. Se ha definido que la temperatura media superior a 20°C durante su ciclo, dependiendo de las variaciones de estas temperaturas puede variar la producción de la semilla. En temperaturas bajas (<20°C) se reduce la tasa de crecimiento de la semilla y en temperaturas altas (>35°C) se ve comprometida la germinación y el establecimiento de las plántulas (Ribeiro et al., 2015; Patanè et al., 2019). Los países con mayor producción de ricino son India, China, y Brasil. Los países que más lo importan son E.E.U.U. y Japón. India es el líder de producción de ricino (Sujatha et al., 2008).

1.1.3.2. Mercado nacional de *Ricinus communis*

Actualmente, se reporta un total de 1,818 Ton producidas en 2,157 ha sembradas en Sonora y Sinaloa (SIAP, 2015). Sin embargo, los resultados de un estudio del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) realizados con

el fin de evaluar el potencial productivo de ricino en México, i.e. considerando requerimientos agroecológicos de temperatura (15-30°C), precipitación anual (400-1000 mm), textura de suelo, uso de suelo, entre otros factores, arrojó que la superficie para el cultivo con potencial alto es de 3.940.991 ha (Rico Ponce et al., 2011).

1.2. Tipos de estrés

Las plantas usualmente crecen en ambientes donde están expuestas a diferentes factores de estrés bióticos o abióticos. Los factores bióticos pueden incluir la acción de patógenos como hongos, bacterias, virus, nematodos e insectos que pueden causar pérdidas de alrededor del 10-20% de las cosechas globales. Factores abióticos como la sequía, inundación, salinidad, pocos o baja disponibilidad de nutrientes, entre otros, reducen los rendimientos de cosecha mundiales en un 50% (Nicot et al., 2005; Kirkham, 2014).

Cada tipo de estrés suscita en la planta una respuesta compleja, tanto a nivel celular como molecular, de manera que se pueda prevenir el daño y asegurar su supervivencia, aunque a menudo en detrimento del crecimiento y rendimiento (Atkinson & Urwin, 2012). Por ejemplo, ricino produce metabolitos secundarios de origen fenólico reconocidos por reducir el daño celular por la absorción de la radiación UV-B (Hounsome et al., 2008).

1.2.1. Estrés hídrico o por sequía

El mayor factor limitante para el crecimiento de las plantas y rendimiento de las cosechas es el agua. Un estudio realizado en E.E.U.U. para definir los principales

factores que causaron pérdidas de cosechas por un período de cuatro décadas concluyó que alrededor del 40.8% fueron provocadas por sequía o falta de agua, el 16.4% por exceso de agua, y solo el 7.2% por insectos y enfermedades (Boyer, 1982). Así, las principales causas de la pérdida de productividad están relacionadas con que el suelo esté muy seco o húmedo. La sequía en los suelos además de afectar la supervivencia y productividad de las plantaciones tiene otros efectos importantes, como la acumulación de osmolitos y cambios morfológicos en las plantas sometidas a este estrés (Schurr et al., 2000).

1.2.2. Métodos de supervivencia al estrés.

El agua es el factor más importante para la actividad de las plantas. La falta de agua genera un estrés que actúa sobre las plantas produciendo dos tipos de respuestas o estrategias: respuestas que tienden a evitar o prevenir el estrés y mecanismos que permitan soportar o resistir el estrés. Estas respuestas son características de cada especie (Larcher, 2003).

Las especies evitadoras de la sequía son especies "homeohídricas o reguladoras", mientras que las especies tolerantes son "conformistas". En la estrategia evitadora las plantas previenen o minimizan la penetración del estrés a los tejidos, maximizando la absorción de agua (sistemas radicales profundos) o minimizando las pérdidas de agua (cierre de estomas hojas pequeñas y bajas tasas de transpiración) (Valladares et al., 2004). Otra estrategia es la elusiva o de escape, que es aquella donde las plantas completan su ciclo vital antes de la llegada del estrés hídrico y, por lo tanto, el período desfavorable lo pasan en forma de semilla, esto es propio de los terófitos. También, se

incluyen esas especies que entran en una dormancia vegetativa parcial durante la sequía como las jaras o las gramíneas rizomatoas (Valladares et al., 2004).

Es difícil saber dónde está límite de intensidad de sequía que puede soportar una especie en concreto. Es decir, cuál es su límite de resiliencia o capacidad para recuperarse de la perturbación que supone un déficit hídrico inesperado (Serrato et al., 2008). Estudios relacionados con cómo la planta sobrevive al estrés son de gran importancia debido a los recientes escenarios que sugieren un descenso en las precipitaciones o lluvias en muchas regiones del planeta que podrían afectar la agricultura (Dai, 2011). Estos cambios en el contenido de agua no sólo afectarán a las plantas, sino también a las poblaciones microbianas del suelo y cómo los microorganismos interactúan con las plantas y viceversa (Bouskill et al., 2013).

1.3. Comunidades microbianas asociadas a las plantas

1.3.1. Comunidades microbianas rizosféricas

Hiltner (1904) definió a la rizósfera como el volumen de suelo influenciado por la presencia de raíces de una planta viva, cuya extensión puede variar de acuerdo con el tipo de suelo, la especie de planta, su edad y otros factores. En la rizósfera la interacción entre los microorganismos y las raíces de las plantas puede ser beneficiosa, en este caso se puede considerar la rizósfera como una zona de amortiguación microbiológica en donde la microbiota sirve de protección a la planta frente al ataque de patógenos y de otros tipos de estrés (Schroth et al., 1979). La concentración de bacterias por gramo de suelo presente en la rizósfera es mucho mayor que en el resto del suelo esto debido a los altos niveles de nutrientes que se

hayan en la zona que rodea a las raíces que permiten el desarrollo de poblaciones microbianas (Glick, 1995).

Los microorganismos en la rizósfera afectan el desarrollo de la planta de directa o indirectamente y éstas a su vez pueden afectar a la planta (Bonfante & Anca, 2009; Geddes et al., 2019). La mayoría de los microorganismos en la rizósfera usan los exudados de las raíces como sustratos de C, quienes, a su vez, compiten con las plantas por nutrientes esenciales como N inorgánico y P, mientras que otros mineralizan la materia orgánica del suelo liberando nutrientes a las plantas. Algunos microorganismos, a su vez, ayudan a las plantas a obtener nutrientes (Thirkell et al., 2019) y estimulan la resistencia contra patógenos (Nair et al., 2020). Se ha encontrado una estrecha relación entre plantas micorrizadas con incrementos en la apertura estomática y la actividad fotosintética, aumentando la conductividad hidráulica de las raíces. Otros microorganismos pueden producir hormonas que estimulan a las plantas o volverse patógenos (Gouda et al., 2018).

1.3.2. Microbiota endofítica

Las poblaciones endofíticas se definen como aquellas que colonizan el tejido interno de las plantas sin mostrar señales externas de infección o efectos negativos en el su hospedero, las plantas, y juegan un papel importante en el crecimiento y desarrollo de la planta, además de conferirle resistencia a factores de estrés bióticos y abióticos (Kandel et al., 2017). Los endófitos pueden entrar a las plantas principalmente a través de las raíces, siendo entonces el órgano que controla la entrada de microorganismos provenientes del suelo de la rizósfera y del rizoplano, también, pueden entrar por las

partes aéreas como flores, tallos hojas y/o estar presentes en las semillas (Frank et al., 2017; Tyc et al., 2019). Aunque el término endófito se usa extensivamente para referirse a bacterias y hongos al interior de las plantas podría extenderse para incluir a eucariontes microscópicos que viven dentro del cuerpo vegetal, siempre y cuando no afecten a las plantas de manera negativa (Gamboa-Gaitán, 2006).

Anteriormente, la mayoría de los estudios se enfocaban en las interacciones de los suelos con plantas a nivel de rizósfera y en menor proporción a estudiar la población endofítica (dentro de la planta), pero esto han cambiado en los años recientes (O'Brien et al., 2018). Los estudios han demostrado que los endófitos además de ofrecer a la planta hospedera características importantes como la resistencia a condiciones de estrés son de gran importancia por su producción de fitohormonas y otros compuestos de interés biotecnológico (Azevedo et al., 2000). La aplicación biotecnológica de los endófitos ha recibido una creciente atención en años recientes pues han mostrado poseer un gran potencial económico en áreas como la agronomía y la medicina. Usándose también como grupo modelo para estudiar aspectos teóricos de la ecología de comunidades y de la interacción planta-microorganismo (Gamboa-Gaitán, 2006).

Las comunidades bacterianas asociadas a las raíces han sido estudiadas ampliamente en muchas plantas en diferentes condiciones (Jin et al., 2014; Fan et al., 2017; Naylor & Coleman-Derr, 2018). De manera contrastante, las comunidades eucarióticas han sido menos estudiadas (Kusari et al., 2014; Santonja et al., 2018). En general, la colonización por parte de bacterias endofíticas es menos frecuente que en la rizósfera o que las que se comportan como fitopatógenos (Rosenblueth & Martínez-Romero, 2006). Por otro lado, algunos estudios recientes han puesto en evidencia cómo las

comunidades eucarióticas y bacterianas del suelo son afectadas en condiciones de sequía o estrés hídrico (Sun et al., 2017) y a través de los diferentes compartimentos (Coleman-Derr et al., 2016; Santos-Medellín et al., 2017) en varias plantas (Li et al., 2018; Maitra et al., 2019).

En cuanto a ricino se refiere, hay pocos estudios que exploren a las poblaciones microbianas endofíticas y rizosféricas, se han estudiado hongos y bacterias endofíticos cultivables con propiedades importantes en la mejora en condiciones de estrés como sequía, entre otros (Kiran & Prasad, 2017; Chandra et al., 2018; Jain & Sharma, 2020). Entender los factores bióticos y abióticos que definen la composición de la microbiota endofítica y rizosférica de ricino puede ser importante para proponer estrategias para mejorar su productividad y rendimiento.

1.3.3. Hongos micorrízicos arbusculares.

Dentro de los microorganismos que se encuentran asociados a la rizósfera y a las raíces se encuentran los hongos micorrízicos arbusculares. Los hongos micorrízicos desarrollan hifas dentro y fuera de la raíz y utilizan a las esporas como principal estructura de propagación. Se consideran simbiontes biótrofos obligados, es decir, únicamente pueden completar su ciclo de vida al colonizar las raíces de la planta hospedera. Estos biótrofos establecen asociaciones mutualistas con aproximadamente el 80% de las plantas terrestres (Hernández-Morales et al., 2014).

Los hongos micorrízicos forman diversas estructuras cuando colonizan las raíces de una planta que sirven para su identificación. Entre las estructuras se encuentran los micelios, que sirven como medio para el transporte de nutrientes, estos están

constituidos a su vez por hifas, filamentos y septos. Las esporas sirven como medio para la reproducción asexual y supervivencia. Los arbusculos son las estructuras características de la simbiosis pues, dentro de este se realiza el intercambio de nutrientes como el suministro de carbohidratos de la planta al hongo, y la cesión de nutrientes como los iones fosfato desde el hongo a la planta. También pueden encontrarse estructuras denominadas vesículas, las cuales sirven para el almacenamiento de nutrientes (Jaramillo, 2011).

Se ha reportado que en condiciones de salinidad los hongos micorrícicos arbusculares pueden proteger a la planta y estimular su crecimiento mediante un aumento en la tasa fotosintética y la tasa de transpiración (Zhang et al., 2018).

1.4. Fitoquímicos en *Ricinus communis*

En años recientes ha incrementado el estudio de los fitoquímicos en plantas para propósitos farmacéuticos y alimenticios (Øverby et al., 2014). *Ricinus communis* se reporta como una planta que posee muchos beneficios a la salud como actividad antioxidante, anti-inflamatoria, anti-tumoral, anti-diabética, entre otras. Estas propiedades son debido a la presencia de compuestos de origen fenólico tales como quercetina, ácido gálico, campferol, taninos, ácido gentísico, entre otros (Rana et al., 2012). También, contiene fenoles y flavonoides, metabolitos secundarios que le proporcionan a la planta su color, astringencia y fragancia, además de reducir el daño celular por la absorción de radiación UV-B (Hounsome et al., 2008). En el presente trabajo se determinó el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de estos compuestos.

2. JUSTIFICACIÓN

En esta investigación se estudió el efecto de los diferentes regímenes de riego sobre el contenido fitoquímico y la composición microbiana asociada a la rizósfera y las raíces de ricino en diferentes tiempos de desarrollo. La capacidad de ciertas plantas para subsistir a condiciones de estrés hídrico o por sequía es importante para la agricultura, esencialmente en ambientes que han sido afectados por el déficit de agua. Los microorganismos en la rizósfera y endósfera de las plantas pueden jugar un rol importante en su supervivencia bajo estas condiciones de estrés. Por otro lado, el estudiar la concentración de compuestos fenólicos da una idea del daño celular en la planta.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Estudiar el efecto de estrés por hídrico sobre el crecimiento, la morfología, el contenido fenólico y la diversidad y estructura de las comunidades microbianas asociadas a la rizósfera y a la raíz de *Ricinus communis* L.

3.2. Objetivos específicos

- Determinar los cambios morfológicos y químicos en *R. communis* bajo condiciones de estrés hídrico.
- Comparar la diversidad y la composición microbiana endófito y del suelo (rizosférico, no rizosférico y sin cultivar) asociada a *R. communis* por los diferentes regímenes de riego en diferentes tiempos de desarrollo de la planta.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Estrategia Experimental.

En la Figura 1 se ilustra el diagrama general de trabajo. Se explicará a continuación la metodología empleada en cada una de las etapas del diagrama de trabajo.

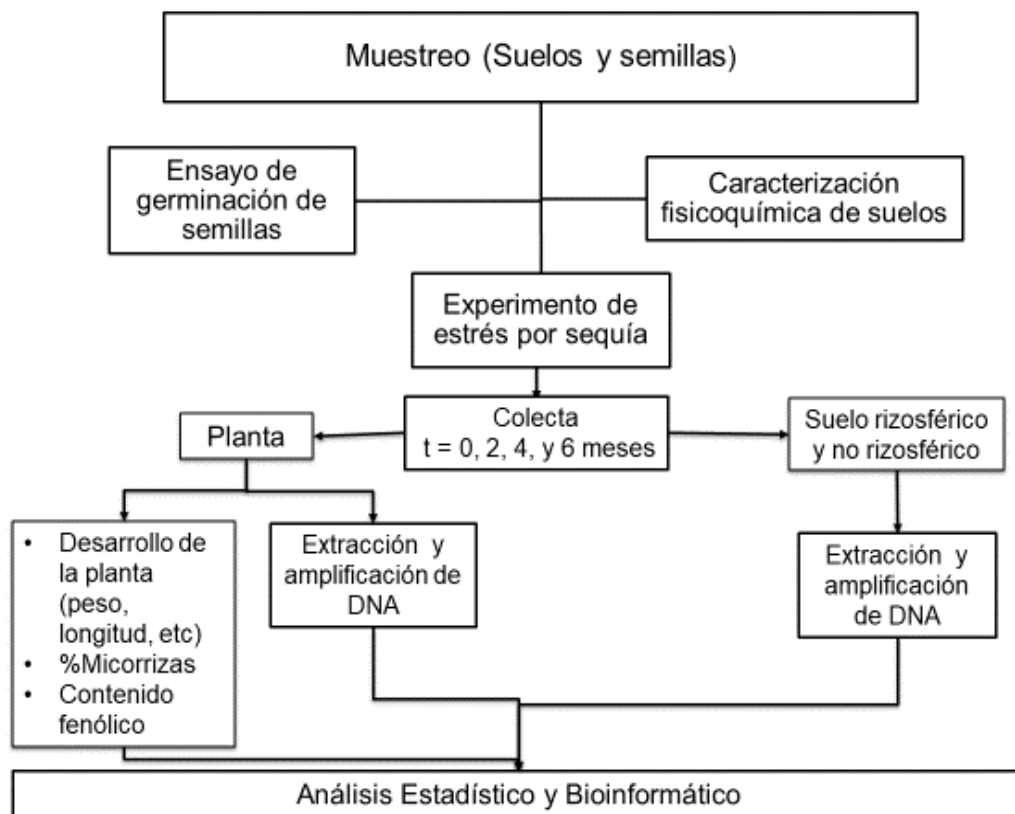


Figura 1. Diagrama general del experimento

4.2. Muestreo de suelo y semillas

El suelo se muestreó en los jardines del Cinvestav- Unidad Zacatenco en la Ciudad de México con una altitud de 2,240 m s.n.m. (19°30'31.1"N 99°07'47.6"W) en febrero del 2016. Se tomaron aproximadamente 300 kg de suelo de tres parcelas con áreas de 400 m². Se removió el pasto y la capa orgánica y se tomó el suelo de las capas de 0-20 cm debido a que es dónde hay mayor actividad biológica. Este suelo se tamizó en una malla de 0.5 cm para retirar raíces y demás material biológico y no biológico del suelo. Una parte de este suelo fue reservado para la caracterización fisicoquímica, otra para la extracción de ADN y con el resto se procedió a rellenar las columnas empleadas para el experimento.

Las semillas fueron colectadas el 01 de marzo del 2016 a orillas del canal de desagüe, que se extiende entre la Avenida Río de los Remedios y la Autopista Naucalpan-Ecatepec, en el Barrio Guadalupe Ticomán, Del. Gustavo A. Madero, Ciudad de México (19°31'09.6"N 99°07'27.9"W). La planta madre (un fenotipo) poseía un aspecto turgente y sin plagas, en general su apariencia era buena. Los racimos de la planta poseían un número indefinido de cápsulas de las cuales se extrajeron manualmente tres semillas de cada una, su aspecto era seco, pero sin daños que comprometieran a las cápsulas. La coloración de las semillas fue marrón con manchones en una tonalidad más oscura. Sus dimensiones promedio fueron de 1.26 cm de largo por 0.79 cm de ancho. En total se recolectaron alrededor de 3,450 semillas de las cuales se seleccionaron aleatoriamente 244 para extraerles el ADN en tres ensayos de 88 cada uno, mientras que las restantes se reservaron para su germinación.

4.3. Ensayo de germinación de semillas

Se desinfectaron las semillas con una solución de hipoclorito de sodio al 1% por 15 min y 5 lavados con agua destilada para retirar el exceso de la solución de hipoclorito de sodio (Janmohammadi et al., 2012). Se realizaron ensayos de germinación en agar agua y en vermiculita para determinar una técnica con el mejor rendimiento (Fig. 2). La germinación en agar agua (Sakuth et al., 1993) se realizó durante 6 días a temperatura ambiente y en oscuridad.

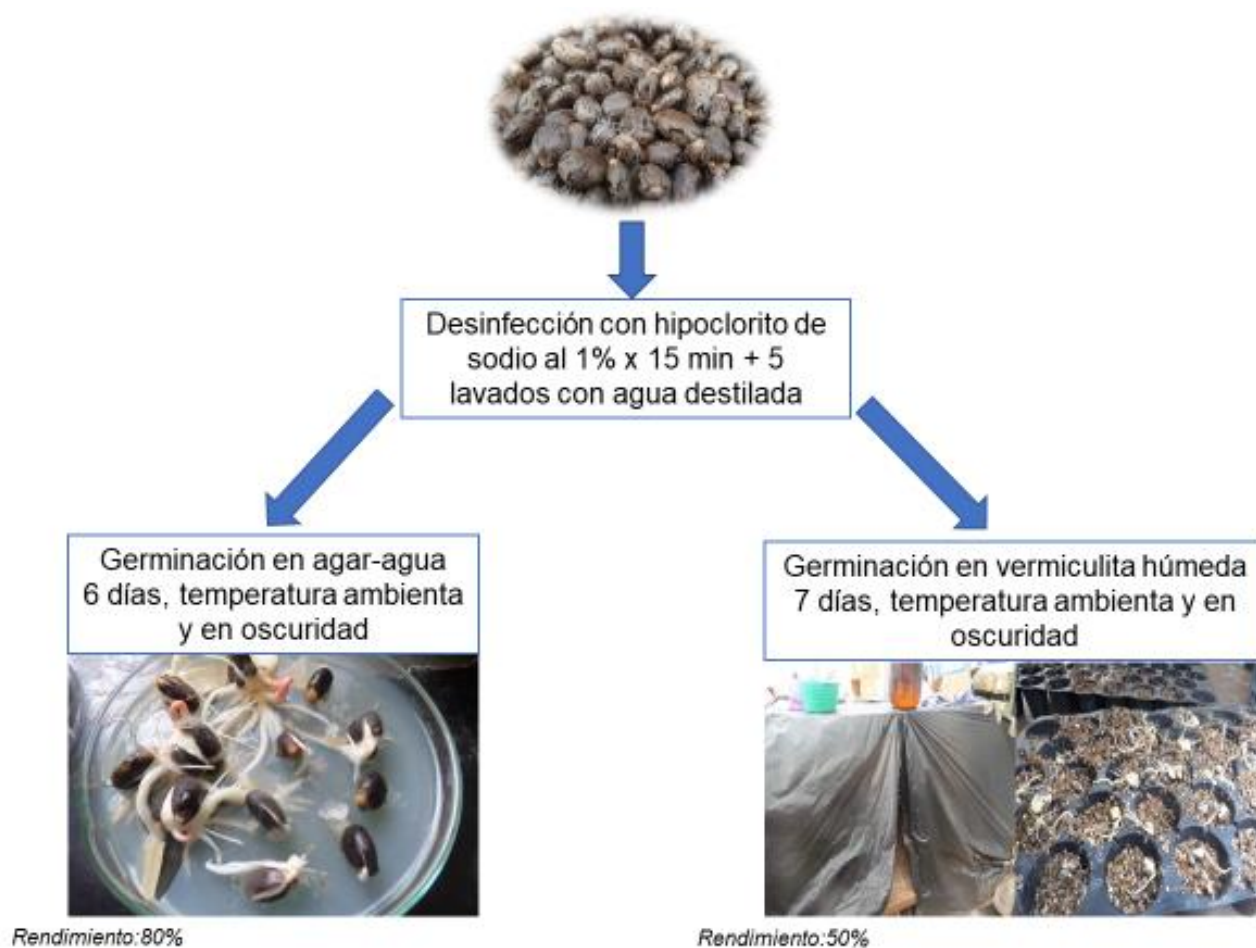


Figura 2. Ensayo de germinación de semillas de ricino

Para la germinación en vermiculita se usaron baterías con compartimientos individuales de 5 cm de diámetro por 5 cm de alto, los cuales se rellenaron hasta un 80% de su altura con vermiculita (Eisenbarth & Weig, 2005). Se colocaron alrededor de 4 semillas por cada compartimiento y se regaron diariamente con 20 ml de solución de micro y macronutrientes (Tablas 2 y 3) durante 7 días, a temperatura ambiente y en oscuridad. Se tuvieron rendimientos de germinación por arriba del 80% con vermiculita y del 50% con agar agua.

Tabla 2. Solución de micronutrientes para la germinación de las semillas.

Reactivo	Para 0.5 L de solución de micronutrientes 10X (g)
EDTA	0.15
MnSO ₄	0.0095
H ₃ BO ₃	0.01255
ZnSO ₄	0.0015
CuSO ₄	0.00035
Na ₂ MoO ₄	0.000006

Tabla 3. Solución de macronutrientes para germinación de las semillas.

Reactivo	Para 0.5 L de solución de macronutrientes 10X (g)
Ca(NO ₃) ₂	4.9
MgSO ₄	2.45
KNO ₃	0.045
K ₂ HPO ₄	0.65
K ₂ SO ₄	2.25

4.4. Caracterización fisicoquímica del suelo.

Los parámetros determinados y los métodos utilizados se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Métodos para la caracterización fisicoquímica del suelo.

Determinación	Referencia	Descripción
Humedad	Fawcett & Collis-George, 1967)	Secado en horno a 105°C durante 24 h
Capacidad de retención de agua (CRA)	Klute et al. (1986)	Muestra saturada con agua dejando drenar toda la noche a través de un papel filtro Whatman No.42
pH	Thomas et al. (1996)	Proporción 1:2.5 suelo-agua, usando un potenciómetro Ultra Basic UB-10 pH/mV (Denver Instrument, NY, USA) con un electrodo (#3007281 pH/ATC)
Conductividad electrolítica (EC)	Dahnke (1988)	Medido con electrodo en un extracto saturado
Textura	Gee & Bauder (1986)	Distribución de tamaño de partícula por método de hidrómetro
C orgánico	Alongi et al. (2004)	Analizer TOC-UCSN (Shimadzu, Canby, USA)
N total	Bremner (1996)	Método de Kjeldahl

4.5. Experimento de estrés hídrico.

Las semillas germinadas se trasplantaron a los 8 días a columnas de cultivo de 50 cm de alto por 20 cm de diámetro, con un volumen de 570 cm³, que contenían 8 kg de suelo y una capa de 3 cm de tezontle, previamente acondicionadas con el suelo en el que las plantas crecieron hasta ser muestreadas (Fig. 3). Los germinados pasados a cada columna fueron los correspondientes a los obtenidos en cada uno de los compartimientos de la batería. Los germinados se desarrollaron en las columnas durante 28 días en condiciones de invernadero, entre 16 y 35°C y humedad relativa entre 20 y 60%, hasta el desarrollo de 2 a 3 hojas verdaderas. Las plantas fueron regadas en este período hasta ajustar el suelo al 50% de su CRA junto con las columnas que no contenían plántulas (suelo sin cultivar). En el día 29 se seleccionaron únicamente a las plántulas que mostraban un mejor desarrollo para continuar con los tratamientos de sequía.

Las columnas se organizaron en tarimas en un diseño de bloques aleatorios con tres parcelas, tres réplicas, tres tratamientos y tres medidas de tiempo, dando un total de 81 muestras de plantas y 9 plantas extra que fueron muestreadas en el día 29 y que se consideraron el tiempo 0. Las plantas se muestrearon a los 2, 4 y 6 meses. Los detalles del riego de cada tratamiento se presentan en la Tabla 5.

La CRA se ajustó de acuerdo con los tratamientos por diferencias de peso agregando la cantidad de agua necesaria. En la Figura 4 se presenta en detalle los tiempos de muestreo y la dinámica de agua y regímenes de riego.



Figura 3. Desarrollo de plántulas y transplante

Tabla 5. Descripción de los tratamientos del experimento de estrés hídrico.

Tratamiento	Detalles
Control	Riego dos o tres veces por semana ajustando al 50% de la CRA del suelo
Sequía	Inicialmente ajustando al 50% de la CRA y dejando secar hasta un 30% de la CRA, riego una vez cada dos semanas aproximadamente
Sequía severa	Inicialmente ajustando al 50% de la CRA y dejando secar hasta un 15% de la CRA, riego una vez al mes aproximadamente

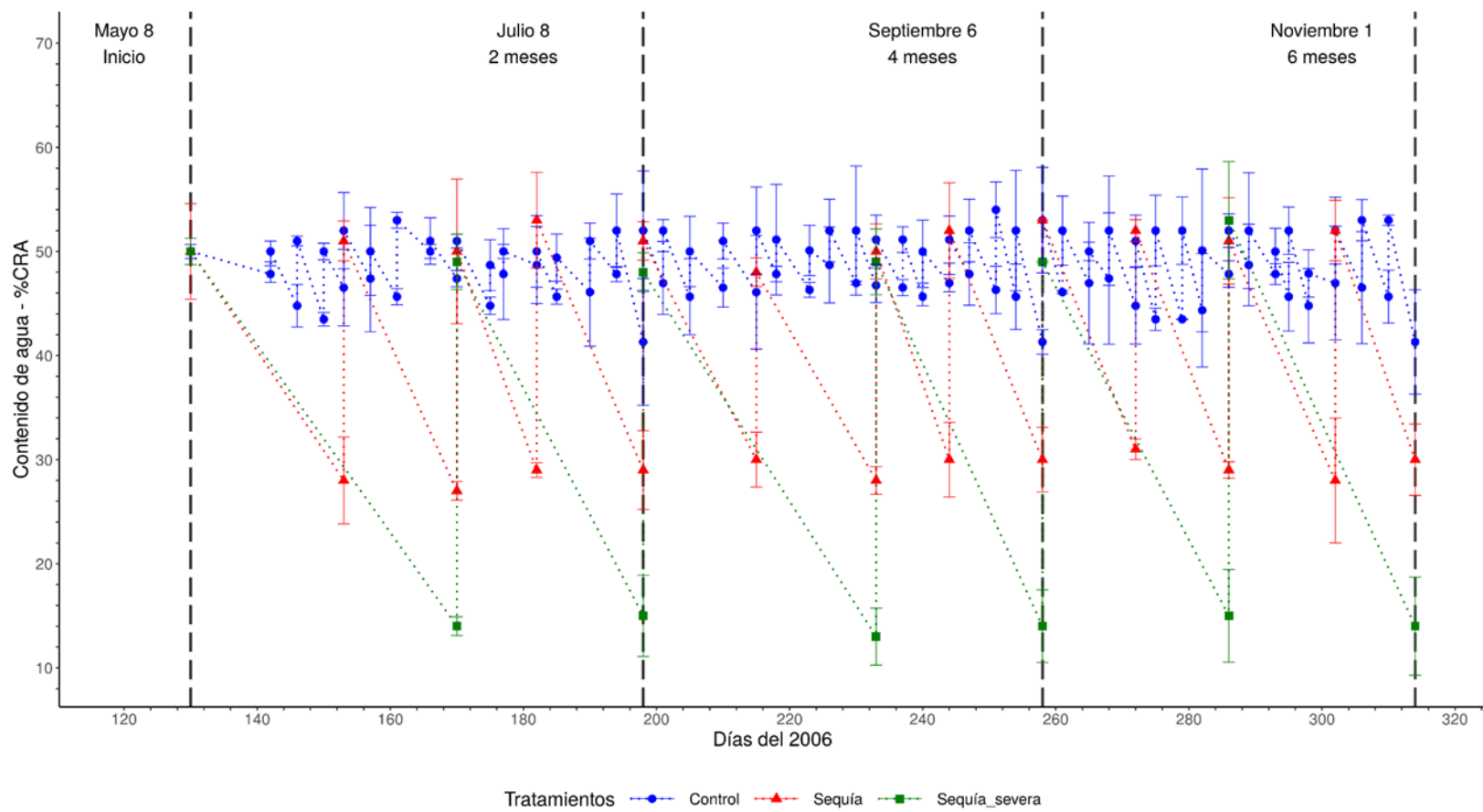


Figura 4. Tiempos de muestreo (líneas verticales) y la dinámica de agua y regímenes de riego.

4.6. Muestreo de suelos y plantas.

Se realizaron muestreos destructivos de suelo y plantas. El 8 de mayo de 2016 se realizó el primer muestreo, el segundo muestreo se realizó dos meses después, el 8 de julio de 2016 y un muestreo final fue realizado el 6 de noviembre de 2016. Se escogieron aleatoriamente columnas con plantas y sin plantas. Se muestreó 20 g de suelo en columnas sin plantas para la extracción de ADN.

En las columnas con plantas se tomaron suelos rizosféricos y no rizosféricos. El suelo no rizosférico se tomó entre los 0-15 cm de profundidad. El suelo rizosférico se definió como aquel adherido a las raíces, para esto se cepillaron las raíces y se lavaron con agua destilada estéril. Los suelos se guardaron a -20°C para su posterior extracción de ADN. También se muestreó alrededor de 2 g de raíces y se preservaron a 4°C para extracción de ADN y medición del porcentaje de micorrización.

Se tomaron los datos de peso fresco de las plantas y las raíces en una balanza digital. Posteriormente, se secaron en horno a 40°C hasta peso constante para obtener el peso seco. También se tomaron los datos del número de hojas y longitud del tallo, hojas y raíces.

4.7. Extracción de ADN y amplificación por PCR de genes ribosomales.

4.7.1. Extracción de ADN de suelos.

Para la extracción de ADN de suelos se siguió con el diagrama de trabajo presentado en la Figura 5. Para esto, se tomaron tres submuestras de suelo de 0.5 g que se extrajeron mediante tres métodos distintos (lisis química, lisis enzimática y lisis por choque térmico) (Hoffman & Winston, 1987; Sambrook et al., 1989; Ceja-Navarro et

al., 2010). Se verificó la calidad del ADN mediante electroforesis en agarosa al 0.8%. Se mezclaron los productos de las extracciones por los tres métodos y se almacenaron a -20°C hasta su amplificación. Así que, 4.5 g de suelo no rizosférico, rizosférico y sin cultivar fueron usados para la extracción del ADN considerando tratamientos ($k = 6$) y plots ($n = 3$).

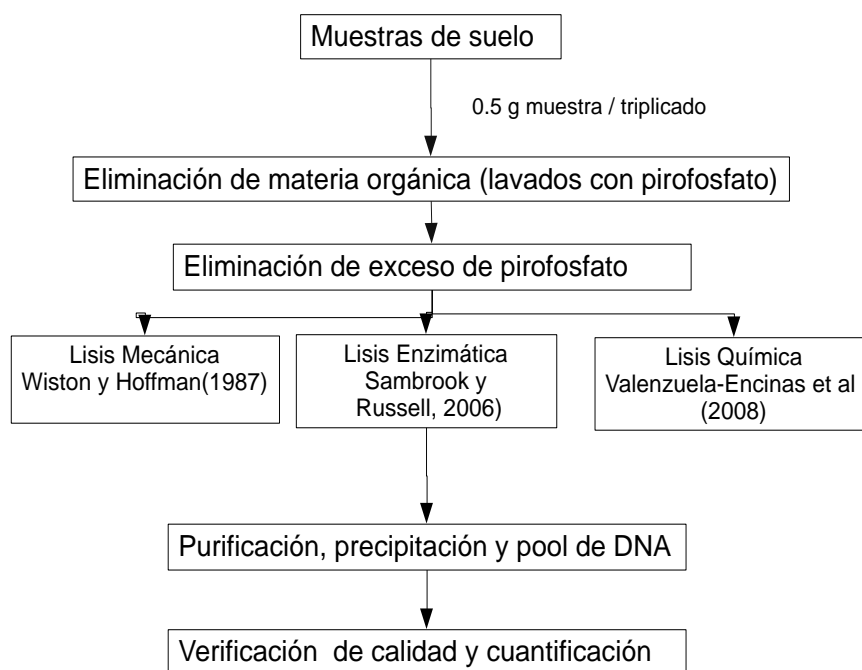


Figura 5. Diagrama de trabajo de extracciones de ADN de suelo.

4.7.2. Extracción de ADN de semillas y raíces de *Ricinus communis*

Los tejidos (semillas y raíces) se desinfectaron realizando lavados sucesivos con agua destilada estéril, con etanol durante 5 min, hipoclorito de sodio al 2.5% durante 15 min y con agua destilada estéril (Ahn & Chen, 2008). La desinfección se verificó por medio de la siembra de la última agua de enjuague en tres placas Petri con medio LB solidificado con agar-agar al 1% (p/v), las cuales se incubaron a temperatura ambiente y oscuridad durante 72 h. El desarrollo de microorganismos en las placas con medio

LB fue negativo en todos los casos, por lo que se considera que la desinfección fue exitosa. Las raíces (1.5 g de cada planta muestreada) y las semillas (1.5 g en triplicado) fueron maceradas con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino. La extracción del ADN se realizó por el método de lisis enzimática (Sambrook et al., 1989).

El método para la extracción ADN de semillas de ricino, que son ricas en polisacáridos y lípidos, se desarrolló en esta tesis combinando dos metodologías anteriormente reportas (CIMMYT, 2006; Pineda-Mendoza et al., 2011). Primero, las semillas se desinfectaron y maceraron como se mencionó anteriormente, luego se agregaron 9 mL de la solución de extracción (Tris 1 M, EDTA 0.5 M, CTAB, NaCl 5 M, BME 14 M) y se incubaron a 70°C por 1 h. Las proteínas se precipitaron primero con una solución de cloroformo/alcohol isoamílico (24:1) y después con fenol equilibrado, finalmente el ADN se precipitó con etanol frío al 70%.

4.7.3. Amplificación del gen 16S rRNA específico de bacterias y 18S rRNA para eucariontes microscópicos.

Se amplificaron regiones V3 y V4 del gen 16S rRNA bacteriano usando los primers 341-F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') y 805-R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') y el gen 18S rRNA con los primers universales para eucariontes SSU-0817-F (5'-TTA GCA TGG AAT AAT RRA ATA GGA-3') y SSU-1196R (5'- TCT GGA CCT GGT GAG TTT CC-3'), ambos pares de primers conteniendo adaptadores químicos de Illumina. Los amplicones se verificaron en un gel de agarosa al 1% p/v, a 90 V por 20 min. Se realizó la amplificación por triplicado hasta obtener un volumen final de 25 uL, se mezclaron y se purificaron con un kit de

purificación FastGene®. La secuenciación se realizó en una Illumina MiSeq con corridas paired end de 300 pb por Macrogen, Inc. (Servicio de secuenciación de ADN, Seúl, Corea).

4.8. Observación de estructuras fúngicas y determinación de porcentaje de colonización de micorrizas.

Las raíces lavadas y de apariencia más joven y sin señales de maltrato se seccionaron en segmentos de entre 1 y 2 cm. Se blanquearon en viales de 20 ml y con hidróxido de potasio (KOH) 10% (p/v) hasta cubrir las totalmente (Phillips & Hayman, 1970). El KOH se recambió diariamente por 7 días o hasta que las raíces se tornaran transparentes y la solución remanente de KOH se viera transparente. Se eliminó el exceso de KOH mediante 2 lavados con agua destilada y se sumergieron en una solución de ácido clorhídrico (HCl) al 1% v/v por 15 minutos. Se realizó una tinción con azul de algodón, un colorante ácido que tiñe el citoplasma y la quitina en los arbusculos, micelios, esporas y vesículas (González et al., 2011). Para esto, se agregaron 5 ml de colorante azul de algodón lactofenol a raíces desinfectadas y se incubaron durante 15 min a 70 °C. Por último, se visualizaron al microscopio (40 X y 100 X) con dos gotas de glicerol y se cubrió la preparación con un cubreobjetos. El porcentaje de colonización fue calculado promediando la colonización de 30 segmentos por tratamiento. Se reportó el porcentaje de veces que se observaron las estructuras arbusculares en el total de segmentos (Colla et al., 2008).

4.9. Determinación del contenido fenólico.

4.9.1. Extractos de plantas

Los extractos de plantas se obtuvieron como describen Luján-Hidalgo et al. (2015). Se maceró de 1 g de material vegetal seco (hojas y raíces) en metanol, después se sonicó a 25°C por 2 h, y después se centrifugó a 4000 rpm a 4°C durante 10 min. El sobrenadante se recuperó y se concentró en rotaevaporador a 40°C, los extractos se resuspendieron en 2 ml de metanol y se conservaron a -20°C en hasta ser analizados.

4.9.2. Contenido fenólico

El contenido fenólico se determinó con el reactivo de Folin-Ciocalteu y usando ácido gálico como estándar (Singleton et al., 1999). Una alícuota de 0.1 ml del extracto se mezcló con 4.2 ml de agua y 0.5 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu, se dejaron reaccionar durante 1 min, luego se agregó 1 ml de Na₂CO₃ 20% (p/v) y se incubó a temperatura ambiente durante 2 h. Finalmente, se midió la absorbancia a 765 nm con un espectrofotómetro UV-VIS (Beckman Coulter DU 730). Se construyó una curva estándar con ácido gálico en concentraciones de 100-800 mg/ml. El contenido fenólico total se expresó en miligramos de ácido gálico equivalentes/gramo de planta seca.

4.10. Análisis bioinformático y manejo de secuencias

Se usó el software QIIME (versión 1.9.1) para analizar las secuencias de ADN. Las secuencias paired-end se unieron con el método fastq-join en QIIME. Se determinaron las unidades operacionales taxonómicas (OTUs) a un 97% de similitud usando el algoritmo UCLUST con la estrategia de escogencia de OTUs “open reference” usando

la base datos del Greengenes para bacterias y la base datos de SILVA 132 para 18S rRNA. La asignación taxonómica de bacterias se realizó usando el clasificador de rdp (Ribosomal Database Project's classifier) con una confianza de 0.8 usando la base de datos de Greengenes como referencia. En el caso de 18S rRNA se utilizó el clasificador blast (legacy BLAST versión 2.2.23) y la base de referencia SILVA 132. Las secuencias se alinearon usando PyNAST versión 1.2.2 (Caporaso et al., 2010). Las secuencias quiméricas se identificaron usando usearch61 y se descartaron junto con las OTUs que representaban cloroplasto o mitocondrias (Kusstatscher et al., 2019).

La diversidad y riqueza de especies se calcularon a partir de bases de datos rarificadas a la misma profundidad para evitar sesgo en los índices de diversidad alfa debido al muestreo. Así, las comunidades bacterianas se rarificaron a 10,000 lecturas y las de raíces a 3,500 lecturas. En el caso de eucariontes se rarificaron a 1000 lecturas. Los índices calculados fueron el estimador de riqueza de especies de Chao1 y los índices de Simpson y Shannon. Las secuencias crudas se depositaron en el repositorio del NCBI bajo el BioProject: PRJNA550417 para bacterias y el PRJNA593840 para eucariontes.

4.11. Análisis estadísticos de los resultados.

Todos los análisis estadísticos se realizaron en el software R (R Core, 2013). Para determinar el efecto de los regímenes de riego en el desarrollo de la planta y los índices de diversidad alfa, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) usando la función aov y se realizó una prueba de medias con la prueba de Tukey. Pruebas de Kruskal-wallis y Wilcoxon se realizaron para evaluar las diferencias en el porcentaje de colonización

de micorrizas y el contenido fenólico de las plantas. Los Heatmaps de abundancias relativas fueron construidos con el paquete pheatmap (Kolde, 2017). Los heatmaps de razón de cambio relativo se construyeron aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{Razón de cambio relativo del efecto de los regímenes de riego} = \frac{(\text{abundancia relativa de los tratamientos de sequía} - \text{abundancia relativa del tratamiento control})}{(\text{abundancia relativa del tratamiento control})}$$

Debido a la naturaleza composicional de los datos, para los análisis de diversidad beta las bases datos se transformaron log-ratio centrada, con la función “aldex.clr” (paquete ALDEx2 en R) (Gloor, 2015). Se realizaron análisis de componentes principales (PCA) para todas las OTUs y para el nivel taxonómico de género, y se llevó a cabo un análisis permutacional multivariado de varianza (perMANOVA) para determinar el efecto de los regímenes de riego, el tiempo de muestreo, el compartimento (rizósfera, raíces, suelos) y sus interacciones, sobre la estructura de la comunidad microbiana tanto en bacterias como en eucariontes. Los PCA y perMANOVA se realizaron usando el paquete ‘vegan’ con el argumento adonis 2 (Oksanen et al., 2017). Para determinar el efecto de los tratamientos sobre grupos taxonómicos (OTUs, género y filo) de las comunidades bacterianas y eucarióticas se realizó un análisis de abundancias diferenciales con ALDEx2, usando el argumento aldex.kw (Gloor, 2015).

5. RESULTADOS

5.1. Caracterización fisicoquímica del suelo

El suelo utilizado se caracterizó como franco-arenoso, con un contenido de Carbono de 36.66 g C kg⁻¹ suelo, un contenido de Nitrógeno total de 1.96 g N kg⁻¹ suelo, una CRA de 584 g kg⁻¹ suelo, una EC de 1.92 dS m⁻¹ y pH de 7.8.

5.2. Caracterización morfológica de las plantas durante el experimento de estrés hídrico

Los regímenes de riego tuvieron un efecto significativo sobre todas las características medidas a los 2, 4 y 6 meses de crecimiento ($p < 0.05$) (Tabla 6). Las plantas en el tratamiento de Sequía severa fueron 1.7 más pequeñas que las plantas en el tratamiento Control, mientras que no hubo mayores diferencias en la altura de las plantas después de 4 y 6 meses entre el Control y el tratamiento de Sequía. Los regímenes de riego tuvieron un efecto significativo sobre el peso seco de las plantas. En el tratamiento de Sequía severa el peso seco de la planta disminuyó 3.9 veces y el peso seco de la raíz 5.9 veces menor en comparación con las plantas Control después de 6 meses, mientras que las de tratamiento de Sequía el peso seco de la planta disminuyó sólo 1.7 veces y el peso seco de la raíz 3.1 veces.

Tabla 6. Características morfológicas de las plantas de *Ricinus communis* L. bajo tratamientos de Control, Sequía y Sequía severa a los 2, 4 y 6 meses.

Muestreo (meses)	Tratamiento	Longitud raíz (cm)	Altura planta	# de hojas	Peso seco		Peso fresco	
					Planta (parte aérea)	Raíz	Planta (parte aérea)	Raíz
2	Control	55.5 A ^a	78.8 A	10 A	22.7 A	7.9 A	166.2 A	54.7 A
	Sequía	44.5 A	66.0 B	8 B	11.4 B	3.6 B	79.8 B	18.1 B
	Sequía severa	38.4 B	43.3 C	5 C	8.2 B	1.9 B	41.4 C	9.4 B
4	Control	56.8 A	93.0 A	10 A	35.2 A	14.5 A	161.2 A	55.1 A
	Sequía	41.1 B	88.7 A	9 A	18.6 B	5.3 B	103.5 B	27.5 B
	Sequía severa	38.7 B	51.2 B	6 B	6.2 C	2.6 B	48.8 C	13.2 C
6	Control	65.0 A	109.2 A	9 A	53.1 A	17.8 A	176.3 A	73.7 A
	Sequía	51.7 B	106.3 A	8 A	30.8 B	5.7 B	107.7 B	25.5 B
	Sequía severa	44.1 B	64.9 B	6 B	13.5 C	3.0 B	65.6 C	16.7 B

^a Valores con la misma letra no son significativamente diferentes entre los tratamientos, entre las columnas, después de 2, 4 y 6 meses ($p < 0.05$). Resultados de ANOVA y Tukey test.

En la Figura 6 se presentan imágenes del muestreo realizado a los 6 meses. En estas se pueden observar las diferencias en los fenotipos de las plantas por tratamiento.

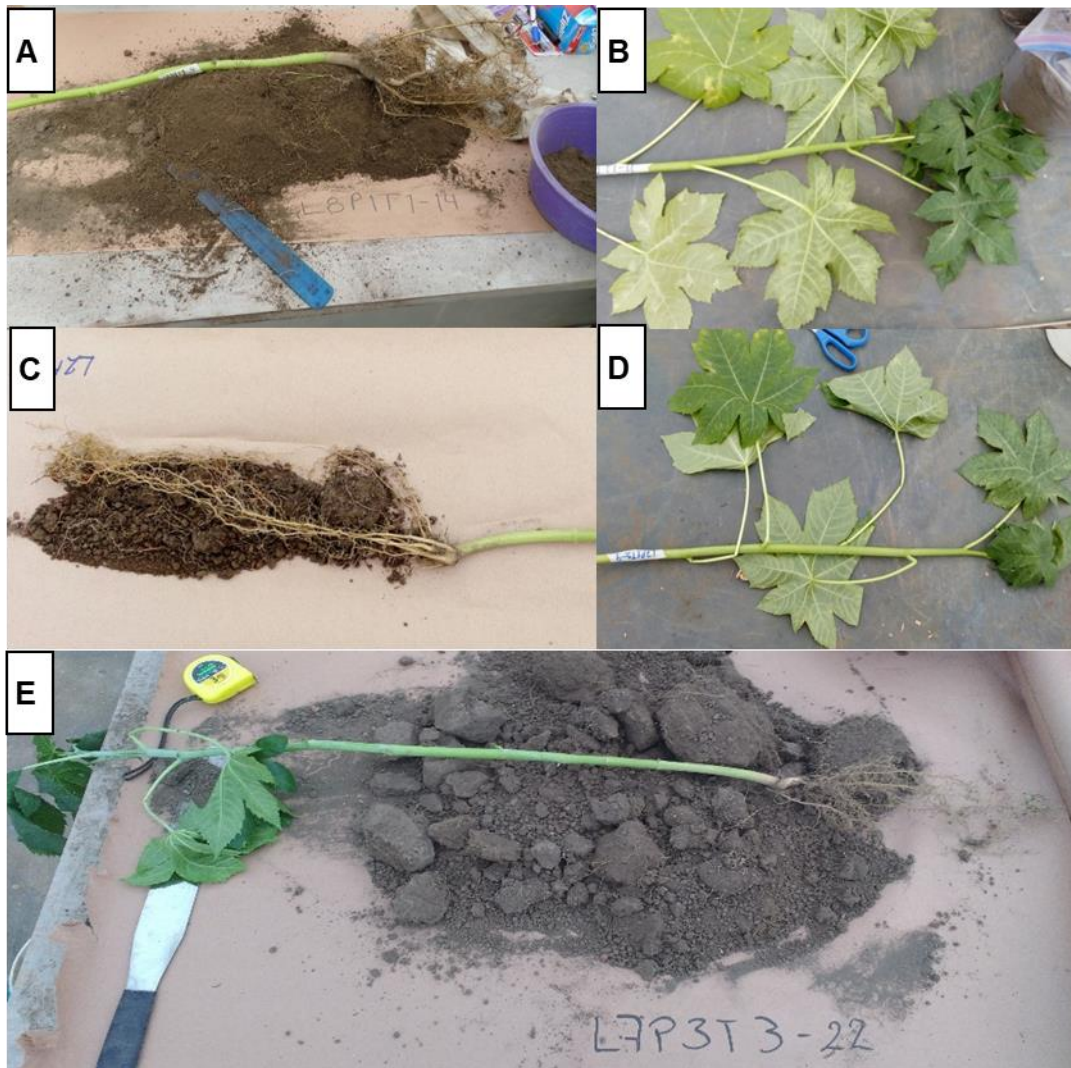


Figura 6. Órganos aéreos y raíces de *Ricinus communis* L. a los 6 meses de crecimiento A) bajo tratamiento Control (raíces) B) Control (hojas) C) Sequía (raíces) D) Sequía (hojas) y E) Sequía severa (toda la planta).

5.3. Observación de estructuras fúngicas, determinación de porcentaje de colonización de micorrizas y contenido fenólico.

Se detectó en todas las muestras de raíz la presencia de tres estructuras fúngicas principales: arbusculos, vesículas y esporas (Fig. 7).

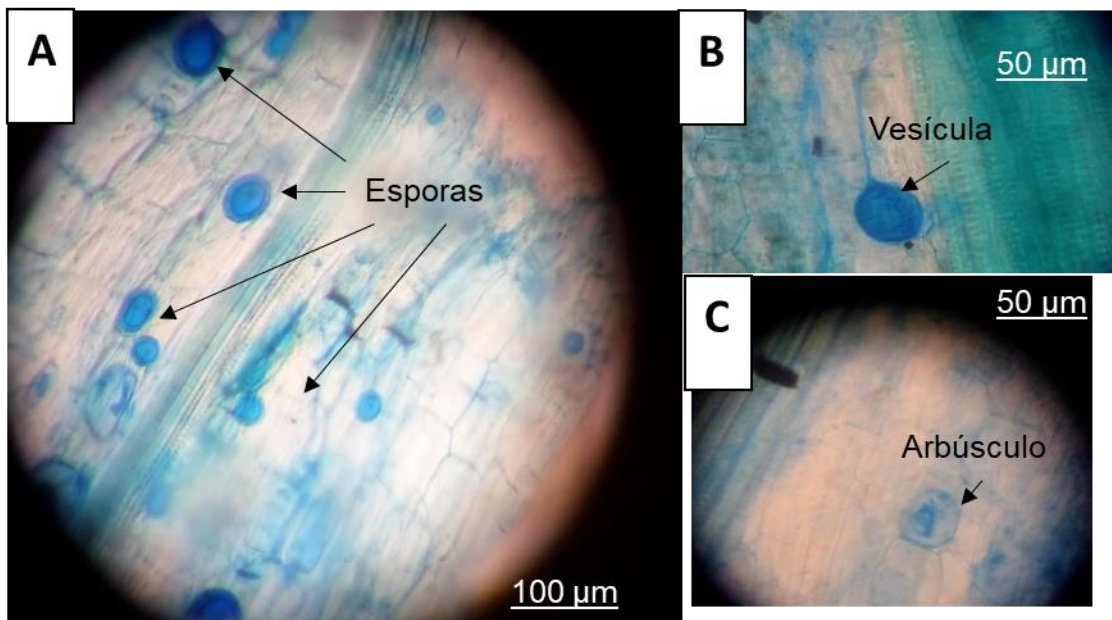


Figura 7. Estructuras fúngicas observadas en raíces de *Ricinus communis* L. (40x). A) Esporas teñidas, B) Vesícula y C) Arbúsculo.

A los 2 meses el porcentaje de micorrización no fue significativamente diferente (Kruskall-Wallis, $p=0.54$), mientras que a los 4 y 6 meses en el tratamiento de Sequía severa el porcentaje de micorrización fue significativamente más bajo ($p<0.05$). Los valores de colonización disminuyeron con respecto al tiempo en los tratamientos de Sequía y Sequía severa ($p<0.001$) (Fig. 8A).

El contenido fenólico fue diferente entre hojas y raíces (Wilcoxon test, $p<0.0001$), obteniéndose valores mayores en las hojas en comparación con las raíces. El

contenido fenólico aumentó conforme al tiempo en plantas de ricino, independientemente de los tratamientos (Fig. 8B), notándose más en las raíces que en las hojas. También, se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos después a los 2 y 6 meses tanto en hojas como en raíces. Además, el contenido fenólico fue mayor en los tratamientos Control en las hojas y raíces después de 4 y 6 meses, en contraste con los resultados obtenidos a los 2 meses donde los valores mayores (tanto en hojas como en raíces) se encontraron en los tratamientos de Sequía severa (Fig. 8C y 8D).

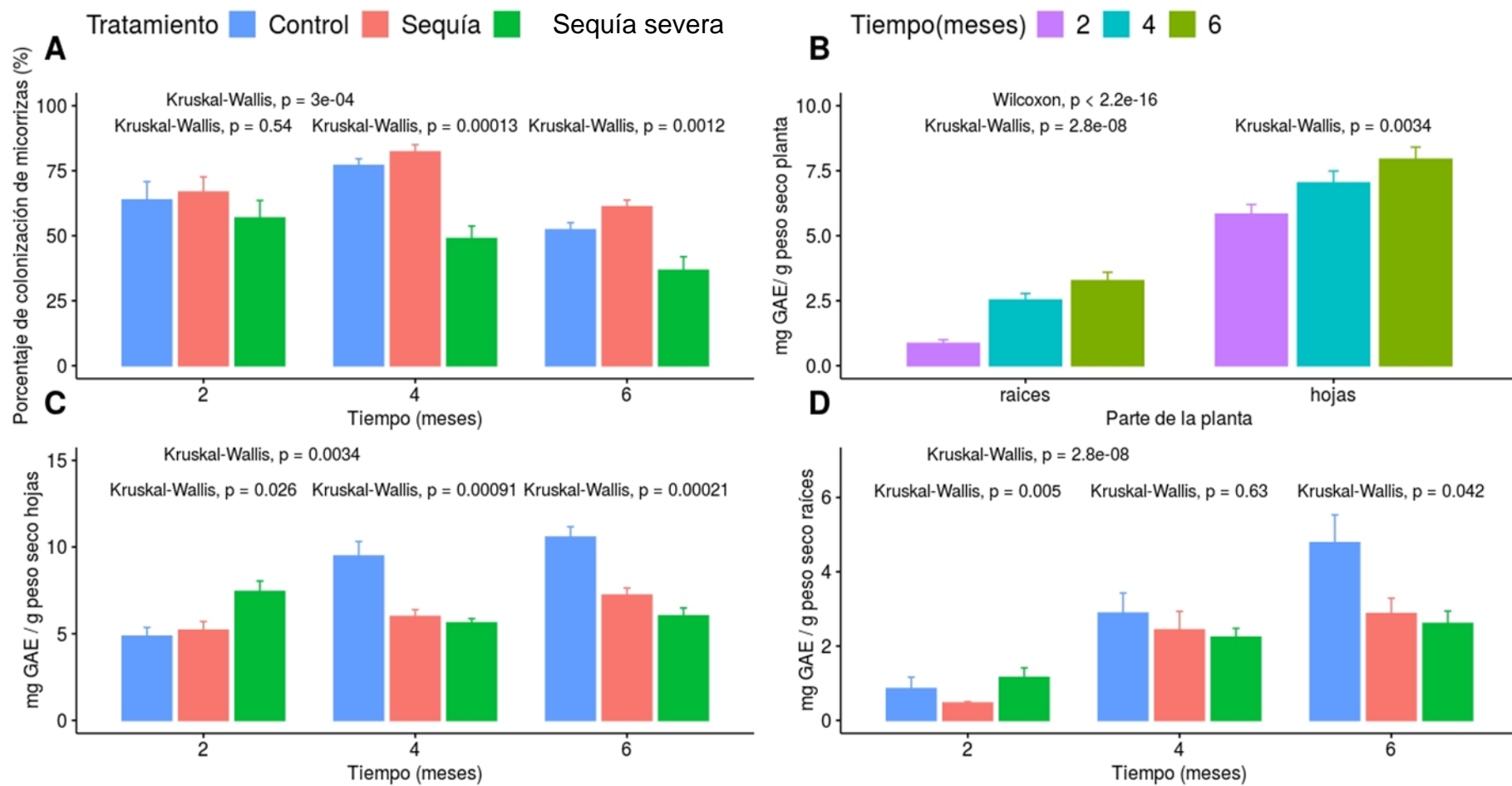


Figura 8. Micorrizas y contenido fenólico en raíces y hojas de *Ricinus communis* L., A) porcentaje de colonización de micorrizas en raíces a los 2, 4 y 6 meses, B) Contenido fenólico en raíces plantas a los 2, 4 y 6 meses, C) Contenido fenólico de hojas y D) de raíces a los 2, 4, y 6 meses en los tratamientos Control, Sequía y Sequía severa.

5.4. Extracción de ADN y amplificaciones

En la Figura 9 se muestran algunos ejemplos de extracciones y amplificaciones de muestras, extracciones de ADN de suelo rizosférico y no rizosférico (Fig. 9A), amplificaciones del gen 16S rRNA de las mismas (Fig. 9B). Mientras que en la Figura 9C se presentan las extracciones de ADN obtenidas de raíces y semillas y algunos ejemplos de las amplificaciones del gen 16S rRNA a partir de semillas y raíces se muestran en la Figura 9D. Para el caso de secuencias eucarióticas, sólo fue posible obtener las amplificaciones para el tiempo 0 y el primer muestreo (2 meses), se probaron varias condiciones y diferentes métodos, pero no fue posible para las muestras de 4 y 6 meses, posiblemente por el alto contenido fenólico en esos meses.

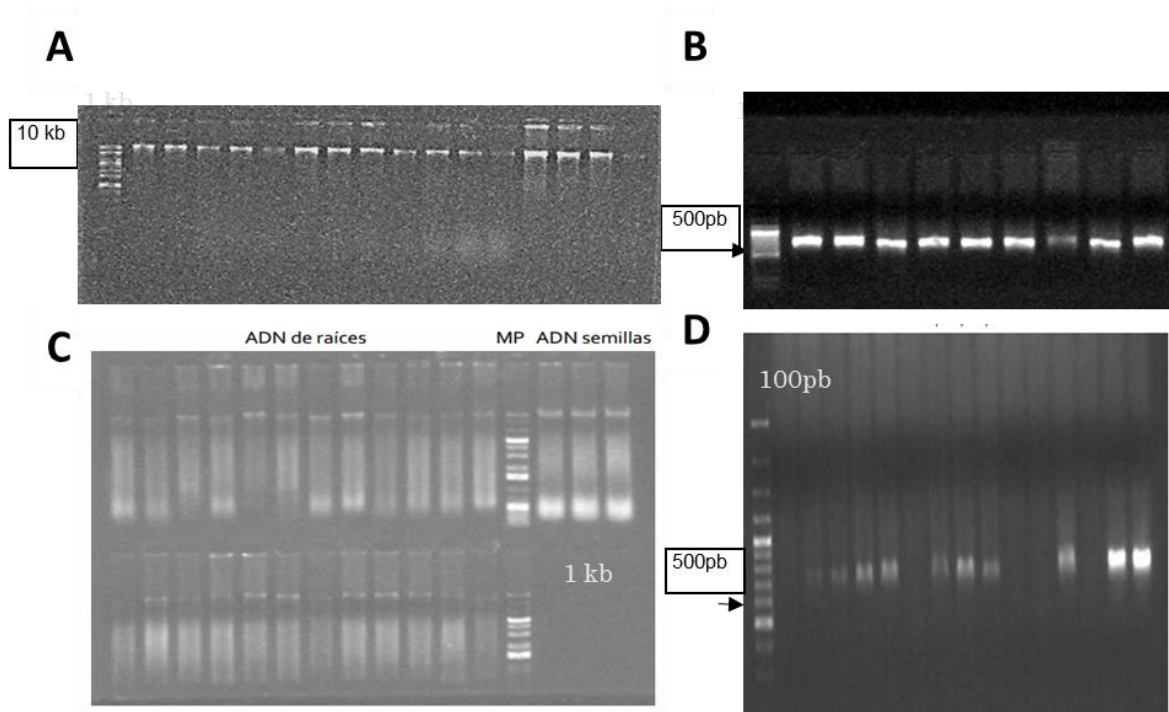


Figura 9. Geles de agarosa de extracciones y amplificaciones. A) ADN metagenómico de suelo (agarosa al 0.8%, 90V, 15 min), B) Amplificaciones del gen 16S rRNA bacteriano de suelos (agarosa 1%, 90V, 15 min), C) ADN metagenómico de raíces y semillas (agarosa 0.8%, 90V, 20 min) y D) Amplificaciones del gen 16S rRNA bacteriano (agarosa 1%, 65V, 45 min).

5.5. Diversidad alfa de las comunidades microbianas

Un total de 1,428,918 secuencias bacterianas se obtuvieron de las muestras de suelos y 337,518 de las muestras de raíces (endófitos) para todos los tiempos de muestreo. Por su parte, se obtuvieron un total de 301,331 eucarióticas de suelos y raíces para el tiempo de muestro inicial y a los 2 meses. Se obtuvieron un total de 13,653 OTUs bacterianos y 1,740 OTUs eucarióticos al 97% de similitud después de removerse las quimeras, singletons y OTUs de organelos. La determinación de más secuencias habría producido solo un número limitado de OTUs más, ya que las curvas de rarefacción fueron asintóticas (Fig. 10 y 11).

Los regímenes de riego no tuvieron un efecto significativo en los índices de diversidad bacterianos en los suelos sin cultivar, no rizosférico, rizosférico y en las raíces (Tabla 7). La riqueza y la diversidad taxonómica de las bacterias del suelo no se vieron afectadas por los regímenes de riego, mientras que la riqueza de la comunidad endofítica de las raíces disminuyó un 25% con respecto a la de la rizósfera (Tabla 8). Solamente el índice de simpson_e disminuyó significativamente en el tratamiento control y después de 6 meses siguiendo el orden Suelo sin cultivar > Suelo no rizosférico > Rizósfera > Raíces. La diversidad y riqueza de las comunidades endofíticas de las raíces disminuyeron drásticamente con el tiempo de muestreo.

En cuanto a los índices de diversidad en eucariontes, sólo hubo efecto significativo en los índices de Shannon y chao1 ($p < 0.01$) por los tratamientos en las raíces. El índice de diversidad de Simpson_e aumentó significativamente en las raíces expuestas a los tratamientos de sequía (Tabla 9).

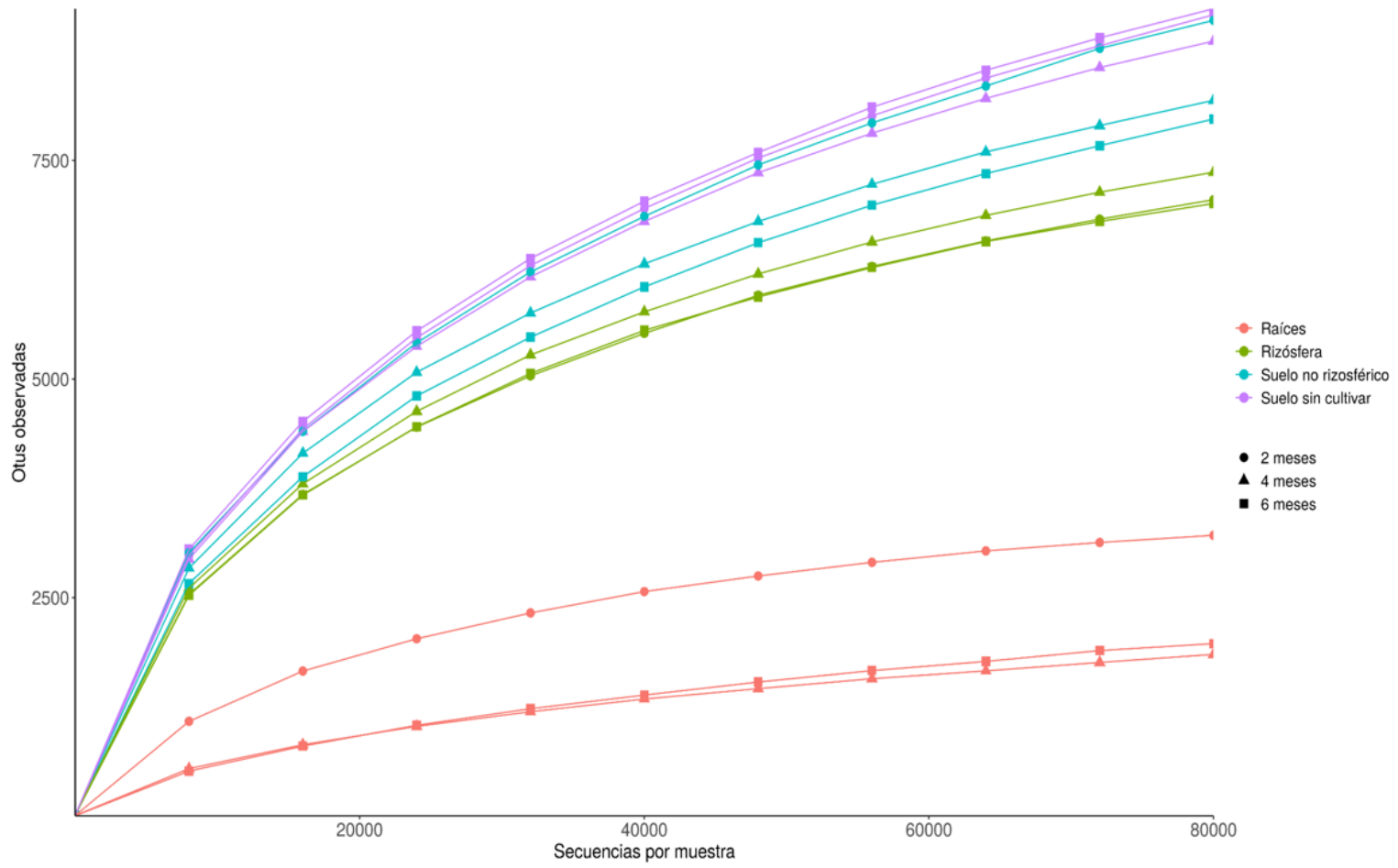


Figura 10. Curva de rarefacción de 16S

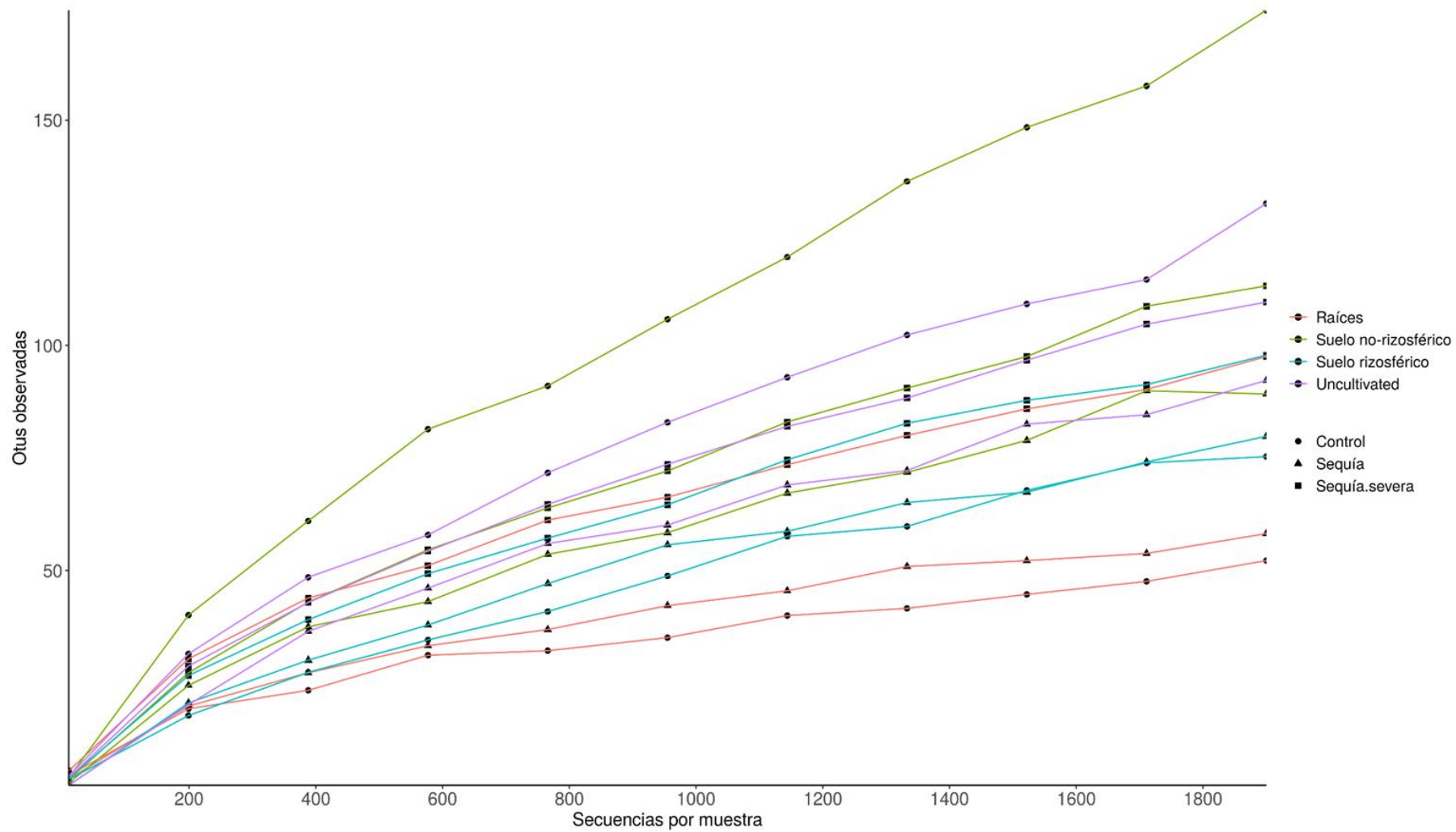


Figura 11. Curva de rarefacción de 18S

Tabla 6. Efecto de los tratamientos (control, sequía y sequía severa) y compartimento (suelo no-rizosférico, sin cultivar, rizosférico y raíces) sobre los índices de diversidad alfa de bacterias.

Chao1						
Tratamiento	Suelo sin cultivar	Suelo no rizosférico	Rizósfera	Raíces	F	p ^a
Control	4771 a A	4783 a A	4870 a B	1576 a C	61.89	< 0.001
Sequía	4772 a A	4711 a A	4567 a B	1148 a C	107.3	< 0.001
Sequía severa	4769 a A	4831 a A	4529 a B	940 a C	93.75	< 0.001
F	0.08	0.1	2.16	4.85		
p	0.927	0.906	0.120	0.05		
Shannon						
Control	10.16 a A	9.97 a A	9.83 a A	5.96 a B	90.90	< 0.001
Sequía	10.09 a A	9.81 a A	9.90 a A	4.97 a B	152.09	< 0.001
Sequía severa	10.04 a A	10.05 a A	9.68 a A	4.89 a B	104.39	< 0.001
F	0.38	0.28	1.22	1.72		
p	0.686	0.754	0.299	0.185		
Simpson_e						
Control	0.162 a A	0.110 a A	0.094 a AB	0.044 a B	5.15	0.029
Sequía	0.159 a A	0.122 a A	0.118 a A	0.095 a A	2.43	0.140
Sequía severa	0.139 a A	0.138 a A	0.087 a A	0.053 a A	4.41	0.041
F	0.27	0.76	0.87	2.55		
p	0.770	0.509	0.468	0.158		

Tabla 7. Efecto de los tiempos de muestreo (2,4 y 6) y compartimento (suelo no-rizosférico, sin cultivar, rizosférico y raíces) sobre los índices de diversidad alfa de bacterias.

Chao1						
Tiempo	Suelo sin cultivar	Suelo no rizosférico	Rizósfera	Raíces	F	p ^a
2 meses	4815 a A	4875 a A	4661 a A	2178 a B	52.46	< 0.001
4 meses	4724 a A	4879 a A	4788 a A	875 b B	14.95	< 0.001
6 meses	4774 a A	4571 a A	4436 a A	612 b B	97.31	< 0.001
F	0.08	0.99	10.81	25.71		
p	0.915	0.426	0.01	< 0.001		
Shannon						
2 meses	10.07 a A	10.18 a A	9.84 a A	8.54 a B	90.90	< 0.001
4 meses	9.93 a A	10.24 a A	9.89 a A	4.38 b B	152.09	< 0.001
6 meses	10.25 a A	9.40 b A	9.64 a A	2.90 b B	104.39	< 0.001
F	0.52	7.14	2.12	55.8		
p	0.619	0.026	0.201	< 0.001		
Simpson_e						
2 meses	0.135 a A	0.151 a A	0.091 a A	0.147 a A	5.15	0.434
4 meses	0.128 a A	0.165 a A	0.111 a A	0.026 b B	2.43	< 0.001
6 meses	0.186 a A	0.055 a B	0.0096 a B	0.019 b C	4.41	< 0.001
F	0.186 a A	0.055 a B	0.0096 a B	10.35		
p	1.49	13.96	0.51	0.011		

^a Valores p en negrita indican significancia y letras diferentes diferencias significativas.

Tabla 8. Efecto de los tratamientos (control, sequía y sequía severa) y compartimento (suelo no-rizosférico, sin cultivar, rizosférico y raíces) sobre los índices diversidad alfa de eucariontes.

Chao1						
Tratamiento	Suelo sin cultivar	Suelo no rizosférico	Rizósfera	Raíces	F	p ^a
Control	286 a A	295 a A	146 a A	116 ab A	2.88	0.066
Sequía	184 a AB	217 a A	194 a AB	103 b B	2.89	0.050
Sequía severa	274 a A	216 a A	205 a A	185 a A	1.16	0.345
F	3.10	0.82	2.69	6.51		
p	0.153	0.452	0.091	0.009		
Shannon						
Control	2.95 a A	3.02 a A	2.15 a A	2.40 b A	0.77	0.526
Sequía	2.28 a A	2.19 a A	2.35 a A	2.69 b A	0.80	0.506
Sequía severa	3.69 a A	2.55 a A	3.05 a A	3.67 a A	2.21	0.116
F	1.99	0.86	3.17	7.55		
p	0.251	0.439	0.062	0.005		
Simpson_e						
Control	0.030 a A	0.028 a A	0.032 a A	0.070 a A	2.48	0.096
Sequía	0.019 a B	0.021 a B	0.020 a B	0.085 a A	30.96	<0.001
Sequía severa	0.029 a B	0.021 a B	0.041 a B	0.082 a A	6.37	0.003
F	0.94	1.19 a	1.14	0.32		
p	0.461	0.325 a	0.340	0.734		

^a Valores p en negrita indican significancia y letras diferentes diferencias significativas.

5.6. Efecto de los compartimentos sobre la estructura de la comunidad bacteriana.

Al principio del experimento el suelo fue dominado por Proteobacteria (abundancia relativa $51.61 \pm 3.42\%$), Actinobacteria ($17.78 \pm 0.80\%$) y Acidobacteria ($10.18 \pm 1.39\%$) (Fig. 12). Los géneros más dominantes fueron *Kaistobacter* ($11.84 \pm 2.37\%$), *Acinetobacter* ($9.55 \pm 5.66\%$) y *Pseudoxanthomonas* ($8.00 \pm 0.04\%$) al principio del experimento (Fig. 13).

Los compartimentos tuvieron un efecto altamente significativo sobre un gran número de grupos bacterianos independientemente del régimen de riego, como se obtuvo en el análisis diferencial de abundancias ($p < 0.0001$) (Tabla 10). Por ejemplo, 35 de los

312 grupos bacterianos asignados al nivel de género y 6 de los 35 grupos asignados a filo fueron afectados significativamente por efecto de los compartimentos ($p < 0.0001$), y un total de 95 géneros y 16 filios fueron afectados significativamente también por el efecto de la planta ($p < 0.005$) (Tabla 10, Fig. 14 y 15).

Considerando los filios más abundantes, la abundancia relativa de las OTUs pertenecientes a Firmicutes fueron más altas en los suelos no rizosféricos en comparación con los suelos sin cultivar (Fig.14). Las abundancias relativas de Firmicutes, Proteobacteria y TM7 fueron mayores en las raíces que en el suelo sin cultivar, independiente de los regímenes de riego mientras que fue menor en la mayoría de los otros filios bacterianos (Fig. 14).

Las abundancias relativas de las OTUs pertenecientes a *Agrobacterium* y *Pseudoxanthomonas* fue mayor en la rizósfera en comparación con el suelo sin cultivar independientemente de los tratamientos aplicados (Fig. 15). Las abundancias relativas de la mayoría de los géneros bacterianos disminuyeron en las raíces de *R. communis* en comparación con el suelo sin cultivar y sólo miembros del género *Pseudomonas* se vieron enriquecidos significativamente (Fig. 15).

Se realizó un PCA para representar el efecto de los compartimentos sobre las comunidades bacterianas, a su vez por la presencia y cultivo de la planta y como se comparan con la comunidad endofítica de las raíces y de las semillas de *R. communis*. Se visualizan cuatro grupos en el PCA con los géneros bacterianos y todas las OTUs obtenidas en el suelo sin cultivar, la rizósfera y las raíces después de 2, 4 y 6 meses y en las semillas al principio del experimento (Fig. 16 y 17). Un primer grupo con las comunidades bacterianas en el suelo sin cultivar, un segundo grupo con las muestras

de rizósfera y el suelo sin cultivar al principio del experimento y un tercer grupo con la comunidad bacteriana de las raíces y de las semillas. Tanto en el PCA de los géneros bacterianos como en el de todas las OTUs se observa a los 6 meses que la comunidad endofítica de las raíces se agrupa con más cercanía a las de las semillas que a las de la rizósfera o suelo sin cultivar. Las comunidades bacterianas en el suelo sin cultivar, suelo rizosférico y raíces fue similar en los tratamientos Control, Sequía y Sequía severa después de 2, 4 y 6 meses (Fig. 16 y 17). En consecuencia, el cultivo o presencia de *R. communis* tuvo un efecto significativo sobre las comunidades bacterianas considerando los diferentes niveles taxonómicos estudiados ($p < 0.0001$), pero ni el tiempo de muestreo ni su interacción tuvieron un efecto estadístico significativo (Tabla 11).

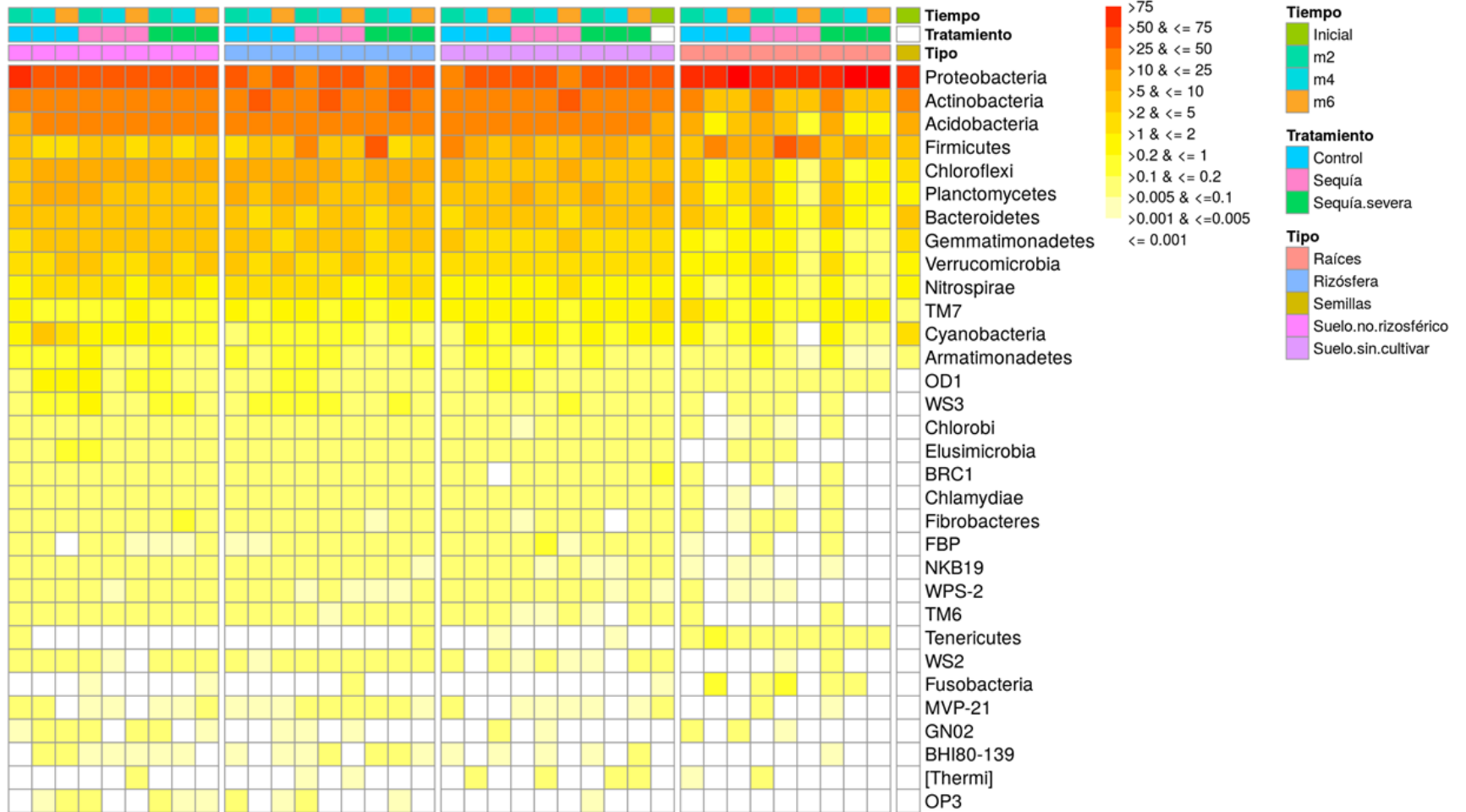


Figura 12. Heatmap de las abundancias relativas (%) a nivel de filo bacteriano en el tiempo inicial (Inicial), a los dos (m2), cuatro (m4) y 6 (m6) meses.

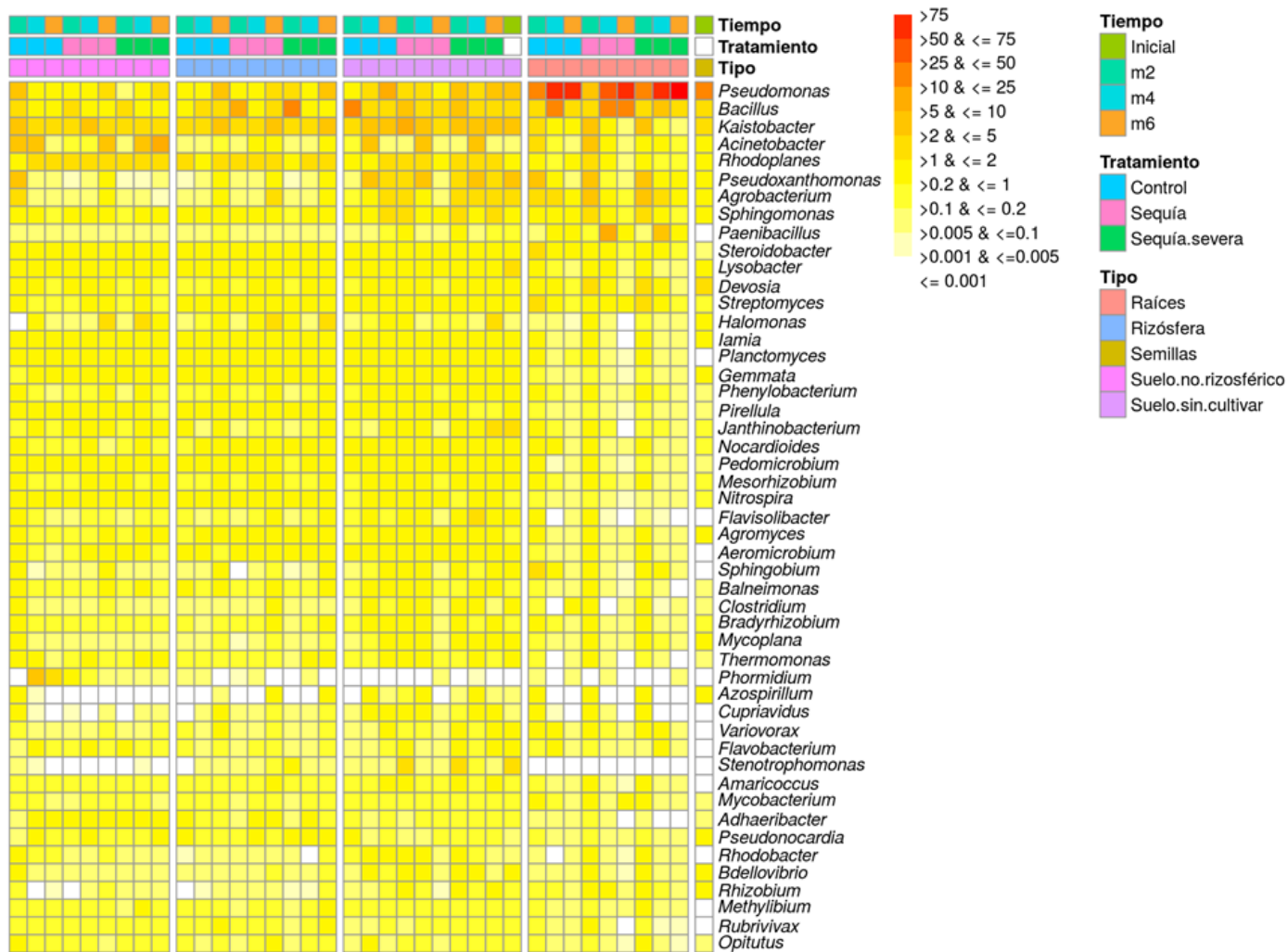


Figura 13. Heatmap abundancia relativa (%) a nivel de género bacteriano en el tiempo inicial (Inicial), a los dos (m2), cuatro (m4) y 6 (m6) meses.

Tabla 9. Efecto de los compartimentos (suelo sin cultivar, no rizosférico, rizósfera y raíces) sobre las comunidades bacterianas en los tratamientos Control, Sequía y Sequía severa usando el análisis composicional de ALDEx2.

Tratamiento Control		Tratamiento Sequía		Tratamiento Sequía severa	
Proteobacteria ^a	1.8×10 ⁻⁵ ^b	Gemmatimonadetes	1.2×10 ⁻⁵	Gemmatimonadetes	1.1×10 ⁻⁵
TM7	2.4×10 ⁻⁵	TM7	3.7×10 ⁻⁵	Proteobacteria	3.5×10 ⁻⁵
				TM7	3.6×10 ⁻⁶
<i>Agrobacterium</i>	4.8×10 ⁻⁵	<i>Candidatus Entotheonella</i>	1.9×10 ⁻⁵	<i>Afifella</i>	1.1×10 ⁻⁵
<i>Candidatus Solibacter</i>	4.3×10 ⁻⁶	<i>Candidatus Solibacter</i>	9.2×10 ⁻⁶	<i>Agrobacterium</i>	1.6×10 ⁻⁵
<i>Gemmata</i>	7.6×10 ⁻⁶	<i>Gemmata</i>	3.2×10 ⁻⁵	<i>Candidatus Solibacter</i>	1.1×10 ⁻⁵
<i>Nitrospira</i>	9.7×10 ⁻⁶	<i>Iamia</i>	3.5×10 ⁻⁵	<i>Euzebya</i>	1.2×10 ⁻⁵
<i>Pedomicrobium</i>	5.8×10 ⁻⁵	<i>Nitrospira</i>	2.0×10 ⁻⁵	<i>Gemmata</i>	9.4×10 ⁻⁶
<i>Pilimelia</i>	2.3×10 ⁻⁵	<i>Pedomicrobium</i>	4.9×10 ⁻⁵	<i>Nitrospira</i>	6.4×10 ⁻⁶
<i>Pirellula</i>	3.0×10 ⁻⁵	<i>Pilimelia</i>	3.9×10 ⁻⁵	<i>Pedomicrobium</i>	4.0×10 ⁻⁶
<i>Planctomyces</i>	4.8×10 ⁻⁵	<i>Pirellula</i>	3.7×10 ⁻⁵	<i>Pilimelia</i>	1.0×10 ⁻⁵
<i>Pseudomonas</i>	5.4×10 ⁻⁵	<i>Pseudoxanthomonas</i>	3.6×10 ⁻⁵	<i>Pseudonocardia</i>	4.9×10 ⁻⁶
<i>Rhodoplanes</i>	2.4×10 ⁻⁵	<i>Rhodoplanes</i>	1.7×10 ⁻⁵	<i>Rhodoplanes</i>	6.1×10 ⁻⁶

^a Se presentan solo los grupos que fueron estadísticamente significativos ($p < 0.005$)

^b Valores p esperados de la prueba de Kruskal-Wallis obtenidos del análisis composicional basado en ALDEx2.

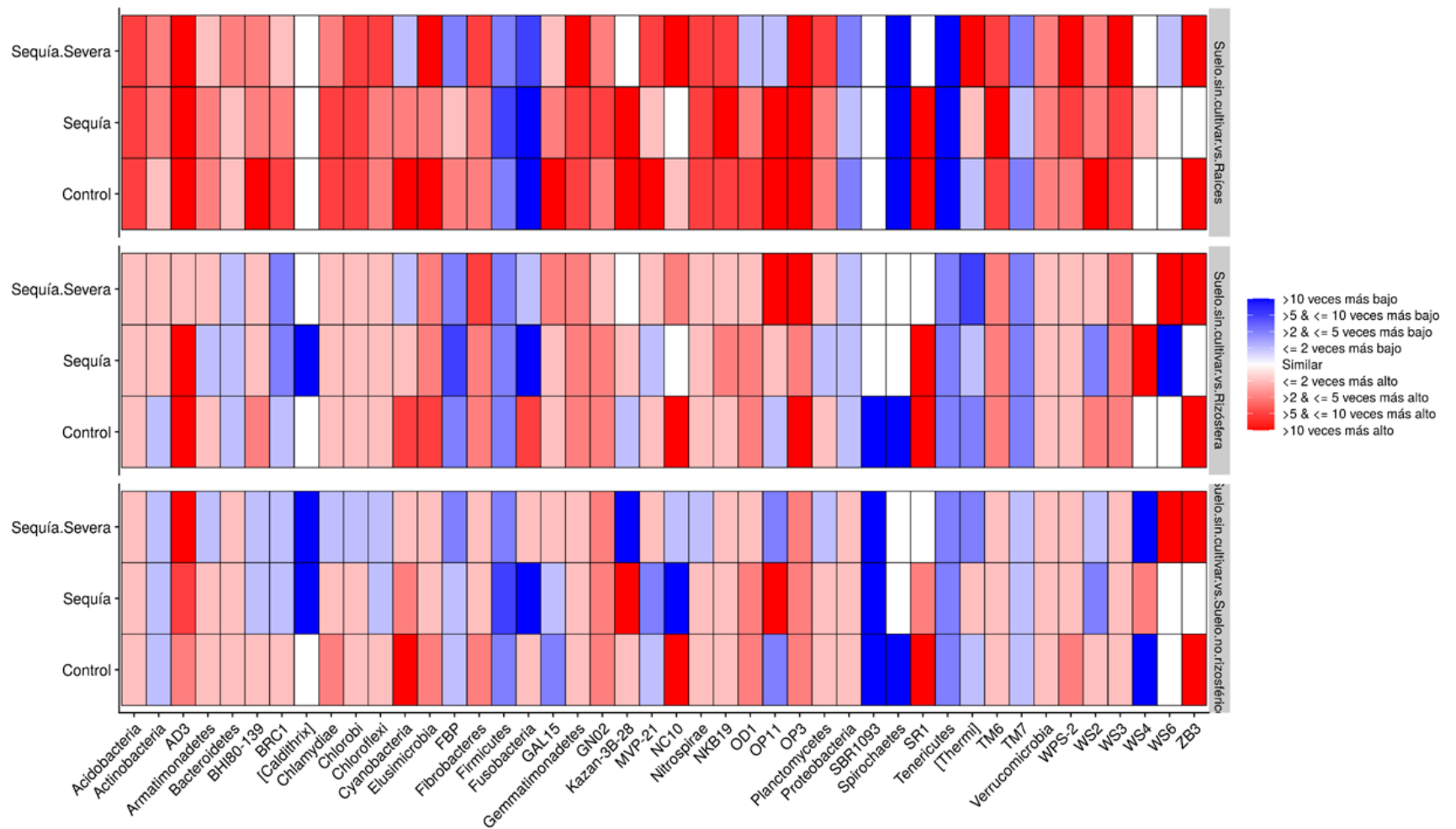


Figura 14. Heatmap de la razón de cambio relativo de los suelos sin cultivar en comparación con los diferentes compartimentos a nivel de filo. Azul indica disminución y rojo aumento en el suelo sin cultivar en comparación con los otros compartimentos; i.e, suelo no rizosférico, rizósfera y raíces

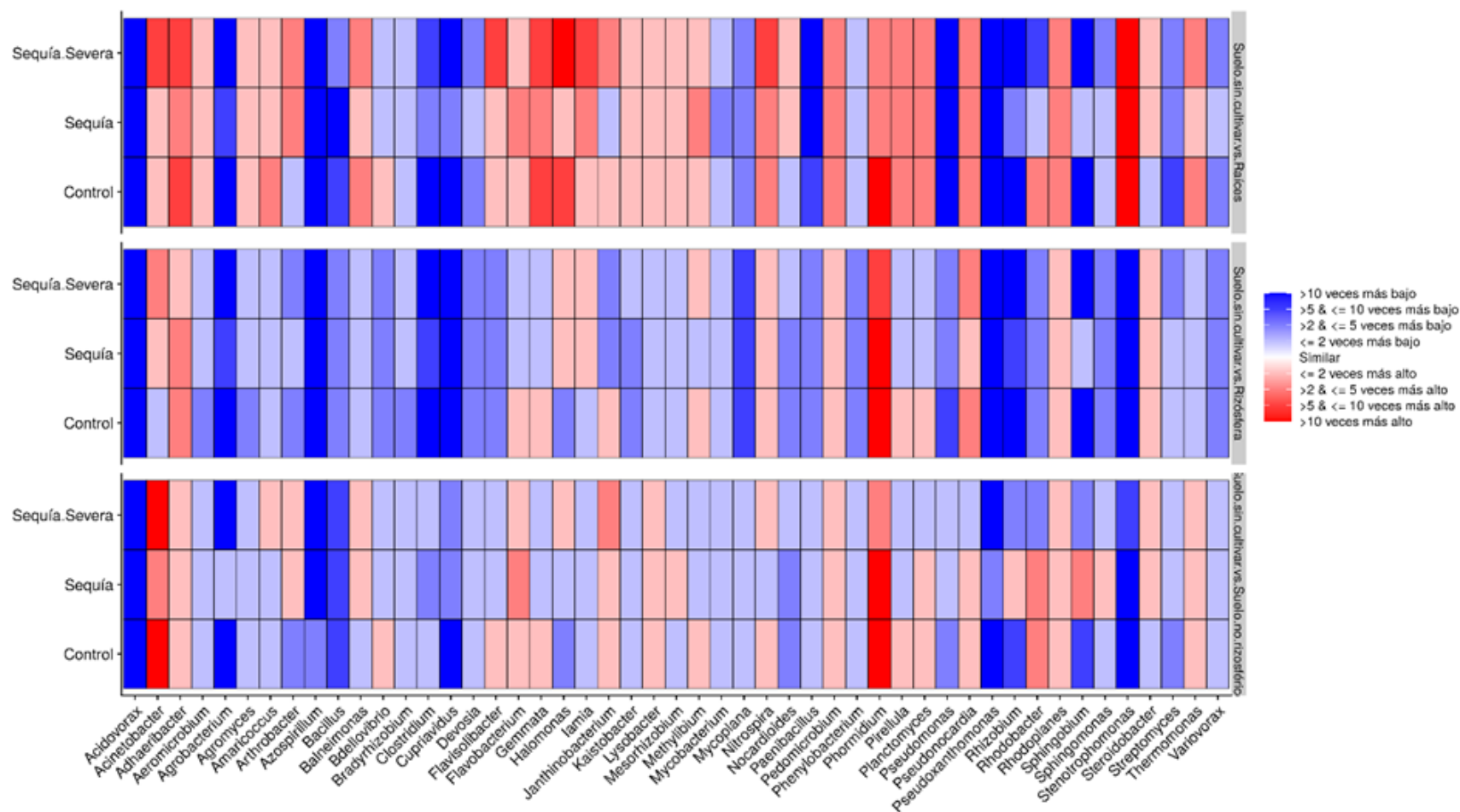


Figura 15. Heatmap de la razón de cambio relativo de los suelos sin cultivar en comparación con los diferentes compartimentos a nivel de género. Azul indica disminución y rojo aumento en el suelo sin cultivar en comparación con los otros compartimentos; i.e, suelo no rizosférico, rizósfera y raíces

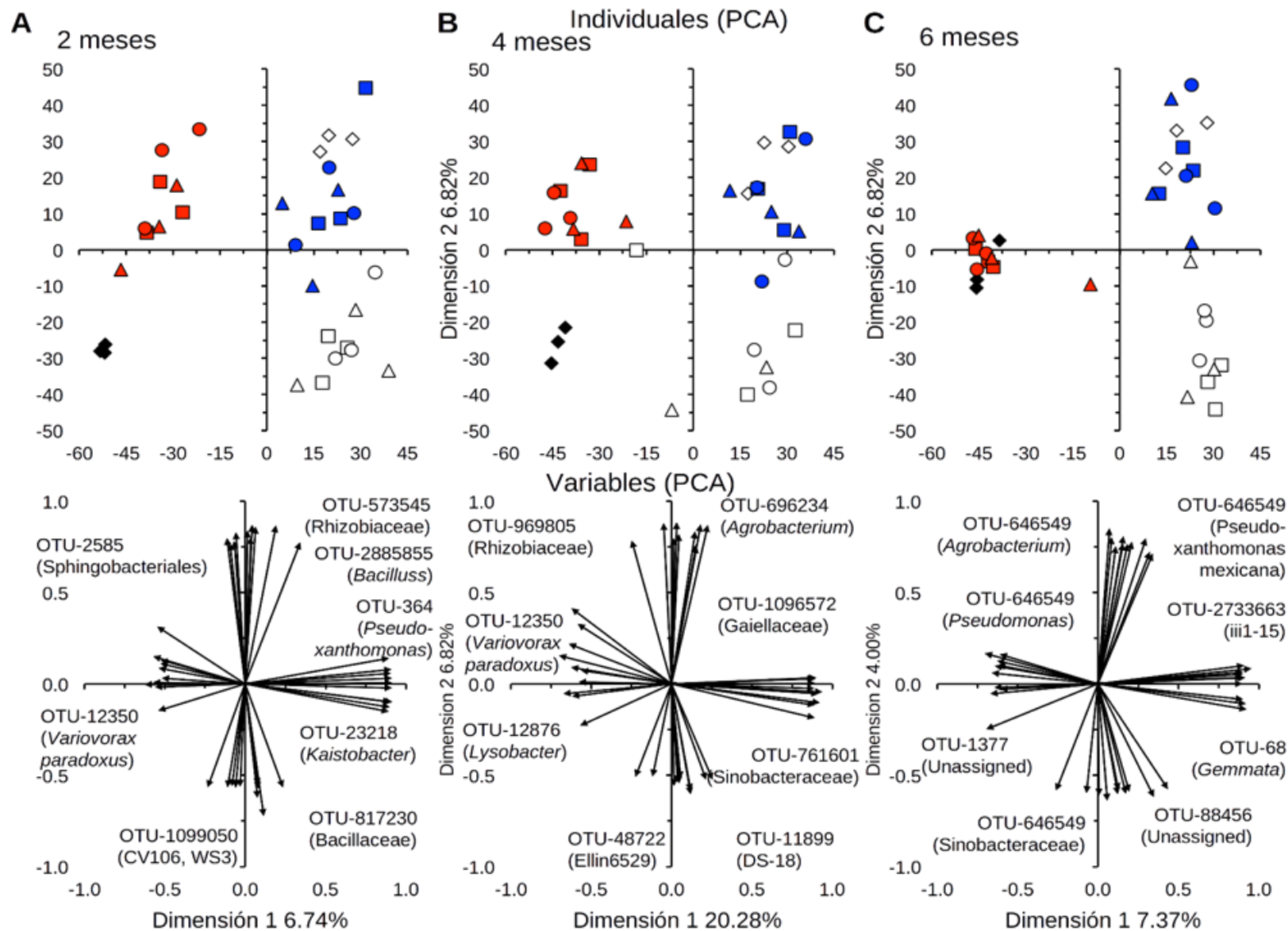


Figura 16. Análisis de componentes principales con las OTUs en el suelo, en la rizósfera y en las raíces de *Ricinus communis* L. Suelo sin cultivar control (\square), sequía (\circ) y sequía severa (\triangle), en la rizósfera control (\blacksquare), sequía (\bullet) y sequía severa (\blacktriangle), raíces control (\blacksquare), sequía (\bullet) y sequía severa (\blacktriangle), en las semillas (\blacklozenge) y en el suelo inicial (\diamond).

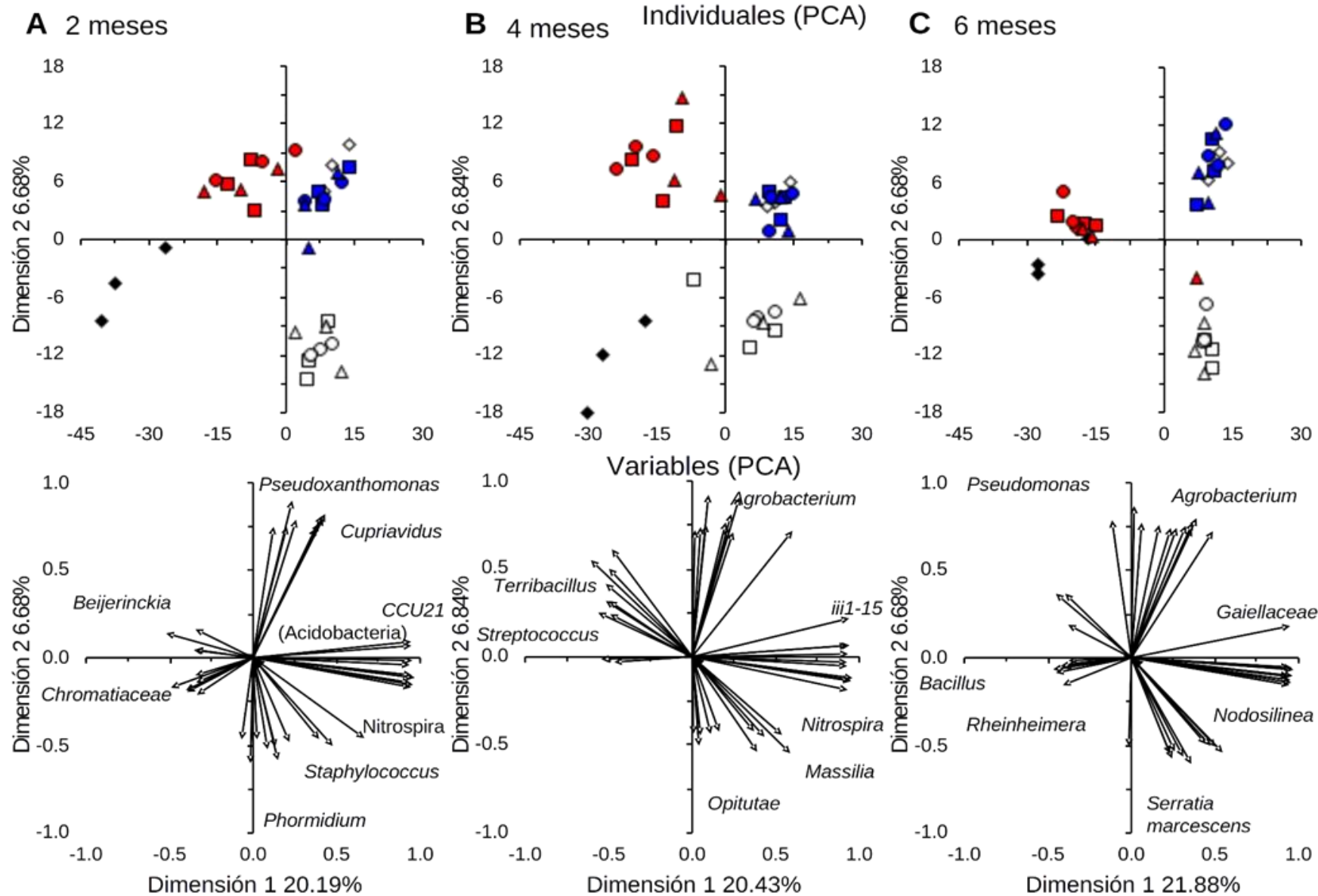


Figura 17. Análisis de componentes principales con los géneros bacterianos en el suelo, en la rizósfera y en las raíces de *Ricinus communis* L. Suelo sin cultivar control (\square), sequía (\circ) y sequía severa (\triangle), en la rizósfera control (\blacksquare), sequía (\bullet) y sequía severa (\blacktriangle), raíces control (\blacksquare), sequía (\bullet) y sequía severa (\blacktriangle), en las semillas (\blacklozenge) y en el suelo inicial (\diamond).

Tabla 10. Efecto de los compartimentos (suelo sin cultivar, no rizosférico, rizósfera y raíces) y tiempo (2, 4 y 6 meses) sobre la estructura de las comunidades bacterianas.

Factor	Control		Sequía		Sequía severa	
	F	p	F	p	F	p
Filo						
Compartimentos	5.92	< 0.001^b	7.23	< 0.001	9.08	< 0.001
Tiempo	1.21	0.221	1.18	0.255	1.28	0.213
Compartimentos*Tiempo	1.54	0.074	1.61	0.083	1.61	0.052
Género						
Compartimentos	2.99	< 0.001	3.47	< 0.001	3.64	< 0.001
Tiempo	1.24	0.114	1.31	0.104	1.33	0.104
Compartimentos*Tiempo	0.99	0.459	1.15	0.169	1.10	0.209
OTUs						
Compartimentos	1.65	< 0.001	1.66	< 0.001	1.74	< 0.001
Tiempo	0.98	0.529	1.03	0.230	1.02	0.278
Compartimentos*Tiempo	1.00	0.444	0.99	0.528	1.02	0.303

^a Análisis perMANOVA con las lecturas clr transformadas argumento *aldex.clr* (paquete ALDEx2) (Fernandes et al., 2013).

5.7. Efecto de los regímenes de riego sobre la estructura de la comunidad bacteriana

Ninguno de los géneros o filos bacterianos se vio afectado de manera significativa por los diferentes regímenes de riego en el suelo no rizosférico y solo un grupo limitado se vio afectado significativamente en el suelo sin cultivar, rizósfera y raíces (Tabla 12, Fig. 18 y 19).

El PCA no separó las comunidades bacterianas en los tratamientos Control, Sequía y Sequía severa en los suelos sin cultivar, no rizosférico, rizósfera y raíces considerando los géneros bacterianos (Fig. 20). Sin embargo, la estructura de la comunidad bacteriana en las raíces mostró cambios debido al tiempo. En consecuencia, el perMANOVA no mostró efectos significativos por los regímenes de riego sobre las comunidades bacterianas, pero sí mostró un efecto significativo por efecto del tiempo en los suelos no rizosféricos, rizósfera y con un tamaño de efecto mayor en las raíces (Tabla 13).

Tabla 11. Grupos bacterianos diferencialmente abundantes entre diferentes regímenes de riego en el suelo, en la rizósfera y en las raíces de *Ricinus communis* L.

Suelo sin cultivar		Rizósfera		Raíces	
Actinobacteria ^a	0.015 ^b	TM7	0.022	Firmicutes	0.030
Cyanobacteria	0.007	<i>Glycomyces</i>	0.001	OD1	0.030
OD1	0.022	<i>Janthinobacterium</i>	0.018	<i>Bacillus</i>	0.033
Verrucomicrobia	0.046	<i>Rhodobacter</i>	0.004	<i>Luteimonas</i>	0.028
<i>Euzebya</i>	0.026			<i>Ochrobactrum</i>	0.046
<i>Hydrogenophaga</i>	0.045			<i>Promicromonospora</i>	0.028
<i>Nodosilinea</i>	0.005			<i>Sphingomonas</i>	0.017
<i>Phormidium</i>	0.007				
<i>Rhodobacter</i>	0.017				

^a Todos los grupos bacterianos que fueron afectados por los regímenes de riego, dado ($p < 0.05$),

^b Los valores p esperados de la prueba de Kruskal-Wallis usando ALDEx2 (paquete ALDEx2)

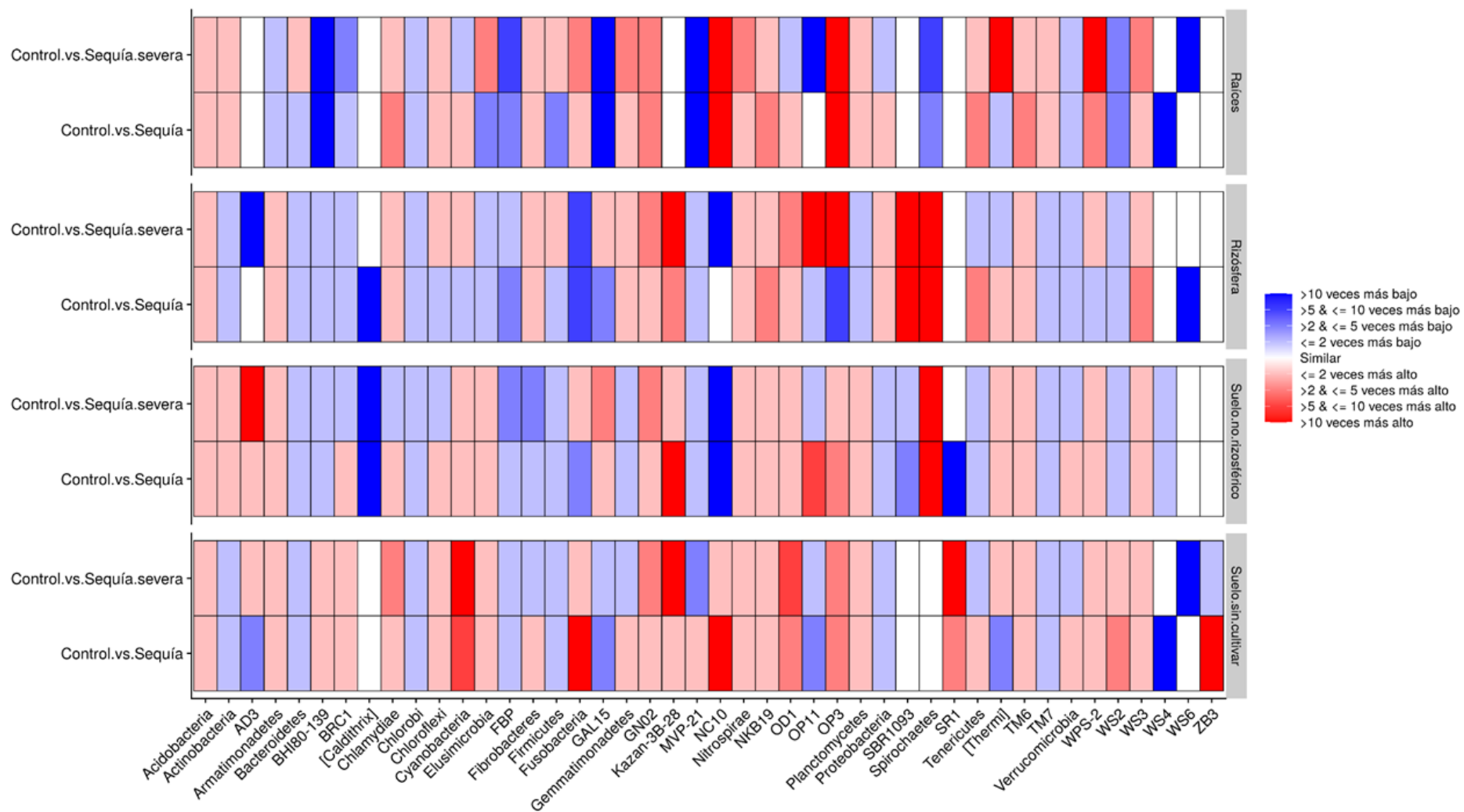


Figura 18. Heatmap de la razón de cambio relativo de los suelos Control en comparación con los tratamientos de Sequía y Sequía severa nivel de filo. Azul indica disminución y rojo aumento en el suelo Control en comparación con los otros tratamientos; i.e, Suelos en Sequía y Sequía severa.

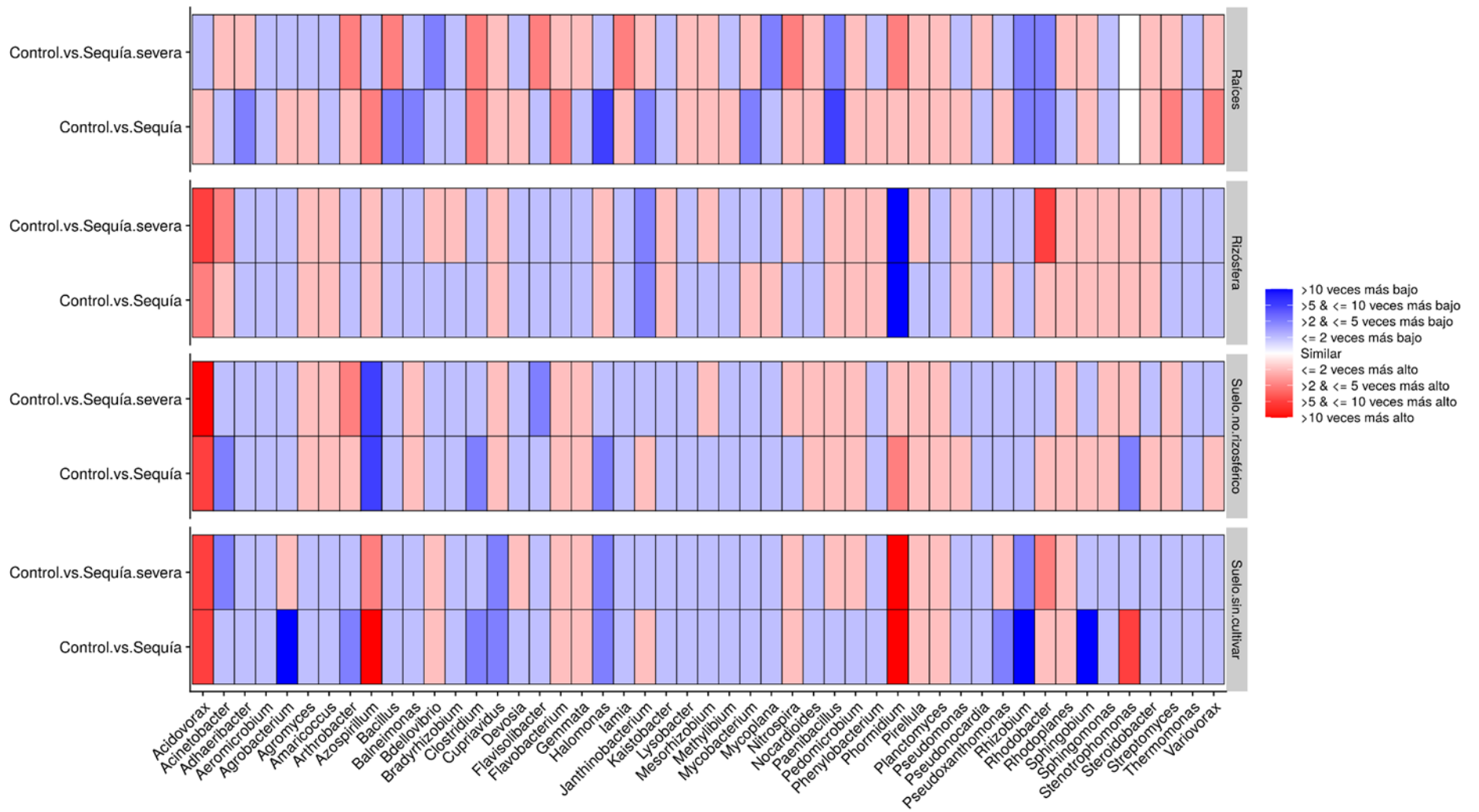


Figura 19. Heatmap de la razón de cambio relativo de los suelos Control en comparación con los tratamientos de Sequía y Sequía severa nivel de género. Azul indica disminución y rojo aumento en el suelo Control en comparación con los otros tratamientos; i.e, Suelos en Sequía y Sequía severa.

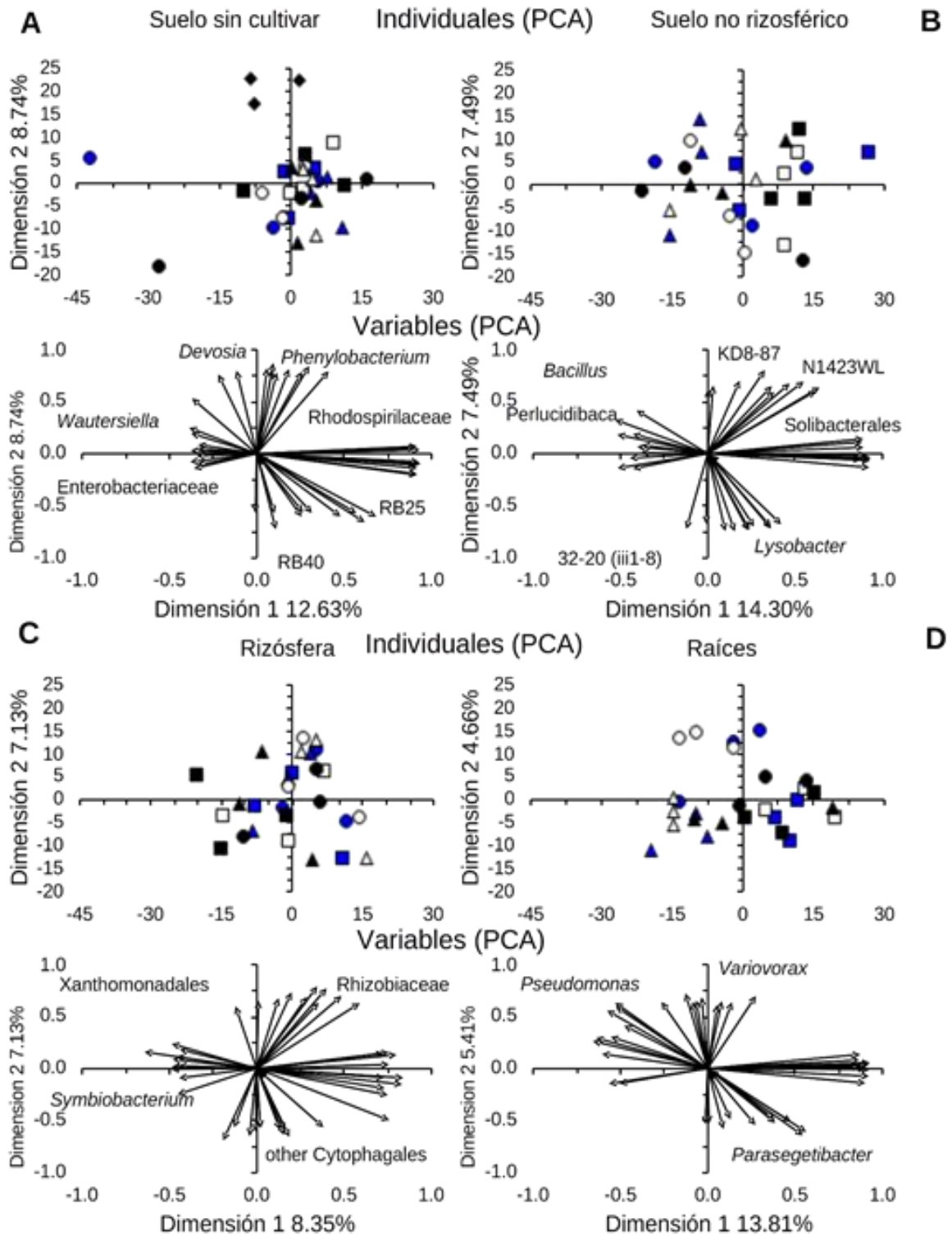


Figura 20. Análisis de componentes principales con los géneros bacterianos en el suelo, en la rizósfera y en las raíces de *Ricinus communis* L. Al principio del experimento (◆), en el tratamiento control a los 2 (■), 4 (●) y 6 meses (▲), sequía a los 2 (■), 4 (●) y 6 meses (▲) y sequía severa a los 2 (□), 4 (○) y 6 meses (△).

Tabla 12. Efecto de los regímenes de riego (RR) en los tiempos de muestreo y sus interacciones sobre las comunidades bacterianas (perMANOVA).

Factor	Suelo sin cultivar		Suelo no rizosférico		Rizósfera		Raíces	
	F	p	F	p	F	p	F	p
Filo								
RR	1.29	0.113	0.83	0.715	1.32	0.110	1.38	0.089
Tiempo	0.66	0.871	1.41	0.145	1.20	0.248	2.35	0.002 ^a
RR*Tiempo	0.91	0.634	0.44	0.996	1.05	0.374	1.00	0.476
Género								
RR	0.96	0.767	0.93	0.861	0.98	0.628	1.18	0.065
Tiempo	0.99	0.528	1.43	< 0.001	1.37	< 0.001	2.16	< 0.001
RR*Tiempo	0.92	0.941	0.88	0.985	0.98	0.610	1.01	0.409
OTUs								
RR	0.99	0.697	0.97	0.880	1.01	0.231	1.02	0.162
Tiempo	0.98	0.729	1.09	0.033	1.08	0.005	1.14	< 0.001
RR*Tiempo	0.96	0.986	0.93	0.999	1.00	0.587	1.00	0.399

^a Valores p en negrita indican diferencias significativas

5.8. Efecto de los comportamientos sobre la estructura de la comunidad eucariótica

La abundancia relativa de los diferentes compartimentos fue en un gran porcentaje asignada al supergrupo Opisthokonta (Hongos en su gran mayoría) en la endósfera (abundancia relativa promedio de semillas y raíces, $99.36 \pm 0.27\%$) y en los suelos (abundancia relativa promedio entre suelos sin cultivar, no-rizosféricos y rizosféricos $96.98 \pm 2.69\%$) (Fig. 21A).

Al principio del experimento el suelo utilizado fue dominado por los filo fúngicos de Ascomycota ($90.52 \pm 0.39\%$) y Mucoromycota ($5.97 \pm 0.06\%$) (Fig. 21B) y el superfilo no fúngico Alveolata (Fig. 21C) ($0.98 \pm 0.11\%$). Los géneros fúngicos que predominaron fueron *Fusarium* (73.66 ± 0.35), *Penicillium* (4.41 ± 0.71) y *Absidia* ($2.24 \pm 0.12\%$) (Fig. 21D).

Los compartimentos tuvieron un efecto altamente significativo sobre las comunidades eucarióticas considerando todas las OTUs, los filo y géneros fúngicos, y los eucariontes no fúngicos ($p < 0.0001$) (Tabla 14). El análisis diferencial de abundancias ALDEx2 identificó 20 de los 236 grupos asignados al nivel de género (Tabla 15). La mayoría de los taxa fueron diferentes con respecto a las raíces sin tener en cuenta los tratamientos (Fig. 22). *Olpidium* (división Chytridiomycota), *Funneliformis* (div. Mucoromycota), *Septoglomus* (div. Mucoromycota) y *Verticillium* (div. Ascomycota) fueron enriquecidos significativamente en las raíces en comparación con los otros compartimentos (suelos sin cultivar, no rizosféricos y rizósfera) (Fig. 22). Por otro lado, *Fusarium*, *Mortierella*, y *Epichloe*, *Arthrinium* disminuyeron significativamente en las raíces en comparación con los otros compartimentos (Fig. 22). En el PCA considerando todas las OTUs y los géneros, se encontró una separación entre las raíces de los demás compartimentos (suelos sin cultivar, no rizosférico y rizósfera), siendo acorde a los resultados anteriormente obtenidos. Las raíces se caracterizaron generalmente por una mayor abundancia relativa de *Olpidium*, *Septoglomus*, *Funneliformis* y *Cladosporium* mientras que la abundancia relativa de *Fusarium* y *Penicillium* mostró una tendencia opuesta relacionándose con los suelos (Fig. 23).

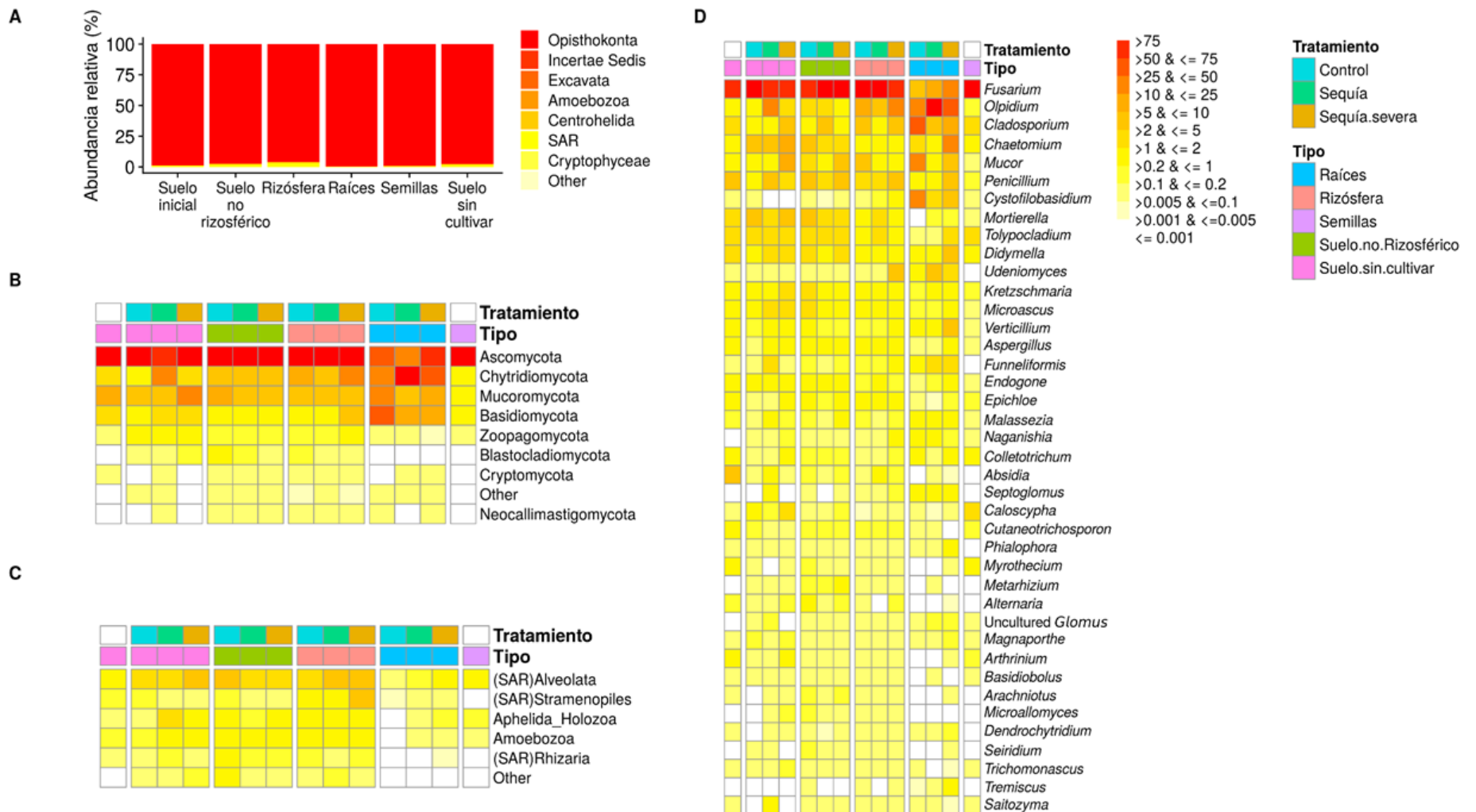


Figura 21. Abundancias relativas de grupos de eucariontes en el suelo, en la rizósfera y en las raíces de *Ricinus communis* L. sometidos a diferentes regímenes de riego. A) Supergrupos de Eucariontes, B) Hongos a nivel de filo, C) Eucariontes no fúngicos, D) Hongos a nivel de género.

Tabla 13. Efecto de los compartimentos y los regímenes de riego sobre la estructura de las comunidades eucarióticas fúngicas y no fúngicas

Nivel taxonómico	Control		Sequía		Sequía severa	
	F	p ^a	F	p	F	p
Filo (Fúngico)	3.19	0.004	55.93	0.001	4.21	0.009
Género (Fúngico)	6.76	0.001	33.37	0.001	6.03	0.001
Eucariontes no Fúngicos	3.93	0.001	5.14	0.001	3.65	0.002
OTUs	4.15	0.001	11.81	0.001	7.04	0.001

^a Valores p en negrita indican diferencias significativas

Tabla 14. Grupos eucarióticos diferencialmente abundantes por efecto de los compartimentos (suelo sin cultivar, no rizosférico, rizósfera y raíces) en los tratamientos Control, Sequía y Sequía severa.

Tratamiento Control		Tratamiento Sequía		Tratamiento Sequía severa	
<i>Cladosporium</i> ^a	0.020 ^b	<i>Aspergillus</i>	0.047	<i>Epichloe</i>	0.035
<i>Epichloe</i>	0.027	<i>Chaetomium</i>	0.012	<i>Fusarium</i>	0.009
<i>Fusarium</i>	0.023	<i>Epichloe</i>	0.015	<i>Metarhizium</i>	0.044
<i>Mucor</i>	0.050	<i>Fusarium</i>	0.014	<i>Tolypocladium</i>	0.024
<i>Seiridium</i>	0.042	<i>Funnelformis</i>	0.004	<i>Verticillium</i>	0.026
<i>Tolypocladium</i>	0.018	<i>Kretzschmaria</i>	0.019	<i>Absidia</i>	0.041
<i>Mortierella</i>	0.016	<i>Mucor</i>	0.008	<i>Basidiobolus</i>	0.020
<i>Olpidium</i>	0.034	<i>Ophiocordyceps</i>	0.045	<i>Funnelformis</i>	0.049
Unc.rhizosphere	0.018	<i>Penicillium</i>	0.005	<i>Mortierella</i>	0.010
		<i>Tolypocladium</i>	0.001	<i>Mugor</i>	0.013
		<i>Mortierella</i>	0.003	<i>Olpidium</i>	0.008
		<i>Olpidium</i>	0.003	<i>Septoglomus</i>	0.009
		<i>Septoglomus</i>	0.001		

^a Se presentan solo los grupos que fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$)

^b Valores p esperados de la prueba de Kruskal-Wallis obtenidos del análisis composicional basado en ALDEx2.

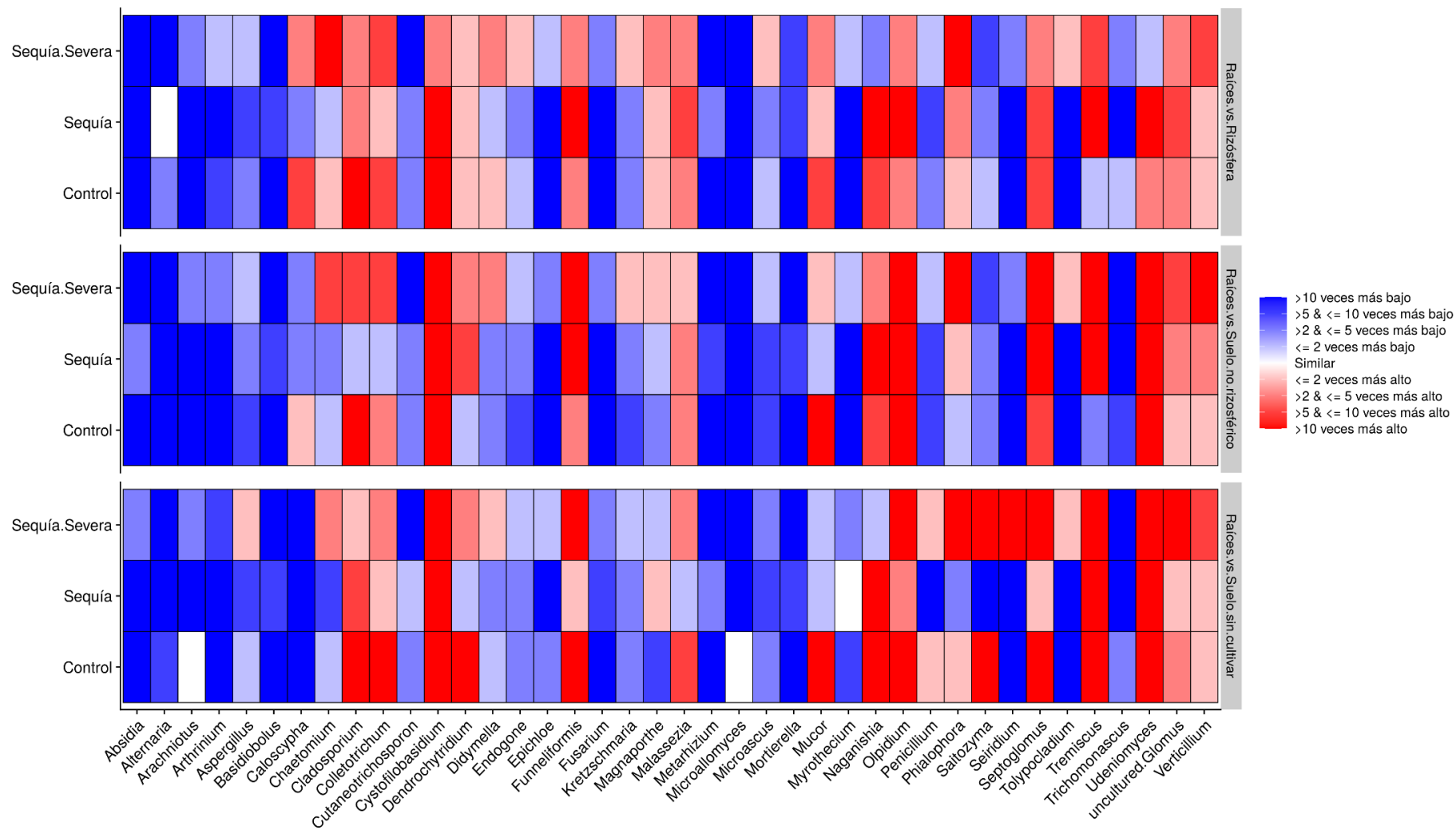


Figura 22. Heatmap de la razón de cambio relativo de los suelos Sin cultivar en comparación con los otros compartimentos a nivel de género. Azul indica disminución y rojo aumento en el suelo Sin cultivar en comparación con los otros compartimentos; i.e, Suelos no rizosférico, rizosférico y raíces.

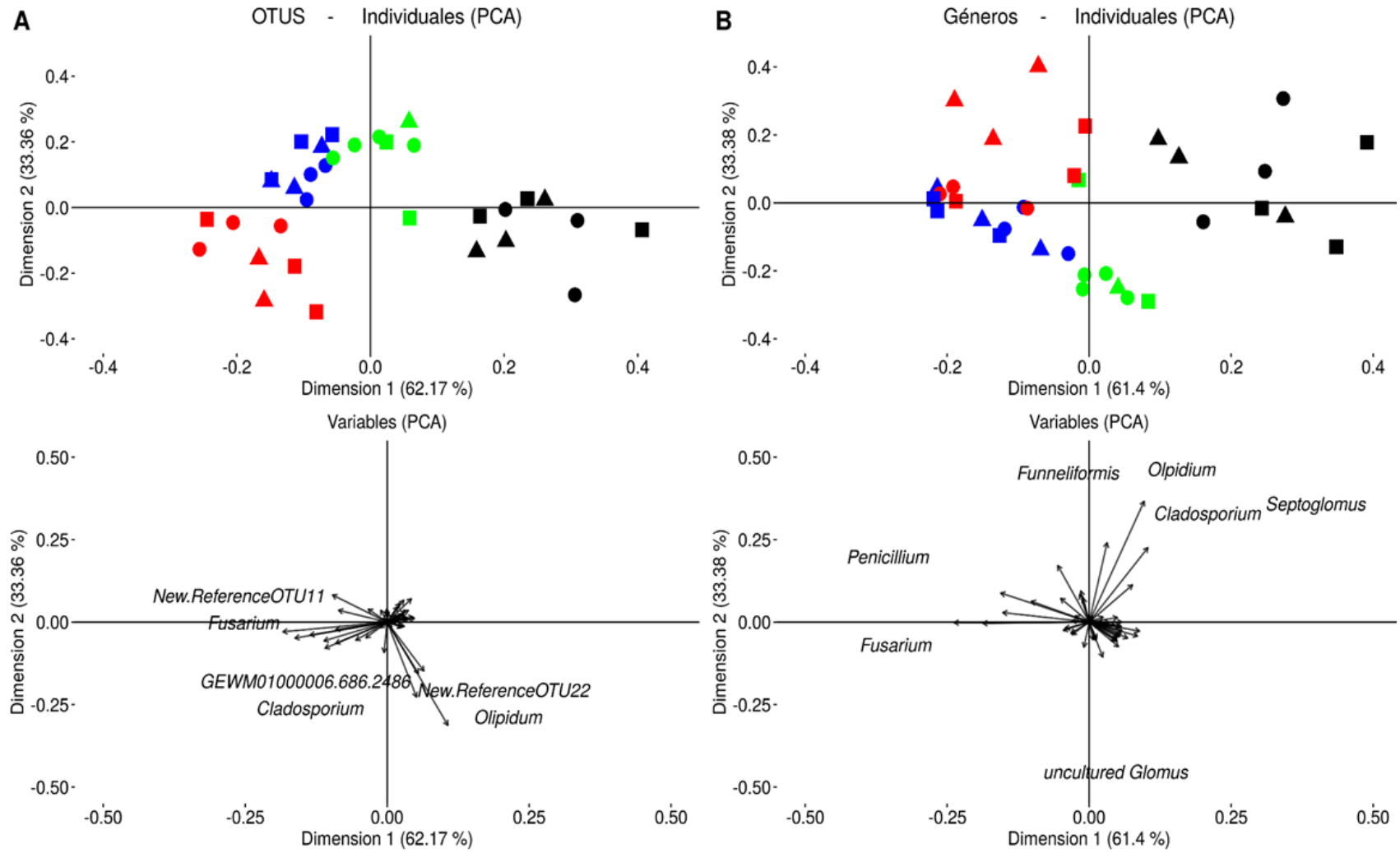


Figura 23. Análisis de componentes principales con los OTUs y géneros eucarióticos en el suelo, en la rizósfera y en las raíces de *Ricinus communis* L. En las Raíces Control (■), Sequía (●) y Sequía severa (▲), Rizósfera Control (■), Sequía (●) y Sequía severa (▲), en el Suelo no rizosférico Control (■), Sequía (●) y Sequía severa (▲) y en el Suelo sin cultivar Control (■), Sequía (●) y Sequía severa (▲).

5.9. Efecto de los regímenes de riego sobre la estructura de las comunidades eucarióticas.

El perMANOVA mostró que los tratamientos de sequía tuvieron un efecto significativo sobre la estructura de las comunidades eucarióticas a todos los niveles en las raíces ($p < 0.001$) (Tabla 16). El PCA no muestra claramente el efecto por los tratamientos en cada uno de los compartimentos estudiados (Fig. 23).

El análisis ALDEx2 identificó sólo en las raíces 12 de los 236 grupos asignados al nivel de género como diferencialmente abundantes, (Tabla 17). Por ejemplo, la abundancia relativa de *Mortierella*, *Fusarium*, *Olpidium*, *Tolypocladium*, *Septoglomus*, *Microascus* y *Verticillium* aumentó en las raíces en tratamientos de sequía en comparación con las raíces control, en cambio, la abundancia relativa de *Chaetonium* disminuyó (Fig. 24).

Tabla 15. Efecto de los regímenes de riego sobre la estructura de las comunidades eucarióticas fúngicas y no fúngicas.

Nivel taxonómico	Suelo sin cultivar		Suelo no rizosférico		Rizósfera		Raíces	
	F	p	F	p	F	p	F	p
Filo (Fúngico)	1.97	0.111	0.68	0.569	1.20	0.346	5.64	0.001
Género (Fúngico)	2.78	0.071	0.70	0.533	1.29	0.274	5.29	0.001
Eucariontes no fúngicos	2.37	0.083	1.01	0.440	1.30	0.215	5.26	0.001
OTUs	1.01	0.516	1.20	0.297	2.20	0.038	3.18	0.001

^a Valores p en negrita indican diferencias significativas, PERMANOVA (adonis)

Tabla 16. Géneros eucarióticos diferencialmente abundantes entre los tratamientos Control, Sequía y Sequía severa.

Raíces	
<i>Olpidium</i> ^a	0.007 ^b
<i>Didymella</i>	<0.001
<i>Aspergillus</i>	0.033
<i>Penicillium</i>	0.005
<i>Verticillium</i>	0.008
<i>Fusarium</i>	0.009
<i>Tolyposcladium</i>	0.023
<i>Microascus</i>	0.005
<i>Chaetomium</i>	0.023
<i>Septoglomus</i>	0.017
<i>Phialophora</i>	0.046
<i>Mortierella</i>	0.030

^a Se presentan solo los grupos que fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$)

^b Valores p esperados de la prueba de Kruskal-Wallis obtenidos del análisis composicional basado en ALDEx2.

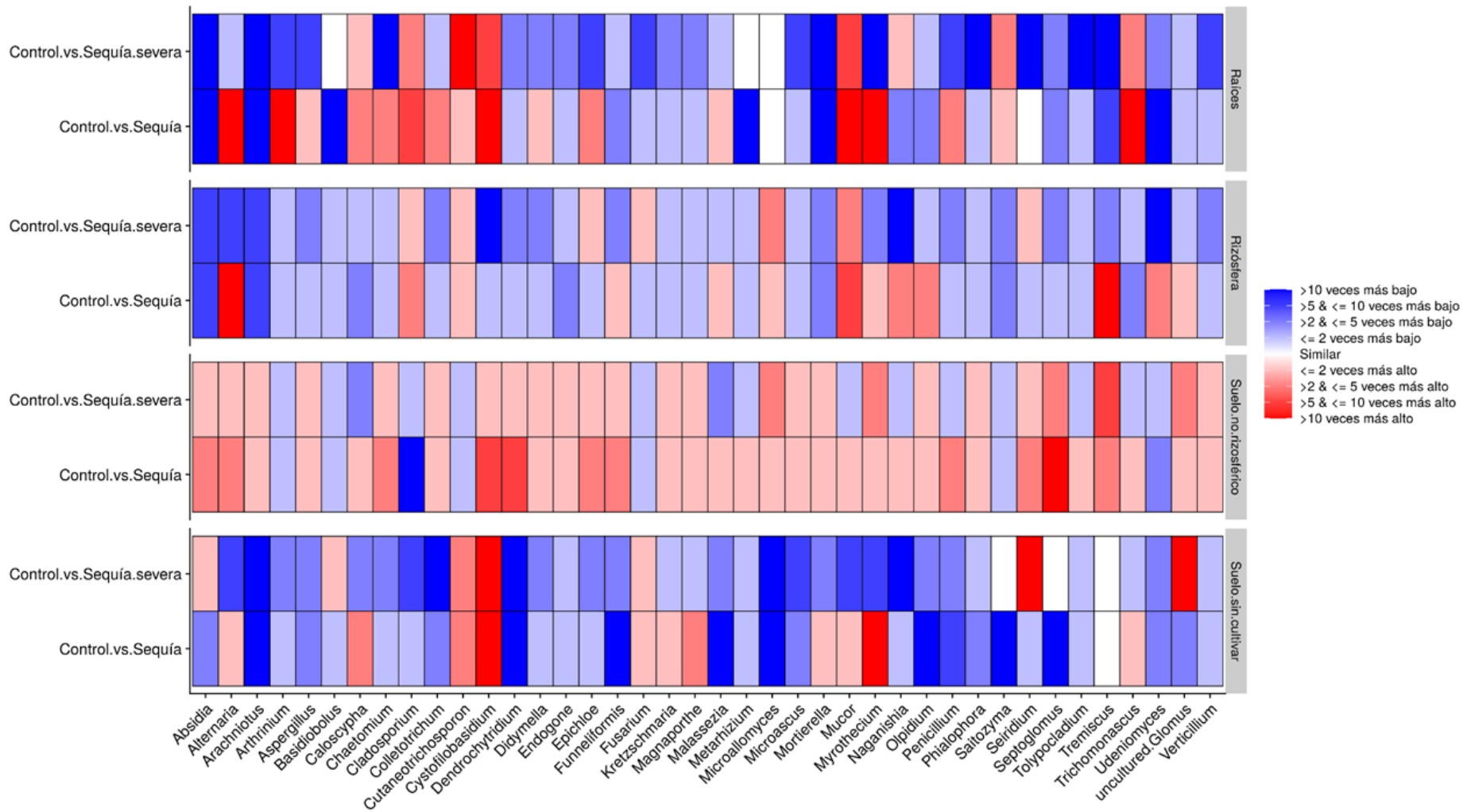


Figura 24. Heatmap de la razón de cambio relativo de los tratamientos Control en comparación con los tratamientos de Sequía y Sequía severa a nivel de género. Azul indica disminución y rojo aumento el suelo Control en comparación con los tratamientos de Sequía y Sequía severa.

6. DISCUSIÓN

6.1. Desarrollo de la planta

Estudiar cómo las plantas responden a sequías prolongadas es un área que está tomando cada vez más importancia a medida que el cambio climático induce cada vez más precipitaciones irregulares en muchas partes del mundo (Lau & Lennon, 2012). El efecto más típico de la sequía en plantas es la reducción del crecimiento debido a cambios en los balances iónicos, contenido de agua, eficiencia fotosintética y la distribución y utilización del carbono (Janmohammadi et al., 2012). Pueden ocurrir otros cambios como la reducción del área foliar, madurez temprana y cerramiento estomático prolongado para mitigar los posibles efectos de la sequía (Obidiegwu, 2015; Silva Dalberto et al., 2017). El número de hojas disminuye, como se encontró en este estudio, debido a que las plantas liberan las hojas viejas de manera temprana manteniendo así aquellas que poseen una mayor tasa fotosintética (Chaves et al., 2003).

El metabolismo y la concentración de sacarosa, la principal forma de transporte de carbono en las plantas, se reduce bajo estrés osmótico como resultado de cambios en el proceso fotosintético (Muscolo et al., 2003). La sequía conlleva a la reducción en el peso seco de raíces y hojas, como se encontró en este estudio. En el presente trabajo, la longitud de la raíz disminuyó más que la longitud del tallo como se observa en otros estudios en ricino (Bauddh & Singh, 2012; Janmohammadi et al., 2012; Shi et al., 2015).

6.2. Efecto de la sequía en la interacción ricino-micorriza, características morfológicas y contenido fenólico.

En este trabajo, se identificaron en ricino estructuras tales como arbusculos, esporas y vesículas conectadas a hifas, estructuras usualmente reportadas como modelo de simbiosis (Parniske, 2008). En este sentido, las micorrizas arbusculares observadas en este trabajo han sido reportadas formando simbiosis con la mayoría de las plantas terrestres, algunas de tipo benéfico, siendo posible el incremento en la toma de nutrientes y el mejoramiento en la tolerancia al estrés por sequía por parte de la planta (Van Der Heijden et al., 2006). Este fenómeno se ha reportado, por ejemplo, en cítricos, donde las micorrizas arbusculares mejoran la absorción de agua y nutrientes por medio del crecimiento hifal extrarradical, una configuración espacial efectiva de las raíces, además de una concentración elevada de tetraminas y un ajuste osmótico a través de carbohidratos no estructurales y también una eliminación de especies reactivas de oxígeno a través de la síntesis de enzimas y compuestos antioxidantes (Wu et al., 2013).

Los resultados del presente estudio indican que ricino desarrolla asociaciones micorrícicas en sus raíces en condiciones de sequía severa potencialmente benéficas ayudándole a soportar la sequía. Por ejemplo, Zhang et al. (2018) mostró que las asociaciones con ricino-micorriza arbuscular estimulan el crecimiento de la planta, incrementando significativamente la biomasa aérea, la tasa fotosintética, la conductancia estomática y la tasa de transpiración en condiciones de sequía y estrés salino. Sin embargo, la sequía severa disminuyó significativamente el establecimiento de la interacción ricino-micorriza después de los 2 meses de crecimiento. Esto es

consistente con el estudio de Al-Karaki et al. (2004), en el cual en etapas tempranas de la planta de trigo no hay diferencias significativas en la colonización de micorrizas entre las plantas bien regadas y las plantas estresadas por sequía, y con los estudios de Abbaspour et al. (2012) con pistache, y Kilpeläinen et al. (2017) *Betula pendula*, *Sorbus aucuparia*, *Alnus incana* que observaron una disminución drástica de la colonización en las raíces en condiciones de sequía severa en comparación con las raíces control.

El estrés hídrico o por sequía en los tiempos y condiciones estudiadas parece inhibir la síntesis de compuestos fenólicos en raíces y hojas de *R. communis*. Resultados similares se han encontrado en raíces y hojas de plantas de uvas en condiciones de sequía (Król et al., 2014). En lo que respecta a los fenoles totales se encontró un mayor contenido en las hojas que en las raíces, esto ha sido reportado previamente en plantas de ricino tanto en condiciones normales en diversos cultivares (Wafa et al., 2014) como expuestas a estrés (Hadi et al., 2015).

6.3. Diversidad alfa

En el presente trabajo, los regímenes de riego no tuvieron un efecto significativo en la diversidad de especies bacterianas y levemente en diversidad de especies de eucariotas en las raíces. En el mismo sentido, Tóth et al. (2017) no encontraron diferencias en la diversidad alfa entre los tratamientos control y los de sequía, mientras que Armstrong et al. (2016) reportaron poca o ninguna variación temporal en la diversidad alfa en suelos desérticos. La riqueza bacteriana en las raíces de *R. communis* representó el 25% de la riqueza de la rizósfera. La diversidad alfa suele

disminuir significativamente de los suelos a las raíces, esto ha sido reportado en diferentes plantas, por ejemplo, un gran número de pastizales (Poaceae) (Naylor et al., 2017), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Lee et al., 2019), arroz (*Oryza sativa* L.) (Edwards et al., 2015) y *Arabidopsis thaliana* (Lundberg et al., 2012). Este fenómeno de reducción de la diversidad y riqueza en la comunidad endofítica es debido a que los endófitos deben interactuar exitosamente con la planta para sobrevivir, reduciendo la entrada de otros microorganismos a través de la estimulación defensiva de la planta (Köberl et al., 2013).

6.4. Efecto del contenido de los compartimentos sobre las comunidades microbianas

La diversidad y riqueza de especies bacterianas disminuyeron drásticamente en las raíces en comparación con los otros compartimentos, caso contrario a lo observado en este estudio para la comunidad eucariótica dominada principalmente por hongos. Este resultado es congruente con los altos porcentajes de colonización micorrícica en las raíces de ricino. Posiblemente, la resistencia de *R. communis* a la sequía pueda explicarse por su eficiente asociación con hongos mutualistas, igual que en plantas de alfalfa y en plantas de lechuga (Zhu et al., 2010; Baslam & Goicoechea, 2012).

En este estudio, ricino restringió aún más las bacterias con el tiempo, reteniendo mayormente grupos pertenecientes a *Pseudomonas*. Aunque una gran variedad de microorganismos puede entrar y convertirse en endófitos transitorios que son subsecuentemente filtrados a través de diferentes mecanismos, por ejemplo, las interacciones con el hospedero, atributos de utilización de nichos y la competencia por

el establecimiento de los endófitos en la planta (Köberl et al., 2013). *Pseudomonas* cumple todas estas características anteriormente mencionadas y su interacción se ha reportado como beneficiosa en una gran variedad de plantas, pues posee características promotoras de crecimiento, como la fijación de nitrógeno y la producción de hormonas o antimicrobianos que inducen la respuesta de defensa en la planta (Preston, 2004).

El ambiente de la rizósfera es diferente del suelo circundante ya que el material orgánico se descompone más fácilmente, principalmente exudados de raíces y raíces moribundas (Fan et al., 2017), estando disponible para heterótrofos y los microorganismos deben competir con las plantas por nutrientes y agua. La diversidad, cantidad y actividad de microorganismos en la rizósfera están determinados por la liberación de exudados de las raíces, que difiere entre las especies de plantas y enriquece a los microorganismos con diferentes funciones o habilidades. Aunque existen interacciones de competencia entre las plantas y los microorganismos, las plantas conforman su microbioma a través de la selección de microorganismos con funciones benéficas generando relaciones mutualistas en la rizósfera (Bakker et al., 2013). Dai et al. (2019) reportaron que la abundancia de Actinobacteria y Acidobacteria aumentó en la rizósfera de plántulas de maní en suelos expuestos a condiciones de sequía, mientras que Cyanobacteria y Gemmatimonadetes aumentó en el estado de floración. Xu et al. (2018) reportaron que Firmicutes se enriqueció en la rizósfera de sorgo y Acidobacteria se redujo en condiciones de sequía. En este estudio, la abundancia relativa de Acidobacteria, Actinobacteria y Gemmatimonadetes disminuyó en la rizósfera en comparación con el suelo sin cultivar independientemente de los

tratamientos, mientras que Cyanobacteria aumentó. La abundancia relativa de Firmicutes aumentó en el suelo no rizosférico, pero no mostró un patrón claro en la rizósfera. Como tal, las propiedades del suelo, y las características la planta y sus estadios de crecimiento definen como será afectada la comunidad bacteriana en la rizósfera (Lundberg et al., 2012; Edwards et al., 2018).

Algunos géneros bacterianos, todos pertenecientes a Proteobacteria, fueron enriquecidos mayormente en la rizósfera de ricino en comparación con el suelo sin cultivar, por ejemplo, *Pseudoxanthomonas*, *Rhizobium* y *Acidovorax*. Estos géneros se enriquecen a menudo en la rizósfera, como es el caso de plantas de legumbres (Miranda-Sánchez et al., 2016).

El suelo no rizosférico fue afectado por la planta cultivada, pero no en la misma medida que la rizósfera. Las raíces pequeñas pueden ser parte del suelo no rizosférico en este experimento, por las condiciones de siembra (columnas), así que el contenido de carbono orgánico es mayor que en el suelo sin cultivar, pero menor que en la rizósfera. Además, las condiciones de estos dos ambientes varían en la medida que los microorganismos compiten por agua y nutrientes (Kuzyakov & Xu, 2013). Los copiótrofos podrían enriquecerse más en los suelos no rizosféricos y en la rizósfera en comparación con el suelo sin cultivar, mientras que la abundancia relativa de oligótrofos debería disminuir. Actinobacteria y Firmicutes son reconocidos ampliamente como copiótrofos (Song et al., 2016; Dai et al., 2018), así que deberían enriquecerse en la rizósfera en comparación con el suelo sin cultivar mientras que la abundancia de Acidobacteria, Bacteroidetes y Verrucomicrobia, considerados oligótrofos, debería disminuir (de Castro et al., 2013; Navarrete et al., 2015; Bennke et

al., 2016). Algunos grupos bacterianos como Acidobacteria y Verrucomicrobia se comportan claramente como han sido descritos. Actinobacteria se enriqueció mayormente en el suelo no rizosférico, pero se redujo en la rizósfera, mientras que Bacteroidetes se enriqueció mayormente en ambos ambientes, aunque han sido descritos como oligótrofos. Firmicutes se enriqueció en los suelos no rizosféricos a los 2 meses y en la rizósfera, pero su abundancia relativa disminuyó drásticamente después de 6 meses. Esto confirma de nuevo, que el tipo de planta, su desarrollo, la cercanía con las raíces y las características del suelo afectan los grupos bacterianos en los diferentes compartimentos (Bulgarelli et al., 2015; Tkacz et al., 2015; Edwards et al., 2018).

Edwards et al. (2015) reportaron que Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria y Acidobacteria se enriquecieron en la comunidad endofítica de arroz. En este estudio, solo OTUs pertenecientes a Proteobacteria siempre aumentaron en las raíces de ricino independientemente del tiempo de muestreo y de los regímenes de riego aplicados en el suelo. Xu et al. (2018) reportaron que, durante etapas de desarrollo temprano de plantas de sorgo, la comunidad bacteriana es dinámica con grandes cambios en taxa dominantes, por ejemplo, Actinobacteria, Firmicutes y Proteobacteria. En este estudio se observaron grandes cambios en la abundancia relativa de Actinobacteria y Firmicutes por razón del tiempo. Miembros de los grupos *Bacillus* y *Pseudomonas* se enriquecieron en camote (*Ipomoea batatas* L.) y en tres tipos de peonías (Marques et al., 2015; Yang et al., 2017). En este estudio, *Pseudomonas* siempre aumentó en las raíces de *R. communis* y *Paenibacillus* casi siempre.

El microbioma de las raíces puede ser considerado como un subconjunto de microorganismos de la rizósfera. Su composición estará definida por el tipo de planta y los estadios de la planta, además de las condiciones ambientales, aunque el microbioma en las semillas puede tener un rol también (Lundberg et al., 2012; Edwards et al., 2018).

El microbioma de eucariontes microscópicos de las raíces fue diferente a los demás compartimentos (suelos sin cultivar, no rizosféricos y rizosféricos) enriqueciendo géneros tales como *Funneliformis*, *Septoglomus* y *Unc. Glomus* reportados ampliamente por ser hongos micorrícicos arbusculares (AMF por sus siglas en inglés) en varias plantas (Yu et al., 2017; Ellouze et al., 2018; Xiao et al., 2019). También se enriquece el género *Olpidium*, el cual también ha sido reportado como endófito importante en canola (Gkarmiri et al., 2017). En este estudio, después de 2 meses la comunidad bacteriana y eucariótica en el suelo sin cultivar fue diferente de la inicial del estudio y diferente de la rizósfera y la de las raíces.

Como tal, la comunidad bacteriana de la rizósfera fue similar a la encontrada al inicio del experimento. La comunidad endofítica bacteriana de las raíces fue diferente de la de la rizósfera indicando que hubo una clara barrera entre la parte interna y la parte externa de la planta. Interesantemente, la comunidad bacteriana de las raíces, después de 6 meses fue similar a la de las semillas más que a la de la rizósfera. *R. communis* selecciona y controla su microbioma. Inicialmente, un subconjunto de microorganismos es enriquecido en la rizósfera y un subconjunto de microorganismos coloniza las raíces. Esta colonización de las raíces y en general toda la planta, se ve afectada por las diferentes etapas de desarrollo de la planta y posiblemente está

relacionado con diferentes funciones específicas de los endófitos (Millet et al., 2010). Así que puede se puede hipotizar que, en etapas tempranas, las plantas liberan una gran variedad y cantidad de sustancias como sustrato para una gran variedad de microorganismos, pero a medida que la planta crece, libera sustancias específicas en su esfuerzo por seleccionar un subconjunto de microorganismos (Chaparro et al., 2014). Esto sugeriría que las plantas enriquecen grupos microbianos en sus raíces que no son necesariamente los más abundantes en la rizósfera o en el suelo circundante. Esto también explicaría por qué al fertilizar plantas con microorganismos para enriquecer su bioma y estimular su crecimiento podría tener solo un efecto temporal en el desarrollo de la planta (López-Valdez et al., 2011).

En el presente estudio se encontró que el contenido fenólico aumentó con relación al tiempo tanto en raíces como en hojas, pudiendo dificultar a su vez la obtención y análisis de las comunidades eucarióticas a los 4 y 6 meses. También, se ha reportado que altas concentraciones de sustancias fenólicas afectan negativamente la riqueza y la diversidad de especies de hongos (Li et al., 2018). En el mismo sentido, la riqueza y diversidad de especies bacterianas también disminuyeron significativamente a los 4 y 6 meses.

6.5. Efecto de los regímenes de riego sobre la estructura de las comunidades microbianas.

En este estudio no se encontró un efecto significativo sobre las comunidades microbianas debido a los regímenes de riego. Cuando el suelo se seca, la actividad

microbiana decrece (Borken & Matzner, 2009) pero se enriquecen los microorganismos que pueden resistir a ciclos de riego y sequía. Un subsecuente riego o aplicación de agua sobre el suelo desencadenará una cascada de respuestas incrementando las actividades metabólicas y enzimáticas enriqueciendo así unos grupos microbianos y reduciendo otros (Manzoni et al., 2012). Sin embargo, las propiedades del suelo pueden influir en el efecto del déficit de agua sobre las comunidades bacterianas. Por ejemplo, los agregados controlan la conectividad entre microorganismos en el suelo al aislar las comunidades entre agregados de otras comunidades durante periodos de sequía y permitiendo el transporte de solutos, metabolitos y material genético cuando el suelo vuelve mojarse. Cuando el suelo está seco, cada comunidad en los agregados puede funcionar con su ambiente local independientemente de las otras comunidades y continuar transfiriendo nuevas capacidades funcionales cuando el carbono soluble se libera durante el riego (Wilpiseski et al., 2019).

En el presente estudio, no obstante, los regímenes de riego no afectaron a la estructura de las comunidades microbianas. Como tal, las características del suelo, la longitud y la severidad de la sequía determinará si la estructura microbiana será afectada. Miembros de Actinobacteria se han reportado por resistentes a sequía (Lau & Lennon, 2012; Hartman & Tringe, 2019). Esto podría atribuirse a su crecimiento filamentoso y su habilidad en formar esporas, lo que facilita su supervivencia en condiciones de sequía. Adicionalmente, Actinobacteria, bacterias Gram-positivas, están caracterizadas por poseer una capa muy gruesa de peptidoglicana que puede hacerlas resistentes a la sequía (Naylor & Coleman-Derr, 2018). Esto fue confirmado en el suelo

sin cultivar, en este estudio, debido a que su abundancia relativa fue mayor en los tratamientos de sequía en comparación con el control.

En la rizósfera, los exudados de las plantas proveen a los heterótrofos con material fácil de descomponer como sustrato de carbono y aunque algunos microorganismos asistan a la planta en la toma de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, otros compiten con la planta por ellos. Como tal, el efecto de los regímenes de riego o el tiempo de muestreo podría ser diferente del suelo sin cultivar o del suelo no rizosférico (Bais et al., 2006). Santos-Medellín et al. (2017) encontraron cambios en la abundancia relativa de las comunidades bacterianas en la rizósfera de arroz en condiciones de sequía, pero Hartmann et al. (2017) no reportaron cambios en la comunidad bacteriana.

Dai et al. (2019) reportaron cambios en la abundancia relativa en la rizósfera durante diferentes estadios de desarrollo de planta. Ellos sugieren que no solo la sequía, sino también la etapa de desarrollo de la planta afecta la estructura microbiana. En este estudio, solo un número limitado de géneros bacterianos fueron afectados en la rizósfera. La abundancia relativa de algunos géneros siempre aumentó (por ejemplo, *Agrobacterium*, *Janthinobacterium* y *Promicromonospora*) o disminuyó (por ejemplo, *Novosphingobium*) en los tratamientos de sequía y sequía extrema.

En el caso de la comunidad eucariótica, se observó un efecto opuesto al de las bacterias, es decir, sí hubo un efecto significativo alto por los regímenes de riego afectando a un gran número grupos fúngicos y no fúngicos. Algunos de los géneros

que se enriquecieron en las raíces han sido reportados por mejorar el desarrollo de las plantas durante la sequía, como es el caso del género *Septoglomus* (Duc et al., 2018). *Fusarium* y *Olpidium* reportados como patógenos vegetales que proliferan en condiciones de altas temperaturas y condiciones de sequía (Jelínek et al., 2019; Sinha et al., 2019). Mientras que en otro estudio de inoculación de arroz con endófitos fúngicos tipo II como *Fusarium culmorum* y *Curvularia protuberata* resultó en una mayor tasa de crecimiento y rendimiento y un menor consumo de agua. Además, las plantas de arroz cultivadas bajo estrés por sequía fueron colonizadas más intensamente por estos hongos en comparación con las plantas del tratamiento control (Redman et al., 2011).

7. CONCLUSIONES

La sequía afectó negativamente diferentes características morfológicas, químicas y biológicas de plantas de ricino, por ejemplo, disminuyó su biomasa, la colonización de micorrizas arbusculares y la síntesis de compuestos fenólicos.

La comunidad bacteriana de la rizósfera de plantas de ricino de 6 meses fue similar a la del principio del experimento independientemente de los regímenes de riego, pero diferente de la del suelo sin cultivar y las raíces. La comunidad endofítica de las semillas fue similar a la de las raíces al final del experimento. Como tal, *R. communis* ejerció un gran efecto sobre su microbioma, pero la composición inicial y los diferentes tratamientos tuvieron un efecto mucho menor en su microbioma.

Aunque los regímenes de riego algunas veces tuvieron un efecto en grupos bacterianos específicos en los suelos sin cultivar, no rizosféricos, rizosféricos y en las

raíces de ricino, el efecto cambió con la intensidad de la sequía y el tiempo de muestreo.

La estructura de la comunidad microbiana fue afectada significativamente por la presencia de ricino. Esto mostró que la disponibilidad y composición del material orgánico y la disponibilidad de los nutrientes definen más a la estructura de las comunidades microbianas que los regímenes de riego en plantas de *R. communis*.

La comunidad de eucariontes microscópicos en las raíces después de 2 meses de aplicados los diferentes tratamientos se diferenció significativamente de los demás compartimentos (suelos sin cultivar, no rizosféricos y rizosféricos) y presentó cambios en varios grupos eucarióticos por efecto de los regímenes de riego.

8. RECOMENDACIONES

Poner a prueba el efecto de otros factores como el tipo de suelo y la variación de la severidad y frecuencia de los regímenes de riego. También, investigar si el efecto observado en este estudio se extiende a otras especies de plantas de la misma familia o con las mismas características ecológicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbaspour, H., Saeidi-Sar, S., Afshari, H. & Abdel-Wahhab, M.A. (2012), Tolerance of Mycorrhiza infected Pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions, *J. Plant Physiol.*, vol. 169 No. 7, pp. 704–709.
- Ahn, Y.-J. & Chen, G.Q. (2008), In Vitro Regeneration of Castor (*Ricinus Communis* L.) Using Cotyledon Explants, *HortScience Horts*, American Society for Horticultural Science, vol. 43 No. 1, pp. 215–219.
- Al-Karaki, G., McMichael, B. & Zak, J. (2004), Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress, *Mycorrhiza*, vol. 14 No. 4, pp. 263–269.
- Alongi, D.M., Sasekumar, A., Chong, V.C., Pfitzner, J., Trott, L.A., Tirendi, F., Dixon, P., et al. (2004), Sediment accumulation and organic material flux in a managed mangrove ecosystem: estimates of land–ocean–atmosphere exchange in peninsular Malaysia, *Mar. Geol.*, vol. 208 No. 2, pp. 383–402.
- Armstrong, A., Valverde, A., Ramond, J.-B., Makhalanyane, T.P., Jansson, J.K., Hopkins, D.W., Aspray, T.J., et al. (2016), Temporal dynamics of hot desert microbial communities reveal structural and functional responses to water input, *Sci. Rep.*, vol. 6 No. 1, p. 34434.
- Atkinson, N.J. & Urwin, P.E. (2012), The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field, *J. Exp. Bot.*, vol. 63 No. 10, pp. 3523–3543.
- Azevedo, J.L., Maccheroni Jr., W., Pereira, J.O. & de Araújo, W.L. (2000), Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants, *Electron. J. Biotechnol.*, scielocl.
- Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S. & Vivanco, J.M. (2006), The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms, *Annu. Rev. Plant Biol.*, vol. 57 No. 1, pp. 233–266.
- Bakker, P., Berendsen, R., Doornbos, R., Wintermans, P. & Pieterse, C. (2013), The rhizosphere revisited: root microbiomics, *Front. Plant Sci.*, vol. 4 No. 1, pp. 233–266.
- Baslam, M. & Goicoechea, N. (2012), Water deficit improved the capacity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing the accumulation of antioxidant compounds in lettuce leaves, *Mycorrhiza*, vol. 22, pp. 165.

- Bauddh, K. & Singh, R.P. (2012), Growth, tolerance efficiency and phytoremediation potential of *Ricinus communis* (L.) and *Brassica juncea* (L.) in salinity and drought affected cadmium contaminated soil, *Ecotoxicol. Environ.*, vol. 85, pp. 13–22.
- Bennke, C.M., Krüger, K., Kappelmann, L., Huang, S., Gobet, A., Schüler, M., Barbe, V., et al. (2016), Polysaccharide utilisation loci of Bacteroidetes from two contrasting open ocean sites in the North Atlantic, *Environ. Microbiol.*, vol. 18 No. 12, pp. 4456–4470.
- Bonfante, P. & Anca, I.-A. (2009), Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions, *Annu. Rev. Microbiol.*, vol. 63, pp. 363–383.
- Borken, W. & Matzner, E. (2009), Reappraisal of drying and wetting effects on C and N mineralization and fluxes in soils, *Glob. Chang. Biol.*, vol. 15 No. 4, pp. 808–824.
- Bouskill, N.J., Lim, H.C., Borglin, S., Salve, R., Wood, T.E., Silver, W.L. & Brodie, E.L. (2013), Pre-exposure to drought increases the resistance of tropical forest soil bacterial communities to extended drought, *ISME J.*, vol. 7 No. 2, pp. 384–394.
- Boyer, J.S. (1982), Plant productivity and environment, *Science* (80-), vol. 218 No. 4571, pp. 443–448.
- Bremner, M. (1996), Chapter 37: Nitrogen-Total, *Methods Soil Anal. Part 3. Chem. Methods-SSSA B. Ser. 5, No. 5*, pp. 1085–1121.
- Bulgarelli, D., Garrido-Oter, R., Münch, P.C., Weiman, A., Dröge, J., Pan, Y., McHardy, A.C., et al. (2015), Structure and Function of the Bacterial Root Microbiota in Wild and Domesticated Barley, *Cell Host Microbe*, vol. 17 No. 3, pp. 392–403.
- Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K., Fierer, N., et al. (2010), QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data, *Nat. Methods*, vol. 7, p. 335.
- de Castro, V.H.L., Schroeder, L.F., Quirino, B.F., Kruger, R.H. & Barreto, C.C. (2013), Acidobacteria from oligotrophic soil from the Cerrado can grow in a wide range of carbon source concentrations, *Can. J. Microbiol.*, vol. 59 No. 11, pp. 746–753.
- Ceja-Navarro, J.A., Rivera-Orduña, F.N., Patiño-Zúñiga, L., Vila-Sanjurjo, A., Crossa, J., Govaerts, B. & Dendooven, L. (2010), Phylogenetic and multivariate analyses to determine the effects of different tillage and residue management practices on soil bacterial communities, *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 76 No. 11, pp. 3685–3691.

Chandra, P., Tripathi, P. & Chandra, A. (2018), Isolation and molecular characterization of plant growth-promoting *Bacillus* spp. and their impact on sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) growth and tolerance towards drought stress, *Acta Physiol. Plant.*, vol. 40 No. 11, p. 199.

Chaparro, J.M., Badri, D. V & Vivanco, J.M. (2014), Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development, *ISME J.*, vol. 8 No. 4, pp. 790–803.

Chaves, M.M., Maroco, J.P. & Pereira, J.S. (2003), Understanding plant responses to drought - From genes to the whole plant, *Funct. Plant Biol.*, vol. 30 No. 3, pp. 239–264.

CIMMYT. (2006), Protocolos de laboratorio: laboratorio de genética molecular aplicada del CIMMYT, in CIMMYT (Ed.), 3rd ed., CIMMYT, Mexico, DF, pp. 1–21.

Coleman-Derr, D., Desgarenes, D., Fonseca-Garcia, C., Gross, S., Clingenpeel, S., Woyke, T., North, G., et al. (2016), Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species, *New Phytol.*, vol. 209 No. 2, pp. 798–811.

Colla, G., Roupshael, Y., Cardarelli, M., Tullio, M., Rivera, C.M. & Rea, E. (2008), Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration, *Biol. Fertil. Soils*, vol. 44 No. 3, pp. 501–509.

Dahnke, W.C. (1988), Measurement of soil salinity, *Recomm. Chem. Soil Test Proced. North Cent. Reg.*, North Dakota Agricultural Experiment Station, Fargo, ND., pp. 32–34.

Dai, A. (2011), Drought under global warming: a review, *Rev. Clim. Chang.*, vol. 2 No. 1, pp. 45–65.

Dai, L., Zhang, G., Yu, Z., Ding, H., Xu, Y. & Zhang, Z. (2019), Effect of drought stress and developmental stages on microbial community structure and diversity in Peanut rhizosphere soil, *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 20 No. 9, p. 2265.

Dai, Z., Su, W., Chen, H., Barberán, A., Zhao, H., Yu, M., Yu, L., et al. (2018), Long-term nitrogen fertilization decreases bacterial diversity and favors the growth of Actinobacteria and Proteobacteria in agro-ecosystems across the globe, *Glob. Chang. Biol.*, vol. 24 No. 8, pp. 3452–3461.

Duc, N.H., Csintalan, Z. & Posta, K. (2018), Arbuscular mycorrhizal fungi mitigate negative effects of combined drought and heat stress on tomato plants, *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 132, pp. 297–307.

Edwards, J., Johnson, C., Santos-Medellín, C., Lurie, E., Podishetty, N.K., Bhatnagar, S., Eisen, J.A., et al. (2015), Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 112 No. 8, p. E911 LP-E920.

Edwards, J.A., Santos-Medellín, C.M., Liechty, Z.S., Nguyen, B., Lurie, E., Eason, S., Phillips, G., et al. (2018), Compositional shifts in root-associated bacterial and archaeal microbiota track the plant life cycle in field-grown rice, *PLoS Biol.*, Public Library of Science, vol. 16 No. 2, p. e2003862.

Eisenbarth, D.A. & Weig, A.R. (2005), Dynamics of aquaporins and water relations during hypocotyl elongation in *Ricinus communis* L. seedlings, *J. Exp. Bot.*, vol. 56 No. 417, pp. 1831–1842.

Ellouze, W., Hamel, C., Singh, A.K., Mishra, V., DePauw, R.M. & Knox, R.E. (2018), Abundance of the arbuscular mycorrhizal fungal taxa associated with the roots and rhizosphere soil of different durum wheat cultivars in the Canadian prairies, *Can. J. Microbiol.*, vol. 64 No. 8, pp. 527–536.

Fan, K., Cardona, C., Li, Y., Shi, Y., Xiang, X., Shen, C., Wang, H., et al. (2017), Rhizosphere-associated bacterial network structure and spatial distribution differ significantly from bulk soil in wheat crop fields, *Soil Biol. Biochem.*, vol. 113, pp. 275–284.

Fawcett, R.G. & Collis-George, N. (1967), A filter-paper method for determining the moisture characteristics of soil, *Aust. J. Exp. Agric.*, vol. 7 No. 25, pp. 162–167.

Fernandes, A.D., Macklaim, J.M., Linn, T.G., Reid, G. & Gloor, G.B. (2013), ANOVA-Like Differential Expression (ALDEx) Analysis for Mixed Population RNA-Seq, *PLoS One*, vol. 8 No. 7, p. e67019.

Frank, A., Saldierna Guzmán, J., Shay, J., Frank, A.C., Saldierna Guzmán, J.P. & Shay, J.E. (2017), Transmission of bacterial endophytes, *Microorganisms*, vol. 5 No. 4, p. 70.

Gamboa-Gaitán, M.A. (2006), Hongos endófitos tropicales: Conocimiento actual y perspectivas, *Acta Biológica Colomb.*, vol. 11, pp. 3–20.

Geddes, B.A., Paramasivan, P., Joffrin, A., Thompson, A.L., Christensen, K., Jorin, B., Brett, P., et al. (2019), Engineering transkingdom signalling in plants to control gene expression in rhizosphere bacteria, *Nat. Commun.*, vol. 10 No. 1, p. 3430.

Gee, G.W. & Bauder, J.W. (1986), Particle Size Analysis, *Methods Soil Anal. Part 1—Physical Mineral. Methods*, vol. 9 No. 9, pp. 901–926.

Gkarmiri, K., Mahmood, S., Ekblad, A., Alström, S., Högberg, N. & Finlay, R. (2017), Identifying the Active Microbiome Associated with Roots and Rhizosphere Soil of Oilseed Rape, *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 83 No. 22, pp. e01938-17.

Glick, B.R. (1995), The enhancement of plant growth by free-living bacteria, *Can. J. Microbiol.*, vol. 41 No. 2, pp. 109–117.

Gloor, G. (2015), ALDEx2: ANOVA-Like Differential Expression tool for compositional data, *ALDEx Man. Modul.*, vol. 20, pp. 1–11.

González, M.S., Diamont, D. & Gutiérrez, B. (2011), Técnica de tinción de estructuras fúngicas con colorantes vegetales como una alternativa no contaminante, *Bioagro*, vol. 23 No. 1, pp. 65–68.

Gouda, S., Kerry, R.G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.-S. & Patra, J.K. (2018), Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture, *Microbiol. Res.*, vol. 206, pp. 131–140.

Hadi, F., Arifeen, M.Z.U., Aziz, T., Nawab, S. & Nabi, G. (2015), Phytoremediation of cadmium by *Ricinus communis* L. in hydroponic condition, *Cell*, vol. 92 No. 345, p. 8112741.

Hartman, K. & Tringe, S.G. (2019), Interactions between plants and soil shaping the root microbiome under abiotic stress, *Biochem. J.*, vol. 476 No. 19, pp. 2705–2724.

Hartmann, M., Brunner, I., Hagedorn, F., Bardgett, R.D., Stierli, B., Herzog, C., Chen, X., et al. (2017), A decade of irrigation transforms the soil microbiome of a semi-arid pine forest, *Mol. Ecol.*, vol. 26 No. 4, pp. 1190–1206.

Van Der Heijden, M.G.A., Streitwolf-Engel, R., Riedl, R., Siegrist, S., Neudecker, A., Ineichen, K., Boller, T., et al. (2006), The mycorrhizal contribution to plant productivity, plant nutrition and soil structure in experimental grassland, *New Phytol.*, vol. 172 No. 4, pp. 739–752.

Hernández-Morales, J.L., López-Sánchez, C. & de Jesús Palma-Cruz, F. (2014), Caracterización morfológica de micorrizas arbuscular asociada a *Agave potatorum* Zucc. con potencial agronómico, *Rev. Mex. Agroecosistemas*, vol. 1 No. 2, pp. 82–93.

Hiltner, L. (1904), Über nevere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Boden Bakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Grundungung und Broche, Arbeit. Deut. Landw. Ges. Berlin, vol. 98, pp. 59–78.

- Hoffman, C.S. & Winston, F. (1987), A ten-minute DNA preparation from yeast efficiently releases autonomous plasmids for transformation of *Escherichia coli*, *Gene*, vol. 57 No. 2–3, pp. 267–272.
- Hounsborne, N., Hounsborne, B., Tomos, D. & Edwards-Jones, G. (2008), Plant Metabolites and Nutritional Quality of Vegetables, *J. Food Sci.*, vol. 73 No. 4, pp. R48–R65.
- Jain, P. & Sharma, P. (2020), Isolation and preliminary screening of endophytic fungi of *Ricinus communis* for their antimicrobial potential, *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.*, vol. 9 No. 5, pp. 230–233.
- Janmohammadi, M., Abbasi, A. & Sabaghnia, N. (2012), Influence of NaCl treatments on growth and biochemical parameters of castor bean (*Ricinus communis* L.), *Acta Agric.*, vol. 99 No. 1, pp. 31–40.
- Jaramillo, R. (2011), La micorriza arbuscular (MA) centro de la rizósfera: comunidad microbiológica dinámica del suelo, *Rev. Contactos*, vol. 81, pp. 17–23.
- Jelínek, T., Koudela, M., Kofránková, V. & Salava, J. (2019), Effect of temperature on severity of *Fusarium* wilt of cabbage caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. conglutinans, *Eur. J. Plant Pathol.*, vol. 155 No. 4, pp. 1277–1286.
- Jena, J. & Gupta, A.K. (2012), *Ricinus communis* Linn: a phytopharmacological review, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 4 No. 4, pp. 25–29.
- Jin, H., Yang, X.-Y., Yan, Z.-Q., Liu, Q., Li, X.-Z., Chen, J.-X., Zhang, D.-H., et al. (2014), Characterization of rhizosphere and endophytic bacterial communities from leaves, stems and roots of medicinal *Stellera chamaejasme* L, *Syst. Appl. Microbiol.*, vol. 37 No. 5, pp. 376–385.
- Kandel, S.L., Joubert, P.M. & Doty, S.L. (2017), Bacterial endophyte colonization and distribution within plants, *Microorganisms*, vol. 5 No. 4, p. 77.
- Kilpeläinen, J., Barbero-López, A., Vestberg, M., Heiskanen, J. & Lehto, T. (2017), Does severe soil drought have after-effects on arbuscular and ectomycorrhizal root colonisation and plant nutrition?, *Plant Soil*, vol. 418 No. 1, pp. 377–386.
- Kiran, B.R. & Prasad, M.N.V. (2017), *Ricinus communis* L. (Castor bean), a potential multi-purpose environmental crop for improved and integrated phytoremediation, *EuroBiotech J.*, vol. 1 No. 2, pp. 101–116.

- Kirkham, M.B. (2014), Principles of Soil and Plant, Academic Press, pp. 1–3.
- Klute, A., Cassel, D.K. & Nielsen, D.R. (1986), Field Capacity and Available Water Capacity, Methods Soil Anal. Part 1—Physical Mineral. Methods, Vol. 9, pp. 901–926.
- Köberl, M., Ramadan, E.M., Adam, M., Cardinale, M., Hallmann, J., Heuer, H., Smalla, K., et al. (2013), *Bacillus* and *Streptomyces* were selected as broad-spectrum antagonists against soilborne pathogens from arid areas in Egypt, FEMS Microbiol. Lett., vol. 342 No. 2, pp. 168–178.
- Kolde, K.R.M.R. (2017), Package “pheatmap”.
- Król, A., Amarowicz, R. & Weidner, S. (2014), Changes in the composition of phenolic compounds and antioxidant properties of grapevine roots and leaves (*Vitis vinifera* L.) under continuous of long-term drought stress, Acta Physiol. Plant., vol. 36 No. 6, pp. 1491–1499.
- Kusari, S., Singh, S. & Jayabaskaran, C. (2014), Biotechnological potential of plant-associated endophytic fungi: hope versus hype, Trends Biotechnol., vol. 32 No. 6, pp. 297–303.
- Kusstascher, P., Cernava, T., Harms, K., Maier, J., Eigner, H., Berg, G. & Zachow, C. (2019), Disease incidence in sugar beet fields is correlated with microbial diversity and distinct biological markers, Phytobiomes J., vol. 3 No. 1, pp. 22–30.
- Kuzyakov, Y. & Xu, X. (2013), Competition between roots and microorganisms for nitrogen: mechanisms and ecological relevance, New Phytol., vol. 198 No. 3, pp. 656–669.
- Larcher, W. (2003), Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups, Springer Science & Business Media.
- Lau, J.A. & Lennon, J.T. (2012), Rapid responses of soil microorganisms improve plant fitness in novel environments, Proc. Natl. Acad. Sci., vol. 109 No. 35, pp. 14058 LP – 14062.
- Lee, S.A., Kim, Y., Kim, J.M., Chu, B., Joa, J.-H., Sang, M.K., Song, J., et al. (2019), A preliminary examination of bacterial, archaeal, and fungal communities inhabiting different rhizocompartments of tomato plants under real-world environments, Sci. Rep., vol. 9 No. 1, p. 9300.
- Li, P., Ye, S., Liu, H., Pan, A., Ming, F. & Tang, X. (2018), Cultivation of Drought-

Tolerant and Insect-Resistant Rice Affects Soil Bacterial, but Not Fungal, Abundances and Community Structures, *Front. Microbiol.* vol. 9, p. 1390.

López-Valdez, F., Fernández-Luqueño, F., Ceballos-Ramírez, J.M., Marsch, R., Olalde-Portugal, V. & Dendooven, L. (2011), A strain of *Bacillus subtilis* stimulates sunflower growth (*Helianthus annuus* L.) temporarily, *Sci. Hortic.*, vol. 128 No. 4, pp. 499–505.

Luján-Hidalgo, M.C., Pérez-Gómez, L.E., Abud-Archila, M., Meza-Gordillo, R., Ruiz-Valdiviezo, V.M., Dendooven, L. & Gutiérrez-Miceli, F.A. (2015), Growth, Phenolic Content and Antioxidant Activity in Chincuya (*Annona purpurea* Moc & Sesse ex Dunal) Cultivated with Vermicompost and Phosphate Rock, *Compost Sci. Util.*, vol. 23 No. 4, pp. 276–283.

Lundberg, D.S., Lebeis, S.L., Paredes, S.H., Yourstone, S., Gehring, J., Malfatti, S., Tremblay, J., et al. (2012), Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome, *Nature*, vol. 488, p. 86.

Maitra, P., Zheng, Y., Chen, L., Wang, Y.-L., Ji, N.-N., Lü, P.-P., Gan, H.-Y., et al. (2019), Effect of drought and season on arbuscular mycorrhizal fungi in a subtropical secondary forest, *Fungal Ecol.*, vol. 41, pp. 107–115.

Manzoni, S., Schimel, J.P. & Porporato, A. (2012), Responses of soil microbial communities to water stress: results from a meta-analysis, *Ecology*, vol. 93 No. 4, pp. 930–938.

Marques, J.M., da Silva, T.F., Vollú, R.E., de Lacerda, J.R.M., Blank, A.F., Smalla, K. & Seldin, L. (2015), Bacterial endophytes of sweet potato tuberous roots affected by the plant genotype and growth stage, *Appl. Soil Ecol.*, vol. 96, pp. 273–281.

Millet, Y.A., Danna, C.H., Clay, N.K., Songnuan, W., Simon, M.D., Werck-Reichhart, D. & Ausubel, F.M. (2010), Innate Immune Responses Activated in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, vol. 22 No. 3, pp. 973 LP – 990.

Miranda-Sánchez, F., Rivera, J. & Vinuesa, P. (2016), Diversity patterns of Rhizobiaceae communities inhabiting soils, root surfaces and nodules reveal a strong selection of rhizobial partners by legumes, *Environ. Microbiol.*, vol. 18 No. 8, pp. 2375–2391.

Muscolo, A., Panuccio, M.R. & Sidari, M. (2003), Effects of salinity on growth, carbohydrate metabolism and nutritive properties of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum* Hochst), *Plant Sci.*, vol. 164 No. 6, pp. 1103–1110.

Nair, A., Thulasiram, H. V & Bhargava, S. (2020), Role of jasmonate in modulation of mycorrhizae-induced resistance against fungal pathogens BT - jasmonate in plant biology: methods and protocols, in Champion, A. and Laplaze, L. (Eds.), *Jasmonate Plant Biol.*, pp. 109–115.

Navarrete, A.A., Soares, T., Rossetto, R., van Veen, J.A., Tsai, S.M. & Kuramae, E.E. (2015), Verrucomicrobial community structure and abundance as indicators for changes in chemical factors linked to soil fertility, *Antonie Van Leeuwenhoek*, vol. 108 No. 3, pp. 741–752.

Naylor, D. & Coleman-Derr, D. (2018), Drought stress and root-associated bacterial communities, *Front. Plant Sci.*, vol. 8, p. 2223.

Naylor, D., DeGraaf, S., Purdom, E. & Coleman-Derr, D. (2017), Drought and host selection influence bacterial community dynamics in the grass root microbiome, *Isme J.*, vol. 11, p. 2691.

Nicot, N., Hausman, J.-F., Hoffmann, L. & Evers, D. (2005), Housekeeping gene selection for real-time RT-PCR normalization in potato during biotic and abiotic stress, *J. Exp. Bot.*, vol. 56 No. 421, pp. 2907–2914.

O'Brien, F.J.M., Dumont, M.G., Webb, J.S. & Poppy, G.M. (2018), Rhizosphere bacterial communities differ according to fertilizer regimes and cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) harvest time, but not aphid herbivory, *Front. Microbiol.*, vol. 9 No. 1620.

Obidiegwu, J.E. (2015), Coping with drought: stress and adaptive responses in potato and perspectives for improvement, *Front. Plant Sci.*, vol. 6 No. July, pp. 1–23.

Oksanen, J., Guillaume Blanchet, F., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P.R., et al. (2017), *Vegan* package in R. *Community Ecology Package*.

Øverby, A., Zhao, C.-M. & Chen, D. (2014), Plant phytochemicals: potential anticancer agents against gastric cancer, *Curr. Opin. Pharmacol.*, vol. 19, pp. 6–10.

Parniske, M. (2008), Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses, *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 6 No. 10, pp. 763–775.

Patanè, C., Cosentino, S.L., Corinzia, S.A., Testa, G., Sortino, O. & Scordia, D. (2019), Photothermal zoning of castor (*Ricinus communis* L.) growing season in the semi-arid Mediterranean area, *Ind. Crops Prod.*, vol. 142, p. 111837.

Phillips, J.M. & Hayman, D.S. (1970), Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection, *Trans. Br. Mycol. Soc.*, vol. 55 No. 1, pp. 158-168.

Pineda-Mendoza, R., Martínez-Jerónimo, F., Garduño-Solórzano, G. & Olvera-Ramírez, R. (2011), Caracterización morfológica y molecular de cianobacterias filamentosas aisladas de florecimientos de tres lagos urbanos eutróficos de la ciudad de México, *Polibotánica*, scielomx, vol. 31, pp. 31–50.

Preston, G.M. (2004), Plant perceptions of plant growth-promoting *Pseudomonas*, *Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B Biol. Sci.*, Royal Society, vol. 359 No. 1446, pp. 907–918.

R Core, T. (2013), *R: A Language and Environment for Statistical Computing.*, Vienna, Austria.

Rana, M., Dhamija, H., Prashar, B. & Sharma, S. (2012), *Ricinus communis* L. - A review, *Int. J. PharmTech Res.*, vol. 4 No. 4, pp. 1706–1711.

Redman, R.S., Kim, Y.O., Woodward, C.J.D.A., Greer, C., Espino, L., Doty, S.L. & Rodriguez, R.J. (2011), Increased Fitness of Rice Plants to Abiotic Stress Via Habitat Adapted Symbiosis: A Strategy for Mitigating Impacts of Climate Change, *PLoS One*, vol. 6 No. 7, p. e14823.

Ribeiro, P.R., Willems, L.A.J., Mutimawurugo, M.-C., Fernandez, L.G., de Castro, R.D., Ligterink, W. & Hilhorst, H.W.M. (2015), Metabolite profiling of *Ricinus communis* germination at different temperatures provides new insights into thermo-mediated requirements for successful seedling establishment, *Plant Sci.*, vol. 239, pp. 180–191.

Rico Ponce, H.R., Tapia Vargas, L.M., Teniente Oviedo, R., González Avila, A., Hernández Martínez, M., Solís Bonilla, J.L. & Zamarripa Colmenero, A. (2011), Guía para cultivar higuera (*Ricinus communis* L.) en Michoacán.

Rosenblueth, M. & Martínez-Romero, E. (2006), Bacterial Endophytes and Their Interactions with Hosts, *Mol. Plant-Microbe Interact.*, Scientific Societies, vol. 19 No. 8, pp. 827–837.

Ruiz Olivares, A., Carrillo-González, R., González-Chávez, M. del C.A. & Soto Hernández, R.M. (2013), Potential of castor bean (*Ricinus communis* L.) for phytoremediation of mine tailings and oil production, *J. Environ. Manage.*, vol. 114, pp. 316–323.

- Sakuth, T., Schobert, C., Pecsvaradi, A., Eichholz, A., Komor, E. & Orlich, G. (1993), Specific proteins in the sieve-tube exudate of *Ricinus communis* L. seedlings: separation, characterization and in-vivo labelling, *Planta*, vol. 191 No. 2, pp. 207–213.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. & Maniatis, T. (1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual.*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Santonja, M., Foucault, Q., Rancon, A., Gauquelin, T., Fernandez, C., Baldy, V. & Mirleau, P. (2018), Contrasting responses of bacterial and fungal communities to plant litter diversity in a Mediterranean oak forest, *Soil Biol. Biochem.*, vol. 125, pp. 27–36.
- Santos-Medellín, C., Edwards, J., Liechty, Z., Nguyen, B. & Sundaresan, V. (2017), Drought stress results in a compartment-specific restructuring of the rice root-associated microbiomes, *MBio*, vol. 8 No. 4, pp. e00764-17.
- Scarpa, A. & Guerci, A. (1982), Various uses of the castor oil plant (*Ricinus communis* L.) a review, *J. Ethnopharmacol.*, vol. 5 No. 2, pp. 117–137.
- Schroth, M.N., Thomson, S. V, Weinhold, A.R., Krupa, S. V & Dommergues, Y.R. (1979), Ecology of Root Pathogens, *Dev. Agric. Manag. For. Ecol.*, vol. 5.
- Schurr, U., Heckenberger, U., Herdel, K., Walter, A. & Feil, R. (2000), Leaf development in *Ricinus communis* during drought stress: Dynamics of growth processes, of cellular structure and of sink-source transition, *J. Exp. Bot.*, vol. 51 No. 350, pp. 1515–1529.
- Serrato, F.B., Bermúdez, F.L. & Díaz, A.R. (2008), Reducción de la biomasa del pino carrasco (*Pinus halepensis*) en un área del sureste semiárido peninsular como estrategia para evitar el estrés hídrico, *Papeles Geogr.*, No. 47–48, pp. 25–34.
- Shi, G., Xia, S., Ye, J., Huang, Y., Liu, C. & Zhang, Z. (2015), PEG-simulated drought stress decreases cadmium accumulation in castor bean by altering root morphology, *Environ. Exp. Bot.*, vol. 111, pp. 127–134.
- Silva Dalberto, D., Garbin Martinazzo, E. & Antonio Bacarin, M. (2017), Chlorophyll a fluorescence reveals adaptation strategies in drought stress in *Ricinus communis*, *Rev. Bras. Bot.*, vol. 40 No. 4, pp. 861–870.
- Singh, P.P., Ambika & Chauhan, S.M.S. (2009), Activity guided isolation of antioxidants from the leaves of *Ricinus communis* L., *Food Chem.*, vol. 114 No. 3, pp. 1069–1072.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, R.M.B.T.-M. in E. (1999), Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-

- ciocalteu reagent, *Oxid. Antioxidants Part A*, Vol. 299, Academic Press, pp. 152–178.
- Sinha, R., Irulappan, V., Mohan-Raju, B., Suganthi, A. & Senthil-Kumar, M. (2019), Impact of drought stress on simultaneously occurring pathogen infection in field-grown chickpea, *Sci. Rep.*, vol. 9 No. 1, p. 5577.
- Song, W., Kim, M., Tripathi, B.M., Kim, H. & Adams, J.M. (2016), Predictable communities of soil bacteria in relation to nutrient concentration and successional stage in a laboratory culture experiment, *Environ. Microbiol.*, vol. 18 No. 6, pp. 1740–1753.
- Sujatha, M., Reddy, T.P. & Mahasi, M.J. (2008), Role of biotechnological interventions in the improvement of castor (*Ricinus communis* L.) and *Jatropha curcas* L., *Biotechnol. Adv.*, vol. 26 No. 5, pp. 424–435.
- Sun, S., Li, S., Avera, B.N., Strahm, B.D. & Badgley, B.D. (2017), Soil Bacterial and Fungal Communities Show Distinct Recovery Patterns during Forest Ecosystem Restoration, *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 83 No. 14, pp. e00966-17.
- Thirkell, T., Cameron, D. & Hodge, A. (2019), Contrasting nitrogen fertilisation rates alter mycorrhizal contribution to barley nutrition in a field trial, *Front. Plant Sci.*
- Thomas, G.W., Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., Loeppert, R.H., Soltanpour, P.N., Tabatabai, M.A., et al. (1996), Soil pH and soil acidity, *Methods Soil Anal. Part 3- Chemical Methods.*, pp. 475–490.
- Tkacz, A., Cheema, J., Chandra, G., Grant, A. & Poole, P.S. (2015), Stability and succession of the rhizosphere microbiota depends upon plant type and soil composition, *ISME J.*, vol. 9 No. 11, pp. 2349–2359.
- Tóth, Z., Táncsics, A., Kriszt, B., Kröel-Dulay, G., Ónodi, G. & Hornung, E. (2017), Extreme effects of drought on composition of the soil bacterial community and decomposition of plant tissue, *Eur. J. Soil Sci.*, vol. 68 No. 4, pp. 504–513.
- Tyc, O., Putra, R., Gols, R., Harvey, J.A. & Garbeva, P. (2019), The ecological role of bacterial seed endophytes associated with wild cabbage in the United Kingdom, *Microbiologyopen*, vol. n/a No. n/a, p. e954.
- Upasani, S.M., Kotkar, H.M., Mendki, P.S. & Maheshwari, V.L. (2003), Partial characterization and insecticidal properties of *Ricinus communis* L foliage flavonoids, *Pest Manag. Sci.*, vol. 59 No. 12, pp. 1349–1354.
- Valladares, F., Vilagrosa, A., Peñuelas, J., Ogaya, R., Julio, J., Corcuera, L. & Sisó, S.

(2004), CAPÍTULO 6 Estrés hídrico: ecofisiología y escalas de la sequía, *Water*, No. October, pp. 163–190.

Wafa, G., Amadou, D., Larbi, K.M. & Héla, E.F.O. (2014), Larvicidal activity, phytochemical composition, and antioxidant properties of different parts of five populations of *Ricinus communis* L., *Ind. Crops Prod.*, vol. 56, pp. 43–51.

Wilpiseski, R.L., Aufrecht, J.A., Retterer, S.T., Sullivan, M.B., Graham, D.E., Pierce, E.M., Zablocki, O.D., et al. (2019), Soil Aggregate Microbial Communities: Towards Understanding Microbiome Interactions at Biologically Relevant Scales, *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 85 No. 14, pp. e00324-19.

Wu, Q.-S., Srivastava, A.K. & Zou, Y.-N. (2013), AMF-induced tolerance to drought stress in citrus: A review, *Sci. Hortic.*, vol. 164, pp. 77–87.

Xiao, D., Tan, Y., Liu, X., Yang, R., Zhang, W., He, X. & Wang, K. (2019), Effects of different legume species and densities on arbuscular mycorrhizal fungal communities in a karst grassland ecosystem, *Sci. Total Environ.*, vol. 678, pp. 551–558.

Xu, L., Naylor, D., Dong, Z., Simmons, T., Pierroz, G., Hixson, K.K., Kim, Y.-M., et al. (2018), Drought delays development of the sorghum root microbiome and enriches for monoderm bacteria, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 115 No. 18, p. E4284 LP-E4293.

Yang, R., Liu, P. & Ye, W. (2017), Illumina-based analysis of endophytic bacterial diversity of tree peony (*Paeonia* Sect. *Moutan*) roots and leaves, *Brazilian J. Microbiol.*, vol. 48 No. 4, pp. 695–705.

Yu, J., Xue, Z., He, X., Liu, C. & Steinberger, Y. (2017), Shifts in composition and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin contents during revegetation of desertified semiarid grassland, *Appl. Soil Ecol.*, vol. 115, pp. 60–67.

Zhang, T., Hu, Y., Zhang, K., Tian, C. & Guo, J. (2018), Arbuscular mycorrhizal fungi improve plant growth of *Ricinus communis* by altering photosynthetic properties and increasing pigments under drought and salt stress, *Ind. Crops Prod.*, vol. 117 No. 5268, pp. 13–19.

Zhu, X.-C., Song, F.-B. & Xu, H.-W. (2010), Arbuscular mycorrhizae improves low temperature stress in maize via alterations in host water status and photosynthesis, *Plant Soil*, vol. 331 No. 1, pp. 129–137.