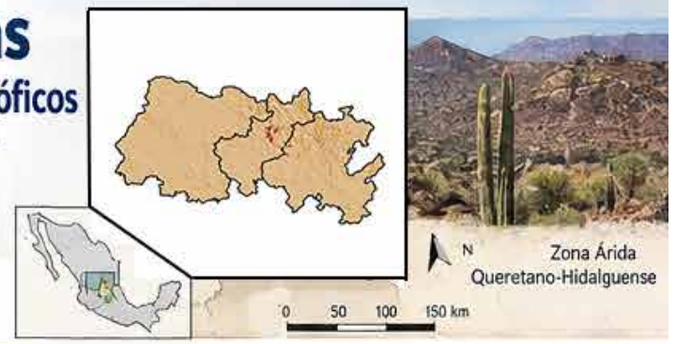
Evolución de la oxalotrofía en zonas áridas

Análisis genético y molecular de la diversidad de microorganismos oxalotróficos

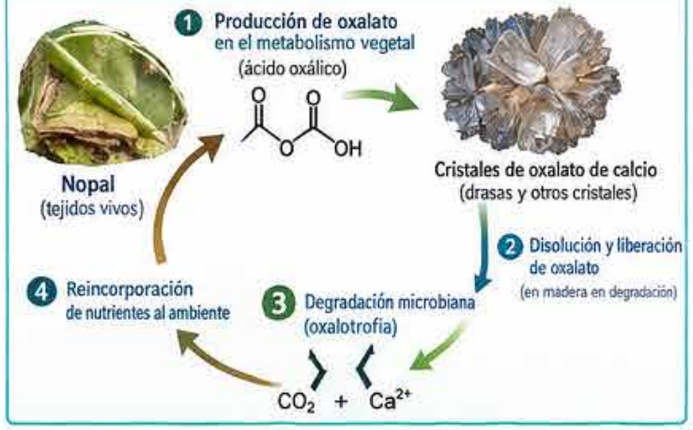
Opuntia robusta, Opuntia leucotricha, Opuntia joconostle y *Opuntia tomentosa*

Zona Árida Queretano-Hidalguense, Centro de México

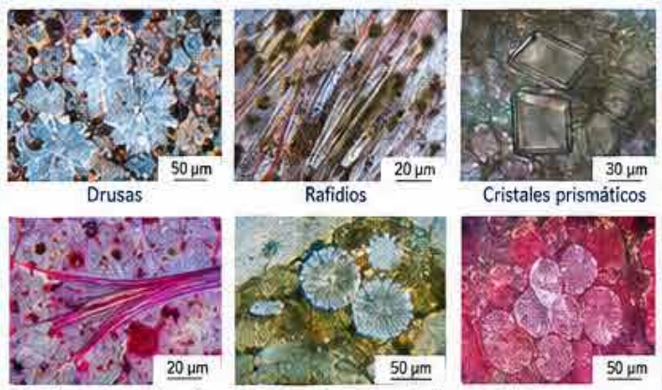




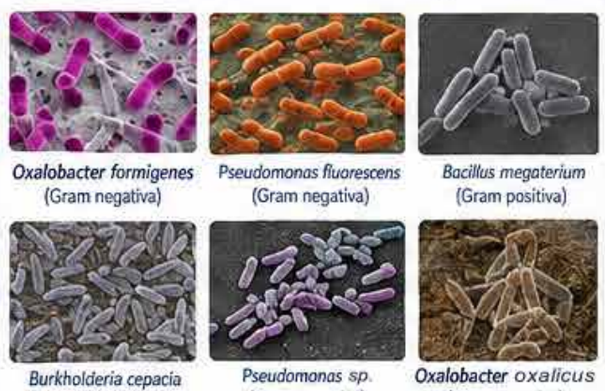
Ciclo del oxalato de calcio



Cristales de oxalato de calcio en tejidos de cactáceas



Microorganismos oxalotróficos reportados



Objetivos

- Analizar la diversidad genética y molecular de microorganismos oxalotróficos en madera en degradación de cladodios de nopal.
- Caracterizar la madera en degradación y sus cristales de oxalato de calcio.
- Determinar la diversidad filogenética de las especies de *Opuntia*.
- Evaluar la correlación entre la diversidad microbiana, la composición de la madera y la especie de nopal.
- Probar la hipótesis de que la comunidad oxalotrófica y la estructura de la madera varían entre especies de *Opuntia* y entre sitios.

1. Protocolo de análisis molecular de la caracterización de la madera en degradación

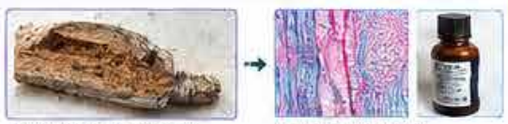


1. Muestreo de madera en degradación
2. Extracción de ADN (kit comercial o método CTAB)
3. Amplificación por PCR (genes 16S rRNA e ITS)
4. Electroforesis y purificación de amplicones
5. Secuenciación y análisis (BLAST y asignación taxonómica)
6. Análisis de datos (diversidad y abundancia)

Genes objetivo
16S rRNA (bacterias)
ITS (hongos)
COI (eucariotas)

Productos
- Comunidad microbiana
- Taxonomía
- Diversidad genética

2. Protocolo de anatomía de madera con tinción específica para fibras de xilema



1. Obtención de secciones del cladodio (cortes delgados)
2. Tinción específica (Safranina + Astra blue)



3. Observación microscópica (luz visible y/o fluorescencia)

Características a evaluar
- Fibras de xilema
- Elementos de vaso
- Parénquima
- Cristales de oxalato
- Espesor de pared

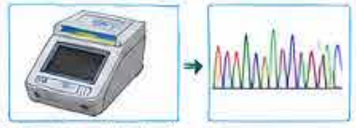
Ejemplos de estructuras



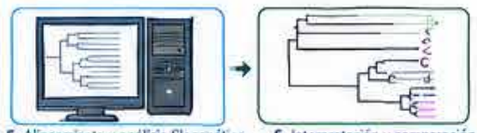
3. Protocolo de diversidad filogenética del género *Opuntia*



1. Colecta de muestras (hojas/cladodios de cada especie)
2. Extracción de ADN (tejidos frescos o secos)



5. Alineamiento y análisis filogenético (Máxima verosimilitud / Bayesian)
4. Interpretación y comparación de linajes y diversidad



5. Alineamiento y análisis filogenético (Máxima verosimilitud / Bayesian)
6. Interpretación y comparación de linajes y diversidad

Marcadores moleculares
- **ITS** (nuclear)
- **trnL-trnF** (cloroplasto)
- **matK** (cloroplasto)
- **rbcL** (cloroplasto)

Especies analizadas
- *Opuntia robusta*
- *Opuntia leucotricha*
- *Opuntia joconostle*
- *Opuntia tomentosa*

4. Protocolo de análisis estadístico para la prueba de hipótesis

1. Organización de datos
- **Variables:** especie, sitio, diversidad microbiana,
- contenido de oxalato, características de la madera

2. Pruebas de normalidad
- Shapiro-Wilk / Kolmogorov-Smirnov (decidir prueba paramétrica o no paramétrica)

3. Prueba de hipótesis
- ANOVA / Kruskal-Wallis (comparación entre especies)
- Prueba de Tukey / Dunn (post hoc)
- Correlación de Spearman / Pearson

4. Análisis multivariado
- PCA / NMDS
- PERMANOVA
- Análisis de conglomerados

5. Software
- R (vegan, phyloseq), SPSS, Past

Ejemplo de hipótesis

H_0: No hay diferencias significativas en la diversidad microbiana entre especies de *Opuntia*.

H_1: Sí hay diferencias significativas.

Nivel de significancia
$\alpha = 0.05$

La integración de enfoques moleculares, anatómicos, filogenéticos y estadísticos permitirá comprender la evolución de la oxalotrofía y su relación con la adaptación de los nopales a ambientes áridos.

Nopal → Madera en degradación → Microorganismos → Oxalato de calcio