



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas



“Efecto de la inoculación de *Pseudomonas fluorescens*
UM270 sobre el bacterioma rizosférico de maíz (*Zea
mays* L.) en diferentes tipos de suelo”

TESIS DE MAESTRÍA

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA

EXPERIMENTAL

Presenta:

Q.F.B. Carlos Alberto Urtis Flores

Director:

D.C. Gustavo Santoyo Pizano

Morelia, Michoacán, Mayo 2022

Índice General

Resumen	1
Abstract	2
1. Introducción.....	3
2. Antecedentes.....	4
2.1. El cultivo de maíz en México.....	4
2.2. El microbioma de plantas.....	6
2.3. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal.....	9
2.4. Exudados radiculares.....	9
2.5. Efectos benéficos de las rizobacterias sobre las plantas.....	10
2.5.1 Solubilización de fósforo.....	10
2.5.2 Fijación de nitrógeno.....	11
2.5.3 Adquisición de hierro y producción de sideróforos.....	12
2.5.4 Compuestos antimicrobianos.....	12
2.5.5 Compuestos orgánicos volátiles.....	14
2.6 Estrategias de colonización de la rizósfera.....	15
2.6.1 Producción de biofilm.....	15
2.6.2 Motilidad y quimiotaxis.....	15
2.7 Efectos la inoculación de PGPR en el rizobioma.....	17
2.7.1 El género <i>Pseudomonas</i>	19
2.7.2 <i>Pseudomonas fluorescens</i> UM270.....	19
3. Justificación.....	22
4. Hipótesis.....	23
5. Objetivo.....	24
5.1 Objetivo general.....	24
5.2 Objetivos específicos.....	24

6. Metodología	25
6.1 Recolección de muestras de suelo y análisis fisicoquímico.....	25
6.2 Plantas de maíz.	26
6.3 Recuperación de <i>Pseudomonas fluorescens</i> UM270.....	26
6.4 Experimentos de inoculación en macetas.	26
6.4.1 Inoculación de semillas.	27
6.4.2 Evaluación de los efectos promotores en plantas de maíz.	27
6.4.3 Extracción de ADN metagenómico de muestras de suelo y rizósferas de maíz.	28
6.4.4 Secuenciación.	28
6.4.5 Análisis de las secuencias.	29
6.4.6 Análisis de diversidad.	29
7. Resultados	30
7.1 El análisis fisicoquímico de las muestras reveló tres tipos distintos de suelo.	30
7.2 <i>Pseudomonas fluorescens</i> UM270 promueve el crecimiento de plántulas de maíz.....	32
7.3 Valoración de las características de los extractos metagenómicos.....	35
7.4 Análisis bioinformático de los genes 16S.....	36
7.5 Diversidad e índices ecológicos del bacterioma de las muestras.....	44
7.5.1 Análisis de diversidad alfa.....	44
7.5.2 Análisis de diversidad beta.....	46
7.6 Determinación de taxa compartido y exclusivo del bacterioma de maíz.....	50
7.7 Estructura de la comunidad microbiana y patrones de coocurrencia y coexclusión.....	56
7.7.1 Topología de comunidad microbiana de un suelo Arcilloso.....	56

7.7.2 Topología de comunidad microbiana de un suelo Franco-arenoso...	60
7.7.3 Topología de comunidad microbiana de un suelo Franco.....	64
8. Discusión.....	68
9. Conclusión.	78
10.Referencias bibliográficas.....	80

Índice de tablas

Tabla 1. Trabajos previos sobre la utilización del maíz para evaluar el ensamble de su microbioma.	8
Tabla 2. PGPR inoculadas en la rizósfera de plantas con efectos benéficos.....	18
Tabla 3. Trabajos previos sobre <i>Pseudomonas fluorescens</i> UM270.....	21
Tabla 4. Análisis fisicoquímico de las muestras de suelo.	31
Tabla 5, Valoración de los extractos metagenómicos de las muestras.	35
Tabla 6. Cambios en las abundancias relativas de los phyla dominantes.....	39
Tabla 7. Cambios en las abundancias relativas de las clases dominantes.	43
Tabla 8. Índices ecológicos de la diversidad alfa de las muestras.	45
Tabla 9. Microorganismos moduladores benéficos detectados.....	54

Índice de figuras

Figura 1 foto representativa del cultivo de <i>Zea mays</i> L.	5
Figura 2 Principales mecanismos promotores del crecimiento vegetal mediados por PGPR.	17
Figura 3. Mapa de sitios de recolección de las muestras.	25
Figura 4. Efectos promotores de <i>Pseudomonas fluorescens</i> UM270 en diferentes tipos de suelo.	33
Figura 5. Valores fitometricos obtenidos de plántulas de maíz control, e inoculadas con <i>P. fluorescens</i> UM270.	34

Figura 6. Abundancias relativas de los efectos generados por los tratamientos en tres tipos de suelo a nivel phylum.....	38
Figura 7 . Abundancias relativas de los efectos generados por los tratamientos en tres tipos de suelo a nivel clase.	42
Figura 8. Curva de rarefacción de las muestras.	44
Figura 9. PCoA del índice de Bray-Curtis.	48
Figura 10. PCoA del índice de Jaccard.	48
Figura 11. PCoA Unifrac ponderado.	49
Figura 12. PCoA Unifrac no ponderado.	49
Figura 13. Diagrama de Venn de taxa compartido entre tratamientos en un suelo arcilloso a diferentes niveles taxonómicos.	50
Figura 14. Diagrama de Venn de taxa compartido entre tratamientos en un suelo franco-arenoso a diferentes niveles taxonómicos.	51
Figura 15. Diagrama de Venn de taxa compartido entre tratamientos en un suelo Franco a diferentes niveles taxonómicos.	53
Figura 16. Grafo de comunidad microbiana del suelo Arcilloso nivel phylum.....	57
Figura 17. Grafo de comunidad microbiana del suelo Arcilloso nivel clase.....	59
Figura 18. Grafo de comunidad microbiana del suelo Franco-arenoso nivel phylum.	61
Figura 19. Grafo de comunidad microbiana del suelo Franco-arenoso nivel clase.....	63
Figura 20. Grafo de comunidad microbiana del suelo Franco nivel phylum.....	65
Figura 21. Grafo de comunidad microbiana del suelo Franco nivel clase.....	67

Resumen:

La agricultura se enfrenta a una serie de desafíos complejos, ante lo cual, existe una creciente demanda de agentes biológicos que confieren capacidades aumentadas o beneficios a los cultivos y suelos donde estos se desarrollan. Se ha propuesto el uso de bacterias benéficas en las plantas que pueden interactuar con ellas y su comunidad microbiana nativa asociada de manera positiva teniendo efectos directos sobre la germinación, el rendimiento, biomasa, la concentración de metabolitos de interés etc., es sabido que la comunidad asociada a las plantas confiere resistencia a su huésped ante diversos factores bióticos y abióticos; la comprensión sobre los efectos que tiene la introducción de una especie promotora en la comunidad nativa de distintos suelos ayuda a ampliar el conocimiento sobre los mecanismos detrás de ellos y permite explorar nuevas estrategias de explotación biotecnológica. En el presente trabajo se analizó la composición del bacterioma rizosférico de plantas de maíz sin inocular y bionoculadas con *Pseudomonas fluorescens* UM270 en tres tipos de suelo mediante la amplificación y secuenciación de los genes ribosomales 16S; se estimó la diversidad mediante diferentes índices ecológicos (de Shannon, Pielou, Faith, Bray-Curtis, Jaccard, Unifrac ponderado y no ponderado) tras un depurado bioinformático se encontraron 2,452 OTUs. El dominio biológico con mayor representatividad es *Bacteria* con el 96.26% mientras que *Archaea* suman el 3.74 % restante; la comunidad de todas las muestras se encuentran dominadas por los phyla *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Gemmatimonadetes*, *Verrucomicrobia* y *Planctomyces* en todas las muestras, sin embargo, la comparación de taxa y los análisis de diversidad revelaron un conjunto de bacterias muy grande compartido con comportamiento diferenciado, también es posible apreciar taxa exclusivo correspondiente a cada tratamiento, sugiriendo diferencias en la composición de las comunidades. Finalmente se evaluaron los efectos promotores del crecimiento exhibidos en las plantas de maíz bionoculadas encontrándose mejoras en los parámetros fitométricos analizados como lo son la biomasa de la planta, la concentración de clorofila y número de raíces en los tres tipos de suelo.

Palabras clave: Microbioma, Promoción de crecimiento, Biotecnología, *Zea mays* L., Bionoculación

Abstract:

Agriculture faces a series of complex challenges, before which, there is a growing demand for biological agents that confer increased capacities or benefits to the crops and soils where they are developed. The use of beneficial bacteria in plants that can interact with them and their associated native microbial community in a positive way has been proposed, having direct effects on germination, yield, biomass, the concentration of metabolites of interest, etc. It is known that the plant-associated community confers resistance to its host against various biotic and abiotic factors; understanding the effects of the introduction of a promoter species in the native community of different soils helps to expand knowledge about the mechanisms behind them and allows exploring new strategies for biotechnological exploitation.

In the present work, the composition of the rhizospheric bacteriome of maize plants without inoculation and bionoculated with *Pseudomonas fluorescens* UM270 in three types of soil was analyzed by means of the amplification and sequencing of the 16S ribosomal genes; diversity was estimated using different ecological index (Shannon, Pielou, Faith, Bray-Curtis, Jaccard, weighted and unweighted Unifrac) after a bioinformatic refinement, 2,452 OTUs were found. The most representative biological domain is *Bacteria* with 96.26% while *Archaea* account for the remaining 3.74%; the community of all samples is dominated by the phyla *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Gemmatimonadetes*, *Verrucomicrobia* and *Planctomyces* in all samples, however, taxa comparison and diversity analyzes revealed a very large shared set of bacteria with differentiated behavior, it is also possible to appreciate exclusive taxa corresponding to each treatment, suggesting differences in the composition of the communities. Finally, the growth-promoting effects exhibited in bionoculated maize plants were evaluated, finding improvements in the phytometric parameters analyzed, such as plant biomass, chlorophyll concentration and number of roots.on three soil types.

1.Introducción

En la actualidad, la agricultura enfrenta desafíos de variada índole, los cambios climáticos a nivel global, las plagas de especies vegetales, la creciente población humana y la pérdida de suelo fértil (Asher et al.,2002). Con la finalidad de atender estas necesidades se han utilizado de manera inadecuada diferentes productos químicos para el manejo de plagas, modificar los valores nutricionales del suelo y mejorar el desarrollo general de las plantas (Majeed.,2018). Sin embargo, esto ha generado otra clase de problemáticas como la pérdida de biodiversidad debido a que muchos pesticidas funcionan de manera no selectiva y dañan a diferentes especies de microorganismos. Además, existen procesos de bioacumulación de compuestos tóxicos a nivel subterráneo e incluso pueden causar inhibición en la adquisición de nutrientes en las plantas. Tampoco podemos perder de vista el daño a la salud humana debido a las malas prácticas en la agricultura (Nicolopoulou-Stamati et al., 2016). Por lo tanto, el uso de microorganismos representa una alternativa amigable con el ambiente.

Es sabido que los microorganismos se encuentran asociados a las plantas desde hace millones de años, lo que ha permitido la coevolución de ambos, desarrollando múltiples interacciones que repercuten en la salud de las plantas de manera negativa o benéfica, mediante señales bioquímicas específicas (Berendsen et al., 2012). Los microorganismos poseen un metabolismo plástico que les permite proliferar en un rango muy amplio de condiciones físicas, químicas y nutricionales, así mismo, se encuentran en constante comunicación entre ellas y entre otros organismos en los diferentes dominios de la vida, lo que les permite una capacidad intervención en mayor o menor medida frente a otros organismos gracias a las cadenas tróficas participando en procesos ecológicos y por tanto impactar en los ecosistemas (Kour et al., 2020). La búsqueda de microorganismos potencialmente benéficos para las plantas contribuye al entendimiento de los mecanismos de interacción planta-microorganismo, el desarrollo de nuevas estrategias de explotación biotecnológica, la reducción de pérdidas económicas causadas por patógenos u otras condiciones de estrés, también pueden estimular el crecimiento y la salud de las plantas (Prasad et al.,2015).

El cultivo del maíz (*Zea mays* L.) es de importancia global, y debido a su versatilidad es aprovechado en múltiples industrias como lo son la papelera, energética, alimenticia y textil. El maíz es un cultivo de importancia estratégica a nivel internacional y genera una derrama económica significativa para el desarrollo de los países y su seguridad alimentaria (Ranum et al., 2014). Es un cultivo resistente a diferentes tipos de estrés bióticos y abióticos, sin embargo, esto no hace a la planta inmune a las enfermedades (Kimoto et al., 2019 y Balmer et al., 2013). El maíz muestra la capacidad de asociarse con microorganismos, su amplia variabilidad genética le permite producir diferentes exudados radiculares con variada constitución química (carbohidratos, aminoácidos, vitaminas, fitoalexinas, péptidos, antibióticos y volátiles), en concentraciones y calidades diferenciales; es también un cultivo que posee un dinamismo en la estructuración de su microbioma a lo largo de los distintos periodos de desarrollo de la planta y que se adecua a distintos factores edáficos (Peiffer y Ley., 2013 y Correa-Galeote et al., 2016).

2. Antecedentes

2.1 El cultivo del maíz en México

Se ha sugerido que la domesticación del maíz se origina en México hace aproximadamente 10,000 años; desde entonces, el cultivo del maíz tiene un alto valor económico, religioso y social, existiendo más de 220 variedades y siendo 54 endémicas de nuestro país, por lo que es también considerado como el mayor reservorio genético de maíz en el mundo. (Benz 1997). México es el séptimo productor mundial y en el año 2020 dejó una derrama económica de 14,274 millones de dólares. La planta de maíz y su ancestro, el teocintle, se clasifican dentro del género *Zea*, perteneciente a la familia de las Gramínea o Poaceae (Figura 1), donde se encuentran otros cultivos de interés global como lo son el trigo, el arroz, la cebada o la avena; sin embargo, la producción global de maíz es superior a la de otros cereales (Ramos-Gamiño., 2013).

El maíz es una planta de fácil desarrollo y adaptable a muchas condiciones, posee un tallo simple que puede alcanzar los 4 m de altura, robusto y sin

ramificaciones, las hojas son largas de gran tamaño, lanceolada y sus raíces son fasciculadas. La reproducción del maíz es monoica, por lo cual se han creado múltiples recombinaciones para obtener rasgos y características particulares para adaptarse a ciertas condiciones o para mejorar algún aspecto comercial. Debido a su alta adaptabilidad el maíz puede desarrollarse en un espectro amplio de suelo sin embargo se adapta más fácilmente a suelos con un pH ligeramente ácido o neutro (6-7), suelos profundos, ricos en materia orgánica, y con buena circulación para evitar la asfixia radicular. (Deras-Flores,.2020)

La clasificación taxonómica del maíz es la siguiente:

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Liliopsida*

Orden: *Poales*

Familia: *Poaceae*

Género: *Zea*

Especie: *Zea mays* L.

Figura 1. Fotos representativas del maíz (Izq.) y su variabilidad genética (Der.)



2.2 El microbioma de plantas

El conjunto de microorganismos que se encuentran asociados a las plantas ampliando su perfil genético y funcional es llamado microbioma. Debido a esta relación entre la planta y su microbioma asociado, hay quienes incluso proponen que son un mismo ente biológico no dissociable el microbioma de planta, lo que da lugar al concepto del "holobionte" (Hassani et al.,2018). En función de donde se asocian los microorganismos, el microbioma se encuentra compartimentalizado en cuatro regiones espaciales: el suelo de origen, que se encuentra bajo la influencia de la planta, la filósfera, que se refiere a la parte aérea de la planta; la rizósfera que corresponde a la porción del suelo en contacto íntimo con la raíz de la planta y bajo la influencia de esta; por último, la endósfera, que comprende a los microorganismos que viven dentro del tejido vegetal (Orozco-Mosqueda et al.,2018). La investigación sobre el por qué y el cómo coexisten estos microorganismos ha permitido el desarrollo de productos y estrategias biotecnológicas basadas en el aprovechamiento de estos que permiten mejorar los valores fitométricos de las plantas, el rendimiento de los cultivos, la resistencia a condiciones climatológicas y nutricionales adversas, e incluso la resistencia ante enfermedades inducidas por fitopatógenos (Trivedi et al., 2020)

Existe un modelo propuesto de dos pasos que busca explicar la adquisición del microbioma por parte de las plantas, el cual sugiere que el suelo funge como un banco biológico en el que se encuentran los microorganismos en interacción mutua donde un primer paso de reconocimiento celular general existe, como el reconocimiento de diferentes componentes celulares entre plantas y microorganismos, posteriormente un segundo paso de selección es ejercido por la competencia propia de los microorganismos que buscan establecerse en un nicho y por la selección impuesta por el genotipo de la planta huésped que secreta compuestos que inhiben o favorecen diferencialmente algunos microorganismos frente a otros (Bulgarelli et al., 2013).

La capacidad funcional de un microbioma no es igual a la suma de sus componentes individuales, dado que los microorganismos interaccionan unos con otros de manera importante y frecuente formando complejas redes microbianas.

Estas redes microbianas usualmente consisten en miles de constituyentes interdependientes que interactúan de maneras mutualistas, sinérgicas, comensales o parasíticas (Agler et al., 2016). Estas interacciones tienen el potencial de influir en el desarrollo de los otros constituyentes, con consecuencias directas sobre la fertilidad de los suelos y la salud de las plantas.

Una estrategia para comprender mejor estas redes microbianas es la construcción de redes de coocurrencia, estas son usualmente establecidas mediante el cálculo de correlación en la abundancia de miembros individuales. Los taxa microbianos que frecuentemente coocurren juegan un papel clave dentro del microbioma, ya que pueden interactuar con muchos otros microorganismos como taxa eje, los cuales tienen un importante efecto regulatorio en los otros integrantes del microbioma, por otra parte, aquellos taxa cuya abundancia no se correlaciona con otros microorganismos son conocidos como taxa periférico (van der Heijden et al.,2016). Una forma de abordar la información de estas relaciones es la aplicación de la teoría de grafos, donde un grafo es una representación gráfica de las redes de trabajo o asociaciones que existen entre los componentes de una comunidad; bajo el contexto de redes de trabajo sociales aplicadas a las comunidades microbianas, los nodos o vértices representan un taxón y los aristas o líneas funcionan como pesos donde su presencia/ausencia, correlación, distancia, intensidad y múltiples características o atributos del sistema pueden ayudarnos a encontrar las estructuras más estables de la comunidad y las interacciones que existen entre diferentes taxa a diferentes niveles de complejidad según el enfoque del manejo de datos. Estrategias para la introducción de cepas que alteran el efecto de ensamblaje de un microbioma son diversas y pueden ocurrir mediante la selección mediada por el huésped, la selección de microbioma a través de generaciones, inoculación del suelo, rizósfera, semillas o plántulas, también se utiliza la atomización en tejidos superficiales y la inyección directa en tejidos o lesiones (Orozco-Mosqueda et al.,2018). Existen trabajos sobre el ensamblaje del microbioma de maíz y las variables que podrían explicar su dinámica (Tabla 1)

Tabla 1. Trabajos previos sobre la utilización del maíz para evaluar el ensamble de su

Tipo de suelo	País	Aporte	Referencia
Suelo franco limoso y suelo limo-arcilloso	USA (New York, Illinois. Missouri)	Exploran la diversidad y la capacidad de heredabilidad de un microbioma a través de generaciones en diferentes tipos de suelo	Peiffer y Ley., 2013 Communicative & Integrative Biology
Suelo limoso (Endoaquoll) y suelo limo-arenoso	USA (Illinois) y Alemania (Braunschweig)	Estudian las diferentes conformaciones que adoptan las comunidades microbianas del rizobioma a través de diferentes estadios de desarrollo de las plantas	Li et al., 2014 Soil Biology and Biochemistry
Suelo arcilloso, suelo franco-arenoso y suelo franco-limoso	USA (Colorado)	Analizan el dinamismo de un microbioma a través de un suelo que es modificado químicamente de manera gradual y los efectos de legado	Bakker et al., 2015 Plant and Soil
Suelo franco-arenoso	Perú (Huancavelica)	Encuentran diferencias en el ensamblaje del microbioma debido a la calidad y cantidad de exudados radiculares	Correa-Galeote et al., 2016 Frontiers in Microbiology
No se menciona	USA (New York, Illinois. Missouri)	Estudian y comparan el microbioma de 27 líneas de maíz en cinco suelos diferentes durante un periodo de 5 años	Walters et al., 2018 Proceedings of the National Academy of Sciences
Suelo limo-arcilloso	USA (Iowa)	Muestran impacto prácticas agrícolas en reclutamiento de microorganismos	Wattenburger et al., 2019 Phytobiomes Journal

2.3 Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (o PGPR, por sus siglas en inglés, Plant Growth Promoting Rhizobacteria) se definen como aquellas que son capaces de conferir beneficios al crecimiento, desarrollo y la salud de las plantas (Singh et al., 2015); este efecto es provocado mediante dos mecanismos generales de acción, mecanismos directos e indirectos. Los mecanismos directos son aquellos en los que la bacteria secreta diferentes compuestos u opta por estrategias que repercuten directamente en el desarrollo de las plantas, como lo son la síntesis de fitohormonas como auxinas, giberelinas y ácido abscísico, la modificación del pH para solubilizar macro y micronutrientes entre otros. Los mecanismos indirectos, a su vez generan efectos positivos sobre las plantas, pero sin ejercer el efecto directamente sobre ellas, ejemplos de estos mecanismos lo son la competencia por espacio y nutrientes, la secreción de compuestos antimicrobianos o la disrupción de rutas de señalización de otros organismos (Glick 2012).

2.4 Exudados radiculares

Las plantas son esenciales en las cadenas tróficas puesto que aprovechan la energía del sol para fijar carbono. Estos fotosintatos poseen un amplio espectro de efectos y diferentes propiedades fisicoquímicas, la secreción de estas moléculas a través de la raíz es una característica común de todas las plantas y es un fenómeno conocido como rizodeposición (Brimecombe et al., 2007). Algunos ejemplos de exudados radiculares incluyen aminoácidos, vitaminas, ácidos orgánicos, entre otros. Debido a esto la rizósfera es un nicho rico en nutrientes con gradientes de concentración y propiedades fisicoquímicas diferenciales a lo largo de la raíz y en su circunferencia de acción. La amplia naturaleza química de estos exudados es un factor que moldea el microbioma, favoreciendo el desarrollo de algunos microorganismos e inhibiendo a otros. Además, existe un lenguaje químico selectivo entre plantas y microorganismos que responde de maneras distintas ante diferentes tipos de estrés biótico y abiótico. Por lo tanto, la rizósfera es una microzona ecológicamente muy diversa y también una zona de

competencia por el establecimiento y la proliferación de diversas comunidades de micro y macroorganismos (Sasse et al., 2018).

2.5 Efectos benéficos de las rizobacterias sobre las plantas.

La rizósfera una zona rica en sustratos aprovechables por diferentes microorganismos debido al fenómeno conocido como rizodeposición, por lo cual, existe una constante competencia entre miembros de una comunidad por la permanencia; de manera particular las PGPR son bacterias que logran colonizar y proliferar en la rizósfera de las plantas sin generar daños aparentes e inclusive teniendo efectos benéficos sobre ellas, estas bacterias han desarrollado mecanismos que estimulan y protegen a sus huéspedes confiriéndoles a ellas un efecto positivo a nivel poblacional al recibir sustratos en un intercambio bioquímico regulado; entre las estrategias con las que cuentan los microorganismos están aquellos relacionados con la solubilización, biotransformación y un aumento en el aprovechamiento de elementos nutricionales, la capacidad de mitigar condiciones de estrés abiótico como sequía o la salinidad, la estimulación del sistema inmune y la protección hacia diferentes fitopatógenos (Figura 2).

2.5.1 Solubilización de fósforo

El fósforo (P) es un elemento esencial en la nutrición vegetal, en el suelo se encuentra en dos formas principales: el fósforo orgánico, que se encuentra ligado a la materia orgánica en componentes celulares o compuestos orgánicos, este es degradado por bacterias, plantas u hongos, el fósforo inorgánico por su parte suele formar complejos minerales con el calcio, aluminio y manganeso. El fósforo aprovechable por las plantas se encuentra en forma de ortofosfatos, formas inorgánicas solubles como iones monobásicos (H_2PO_4) y dibásicos (HPO_4) (Alori et al; 2017).

Debido a la disponibilidad de este elemento (P) es baja, plantas y microorganismos compiten por este mediante procesos de precipitación, solubilización, absorción y desorción, la conversión de fosfatos inorgánicos

disponibles a formas orgánicas no disponibles se denomina inmovilización mientras que el proceso opuesto, la transformación de fosfato orgánico en ortofosfatos es denominado como mineralización. El principal mecanismo microbiano para la solubilización es el cambio de pH, este ocurre debido a la secreción de ácidos orgánicos de bajo peso molecular que con propiedad quelante favorecen la formación de complejos insolubles con metales, con la consecuente liberación del fosfato (Rodríguez y Fraga, 1999).

2.5.2 Fijación de nitrógeno

El Nitrógeno (N) es un constituyente en ácidos nucleicos, péptidos, ácidos orgánicos y algunos fosfolípidos, los cuales son esenciales para la estructuración y funcionalidad de los seres vivos; el nitrógeno posee un ciclo en los ecosistemas, este elemento puede ser captado y fijado en suelos por bacterias diazótrofes, estas se encargan del proceso de fijación de nitrógeno atmosférico en formas más disponibles para otros organismos como lo es el amonio que es el sustrato inicial para el proceso de la nitrificación, el cual consiste en la transformación de amonio a nitrato (Shin et al., 2015). Existe también un grupo de bacterias colectivamente llamadas rizobias (*Azorhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradirhizobium* y *Mezorhizobium*) capaces de asociarse en una simbiosis iniciada por la comunicación entre los factores de nodulación (*nod*); lipoquitoligosacáridos secretados por bacterias y flavonoides producidos por la raíz de las plantas leguminosas. Estos factores *nod* que inducen una transformación morfológica en la raíz para formar una estructura celular en la que puedan proliferar dichas bacterias con la finalidad de fijar nitrógeno. Actualmente, se conoce a detalle que el proceso de formación de estos nódulos sigue pasos cronológicos y ha sido ampliamente estudiado en plantas como *Medicago truncatula* asociadas en simbiosis con *Sinorhizobium meliloti* (Zhang et al., 2019). Si bien estas especies han sido útiles por asociarse a leguminosas, géneros como *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Azotobacter* han sido utilizados con éxito en diferentes cultivos agrícolas.

2.5.3 Adquisición de hierro y producción de sideróforos

El hierro (Fe) es esencial en procesos celulares como la síntesis de ADN, la respiración celular y la detoxificación de radicales libres, existen microorganismos capaces de competir más eficientemente por este elemento debido a afinidades bioquímicas mediadas por la secreción de sideróforos (Aguado-Santacruz et al., 2012). Los sideróforos son químicamente descritos como quelantes biosintetizados por microorganismos, capaces de capturar iones metálicos con una afinidad mayor por el Fe (III) que el Fe(II). En función del grupo funcional que funge como el secuestrador pueden clasificarse en catecolatos, hidroximatos e hidroxicarboxilatos (Hider y Kong.,2010). Existe evidencia de la relación entre la captación de hierro por estos elementos y el funcionamiento del gen *MYB72*, que codifica para un regulador transcripcional involucrado en la resistencia sistémica inducida en plantas. Este gen inducido particularmente en las raíces bajo condiciones de limitación de hierro disponible lo que apunta a una relación entre la homeostasis del hierro y la activación de la resistencia sistémica inducida (Pieterse et al., 2014).

2.5.4 Compuestos antimicrobianos

Los microorganismos a través de procesos evolutivos han desarrollado estrategias de competencia mediante las cuales logran inhibir el crecimiento de otros micro y macroorganismos, particularmente en ambientes como la rizósfera (Santoyo et al., 2012). Los compuestos antimicrobianos (como el 2,4diacetilfluoroglucinol, dimetil sulfito, pirrolnitrina, fenazinas o los lipopéptidos cíclicos) poseen una amplia naturaleza química, lo que les confiere la capacidad de actuar en diferentes dianas celulares e intervenir en los procesos bioquímicos de los organismos sobre los que actúan; basados en su efecto antimicrobiano han sido clasificados como bactericidas, para denotar aquellos que tienen un efecto letal en las células y en bacteriostáticos para referirse a los agentes que inhiben temporalmente el desarrollo de los microorganismos Estas sustancias son sujetas al fenómeno de la hormesis, es decir, son moléculas que ejercen efectos diferentes en función de la concentración en la que se encuentran presentes (Agathokleous et al.,2018).

La pared celular de organismos como los hongos, los Oomycetes y las plantas suelen estar constituidas de polímeros de gran tamaño como lo son la quitina, la celulosa, glucanos y compuestos lipídicos, Algunas PGPR son capaces de realizar la biosíntesis de enzimas capaces de descomponer estas estructuras celulares en un grupo que colectivamente son llamadas enzimas líticas, entre las que se encuentran las celulasas, lipasas, quitinasas y 1,3 betaglucanasas (Bhagwat et al., 2019).

Las quitinasas y las 1,3 betaglucanasas tienen la capacidad de producir un antagonismo al desarrollo de organismos fitopatógenos con una alta especificidad y sin los riesgos generales que implica el uso de antibióticos, además de conferir una capacidad aumentada de colonización en la rizósfera. Enzimas como las celulasas las cuales están especializadas en la degradación de celulosa y otros polímeros celulares que son constituyentes en la pared celular de distintos tejidos vegetales; se presume que la capacidad de colonizar la endósfera de las plantas puede deberse a esta enzima, este es un mecanismo que es utilizado tanto por microorganismos benéficos como por fitopatógenos. Estas enzimas son utilizadas en muchas ramas industriales, como la papelera, la energética, textilera, agricultura y en la alimenticia (Menendez et al., 2015).

La producción de moléculas como los antibióticos (estreptomicina, bacitracina, fosfocitocina, bacilomicina, surfactina entre otros) le confiere a los microorganismos una ventaja competitiva en la colonización de la rizósfera al eliminar o inhibir el desarrollo de microorganismos fitopatógenos por lo cual las plantas favorecen el desarrollo de microorganismos con esta capacidad, esto vuelve a las PGPR capaces de producir dichas moléculas en una fuente potencial de interés clínico, agrícola e industrial (Stokes et al., 2019). En un estudio se evidenció que la producción de biofilm por parte de cepas de *Bacillus subtilis* era esencial para la colonización y el establecimiento de la bacteria en la rizósfera de plántulas de *Arabidopsis thaliana*, en las cuales, una vez establecida, la bacteria comenzaba la producción de un compuesto antibiótico con actividad protectora contra bacterias fitopatógenas como *P. syringae* pv tomato DC3000 (Bais et al., 2004).

2.5.5 Producción de compuestos orgánicos volátiles

Los compuestos orgánicos volátiles (COV) son moléculas de un bajo peso molecular que poseen una presión de vapor de 0.01kPa o más a temperatura ambiente, suelen contener un número de átomos de carbono inferior a 12 y pueden encontrarse asociados con otros elementos como nitrógeno, azufre, bromo, oxígeno, flúor y cloro, cuando estos son generados de manera natural reciben el nombre de COV biogénicos, estos compuestos han mostrado tener importancia en diferentes procesos mediante los cuales promueven el desarrollo de las plantas, la inducción de resistencia sistémica (RSI) y la señalización química (Kong et al.,2021).

Por ejemplo, la bacteria *Arthrobacter agilis* UMCV2 genera un compuesto volátil llamado dimetilhexadecilamina el cual mostró promover el desarrollo de plántulas de *Medicago truncatula*. Se observó que este compuesto aumentó el contenido de hierro y clorofila, un aumento en la biomasa, mejoras en la actividad de reductasas férricas y una capacidad de acidificación de la rizósfera más elevada que en las plantas control (Orozco-Mosqueda et al., 2013). Existe también evidencia de que los COV pueden estimular el sistema inmune de las plantas. *Bacillus subtilis* es capaz de generar Resistencia Sistémica Inducida (RSI); un estado de estimulación inmunológica que permite a las plantas responder de manera más eficiente a futuras infecciones por patógenos, mediante la síntesis de compuestos volátiles como la acetoina y el 2,3-butanodiol confiriendo así una mejora en el sistema inmune de las plantas frente algunos virus (Choudhary y Johri, 2009). También es importante mencionar que los COV funcionan como una molécula de señalización química entre dominios, se ha mostrado que existen bacterias capaces de secretar COV con propiedades antimicrobianas como el dimetilsulfito e incluso algunos compuestos que atraen a insectos o aves para defender a las plantas que se encuentran afectadas por una plaga determinada (Ueda et al.,2012 y Holopainen et al.,2010).

2.6 Estrategias de colonización de la rizósfera.

2.6.1 Producción de Biofilm

El biofilm es una matriz constituida de exopolisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y microorganismos embebidos en ella; la producción de esta no es una característica de un grupo bacteriano en particular, sin embargo, es un fenómeno que ha sido ampliamente estudiado en bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Salmonella* (Lasa et al., 2005). Este fenómeno es de importancia debido a que es una barrera física mediante la cual los microorganismos son capaces de protegerse de la acción de antibióticos y otros compuestos antimicrobianos, esta característica también puede ser útil en la rizósfera para resistir la selección impuesta por otros microorganismos que compiten por espacio y nutrientes; el biofilm también permite la adherencia a múltiples superficies como puede serlo el tejido radicular donde una vez establecidas las PGPR pueden ejercer sus efectos benéficos (Danhorn y Fuqua 2007). La secreción de estos exopolímeros permite a las bacterias generar un medio donde se propicia el fenómeno del “quorum sensing” y la transferencia de genes útiles para aumentar el perfil funcional y la resistencia antimicrobiana. El “*quorum sensing*” es la capacidad de modificar el comportamiento poblacional, regular y coordinar la expresión de genes y compuestos hacia fines determinados una vez que se alcanza una densidad poblacional elevada, este proceso es mediado por un lenguaje químico basado en moléculas derivadas de las N-Acyl-homoserinalactonas (Diggle et al., 2007). Aunado a lo anteriormente descrito también hay evidencia de que el biofilm puede mitigar el estrés abiótico generado en condiciones de sequía e hipersalinidad al funcionar como osmoprotectores (Banerjee et al., 2019).

2.6.2 Motilidad y quimiotaxis

La quimiotaxis es la capacidad de coordinar el movimiento celular hacia un estímulo químico generalmente con la ayuda de estructuras celulares como lo pueden ser el flagelo y los pilis. Una capacidad de desplazamiento superior a otros

microorganismos confiere una ventaja para la adquisición de nutrientes al lograr responder más rápidamente ante moléculas químico atrayentes como nutrientes generales y moléculas específicas generadas por la rizodeposición de las plantas (Bakker et al.,2020). Varios estudios exploran la importancia de la motilidad de las bacterias para una exitosa colonización de la rizósfera. En un estudio la bacteria endofítica *Azoarcus* sp BH72 fue utilizada para construir dos variantes con mutaciones en los genes *pilT* y *pilA*, los componentes estructurales mayoritarios de los pilis en la bacteria, las mutantes mostraron una marcada reducción en la capacidad de colonizar las raíces de cultivos de arroz (Böhm.,2007). También existe evidencia de que compuestos orgánicos secretados por rizobacterias pueden tener un efecto en la motilidad de otros microorganismos de manera específica a nivel de especies, *Arthrobacter agilis* UMCV2 secreta dimetilhexadecilamina, sustancia que modificó la capacidad de motilidad en enjambre en las bacterias *Bacillus* sp Zap018 y *Pseudomonas fluorescens* UM270, pero no la motilidad de *P. aeruginosa* PA01. Se ha demostrado la importancia de la motilidad, la adhesión y los reguladores moleculares en una eficiente colonización de la rizósfera (Martínez-Cámara et al.,2020).

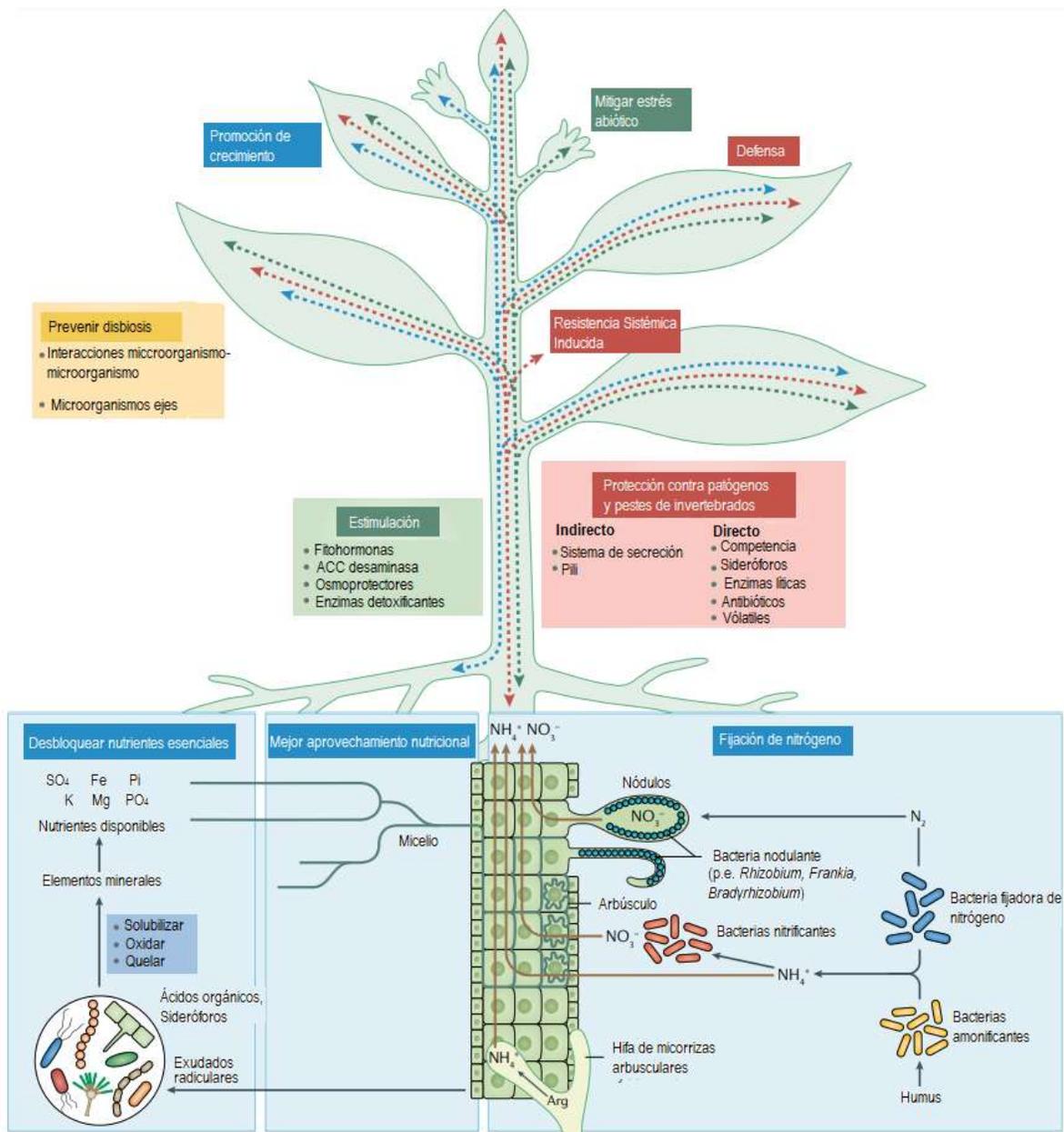


Figura 2. Principales mecanismos promotores del crecimiento vegetal mediados por PGPR (modificado de Trivedi et al., 2020).

2.7 Efectos la inoculación de PGPR en el rizobioma

Las PGPR se aplican en diferentes cultivos para incrementar el crecimiento vegetal, la germinación de las semillas, la biomasa de la planta y la productividad de los cultivos; sus efectos promotores suelen ser evidentes en los primeros

estadios de crecimiento o condiciones ambientales adversas, debido a esto, muchas de estas bacterias son utilizadas de manera comercial, pudiendo encontrar en el mercado cepas y productos derivados de algunas especies de los géneros *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Azospirillum* y *Serratia*; muchas PGPR han sido inoculadas en la rizósfera de cultivos de interés comercial, teniendo efectos positivos sobre ellas (Tabla 2)

Tabla 2. PGPR inoculadas en la rizósfera de plantas con efectos benéficos

PGPR	Planta	Mecanismo	Referencia
<i>Azotobacter chroococcum</i>	<i>Triticum aestivum</i>	Biorremediación de metales pesados	Baghaie y Aghili et al.,2021. Soil and Sediment Contamination: An International Journal
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Síntesis de lipopéptidos	Hashami et al., 2019.Microbes and Environments
<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	<i>Zea mays</i> L., <i>Brassica napus</i>	Síntesis de sideróforos, AIA y amilasa	Ghavami et al., 2017. Journal of Plant Nutrition
<i>Azospirillum brasilense</i>	<i>Brachiaria spp</i>	Fijación de nitrógeno y solubilización de fósforo	Hungria et al.,2016. Agriculture, Ecosystems & Environment
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Curcubita pepo</i>	Producción de sideróforos, quitinasas y proteasas	Selvakumar et al., 2008.Letters in applied microbiology
<i>Methylobacterium exotorquens</i>	<i>Medicago truncatula</i> , <i>Zea mays</i> , <i>Glycine max</i>	Síntesis de citocininas	Koenig et al., 2002.Journal of bacteriology

2.7.1 El género *Pseudomonas*

Migula describió a *Pseudomonas* en el año de 1894 como un género de bacterias Gram-negativas, polarmente flageladas y con forma de bastón. Una característica de las *Pseudomonas* que atrajo la atención de Migula, fue su capacidad para producir pigmentos amarillos fluorescentes. Su amplia distribución y abundancia en varios ambientes son bien reconocidas (Santoyo et al., 2012). Hasta el momento, se han identificado más de 200 especies de *Pseudomonas* y se han depositado en GenBank más de 100 borradores y genomas completos del mismo género. *Pseudomonas* spp. pertenece a la clase γ -*Proteobacteria*. Ciertas especies de *Pseudomonas*, como *P. aeruginosa*, son patógenos humanos oportunistas, mientras que otras, como *P. syringae*, causan enfermedades en las plantas. Sin embargo, más de 50 *Pseudomonas* fluorescentes son beneficiosos para las plantas. La secuenciación del genoma ha facilitado estudios detallados de la diversidad genética, el potencial metabólico y la taxonomía de las *Pseudomonas* (Silby et al., 2011).

2.7.2 *Pseudomonas fluorescens* UM270

La PGPR *P. fluorescens* UM270 fue aislada de la rizósfera de plantas de *Medicago truncatula* en suelo agrícola de las cercanías de la ciudad de Morelia localizada en el Estado de Michoacán. La cepa mostró efectos promotores del crecimiento vegetal y antagonismo a fitopatógenos por diferentes mecanismos. (Hernández-León et al., 2015). Posteriormente se analizó el genoma de *P. fluorescens* UM270, el cual consta de 6,047,974 pares de bases condensados en un único cromosoma, con un contenido de G+C de 62.66%; que codifican a 5,396 genes, 59 genes de RNA y 110 pseudogenes. La cepa cuenta con genes que le permiten sintetizar múltiples moléculas con capacidad promotora del crecimiento, comunicación y antagonismo hacia fitopatógenos, como lo son los genes que codifican para fenazinas (*phzFABCD*), piocianina (*pcnDCE*), pioverdina (*pvdPD*), 2,4-diacetilfluoroglucinol (*phlCBD*), el volátil cianuro de hidrógeno (*hcnCB*), la enzima ACC desaminasa (*acdS*), AIA (*iaaMH*) acyl,-homoserinlactona acilasa

(*pcdQ*), también cuenta con sistema de secreción tipo II-VI y ortólogos del loci toxina-antitoxina *vapBC-1* y *vapXD* (Hernández-Salmerón et al.,2016). Lo anteriormente mencionado dio lugar a posteriores análisis que permitieron comparar la estructura de su genoma, evaluar su capacidad de colonización de la rizósfera y también la capacidad de esta cepa para mitigar diferentes tipos de estrés abiótico (Tabla 3)

Tabla 3. Trabajos previos con *P. fluorescens* UM270 como biocontroladora y promotora del crecimiento

Contribución	Organismos empleados	Referencia
Caracterizan la cepa UM270 y detectan efectos promotores del crecimiento	<i>Pseudomonas fluorescens</i> UM16, UM240, UM256, UM270 y <i>Medicago truncatula</i>	Hernández-León et al., 2015 Biological Control
Evalúan capacidad de colonización de la rizósfera y efectos inmunoprotectores	<i>Pseudomonas fluorescens</i> UM16, UM240, UM256, UM270, <i>Zea mays</i> L. y <i>Physalis ixocarpa</i> Brot ex Horm	Rojas-Solís et al., 2016 Revista Chapingo serie Horticultura
Analizan genes únicos de <i>P. fluorescens</i> UM270 encontrando enzimas y metabolitos asociados a la competencia y colonización de la rizósfera	Ocho cepas de <i>Pseudomonas</i> (UM270, Pf0-1, A506, F113, SBW25, PICF-7, UK4 y UW4)	Hernández-Salmerón et al., 2017 Journal of Genomics
Exploran la regulación de los genes <i>phlD</i> y <i>hcnC</i> de <i>P. fluorescens</i> UM270 frente a hongos fitopatógenos	<i>Pseudomonas fluorescens</i> UM270 <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Fusarium solani</i> y <i>Rhizoctonia solani</i>	Hernández-Salmerón et al., 2018 Biotecnia
Analizan metabolitos secretados por <i>P. fluorescens</i> que promueven el crecimiento vegetal y afectan la motilidad de otras bacterias	<i>Arthrobacter agilis</i> UMCV2, <i>Bacillus</i> sp. ZAP018, <i>Pseudomonas fluorescens</i> UM270 y <i>P. aeruginosa</i> PA01	Martínez-Cámara et al. 2019 Folia Microbiológica
Determinan la capacidad de cuatro cepas bacterianas para conferir halotolerancia a una especie vegetal en suelos con alto contenido salino	<i>Pseudomonas fluorescens</i> UM16, UM240, UM256, UM270 y <i>Casuarina equisetifolia</i> L.	Rocha-Granados et al., 2019 Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial

3. Justificación.

La cepa UM270 de *Pseudomonas fluorescens* es una rizobacteria promotora del crecimiento vegetal y biocontroladora de patógenos fúngicos. La cepa UM270 exhibe diversos mecanismos benéficos, como la producción de compuestos antimicrobianos, fitohormonas que estimulan el crecimiento vegetal, además de ser una excelente competidora y colonizadora de la rizósfera de plantas. Sin embargo, se desconocen sus interacciones con otros microorganismos de la rizósfera, particularmente aquellos asociados a plantas de maíz (*Zea mays* L.), y si dichas relaciones influyen en la estructura de las diferentes comunidades microbianas del suelo. Por lo tanto, es de nuestro interés profundizar su estudio sobre los tipos de interacciones que forma la cepa UM270 al interactuar con el rizobioma de plantas de maíz, con el fin de determinar si su aplicación futura en campo tendría efectos benéficos a través de la colonización de la rizósfera e interacción con el rizobioma.

4. Hipótesis.

La colonización de *Pseudomonas fluorescens* UM270 modifica la estructura del bacterioma rizosférico de *Zea mays* L., favoreciendo la abundancia de especies benéficas para la planta.

5. Objetivo

5.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto de la inoculación de *Pseudomonas fluorescens* UM270 sobre el bacterioma de maíz (*Zea mays* L.) en tres diferentes tipos de suelo.

5.2 Objetivos específicos

- I. Evaluar el efecto de la inoculación de la bacteria promotora del crecimiento vegetal *Pseudomonas fluorescens* UM270 en plántulas de maíz.
- II. Determinar la composición taxonómica de las comunidades bacterianas de la rizósfera de maíz (*Zea mays* L.) en los diferentes tipos de suelo.
- III. Establecer los taxa compartidos entre los diferentes bacteriomas asociados a las raíces de *Zea mays* L.
- IV. Conocer la co-ocurrencia de *P. fluorescens* UM270 y taxa específicos durante la colonización de la rizósfera de plántulas de maíz.

6. Metodología

6.1 Recolección de muestras de suelo y análisis fisicoquímico

Las muestras de suelo fueron recolectadas de zonas de uso agrícola en tres sitios diferentes correspondientes a los municipios de Yuriria, localizado en el estado de Guanajuato y a los municipios de Morelia y Uruapan ambos ubicados en Michoacán de Ocampo, una vez recolectadas las muestras fueron llevadas al laboratorio para su correcta preservación e inmediata utilización; las propiedades fisicoquímicas de los suelos fueron analizadas en un laboratorio de referencia, el INIFAP por sus siglas Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Km 6,5 Carretera Celaya, San Miguel de Allende, Celaya, Guanajuato C.P.38110).



Figura 3. Mapa de sitios de recolección de las muestras

6.2 Plantas de maíz

Las semillas de maíz fueron donadas por el Dr. Homero Reyes de la Cruz (IIQB), se trata de semillas de maíz (*Zea mays* L.) variedad criolla “chalqueño” que se caracteriza por su alto rendimiento, fruto de gran tamaño y su adaptabilidad a varios climas (Miguel et al.,2004).

6.3 Recuperación de *Pseudomonas fluorescens* UM270

La cepa *Pseudomonas fluorescens* UM270 se recuperó de una solución crioprotectora de glicerol y caldo nutritivo, la cual se encontraba a -20°C. Posteriormente, fue transferida a placas de agar nutritivo e incubadas durante 48 hrs.

6.4 Experimentos de inoculación en macetas

En cada uno de los tres suelos empleados se colocaron dos grupos de semillas de maíz (*Zea mays* L.), un grupo de semillas desinfectadas superficialmente y otro de semillas desinfectadas superficialmente e inoculado con *Pseudomonas fluorescens* UM270 para ser germinadas y generar el microbioma colonizador de la rizósfera, siguiendo el protocolo propuesto por Scher (Scher et al., 1984) y Rojas Solis (Rojas-Solís et al., 2016). Una vez obtenido el suelo rizósferico se contabilizaron las unidades formadoras de colonia (UFC) por gramo de suelo, se obtuvo el metagenoma para ser amplificado y secuenciado el perfil de genes ribosomales (16S rDNA) en un laboratorio especializado MR. DNA (503 Clovis Road, Shallowater, Texas C.P.79363). Una vez obtenidas las secuencias 16S se determinaron la diversidad de Unidades Operacionales Taxonómicas (OTUs, por sus siglas en inglés) encontrados en cada suelo y se determinaran aquellos taxa compartidos. El mismo procedimiento se siguió para el análisis del microbioma rizósferico asociado a las plántulas de maíz donde se realizó la coinoculación de la bacteria *Pseudomonas fluorescens* UM270 en cada tipo de suelo rizósferico. Así los OTUs se definirán agrupándose con una similitud del

97%. Para la clasificación de los OTUs y su identificación taxonómica se empleará el algoritmo “Basic Local Alignment Search Tool nucleotide” (BLASTn) (www.ncbi.nlm.nih.gov).

6.4.1 Inoculación de semillas

Primero se realizaron dos grupos de semillas para cada tipo de suelo, estas semillas fueron desinfectadas superficialmente mediante lavados con agua desionizada estéril, etanol al 96% y una solución de hipoclorito de sodio al 5%, el primer grupo consta de semillas control que solo fueron inoculadas con una solución 0.1mM de sulfato de magnesio (MgSO₄), el segundo grupo consta de las semillas sujetas a una solución inoculante de *P.fluorescens* UM270 y 0.1mM de sulfato de magnesio (MgSO₄) ajustada a una densidad óptica de 1, fueron llevadas a agitación durante 24 hrs. Se verifico mediante dilución seriada en placas de AN que la solución inoculante se encuentra en el orden de 10⁶ células. Pasadas las 24 hrs.; se realizaron soluciones seriadas con semillas bionoculadas en agua destilada estéril que posteriormente fueron dispersadas en placas de agar nutritivo para verificar que la carga de células se encuentra en el orden esperado mediante un conteo de unidades formadoras de colonias.

6.4.2 Evaluación de efectos promotores en plantas de maíz

Una vez que las plántulas se desarrollaron durante 21 días, se procedió a medir la concentración de clorofila en las plantas de manera instrumental mediante un medidor de clorofila CCM-200 (OPTI-SCIENCES) las lecturas se hicieron por triplicado en hojas verdaderas; posteriormente las plantas fueron extraídas gentilmente de sus macetas, desprendiendo el excedente de suelo adherido a las raíces, el suelo íntimamente sujeto a las raíces de las plantas fue recolectado para procesamiento posterior; mientras que las plantas fueron medidas y pesadas para obtener pesos frescos, posteriormente fueron llevadas a desecación durante 72 hrs y pesadas hasta obtener peso seco constante. Para este ensayo se utilizó una

$n = 25$ por tratamiento. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la prueba t para muestras independientes con una $p < 0.05$.

6.4.3 Extracción de ADN metagenómico de las muestras de suelo y rizósferas de maíz.

Las muestras de rizósferas recolectadas de los diferentes tratamientos y los suelos control fueron sometidas a una extracción metagenómica mediante el kit comercial DNEasy Power Soil kit de QIAGEN siguiendo las instrucciones del protocolo establecido por el proveedor, las muestras fueron evaluadas para medir sus condiciones de pureza y concentración instrumentalmente mediante un microespectrofotómetro Nanodrop 2000 usando la relación 260/280, la integridad de los extractos fue evaluada mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1%.

6.4.4 Secuenciación:

Se secuenció la región hipervariable V3-V4 de los genes ribosomales 16S mediante la técnica de marcado de muestras bTEFAP (Bacterial Tag-Encoded FLX Amplicon Pyrosequencing) modificada (Dowd et al; 2008). Las muestras fueron fusionadas usando índices duales únicos y montadas juntas en proporciones equivalentes según su peso molecular y concentraciones de ADN, posteriormente fueron purificadas usando esferas calibradas Ampure XP; después se procedió a preparar una librería Illumina de ADN. La secuenciación fue llevada a cabo en el laboratorio especializado MR.DNA

6.4.5 Análisis de secuencias

Las secuencias crudas obtenidas de los genes 16s fueron separadas por sus respectivos códigos. Se evaluaron con el programa FastQC que es una herramienta de control de calidad, la cual genera estadísticas básicas y generales de las secuencias. Posteriormente se removieron las secuencias de mala calidad, ambiguas y adaptadores de cada lectura con Trimmomatic 0.36. posteriormente

las secuencias menores a 150 pb se eliminan junto a las secuencias con llamadas de bases ambiguas. Las secuencias se filtraron por calidad utilizando un umbral de error máximo esperado de 1.0 y se eliminaron las duplicaciones encontradas. Las secuencias no duplicadas o únicas se eliminan de ruido; una vez hecho las secuencias únicas identificadas con errores causados por PCR son eliminadas, seguida de la búsqueda y eliminación de quimeras, lo que proporciona una secuencia sin ruido o zOTU. Las zOTU finales se clasificaron taxonómicamente utilizando BLASTn frente a una base de datos seleccionada derivada de NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov). Las secuencias se encuentran disponibles en la base de datos del NCBI bajo la clave de acceso PRJNA749811.

6.4.6 Análisis de diversidad

Se determinarán los índices estadísticos y ecológicos analizando la diversidad alfa (Shannon, Pielou, FaithPD) y la diversidad beta (Bray-Curtis, Jaccard, UniFrac). La representatividad del muestreo se medirá con una curva de rarefracción en la que las variables utilizadas serán el número de OTUs observados por el número de secuencias obtenidos de la lectura de genes rRNA 16S (Prieto-Barajas et al., 2018). El análisis de frecuencias entre tratamientos a diferentes niveles taxonómicos será realizado con muestras compuestas de los extractos metagenómicos utilizando la prueba de X^2 (Real-Sosa et al., 2022)

7. Resultados

7.1 El análisis fisicoquímico de las muestras reveló tres tipos distintos de suelo.

Las muestras de suelos fueron recolectadas en los tres sitios previamente descritos, se obtuvieron muestras de suelos a una profundidad de 30 cm en diferentes puntos de las zonas dedicadas al uso agrícola con historial de manejos diferentes entre sí, siendo utilizados para la producción de uva, fresa y aguacate en los municipios de Yuriria, Huiramba y Uruapan respectivamente. El suelo obtenido en Yuriria mostró estar conformado por un 61.80% arcilla, 27.28% limo y 10.92% arena, lo que le confiere una textura y clasificación como un suelo de tipo arcilloso; por otra parte, el suelo proveniente de Huiramba tenía una composición de un 78.92% arena, 18.28% limo y 02.80% arcilla, lo que le confiere una textura y clasificación como un suelo de tipo franco-arenoso, finalmente, el suelo originario de Uruapan está constituido por un 40.00% limo, 38.20% arena y 21.80% arcilla, lo que le confiere una textura y clasificación como un suelo de tipo franco. Cabe mencionar que el pH, el contenido de materia orgánica y el contenido de nitrógeno, mostraron valores ascendentes suelo arcilloso, franco-arenoso y franco respectivamente; los parámetros fisicoquímicos evaluados se encuentran resumidos (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis fisicoquímico de las muestras de suelo

Tipo de suelo	Arcilloso	Franco-arenoso	Franco
M.O.	1.93%	4.0%	4.76%
pH	6.50	7.00	7.72
Nitrógeno	212.24ppm	258.38ppm	311.11ppm
Fósforo	31.42ppm	31.05ppm	31.35ppm
Potasio	774.24ppm	389.54ppm	169.48ppm
Calcio	5,755.8ppm	986.77ppm	2,239.11ppm
Magnesio	767.77ppm	327.55ppm	459.55ppm
Sodio	114.93ppm	21.99ppm	29.01ppm
Hierro	3.75ppm	40.22ppm	39.78ppm
Zinc	0.72ppm	3.38ppm	25.55ppm
Manganeso	101.39ppm	114.10ppm	214.60ppm
Cobre	1.00ppm	1.14ppm	66.43ppm

7.2 *P. fluorescens* UM270 promueve el crecimiento de plántulas de maíz

La cepa *Pseudomonas fluorescens* UM270 es una bacteria que cuenta con diferentes mecanismos de promoción del crecimiento vegetal, entre los que se encuentran la producción de biofilm, síntesis de AIA, secreción de sideróforos, emisión de COVs y otros compuestos orgánicos difusibles antimicrobianos e inductores de la ISR. (Hernandez-León et al.,2015)

En los experimentos realizados en un suelo arcilloso las plantas inoculadas presentaron mejoras respecto a las plantas sin inocular (Figura 4a). Se encontraron diferencias significativas en su contenido de clorofila (23.3233 y 33.2133) y en los pesos frescos de tallo (0.9164g y 1.7153g) y raíz (0.74262g y 1.08106g); una vez secadas se mostró una tendencia de mejora positiva en el peso del tallo (0.1167g y 0.1963g), una diferencia significativa en el peso seco de la raíz (0.2516g y 0.3192g) y en el peso seco total de la planta (0.3683g y 0.5156g) (Figura 5a)

En los experimentos realizados en un suelo franco-arenoso las plantas inoculadas presentaron mejoras respecto a las plantas sin inocular (Figura 4b). Se encontraron diferencias significativas en su contenido de clorofila (15.5125 y 21.2) y en los pesos frescos de tallo (2.4876g y 4.1959g) y raíz (1.2008g y 2.0539g); una vez secadas se mostró una tendencia de mejora positiva en el peso del tallo (0.3347g y 0.4160g), una diferencia significativa en el peso seco de la raíz (0.1699g y 0.2677g), respecto al peso seco total de la planta (0.5047g y 0.6837g) se observó una tendencia de mejora (Figura 5b)

En los experimentos realizados en un suelo Franco las plantas inoculadas presentaron mejoras respecto a las plantas sin inocular (Figura 4c). Se encontró una tendencia de mejoría en el contenido de clorofila (19.84 y 21.9466) y diferencias significativas en los pesos frescos de tallo (4.7182g y 8.0685g) y raíz (1.2428g y 1.7257g); una vez secadas se mostraron diferencias significativas en peso del tallo (0.4475g y 0.6878g), en el peso seco de la raíz (0.1772g y 0.2588g) y en el peso seco total de la planta (0.6248g y 0.9466g) (Figura 5c)

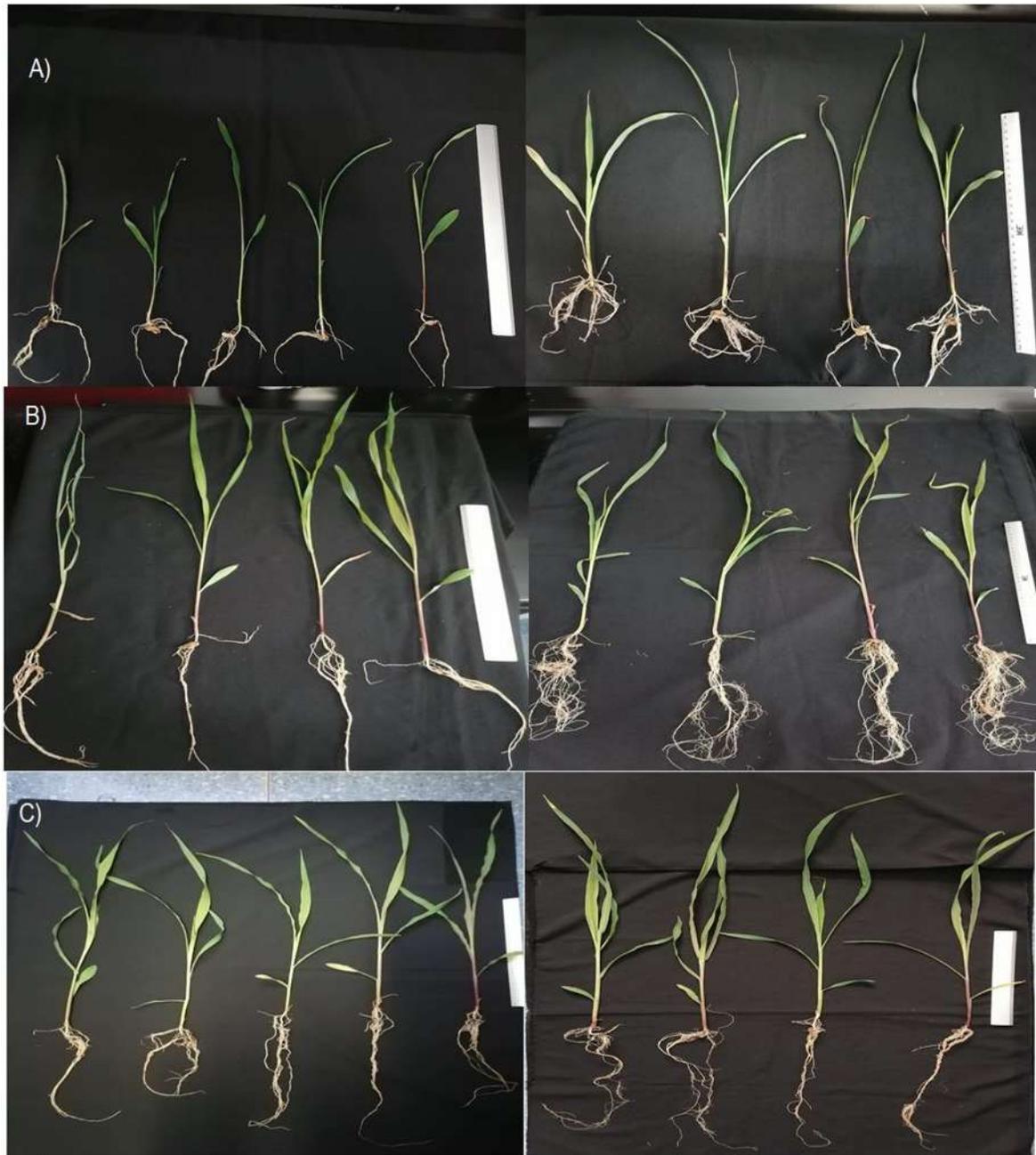


Figura 4. Efectos promotores de *Pseudomonas fluorescens* UM270 en diferentes tipos de suelo A) Suelo Arcilloso, B) Suelo Franco-arenoso, C) Suelo Franco; Plántulas sin inocular (izq) y Plántulas inoculadas con UM270 (der)

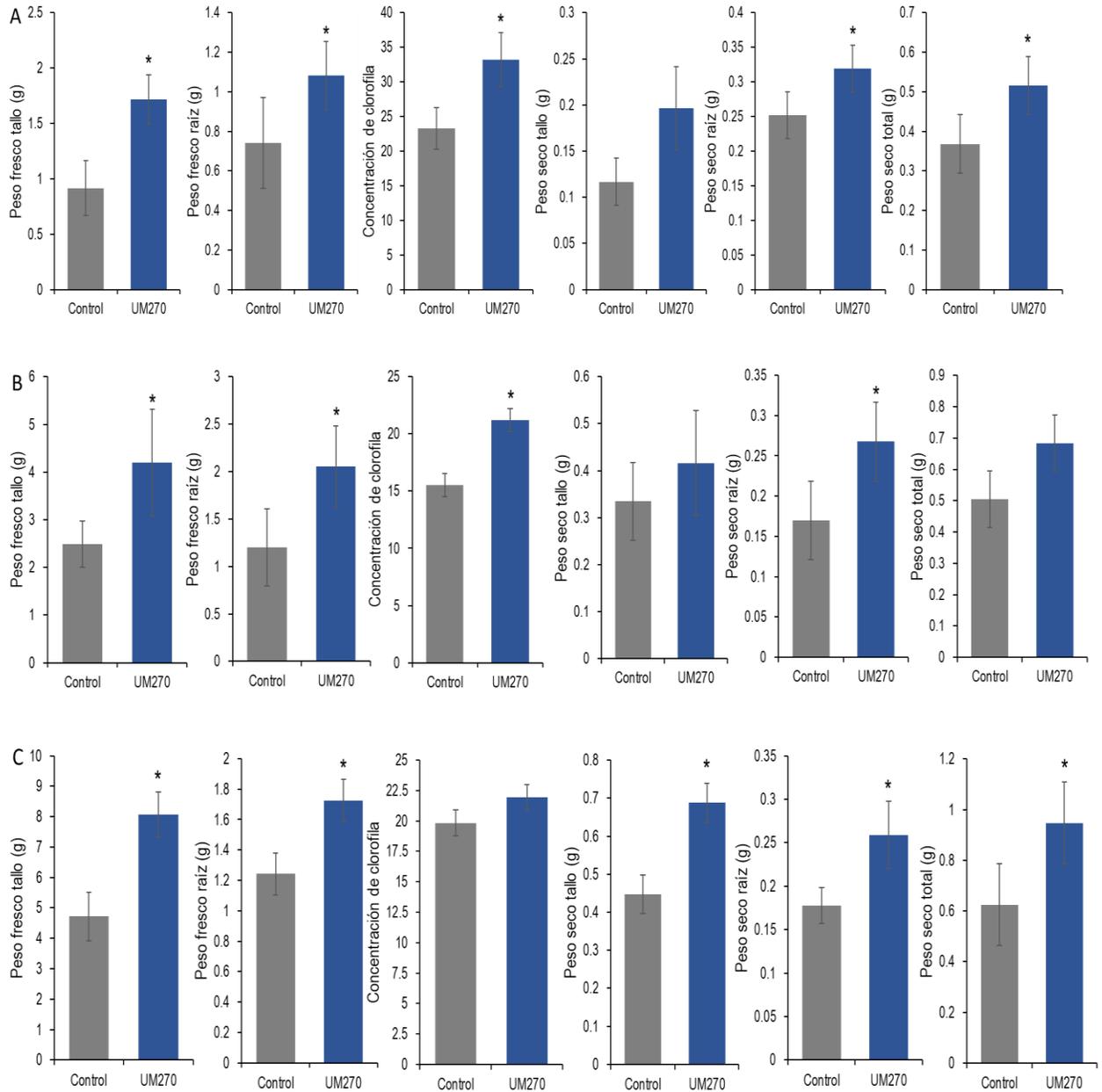


Figura 5. Valores fitométricos obtenidos de plántulas de maíz control, e inoculadas con *P. fluorescens* UM270 A) Suelo Arcilloso, B) Suelo Franco-arenoso y C) Suelo Franco, El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la prueba t para muestras independientes con una $p < 0.05$.

7.3 Valoración de las características del ADN metagenómico.

La obtención de extractos metagenómicos con buenas propiedades es elemental para una secuenciación exitosa, la estabilidad de los ácidos nucleicos en diferentes condiciones fisicoquímicas y temporales aunada a su alta especificidad entre entes biológicos la vuelven una biomolécula idónea utilizada para diferenciar entre los diferentes microorganismos vivos, incluso pudiendo encontrar diferencias puntuales entre miembros de una misma especie; esto es utilizado para aplicaciones medicinales, industriales, agrícolas, etc., si bien no existe un consenso sobre la cantidad mínima, la pureza o la integridad de una muestra genética para posteriores procesamientos, existen criterios basados en las buenas prácticas de laboratorio, la disponibilidad de suministros o tiempo y la dificultad de reemplazar la muestra, donde se suelen establecer muestras con una concentración mínima de 1ng/μl para procesar la muestra, al ser el ADN una molécula conjugada, la espectrofotometría UV es una opción para analizar la pureza utilizando el índice de absorbancia $\Lambda_{260/280}$ el cual es ampliamente utilizado y reportado en la literatura, donde valores inferiores a 1.8 consideran una muestra con impurezas y valores por encima de 2.1 indican posible interferencia por ARN (Tabla 5)

Tabla 5, Valoración de los extractos metagenómicos de las muestras

Clave de la muestra	[ng/μl]	$\Lambda_{260/280}$	Volumen total μl
YS	6.2	1.8	186
YMR	6.7	1.78	279
YMR+UM270	5.5	2.3	279
HS	7.3	1.97	186
HMR	5.2	2.1	279
HMR+UM270	13.4	1.88	279
US	11.9	1.93	186
UMR	11.5	1.94	279
UMR+UM270	10.6	1.83	279

YS: Suelo Yuriria, YMR: Rizósfera Yuriria, YMR+UM270: UM270 Yuriria, HS: Suelo Huiramba, HMR: Rizósfera Huiramba, HMR+UM270: UM270 Huiramba, US: Suelo Uruapan, UMR: Rizósfera Uruapan, UMR+UM270: UM270 Uruapan

En total se obtuvieron 3,592,480 secuencias con un tamaño aproximado de 273pb; de las cuales tras un proceso de depurado e identificación ser evaluadas con el programa FastQC se removieron las secuencias de mala calidad, ambiguas y adaptadores de cada lectura con Trimmomatic 0.36. posteriormente las secuencias menores a 150 pb se eliminan junto a las secuencias con llamadas de bases ambiguas. Las secuencias se filtraron por calidad utilizando un umbral de error máximo esperado de 1.0 y se eliminaron las duplicaciones encontradas. Las secuencias no duplicadas o únicas se eliminan de ruido; las secuencias únicas identificadas con errores causados por PCR son eliminadas, seguida de la búsqueda y eliminación de quimeras. Las zOTU finales se clasificaron taxonómicamente utilizando BLASTn frente a una base de datos seleccionada derivada de NCBI obteniendo 2,452 OTUs. El dominio biológico con mayor representatividad es *Bacteria* con el 96.2634873% mientras que *Archaea* suman el 3.73651266 % restante. Del dominio *Bacteria* se identificaron 19 phyla; de los cuales existe una dominancia en las comunidades microbianas por parte de los phyla *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Gemmatimonadetes*, *Verrucomicrobia* y *Planctomyces* en todas las muestras, sin embargo, existen valores diferenciales en la proporción de estos entre suelos de origen y tratamientos (Figura 6).

En el caso del suelo proveniente de Yuriria (arcilloso) la abundancia relativa de los phyla dominantes del suelo control fue de 34.32% *Proteobacteria*, 19.583% *Actinobacteria*, 17.293% *Acidobacteria*, 8.805% *Bacteroidetes*, 8.075% *Gemmatimonadetes*, 1.787% *Verrucomicrobia*, 1.576% *Planctomyces*, en las muestras de rizósfera de plantas sin inocular de 35.588% *Proteobacteria*, 31.115% *Actinobacteria*, 12.546% *Acidobacteria*, 7.177% *Bacteroidetes*, 3.858% *Gemmatimonadetes*, 1.77% *Verrucomicrobia*, 1.115% *Planctomyces* y en las muestras de rizósfera de plantas inoculas con *P.fluorescens* UM270 de 44.599% *Proteobacteria*, 16.778% *Actinobacteria*, 16.523% *Acidobacteria*, 9.203%

Bacteroidetes, 5.423% *Gemmatimonadetes*, 1.628% *Verrucomicrobia*, 0.912%
Planctomyces.

El suelo proveniente de Huiramba (franco-arenoso) la abundancia relativa de los phyla dominantes en el suelo control fue de 42.690% *Proteobacteria*, 6.97% *Actinobacteria*, 16.136% *Acidobacteria*, 13.178% *Bacteroidetes*, 4.42% *Gemmatimonadetes*, 7.806% *Verrucomicrobia*, 2.994% *Planctomyces*, en las muestras de rizósfera de plantas sin inocular de 48.303% *Proteobacteria*, 6.745% *Actinobacteria*, 14.675% *Acidobacteria*, 12.005% *Bacteroidetes*, 2.67% *Gemmatimonadetes*, 7.774% *Verrucomicrobia*, 2.874% *Planctomyces* y en las muestras de rizósfera de plantas inoculas con *P.fluorescens* UM270 de 45.4% *Proteobacteria*, 3.071% *Actinobacteria*, 17.904% *Acidobacteria*, 9.089% *Bacteroidetes*, 3.787% *Gemmatimonadetes*, 11.134% *Verrucomicrobia*, 3.076% *Planctomyces*.

Por último, en el caso del suelo proveniente de Uruapan la abundancia relativa de los phyla dominantes en el suelo control fue de 27.87% *Proteobacteria*, 9.191% *Actinobacteria*, 25.027% *Acidobacteria*, 3.195% *Bacteroidetes*, 8.447% *Gemmatimonadetes*, 5.847% *Verrucomicrobia*, 2.741% *Planctomyces*, en las muestras de rizósfera de plantas sin inocular de 38.698% *Proteobacteria*, 8.706% *Actinobacteria*, 16.084% *Acidobacteria*, 5.531% *Bacteroidetes*, 5.879% *Gemmatimonadetes*, 4.342% *Verrucomicrobia*, 1.85% *Planctomyces* y en las muestras de rizósfera de plantas inoculas con *P.fluorescens* UM270 de 46.543% *Proteobacteria*, 6.199% *Actinobacteria*, 15.515% *Acidobacteria*, 5.067% *Bacteroidetes*, 6.959% *Gemmatimonadetes*, 5.218% *Verrucomicrobia*, 2.214% *Planctomyces*.

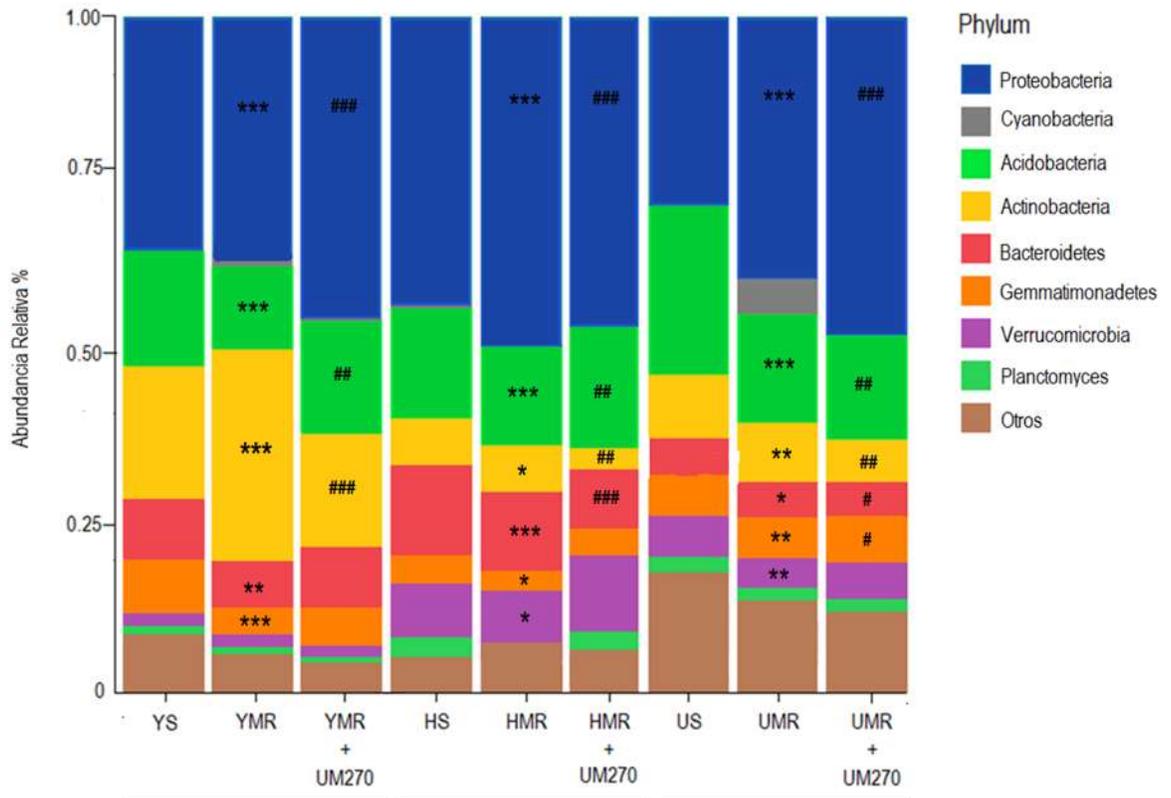


Figura 6. Abundancias relativas de los efectos generados por los tratamientos en tres tipos de suelo. Las frecuencias a nivel phylum fueron comparadas mediante la prueba chi cuadrada, diferencias significativas de las frecuencias entre suelo y rizósfera de maíz son indicadas con asteriscos (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$); diferencias significativas entre rizósfera de maíz y rizósferas inoculadas con UM270 son indicadas con numerales (# $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$)

Phylum	YS%	YMR%	E.P.%	YMR + UM270%	E.B.%	HS%	HMR%	E.P.%	HMR + UM270%	E.B.%	US%	UMR%	E.P.%	UMR + UM270%	E.B.%
<i>Proteobacteria</i>	34.320	35.588	+1.268	44.599	+9.011	42.690	48.303	+5.613	45.400	-2.903	27.870	38.698	+10.828	46.543	+7.845
<i>Acidobacteria</i>	17.293	12.456	-4.837	16.523	+4.067	16.136	14.675	-1.461	17.904	+3.229	25.027	16.084	-8.943	15.515	-0.569
<i>Actinobacteria</i>	19.583	31.115	+11.532	16.778	- 14.337	6.970	6.745	-0.225	3.071	-3.674	9.191	8.706	-0.485	6.199	-2.507
<i>Bacteroidetes</i>	8.805	7.177	-1.628	9.203	+2.026	13.178	12.005	-1.173	9.089	-2.916	3.195	5.531	+2.336	5.067	-0.464
<i>Gemmatimonadetes</i>	8.075	3.858	-4.217	5.423	+1.565	4.420	2.670	-1.750	3.787	+1.117	8.447	5.879	-2.568	6.959	+1.080
<i>Verrucomicrobia</i>	1.787	1.770	-0.017	1.628	-0.142	7.806	7.774	-0.032	11.134	+3.360	5.847	4.342	-1.505	5.218	+0.876
<i>Planctomycetes</i>	1.576	1.105	-0.471	0.912	-0.193	2.994	2.874	-0.120	3.076	+0.202	2.741	1.850	-0.891	2.214	+0.364
<i>Chloroflexi</i>	2.698	1.907	-0.791	1.215	-0.692	1.283	1.792	+0.509	1.462	-0.330	1.919	1.215	-0.704	1.006	-0.204
<i>Nitrospirae</i>	0.682	0.373	-0.309	0.492	+0.119	0.476	0.287	-0.189	1.140	+0.853	4.315	2.830	-1.485	2.850	+0.020
<i>Firmicutes</i>	0.697	0.614	-0.083	1.759	+1.145	0.338	0.164	-0.174	0.088	+0.076	0.493	1.759	+1.266	2.179	+0.420
<i>Armatimonadetes</i>	0.592	0.465	-0.127	0.373	-0.092	0.606	0.463	-0.143	0.889	+0.426	0.670	0.463	-0.207	0.636	+0.173
<i>Fibrobacteres</i>	N/D	N/D	-	N/D	-	0.367	0.223	-0.144	0.371	+0.148	0.311	0.178	-0.133	0.698	+0.520
<i>Elusimicrobia</i>	N/D	N/D	-	N/D	-	0.341	0.399	+0.058	0.565	+0.166	0.208	0.238	+0.030	0.122	-0.116
<i>Cyanobacteria</i>	2.298	1.098	-1.200	0.356	-0.742	0.415	0.368	-0.047	0.352	+0.084	0.098	5.103	+5.005	0.415	-4.688

La comparación entre abundancias relativas nivel Phylum se llevó a cabo entre las muestras de suelo y muestras rizósfericas sin inocular, posteriormente muestras rizósfericas sin inocular y muestras rizósfericas inoculadas con UM270. YS: Suelo Yuriria, YMR: Rizósfera maíz sin inocular Yuriria, YMR+UM270: Rizósfera maíz inoculada, HS: Suelo Huiramba, HMR: Rizósfera maíz sin inocular Huiramba, HMR+UM270: Rizósfera maíz inoculada Huiramba, US: Suelo Uruapan, UMR: Rizósfera maíz sin inocular, UMR+UM270: Rizósfera maíz inoculada, E.P.: Efecto planta, E.B.: Efecto bacteria.

Debido a los cambios apreciados en las abundancias relativas de los phyla detectados entre los tratamientos en los tres tipos de suelo (Tabla 6) se procedió a analizar las comunidades al nivel taxonómico de clase con la finalidad de apreciar los constituyentes dominantes, los cambios presentes en ellas y estrechar la identidad de los diferentes microorganismos encontrados en cada muestra.

En el caso del suelo proveniente de Yuriria (arcilloso) la abundancia relativa de las clases dominantes del suelo control fue de 14.993% *Alfaproteobacteria*, 11.749% *Betaproteobacteria*, 2.893% *Gammaproteobacteria*, 4.672% *Deltaproteobacteria*, 11.506% *Actinobacteria*, 9.818% *Chloroacidobacteria*, 4.819% *Acidobacteria-6*, 5.788% *Saprospira*, 5.427% *Gemmatimonadetes*, 2.634% *Thermoleophilia* y 2.415 % *Cytophagia*, en las muestras de rizósfera de plantas sin inocular 10.825% *Alfaproteobacteria*, 16.071% *Betaproteobacteria*, 6.813% *Gammaproteobacteria*, 1.869% *Deltaproteobacteria*, 24.745% *Actinobacteria*, 7.94% *Chloroacidobacteria*, 3.275% *Acidobacteria-6*, 4.019% *Saprospira*, 2.876% *Gemmatimonadetes*, 2.134% *Thermoleophilia* y 3.319% *Cytophagia*, finalmente en las muestras de rizósfera de plantas inoculas con *P.fluorescens* UM270 9.603% *Alfaproteobacteria*, 10.764% *Betaproteobacteria*, 22.131% *Gammaproteobacteria*, 2.091% *Deltaproteobacteria*, 13.823% *Actinobacteria*, 11.19% *Chloroacidobacteria*, 3.395% *Acidobacteria-6*, 6.228% *Saprospira*, 4.383% *Gemmatimonadetes*, 0.843% *Thermoleophilia* y 1.926% *Cytophagia*.

En el caso del suelo proveniente de Huiramba (franco-arenoso) la abundancia relativa de las clases dominantes del suelo control fue de 16.242% *Alfaproteobacteria*, 15.013% *Betaproteobacteria*, 6.131% *Gammaproteobacteria*, 5.103% *Deltaproteobacteria*, 2.933% *Actinobacteria*, 5.946% *Chloroacidobacteria*,

4.851% *Acidobacteria-6*, 6.351% *Saprospira*, 2.821% *Gemmatimonadetes*, 3.275% *Thermoleophilia* y 2.314% *Cytophagia*, en las muestras de rizósfera de plantas sin inocular 15.416% *Alfaproteobacteria*, 19.853% *Betaproteobacteria*, 6.974% *Gammaproteobacteria*, 5.892% *Deltaproteobacteria*, 3.356% *Actinobacteria*, 6.416% *Chloroacidobacteria*, 3.4% *Acidobacteria-6*, 5.212% *Saprospira*, 1.692% *Gemmatimonadetes*, 2.729% *Thermoleophilia* y 2.656% *Cytophagia* y en las muestras de rizósfera de plantas inoculas con *P.fluorescens* UM270 13.451% *Alfaproteobacteria*, 16.826% *Betaproteobacteria*, 7.83% *Gammaproteobacteria*, 6.993% *Deltaproteobacteria*, 1.081% *Actinobacteria*, 6.814% *Chloroacidobacteria*, 5.209% *Acidobacteria-6*, 4.248% *Saprospira*, 2.229% *Gemmatimonadetes*, 1.695% *Thermoleophilia* y 2.426% *Cytophagia*.

En el caso del suelo proveniente de Uruapan (franco) la abundancia relativa de las clases dominantes del suelo control fue de 8.882% *Alfaproteobacteria*, 9.124% *Betaproteobacteria*, 2.988% *Gammaproteobacteria*, 6.485% *Deltaproteobacteria*, 3.536% *Actinobacteria*, 7.253% *Chloroacidobacteria*, 7.883% *Acidobacteria-6*, 1.942% *Saprospira*, 2.322% *Gemmatimonadetes*, 4.237% *Thermoleophilia* y 0.803% *Cytophagia*, en las muestras de rizósfera de plantas sin inocular 11.291% *Alfaproteobacteria*, 13.824% *Betaproteobacteria*, 7.857% *Gammaproteobacteria*, 5.394% *Deltaproteobacteria*, 3.478% *Actinobacteria*, 5.021% *Chloroacidobacteria*, 5.691% *Acidobacteria-6*, 2.338% *Saprospira*, 1.512% *Gemmatimonadetes*, 4.004% *Thermoleophilia* y 0.920% *Cytophagia* y en las muestras de rizósfera de plantas inoculas con *P.fluorescens* UM270 16.586% *Alfaproteobacteria*, 18.789% *Betaproteobacteria*, 6.121% *Gammaproteobacteria*, 4.821% *Deltaproteobacteria*, 2.545% *Actinobacteria*, 4.765% *Chloroacidobacteria*, 5.085% *Acidobacteria-6*, 1.348% *Saprospira*, 2.252% *Gemmatimonadetes*, 2.607% *Thermoleophilia* y 0.855% *Cytophagia*.

Clase	YS%	YMR%	E.P.%	YMR	E.B.%	HS%	HMR%	E.P.%	HMR	E.B.%	US%	UMR%	E.P.%	UMR	E.B.%
				+					+					+	
				UM270%					UM270%					UM270%	

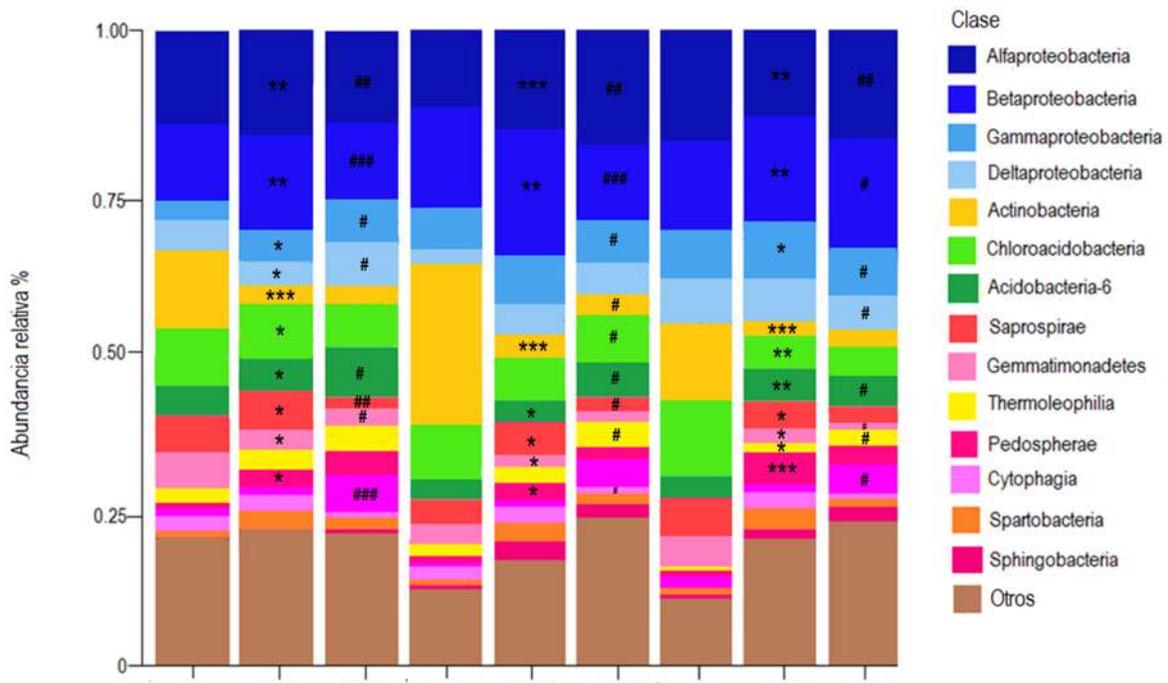


Figura 7. Abundancias relativas de los efectos generados por los tratamientos en tres tipos de suelo. Las frecuencias a nivel clase fueron comparadas mediante la prueba chi cuadrada, diferencias significativas de las frecuencias entre suelo y rizósfera de maíz son indicadas con asteriscos (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$); diferencias significativas entre rizósfera de maíz y rizósferas inoculadas con UM270 son indicadas con numerales (# $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$)

Tabla 7. Cambios en las abundancias relativas de las clases dominantes.

<i>Alfaproteobacteria</i>	14.993	10.825	-4.168	9.603	-1.222	16.242	15.416	-0.826	13.451	-1.965	8.882	11.291	+2.409	16.586	+5.295
<i>Betaproteobacteria</i>	11.749	16.071	+4.322	10.764	-5.307	15.013	19.853	+4.840	16.826	-3.027	9.124	13.824	+4.700	18.789	+4.965
<i>Gammaproteobacteria</i>	2.893	6.813	+3.920	22.131	+15.318	6.131	6.974	+0.843	7.830	+0.856	2.988	7.857	+4.869	6.121	-1.736
<i>Deltaproteobacteria</i>	4.672	1.869	-2.803	2.091	+0.222	5.103	5.892	+0.789	6.993	+1.101	6.485	5.394	-1.091	4.821	-0.573
<i>Actinobacteria</i>	11.506	24.745	+14.239	13.823	-11.922	2.933	3.356	+0.423	1.081	-2.275	3.536	3.478	-0.058	2.545	-0.933
<i>Chloroacidobacteria</i>	9.818	7.940	-1.878	11.190	+3.250	5.946	6.416	+0.470	6.814	+0.398	7.253	5.021	-2.232	4.765	-0.256
<i>Acidobacteria-6</i>	4.819	3.275	-1.544	3.395	+0.120	4,851	3.400	-1.451	5.209	+1.809	7.883	5.691	-2.192	5.085	-0.606
<i>Saprospirae</i>	5.788	4.019	-1.769	6.228	+2.209	6.351	5.212	-1.139	4.248	-0.964	1.942	2.338	+0.396	1.348	-0.990
<i>Gemmatimonadetes</i>	5.427	2.876	-2.551	4.383	+1.507	2.821	1,692	-1.129	2.229	+0.537	2.322	1.512	-0.810	2.252	+0.740
<i>Thermoleophilia</i>	2.634	2.134	-0.500	0.843	-1.291	3.275	2.729	-0.546	1.695	-1.034	4.237	4.004	-0.233	2.607	-1.397
<i>Pedosphaerae</i>	0.752	0.655	-0.097	0.385	-0.270	2.710	2.840	+0.130	4.834	+1.994	3.724	2.050	-1.674	2.953	+0.903
<i>Gemm-1</i>	1.163	0.631	-0.532	0.382	-0.249	1.226	0.797	-0.429	1.169	+0.372	5.698	4.201	-1.497	4.430	+0.229
<i>Cytophagia</i>	2.415	2.319	-0.096	1.926	-0.393	2.314	2.656	+0.342	2.426	-0.230	0.803	0.920	+0.117	0.855	-0.065
<i>Spartobacteria</i>	0.824	0.761	-0.063	0.956	+0.195	2.994	2.653	-0.341	3.361	+0.708	1.985	1.631	-0.354	1.270	-0.361
<i>Sphingobacteria</i>	0.510	0.691	+0.181	0.898	+0.207	3.329	3.155	-0.174	1.757	-1.398	0.443	2.035	+1.592	2.362	+0.327
<i>Acidobacteria</i>	0.426	0.235	-0.191	0.162	-0.073	2.426	2.124	-0.302	2.732	+0.608	4.006	1.859	-2.147	2.127	+0.268
<i>Nitrospira</i>	0.682	0.373	-0.309	0.492	+0.119	0.476	0.287	-0.189	1.140	+0.853	4.315	2.830	-1.485	2.850	+0.020
<i>Physcisphaerae</i>	1.108	0.756	-0.352	0.727	-0.029	1.040	0.992	+0.048	1.148	+0.156	1.292	0.620	-0.672	1.141	+0.521
<i>Solibacteres</i>	1.533	0.884	-0.649	1.147	+0.263	0.897	1.408	+0.511	0.912	-0.496	0.603	0.288	-0.315	0.671	+0.383
<i>Opitutae</i>	0.182	0.337	+0.155	0.287	-0.050	1.589	1.753	+0.164	2.566	+0.813	0.137	0.326	+0.189	0.653	+0.327
<i>Planctomycetia</i>	0.468	0.325	-0.143	0.185	-0.140	1.455	1.522	+0.067	1.348	-0.174	1.120	1.071	-0.049	0.682	-0.389
<i>Acidobacteria-5</i>	0.261	N/D	-0.261	N/D	-	0.734	0.457	-0.277	0.754	+0.297	1.844	0.016	-1.828	0.712	+0.696
<i>Acidobacteria-iiii-8</i>	0.147	0.154	+0.013	0.267	+0.113	0.709	0.591	-0.118	0.676	+0.085	1.343	0.523	-0.820	0.906	+0.383

La comparación entre abundancias relativas nivel clase se llevó a cabo entre las muestras de suelo y muestras rizósfericas sin inocular, posteriormente muestras rizósfericas sin inocular y muestras rizósfericas inoculadas con UM270. YS: Suelo Yuriria, YMR: Rizósfera maíz sin inocular Yuriria, YMR+UM270: Rizósfera maíz inoculada, HS: Suelo Huiramba, HMR: Rizósfera maíz sin inocular Huiramba, HMR+UM270: Rizósfera maíz inoculada Huiramba, US: Suelo Uruapan, UMR: Rizósfera maíz sin inocular, UMR+UM270: Rizósfera maíz inoculada, E.P.: Efecto planta, E.B.: Efecto bacteria.

7.5 Diversidad e índices ecológicos del bacterioma de las muestras

Para determinar la composición de las comunidades de los bacteriomas se procedió a realizar un análisis de diversidad y diferentes índices ecológicos que permitieran hacer una comparación estructural entre muestras mediante análisis de diversidad alfa y beta.

7.5.1 Curvas de rarefacción y análisis de la diversidad alfa

Para analizar la representatividad de la comunidad, se llevó a cabo una curva de rarefacción con las secuencias de los genes ribosomales y los OTUs identificados, utilizando la plataforma QIIME. La curva muestra una tendencia a la asíntota por lo que se interpreta que este muestreo representa de manera significativa la comunidad y que con futuros muestreos son pocos los nuevos OTUs que podrían encontrarse.

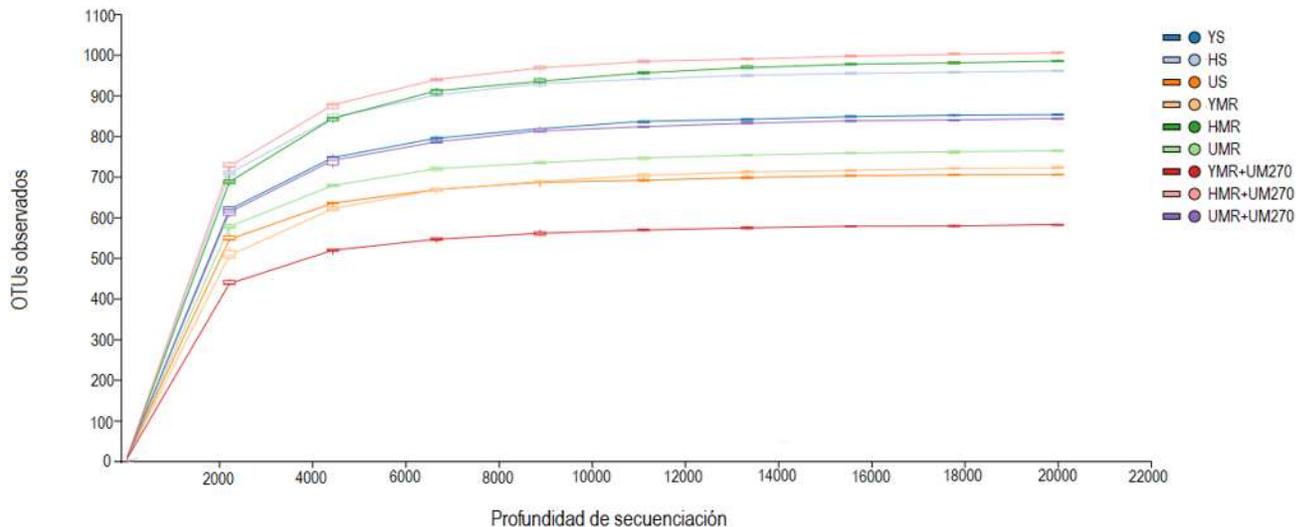


Figura 8. Curva de rarefacción de las muestras

Para analizar la diversidad alfa de las comunidades microbianas presentes en las muestras se utilizaron los índices ecológicos de Shannon, el cual nos habla de la riqueza de especies presentes, no posee un valor máximo, ya que este es

dado por el número de especies presentes en el sistema, normalmente los valores oscilan entre 2-4 mientras que valores superiores a 5 son considerados como sistemas con muy alta diversidad. El índice de Pielou hace referencia a la equidad de distribución de especies, siendo su escala de valores de 0-1 donde el mínimo representa la ausencia de equidad y el máximo una distribución equitativa entre todas las especies presentes. El índice de Faith PD toma en cuenta la distancia filogenética entre las diferentes especies que componen una comunidad para determinar la riqueza evolutiva de un sistema; los valores son representados de manera porcentual y son equivalentes a la suma de las longitudes de rama que conectan a todos los pares de especies dentro de una comunidad a lo largo de una filogenia; la tabla 8 muestra los valores obtenidos para cada una de las muestras utilizadas en los experimentos.

Tabla 8. Índices ecológicos de la diversidad alfa de las muestras.

Muestra	H'	J'	PD
YS	8.856	0.909	63.597
YMR	8.081	0.851	61.788
YMR+UM270	7.278	0.793	51.307
HS	9.279	0.936	94.996
HMR	8.916	0.896	93.520
HMR+UM270	9.300	0.933	91.083
US	8.778	0.927	66.236
UMR	8.593	0.897	75.151
UMR+UM270	8.735	0.899	76.012

El índice de Shannon nos muestra valores descendientes en las diferentes muestras, en el suelo arcilloso siendo 8.856 en el suelo, 8.081 para la rizósfera de plántulas de maíz y 7.278 en la rizosfera de plántulas inoculas con la cepa UM270. Las muestras provenientes del suelo franco arenoso arrojaron valores de 9.279 en

el suelo, 8.916 en plántulas sin inocular y 9.300 y en plantas tratadas con UM270. En las muestras del suelo franco se obtuvieron los datos de 8.778, 8.593 y 8.735 para el suelo, rizosfera sin inocular y rizosfera inoculada respectivamente. Los valores nos muestran que existe una disminución en la diversidad de la comunidad microbiana al desarrollar una plántula de maíz respecto al suelo control, lo que sugiere que existe un efecto de selección generado por la planta sobre los microorganismos presentes

Respecto al índice de Pielou los valores obtenidos fueron 0.909, 0.851 y 0.793 para las muestras con suelo arcilloso; de 0.936, 0.896 y 0.933 para las muestras de suelo franco arenoso y finalmente de 0.927, 0.897 y 0.899 para las muestras del suelo franco. Existe un patrón de comportamiento similar al observado en el caso del índice anterior para los suelos de Yuriria y Huiramba, mientras en el caso de Uruapan se observa en la inoculación no muestra cambios respecto al valor obtenido de plántulas sin inocular.

El índice de Faith PD arrojó los valores de 63.597, 61.788 y 51.307 para el suelo, rizosfera sin inocular y rizosfera inoculada en un suelo arcilloso; 94.996, 93.520 y 91.083 en el caso del suelo franco arenoso y de 66.236, 75.151 y 76.012 para el suelo franco. En el caso de este índice nos muestra que en el desarrollo de una planta de maíz disminuye la diversidad filogenética respecto al suelo original en el caso de muestras de suelo arcilloso y franco arenoso, mientras en el suelo franco incrementa. En el caso de la inoculación con la cepa UM270 este valor fue menor al ser comparado con plántulas sin inocular en el suelo arcilloso y en el suelo franco arenoso, mientras en el suelo franco incremento ligeramente más.

7.5.2 Análisis de diversidad beta:

El análisis de la diversidad beta fue llevado a cabo mediante la herramienta EMPEROR en la plataforma QIIME, con los valores obtenidos se construyó una matriz de distancia para realizar PCoA de los índices de Bray-Curtis, el cual toma en cuenta las fracciones de secuencias más abundantes entre muestras para

determinar el sobreposicionamiento de las comunidades con un rango de 0-1 donde el cero representa comunidades idénticas y el valor máximo comunidades sin nada en común; el índice de Jaccard analiza la presencia/ausencia de especies únicas con un rango de 0-1 donde el mínimo indica que se comparten todas las especies y el máximo especies únicas y no compartidas entre las comunidades; finalmente el índice Unifrac que añade el análisis del componente filogenético de las muestras, toma dos variantes el ponderado que toma en cuenta la distribución de las lecturas y tiende a añadir significancia a los taxa dominantes, por otra parte la variante no ponderada simplemente toma en cuenta la presencia/ausencia de especies y añade significancia a taxa poco común entre las comunidades. La comparación estructural de las comunidades presentes en las muestras arrojó, para el caso del índice de Bray Curtis tiene un poder explicativo del 76.65% constituido por tres coordenadas con valores de 33.41%, 22.40% y 20.84% respectivamente (Figura 9), Para el índice de Jaccard se obtuvo un poder explicativo del 61.96% compuestos por tres coordenadas con valores de 26.44%, 19.50% y 16.02% respectivamente (Figura 10). Respecto al índice de UniFrac ponderado el poder explicativo es del 89.3% conformado por tres coordenadas con valores de 63.57%, 14.68% y 11.05% respectivamente (Figura 11); por otra parte, el índice UniFrac no ponderado mostró una sumatoria explicativa del 63.58% construido por tres coordenadas de valores 24.16%, 23.55% y 15.87% respectivamente (Figura 12).

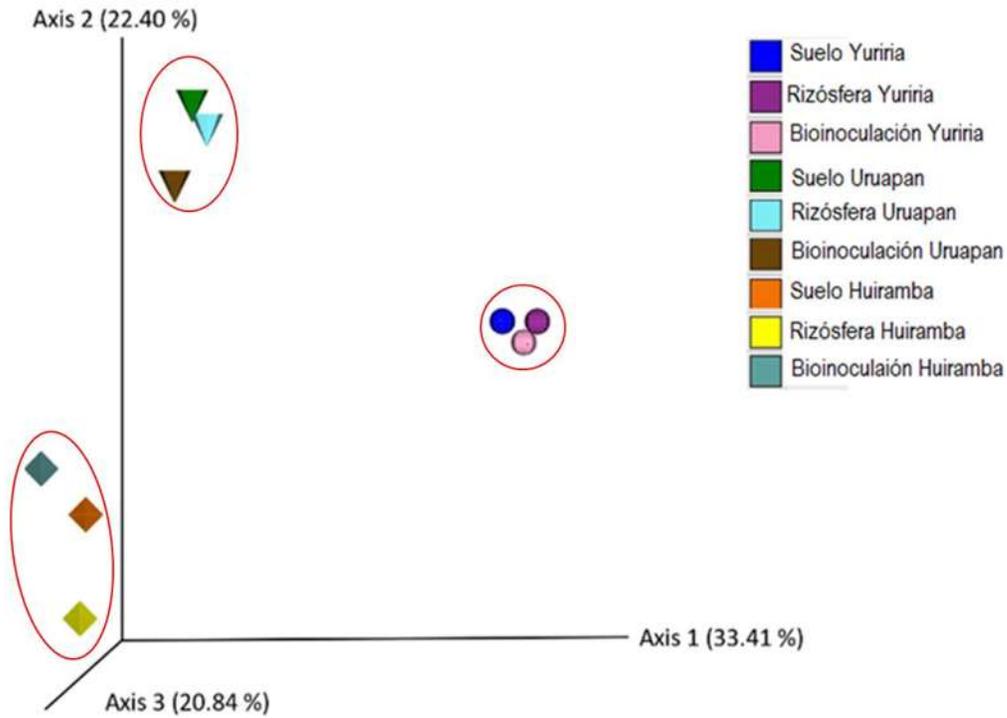


Figura 9. PCoA del índice de Bray-Curtis

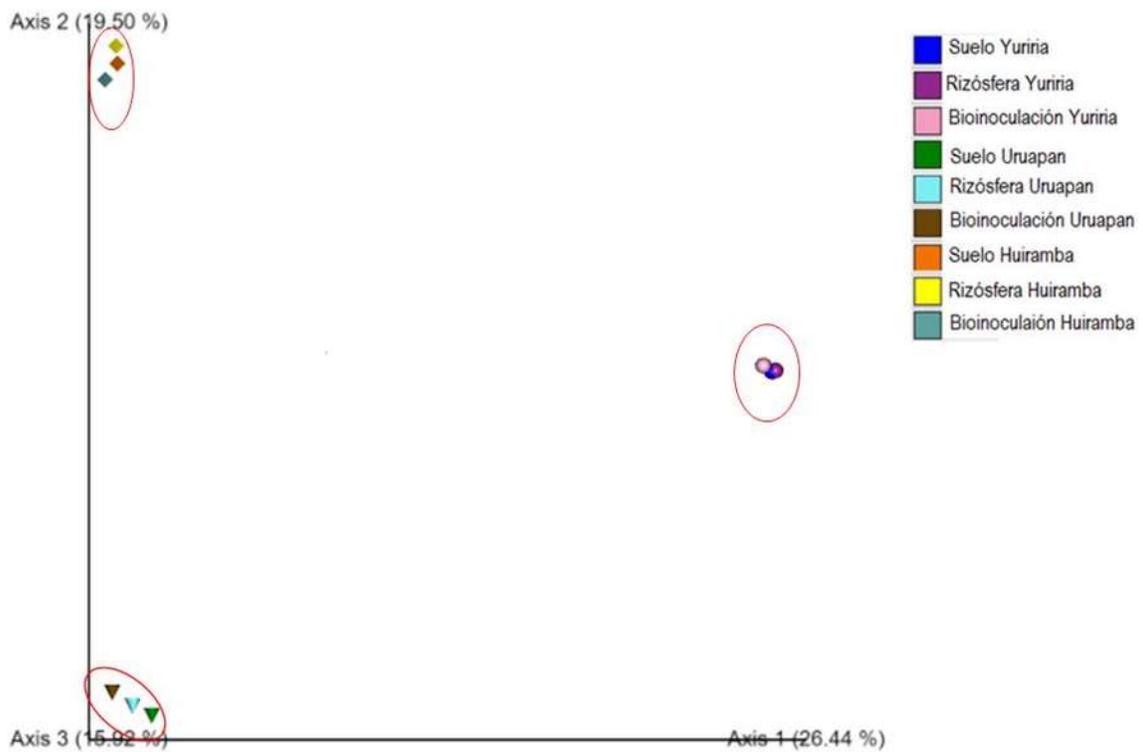


Figura 10. PCoA del índice de Jaccard

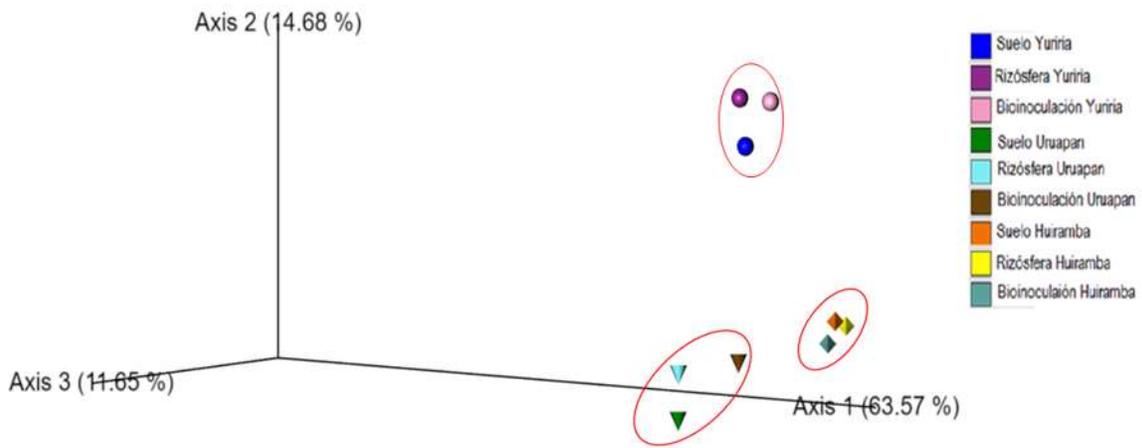


Figura 11. PCoA Unifracc ponderado

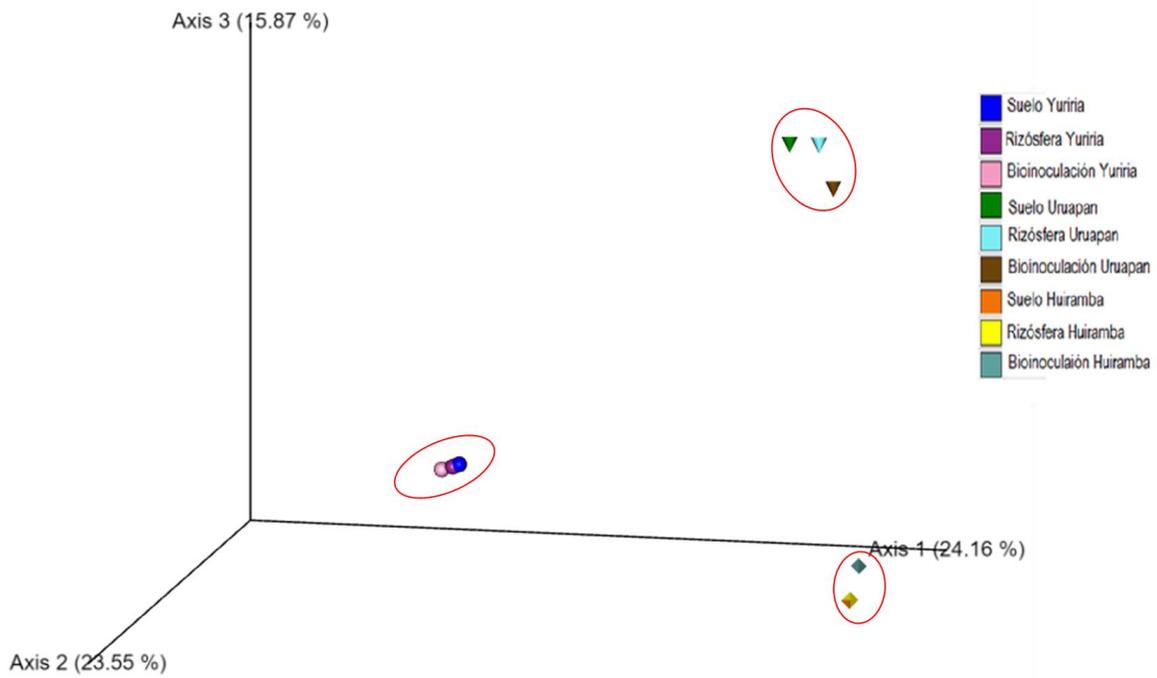


Figura 12. PCoA Unifracc no ponderado

7.6 Determinación de los taxa compartidos y exclusivos del bacterioma de maíz

Con los datos obtenidos del procesamiento bioinformático se procedió a establecer los taxa compartidos y exclusivos entre los diferentes tratamientos en cada tipo de suelo a diferentes órdenes taxonómicos. En el caso de las muestras provenientes de suelo arcilloso a nivel phylum se obtuvieron 17 phyla compartidos encontrando el phylum *Fusobacteria* como exclusivo a la rizósfera de plántulas de maíz sin inocular, a nivel clase se encontraron 38 clases bacterianas compartidas y la clase exclusiva *Fusobacteria* esperada de la detección anterior; a nivel género se encontraron 233 géneros compartidos y los géneros exclusivos *Afipia*, *Luteimonas*, *Paucimonas*, *Ferruginibacter*, *Coxiella*, *Ferrithrix*, y *Desulfovirga* para el suelo; *Sterolibacterium*, *Fusobacterium*, *Rhodoferax* y *Parasegetibacter* para la rizósfera de plántulas de maíz sin inocular y los géneros *Leptothrix*, *Alkalilimnicola* y *Rhizomicrobium* para la rizosfera de plántulas inoculadas con UM270 (Figura 13).

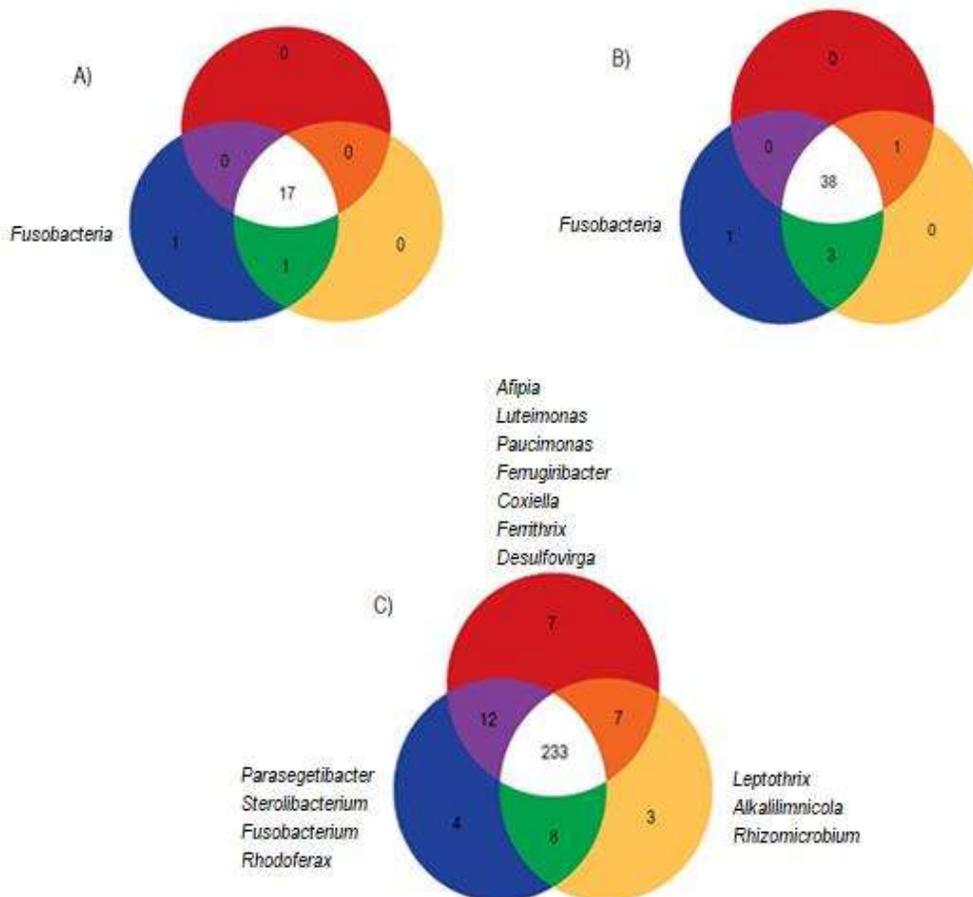


Figura 13. Diagrama de Venn de taxa compartido entre tratamientos en un suelo arcilloso a diferentes niveles taxonómicos A) Phylum, B) Clase, C) Género; Círculo rojo: Suelo, Círculo azul: Rizósfera de plántulas de maíz sin inocular, Círculo amarillo: Rizósfera de plántulas de maíz inoculadas con *P.fluorescens* UM270.

En el suelo franco arenoso a nivel phylum se comparten 18 phyla entre las muestras encontrando el phylum *Armatimonadetes* exclusivamente en la rizósfera de plántulas sin inocular; a nivel clase se compartieron 42 clases bacterianas encontrando exclusivamente en la rizosfera de plántulas de maíz sin inocular miembros de las clases *Armatimonadia* y *Oscillatoriothyriceae*; se encontraron 267 géneros compartidos entre las muestras, además se identificaron los géneros *Criptosporangium*, *Sporomusa*, *Sterolibacterium*, *Pseudoxanthomonas*, *Cellulosimicrobium*, *Isopterocola* y *Cronobacter* exclusivamente en la comunidad del suelo original, mientras que los géneros exclusivos presentes en la rizosfera de plántulas de maíz sin inocular fueron *Armatimonas*, *Microcystis*, *Actinospica*,

Azotobacter y *Paucimonas*, mientras que en el caso de las plántulas inoculadas fueron los géneros *Crosiella* y *Pseudogulbenkiania* (Figura 14).

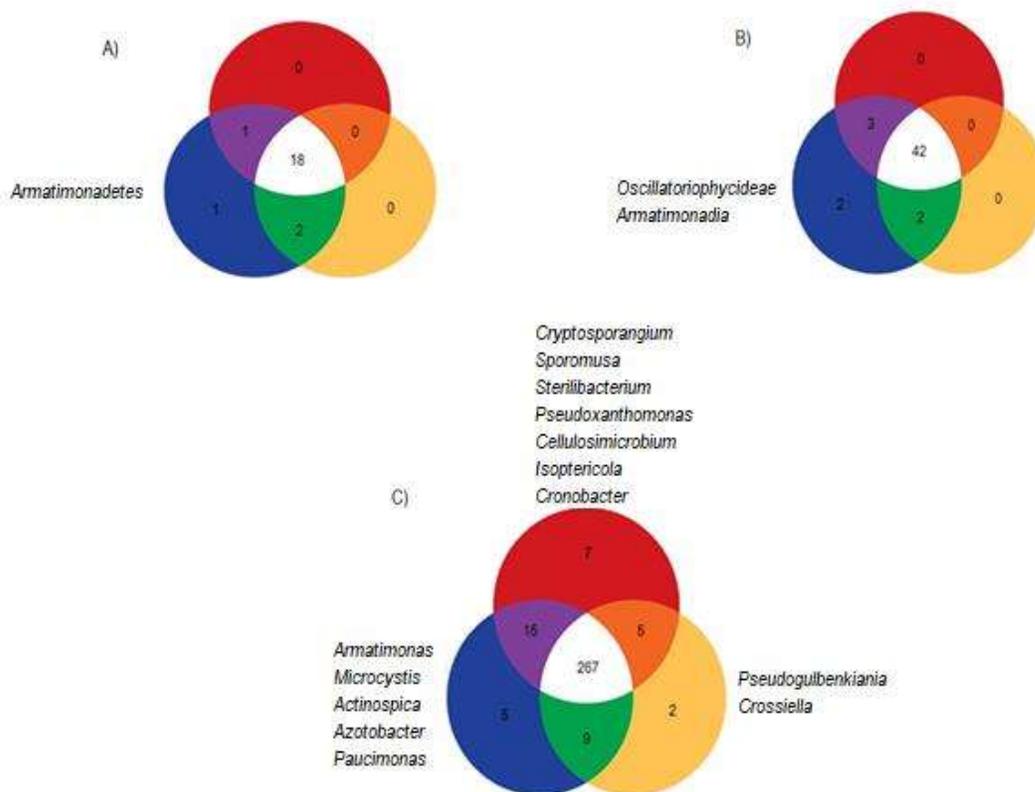


Figura 14. Diagrama de Venn de taxa compartido entre tratamientos en un suelo franco-arenoso a diferentes niveles taxonómicos A) Phylum, B) Clase, C) Género; Círculo rojo: Suelo, Círculo azul: Rizósfera de plántulas de maíz sin inocular, Círculo amarillo: Rizósfera de plántulas de maíz inoculadas con

Finalmente las muestras provenientes de suelo franco a nivel phylum se obtuvieron 20 phyla compartidos siendo los phyla *Armatimonadetes* y *Synergistetes* exclusivos a la comunidad microbiana del suelo, a nivel clase se encontraron 44 clases bacterianas compartidas, las clases *Armatimonadia* y *Sinergestia* para el suelo y *Oscillatoriophycideae* exclusivamente en la rizosfera de plántulas de maíz sin inocular; a nivel género se encontraron 258 géneros compartidos y los géneros exclusivos *Thermanaerovibrio*, *Altererythrobacter*, *Phytohabitans*, *Dehalogenimonas*, *Planifilum*, *Hymenobacter*, *Blastocatella* y *Armatimonas* para el suelo; *Candidatus cardinium*, *Rodocytophaga*, *Microcystis*,

Solitalea, *Salicola*, *Anaerosinus*, *Isoptricola*, *Cronobacter* y *Kibdelosporangium* para la rizósfera de plántulas de maíz sin inocular y los géneros *Rubellimicrobium*, *Siphonobacter*, *Geothermobacter* y *Magnetospirillum* plántulas inoculadas (Figura 15).

Finalmente, con la comparación realizada se procedió a comparar los microorganismos detectados con funcionalidad potencial benéfica en cada tipo de suelo y tratamiento explicados por la inoculación de la cepa UM270 y la actividad de reclutamiento bacteriano ejercido por la planta, posteriormente se hizo una investigación literaria en la búsqueda de otros experimentos que mostraran el rol que han tenido estos taxa como ejes y periféricos en distintas especies de interés agrícola. (Tabla 13)

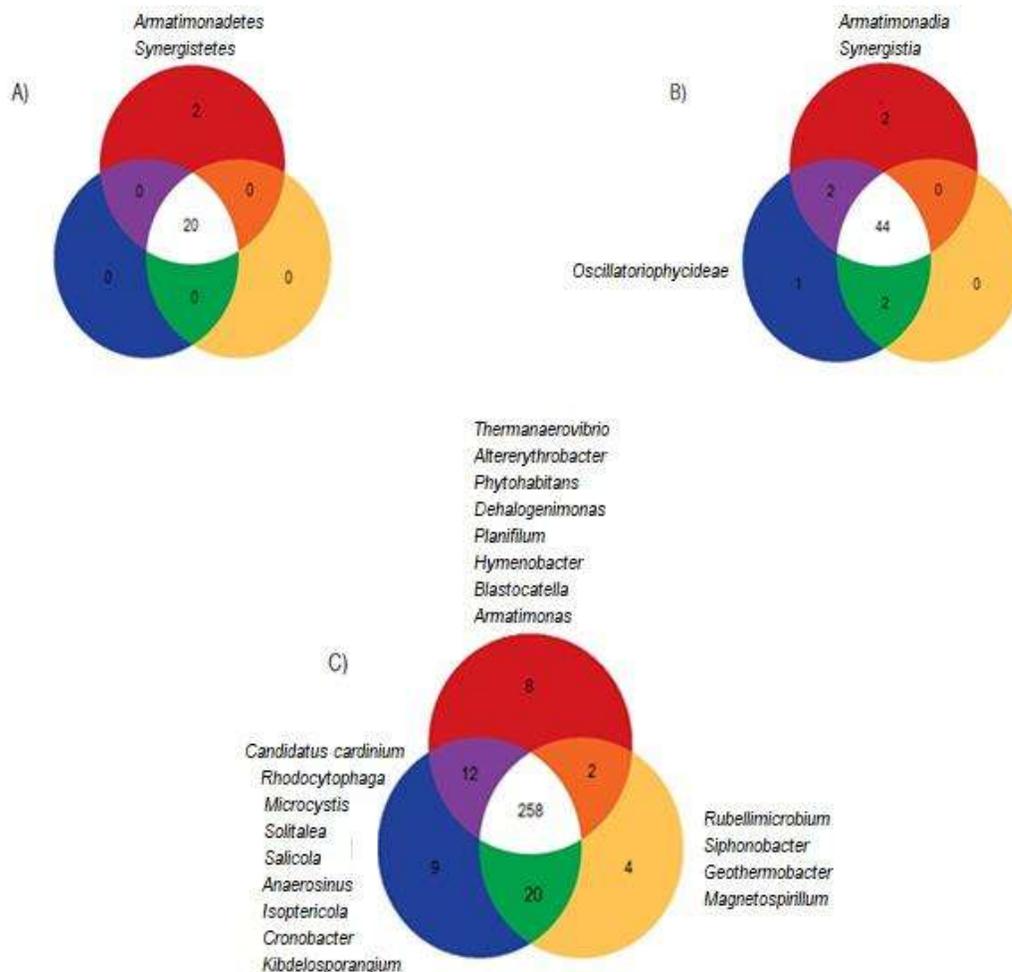


Figura 15. Diagrama de Venn de taxa compartido entre tratamientos en un suelo franco-arenoso a diferentes niveles taxonómicos A) Phylum, B) Clase, C) Género; Círculo rojo: Suelo, Círculo azul: Rizósfera de plántulas de maíz sin inocular, Círculo amarillo: Rizósfera de plántulas de maíz inoculadas con *P. fluorescens* UM270.

Tabla 9. Microorganismos moduladores benéficos detectados

Taxa agrupado por tipo de suelo	Género bacterianos	Sistema de estudio	Referencia
Arcilloso: Leptothrix, Alkalimnicola, Rhizomicrobium, Armatimonas, Microcystis, Actinospica, Paucimonas, Rhodocytophaga, Solitalea, Salicola, Anaerosinus, Isopterocola, Cronobacter, Kibdelosporangium	<i>Parasegetibacter</i>	Comunidades microbianas asociadas a macrofitas acuáticas en sedimentos contaminados con Cd	Yuan et al.,2022 <i>Chemosphere</i>
	<i>Solitalea</i>	Comunidades microbianas de humedal durante dos estaciones temporales distintas	Pang et al.,2022 <i>Science of The Total Environment</i>
	<i>Actinospica</i>	Comunidades microbianas asociadas a plantas Sedum en suelos hiperacumulación de Cd/Zn	Wu et al.,2022 . <i>Science of The Total Environment</i>
	<i>Cronobacter</i>	Comunidad microbiana semillas de alfalfa contaminadas de Salmonella	Zheng et al., 2021 American Society for Microbiology
	<i>Fusobacterium</i>	Comunidades microbianas asociadas a la hiedra común	Stevens et al.,2021. <i>BMC microbiology</i>
	<i>Magnetospirillum</i>	Comunidad microbiana de subsuelo suplementado con carbono y perdida de nitrógeno	Chen et al., 2021 Applied Microbiology and Biotechnology
	<i>Leptothrix</i>	Comunidad microbiana de biofiltros de arena con fluctuaciones de manganeso	Zhao et al.,2021 Water research
	<i>Geothermobacter</i>	Comunidad microbiana de celdas de biocombustible con sustrato a base de suelo	Liang et al., 2021 Environmental Research
	<i>Rhodofera</i>	Comunidades microbianas asociadas a plantas de arroz en suelos salinos y alcalinos	Zhang et al.,2021 <i>Soil Use and Management.</i>
	<i>Armatimonas</i>	Comunidades microbianas en un Sistema reservorio de ríos con variabilidad fisicoquímica	Wang et al.,2021 Global Ecology and Conservation
Franco-arenoso: Crossiella, Pseudogulbenkiana, Parasegetibacter, Sterolibacterium, Fusobacterium, Rhodofera, Rhodocytophaga, Solitalea, Salicola, Anaerosinus, Isopterocola, Cronobacter, Kibdelosporangium	<i>Isopterocola</i>	Comunidad microbiana de Agave lechuguilla en el pueblo de Cuatro Ciénegas, México	López-Lozano et al.,2020 <i>Frontiers in Plant Science</i>
	<i>Microcystis</i>	Comunidades microbianas asociadas al florecimiento de algas dañinas en la reserva Daechung,Korea	Chun et al.,2020 <i>Water research</i>
	<i>Pseudogulbenkiana</i>	Comunidades microbianas denitrificantes de suelos con prácticas de agricultura orgánica con emisión de N2O	Han et al.,2020 <i>European Journal of Soil Biology</i>
	<i>Rhizomicrobium</i>	Comunidad microbiana asociada a cordyceps chinos en la montaña Shergyla,Tibet	Shao et al., 2019 <i>Microorganisms</i>
	<i>Siphonobacter</i>	Comunidad microbiana de la savia maíz (<i>Zea mays</i> L.)	Wattenburger et al., 2019 Phytobiomes Journal
	<i>Paucimonas</i>	Comunidades microbianas asociadas a florecimiento de algas dañinas	Chun et al.,2019 . <i>Frontiers in microbiology</i>
	<i>Rhodocytophaga</i>	Comunidades microbianas del suelo de zonas desérticas en una región de Estados Unidos(USA)	Pombubpa et al.,2019 <i>FEMS Microbiology Ecology</i>
	Crossiella	Comunidad microbiana carbonatogénica y desintegradora de monumentos de piedra	Li et al.,2018 American Society for Microbiology

Franco: Rubellimicrobium,
Siphonobacter,
Geothermobacter,
Magnetospirillum,
Parasegetibacter,
Sterolibacterium,
Fusobacterium, Rhodoferax,
Armatimonas, Actinospica,
Paucimonas

<i>Anaerosinus</i>	Comunidades microbianas en sedimentos con materiales pesados, río Jiehe, China	Zheng et al., 2017 <i>Journal of basic microbiology</i>
<i>Rubellimicrobium</i>	Comunidad microbiana de calostro y leche madura de humano en dos áreas geográficas distintas (Italia y Burundi)	Drago et al., 2017 <i>Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology</i>
<i>Alkalimnicola</i>	Comunidades microbianas con potencial como bioremediadores de suelos contaminados con descargas industriales	Devpura et al., 2017 <i>International Biodeterioration & Biodegradation</i>
<i>Sterolibacterium</i>	Comunidades microbianas de sistemas de tratamientos de agua	Shu et al., 2016 <i>Chemical Engineering Journal</i>
<i>Kibdelosporangium</i>	Comunidades microbianas de plantas de arroz durante la degradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos	Ma et al., 2015 <i>Journal of applied microbiology</i>
<i>Salicola</i>	Comunidades microbianas de solares salinos en lagos del Perú	Maturrano et al., 2006 <i>IJSEM</i>

7.7 Estructura de la comunidad microbiana y patrones de coocurrencia y coexclusión

La rizósfera es un micro ecosistema donde existen complejas relaciones tripartitas suelo-planta-microorganismos sobre la cual es posible realizar el análisis de patrones de coocurrencia y coexclusión de los microorganismos, estos patrones proveen información valiosa para caracterizar la biogeografía, la distribución funcional y las interacciones ecológicas de los participantes a una escala de comunidad. Existe evidencia de la influencia que genera el suelo y el genotipo de una planta (principalmente debido a la rizodeposición) sobre la estructuración de su microbioma, sin embargo, las interacciones entre microorganismo-microorganismo pueden modular las diferentes conformaciones que adopta una comunidad y son también un reflejo del impacto de los factores bióticos y abióticos (van der Heijden et al.,2016).

Un grafo es una representación abstracta de la relación que existe entre una serie de

El análisis de los patrones de coocurrencia y coexclusión respectivos a cada tipo de suelo se realizó a diferentes niveles taxonómicos y permitió apreciar diferencias en la topología de las comunidades microbianas; las redes de interacción muestran zOTUs pertenecientes al bacterioma núcleo (compartido entre los tratamientos por tipo de suelo) y la naturaleza de estas interacciones mostrando comportamientos diferenciales en cada uno de ellos.

7.7.1 Topología de comunidad microbiana de un suelo Arcilloso

A nivel phylum la comunidad está conformada por 15 nodos y 105 aristas; en la cual es posible apreciar que los Phyla Proteobacteria y Actinobacteria ejercen la mayoría de las correlaciones negativas dentro de la comunidad; seguidos por los Phyla *Acidobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Verrucomicrobia*, *Firmicutes*, que presentan una relación positiva entre ellas pero una correlación negativa con los phyla anteriormente citados, el resto de las interacciones

negativas se concentra en los phyla *Chloroflexi*, *Armatimonadetes*, *Nitrospirae* y *Deinococcus thermus*, los cuales tienen interacciones mixtas en la red, finalmente el phylum *Fusobacteria* es un nodo detectado exclusivamente en la rizósfera de plántulas de maíz sin inocular por lo que presenta una correlación negativa con la mayoría de los miembros de la comunidad; a este nivel la red se encuentra correlacionada de la siguiente manera 50.48% positivo, 30.48% negativo y 19.05% neutro.

A nivel clase la comunidad se encuentra conformada por 36 nodos y 360 aristas, los nodos pudieron agruparse en 9 módulos, concentrándose las correlaciones negativas más pronunciadas entre los taxa de un primer módulo constituidos por las clases *Gammaproteobacteria*, *Chitinophagia*, *Cyanobacteria*, *Sphingobacteria*, *Armatimonadia*, *Flavobacteria*, *Blastocatella*, *Bacterodia*, *Synergistia* y *Phycisphaerae*; y un segundo módulo conformado por las clases *Betaproteobacteria*, *Cytophagia*, *Rubrobacteria*, *Thermoleophilia*, *Acidomicrobiia*, *Opitutae* y *Oscillatoriohyphidae*.; el resto de las correlaciones negativas cae sobre las clases *Actinobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospira*, *Spartobacteria*, *Planctomyelia*, *Thermomicrobia*, *Deinococci* y *Verrucomicrobiae*, interactuando principalmente con el primero módulo anteriormente descrito. El resto de clase tiene una correlación predominantemente positiva y se relacionan con las clases no pertenecientes a los primeros dos módulos descritos; de manera esperada el nodo perteneciente a la clase *Fusobacteriia* solo fue encontrada en la rizósfera de plántulas de maíz sin inocular. A este nivel la red se encuentra correlacionada de la siguiente manera 52.38% positivo, 32.06% negativo y 15.58% neutro.

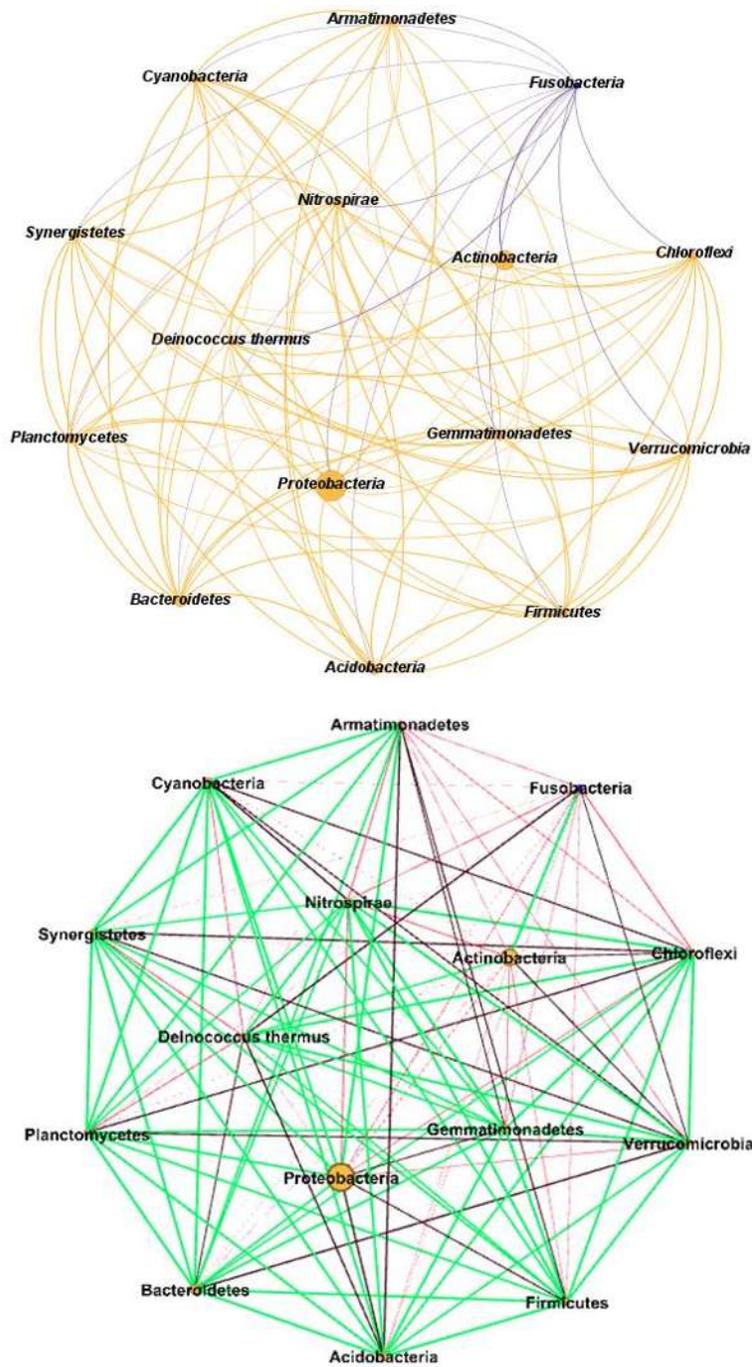


Figura16. Grafo de comunidad microbiana del suelo Arcilloso nivel Phylum, (arriba) Distribución de Fruchterman Reingold phyla compartido, rojo: Suelo, azul: Rizósfera de plántulas de maíz sin inocular, amarillo: Rizósfera de plántulas de maíz inoculadas con *P. fluorescens* UM270. (abajo) Distribución de Fruchterman Reingold naturaleza de correlaciones, verde: Positiva, rojo: Negativa, negro: Neutra

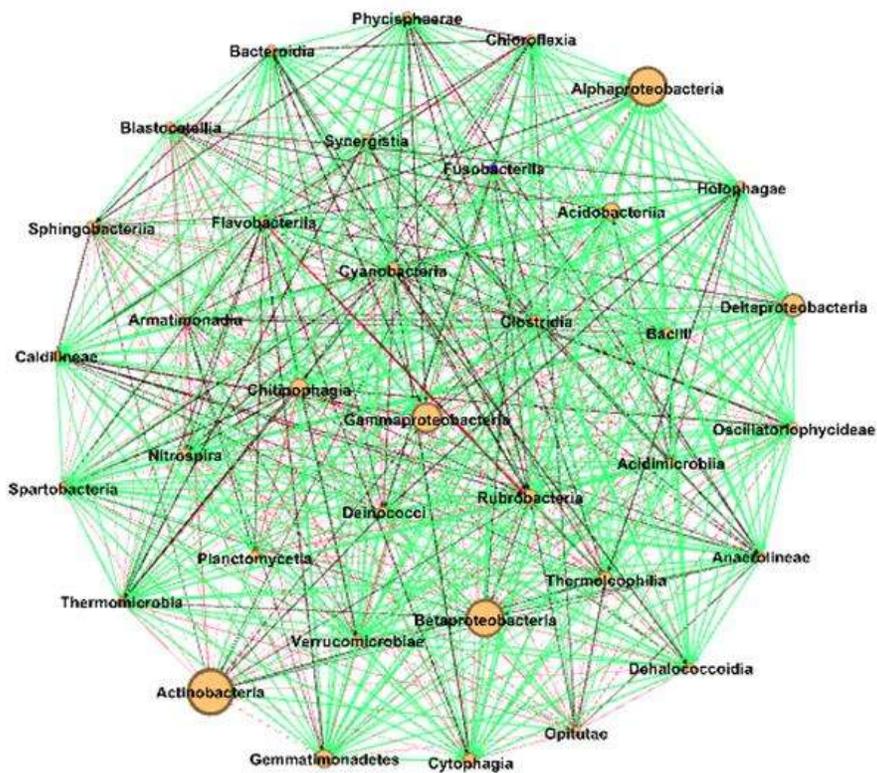
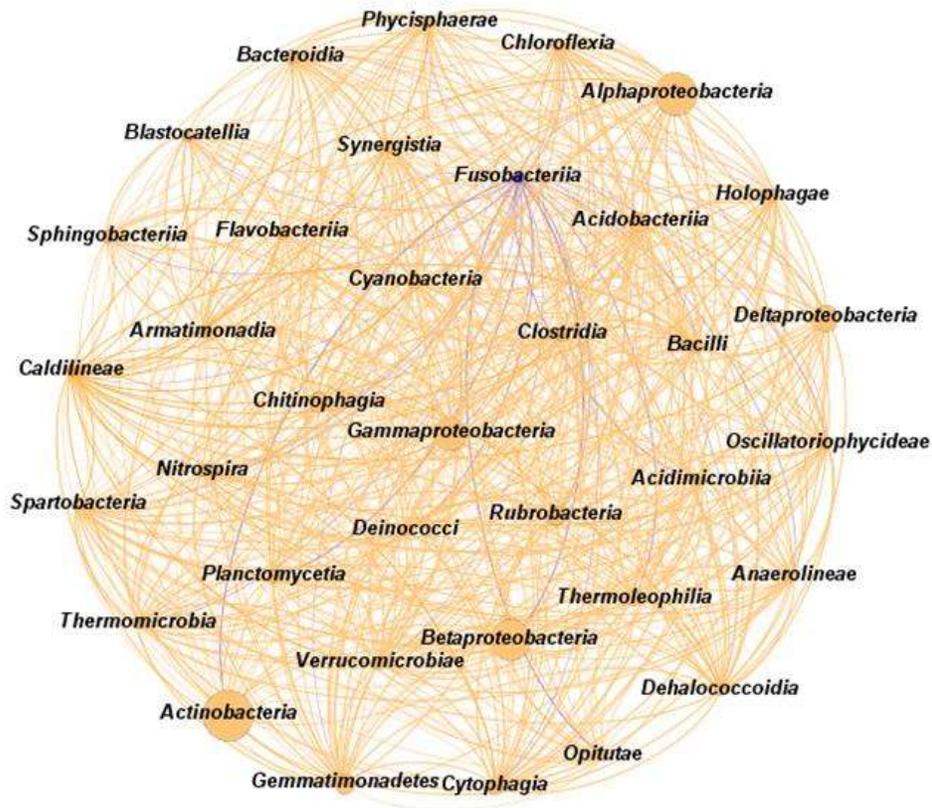


Figura17. Grafo de comunidad microbiana del suelo Arcilla nivel clase, (arriba) Distribución de Fruchterman Reingold phyla compartido, rojo: Suelo, azul: Rizósfera de plántulas de maíz sin inocular, amarillo: Rizósfera de plántulas de maíz inoculadas con *P. fluorescens* UM270. (abajo) Distribución de Fruchterman Reingold naturaleza de correlaciones, verde: Positiva, rojo: Negativa, negro: Neutra

7.7.2 Topología de comunidad microbiana de un suelo Franco-arenoso

A nivel phylum la comunidad está conformada por 18 nodos y 153 aristas, en este caso es posible observar que la distribución de las correlaciones negativas fue distribuida de manera principal en los phyla *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes* y *Proteobacteria* ejerciendo la mayoría de las interacciones negativas, seguidos por los phyla Planctomycetes, Verrucomicrobia y Fusobacteria con un número menor de interacciones negativas; finalmente los nodos pertenecientes a *Armatimonadetes*, *Sinergistetes* y *Spirochaetes* fueron detectados el primero exclusivamente en la rizósfera de plántulas sin inocular y los últimos dos en las rizosferas de plantas inoculadas y sin inocular con *Pseudomonas fluorescens* UM270. A este nivel la red se encuentra correlacionada de la siguiente manera 41.18% negativo, 39.22% positivo y 19.61% neutro.

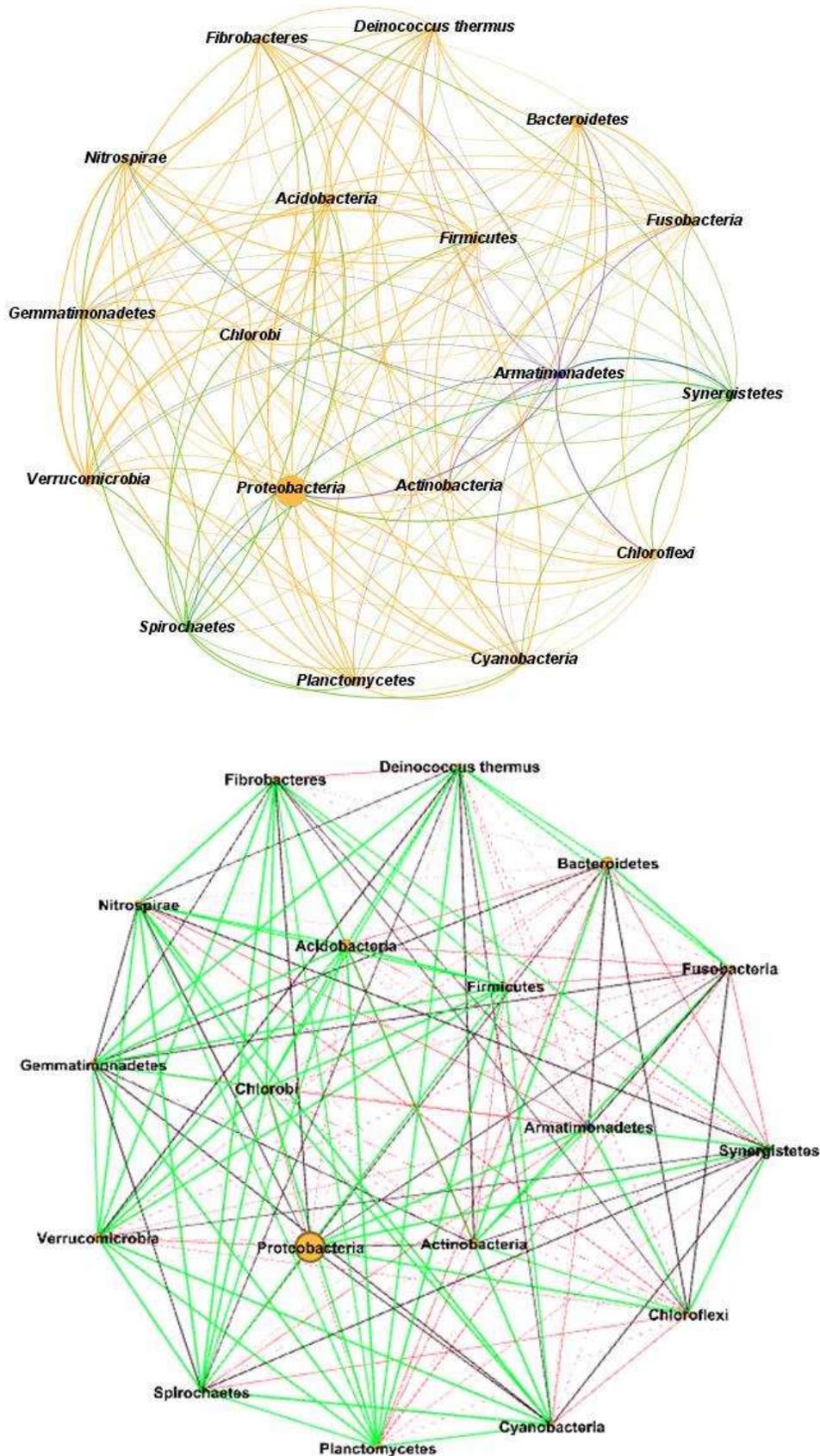


Figura18. Grafo de comunidad microbiana del suelo Franco-arenoso nivel Phyla, (arriba) Distribución de Fruchterman Reingold phyla compartido, rojo: Suelo, azul: Rizósfera de plántulas de maíz sin inocular, amarillo: Rizósfera de plántulas de maíz inoculadas con *P. fluorescens* UM270. (abajo) Distribución de Fruchterman Reingold naturaleza de correlaciones, verde: Positiva, rojo: Negativa, negro: Neutra

A nivel clase la comunidad se encuentra conformada por 42 nodos y 861 aristas, en este caso la comunidad solo se agrupó en dos módulos, por lo cual la distribución de las correlaciones negativas queda distribuida en toda la red, sin embargo, es posible apreciar que las clases con mayores correlaciones negativas dentro de la red son *Alfaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Fibrobacterias*, *Acidobacteriia*, *Cytophagia*, *Actinobacteria*, *Sphingobacteriia*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobiae* y *Acidomicrobiia*, fue posible detectar clases en la rizósfera de plántulas de maíz inoculadas y sin inocular correspondientes a *Synergistia* y *Spirochaetia*, así mismo se detectó la clase *Caldilineae* solo en la comunidad del suelo de origen y la rizósfera de plántulas sin inocular con la cepa UM270, finalmente las clases *Armatimonadia* y *Anaerolineae* fueron detectadas únicamente en la rizósfera de plantas sin inocular. A este nivel la red se encuentra correlacionada de la siguiente manera 41.58% negativo, 39.72% positivo y 18.70% neutro.

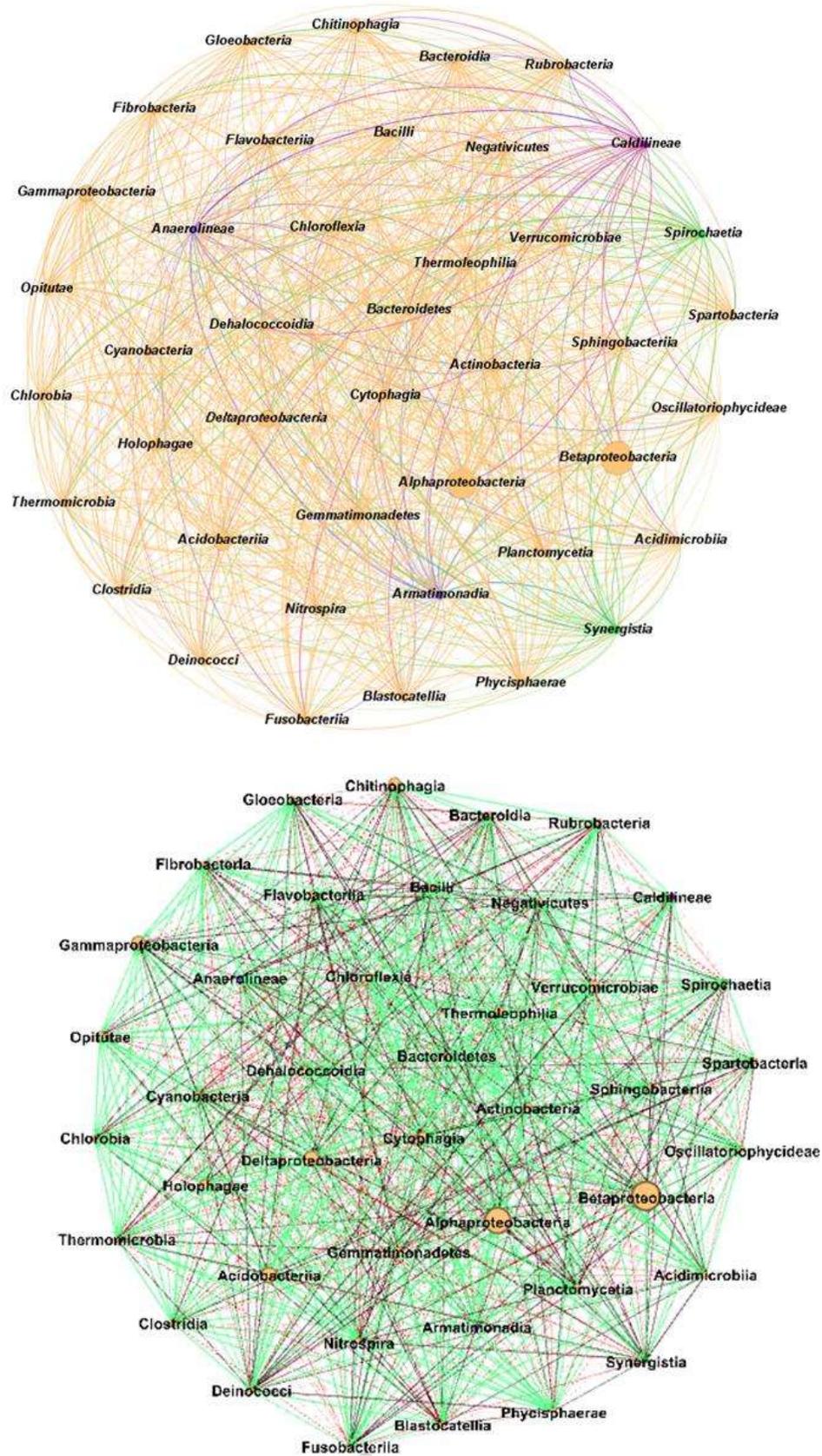


Figura19. Grafo de comunidad microbiana del suelo Franco-arenoso nivel clase, (arriba) Distribución de Fruchterman Reingold phyla compartido, rojo: Suelo, azul: Rizósfera de plántulas de maíz sin inocular, amarillo: Rizósfera de plántulas de maíz inoculadas con *P. fluorescens* UM270. (abajo) Distribución de Fruchterman Reingold naturaleza de correlaciones, verde: Positiva, rojo: Negativa, negro: Neutra

7.7.3 Topología de comunidad microbiana de un suelo Franco

A nivel phylum la comunidad está conformada por 18 nodos y 153 aristas, fue posible observar que el centro y principal fuente de correlaciones negativas es el phylum Proteobacterias, también fue posible observar un comportamiento general correlacionado de manera negativa con los phyla *Fibrobacteres* y *Fusobacteria*; por otra parte el resto de las interacciones negativas se distribuyó en los phyla *Actinobacteria* y *Acidobacteria* aunque una parte de las interacciones también quedó entre los miembros de los phyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Verrucomicrobia*, *Gemmatimonadetes*, *Cyanobacteria* y *Nitrospirae*; también fue posible observar el nodo del phylum *Armatimonadetes* como exclusivo de la comunidad del suelo de origen. A este nivel la red se encuentra correlacionada de la siguiente manera 52.94% positivo, 35.29% negativo y 11.76% neutro.

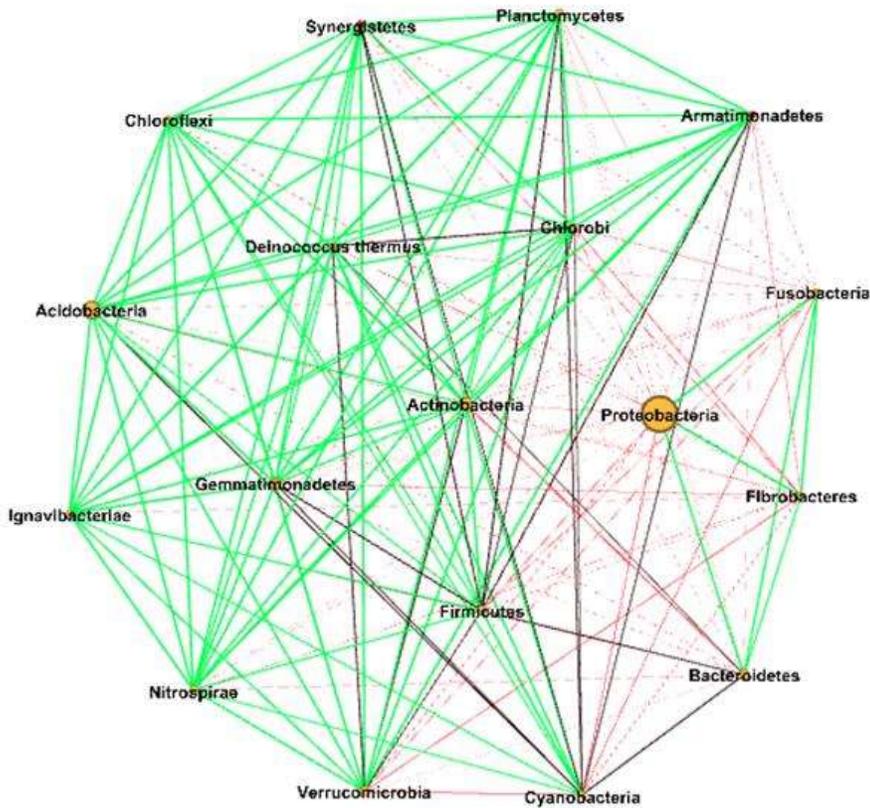
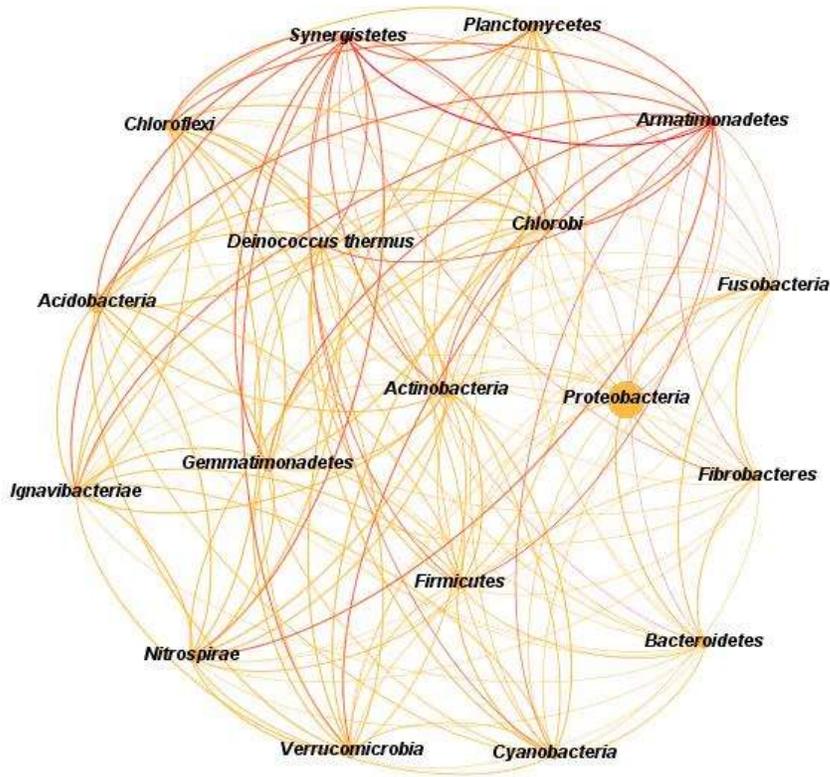


Figura 20. Grafo de comunidad microbiana del suelo Franco nivel phylum, (arriba) Distribución de Fruchterman Reingold phyla compartido, rojo: Suelo, azul: Rizósfera de plántulas de maíz sin inocular, amarillo: Rizósfera de plántulas de maíz inoculadas con *P. fluorescens* UM270. (abajo) Distribución de Fruchterman Reingold naturaleza de correlaciones, verde: Positiva, rojo: Negativa, negro: Neutra

A nivel clase la comunidad se encuentra conformada por 42 nodos y 861 aristas donde se puede observar que la comunidad se distribuye en 8 módulos, los cuales concentran las correlaciones negativas en cuatro de ellos formados el primero por las clases *Betaproteobacteria*, *Thermoleophilia*, *Holophagae*, *Fibrobacteria*, *Planctomycetia* y *Phycisphaerae*; el segundo por las clases *Deltaproteobacteria*, *Acidobacteriia*, *Verrucomicrobiae*, *Dehalococcoidia*, *Saprospira* y *Fusobacteria*, cabe mencionar que estos módulos se relacionan de manera negativa entre sí; el tercer grupo está constituido por las clases *Gemmatimonadetes*, *Blastocatellia*, *Nitrospira*, *Clostridia*, *Opitutae*, *Negativicutes*, *Armatimonadia* y *Caldilineae* , este tercer grupo, sumado a los otros dos generan efectos negativos hacia el cuarto grupo que presenta a las clases *Gammaproteobacteria*, *Cytophagia*, *Bacteroidia*, *Cyanobacteria*, *Spartobacteria*, *Bacilli*, *Oscillatoriothycideae*, *Deinococci* y *Anaerolineae* ; el resto de clases sostiene correlaciones positivas que soportan principalmente al segundo y tercer módulo anteriormente descrito y el resto se distribuye de manera proporcional pero menos intensa en los otros dos mencionados. A este nivel la red se encuentra correlacionada de la siguiente manera 45.99% positivo, 40.77% negativo y 13.24% neutro.

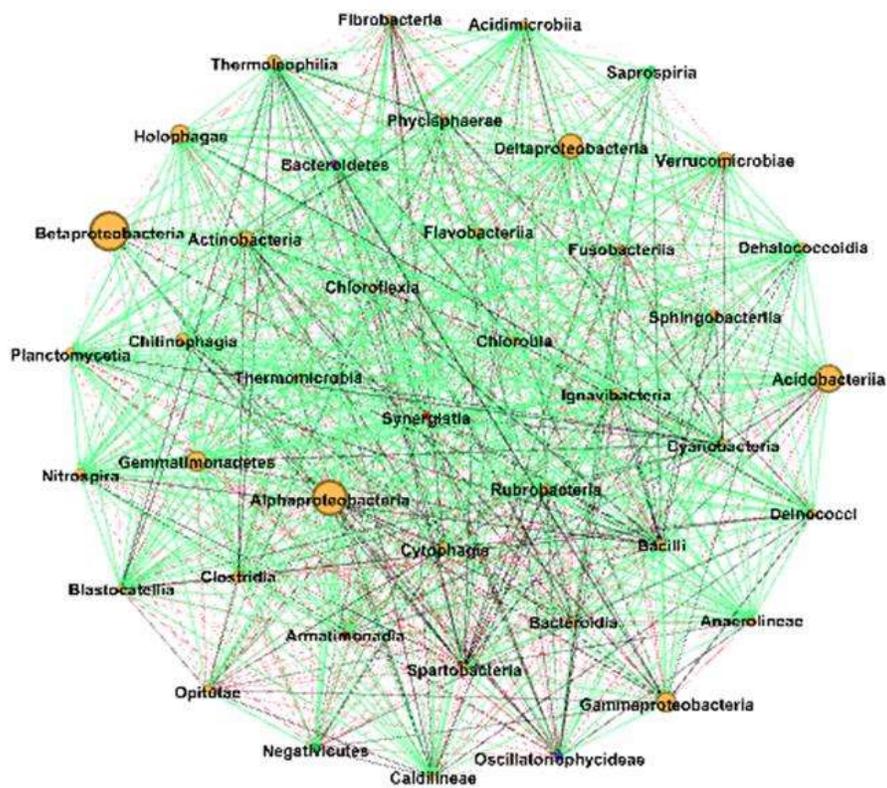
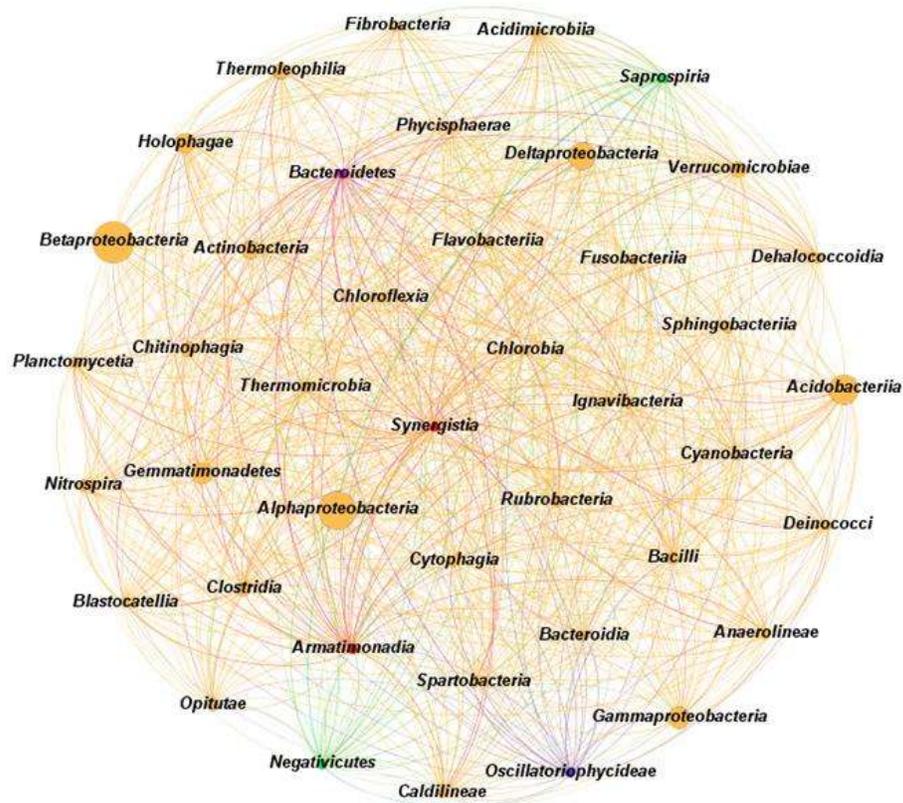


Figura 21. Grafo de comunidad microbiana del suelo Franco nivel clase, (arriba) Distribución de Fruchterman Reingold phyla compartido, rojo: Suelo, azul: Rizósfera de plántulas de maíz sin inocular, amarillo: Rizósfera de plántulas de maíz inoculadas con *P. fluorescens* UM270. (abajo) Distribución de Fruchterman Reingold naturaleza de correlaciones, verde: Positiva, rojo: Negativa, negro: Neutra

8. Discusión

El maíz es un cultivo de importancia global debido a su relevancia en las industrias textil, energética, papelera y tiene un rol importante en la seguridad alimenticia de las poblaciones y las problemáticas que enfrenta la humanidad debido al manejo convencional con agroquímicos y sus complicaciones en el campo. La planta de maíz ha demostrado previamente ser una planta capaz de adaptarse y desarrollarse en diferentes tipos de suelo, ser capaz de resistir condiciones ambientales adversas y generar patrones de exudación radicular diferenciados, siendo todas estas características adecuadas para probar potenciales bioinoculantes con potencial benéfico y bioquímico para ejercer efectos benéficos en los suelos y en las plantas que se desarrollan en él, permitiendo también verificar los efectos de la inoculación de PGPR con la finalidad de evidenciar cambios en la composición de las comunidades microbianas que podrían tener un papel importante en las interacciones planta-microorganismo (Mehta et al.,2021).

De manera tradicional se ha optado por metodologías dependientes de cultivo para el escrutinio de microorganismos en diferentes sistemas, sin embargo, las diferentes estrategias de crecimiento, reproducción y competencias entre microorganismos sesga la capacidad de detectar dichos agentes etiológicos. Las nuevas tecnologías de secuenciación ofrecen la posibilidad de analizar la composición de una comunidad microbiana a través de la detección de diferentes biomarcadores (Ari y Arian.,2016). Las técnicas de secuenciación de última generación permiten dilucidar los integrantes constituyentes de las comunidades microbianas asociadas a diferentes organismos, en este caso las plantas, ofrecen la ventaja de detectar microorganismos que no serían apreciables mediante técnicas tradicionales de cultivo y también de inferir sus posibles funciones metabólicas repercutiendo así en su papel ecológico. El análisis del microbioma de diferentes plantas ha demostrado que existen taxones que suelen ser reclutados de manera específica y preferencial dependiendo de la especie de la planta huésped y el genotipo de esta en un amplio espectro de circunstancias, el conjunto de estos microorganismos es denominado comunidad o microbioma núcleo,

Algunos autores proponen que esta comunidad núcleo presenta estas características debido a su coevolución con la planta a lo largo del tiempo, ampliando el perfil funcional de la misma y posiblemente teniendo una redundancia en funcionalidad ecológica, por otro lado existen autores que sugieren que los efectos benéficos ejercidos por el microbioma se deben en su mayoría a ciertos taxones particulares que repercuten en la estructura del resto de la comunidad y no a todos los integrantes que la componen, asignando al resto de los integrantes un papel regulador de la comunicación y los efectos generados entre planta-microorganismo-microorganismo.

Las bacterias promotoras del crecimiento generan efectos positivos sobre la planta; utilizando el concepto de holobionte, las PGPR ejercen influencia no solo sobre la planta huésped, sino con el resto de la comunidad microbiana asociada a esta. Trabajos previos ilustran la importancia de la comunidad microbiana indígena de la planta huésped sobre su respuesta a diferentes tipos de estrés biótico y abiótico, siendo esta un área de oportunidad para el desarrollo de estrategias que mejoren la salud de las plantas, el rendimiento de los cultivos y una fuente de microorganismos con alto potencial biotecnológico (Kumar y Dubey.,2020).

La cepa UM270 mostró efectos consistentes promotores del crecimiento en plántulas de *Medicago truncatula*, su posterior identificación molecular permitió caracterizarla como una cepa perteneciente a la especie *Pseudomonas fluorescens*, adicionalmente se identificaron potenciales mecanismos promotores del crecimiento como lo es la producción de ácido indol acético, una fitohormona con un papel importante en el desarrollo, la secreción de la enzima ACC desaminasa que interviene en la producción de etileno descomponiendo su precursor inmediato en alfacetobutirato y amonio repercutiendo en diferentes respuestas ante el estrés y facilitando el aprovechamiento de nitrógeno,. posee efectos antagónicos frente a fitopatógenos como *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Diaporthe phaseolorum*, and *Colletotrichum lindemuthianum* que podrían deberse a la producción de diferentes compuestos antimicrobianos difusibles y volátiles con actividad previamente descrita como lo son el dimetil disulfuro, el ácido cianhídrico, la dimetilhexadecilamina (Martínez-Cámara et

al.,2020), diferentes fenazinas, tiazol e inclusive enzimas líticas que degraden componentes de las membranas celulares de fitopatógenos; la cepa también excreta sideróforos que le permiten competir más eficientemente por el hierro disponible en el medio para el aprovechamiento de este elemento por parte de la planta y privando así también de este elemento a potenciales patógenos. *Pseudomonas fluorescens* UM270 cuenta también con la capacidad de generar biofilm, una matriz de exopolímeros que además de facilitar la colonización de la rizosfera y el intercambio selectivo de moléculas(Danhorn y Fuqua 2007), es también un medio donde se desarrolla intercambio genético y el quorum sensing, el cual permite tener una respuesta coordinada a nivel poblacional frente a múltiples estímulos (Diggle et al., 2007).Trabajos posteriores con la cepa han demostrado que su capacidad promotora del crecimiento en diferentes cultivos de interés comercial, como lo son el maíz, el sorgo y el jitomate, donde se aprecian aumentos en la biomasa de las plantas y su concentración de clorofila, otros estudios han analizado la capacidad de la cepa para conferir resistencia a plantas de *Casuarina equisetifolia* y *Solanum Lycopersicum* L. en condiciones de sequía y salinidad (Granados et al.,2019, Rojas-Solis 2020). Estos últimos efectos se atribuyen a la capacidad de la bacteria para generar diferentes osmolitos como lo son algunos aminoácidos, protegiendo a la planta de los efectos nocivos, también se ha visto un cambio conformacional en la estructura lipídica de la membrana celular de la cepa para resistir estas condiciones y mantener su asociación con la planta huésped.

Existe evidencia del efecto que tienen las propiedades fisicoquímicas de los suelos sobre las comunidades microbianas que lo habitan, factores como el pH, la concentración de sales, disponibilidad de nutrientes, disponibilidad de oxígeno y la temperatura son factores que imponen efectos de selección sobre los diferentes microorganismos al impactar de manera directa en la estructura celular y en el metabolismo de los microorganismos al generar diferentes condiciones de nicho ante las cuales la comunidad microbiana debe adaptarse (Bakker et al.,2015). Si bien es cierto que las condiciones del suelo establecen una especie de comunidad inicial el modelo de adquisición del microbioma indica que el genotipo de la planta

tiene un mayor efecto de selección sobre la conformación del microbioma, debido a que los exudados radiculares y otras moléculas de señalización específicas entre planta-microorganismos son expresadas de manera diferencial entre genotipos modificando de esta manera las asociaciones que se generan en el holobionte (Correa-Galeote et al., 2016).

En este trabajo se apreció que los efectos promotores de la cepa sobre plántulas de maíz eran reproducibles en los tres tipos de suelo, el análisis de los valores fitométricos obtenidos de los grupos control respecto a los grupos sometidos a la inoculación con la cepa UM270 fueron consistentes entre sí, sugiriendo que independientemente del tipo de suelo en el que se realizó el tratamiento la bacteria mostro una tendencia a mejorar la biomasa de la parte aérea y diferencias significativas en la biomasa y estructura radicular de la planta, en el caso de la concentración de clorofila; existieron diferencias significativas en los plántulas inoculadas con UM270 en los suelos de Yuriria y Huiramba, mientras que existió una tendencia a una mayor concentración en el suelo de Uruapan, lo cual es promisorio, puesto que puede inferirse que la cepa promueve el desarrollo vegetal de plantas de maíz pese a las diferencias en las propiedades fisicoquímicas y las comunidades microbianas de los suelos utilizados para los ensayos, obteniendo una mejora de la biomasa de las plantas de aproximadamente un 30%. Los cambios significativos que se presentaron de manera consistente en la parte radicular de las plantas podrían deberse a la capacidad de la cepa UM270 de producir AIA, ya que el rol de esta fitohormona es importante para el desarrollo y la elongación radicular, lo que podría explicar también las diferencias morfológicas encontradas entre tratamientos.

La biodiversidad es la variedad de entidades biológicas presentes en un espacio determinado, incluye varios niveles de la organización biológica, su variabilidad genética, los ecosistemas y la ubicación de estos; también incluye los procesos ecológicos y evolutivos que ocurren (Purvis y Hector 2000). Los indicadores de biodiversidad hablan sobre aspectos particulares de la biodiversidad, algunos la cuantifican, otros se refieren a su condición, otros dimensionan las presiones que la afectan. Los indicadores proveen información

sobre el estado actual de la biodiversidad y sus tendencias; proveen evidencia para entender los cambios en la biodiversidad y sus posibles consecuencias para el bienestar humano, convirtiéndose en herramientas poderosas para tomar decisiones ambientales informadas. Los conceptos de diversidad alfa y beta han sido planteados para analizar la composición de la biodiversidad, el número de especies a nivel local se le llama diversidad alfa, la diversidad beta cuantifica que tan diferentes son dos conjuntos de especies de dos localidades (Conabio 2020).

Los valores obtenidos en los diferentes índices ecológicos nos permiten analizar quienes conforman las comunidades bacterianas presentes en las muestras y como difieren entre ellas. En el caso de la diversidad alfa, valores elevados en el índice de Shannon nos sugieren que existe una alta heterogeneidad en la diversidad presente en todas las muestras, de manera similar, valores altos obtenidos en el índice de Pielou nos indican que existe una buena distribución dentro de las comunidades. En ambos índices la diversidad tiende a disminuir ligeramente al comparar los suelos de origen contra las comunidades de la rizosfera de plantas de maíz sin inocular, lo que es consistente con lo propuesto por el modelo de dos pasos de adquisición del microbioma, sin embargo al comparar las comunidades de plántulas de maíz inoculadas frente a aquellas inoculadas con la cepa UM270 el patrón solo fue consistente en el caso de los tratamientos realizados en un suelo arcilloso, mientras que en los otros dos tipos de suelo los valores obtenidos en plántulas tratadas con la cepa fueron ligeramente mayores a los que tenían las plántulas sin inocular. Respecto al índice de Faith, el cual a diferencia de los índices anteriores toma en cuenta la distancia filogenética entre los miembros de las comunidades, mostro que la diversidad disminuía como era propuesto en modelo de dos pasos para los suelos de tipo arcillosos y franco-arenoso, mientras que en el suelo franco los valores de este índice fueron mayores en los tratamientos con plántulas inoculadas y sin inocular respecto a la diversidad del suelo inicial.

En cuanto a la diversidad beta se utilizaron los índices de Bray-Curtis, el cual es una medida de la diferencia entre las abundancias de las especies presentes, el índice de Jaccard que indica el grado de superposición de las

comunidades, UniFrac, que es una medida de la disimilitud de dos comunidades tomando en cuenta la distancia filogenética entre los componentes de la comunidad microbiana, su variante ponderada confiere mayor peso a taxa dominantes y su variante no ponderada a aquellos taxa raros., con los valores obtenidos se construyó una matriz de distancia para realizar PCoA de los índices para la comparación estructural de las comunidades presentes en las muestras, lo cual evidenció un agrupamiento claramente diferenciado entre las muestras por tipos de suelo y entre estos grupos las diferencias existentes entre tratamientos.

La comunidad microbiana de las rizósferas analizadas en el presente trabajo revelaron una dominancia en todas las muestras por parte de los phyla *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Gemmatimonadetes*, *Verrucomicrobia* y *Planctomyces*, estos microorganismos se han encontrado descritos como habitantes habituales del suelo y participan en diferentes procesos ecológicos, más aún han demostrado ser también reportados como dominantes en otros trabajos sobre el maíz (García-Salamanca et al.,2013, Pereira et al.,2011), con diferencias en las proporciones explicadas por los cambios en la bioquímica general de la planta según su fenología y las modificaciones del medio ambiente generadas de manera estocástica o por origen humano (Philippot et al.,2013, da Silva et al.,2003), Aunque la dominancia de las comunidades a nivel phylum fue representada por los mismos phyla entre muestras fue posible apreciar diferencias en las abundancias relativas de estos taxones entre tipos de suelo y tratamientos, lo cual permite apreciar el efecto de selección por parte de la planta sobre la comunidad inicial del suelo y también los cambios provocados por la inoculación de la cepa comparada con aquella sin inocular.

Las *Proteobacterias* se encuentran descritas como las bacterias más abundantes en todas las muestras analizadas, estas pueden clasificarse en 5 grupos, los cuales además de las diferencias en su secuencia genómica, presentan variadas capacidades nutricionales y adaptativas, por lo cual, podrían conferir una plasticidad metabólica para la adquisición de nutrientes debido a esta amplia capacidad para degradar sustratos de diferente constitución y variada complejidad (Gupta et al., 2000), Es el taxón más abundante en todas las

muestras posiblemente se deba a la capacidad de estas bacterias de responder ante un gradiente amplio de condiciones nutricionales y de competencia microbiana; es importante mencionar que se ha sugerido el rol que adopta este phylum en la domesticación de las plantas sustituyendo las funciones ecológicas de otros taxones que se encuentran en especies silvestres. Múltiples géneros de las proteobacterias han sido descritos como PGPR, organismos bioremediadores, agentes biocontrol y una fuente de enzimas con potencial biotecnológico, siendo géneros *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Azospirillum* y *Methylococcus* algunos ejemplos probados en múltiples especies vegetales e inclusive existiendo productos comerciales derivados de estos organismos (Faheem et al.,2020, Enbaja 2019, Ipek et al.,2014, El-deb et al., 2012, Karakurt et al 2010). Como se ha mencionado anteriormente el generó *Pseudomonas*, al cual pertenece la cepa UM270, cuenta con múltiples mecanismos para competir por la colonización de la rizósfera y promover el crecimiento vegetal (Santoyo et al., 2012), es uno de los taxones más comúnmente descritos como benéficos por su amplio arsenal de biomoléculas activas con diferentes propiedades, siendo un agente biocontrol, agente biorremediador, fuente de organismos con potencial biotecnológico y también se ha utilizado como bioinoculante promotor del crecimiento asociado a incremento de taxones específicos en arboles de *Brassica napus* para mejorar el rendimiento de las semillas (Jiménez-Gómez et al.,2020, Adhikary et al.,2019, Fouzia et al ., 2015). *Rhizobium* es un género descrito junto a *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* y *Sinorhizobium* como un grupo de bacterias llamados rizobiales, los cuales participan en la fijación biológica del nitrógeno, contando estos géneros con la capacidad particular de formar relaciones simbióticas con leguminosas modificando la estructura celular de la planta huésped para la formación nódulos fijadores nitrógeno regulada por una señalización altamente específica (Zhang et al.,2019, Vargas et al., 2017). El género *Azospirillum* ha sido utilizado de manera exitosa en el cultivo de diferentes cereales, aumentando la producción de semillas, la biomasa total de las plantas y obtener mejor desarrollo en condiciones adversas; inclusive se ha estudiado su capacidad para inducir la resistencia sistémica inducida, sus efectos benéficos suelen ser observados en los primeros estadios de

desarrollo de las plántulas (Ejaz et al.,2020, Chavez-Herrera et al 2018, Gómez et al.,2014).

El phylum *Acidobacteria* presenta habitantes usuales en múltiples ambientes terrestres, son miembros dominantes en las comunidades microbianas en las que se encuentran descritos, no forman esporas y son oligotrofos. Las acidobacterias intervienen en procesos ecológicos como la regulación del ciclo del carbono, nitrógeno y azufre, pueden degradar variadas fuentes de carbono y nitrógeno (Celulosa, lignina, quitina, aminoácidos, metabolitos secundarios), siendo esta propiedad utilizada para diferenciarlas, las estrategias de desarrollo de la mayoría de sus miembros (condiciones de pH bajo, condiciones reguladas de CO₂, periodos largos de incubación y necesidad de añadir suplementos a los medios de cultivo) ha dificultado la capacidad de aislar microorganismos pertenecientes a este taxón (Dedysh y Dámstem., 2018), Las acidobacterias cuentan con genes codificantes para las enzimas de la familia CAZy las cuales catalizan el anabolismo y catabolismo de carbohidratos y glicoconjugados complejos generando un mejor aprovechamiento de la materia orgánica por otros microorganismos; pueden también reducir nitrito, nitrato y óxido nítrico, además se han encontrado genes homólogos codificantes al de la nitrato reductasa (*nirA*), también codificantes a transportadores de nitrato (*nrtABCD*) e inclusive los genes codificantes de la dinitrogenasa (*nifD* y *nifK*) y la dinitrogenasa reductasa(*nifH*) en algunas cepas de acidobacterias; aunado a todo lo anterior también poseen los clúster de genes *eps* que producen exopolisacáridos que le permiten generar biofilm (Kalam et al.,2020), donde sucede un intercambio bioquímico y genético entre microorganismos y confiere protección ante la desecación o la acción de moléculas antagonistas, además de contar con otras estrategias de respuesta a la falta de nutrientes o la desecación como la síntesis de celulosa y producción de carotenoides. Existen reportes donde miembros de este clado son capaces de promover el desarrollo de plantas de *Arabidopsis thaliana* mediante la producción de AIA y mejora en la adquisición de hierro (Kielak et al.,2016); también se ha evaluado el comportamiento que existen en las comunidades microbianas rizósfericas, de manera particular las acidobacterias al someter plantas de tomate

y lenteja negra a inoculación con cepas promotoras del crecimiento observándose un aumento en su abundancia relativa y los efectos positivos sobre la biomasa y la arquitectura radicular de las plantas (Kalam et al., 2017)

El phylum *Actinobacteria* ha destacado como un taxón con una amplia capacidad metabólica, con la cual han podido proliferar en un amplio espectro de nichos, incluyendo algunos extremos o donde otros microorganismos enfrentan dificultades para sobrevivir, suelen tener un desarrollo colonial similar al desarrollo micelial por parte de los hongos filamentosos. (Lewin et al 2016 y Kurtboke,2017). Junto con el phylum Firmicutes, son microorganismos que cuentan con la capacidad de degradar compuestos aromáticos y cuentan con la capacidad de formar endosporas que les permiten resistir condiciones poco favorables como la desecación, la salinidad, radiación ultravioleta y también una capacidad de resistir cambios de temperaturas (van Bergeijk et al.,2020). Cabe también destacar, que este phylum cuenta con un arsenal amplio de moléculas bioactivas con capacidad antagonica frente a diferentes microorganismos e inclusive con utilidad medicinal en organismos de otro dominio de la vida, tal es el caso de los antibióticos como la estreptomicina y sideróforo comercial llamado Deferoxamina obtenidos de *Streptomyces* spp, (Lee et al.,2020) Existen también reportes de promoción del crecimiento por parte de miembros pertenecientes a este taxon; *Streptomyces* spp ha mostrado ser promotora del crecimiento vegetal habitando en la rizósfera de plantas de sorgo, arroz (Gopalakrishnan et al., 2013) y tomate (Días et al.,2017) e inclusive como endófitos (Vurukonda et al., 2018) ; *Arthrobacter* spp también es un generó promotor que ha sido aislado de ambientes extremos (Singh et al.,2016); cuenta con capacidad promotora de crecimiento en cultivos de interés agronómico como el tomate o el sorgo, son capaces de solubilizar el fosforo (Banerjee et al.,2010); también mitiga el estrés salino y la desecación (Castulo-Rubio et al., 2015 y Manzanera et al.,2015), *Arthrobacter* posee potencial biorremediador en interacciones con plantas desarrolladas en suelos con contenidos elevados de metales pesados (Xu et al., 2018). Otros usos potenciales de miembros de este phylum es la capacidad de generar moléculas con capacidad

fitotóxica llamados bioherbicidas que podrían ser utilizadas para restringir el desarrollo de especies vegetales consideradas como maleza.

El phylum *Bacteroidetes* se encuentra en múltiples ecosistemas, que van desde suelos con cultivos de interés agrícola, en zonas desérticas y en sedimentos marinos (Lapébie et al 2019), también es posible encontrar microorganismos que han evolucionado adquiriendo la capacidad de degradar polímeros complejos que constituyen la biomasa de plantas de manera muy eficiente debido a múltiples enzimas codificadas en bloques llamadas PULs; loci de utilización de polisacáridos por sus siglas en inglés, interviniendo de manera particular en la utilización de la materia orgánica presente en los suelos por otros microorganismos y plantas que se desarrollan en este (Kmezik y Fránzen 2021), dentro de las estrategias descritas para mejorar el crecimiento de las plantas se han descrito miembros de este phylum como *Flavobacteriaceae* que han sido aislados de la rizósfera de plantas de cebada, donde al expresar una actividad fosfatasa constitutiva explicada por la enzima PafA llegando a aportar hasta un 50% del aporte de fósforo total de las plantas.(Lidbury et al.,2021, Johansen y Binnerup 2002)

El phylum *Gemmatimonadetes* se encuentra representado como uno de los nueve phyla dominantes descritos en múltiples ambientes terrestres, ha sido posible aislar miembros pertenecientes a este taxon en ambientes que van desde las planicies, pasturas e inclusive en sedimentos de lagos eutróficos (Janssen 2006). Se ha propuesto que este phylum cuenta con una capacidad de adaptación a suelos con un contenido bajo de humedad y parecen ser afectados por la disponibilidad de la misma prefiriendo suelos más áridos (DeBruyn et al.,2011); es un taxón descrito recientemente y del cual solo se cuenta con pocas especies cultivables, sin embargo, su constante detección y dominancia en los suelos sugiere que podrían ser una fuente de microorganismos con potencial biotecnológico y funciones ecológicas que aún necesitan ser evaluadas para una comprensión más integral de su rol en las comunidades microbianas asociadas a las plantas puesto que el descubrimiento de nuevas especies aisladas de medios con temperaturas muy bajas e inclusive una cepa clorofototrófica (Zeng et al.,2014, Zeng et al.,2016).

El phylum *Verrucomicrobia* se encuentra frecuentemente descrito como habitante común de los suelos, zonas fluviales e inclusive ambientes marino. Existen reportes de su hallazgo en condiciones ambientales muy diversas, soportando rangos de temperatura y salinidad variables (Dunfield et al.,2007 y Vayourakis et al.,2018). También es posible encontrar microorganismos de este phylum recuperados aislados de comunidades microbianas asociadas a plantas saludables de remolacha (Okazaki et al., 2014). El rol geo ecológico de estos microorganismos parece estar enfocado en procesos de degradación de la materia orgánica, que debido a su capacidad de resistir condiciones ambientales diversas las convierten en bacterias que podrían tener un efecto decisivo en la estructuración de las comunidades microbianas en las que se encuentran asociadas (Nixon et al.,2019).

El phylum Plantomycetes cuenta con microorganismos ubicuos en el planeta, intervienen en los ciclos ecológicos del carbono y el nitrógeno; posee características celulares únicas que las diferencian del resto de bacterias como la capacidad de dividirse sin el uso de la FtsZ o la compartimentalización de estructuras celulares(Wiegang et al.,2020); que en ocasiones asemejan envolturas nucleares o que pueden tener funcionalidades específicas como los anammoxosomas que permiten la oxidación anaeróbica del amonio (Peeters y Nifrik 2018); su análisis filogenético sugiere un parentesco más cercano con las eucariotas respecto a otras bacterias (Boedeker et al.,2017). Son microorganismos utilizados por sus aplicaciones biotecnológicas en el tratamiento de aguas residuales; cabe destacar que pese a encontrarse descrito en múltiples estudios metagenómicos existen pocos organismos aislados (Wiegang et al.,2018)

9. Conclusión.

Las plantas son organismos sésiles, que interactúan con organismos de los diferentes dominios de la vida, de manera particular con su microbioma, teniendo múltiples estrategias mediante las cuales regula sus interacciones bioquímicas y morfológicas con los microorganismos para reclutar entidades específicas para satisfacer sus necesidades de manera dinámica ante diferentes condiciones de estrés biótico y abiótico. Los patrones de exudación radicular tienen un efecto

químico atrayente para los microorganismos por ser una fuente nutricional de variada composición, sin embargo, muchas de estas moléculas pueden atraer a microorganismos específicos e inhibir el desarrollo de otros, en un excelente trabajo (Santoyo 2021) revisa como las asociaciones entre las plantas y su microbioma tiene una estrecha relación, dado que desde antes de su germinación la planta ya se encuentra en constante interacción con los microbiomas de su progenitora y el microbioma propio del suelo donde se desarrolle respondiendo de manera dinámica con estructuras diferentes a lo largo de su fenología y respondiendo de manera específica para mitigar diferentes condiciones de estrés. En el trabajo presente fue posible observar efectos benéficos en las plantas sometidas a la inoculación de la bacteria *Pseudomonas fluorescens* UM270, observándose este efecto en tres suelos con propiedades fisicoquímicas diferentes, indicando que el efecto promotor es apreciable indistintamente del suelo en el que se desarrolle la planta de maíz, la composición del bacterioma rizosférico de las plantas de maíz coinciden con lo reportado en otros trabajos, pese a existir una dominancia por parte de determinados taxones es posible apreciar diferencias en la estructura de las comunidades rizosféricas en cada tipo de suelo según sus tratamientos, reforzando la idea de que los factores edáficos tienen un rol predominante en la estructuración del microbioma, pero también tomando en cuenta que existen particularidades explicadas por la intrincada regulación de las redes microbianas en constante interacción; el análisis de la diversidad alfa y beta entre las muestras, da apoyo a la idea de que existen diferencias claras entre grupos de muestras por suelo de origen, pero que no existe superposición total de las comunidades e inclusive existe taxa particular a cada tratamiento favoreciendo diferentes estructuras del microbioma y cambiando de esta manera la estructura de las comunidades. Todo lo anteriormente expuesto vuelve a *Pseudomonas fluorescens* UM270 en un agente bionoculante promisorio, el estudio de las interacciones de bacterias potencialmente aumenta nuestra comprensión de los fenómenos que ocurren y ofrecen alternativas para una mejor explotación biotecnológica.

10. Referencias bibliográficas

- Asher, C. J., Grundon, N. J., & Menzies, N. (2002). How to unravel and solve soil fertility problems (No. 435-2016-33669).
- Majeed, A. (2018). Application of agrochemicals in agriculture: benefits, risks and responsibility of stakeholders. *J Food Sci Toxicol*, 2(1), 3.
- Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., and Hens, L. 2016. Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. *Frontiers in public health*, 4, 148.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M., & Bakker, P. A. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in plant science*, 17(8), 478-486.
- Kour, D., Kaur, T., Devi, R., Rana, K. L., Yadav, N., Rastegari, A. A., & Yadav, A. N. (2020). Biotechnological applications of beneficial microbiomes for evergreen agriculture and human health. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 255-279). Elsevier.
- Prasad, R., Kumar, M., & Varma, A. (2015). Role of PGPR in soil fertility and plant health. In *Plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and medicinal plants* (pp. 247-260). Springer, Cham.
- Santoyo, G., Sánchez-Yáñez, J. M., & de los Santos-Villalobos, S. (2019). Methods for detecting biocontrol and plant growth-promoting traits in Rhizobacteria. In *Methods in rhizosphere biology research* (pp. 133-149). Springer, Singapore.
- Ranum, P., Peña-Rosas, J. P., & Garcia-Casal, M. N. (2014). Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the new York academy of sciences*, 1312(1), 105-112.
- Balmer, D., Flors, V., Glauser, G., & Mauch-Mani, B. (2013). Metabolomics of cereals under biotic stress: current knowledge and techniques. *Frontiers in plant science*, 4, 82.
- Kimotho, R. N., Baillo, E. H., & Zhang, Z. (2019). Transcription factors involved in abiotic stress responses in Maize (*Zea mays* L.) and their roles in enhanced productivity in the post genomics era. *PeerJ*, 7, e7211.
- Benz, B. F. 1997. Diversidad y distribución prehispánica del maíz mexicano. *Arqueología mexicana* 5(25):17-23

- Ramos Gamiño, F. (2013). Maíz, trigo y arroz: los cereales que alimentan al mundo (No. 5). Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Deras Flores, H. (2020). Guía técnica: el cultivo de maíz. Repositorio Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura
- Hassani, M. A., Durán, P., & Hacquard, S. (2018). Microbial interactions within the plant holobiont. *Microbiome*, 6(1), 1-17.
- del Carmen Orozco-Mosqueda, M., del Carmen Rocha-Granados, M., Glick, B. R., & Santoyo, G. (2018). Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms. *Microbiological research*, 208, 25-31.
- Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G., Sa, T., & Singh, B. K. (2020). Plant-microbiome interactions: From community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology*, 18(11), 607-621.
- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., Van Themaat, E. V. L., & Schulze-Lefert, P. (2013). Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual review of plant biology*, 64, 807-838.
- Agler, M. T., Ruhe, J., Kroll, S., Morhenn, C., Kim, S. T., Weigel, D., & Kemen, E. M. (2016). Microbial hub taxa link host and abiotic factors to plant microbiome variation. *PLoS biology*, 14(1), e1002352.
- van der Heijden, M. G., & Hartmann, M. (2016). Networking in the plant microbiome. *PLoS biology*, 14(2), e1002378.
- Peiffer, J. A., & Ley, R. E. (2013). Exploring the maize rhizosphere microbiome in the field: a glimpse into a highly complex system. *Communicative & integrative biology*, 6(5), e25177.
- Li, X., Rui, J., Mao, Y., Yannarell, A., & Mackie, R. (2014). Dynamics of the bacterial community structure in the rhizosphere of a maize cultivar. *Soil Biology and Biochemistry*, 68, 392-401.
- Bakker, M. G., Chaparro, J. M., Manter, D. K., & Vivanco, J. M. (2015). Impacts of bulk soil microbial community structure on rhizosphere microbiomes of *Zea mays*. *Plant and Soil*, 392(1), 115-126.
- Correa-Galeote, D., Bedmar, E. J., Fernández-González, A. J., Fernández-López, M., & Arone, G. J. (2016). Bacterial communities in the rhizosphere

of amilaceous maize (*Zea mays* L.) as assessed by pyrosequencing. *Frontiers in plant science*, 7, 1016.

- Walters, W. A., Jin, Z., Youngblut, N., Wallace, J. G., Sutter, J., Zhang, W., ... & Ley, R. E. (2018). Large-scale replicated field study of maize rhizosphere identifies heritable microbes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(28), 7368-7373.
- Wattenburger, C. J., Halverson, L. J., & Hofmockel, K. S. (2019). Agricultural management affects root-associated microbiome recruitment over maize development. *Phytobiomes Journal*, 3(4), 260-272.
- Singh, B. P. (2015). Screening and characterization of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): An overview. *Bulletin of Environmental and Scientific Research*, 4(1-2), 1-2.
- Glick, B. R. (2012). *Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications*. Scientifica, 2012.
- Brimecombe, M. J., De Leij, F. A. A. M., & Lynch, J. M. (2007). Rhizodeposition and microbial populations. *The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, New York, 73-109.
- Sasse, J., Martinoia, E., & Northen, T. (2018). Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome?. *Trends in plant science*, 23(1), 25-41.
- Santoyo, G., Urtis-Flores, C. A., Loeza-Lara, P. D., Orozco-Mosqueda, M., & Glick, B. R. (2021). Rhizosphere Colonization Determinants by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR). *Biology*, 10(6), 475.
- Alori, E. T., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in microbiology*, 8, 971.
- Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17(4-5), 319-339.
- Shin, W., Islam, R., Benson, A., Joe, M. M., Kim, K., Gopal, S., ... & Sa, T. (2016). Role of diazotrophic bacteria in biological nitrogen fixation and plant growth improvement. *Korean journal of soil science and fertilizer*, 49(1), 17-29.
- Zhang, X., Han, L., Wang, Q., Zhang, C., Yu, Y., Tian, J., & Kong, Z. (2019). The host actin cytoskeleton channels rhizobia release and facilitates

symbiosome accommodation during nodulation in *Medicago truncatula*. *New Phytologist*, 221(2), 1049-1059.

- Aguado-Santacruz, G. A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E., & Preciado-Ortiz, R. E. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosidéforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Revista fitotecnia mexicana*, 35(1), 9-21.
 - Hider, R. C., & Kong, X. (2010). Chemistry and biology of siderophores. *Natural product reports*, 27(5), 637-657.
 - Pieterse, C. M., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C., & Bakker, P. A. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual review of phytopathology*, 52.
 - Santoyo, G., Orozco-Mosqueda, M. D. C., & Govindappa, M. (2012). Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. *Biocontrol Science and Technology*, 22(8), 855-872.
 - Agathokleous, E., Kitao, M., & Calabrese, E. J. (2018). Human and veterinary antibiotics induce hormesis in plants: Scientific and regulatory issues and an environmental perspective. *Environment international*, 120, 489-495.
 - Bhagwat, A., Collins, C. H., & Dordick, J. S. (2019). Selective antimicrobial activity of cell lytic enzymes in a bacterial consortium. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(17), 7041-7054.
 - Menendez, E., Garcia-Fraile, P., & Rivas, R. (2015). Biotechnological applications of bacterial cellulases. *AIMS Bioengineering*, 2(3), 163-182.
- Stokes, J. M., Lopatkin, A. J., Lobritz, M. A., & Collins, J. J. (2019). Bacterial metabolism and antibiotic efficacy. *Cell metabolism*, 30(2), 251-259.
- Bais, H. P., Fall, R., & Vivanco, J. M. (2004). Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant physiology*, 134(1), 307-319.- Romero, D.; De Vicente, A.; Rakotoaly, R.H.; Dufour, S.E.; Veening, J.W.; Arrebola, E.; Cazorla, F.M.; Kuipers, O.P.; Paquot, M.; Pérez-García, A. The iturin and fengycin families of lipopeptides are key factors in antagonism

of *Bacillus subtilis* toward *Podosphaera fusca*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2007, 20, 430-440.

- Bais, H.P.; Fall, R.; Vivanco, J.M. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against Infection of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant Physiol.* 2004, 134, 307-319.
- del Carmen Orozco-Mosqueda, M., Velázquez-Becerra, C., Macías-Rodríguez, L. I., Santoyo, G., Flores-Cortez, I., Alfaro-Cuevas, R., & Valencia-Cantero, E. (2013). *Arthrobacter agilis* UMCV2 induces iron acquisition in *Medicago truncatula* (strategy I plant) in vitro via dimethylhexadecylamine emission. *Plant and soil*, 362(1), 51-66.
- Kong, H. G., Song, G. C., Sim, H. J., & Ryu, C. M. (2021). Achieving similar root microbiota composition in neighbouring plants through airborne signalling. *The ISME journal*, 15(2), 397-408.
- Choudhary, D. K., & Johri, B. N. (2009). Interactions of *Bacillus* spp. and plants-with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological research*, 164(5), 493-513.
- Ueda, H., Kikuta, Y., & Matsuda, K. (2012). Plant communication: mediated by individual or blended VOCs?. *Plant signaling & behavior*, 7(2), 222-226.
- Holopainen, J. K., & Gershenzon, J. (2010). Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. *Trends in plant science*, 15(3), 176-184.
- Lasa, I., Del Pozo, J. L., Penadés, J. R., & Leiva, J. (2005, August). Biofilms bacterianos e infección. In *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* (Vol. 28, No. 2, pp. 163-175). Gobierno de Navarra. Departamento de Salud.
- Danhorn, T.; Fuqua, C. Biofilm formation by plant-associated bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 2007, 61, 401-422.
- Diggle, S.P.; Griffin, A.S.; Campbell, G.S.; West, S.A. Cooperation and conflict in quorum-sensing bacterial populations. *Nature* 2007, 450, 411-414.
- Banerjee, A.; Sarkar, S.; Cuadros-Orellana, S.; Bandopadhyay, R. Exopolysaccharides and biofilms in mitigating salinity stress: The biotechnological potential of halophilic and soil-inhabiting PGPR microorganisms. In *Microorganisms in Saline Environments: Strategies and Functions*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2019; pp. 133-153.
- Bakker, P. A., Berendsen, R. L., Van Pelt, J. A., Vismans, G., Yu, K., Li, E., ... & Pieterse, C. M. (2020). The soil-borne identity and microbiome-assisted agriculture: looking back to the future. *Molecular Plant*, 13(10), 1394-1401.

- Böhm, M.; Hurek, T.; Reinhold-Hurek, B. Twitching motility is essential for endophytic rice colonization by the N₂-fixing endophyte *Azoarcus* sp. strain BH72. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2007, 20, 526-533.
- Martínez-Cámara, R.; Montejano-Ramírez, V.; Moreno-Hagelsieb, G.; Santoyo, G.; Valencia-Cantero, E. The volatile organic compound dimethylhexadecylamine affects bacterial growth and swarming motility of bacteria. *Folia Microbiol.* 2020, 65
- Baghaie, A. H., & Aghili, F. (2021). Soil Zn fertilization and inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus and azotobacter chroococcum bacteria affect the Cd Concentration and Zn bioavailability in bread wheat grown in a Cd-spiked soil. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 30(7), 819-837.
- Hashami, S. Z., Nakamura, H., Ohkama-Ohtsu, N., Kojima, K., Djedidi, S., Fukuhara, I., ... & Yokoyama, T. (2019). Evaluation of immune responses induced by simultaneous inoculations of soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) with soil bacteria and rhizobia. *Microbes and environments*, ME18110.
- Ghavami, N., Alikhani, H. A., Pourbabaei, A. A., & Besharati, H. (2017). Effects of two new siderophore-producing rhizobacteria on growth and iron content of maize and canola plants. *Journal of Plant Nutrition*, 40(5), 736-746.
- Hungria, M., Nogueira, M. A., & Araujo, R. S. (2016). Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: an environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 221, 125-131.
- Selvakumar, G., Mohan, M., Kundu, S., Gupta, A. D., Joshi, P., Nazim, S., & Gupta, H. S. (2008). Cold tolerance and plant growth promotion potential of *Serratia marcescens* strain SRM (MTCC 8708) isolated from flowers of summer squash (*Cucurbita pepo*). *Letters in applied microbiology*, 46(2), 171-175.
- Koenig, R. L., Morris, R. O., & Polacco, J. C. (2002). tRNA is the source of low-level trans-zeatin production in *Methylobacterium* spp. *Journal of bacteriology*, 184(7), 1832-1842.
- Silby, M. W., Winstanley, C., Godfrey, S. A., Levy, S. B., & Jackson, R. W. (2011). *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. *FEMS microbiology reviews*, 35(4), 652-680.

- Hernández-León, R., Rojas-Solís, D., Contreras-Pérez, M., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., Macías-Rodríguez, L. I., Reyes-de la Cruz, H., ... & Santoyo, G. (2015). Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biological Control*, 81, 83-92
 - Rojas-Solís, D., Hernández-Pacheco, C. E., & Santoyo, G. (2016). Evaluation of *Bacillus* and *Pseudomonas* to colonize the rhizosphere and their effect on growth promotion in tomato (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.). *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 22(1), 45-58.
 - Hernández-Salmerón, J. E., Moreno-Hagelsieb, G., & Santoyo, G. (2017). Genome comparison of *Pseudomonas fluorescens* UM270 with related fluorescent strains unveils genes involved in rhizosphere competence and colonization. *Journal of genomics*, 5, 91.
 - Hernández-Salmerón, J. E., Hernández-Flores, B. R., del Carmen Rocha-Granados, M., Loeza-Lara, P. D., & Santoyo, G. (2018). Hongos fitopatógenos modulan la expresión de los genes antimicrobianos *phlD* y *hcnC* de la rizobacteria *Pseudomonas fluorescens* UM270. *Biotecnica*, 20(2), 110-116.
 - Martínez-Cámara, R., Montejano-Ramírez, V., Moreno-Hagelsieb, G., Santoyo, G., & Valencia-Cantero, E. (2019). The volatile organic compound dimethylhexadecylamine affects bacterial growth and swarming motility of bacteria. *Folia microbiologica*, 1-10.
- Granados, M. D. C. R., Constantino, M. A. C., Valerio, P. D., Magaña, J. G., & Santoyo, G. (2019). Aumento de tolerancia de *Casuarina equisetifolia* a cloruro de sodio mediado por *pseudomonas fluorescens*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 17(2), 15-23.
- Miguel, M. A., Arellano, J. L., García, G., Miranda, S., Mejía, J. A., & González, F. V. (2004). Variedades criollas de maíz azul raza chalqueño. Características agronómicas y calidad de semilla. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(1), 9-15.
 - Scher, F. M., Ziegler, J. S., & Kloepper, J. W. (1984). A method for assessing the root-colonizing capacity of bacteria on maize. *Canadian Journal of Microbiology*, 30(2), 151-157.
 - Dowd, S. E., Callaway, T. R., Wolcott, R. D., Sun, Y., McKeethan, T., Hagevoort, R. G., & Edrington, T. S. (2008). Evaluation of the bacterial diversity in the feces of cattle using 16S rDNA bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing (bTEFAP). *BMC microbiology*, 8(1), 1-8.

- Real-Sosa, K. M., Hernández-Calderón, E., Flores-Cortez, I., & Valencia-Cantero, E. (2022). Bacteria-derived N, N-dimethylhexadecylamine modulates the endophytic microbiome of *Medicago truncatula* in vitro. *Rhizosphere*, 21, 100470.
- Yuan, Q., Wang, P., Wang, X., Hu, B., & Tao, L. (2022). Phytoremediation of cadmium-contaminated sediment using *Hydrilla verticillata* and *Elodea canadensis* harbor two same keystone rhizobacteria *Pedospaeraceae* and *Parasegetibacter*. *Chemosphere*, 286, 131648.
- Pang, Q., Xu, W., He, F., Peng, F., Zhu, X., Xu, B., ... & Wang, L. (2022). Functional genera for efficient nitrogen removal under low C/N ratio influent at low temperatures in a two-stage tidal flow constructed wetland. *Science of The Total Environment*, 804, 150142.
- Wu, Y., Santos, S. S., Vestergård, M., González, A. M. M., Ma, L., Feng, Y., & Yang, X. (2022). A field study reveals links between hyperaccumulating *Sedum* plants-associated bacterial communities and Cd/Zn uptake and translocation. *Science of The Total Environment*, 805, 150400.
- Zheng, J., Reed, E., Ramachandran, P., Ottesen, A., Brown, E. W., & Wang, Y. (2021). Taxonomic and Functional Shifts in the Sprout Spent Irrigation Water Microbiome in Response to *Salmonella* Contamination of Alfalfa Seeds. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(3), e01811-20.
- Stevens, V., Thijs, S., & Vangronsveld, J. (2021). Diversity and plant growth-promoting potential of (un) culturable bacteria in the *Hedera helix* phylloplane. *BMC microbiology*, 21(1), 1-11.
- Chen, C., Han, H., Meng, Y., Gong, H., Jia, R., Xu, T., ... & Li, J. (2021). Total and denitrifying bacterial communities associated with the interception of nitrate leaching by carbon amendment in the subsoil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(6), 2559-2572
- Zhao, X., Yang, Y., Feng, K., Wang, X., Liu, B., Xie, G., & Xing, D. (2021). Self-regulating microbiome networks ensure functional resilience of biofilms in sand biofilters during manganese load fluctuations. *Water Research*, 188, 116473.
- Liang, Y., Zhai, H., Wang, R., Guo, Y., & Ji, M. (2021). Effects of water flow on performance of soil microbial fuel cells: Electricity generation, benzo [a] pyrene removal, microbial community and molecular ecological networks. *Environmental Research*, 202, 111658
- Zhang, Z., Liu, H., Liu, X., Chen, Y., Lu, Y., Shen, M., ... & Li, J. (2021). Organic fertilizer enhances rice growth in severe saline-alkali soil by increasing soil bacterial diversity. *Soil Use and Management*.

- Wang, J., Fan, H., He, X., Zhang, F., Xiao, J., Yan, Z., ... & Li, R. (2021). Response of bacterial communities to variation in water quality and physicochemical conditions in a river-reservoir system. *Global Ecology and Conservation*, 27, e01541.
- López-Lozano, N. E., Echeverría Molinar, A., Ortiz Durán, E. A., Hernandez Rosales, M., & Souza, V. (2020). Bacterial diversity and interaction networks of *Agave lechuguilla* rhizosphere differ significantly from bulk soil in the oligotrophic basin of Cuatro Ciénegas. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1028.
- Chun, S. J., Cui, Y., Lee, J. J., Choi, I. C., Oh, H. M., & Ahn, C. Y. (2020). Network analysis reveals succession of *Microcystis* genotypes accompanying distinctive microbial modules with recurrent patterns. *Water research*, 170, 115326.
- Han, H., Chen, C., Bai, M., Xu, T., Yang, H., Shi, A., ... & Li, J. (2020). Abundance and diversity of denitrifying bacterial communities associated with N₂O emission under long-term organic farming. *European Journal of Soil Biology*, 97, 103153.
- Shao, J. L., Lai, B., Jiang, W., Wang, J. T., Hong, Y. H., Chen, F. B., ... & Guo, L. X. (2019). Diversity and co-occurrence patterns of soil bacterial and fungal communities of Chinese *Cordyceps* habitats at Shergyla Mountain, Tibet: Implications for the occurrence. *Microorganisms*, 7(9), 284.
- Wattenburger, C. J., Halverson, L. J., & Hofmockel, K. S. (2019). Agricultural management affects root-associated microbiome recruitment over maize development. *Phytobiomes Journal*, 3(4), 260-272.
- Chun, S. J., Cui, Y., Lee, C. S., Cho, A. R., Baek, K., Choi, A., ... & Ahn, C. Y. (2019). Characterization of distinct cyanoHABs-related modules in microbial recurrent association network. *Frontiers in microbiology*, 10, 1637
- Pombubpa, N., Pietrasiak, N., De Ley, P., & Stajich, J. E. (2019). Insights into the desert living skin microbiome: geography, soil depth, and crust type affect biocrust microbial communities and networks in Mojave Desert, USA. *bioRxiv*, 810002
- Li, Q., Zhang, B., Yang, X., & Ge, Q. (2018). Deterioration-associated microbiome of stone monuments: structure, variation, and assembly. *Applied and environmental microbiology*, 84(7), e02680-17.
- Zheng, S., Wang, B., Li, Y., Liu, F., & Wang, O. (2017). Electrochemically active iron (III)-reducing bacteria in coastal riverine sediments. *Journal of basic microbiology*, 57(12), 1045-1054

- Drago, L., Toscano, M., De Grandi, R., Grossi, E., Padovani, E. M., & Peroni, D. G. (2017). Microbiota network and mathematic microbe mutualism in colostrum and mature milk collected in two different geographic areas: Italy versus Burundi. *The ISME journal*, 11(4), 875-884.
- Devpura, N., Jain, K., Patel, A., Joshi, C. G., & Madamwar, D. (2017). Metabolic potential and taxonomic assessment of bacterial community of an environment to chronic industrial discharge. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 123, 216-227.
- Shu, D., He, Y., Yue, H., & Wang, Q. (2016). Metagenomic and quantitative insights into microbial communities and functional genes of nitrogen and iron cycling in twelve wastewater treatment systems. *Chemical Engineering Journal*, 290, 21-30.
- Ma, B., Lyu, X. F., Zha, T., Gong, J., He, Y., & Xu, J. M. (2015). Reconstructed metagenomes reveal changes of microbial functional profiling during PAH s degradation along a rice (*O ryza sativa*) rhizosphere gradient. *Journal of applied microbiology*, 118(4), 890-900.
- Malik, A. A. Impact of Microbial Inoculation on Growth of Blue pine (*Pinus wallichiana* Jackson) and Himalayan Cypress (*Cupressus torulosa* Don) under Nursery Conditions (Doctoral dissertation).
- Maturrano, L., Valens-Vadell, M., Rossello-Mora, R., & Anton, J. (2006). *Salicola marasensis* gen. nov., sp. nov., an extremely halophilic bacterium isolated from the Maras solar salterns in Peru. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 56(7), 1685-1691.
- Mehta, S., Singh, B., Patra, A., Tripathi, A., Easwaran, M., Choudhary, J. R., ... & Aggarwal, S. K. (2021). Maize microbiome: current insights for the sustainable agriculture. In *Microbiomes and plant health* (pp. 267-297). Academic Press.
- Ari, Ş., & Arıkan, M. (2016). Next-generation sequencing: advantages, disadvantages, and future. In *Plant omics: Trends and applications* (pp. 109-135). Springer, Cham.
- Kumar, A., & Dubey, A. (2020). Rhizosphere microbiome: Engineering bacterial competitiveness for enhancing crop production. *Journal of Advanced Research*, 24, 337-352.
- Rojas Solís, D. (2020). Efecto del estrés salino sobre los componentes lipídicos de la membrana en rizobacterias y su interacción con plantas de *Solanum Lycopersicum* L.

- Purvis, A., & Hector, A. (2000). Getting the measure of biodiversity. *Nature*, 405(6783), 212-219.
- Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (2020). Biodiversidad I Biodiversidad Mexicana: ¿qué es la biodiversidad? Obtenido de <http://www.biodiversidad.gov.mx/biodiversidad/que es>
- García-Salamanca, A., Molina-Henares, M. A., van Dillewijn, P., Solano, J., Pizarro-Tobías, P., Roca, A., ... & Ramos, J. L. (2013). Bacterial diversity in the rhizosphere of maize and the surrounding carbonate-rich bulk soil. *Microbial biotechnology*, 6(1), 36-44.
- Pereira, P., Ibáñez, F., Rosenblueth, M., Etcheverry, M., & Martínez-Romero, E. (2011). Analysis of the bacterial diversity associated with the roots of maize (*Zea mays* L.) through culture-dependent and culture-independent methods. *International Scholarly Research Notices*, 2011.
- Philippot, L., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P., & Van Der Putten, W. H. (2013). Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 11(11), 789-799.
- da Silva, K. R. A., Salles, J. F., Seldin, L., & van Elsas, J. D. (2003). Application of a novel *Paenibacillus*-specific PCR-DGGE method and sequence analysis to assess the diversity of *Paenibacillus* spp. in the maize rhizosphere. *Journal of Microbiological Methods*, 54(2), 213-231.
- Gupta, R. S. (2000). The phylogeny of proteobacteria: relationships to other eubacterial phyla and eukaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(4), 367-402.
- Faheem, M., Shabbir, S., Zhao, J., G Kerr, P., Ali, S., Sultana, N., & Jia, Z. (2020). Multifunctional periphytic biofilms: polyethylene degradation and Cd²⁺ and Pb²⁺ Bioremediation under high methane scenario. *International journal of molecular sciences*, 21(15), 5331.
- Enbaia, S. S. (2019). Characterisation of the Bioremediation of Chromate by *Methylococcus capsulatus* (Doctoral dissertation, Sheffield Hallam University).
- Ipek, M., Pirlak, L., Esitken, A., Figen Dönmez, M., Turan, M., & Sahin, F. (2014). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) increase yield, growth and nutrition of strawberry under high-calcareous soil conditions. *Journal of plant nutrition*, 37(7), 990-1001.

- El-Deeb, B., Bazaid, S., Gherbawy, Y., & Elhariry, H. (2012). Characterization of endophytic bacteria associated with rose plant (*Rosa damascena trigintipeta*) during flowering stage and their plant growth promoting traits. *Journal of plant interactions*, 7(3), 248-253.
- Karakurt, H., & Aslantas, R. (2010). Effects of some plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) strains on plant growth and leaf nutrient content of apple. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 18(1), 101-110.
- Jiménez-Gómez, A., Saati-Santamaría, Z., Kostovcik, M., Rivas, R., Velázquez, E., Mateos, P. F., ... & García-Fraile, P. (2020). Selection of the Root Endophyte *Pseudomonas brassicacearum* CDVBN10 as Plant Growth Promoter for *Brassica napus* L. *Crops. Agronomy*, 10(11), 1788.
- Adhikary, A., Kumar, R., Pandir, R., Bhardwaj, P., Wusirika, R., & Kumar, S. (2019). *Pseudomonas citronellolis*; a multi-metal resistant and potential plant growth promoter against arsenic (V) stress in chickpea. *Plant Physiology and Biochemistry*, 142, 179-192.
- Fouzia, A., Allaoua, S., Hafsa, C. S., & Mostefa, G. (2015). Plant growth promoting and antagonistic traits of indigenous fluorescent *Pseudomonas* spp. isolated from wheat rhizosphere and *A. halimus* endosphere. *European scientific journal*, 11(24).
- Zhang, X., Han, L., Wang, Q., Zhang, C., Yu, Y., Tian, J., & Kong, Z. (2019). The host actin cytoskeleton channels rhizobia release and facilitates symbiosome accommodation during nodulation in *Medicago truncatula*. *New Phytologist*, 221(2), 1049-1059.
- Vargas, L. K., Volpiano, C. G., Lisboa, B. B., Giongo, A., Beneduzi, A., & Passaglia, L. M. P. (2017). Potential of rhizobia as plant growth-promoting rhizobacteria. In *Microbes for legume improvement* (pp. 153-174). Springer, Cham.
- Ejaz, S., Batool, S., Anjum, M. A., Naz, S., Qayyum, M. F., Naqqash, T., ... & Ali, S. (2020). Effects of inoculation of root-associative *Azospirillum* and *Agrobacterium* strains on growth, yield and quality of pea (*Pisum sativum* L.) grown under different nitrogen and phosphorus regimes. *Scientia Horticulturae*, 270, 109401.
- Chávez-Herrera, E., Hernández-Esquivel, A. A., Castro-Mercado, E., & García-Pineda, E. (2018). Effect of *Azospirillum brasilense* Sp245 lipopolysaccharides on wheat plant development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 37(3), 859-866.

- Gómez, M. M., Mercado, E. C., & Pineda, E. G. (2014). Azospirillum una rizobacteria con uso potencial en la agricultura. *Biológicas Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias*, 16(1), 11-18.
- Dedysh, S. N., & Damsté, J. S. S. (2018). *Acidobacteria*. eLS, 1-10.
- Kalam, S., Basu, A., Ahmad, I., Sayyed, R. Z., El Enshasy, H. A., Dailin, D. J., & Suriani, N. (2020). Recent understanding of soil Acidobacteria and their ecological significance: A critical review. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2712.
- Kielak, A. M., Cipriano, M. A., & Kuramae, E. E. (2016). Acidobacteria strains from subdivision 1 act as plant growth-promoting bacteria. *Archives of microbiology*, 198(10), 987-993.
- Kalam, S., Das, S. N., Basu, A., & Podile, A. R. (2017). Population densities of indigenous Acidobacteria change in the presence of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in rhizosphere. *Journal of basic microbiology*, 57(5), 376-385.
- Lewin, G. R., Carlos, C., Chevrette, M. G., Horn, H. A., McDonald, B. R., Stankey, R. J., ... & Currie, C. R. (2016). Evolution and ecology of Actinobacteria and their bioenergy applications. *Annual review of microbiology*, 70, 235-254.
- Kurtböke, D. I. (2017). Ecology and habitat distribution of actinobacteria. In *Biology and biotechnology of Actinobacteria* (pp. 123-149). Springer, Cham.
- van Bergeijk, D. A., Terlouw, B. R., Medema, M. H., & van Wezel, G. P. (2020). Ecology and genomics of Actinobacteria: new concepts for natural product discovery. *Nature Reviews Microbiology*, 18(10), 546-558.
- Lee, L. H., Goh, B. H., & Chan, K. G. (2020). Actinobacteria: Prolific producers of bioactive metabolites. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1612.
- Gopalakrishnan, S., Srinivas, V., Vidya, M. S., & Rathore, A. (2013). Plant growth-promoting activities of *Streptomyces* spp. in sorghum and rice. *SpringerPlus*, 2(1), 1-8.
- Dias, M. P., Bastos, M. S., Xavier, V. B., Cassel, E., Astarita, L. V., & Santarém, E. R. (2017). Plant growth and resistance promoted by *Streptomyces* spp. in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 479-493.

- Vurukonda, S. S. K. P., Giovanardi, D., & Stefani, E. (2018). Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. *International journal of molecular sciences*, 19(4), 952.
- Singh, R. N., Gaba, S., Yadav, A. N., Gaur, P., Gulati, S., Kaushik, R., & Saxena, A. K. (2016). First high-quality draft genome sequence of a plant growth promoting and cold active enzyme producing psychrotrophic *Arthrobacter agilis* strain L77. *Standards in genomic sciences*, 11(1), 1-9.
- Banerjee, S., Palit, R., Sengupta, C., & Standing, D. (2010). Stress induced phosphate solubilization by '*Arthrobacter*' Sp. And '*Bacillus*' sp. isolated from tomato rhizosphere. *Australian Journal of crop science*, 4(6), 378-383.
- Castulo-Rubio, D. Y., Alejandro-Ramírez, N. A., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., Santoyo, G., Macías-Rodríguez, L. I., & Valencia-Cantero, E. (2015). Volatile organic compounds produced by the rhizobacterium *Arthrobacter agilis* UMCV2 modulate *Sorghum bicolor* (strategy II plant) morphogenesis and *SbFRO1* transcription in vitro. *Journal of plant growth regulation*, 34(3), 611-623.
- Manzanera, M., Narváez-Reinaldo, J. J., García-Fontana, C., Vílchez, J. I., & González-López, J. (2015). Genome sequence of *Arthrobacter koreensis* 5J12A, a plant growth-promoting and desiccation-tolerant strain. *Genome Announcements*, 3(3), e00648-15.
- Xu, X., Xu, M., Zhao, Q., Xia, Y., Chen, C., & Shen, Z. (2018). Complete genome sequence of Cd (II)-resistant *Arthrobacter* sp. PGP41, a plant growth-promoting bacterium with potential in microbe-assisted phytoremediation. *Current microbiology*, 75(9), 1231-1239.
- Lapébie, P., Lombard, V., Drula, E., Terrapon, N., & Henrissat, B. (2019). Bacteroidetes use thousands of enzyme combinations to break down glycans. *Nature communications*, 10(1), 1-7.
- Kmezik, C., & Franzén, C. J. (2021). Exploring and exploiting plant biomass degradation by Bacteroidetes (Doctoral dissertation, Chalmers Tekniska Hogskola (Sweden)).
- Lidbury, I. D., Borsetto, C., Murphy, A. R., Bottrill, A., Jones, A. M., Bending, G. D., ... & Scanlan, D. J. (2021). Niche-adaptation in plant-associated Bacteroidetes favours specialisation in organic phosphorus mineralisation. *The ISME Journal*, 15(4), 1040-1055.
- Johansen, J. E., & Binnerup, S. J. (2002). Contribution of Cytophaga-like bacteria to the potential of turnover of carbon, nitrogen, and phosphorus by bacteria in the rhizosphere of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Microbial ecology*, 43(3), 298-306.

- Janssen, P. H. (2006). Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Applied and environmental microbiology*, 72(3), 1719-1728.
- DeBruyn, J. M., Nixon, L. T., Fawaz, M. N., Johnson, A. M., & Radosevich, M. (2011). Global biogeography and quantitative seasonal dynamics of Gemmatimonadetes in soil. *Applied and environmental microbiology*, 77(17), 6295-6300.
- Zeng, Y., Feng, F., Medová, H., Dean, J., & Koblížek, M. (2014). Functional type 2 photosynthetic reaction centers found in the rare bacterial phylum Gemmatimonadetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(21), 7795-7800.
- Zeng, Y., Baumbach, J., Barbosa, E. G. V., Azevedo, V., Zhang, C., & Koblížek, M. (2016). Metagenomic evidence for the presence of phototrophic Gemmatimonadetes bacteria in diverse environments. *Environmental microbiology reports*, 8(1), 139-149.
- Dunfield, P. F., Yuryev, A., Senin, P., Smirnova, A. V., Stott, M. B., Hou, S., ... & Alam, M. (2007). Methane oxidation by an extremely acidophilic bacterium of the phylum Verrucomicrobia. *Nature*, 450(7171), 879-882.
- Vavourakis, C. D., Andrei, A. S., Mehrshad, M., Ghai, R., Sorokin, D. Y., & Muyzer, G. (2018). A metagenomics roadmap to the uncultured genome diversity in hypersaline soda lake sediments. *Microbiome*, 6(1), 1-18.
- Okazaki, K., Iino, T., Kuroda, Y., Taguchi, K., Takahashi, H., Ohwada, T., ... & Ikeda, S. (2014). An assessment of the diversity of culturable bacteria from main root of sugar beet. *Microbes and environments*, 29(2), 220-223.
- Nixon, S. L., Daly, R. A., Borton, M. A., Solden, L. M., Welch, S. A., Cole, D. R., ... & Wrighton, K. C. (2019). Genome-resolved metagenomics extends the environmental distribution of the verrucomicrobia phylum to the deep terrestrial subsurface. *Mosphere*, 4(6), e00613-19.
- Wiegand, S., Jogler, M., Boedeker, C., Pinto, D., Vollmers, J., Rivas-Marín, E., ... & Jogler, C. (2020). Cultivation and functional characterization of 79 planctomycetes uncovers their unique biology. *Nature microbiology*, 5(1), 126-140.
- Peeters, S. H. & van Nifrik, L. Trending topics and open questions in anaerobic ammonium oxidation. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 49, 45-52 (2018).

- Boedeker, C., Schüler, M., Reintjes, G., Jeske, O., van Teeseling, M. C., Jogler, M., ... & Jogler, C. (2017). Determining the bacterial cell biology of Planctomycetes. *Nature communications*, 8(1), 1-14.
- Wiegand, S., Jogler, M., & Jogler, C. (2018). On the maverick Planctomycetes. *FEMS microbiology reviews*, 42(6), 739-760.