



**UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO
BIOLÓGICAS**

LABORATORIO DE BIOLOGÍA DEL DESARROLLO VEGETAL

TESIS

**Construcción y evaluación de comunidades
sintéticas de bacterias promotoras del crecimiento
vegetal**

Que presenta

L. Bt. Joseline Suhail Alejo Guerra

Para obtener el título de

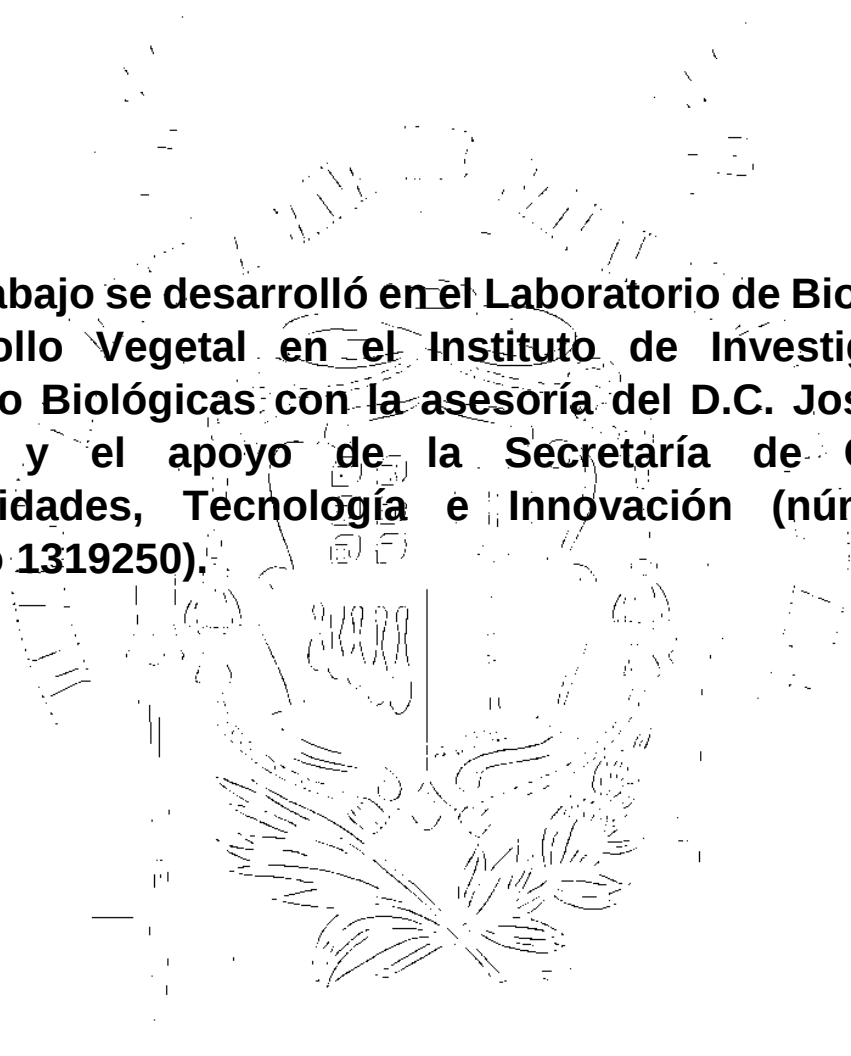
Maestra en Ciencias en Biología Experimental

Asesor

D.C. José López Bucio

Morelia, Michoacán, Noviembre 2025





Este trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Biología del Desarrollo Vegetal en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas con la asesoría del D.C. José López Bucio, y el apoyo de la Secretaría de Ciencias, Humanidades, Tecnología e Innovación (número de becario 1319250).

Agradecimientos

A mis papás, por brindarme todo lo necesario para crecer en todos los ámbitos y apoyarme incondicionalmente en cada decisión. A mis hermanos, por motivarme siempre y ser parte fundamental de mi desarrollo. A mis mascotas, Rocky, Nicky y Poli, integrantes importantes de la familia por no juzgar ni recriminar las ausencias y darme todo su cariño.

Al D.C. José López Bucio por permitirme seguir creciendo en su grupo de trabajo, apoyar este proyecto y motivarme cada vez que ha sido necesario.

A los Doctores en Ciencias integrantes de mi comité sinodal, Ernesto García Pineda, Ramón Pelagio Flores, Jesús Salvador López Bucio y Homero Reyes de la Cruz, por todas las observaciones y comentarios acertados que permitieron el desarrollo del proyecto y contribuir a la mejora de mi criterio científico.

Al M.C. Luis María Suárez Rodríguez por apoyarme en las primeras etapas de los protocolos microbiológicos y permitirme emplear equipos de su laboratorio necesarios para desarrollar el proyecto.

A mis compañeros de laboratorio, Adrián, Kirán, Pepe, Alex, Rodrigo, Itzel y Fernanda, por hacer más amenos los días de trabajo largo y ayudar cada vez que algo era necesario.

A Pedro especialmente, por ser un oído siempre dispuesto a escuchar y tener siempre palabras acertadas para animarme, felicitarme, orientarme, y ser un pilar esencial en esta etapa, estaré siempre agradecida.

ÍNDICE

RESUMEN	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. MARCO TEÓRICO.....	11
2.1. Crecimiento y desarrollo de las plantas	11
2.2. <i>Arabidopsis thaliana</i> como modelo de estudio	12
2.2.1 Sistema radicular	13
2.3. Importancia ecológica de la rizósfera.....	16
2.4. Mecanismos de formación de comunidades bacterianas.....	18
2.5. Señalización planta - bacteria	18
2.5.1. Colonización	19
2.6. Beneficios del microbioma para las plantas	20
2.7. Principales fitohormonas reguladoras del crecimiento vegetal.....	21
2.7.1. Hormonas que participan en el desarrollo	21
2.7.2. Hormonas que participan en la defensa	22
2.8. Mecanismos de mecanismoa.....	24
2.9. Adquisición de nutrientes	25
2.10. Resistencia a enfermedades.....	25
2.11. Tolerancia al estrés.....	26
3. ANTECEDENTES	27
3.1. Comunidades bacterianas sintéticas.....	27
3.2. Comunidades sintéticas en agricultura	28
3.3. Bases para el diseño de comunidades sintéticas.....	29
3.4. <i>Achromobacter</i> sp. 5B1.....	30
3.5. <i>Bacillus</i> sp.....	31
3.6. <i>Micrococcus luteus</i>	33
3.7. <i>Pseudomonas brassicae</i>	35
4. JUSTIFICACIÓN	37
5. HIPÓTESIS	37
6. OBJETIVO GENERAL.....	38

6.1. Objetivos específicos	38
7. MATERIALES Y MÉTODOS	39
7.1. Material vegetal y condiciones de crecimiento	39
7.2. Cepas de bacterias	39
7.3. Estudios de compatibilidad de las cepas bacterianas	40
7.4. Formación de las comunidades sintéticas.....	40
7.5. Establecimiento de la interacción planta-comunidad sintética	41
7.6. Análisis de crecimiento de la planta	41
7.7. Análisis histoquímico de la expresión de GUS.....	41
7.8. Tinción con yoduro de propidio	42
7.9. Análisis estadístico.....	42
8. RESULTADOS	43
8.1. Confrontación de bacterias	44
8.2. Establecimiento de consorcios.....	45
8.3. Relación de la actividad mitótica del meristemo y las comunidades sintéticas	48
8.4. Análisis del efecto de las comunidades bacterianas construidas sobre la respuesta a auxinas	49
8.5. La actividad de las citocininas se modifica con la presencia de los consorcios bacterianos	50
8.6. Genes relacionados con la respuesta de defensa se activan con la presencia de las inoculaciones	51
8.7. La expresión del gen que codifica para el transportador de fosfato de alta afinidad <i>AtPT2</i> se modifica en función de los componentes de los consorcios	53
8.8. Las comunidades sintéticas influyen en el desarrollo de la planta en sustrato artificial	55
9. DISCUSIÓN	60
10. CONCLUSIONES.....	63
11. REFERENCIAS	64

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de <i>Arabidopsis thaliana</i>	13
Figura 2. Distribución tisular en la punta de la raíz de <i>Arabidopsis</i>	15
Figura 3. Interacción entre <i>Achromobacter</i> sp. 5B1 y <i>Arabidopsis thaliana</i>	31
Figura 4. Respuesta de <i>Arabidopsis</i> a <i>Bacillus</i> sp. LC390B	33
Figura 5. Interacción <i>Arabidopsis</i> – <i>M. luteus</i> LS570	34
Figura 6. Efecto de <i>P. brassicae</i> H4-45 sobre <i>Arabidopsis thaliana</i>	36
Figura 7. Efecto de los aislados bacterianos individuales sobre <i>Arabidopsis thaliana</i>	43
Figura 8. Confrontación de bacterias PGPR	50
Figura 9. Efecto de las comunidades sintéticas sobre <i>Arabidopsis</i>	46
Figura 10. Análisis de la producción de biomasa fresca	47
Figura 11. Efecto de las comunidades sintéticas en la expresión de <i>CYCB1:GUS</i>	49
Figura 12. Análisis histoquímico de la expresión del gen reportero <i>DR5:GUS</i>	50
Figura 13. Expresión del gen reportero <i>ARR5:GUS</i> en diferentes zonas de la planta	51
Figura 14. Expresión del gen reportero <i>JAZ1:GUS</i> involucrado en la respuesta de la defensa en plantas	52
Figura 15. Uso de microscopía confocal para observar la expresión del transgen <i>JAZ10:GFP</i>	53
Figura 16. Expresión de <i>AtPT2:GUS</i>	54
Figura 17. Análisis del diámetro de la roseta de <i>Arabidopsis</i>	56
Figura 18. Efecto de las comunidades sintéticas en el desarrollo vegetativo y reproductivo de <i>Arabidopsis</i>	57
Figura 19. Análisis del efecto de las comunidades sintéticas en el rendimiento	59

RESUMEN

La necesidad de incrementar la producción agrícola aumenta año con año, razón por la que se ha buscado alternativas que sean de bajo impacto ambiental. Una de estas herramientas ha sido la aplicación de microorganismos benéficos en el suelo. En las últimas décadas se han dedicado bastantes recursos a la investigación de las interacciones planta-bacteria y, recientemente, a la conformación de comunidades sintéticas. Hasta el momento existe poca información que permita entender los mecanismos de acción de dos o más cepas en consorcio, por lo que el objetivo de este trabajo fue construir comunidades sintéticas con *Achromobacter* sp. 5B1, *Bacillus* sp. LC390B, *Micrococcus luteus* LS570 y *Pseudomonas brassicae* H4-45 y evaluar la respuesta de *Arabidopsis thaliana* en su desarrollo.

Se emplearon líneas transgénicas de *Arabidopsis* que permiten analizar con marcadores que reportan la estimulación de diferentes vías hormonales como *DR5:GUS*, *ARR5:GUS*, *CYCB1:GUS*, *JAZ1:GUS* y *JAZ10:GFP*. Se observó que algunas combinaciones de las bacterias estimulan la señalización por auxinas y citocininas mientras que otras combinaciones estimulan la activación de la defensa mediante la señalización por ácido jasmónico. Se evaluó la producción de biomasa y semillas, así, la comunidad sintética que contiene bacterias provenientes de ambientes con características similares incrementa estos parámetros. Se concluye que es importante conocer el origen de las bacterias y los mecanismos mediante los cuales actúan para poder establecer una comunidad sintética funcional.

Palabras clave: interacción planta-bacteria, comunidades sintéticas, PGPR, *Achromobacter* sp. 5B1, *Bacillus* sp. LC390B, *Micrococcus luteus* LS570, *Pseudomonas brassicae* H4-45.

ABSTRACT

The need to increase agricultural production grows each year, driving the search for cost-effective, low impact alternatives. One of these tools is the use of beneficial soil microorganisms. In recent decades, considerable resources have been invested to research in plant–bacteria interactions. Until now, there is little information on the actions of synthetic communities and formation criteria. This work aimed to create synthetic communities using *Achromobacter* sp. 5B1, *Bacillus* sp. LC390B, *Micrococcus luteus* LS570, and *Pseudomonas brassicae* H4-45 and evaluate the response of *Arabidopsis thaliana*.

Arabidopsis lines were used to assess different hormone responses such as *DR5:GUS*, *ARR5:GUS*, *CYCB1:GUS*, *JAZ1:GUS*, and *JAZ10:GFP*. Some bacterial combinations stimulate auxin and cytokinin signaling, while others stimulate defense activation via jasmonic acid signaling. Biomass and seed production were evaluated, and it was observed that the synthetic community formed with bacteria from regions with similar origin increases these parameters. Thus, understanding the origin of the bacteria and the biological processes through which they act is important for establishing a functional synthetic community.

Keywords: plant–bacteria interactions, synthetic communities, PGPR, *Achromobacter* sp. 5B1, *Bacillus* sp. LC390B, *Micrococcus luteus* LS570, *Pseudomonas brassicae* H4-45.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores retos de la agricultura es abastecer la demanda alimenticia de los más de 8000 millones de personas que habitamos el planeta, en tanto, la extensión de los campos de cultivo disminuye. En los suelos agrícolas se aplican pesticidas y fertilizantes para incrementar la productividad, lo que provoca efectos secundarios en el medio ambiente y en la salud del ser humano, así como grandes inversiones económicas (Eijsackers *et al.*, 2005; Haverkort *et al.*, 2008).

El suelo fértil alberga múltiples formas de vida, como bacterias, hongos, algas, protozoos, e insectos que mantienen el equilibrio biótico del suelo, lo airean, le brindan estructura y contribuyen con la absorción y reciclaje de nutrientes. Uno de los descubrimientos más relevantes en las interacciones planta-microorganismo ha sido la influencia que tienen los microbiomas sobre el desarrollo de organismos eucariotas, como el microbioma asociado a la raíz de las plantas (Berendsen *et al.*, 2018). La concentración de estos microorganismos es mayor en la zona del suelo que rodea a la raíz conocida como rizósfera, la cual es rica en compuestos nutritivos como ácidos orgánicos, aminoácidos y azúcares, que contribuyen con el desarrollo de los microorganismos que, a cambio, brindan ventajas a las plantas.

Se han descrito bacterias benéficas conocidas como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR: *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) debido a las ventajas que otorgan a la planta que colonizan. Estos microorganismos pueden encontrarse en relaciones simbióticas o en vida libre y atenúan el impacto del agobio ambiental; mejoran la absorción de nutrientes e influyen en la organogénesis mediante la producción de fitohormonas, compuestos volátiles y metabolitos secundarios (Vorholt *et al.*, 2012; Vacheron *et al.*, 2013; Verbon y Liberman, 2016). En este punto se introduce el concepto de organismo holobionte, es decir, aquel que cuenta con un microbioma que extiende sus capacidades (Lundberg *et al.*, 2012), y que se adapta con mayor eficiencia al agobio ambiental.

El uso de microorganismos promotores del crecimiento vegetal se vislumbra como una alternativa al uso de pesticidas y fertilizantes, disminuyendo el impacto ambiental y los efectos en la salud humana (Adesemoye y Kloepper, 2009; Calvo *et*

al., 2014; Ravanbakhsh *et al.*, 2018). Algunos de los géneros de PGPR mejor conocidos son *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Klebsiella*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Achromobacter*, entre otros.

Recientemente, se han caracterizado algunas rizobacterias como promotoras del crecimiento vegetal en el Laboratorio de Biología del Desarrollo Vegetal, incluyendo reportes sobre *Achromobacter* sp. 5B1, *Bacillus* sp. LC390B, *Micrococcus luteus* LS570 y *Pseudomonas brassicae* H4-45, las cuales presentan diferentes mecanismos de estimulación del crecimiento y comparten algunos otros. Lo interesante es que son bacterias aisladas de regiones geográficas distintas con condiciones ambientales diferentes (Jiménez-Vázquez *et al.*, 2020; García-Cárdenas *et al.*, 2022; 2023; López-Hernández *et al.*, 2023).

Gran parte de los estudios existentes sobre bacterias benéficas implican el uso de aislados bacterianos individuales, y el reto de analizar comunidades se ha empezado a solventar con la secuenciación de genomas de aislados específicos y su posicionamiento taxonómico, ya que así se brinda información sobre las interacciones bacteria-bacteria, planta-bacteria y bacteria-ambiente. En la actualidad podemos encontrar una gran variación entre los modelos biológicos de estudio que se han empleado para analizar las comunidades, pues se ha empleado desde *Arabidopsis*, un modelo de laboratorio, hasta especies más relevantes en el sector económico y agrícola como el jitomate, el maíz y el pimiento verde (Vílchez *et al.*, 2016).

El estudio de comunidades sintéticas permite determinar cuáles son las condiciones en las que se puede establecer relación entre dos o más especies bacterianas y una planta. Estos sistemas brindan información ecológica sobre las interacciones, sus funciones y propiedades, y la posible respuesta vegetal. La aproximación *in vitro* de bacterias permite conocer qué elementos pueden ser candidatos a formar parte de una misma comunidad con potencial de promover el crecimiento vegetal (Großkopf y Soyer, 2014; Herrera Paredes *et al.*, 2018). En este proyecto de investigación evaluaremos cómo es que consorcios artificiales de bacterias

promotoras del crecimiento vegetal provenientes de diferentes sitios con condiciones ambientales distintas afectan el desarrollo de *Arabidopsis thaliana*.

2. MARCO TEORICO

2.1. Crecimiento y desarrollo de las plantas

Existen diversas descripciones para el concepto de crecimiento que dependen del contexto de espacio, tiempo y escala de referencia, en este trabajo se define como crecimiento vegetal a la elongación longitudinal y aumento en volumen de órganos (raíces, tallos, hojas) y, al balance entre el incremento reversible e irreversible de células, biomasa, volumen o la combinación de estos, resultante de la fotosíntesis y la interacción con estímulos internos y externos de la planta como temperatura, intensidad de luz, calidad de la luz, humedad, concentración de CO₂ en el aire, velocidad del viento, nutrientes y entorno edáfico. Algunos de estos factores pueden modificar la fotosíntesis y otros afectan directamente la morfología vegetal (Kubota, 2016). Existen estudios que evidencian cómo influye la luz en el desarrollo de las plántulas, que existe variación debida al entorno en procesos como el paso de la etapa vegetativa a la reproductiva, el tiempo de floración, la dormancia e incluso la germinación (Nemhauser, 2008; Andres y Coupland, 2012). Las plantas tienden a priorizar el ahorro de energía, por lo que durante su desarrollo una vez que se llega a la etapa de floración los procesos involucrados en la reproducción se favorecen sobre la defensa (Winter *et al.*, 2011).

El crecimiento comienza con la proliferación celular, lo cual ocurre en los meristemos tanto radicales como foliares, donde las células primero se dividen, después atraviesan un proceso de elongación y posteriormente se diferencian. Los meristemos se convierten entonces en una fuente continua de células nuevas, lo que resulta en el crecimiento indeterminado vegetal. La biomasa puede distribuirse entre crecimiento, defensa y almacenamiento; una gran parte se encuentra entre los componentes estructurales de las plantas como celulosa y lignina en las paredes celulares, y otra parte se encuentra en carbohidratos como amortiguador de los cambios ambientales (Stitt y Zeeman, 2012).

2.2. *Arabidopsis thaliana* como modelo de estudio

Arabidopsis thaliana es una planta que, aunque carece de importancia agroeconómica, es un modelo biológico ideal para comprender fenómenos fisiológicos, bioquímicos, genéticos y moleculares. Su genoma, completamente secuenciado, contiene alrededor de 30,000 genes distribuidos en 5 cromosomas y múltiples estudios han permitido la integración de colecciones de germoplasma con líneas mutantes, así como aquellas que portan genes reporteros, como GUS y GFP, que facilitan el análisis de la expresión de genes en tejidos específicos y permiten estudiar la respuesta a diversos estímulos en tiempo real (Farrel y Beachy, 1990; Koornneef y Meinke, 2010; Krämer, 2015).

El follaje de *Arabidopsis* consta de una roseta de aproximadamente 4 cm de diámetro, en donde brotan del centro los tallos florales que llegan a alcanzar 30 cm de altura en su etapa adulta, su ciclo puede durar 6 a 8 semanas desde la germinación hasta la producción de semilla (**Figura 1**), la cual puede considerarse alta, ya que de una planta pueden llegar a colectarse hasta 10,000 semillas, y efectiva debido a su autopolinización (Meinke *et al.*, 1998; Pang y Meyerowitz, 1987).

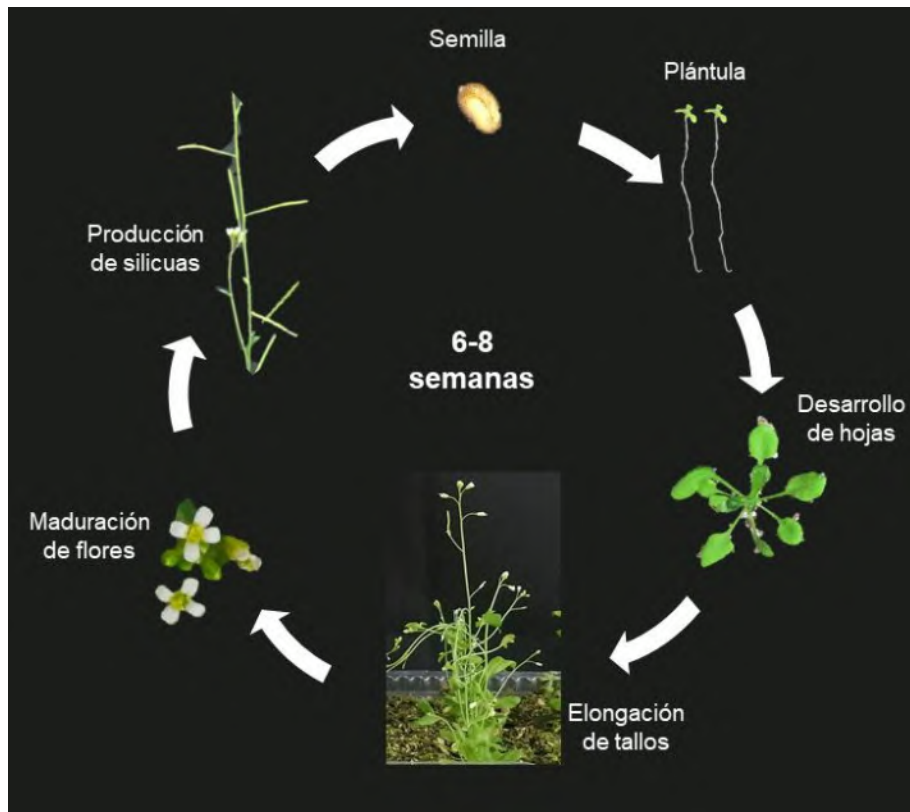


Figura 1. El ciclo de vida de *Arabidopsis thaliana*. El ciclo tarda de 6 a 8 semanas comenzando con la germinación a los dos días después de la siembra, el desarrollo vegetativo en donde se producen tejidos fotosintéticos y acumula biomasa como hojas y tallos durante las primeras 3-4 semanas, posteriormente llega la etapa reproductiva con la producción de flores y la maduración de sus órganos sexuales en la semana 5-6 y finalmente la aparición de frutos y producción de semilla en las semanas 6-8.

2.2.1 Sistema radicular

El sistema radicular de *Arabidopsis* está conformado por la raíz primaria, raíces laterales y raíces adventicias, todas de organización similar. Desempeña funciones específicas y de gran importancia como el sostén del tejido aéreo, la absorción y distribución del agua y los nutrientes tomados del suelo hacia el resto de los tejidos. Adicionalmente juega un papel importante en el establecimiento de relaciones bióticas en la rizósfera, volviéndose así un órgano vital para el crecimiento y desarrollo. En la punta de la raíz primaria se encuentra el meristemo apical que se establece durante la embriogénesis y se encarga de la producción de células. En esta zona se encuentra un conjunto de células madre pluripotentes que rodean al centro quiescente, el cual es un grupo de células con menor actividad mitótica.

Las células situadas en la parte superior del centro quiescente formarán el tejido vascular, endodermis, córtex, epidermis y la cofia lateral; mientras que las células iniciales situadas por debajo del centro quiescente dan lugar a las diferentes capas de la columnela de la cofia que se encuentran distribuidas longitudinalmente (**Figura 2**) (Schiefelbein y Benfey, 1991; López-Bucio *et al.*, 2003; Petricka *et al.*, 2012).

La formación de las raíces laterales ocurre a partir de las células del periciclo adyacentes a los haces vasculares. La ramificación de la raíz extiende el área de absorción y los pelos radiculares que se forman incrementa la superficie total en contacto con el sustrato. Su distribución espacial puede verse modificada por factores internos y externos, como la disponibilidad de agua y nutrientes, principalmente de nitrógeno y fósforo que son dos elementos muy importantes para la agricultura. Los cambios en el sistema radicular proporcionan a la planta la capacidad de adaptarse a diversas perturbaciones ambientales (López-Bucio *et al.*, 2003; Malamy, 2005; Yamoune *et al.*, 2021).

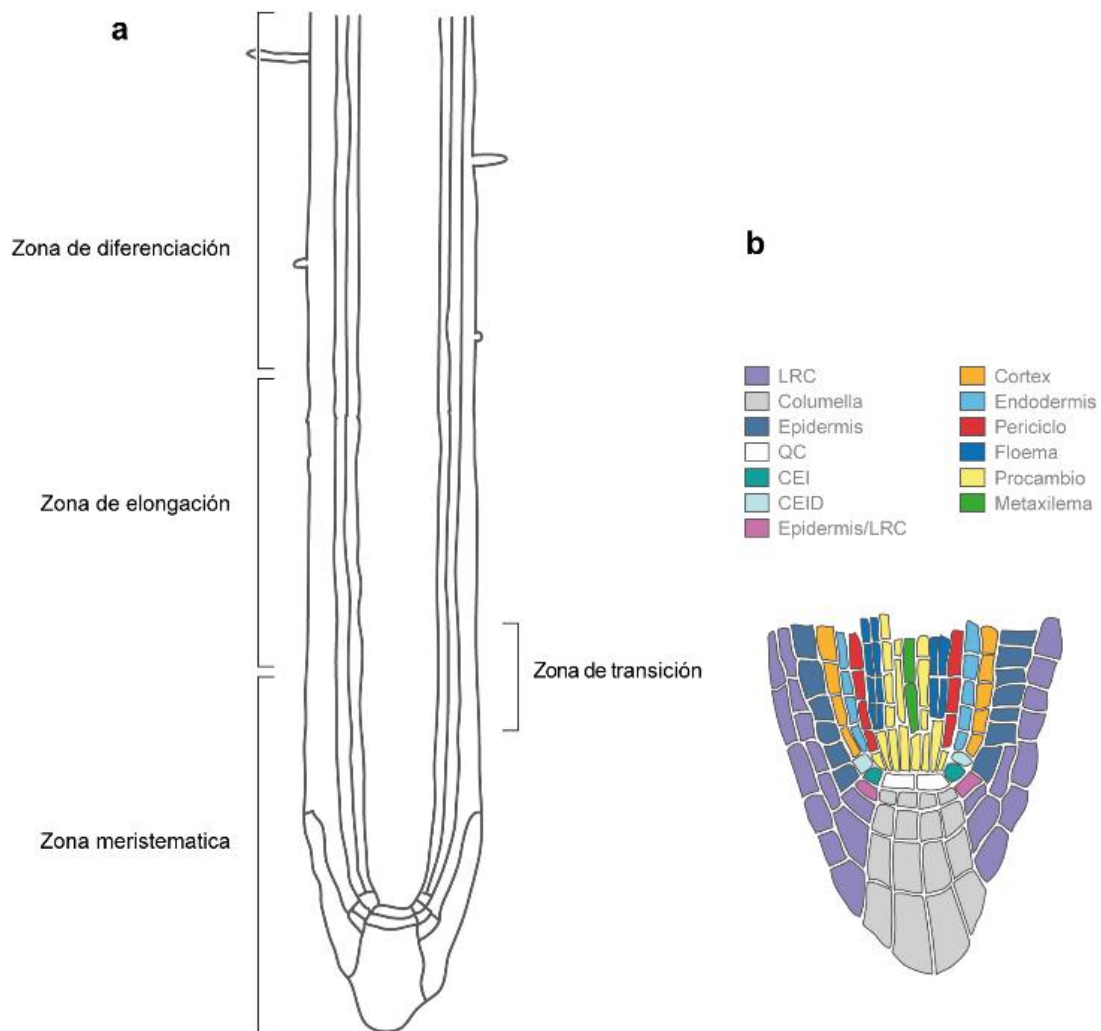


Figura 2. Distribución tisular en la punta de la raíz de *Arabidopsis*. La punta de las raíces de *Arabidopsis* contiene el meristemo donde se lleva a cabo el proceso de proliferación celular que da lugar al crecimiento de este órgano. Se diferencia en 4 zonas marcadas en **a)**, y en **b)** se observa un acercamiento de la zona meristemática donde se muestran en diferentes colores la estratificación celular (Modificado de Petricka *et al.*, 2012).

La actividad de las fitohormonas y la concentración de carbohidratos son determinantes para el desarrollo del sistema radicular. Los fotosintatos se distribuyen del tejido aéreo hacia la raíz a través del floema e incluyen sacarosa, glucosa y fructosa, y funcionan tanto como fuente de energía y como moléculas de señalización para la formación de raíces laterales (Gibson, 2004; Hammond y White, 2008; Mishra *et al.*, 2009). Diversos estudios que han permitido avanzar nuestro conocimiento sobre el crecimiento y desarrollo vegetal, así como las respuestas de

las plantas ante las condiciones ambientales cambiantes se han realizado utilizando a *Arabidopsis thaliana*. A continuación, se profundiza en los mecanismos que participan en el crecimiento y desarrollo con un enfoque en aquellos que regulan la interacción con bacterias benéficas.

2.3. Importancia ecológica de la rizósfera

Las interacciones microbianas con las plantas ocurren principalmente en la raíz, promovido por la exudación de múltiples compuestos que se concentran en la región del suelo circundante, la rizósfera, e impactan directamente sobre el microbioma. Es por esta razón que las comunidades microbianas en esta zona presentan mayor diversidad, y funcionalidad (Shayanthan *et al.*, 2022).

En la rizosfera se encuentra uno de los ecosistemas más interactivos, por lo que es importante conocer su ecología y las dinámicas que aquí ocurren para desarrollar prácticas agrícolas sostenibles. Esta región se ha dividido en tres zonas: 1) Endorizosfera, es el tejido de la raíz que incluye la endodermis y las capas corticales, 2) Rizoplasma, superficie de la raíz en donde partículas bacterianas y del suelo se adhieren, incluye epidermis, cortex y células secretoras de mucílago y, 3) Ectorizósfera, que es el suelo adyacente a la raíz (Clark, 1949; Lynch, 1987; Pinton *et al.*, 2000; Marschner, 2012).

Desde la germinación, las raíces secretan metabolitos por exudación, o deposición, lo que permite que las bacterias proliferen en esta zona y que su población sea mucho mayor en comparación con el resto del suelo, a esto se le conoce como efecto de la planta o efecto de la rizósfera y es evidente cuando se compara la riqueza microbiana entre suelos cultivados y no cultivados (Antoun y Prevost, 2005). La presencia de los protozoos en la rizósfera también es importante, pues son cruciales para el reciclaje de nutrientes y el establecimiento de poblaciones benéficas. Se estima que en esta zona hay 35 veces más protozoos y 50 veces más bacterias y hongos que en el resto del suelo, aunque también existen otros organismos como nemátodos, algas y micro artrópodos (Jeffery *et al.*, 2010). Las bacterias son los microorganismos más abundantes, se estima que el 15% de la

superficie de la raíz se encuentra colonizado por especies de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Mycobacterium*, *Flavobacter*, *Cellulomonas* y *Micrococcus*.

Los compuestos orgánicos liberados por las raíces hacia su entorno circundante pueden incluir iones inorgánicos, células muertas y gases como CO₂ y etileno. Esto puede comprender del 15 al 60% del total de los fotosintatos de la planta y encabeza las reservas de carbono y energía de la rizósfera para la microbiota (Curl y Truelove 1986; Lynch y Whipps 1990). La composición química de la rizodeposición es muy compleja y varía según los procesos de las etapas de vida de las plantas, así como con los cambios ambientales, no obstante, la permanencia de estos compuestos en la rizósfera se debe a sus propiedades químicas, su estabilidad y el volumen de suelo con el que tienen contacto, ya que pueden sufrir modificaciones y perder algunas de sus propiedades como resultado de procesos como biodegradación, adsorción, y volatilización (Nannipieri *et al.*, 2007).

La exudación le permite a la planta protegerse de ciertos procesos como la fricción con las partículas de suelo, reducir el riesgo de deshidratación y brinda estabilidad estructural. No solo se encuentran compuestos carbonados en la rizósfera, sino que también existen nitratos, iones de amonio y aminoácidos. La exudación está estrechamente relacionada con el estado de salud de la planta, ya que la cantidad y calidad de estos puede modificar la diversidad de bacterias, la arquitectura de la raíz, la disponibilidad de nutrientes y la persistencia de algunos patógenos. Por su parte, los microorganismos influyen sobre los procesos de exudación de las raíces (Barea, 2000; Paterson *et al.*, 2007). Dado que el suelo, en este contexto, es el medio de cultivo para las bacterias y las plantas, ciertas características son importantes al momento de estudiar la diversidad y el establecimiento bacteriano, como el pH, la salinidad, la textura, el contenido de materia orgánica, la concentración de nutrientes, los efectos estacionales y algunas prácticas, como el tipo de irrigación, la labranza, el cultivo, la aplicación de fertilizantes y pesticidas, así como la reincorporación de residuos (Grayston *et al.*, 1998; MacDonald *et al.*, 2004; Ibekwe *et al.*, 2010).

2.4. Mecanismos de formación de comunidades bacterianas

Como ya se ha mencionado, la diversidad bacteriana en la rizósfera se debe a múltiples factores. En estudios genéticos se ha encontrado que las bacterias asociadas a plantas poseen genes para mecanismos interespecíficos e intraespecíficos de competencia, tal como la producción de antibióticos, y también la resistencia a estos metabolitos que, en conjunto pueden modificar y/o controlar la diversidad de los grupos microbianos circundantes (Berendsen *et al.*, 2018; Blair *et al.*, 2018; Helfrich *et al.*, 2018).

Un mecanismo de interacción entre bacterias bastante estudiado es el quorum sensing. Este actúa a través de moléculas de señalización como las *L*-acil-homoserina lactonas. Diferentes géneros bacterianos pueden secretar la misma molécula de señalización, pero esta puede actuar permitiendo o inhibiendo la ejecución del quorum. Este mecanismo de comunicación no solo funciona en la relación bacteria – bacteria, sino que sobrepasa los límites entre reinos. Cuando las plantas detectan *L*-acil-homoserina lactonas se modifica el metabolismo, la respuesta inmune y el desarrollo de la raíz. Aproximadamente el 45% de las bacterias aisladas del entorno de plantas manifiestan actividad de quorum-sensing (Rutherford y Bassler, 2012; Blair *et al.*, 2018).

2.5. Señalización planta - bacteria

La comunicación entre reinos ocurre mediante la producción de terpenos, moléculas volátiles con diversas funciones biológicas, así como la producción de carotenoides, los cuales funcionan como defensa química ante el ataque de herbívoros y algunos patógenos. Existen dos tipos de respuesta ante la colonización microbiana, la respuesta local se manifiesta con la exudación de metabolitos de la raíz, mientras que la respuesta sistémica implica la comunicación de micro hábitats que no se encuentran en contacto en la rizósfera (Blair *et al.*, 2018; Chagas *et al.*, 2018; Korenblum *et al.*, 2020).

2.5.1. Colonización

En la asociación entre el microbioma y la planta intervienen varios factores como las interacciones entre las especies, el ambiente y el hospedero. Las primeras relaciones son transmitidas de los progenitores hacia las semillas y, posteriormente, colonizan tejidos que se encuentran bajo tierra (Shade *et al.*, 2017). El microbioma de la raíz se modifica en función de la etapa del ciclo de vida y de las perturbaciones ambientales que se presenten. La composición de los microbiomas es dinámica durante la etapa vegetativa y al llegar la fase reproductiva esta tiende a estabilizarse (Mandyam *et al.*, 2013; Torres-Cortés *et al.*, 2018; Wei *et al.*, 2019). Los microorganismos manifiestan distintos grados de supervivencia, tolerancia a algunos tipos de estrés y efectos benéficos para sus hospederos. Algunas características como la tolerancia a enfermedades o a la sequía pueden heredarse, lo que enfatiza la importancia de la relación entre la genética de la planta hospedera y su microbioma (Gehring *et al.*, 2017; Tian *et al.*, 2017).

La colonización empieza cuando las bacterias detectan moléculas de señalización exudadas por las plantas, luego los microorganismos se trasladan con ayuda de sus flagelos y, posteriormente se adhieren a la superficie de la raíz para formar una biopelícula (Delmotte *et al.*, 2009; Levy *et al.*, 2018). El sistema inmune de la planta es un filtro que los microorganismos deben evadir exitosamente para concretar la colonización. La detección de flagelina, lipopolisacáridos, quitina y algunos péptidos que se consideran Patrones Moleculares Asociados a Microorganismos (MAMPs, por sus siglas en inglés – Microorganism-Associated Molecular Patterns) (Hammond y White; 2008) fortalecen la inmunidad. Su detección estimula la generación de especies reactivas de oxígeno, la activación de cinasas activadas por mitógenos (MAPKs, Mitogen-Activated Protein Kinases) y la inducción de las vías de señalización del ácido salicílico y el ácido jasmónico. Para que las bacterias puedan evadir el sistema inmune, estas secretan proteínas efectoras que funcionan como camuflaje contra la defensa. Se sugiere que otro mecanismo para evadir la defensa de la planta sea el desplazamiento del sitio inicial de colonización después de activar la defensa (Jones y Dangl, 2006; McCann *et al.*, 2017).

La colonización se considera exitosa cuando las bacterias logran establecerse en alguna de las capas de la rizósfera, esto incluye el crecimiento bacteriano en el rizoplasma y/o en las capas de suelo adyacente a la raíz. Las cepas bacterianas predominantes tienden a ser aquellas que cuentan con un sistema de colonización efectivo y un metabolismo versátil para competir con otros organismos sin causar daño a la raíz (Kloepper *et al.*, 1991; Kloepper *et al.*, 1999; Liu *et al.*, 2024).

La microbiota de la rizósfera actúa como un intermediario entre la planta y el medio ambiente que la rodea. Incide desde la nutrición hasta la susceptibilidad ante enfermedades y patógenos (Shetty *et al.*, 1994; Weishuang *et al.*, 2009). Las especies que afectan negativamente se denominan deletéreas mientras que aquellas que benefician a la planta se nombran rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal.

2.6. Beneficios del microbioma para las plantas

La rizósfera es la región del suelo que se encuentra rodeando a la raíz, se le ha atribuido gran importancia debido a que ahí se encuentra el microbioma vegetal (Garbeva *et al.*, 2008). Las PGPR actúan mediante mecanismos directos que implican la producción de fitohormonas que promueven el crecimiento vegetal (Kang *et al.*, 2014), o bien, a través de mecanismos indirectos que pueden incluir el antagonismo de patógenos mediante la producción de sideróforos, bacteriocinas, antibióticos, enzimas líticas, lipopéptidos y metabolitos antifúngicos (Mohamed *et al.*, 2017; Molina-Romero *et al.*, 2015). La diversidad de las comunidades bacterianas que colonizan la rizósfera puede verse modificada por los compuestos exudados por las raíces, de manera que esto contribuye a mantener a aquellos que brindan beneficios; el genotipo vegetal también contribuye al establecimiento del microbioma (Shayanathan *et al.*, 2022).

2.7. Principales fitohormonas reguladoras del crecimiento vegetal

Desde mediados de los años noventa del siglo pasado se determinó la importancia de las fitohormonas como reguladores del crecimiento al igual que la sensibilidad específica que presentan los diferentes tejidos vegetales. Estas moléculas ejercen efectos a concentraciones nano y micro molares, además participan en la dinámica adaptativa al entorno tanto biótico como abiótico debido a que las plantas son incapaces de desplazarse como lo hacen los animales (Gaspar *et al.*, 1996; Maekawa *et al.*, 2006; Verma *et al.*, 2016). Las fitohormonas producidas por las plantas incluyen las auxinas, giberelinas (GA), citocininas (CK), ácido abscísico (ABA), ácido jasmónico (JA), etileno (ET), ácido salicílico (SA), brasinosteroides (BR) y estrigolactonas (SL). Cada grupo tiene una participación en diferentes procesos durante el ciclo de vida de la planta y, sin embargo, la interacción entre ellos es importante para su desarrollo (Verma *et al.*, 2016).

2.7.1. Hormonas que participan en el desarrollo

2.7.1.1. Auxinas

Las auxinas son el grupo de fitohormonas que ha sido más estudiado. Su principal precursor es el *L*-Tryptófano producido en los cloroplastos a través de la ruta del shikimato (Maeda y Dudareva, 2012). Participan en múltiples procesos como la respuesta a la luz y la gravedad, la formación de órganos, el desarrollo vascular, la dominancia apical en raíz y follaje, la división y elongación celular. Las auxinas modulan el crecimiento de la raíz primaria, así como la formación y desarrollo de raíces laterales, a través de componentes del ciclo celular (Seo *et al.*, 2021).

El transporte de auxinas en la raíz contribuye a la conformación del centro quiescente y el establecimiento de las zonas de elongación y diferenciación a medida que las nuevas células se van generando. La interrupción del transporte provoca reducción del crecimiento de la raíz debido a que las zonas antes mencionadas disminuyen su tamaño y disminuye el brote de raíces laterales (Kepinski y Leyser, 2005; Woodward y Bartel, 2005; Teale *et al.*, 2006; Rahman *et al.*, 2007; Benjamins y Scheres, 2008; Malamy, 2010; Woedars y Bartel, 2018).

Todos estos procesos están mediados por una proteína F-box que implica la percepción de la señal auxínica, TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE1 (TIR1), que recibe la señal y desencadena una cascada de señalización de respuesta a las auxinas (Watanabe *et al.*, 2017; Leyser, 2018).

2.7.1.2. Citocininas

Las citocininas están involucradas en la senescencia de las hojas, la dominancia apical, la filotaxia, la señalización nutricional y la producción de raíces. Estas hormonas se producen en el tejido radicular y en el follaje. La ausencia de estas hormonas se ve manifestada con una reducción del desarrollo de la parte aérea y un incremento de la masa radicular, en cambio, con su aplicación exógena se observa una raíz de tamaño reducido, afectación de la formación de raíces laterales y un incremento en el desarrollo de los tejidos aéreos. Las citocininas están ampliamente involucradas en la regulación del ciclo celular, percepción de estímulos externos y la respuesta de la planta. A su vez, se ha descrito que algunos genes de biosíntesis de citocininas se regulan con la aplicación de nitrato, sulfato y fosfato (Miyawaki *et al.*, 2006; Hirose *et al.*, 2008).

2.7.2. Hormonas que participan en la defensa

2.7.2.1. Ácido salicílico

Esta fitohormona se sintetiza en plantas a partir del corismato por la ruta de shikimato en cloroplastos como respuesta al ataque de fitopatógenos, y su producción es indispensable para la protección a través de la resistencia sistémica adquirida contra organismos biotróficos y hemibiotróficos (Mishra y Baek, 2021). Las células reconocen los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), como la flagelina de las bacterias, que activa las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK) que inducen la expresión de los genes de defensa, sin embargo, reprimen genes involucrados en el crecimiento (Loake y Grant, 2007; Zhong *et al.*, 2021).

2.7.2.2. Ácido jasmónico

El ácido jasmónico juega un papel importante como molécula de señalización en múltiples procesos, como germinación, crecimiento, desarrollo de los estambres y senescencia. Los derivados de esta molécula se denominan jasmonatos y provienen de lípidos, como el ácido linoleico, mediante procesos oxidativos, por lo tanto, se consideran oxilipinas (Demole *et al.*, 1962). La señal del ácido jasmónico activa la expresión de factores de transcripción claves para regeneración de tejidos por daños de insectos y patógenos necrotróficos (Gamalero y Glick, 2011; Wasternack y Hause, 2013; Song *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2022).

Durante los miles de años de coexistencia con herbívoros, los vegetales han desarrollado mecanismos de defensa que les permitan sobrevivir ante el ataque de diversos organismos. Estos se dividen inicialmente en dos categorías, defensa preformada o constitutiva y defensa inducida. La primera categoría se refiere a las características físicas y químicas con las que el insecto tendría una primera barrera, mientras que la defensa inducida incluye todos los mecanismos que son activados cuando se detecta un ataque. Aunque las barreras preformadas pueden incrementarse con la presencia de insectos, ha sido de mayor interés la defensa inducida por el costo energético que implica para la planta y la especificidad de estos mecanismos. La defensa inducida consiste básicamente en 3 pasos, percepción, transducción de señales, y producción de moléculas bioactivas con función de protección (Dicke y van Poecke, 2002; Kessler y Baldwin, 2002; Ferry *et al.*, 2004; Dangl y McDowell, 2006; Han, 2019).

Se han planteado un par de teorías de cómo las plantas reconocen a los patógenos. Una de estas que ha sido ampliamente aceptada sobre la resistencia a enfermedades es aquella denominada “gen por gen”, que establece que la resistencia a la enfermedad es activada solo si el producto proteínico de un gen de “Resistencia” (R) en la planta reconoce a una proteína codificada por un gen de “Avirulencia” (Avr) del patógeno. Los microorganismos se encuentran evolucionando constantemente de manera que logran desarrollar genes Avr que la proteína R no haya identificado antes, de esta manera sobrepasan el sistema de detección de los genes de resistencia (Flor, 1956; Liu *et al.*, 2024).

Arabidopsis posee un sistema de defensa efectivo contra herbivoría, una vez que se reciben heridas en el follaje, se activa el sistema de comunicación a larga distancia mediante cambios de potencial eléctrico de superficie entre 43 y 150 $\mu\text{m/s}$ involucrando proteínas de membrana relacionadas con el receptor ionotrópico de glutamato (iGluR) (Mousavi *et al.*, 2013). Este mecanismo de respuesta se asemeja al que se encuentra presente en los vertebrados en la fase de transmisión de la sinapsis en el sistema nervioso central (Krämer, 2015).

2.8. Mecanismos de defensa

Los mecanismos de defensa directa incluyen rasgos de la planta que por sí mismo afecte la susceptibilidad de los hospederos a los ataques de insectos. La planta puede producir moléculas tóxicas que provoquen daños químicos a los insectos, mientras que la anti-nutrición puede afectar la digestión de las hojas mediante la fortificación de paredes celulares, reacciones hipersensitivas, disminución del valor nutricional, mecanismos anti-manipulación y producción de moléculas repelentes de insectos. Los genes que participan en estas respuestas de defensa directas pueden incrementar su expresión una vez que se ha detectado el ataque de insectos herbívoros y, algunos de ellos participan en diversos procesos biológicos de respuesta a enfermedades u otros tipos de estrés (Chen *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2005; Chen, 2008).

La defensa de la planta también se puede activar mediante compuestos llamados elicitors. Estos pueden ser conjugados de aminoácidos, ácidos grasos, o volátiles, siendo la volicitina la más estudiada de este grupo. Su presencia induce la producción de varios compuestos volátiles y fitohormonas en diferentes especies vegetales (Alborn *et al.*, 1997). Los ácidos grasos sulfóxidos (Alborn *et al.*, 2007), caelíferos (Vilaine *et al.*, 2007; O'Doherty *et al.*, 2011), las bruquinas (Oliver *et al.*, 2000; Doss *et al.*, 2000), y algunos péptidos pueden presentar funciones elicitoras que inducen altos niveles de etileno, ácido jasmónico y ácido salicílico en plantas, permitiendo la liberación de volátiles terpenoides (Schmelz *et al.*, 2006; Schmelz *et al.*, 2007). Conocer cómo funcionan los elicitors contribuye al entendimiento de las

interacciones con organismos patógenos y comprender cómo estos afectan diversas etapas del desarrollo vegetal.

2.9. Adquisición de nutrientes

Las bacterias juegan un papel muy importante en la adquisición de nutrientes. Tanto aquellas que viven en simbiosis como aquellas de vida libre tienen la capacidad de promover el crecimiento vegetal mediante la solubilización de nutrientes insolubles como el fosfato, así como modificando la arquitectura de la raíz, esto brinda una mayor capacidad para explorar el suelo en busca de agua y minerales (Richardson y Simpson, 2011, Trivedi *et al.*, 2016; Trivedi *et al.*, 2020).

La velocidad de crecimiento que presenta una planta se atribuye a la composición de su microbioma. Hestrin y col. (2019) demostraron que las asociaciones bacterianas cooperan con la asimilación de más de 70 teragramos (10^{12} g) de nitrógeno, y esto se ve reflejado positivamente en la productividad. Estos microorganismos que aumentan la biodisponibilidad del nitrógeno, trabajan retrasando la floración y convirtiendo el triptófano al ácido indol acético que regula negativamente los genes de la floración (Lu *et al.*, 2018). El microbioma de las plantas tiene la capacidad de convertir nutrientes que no son asimilables, como el fosfato inorgánico y el hierro, a formas solubles mediante la excreción de sideróforos o ácidos orgánicos (Bodenhause *et al.*, 2019).

2.10. Resistencia a enfermedades

Las comunidades microbianas contribuyen a que las plantas resistan enfermedades provocadas por patógenos, aunque esta habilidad bacteriana no se ha logrado relacionar con algún género en específico. La relación existente entre las comunidades microbianas y el antagonismo de patógenos puede manifestarse mediante varios mecanismos como la producción de metabolitos antifúngicos o metabolitos volátiles, aunque esto varía con cada género. Si los patógenos llegan a superar el primer filtro contra la respuesta inmune, las bacterias endófitas se

encargarían de brindar una segunda línea de seguridad produciendo enzimas y metabolitos secundarios contra los patógenos (Mendes *et al.*, 2011; Carrión *et al.*, 2019).

La resistencia sistémica inducida (RSI) puede ser activada por bacterias benéficas y algunos hongos de la rizósfera, con este estímulo se presentan respuestas locales en donde la raíz hace una selección y suprime su inmunidad ante microorganismos benéficos sin desprotegerse ante patógenos. Esta diversificación del microbioma que emplea la planta, coopera con el fortalecimiento de las distintas líneas de defensa que la protegerán también contra algunos tipos de estrés abiótico (Pieterse *et al.*, 2014; Berendsen *et al.*, 2018). Otro aspecto importante en la defensa es la asociación con la vía de señalización del ácido jasmónico por PGPRs, pues este protege a la planta contra la herbivoría. La presencia de las PGPRs en la rizósfera promueve la secreción de compuestos antimicrobianos, como la cumarina y los benzoxazinoides, que contribuyen a la selectividad de bacterias estimulantes de la RSI. Esta modificación del microbioma en función del beneficio, puede influir a sus generaciones filiales (Kong *et al.*, 2019; Voges *et al.*, 2019).

2.11. Tolerancia al estrés

Si bien las plantas tienen la capacidad de responder ante los cambios ambientales para adaptarse, estas se benefician de las comunidades microbianas del suelo para acelerar el proceso de adaptación, incluso se ha propuesto que modifican los tiempos de floración en respuesta al estrés por sequía (Lau y Lennon, 2012; Ravanbakhsh *et al.*, 2018; Fitzpatrick *et al.*, 2019). Aunque no se conoce con precisión el mecanismo por el cual se activa la floración temprana, se sugiere que es promovida por factores del microbioma, así como la disponibilidad de nutrientes en el suelo, pues la sequía provoca la producción de hormonas como el ácido abscísico, que induce al sistema inmune, y el etileno, costoso energéticamente, en conjunto estas respuestas bioquímicas cooperan para atenuar el estrés por sequía, aunque se compromete el crecimiento (Sharp *et al.*, 2004).

El estudio de la interacción planta-bacteria brinda información sobre el ecosistema de la rizósfera. Arriba se ha descrito la importancia del microbioma por la influencia que tiene en la planta a lo largo de su vida. En los últimos años se ha comenzado a indagar en el estudio de las comunidades microbianas, lo cual ha llevado a pensar en la formación de comunidades sintéticas que se sugieren como una estrategia de promoción del crecimiento vegetal con mayor potencial de aplicación que el uso de solo una PGPR.

3. ANTECEDENTES

3.1. Comunidades bacterianas sintéticas

La conformación de comunidades sintéticas ocurre a partir de dos o más organismos procedentes de diversos entornos, que son caracterizados y reconstituidos en comunidades con una mayor complejidad, y avalados por ensayos de inoculación del microbioma conocido para poder estudiar más a fondo las interacciones microbioma – planta (Vorholt *et al.*, 2017).

Las bacterias asociadas a las plantas han sido empleadas como bioinoculantes en múltiples estudios de campo, aunque existe cierto rezago de productividad vegetal cuando se habla de un aislado único debido a la variación de comportamiento respecto a la modificación ambiental. Por esta razón se ha comenzado a indagar sobre el funcionamiento de los microbiomas completos asociados a plantas. El estudio de Comunidades Microbianas Sintéticas ha surgido como una estrategia en la que se emplea el co-cultivo de múltiples géneros en condiciones bien definidas que imitan a las de una comunidad microbiana natural. Se espera que en una comunidad sintética se aumente la estabilidad de la comunidad microbiana gracias a esfuerzos sinérgicos entre los miembros de esta (Shayanthan *et al.*, 2022).

Los géneros bacterianos más empleados en la conformación de comunidades sintéticas han sido *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Streptomyces* y *Pantoea* (Martins *et al.*, 2023). Participan en la supresión de enfermedades y son útiles para tratar enfermedades en condiciones de campo. Liu y col. (2022) encontraron que la comunidad sintética que crearon a partir de 8 especies de PGPR de diferentes géneros ayudó a que la planta tolerara la enfermedad provocada por *Fusarium*

pseudograminearum, además, la comunidad microbiana del suelo se modificó con la presencia de esta comunidad sintética (Mendes *et al.*, 2011; Santhanam *et al.*, 2015). Por otro lado, Ali y col. (2021) inocularon plantas de maíz con varios consorcios sintéticos de los cuales dos demostraron tener actividad antagonista contra el patógeno *Rhizoctonia solani* WH1 adicional a la promoción del crecimiento vegetal comparado con el inóculo de los aislados individuales y con el tratamiento control. De Vrieze y col. (2018) emplearon cultivo de papa *in vitro* para evaluar una comunidad sintética compuesta por 9 especies de *Pseudomonas* que aislaron del cultivo en campo. Se observó que algunos de estos aislados presentaron mejor efectividad de inhibición del desarrollo de *Phytophthora infestans* de manera individual mientras que algunos otros mostraron ser más efectivos en la comunidad sintética.

3.2. Comunidades sintéticas en agricultura

En cuanto al estrés por factores abióticos, también se han realizado ensayos con comunidades sintéticas de diversos tamaños y orígenes. En un estudio se observó que comunidades sintéticas formadas por bacterias resistentes a la sequía brindaron una mejor adaptabilidad a la planta cuando es expuesta a dicho agobio ambiental (Molina-Romero *et al.*, 2017). Castrillo y col. (2017) demostraron que en condiciones limitantes de fósforo algunas comunidades sintéticas con diferentes grados de complejidad indujeron la transcripción de genes de plantas relacionados con la respuesta al estrés por deficiencia de fósforo, con lo que incrementó la cantidad de fósforo inorgánico adquirido por las plantas y establecieron una relación entre el factor transcripcional PHR1 y la respuesta inmune. Otro estudio reportó un incremento del 36% de rendimiento de un cultivo de soja en condiciones de campo usando una comunidad sintética funcional (Wang *et al.*, 2021). Con base en lo anterior, resulta interesante el estudio de la aplicación de comunidades bacterianas sintéticas partiendo de PGPR con características conocidas como herramienta innovadora en agricultura.

3.3. Bases para el diseño de comunidades sintéticas

El método clásico en agricultura para realizar transferencia de microbioma ha sido transferir el suelo de plantas con resistencia a enfermedades o mayor biomasa hacia plantas débiles (Jiang *et al.*, 2022). La construcción de comunidades sintéticas puede ocurrir con enfoque ascendente o descendente. La efectividad de estas depende de identificar comunidades microbianas funcionales y la compatibilidad y potencial sinérgico entre los miembros, que resultan determinantes para favorecer el crecimiento y protección de los cultivos (Shayanthan *et al.*, 2022).

La conformación de las comunidades sintéticas enfrenta retos, por ejemplo, la interacción de muchas especies en una formulación resulta poco práctico para su aplicación, ya que es complejo predecir el establecimiento y la dinámica de la propia población, por lo que se requiere monitoreos rigurosos para garantizar la funcionalidad de la comunidad sintética. No obstante, el uso de comunidades sintéticas se considera una herramienta innovadora para mejorar la producción agrícola con bajo impacto ambiental, y el estado actual de biotecnología tanto agrícola como vegetal puede permitir tener un acercamiento multidisciplinar de este tipo de investigaciones (Shayanthan *et al.*, 2022).

Algunos de los géneros bacterianos más comunes en la rizósfera son *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Mycobacterium*, *Flavobacter*, *Cellulomonas* y *Micrococcus*. Las bacterias más abundantes de la rizósfera pueden incluir géneros gram-negativos, actinobacterias y proteobacterias (Teixeira *et al.*, 2010). El género *Bacillus*, se encuentra en concentraciones altas, y esto se atribuye a que produce compuestos antimicrobianos que inhiben a sus competidores. Las PGPR incluyen bacterias que fijan nitrógeno, solubilizan fósforo y antagonizan patógenos. La cantidad de PGPR caracterizadas ha incrementado durante los últimos años, lo que ha permitido apreciar el potencial que estas tienen como alternativas o elementos suplementarios en prácticas agrícolas (Joshi y Bhatt 2011; Rawat *et al.*, 2011). En la última década, en el Laboratorio de Biología del Desarrollo Vegetal se han caracterizado algunas rizobacterias que poseen habilidades excepcionales, como promotoras del

crecimiento vegetal en interacción con *Arabidopsis thaliana* y que serán descritas a continuación.

3.4. *Achromobacter* sp. 5B1

El género *Achromobacter* pertenece a las proteobacterias, presenta forma bacilar con bordes bien definidos, es Gram-negativa, no esporulante y presenta movimiento mediante sus flagelos. Se encuentra en diversos ecosistemas, ya que posee la capacidad de emplear varios aminoácidos como fuente de carbono y usa en menor medida los carbohidratos. Esto ha permitido caracterizar cepas de *Achromobacter* para su uso en bioremediación, como la degradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos con la bacteria *A. aegrifaciens* S5, o el tratamiento de aguas contaminadas con aceites y nitratos por *Achromobacter* sp. C-1 y *Achromobacter* sp. A14. Algunas especies se han catalogado como promotoras del crecimiento vegetal como *Achromobacter* sp. EMCC1936 mediante la producción de IAA, GA y la solubilización de fosfato (Busse y Auling, 2015; Abdel-Rahman *et al.*, 2017; Lazzem *et al.*, 2024; Su *et al.*, 2018; Gracioso *et al.*, 2019).

Jiménez-Vázquez y col. (2020) reportaron la cepa *Achromobacter* sp. 5B1 como promotora del crecimiento vegetal. Es una bacteria aislada de la rizósfera de mezquite de una poza salada en la región desértica de Chihuahua, una zona de altas temperaturas y salinidad elevada donde los mezquites se encontraban en buen estado de salud. En este trabajo se demostró que *Achromobacter* sp. 5B1 estimula el crecimiento de la raíz primaria, aumenta la densidad de raíces laterales, incrementa la producción de biomasa y el rendimiento de fruto. Los autores analizaron los mecanismos de acción e identificaron que la bacteria induce la división celular en meristemas, incrementa la expresión de la respuesta auxínica en primordios de raíces laterales y modifica el fenotipo de la raíz primaria provocando giros y vueltas debido a una redistribución del flujo de las auxinas. Más recientemente, Jiménez-Vázquez *et al.*, (2024) describieron la protección que brinda *Achromobacter* sp. 5B1 a plantas de *Arabidopsis* crecidas en condiciones de alcalinidad que inhiben su desarrollo (**Figura 3**).

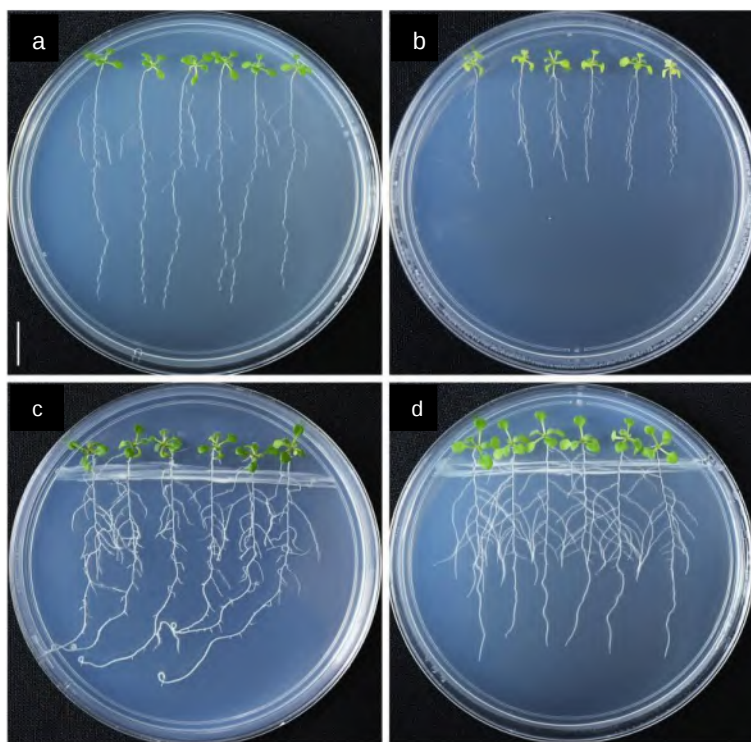


Figura 3. Interacción entre *Achromobacter* sp. 5B1 y *Arabidopsis thaliana*. a) *Arabidopsis* en medio MS 0.2X pH 7.0, b) plantas en medio alcalino (pH 8.5), c) inoculación con *Achromobacter* sp. 5B1 en medio neutro, d) *Arabidopsis* inoculada con *Achromobacter* sp. 5B1 en medio alcalino en donde se observa claramente la estimulación del crecimiento (Adaptado de Jiménez-Vázquez *et al.*, 2025).

3.5. *Bacillus* sp.

El género *Bacillus* se caracteriza por su forma bacilar, son grandes y esporulan, y presentan flagelos para su movimiento. Estas bacterias pueden ser aerobias y anaerobias facultativas, se encuentran distribuidas globalmente, pudiendo pertenecer a la microbiota de animales y vegetales. La endospora que generan puede dar lugar a una sola célula vegetativa y también funciona como estructura de resistencia, lo que le confiere la capacidad de crecer en entornos hostiles. Son células Gram-positivas que se encuentran fácilmente en suelos (Macedo y Vola, 2008; Vargas-Ayala *et al.*, 2000). Múltiples estudios reportan la aplicación de diversas especies de *Bacillus* como herramienta para el control biológico y la estimulación del crecimiento vegetal gracias a la producción de metabolitos antimicrobianos, la solubilización de nutrientes como el fósforo, y la resistencia a

salinidad (Tejera-Hernandez *et al.*, 2011; Goswami *et al.*, 2014; Corrales-Ramírez *et al.*, 2017).

García-Cárdenas y col. (2023) describieron a *Bacillus* sp. LC390B, aislada de la rizósfera de maíz cultivado en la comunidad El Lometón, Tarímbaro, Michoacán en donde el suelo presentaba un pH alcalino de 8.6. El desarrollo de sus colonias en medio LB sólido se observó con bordes irregulares, opaca, cremosa y de color blanquecino. Después de un exhaustivo análisis de interacción planta-bacteria, empleando *Arabidopsis* como modelo vegetal, se logró determinar que esta cepa promueve el crecimiento vegetal mediante el incremento de la producción de biomasa tanto foliar como radicular, además observaron que las células de las plantas que fueron inoculadas eran de mayor longitud. Determinaron que la bacteria acelera la maduración de los primordios de raíz por mecanismos auxínicos. Adicionalmente, reportaron que el desarrollo de las plantas de *Arabidopsis* inoculadas que crecieron en un medio limitado de sacarosa como fuente de carbono logró alcanzar el estado de salud que se observa cuando *Arabidopsis* crece en condiciones óptimas, lo que vislumbra a *Bacillus* sp. LC390B como un posible bioestimulante cuando se encuentra comprometida la disponibilidad de carbono (**Figura 4**).

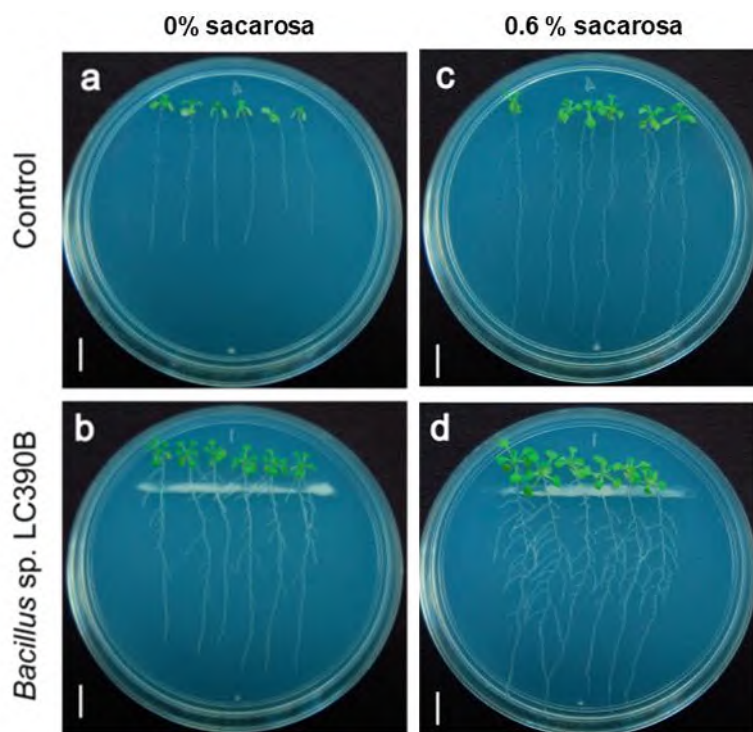


Figura 4. Respuesta de *Arabidopsis* a *Bacillus* sp. LC390B. Se muestran imágenes del crecimiento en: **a)** sin suplementación de sacarosa como fuente de carbono, **b)** en limitación de carbono e inoculada con *Bacillus* sp. LC390B, **c)** condiciones óptimas de crecimiento y en medio axénico y, **d)** suplementación completa de nutrientes con la interacción de *Bacillus* sp. LC390B (Adaptado de García-Cárdenas *et al.*, 2023).

3.6. *Micrococcus luteus*

Las células del género *Micrococcus* son Gram-positivas, esféricas, que se agrupan en tétradas y no presentan motilidad. *Micrococcus luteus* es una actinobacteria que puede encontrarse en el ambiente. Sus colonias, circulares y bien definidas, producen un pigmento de color amarillo brillante perteneciente a los carotenoides y sus propiedades pueden modificarse según las condiciones en las que se desarrolle (Whitman *et al.*, 2012; Chang *et al.*, 2024).

Se ha demostrado que cepas de *Micrococcus luteus* son eficaces contra patógenos como *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella typhimurium* debido a que producen antibióticos (Umadevi y Krishnaveni, 2013). También se ha reportado que *Micrococcus luteus* DE2008 bioabsorbe el plomo y cobre, por lo que puede ser empleada en bioremediación de ambientes contaminados (Puyen *et al.*, 2012). A diferentes cepas

de esta especie, como *M. luteus* AKAD 3-5, *M. luteus* S14, se les han atribuido mecanismos promotores del crecimiento vegetal, directos e indirectos, así como para su uso en biocontrol (Dubey *et al.*, 2021). García-Cárdenas y col. (2022) aislaron una cepa de *Micrococcus luteus* (LS570) de la rizósfera de un cultivo de maíz que se desarrollaba en condiciones de alcalinidad (pH 8.6) en la región de Tarímbaro, Michoacán. Se determinó su morfología y las características de promoción del crecimiento vegetal, como la modificación que sufre la arquitectura del sistema radicular de *Arabidopsis* con la inoculación de la bacteria. Se observó que se produjo un incremento en la densidad de pelos radiculares y raíces laterales. También se evidenció el incremento de la respuesta auxínica y la estimulación de la producción de biomasa fresca total (**Figura 5**).

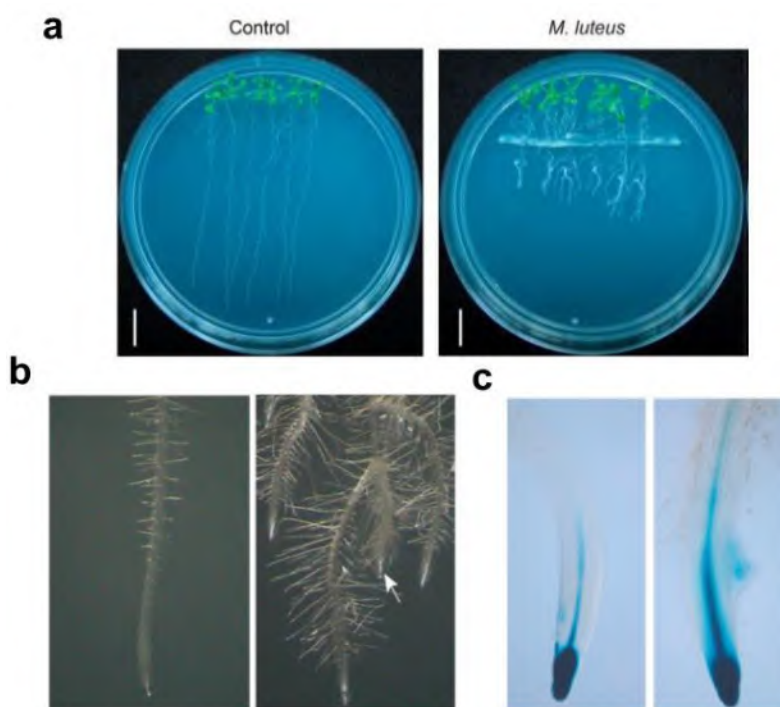


Figura 5. Interacción *Arabidopsis* – *M. luteus* LS570. a) Respuesta fenotípica de *Arabidopsis* ante la inoculación con la bacteria *Micrococcus luteus* LS570, b) Acercamiento a la punta de la raíz primaria donde se observa el incremento en la densidad de los pelos radiculares y c) el incremento de la expresión del gen *DR5:GUS* (Adaptado de García-Cárdenas *et al.*, 2022).

3.7. *Pseudomonas brassicae*

Las bacterias del género *Pseudomonas* son de forma bacilar con flagelos, Gram-negativas, aerobias, no esporulantes y se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza (Holt *et al.*, 1994). Las especies representativas podrían ser *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. syringae*, *P. chlororaphis* y *P. stutzeri*, las cuales pueden ser patógenos oportunistas en humanos, en plantas y también participan en la microbiota de la rizósfera como bacterias promotoras del crecimiento vegetal, por lo que resulta interesante que cuando se identifican, no solo se caracterice la especie, sino que se determine la cepa ya que puede poseer características diferentes según sus estímulos externos. Algunas especies tienen la capacidad de producir compuestos fluorescentes en limitación de hierro (Cornelis, 2010).

López-Hernández y col. (2023) aislaron bacterias de suelos con diferentes características, incluida una lombricomposta de la cual se obtuvo la cepa de *Pseudomonas brassicae* H4-45. A esta cepa se le atribuyeron mecanismos de promoción del crecimiento vegetal como la solubilización de fosfato de calcio, incrementó la producción de biomasa fresca, así como la formación y el crecimiento de raíces laterales. Estas características permiten visualizar el potencial agroecológico que posee esta cepa volviéndola de particular interés como herramienta de bajo impacto ambiental (**Figura 6**).

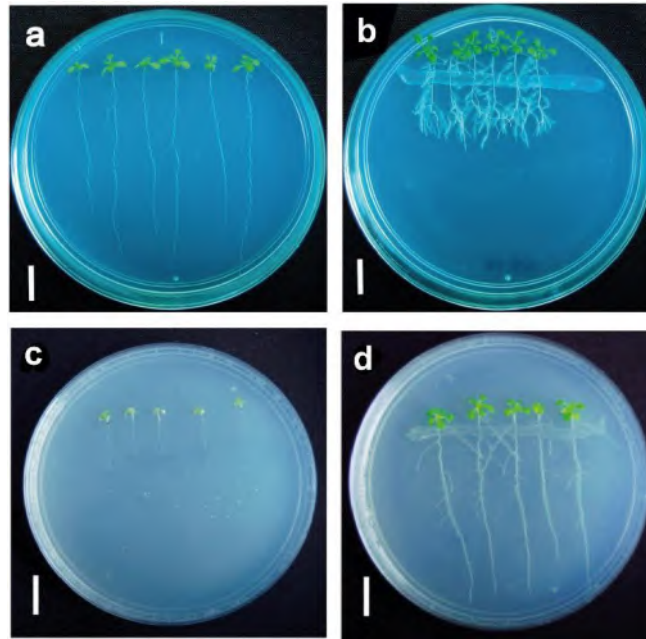


Figura 6. Efecto de *P. brassicae* H4-45 sobre *Arabidopsis thaliana*. Se muestran imágenes del crecimiento en **a)** condiciones óptimas de crecimiento, **b)** respuesta de la planta a la inoculación con *Pseudomonas brassicae* H4-45, **c)** desarrollo de *Arabidopsis* en medio con fosfato de calcio como única fuente de fosfato y, **d)** crecimiento de *Arabidopsis* en fosfato de calcio con la inoculación de *P. brassicae* H4-45 (tomado de López-Hernández *et al.*, 2023).

4. JUSTIFICACIÓN

Los antecedentes descritos abren un panorama promisorio para los bacteriomas y bacterias benéficas en el campo de la agricultura por sus múltiples aplicaciones. La conformación de comunidades sintéticas promete mejores resultados que los bioinoculantes individuales. Con base en esta premisa, este trabajo plantea el desarrollo de comunidades sintéticas entre las bacterias *Achromobacter* sp. 5B1, *Bacillus* sp. LC390B, *Micrococcus luteus* LS570, y *Pseudomonas brassicae* H4-45, ya que el efecto promotor del crecimiento de cultivos puros de cada una de las especies se ha caracterizado a detalle en *Arabidopsis thaliana*. Es posible que la conformación de consorcios provea ventajas adicionales y aporte información relevante sobre la ecología de las interacciones bacteria-bacteria y planta-bacteria.

5. HIPÓTESIS

La hipótesis de este trabajo es que las comunidades sintéticas conformadas por combinaciones de las bacterias *Achromobacter* sp. 5B1, *Bacillus* sp. LC390B, *Micrococcus luteus* LS570 y *Pseudomonas brassicae* H4-45 mejoran el crecimiento y desarrollo y/o activan la inmunidad de *Arabidopsis thaliana*.

6. OBJETIVO GENERAL

Analizar el efecto de comunidades sintéticas formadas por combinaciones de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, *Achromobacter* sp. 5B1, *Bacillus* sp. LC390B, *Micrococcus luteus* LS570 y *Pseudomonas brassicae* H4-45 sobre el crecimiento, el desarrollo y la inmunidad de *Arabidopsis thaliana*.

6.1. Objetivos específicos

1. Evaluar la compatibilidad de *Achromobacter* sp. 5B1, *Bacillus* sp. LC390B, *Micrococcus luteus* LS570, y *Pseudomonas brassicae* H4-45 en ensayos de cocultivo *in vitro* para construir comunidades sintéticas.
2. Evaluar el efecto de las comunidades bacterianas construidas sobre el crecimiento de *Arabidopsis thaliana*.
3. Analizar el efecto de las comunidades bacterianas construidas sobre la respuesta a auxinas y citocininas.
4. Analizar el efecto de las comunidades bacterianas construidas sobre la expresión de genes de defensa y absorción de fosfato.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Material vegetal y condiciones de crecimiento

Se utilizaron semillas de *Arabidopsis thaliana* (Col-0), y las líneas que expresan actividad mitótica *CycB1;1::uidA* (Colón-Carmona *et al.*, 1999), respuesta a las auxinas *DR5::GUS* (Ulmasov *et al.*, 1997), citocininas activas *ARR5::GUS* (D'Agostino *et al.*, 2000), el transportador de fosfato *AtPT2::GUS* (Karthikeyan *et al.*, 2002), así como los genes inducibles por ácido jasmónico *JAZ1/TIFY10A-GFP* (Grunewald *et al.*, 2009) y *JAZ10pro::JAZ10-GFP* (Pillitteri *et al.*, 2011).

Las semillas fueron desinfectadas superficialmente con etanol 96% durante 5 minutos, posteriormente con hipoclorito de sodio al 20% durante 7 minutos y enseguida se realizaron 5 enjuagues con agua desionizada estéril. Se llevaron a 4 °C durante 48 horas para estratificar la germinación. Posteriormente, fueron sembradas en medio de Murashige y Skoog 0.2X contenido en placas Petri de 9 cm de diámetro suplementado con 0.6% de sacarosa (w/v), 1% de agar-agar (w/v) y ajustando el pH a 5.7 con el volumen de KOH necesario. Estas placas se llevaron a una cámara de crecimiento Percival Scientific AR -95L a 22 °C, con un fotoperiodo de 12 h luz y 8 h de oscuridad a 200 $\mu\text{mol m}^2/\text{s}$ de luz con una inclinación de 65° aproximadamente. Después de 7 días la siembra, cuando las plantas tuvieron 5 días de edad fueron transferidas a los tratamientos.

7.2. Cepas de bacterias

Se emplearon cultivos puros de *Achromobacter* sp. 5B1 (Jiménez-Vázquez *et al.*, 2020), *Bacillus* sp. LC390B (García-Cárdenas *et al.*, 2023), *Micrococcus luteus* LS570 (García-Cárdenas *et al.*, 2022) y *Pseudomonas brassicae* H4-45 (López-Hernández *et al.*, 2023). Estas bacterias fueron proporcionadas por el Laboratorio de Biología del Desarrollo Vegetal del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Las bacterias se mantuvieron activas desde placas de Petri con medio Luria-Bertani (LB) sólido conteniendo cada cepa e inoculando con asa bacteriológica en placas de medio fresco cada 15 días incubándolas a temperatura de 28°C por dos días y luego almacenándolas a 4 °C.

7.3. Estudios de compatibilidad de las cepas bacterianas

Se realizó un pre-inóculo partiendo de una colonia de cada cepa bacteriana de cultivos frescos (24-48 h) y colocando la biomasa en 4 mL de medio LB líquido en tubos de ensaye. Los tubos fueron llevados a la incubadora a 25 °C, en agitación a 120 rpm durante 14 horas para *M. luteus* y 10 horas para *Achromobacter* sp. 5B1, *Bacillus* sp. y *P. brassicae*. Se estandarizó la densidad óptica a 0.2 leída a 600 nm. Para evaluar el desarrollo de las bacterias de manera individual se colocaron en una placa con medio LB sólido 5 µL de cada inóculo a una distancia de 2 cm aproximadamente, y cada ensayo se realizó por triplicado. Posteriormente, se tomaron 100 µL de uno de los pre inóculos para formar un tapete bacteriano con ayuda de un asa digralsky en placas Petri conteniendo medio LB sólido. Sobre el tapete microbiano se colocaron 5 µL de los 3 inóculos bacterianos restantes y a los 5 días después de la inoculación se observó el desarrollo en compatibilidad o antagonismo, siendo el antagonismo la aparición de un halo de inhibición del crecimiento de alguna de las bacterias.

7.4. Formación de las comunidades sintéticas

Para la formación de las comunidades sintéticas se realizó una mezcla de volúmenes idénticos (300 µL) de medio LB líquido como vehículo con una DO_{600nm} de 0.2 de cada uno de los inóculos conteniendo las bacterias en fase exponencial en mismo tubo para centrífuga de 1 ml estéril. Se realizaron consorcios de dos especies en todas las combinaciones posibles teniendo 6 consorcios.

	<i>Bacillus</i> sp. LC390B	<i>M. luteus</i> LS570	<i>P. brassicae</i> H4-45	<i>Achromobacter</i> sp. 5B1
<i>Bacillus</i> sp. LC390B		1	2	3
<i>M. luteus</i> LS570	1		4	5
<i>P. brassicae</i> H4-45	2	4		6
<i>Achromobacter</i> sp. 5B1	3	5	6	

7.5. Establecimiento de la interacción planta-comunidad sintética

Para establecer la interacción se tomaron 70 µL de las comunidades sintéticas previamente formadas y se colocaron formando una estría en el tercio superior de una placa de Petri conteniendo medio MS 0.2X, una vez adsorbido el líquido de la estría se colocaron cuidadosamente sobre ésta 6 plantas por caja de manera que la raíz quedara en contacto directo con la estría del inóculo y cuidando que el follaje no tuviera contacto con el inóculo. Después de 7 días en este sistema se evaluaron algunos parámetros como se menciona a continuación.

7.6. Análisis de crecimiento de la planta

Para evaluar el crecimiento de la raíz primaria se tomaron fotografías de las cajas Petri en los diferentes tratamientos por la parte trasera y se midió su longitud con ayuda del Software ImageJ. La cantidad de raíces laterales fue contabilizada empleando un microscopio estereoscópico Leica EZ4D. La densidad de raíces laterales se calculó con la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Número de raíces laterales}}{\text{Longitud de raíz primaria}}$$

Se tomaron fotografías en aumento 0.63X en el microscopio estereoscópico de las regiones del follaje, la zona de inoculación, raíces laterales y raíz primaria.

La medición de la biomasa se realizó con una balanza analítica. Se separó el follaje del sistema radicular empleando un bisturí. El pesaje se ejecutó colocando la biomasa de 3 plantas para tener mayor precisión en la lectura de la balanza. Posteriormente, se reunieron los datos de manera separada para follaje y raíz, y finalmente se hizo la suma de ambas mediciones para obtener la biomasa fresca total.

7.7. Análisis histoquímico de la expresión de GUS

Las líneas transgénicas expresando actividad de GUS interactuaron con las comunidades sintéticas como previamente se mencionó. Después de 7 días en la interacción se realizó el análisis de GUS mediante la incubación de las plantas con el sustrato X-Gluc (5-bromo-4-cloro-3-indolil-β-D-glucuronido) al 0.1% con 5 mM de ferrocianuro de potasio y 5 mM de ferricianuro de potasio en amortiguador de

fosfatos por 14 horas (*ARR5::GUS* por 3 horas) a 37 °C. Los tejidos se sometieron al protocolo de clareo con el método de Malamy y Benefy (1997) para la eliminación de pigmentos. Para cada análisis se emplearon 18 plantas por cada tratamiento y se tomaron fotografías representativas mediante microscopia de contraste interferencia diferencial (Nomarsky) en un microscopio Leica DM 5500 B.

7.8. Tinción con yoduro de propidio

La línea transgénica *pJAZ10::JAZ10::GFP* expuesta a las comunidades durante 3 días se montaron en portaobjetos y se cubrieron con gotas de yoduro de propidio 20 µM. La detección de la fluorescencia se realizó con el microscopio confocal Olympus FV-100.

7.9. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se empleó el software STATISTICA 12 para realizar un ANOVA de una vía y posteriormente prueba post hoc de Tukey y Fisher con una $p \leq 0.05$ para determinar diferencias significativas entre los tratamientos. Las letras diferentes en las gráficas de barras representan las diferencias significativas entre los tratamientos.

8. RESULTADOS

Establecimiento del efecto promotor de crecimiento de las rizobacterias elegidas

Se realizó un ensayo de inoculación de *Arabidopsis* con las bacterias seleccionadas para comprobar su efecto sobre la planta *in vitro* (**Figura 7**), a fin de mantener un parámetro con el cual comparar el efecto de los consorcios, ya que el tipo de crecimiento utilizado es líquido y no sólido, como en los reportes existentes.

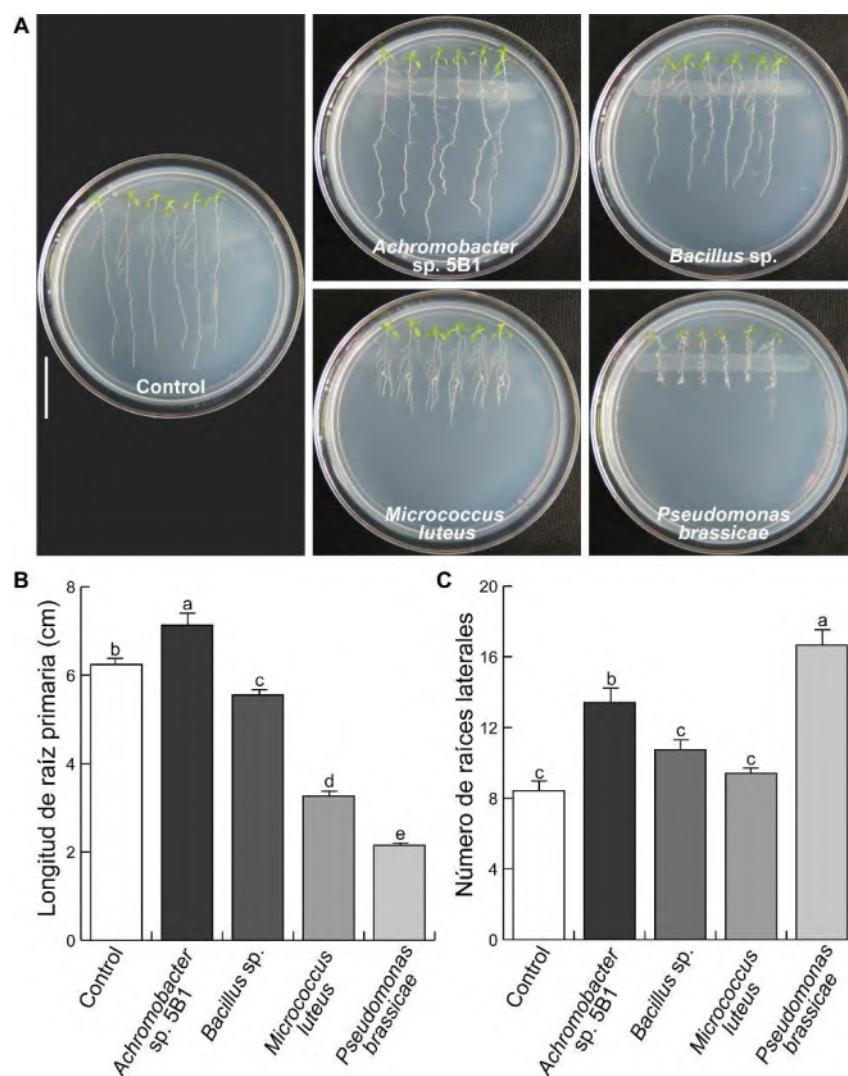


Figura 7. Efecto de los aislados bacterianos individuales en *Arabidopsis thaliana* *in vitro* y análisis de la arquitectura radicular. Se sembraron semillas desinfectadas de *Arabidopsis* en medio MS 0.2X, a los 4 días de edad fueron transferidas a medio fresco con 70 μ L de medio LB conteniendo cada una de las bacterias a una DO de 0.2_{600nm}. **A)** La respuesta fenotípica de las plantas después de 7 días en interacción con las bacterias, **B)**

Análisis de la longitud de la raíz primaria y **C)** Análisis de la cantidad de raíces laterales. La barra de escala = 2cm.

8.1. Confrontación de bacterias

Se realizó un ensayo de confrontación entre las bacterias seleccionadas para evaluar la compatibilidad de su crecimiento. Para ello se emplearon las bacterias *Achromobacter* sp. 5B1, *Bacillus* sp. LC390B, *Micrococcus luteus* LS570 y *Pseudomonas brassicae* H4-45; se realizó un co-cultivo de aquellas que conforman cada uno de los consorcios. Se observó que, para casi todos los casos, el co-cultivo en la misma placa conteniendo medio Luria-Bertani se logró desarrollar con éxito siendo una única excepción el caso en que *Bacillus* sp. crece sobre *Micrococcus luteus*, donde se observa un halo de inhibición sobre el crecimiento de *M. luteus*, (Figura 8).

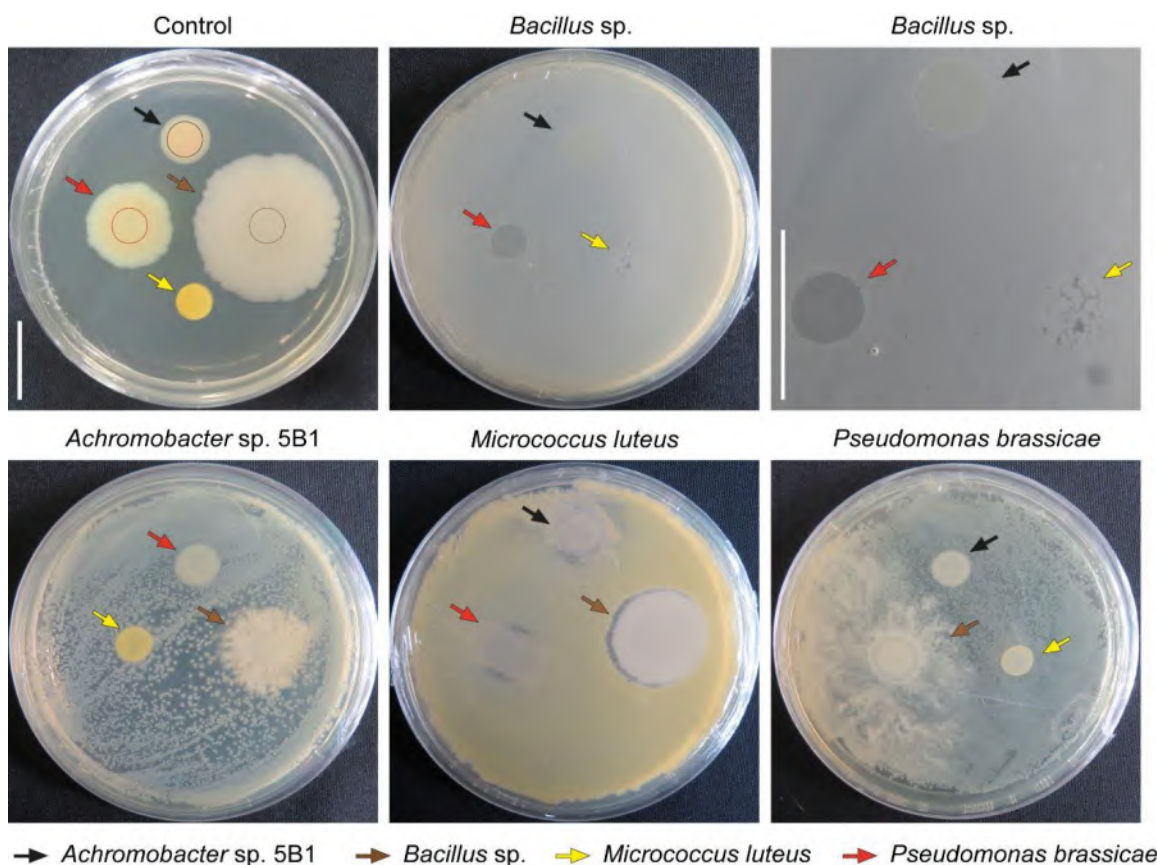


Figura 8. Confrontación de bacterias promotoras del crecimiento in vitro. Partiendo de preinóculos de cada bacteria en estado exponencial estandarizadas a una DO 0.2_{600nm} se tomaron 100 µL para crear un tapete y sobre este, gotas de 5 µL de las bacterias a confrontar, se tomaron fotografías 5 días después de la inoculación. Los círculos en la placa

control representan el tamaño de la gota inicial. Las bacterias lograron desarrollarse en esta condición. Resalta un halo de inhibición del crecimiento de *Micrococcus luteus* por *Bacillus* sp. Barra de escala = 2cm.

8.2. Establecimiento de consorcios

Una vez establecida la compatibilidad de las bacterias se realizó la combinación por pares de estas para el establecimiento de seis consorcios. Esta conformación se realizó empleando concentraciones estandarizadas cuando los cultivos bacterianos que se encontraban en la fase exponencial de crecimiento y con un volumen idéntico de ambos componentes. Las preparaciones fueron homogenizadas y se colocaron 70 μ L de cada consorcio sobre placas con medio de Murashige y Skoog para posteriormente realizar la transferencia de plántulas de *Arabidopsis* y observar la interacción durante 7 días. La evaluación de este ensayo permitió observar el comportamiento tanto del sistema radicular como del aéreo en donde el follaje presenta diferencias comparadas con la inoculación de los aislados individuales (**Figura 10**) que pueden interpretarse como estrés por parte de la planta, sin embargo, su crecimiento no se ve afectado. El desarrollo del sistema aéreo de los tratamientos con los consorcios se mantiene comparable al de las plantas control. Se observa una ligera pigmentación marrón en los tratamientos que contienen a *Achromobacter* sp. 5B1. En cuanto al tamaño del follaje se aprecia que no hay diferencia lo suficientemente notoria (**Figura 9**).

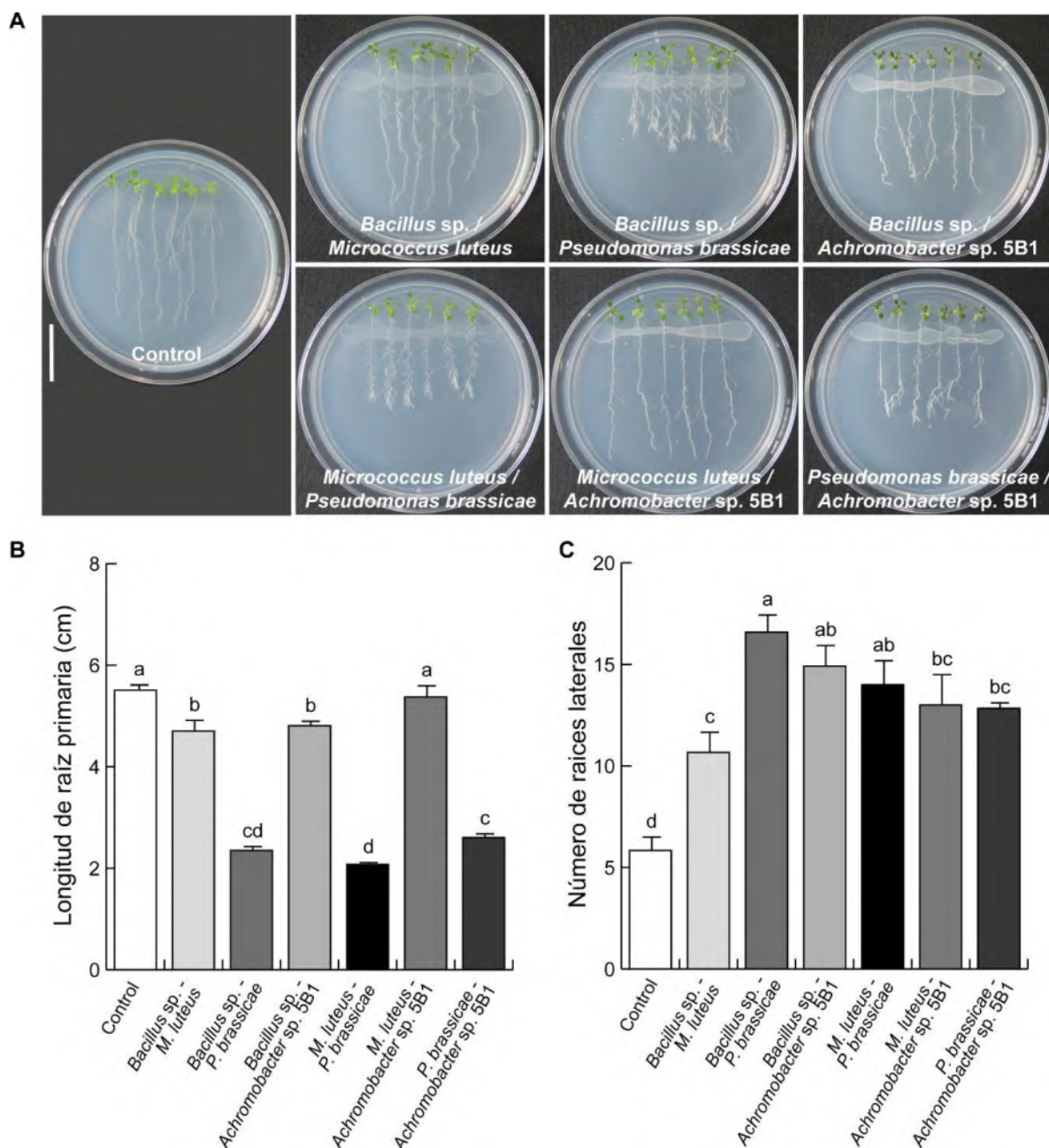


Figura 9. Efecto de las comunidades sintéticas sobre *Arabidopsis*. Plántulas de 4 días de edad fueron transferidas a medio fresco con una inoculación de las comunidades bacterianas sintéticas creadas contenida en 70 μ L de medio LB a una DO 0.2_{600nm}, **A)** Respuesta de plantas de *Arabidopsis* a la interacción con los consorcios bacterianos durante 7 días, barra de escala = 2 cm, **B)** Análisis de la longitud de raíz primaria y **C)** Número de raíces laterales.

En el panel B de la **Figura 9** se puede observar que existen dos tipos de respuestas fenotípicas, una en donde el sistema radicular acorta su longitud y otra en donde se

mantiene similar al control. Aquellos consorcios que reducen en la longitud de la raíz primaria coinciden con la presencia de *Pseudomonas brassicae*. Por otro lado, en la **Figura 9C** se observa que todos los consorcios bacterianos estimularon la formación de raíces laterales.

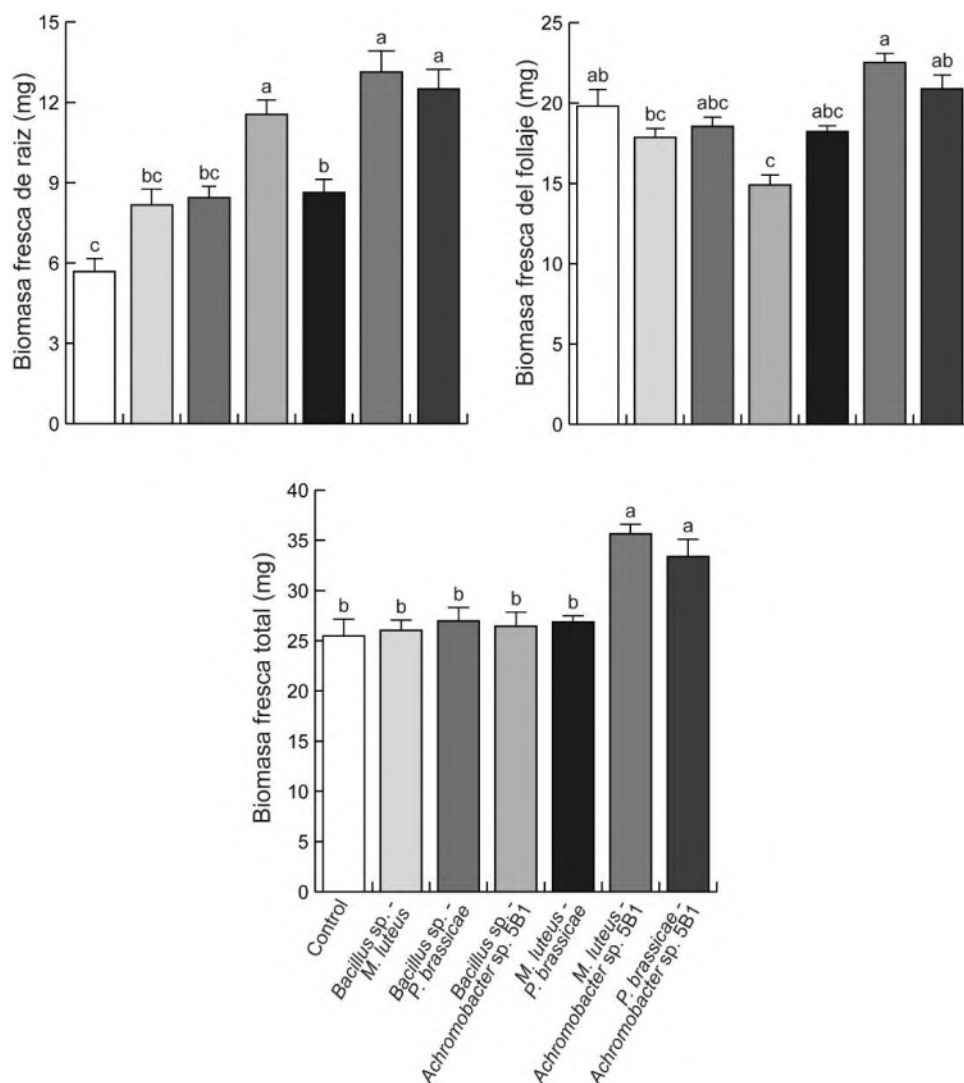


Figura 10. Análisis de la producción de biomasa fresca. El sistema radicular se pesó en una balanza analítica separado del sistema foliar y se observó un grupo de comunidades que producen un incremento del doble del peso y otro con un incremento de ~ 30%. En el follaje no se observaron cambios tan drásticos, aunque sí se registraron decrementos y en el peso total únicamente destacan dos tratamientos que incrementaron la acumulación de biomasa fresca.

Adicionalmente, se evaluó la biomasa fresca de raíz y de follaje, así como la total (**Figura 10**). La evidencia muestra que en el follaje no se observa un incremento

significativo respecto al tratamiento control, mientras que sí se observa una disminución de la biomasa fresca de follaje para el tratamiento con el consorcio *Bacillus* sp.-*Achromobacter* sp. 5B1. Por otro lado, al evaluar este mismo parámetro, en raíz, se observa un incremento significativo de la biomasa de raíz en todos los tratamientos con las comunidades bacterianas sintéticas. Finalmente, al valorar la biomasa fresca total, únicamente dos tratamientos presentaron un aumento significativo, la inoculación con *M. luteus*-*Achromobacter* sp. 5B1 y con *P. brassicae*-*Achromobacter* sp. 5B1. Una vez evaluado el fenotipo de *Arabidopsis* con las inoculaciones de las comunidades sintéticas, se continuó con la evaluación de la expresión de algunos genes que aportan información adicional sobre el desarrollo de la interacción planta-bacteria.

8.3. Relación de la actividad mitótica del meristemo y las comunidades sintéticas

Empleando la línea *CYCB1:GUS*, que porta el transgen *pCYCB1:GUS* que permite analizar la expresión de la proteína ciclina B1 (Colón-Carmona *et al.*, 1999), mediante la actividad de la enzima β -glucoronidasa, involucrada en la transición de la fase G2 a M, se evaluó el estado de la actividad mitótica en el meristemo apical de la raíz primaria de las plantas de *Arabidopsis*. Se observó que, en las plantas inoculadas con las comunidades que involucran a *P. brassicae* el meristemo se encuentra diferenciado o en proceso de diferenciación; mientras que, el resto de las inoculaciones permite que la división celular se mantenga activa. Este fenómeno corresponde con el fenotipo general de la planta, donde encontramos raíz corta correspondiente a la diferenciación del meristemo y; raíz larga, que coincide con los meristemos que expresan la proteína ciclina B1 (**Figura 11**).

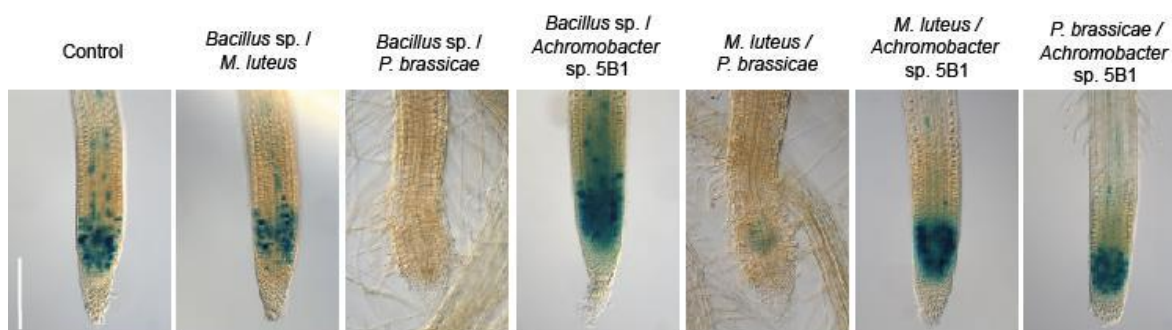


Figura 11. Efecto de las comunidades sintéticas en la expresión de *CYCB1:GUS*. La línea reportera *CYCB1:GUS* fue expuesta a los tratamientos como se explica en la metodología y a los 7 días se evaluó la expresión del gen incubando las plantas con xGluc 5 mM durante 14 horas a 37 °C. Se muestran fotografías representativas de cada tratamiento tomadas con la tecnología Nomarsky. La barra de escala corresponde a 200 μ m.

8.4. Análisis del efecto de las comunidades bacterianas construidas sobre la respuesta a auxinas

Este análisis se efectuó empleando la línea transgénica que contiene la construcción *DR5:GUS*, el cual permite visualizar mediante tonalidades azules la expresión de una proteína reportera de la respuesta a las auxinas (Ulmasov *et al.*, 1997). Se evaluó la expresión en follaje, zona de diferenciación, raíces laterales y raíz primaria. En follaje no se observaron cambios significativos en ninguno de los tratamientos; en raíces laterales y zona de diferenciación las imágenes permiten apreciar un incremento de la expresión en los tratamientos con las inoculaciones de los consorcios que contienen *P. brassicae*, contrario a lo que ocurre en raíces primarias, pues, al encontrarse el meristemo en proceso de diferenciación este gen se expresa de manera residual, mientras que, los consorcios *Bacillus* sp.-*Achromobacter* sp. 5B1 y *M. luteus*-*Achromobacter* sp. 5B1, no inducen la expresión de *DR5:GUS* en raíces laterales ni en zona de diferenciación lo que sí ocurre en raíz primaria. Cabe resaltar que *Bacillus* sp.-*M. luteus* mantiene una expresión similar al tratamiento control en todas las regiones observadas (**Figura 12**).

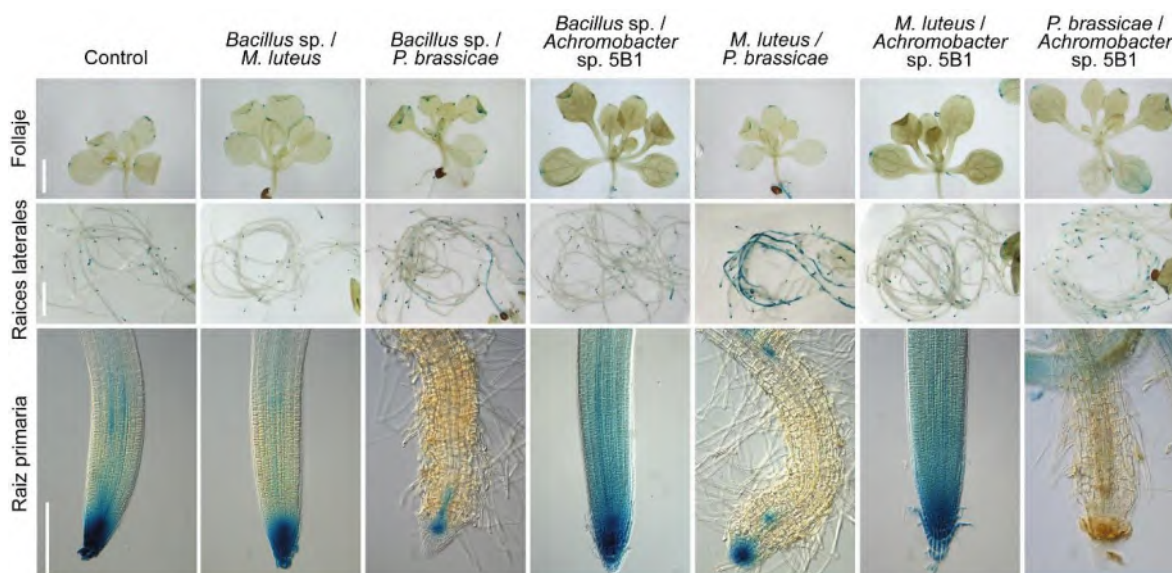


Figura 12. Análisis histoquímico de la expresión del gen reportero *DR5:GUS*. La línea transgénica *DR5:GUS* fue expuesta a los tratamientos y posteriormente incubada por 14 horas con X-Gluc 5 mM a 37 °C. Posteriormente, se tomaron fotografías de follaje, raíces laterales y raíz primaria donde se aprecia de manera diferencial el efecto en la respuesta auxínica producido por la interacción con las comunidades sintéticas creadas. La barra de escala para follaje y raíz lateral equivale a 2 mm. La barra de escala para raíz primaria es igual a 200 μ m.

8.5. La actividad de las citocininas se modifica con la presencia de los consorcios bacterianos

Las citocininas son fitohormonas producidas tanto por especies vegetales como bacterianas, y que juegan un papel importante en el desarrollo de las plantas y el establecimiento de relaciones con microorganismos, razón por la cual resulta interesante evaluar cómo se encuentra la actividad de las citocininas en la interacción con las comunidades sintéticas bacterianas. Empleando la línea transgénica *ARR5:GUS*, que expresa una proteína inducible por la actividad de las citocininas, fue posible evidenciar los cambios que ocurren entre la planta control y las que han sido expuestas a interacciones microbianas. En la imagen se observa que la expresión en el tratamiento control de centra en el meristemo apical de raíz y el tejido vascular del follaje y, de manera semejante se manifiesta con la inoculación del consorcio *Bacillus* sp.-*M. luteus*; en el resto de los tratamientos el follaje no presenta cambios contundentes, sin embargo, el gen se expresa en raíces laterales y zona de diferenciación del resto de los tratamientos. Por otro lado, en el

acercamiento de la punta de la raíz primaria se puede apreciar cómo incrementa sustancialmente la expresión de *ARR5:GUS* con *Bacillus* sp. – *Achromobacter* sp. 5B1 y *M. luteus* – *Achromobacter* sp. 5B1 (**Figura 13**).

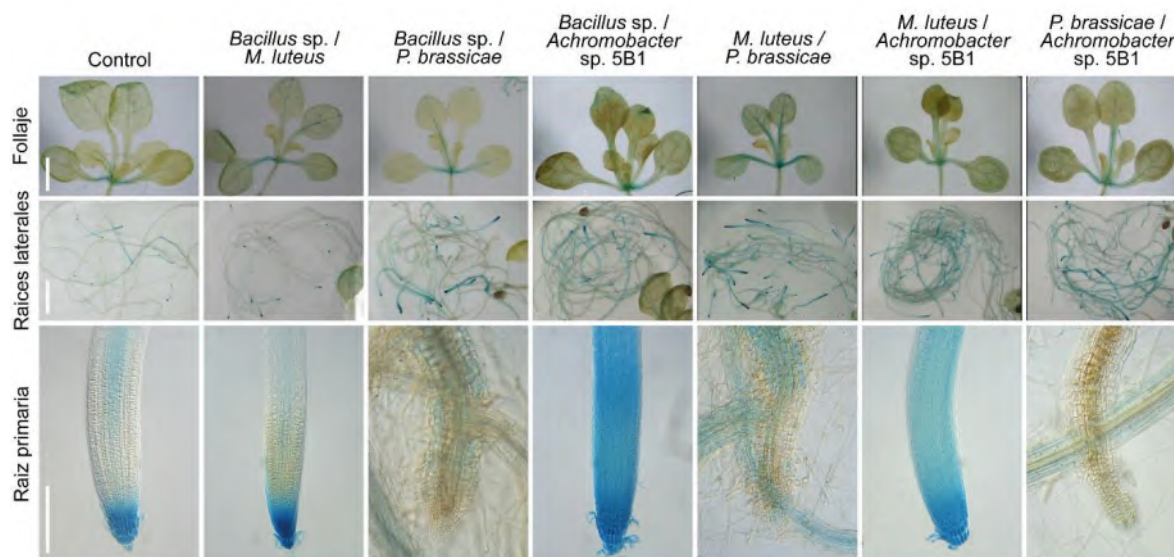


Figura 13. Expresión del gen reportero *ARR5:GUS* en diferentes zonas de plantas de *Arabidopsis*. Plantas de la línea *ARR5:GUS* fueron cocultivadas durante 7 días con las comunidades bacterianas sintéticas y se evaluó la expresión del promotor de *ARR5* en follaje, raíces laterales y raíz primaria incubando los tejidos vegetales con X-Gluc (5 mM) a 37 °C durante 3 horas. Se muestran fotografías representativas de 18 plantas. La barra de escala para follaje y raíces laterales equivale a 2 mm. La barra de escala para raíz primaria es de 200 µm.

8.6. Genes relacionados con la respuesta de defensa se activan con la presencia de las inoculaciones

Uno de los mecanismos mediante los cuáles actúan algunas bacterias benéficas es mediante la inducción de la respuesta sistémica adquirida. Por ello resulta relevante evaluar el estado de defensa de la planta, lo cual se desarrolla con ayuda de las líneas transgénicas con los genes *JAZ1:GUS* y *JAZ10:GFP*. Estas proteínas participan como reguladores negativos de la señalización del ácido jasmónico, fitohormona que participa en el desarrollo y la inmunidad de la planta. En la **Figura 14** se aprecia la expresión del gen *JAZ1:GUS* en diferentes zonas de la planta. En follaje, los consorcios *M. luteus*-*P. brassicae* y *M. luteus*-*Achromobacter* sp. 5B1, inducen la expresión del gen; continuando con la observación de las raíces laterales

y zona de diferenciación, es posible notar que los consorcios que no inducen la expresión de *JAZ1:GUS* son *Bacillus* sp.-*M. luteus*, y *M. luteus*-*P. brassicae*, mientras que en el resto de los tratamientos presentan un incremento considerable; finalmente, en la región de la raíz primaria observamos que aquellos consorcios que provocan la diferenciación del meristemo son los mismos que estimulan la expresión de *JAZ1:GUS*.

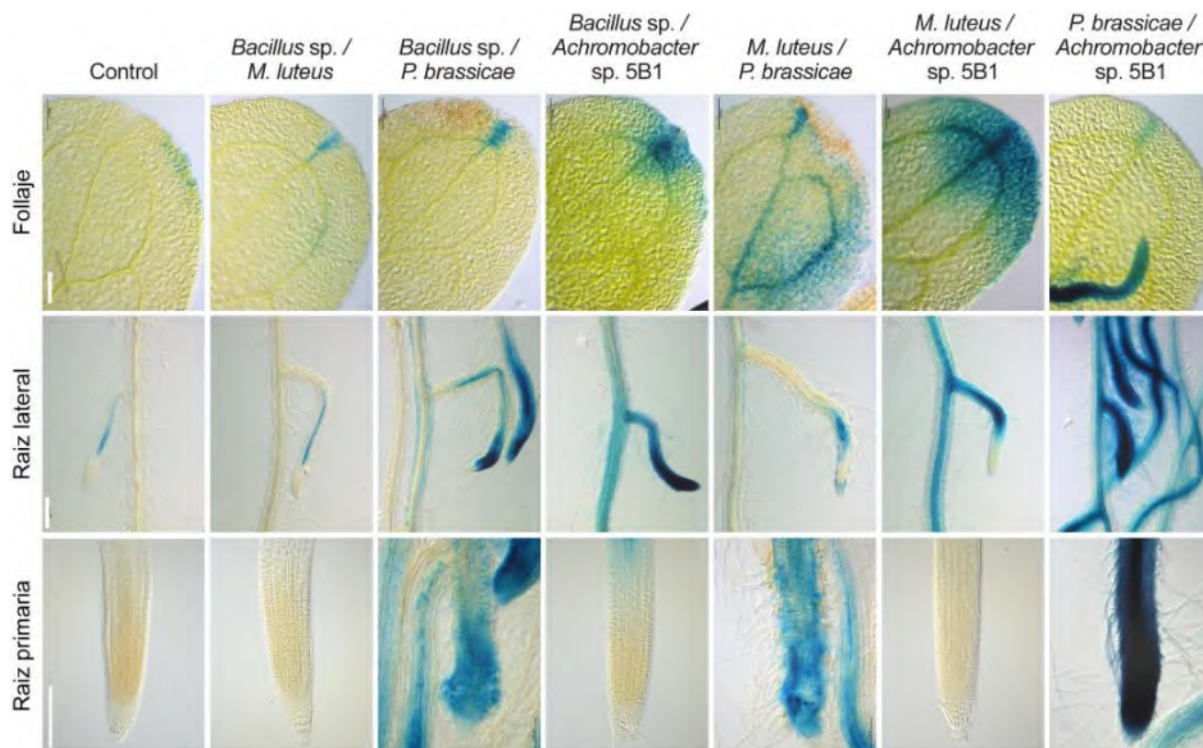


Figura 14. Expresión del gen reportero *JAZ1:GUS* involucrado en la respuesta de la defensa en plantas. Plantas de *Arabidopsis* con el transgén *JAZ1:GUS* estuvieron en contacto con las comunidades sintéticas bacterianas durante 7 días y posteriormente se realizó la reacción enzimática con X-Gluc (5 mM) para observar la expresión del transgén. Se pudo observar que las comunidades sintéticas producen un patrón de expresión diferente según el tratamiento que se aplique, siendo una excepción la comunidad *Bacillus* sp. – *M. luteus*, pues este tratamiento no induce la expresión del gen. Fotografías representativas de 18 plantas, barra de escala = 200 μ m.

Posteriormente, se evaluó también la expresión del gen *JAZ10:GFP* mediante microscopia confocal. Para esta línea transgénica se estudiaron la zona de diferenciación y raíz primaria. Se aprecia en la **Figura 15** cómo la inducción del gen coincide con la expresión de *JAZ1:GUS* y ocurre en ambas zonas con los consorcios

que contienen a *P. brassicae*, en donde se observa la raíz primaria diferenciada. En esta imagen es posible percibir de cerca que la biomasa que se cree corresponde a *P. brassicae* se concentra en la punta de la raíz primaria formando un biofilm que resalta. Así mismo, resulta interesante que la expresión de *JAZ10:GFP* en la zona de diferenciación se expresa de manera intercalada entre las filas de células, fenómeno que se puede apreciar con mayor claridad en el tratamiento *M. luteus* – *P. brassicae*. Finalmente, bajo la inoculación de *M. luteus* – *Achromobacter* sp. 5B1 se expresa el gen en el haz vascular.

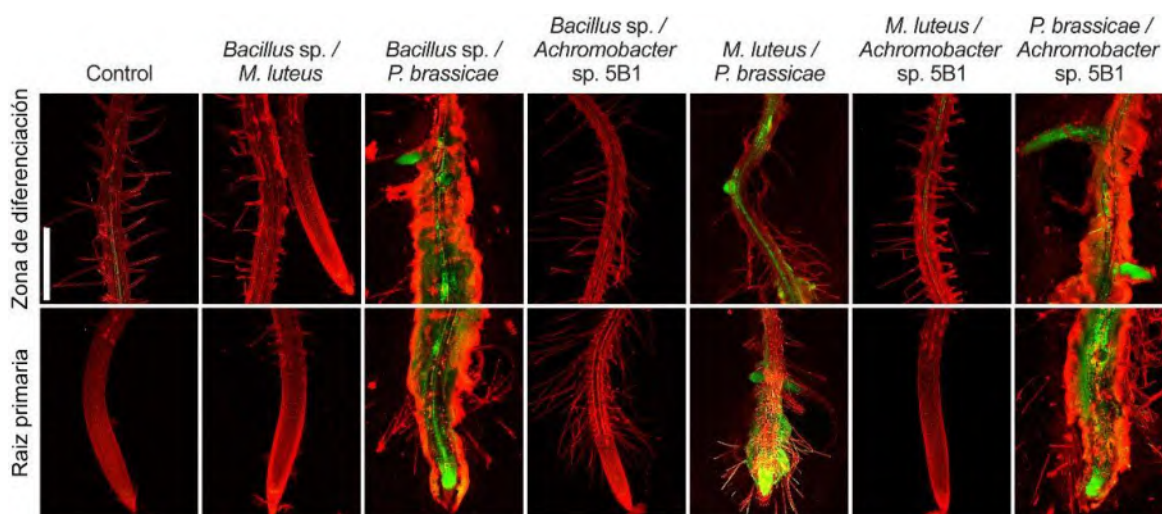


Figura 15. Uso de microscopía confocal para observar la expresión del transgén *JAZ10:GFP*. Plantas de *Arabidopsis* de la línea transgénica *JAZ10:GFP* fueron expuestas a la interacción con las comunidades sintéticas por 3 días. Las plantas se tiñeron con yoduro de propidio y se empleó microscopia confocal para observar zona de diferenciación y zona meristemática de la raíz. Barra de escala = 500 μ m.

8.7. La expresión del gen que codifica para el transportador de fosfato de alta afinidad *AtPT2* se modifica en función de los componentes de los consorcios

AtPT2 es un transportador de fosfato de alta afinidad inducible en *Arabidopsis thaliana* cuando esta se expone a estrés abiótico por deficiencia del nutriente. Empleando la línea transgénica *AtPT2:GUS* se rastreó la expresión del gen en condiciones óptimas de crecimiento. El tratamiento control únicamente muestra expresión en raíces laterales e hipocótilo, mientras que la inoculación con las

comunidades sintéticas provoca un incremento considerable en la inducción del gen en follaje, hipocótilo y raíces laterales; por otro lado, es resaltable que en raíz primaria ocurre un fenómeno distinto, los consorcios *Bacillus* sp.-*M. luteus*, *Bacillus* sp.-*Achromobacter* sp. 5B1 y *M. luteus*-*Achromobacter* sp. 5B1 no inducen la expresión del gen en la raíz primaria, pero aquellos consorcios que contienen a *P. brassicae*, en donde la raíz se encuentra diferenciada, se observa expresión en raíz primaria. Por lo que se puede sugerir que *P. brassicae*, aun estando en consorcio con otras bacterias, estimula la activación del sistema de absorción de fosfato (Figura 16).

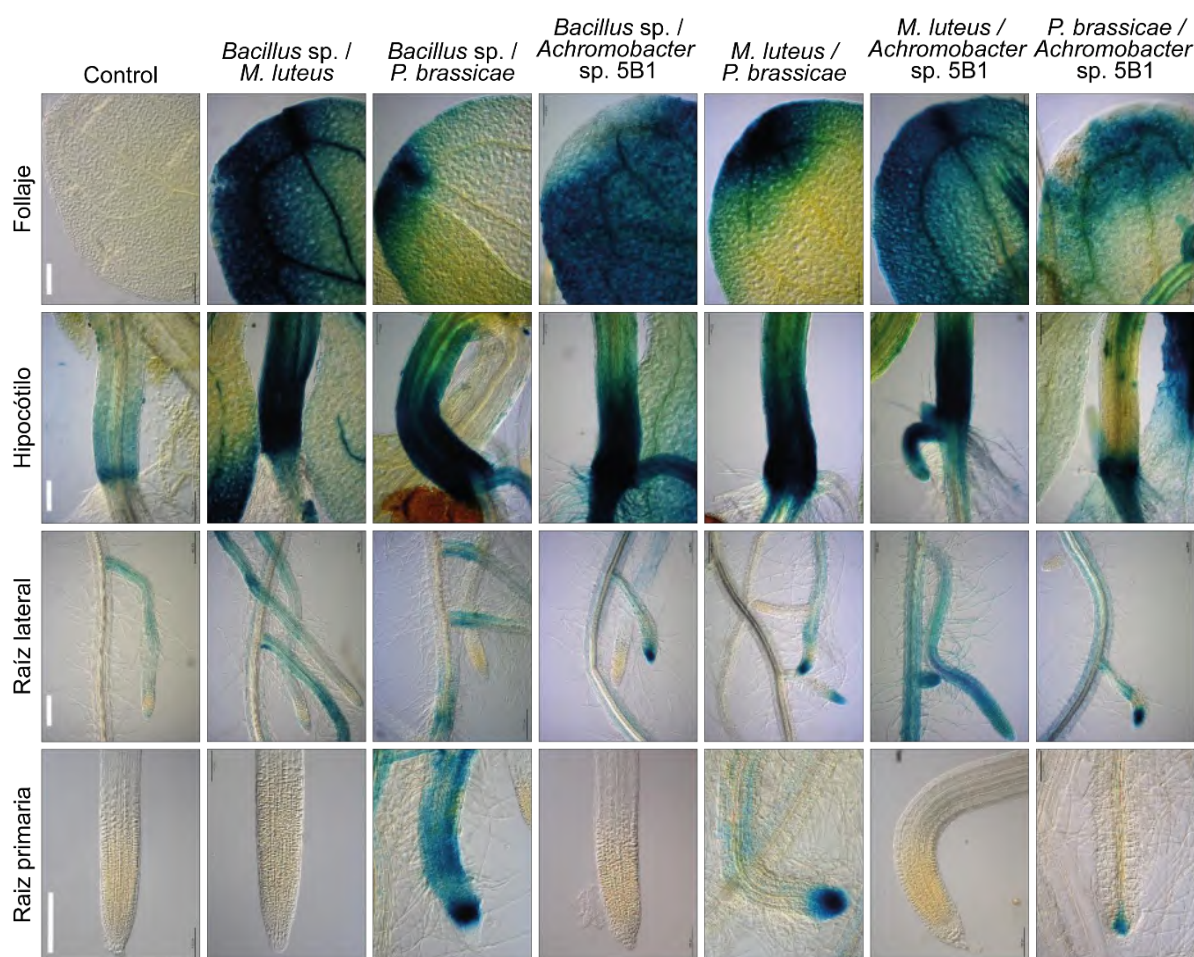


Figura 16. Expresión de *AtPT2:GUS*. La línea *AtPT2:GUS* expuesta por 7 días a las comunidades sintéticas en contacto directo fue tratada con X-Gluc 5 mM a 37 °C durante 14 horas. Se tomaron fotografías con Nomarsky del follaje, hipocótilo, raíz lateral y raíz primaria. Se observó estimulación de la expresión del sistema de absorción de fosfato en condiciones óptimas de desarrollo para la planta con todos los tratamientos. Barra de escala = 200 μ m.

8.8. Las comunidades sintéticas influyen en el desarrollo de la planta en sustrato artificial

Para evaluar el crecimiento de la planta en sustrato, plantas de *Arabidopsis* con 7 días en contacto con la inoculación de los consorcios se traspasaron a sustrato artificial previamente esterilizado y se realizaron mediciones semanales de varios parámetros hasta la semana 7 cuando finalizó el periodo de vida. Se analizó EL diámetro de la roseta, longitud de tallo floral y por último se realizó un conteo de tallos, cantidad de silicuas por planta, se promedió la cantidad de semillas por silicua y se calculó la cantidad de semilla total producida por planta para cada tratamiento. En las imágenes se observa el crecimiento de la roseta durante las 3 primeras semanas que es cuando se permite apreciar bien a la roseta. La **Figura 17A** permite visualizar la evolución en tamaño de esta parte de la planta en un sistema diferente al que se trabajó previamente. De manera complementaria, en la **Figura 17B** se presentan únicamente datos de la tercera semana, cuando la roseta alcanza su máximo tamaño, y se puede observar que los tratamientos con *Bacillus* sp.-*M. luteus*, *Bacillus* sp.-*Achromobacter* sp. 5B1, *M. luteus*-*P. brassicae* y *P. brassicae*-*Achromobacter* sp. 5B1 incrementan el tamaño de la roseta en un 30% aproximadamente, mientras que los consorcios *Bacillus* sp.-*P. brassicae* y *M. luteus*-*Achromobacter* sp. 5B1 mantienen el tamaño del diámetro de la roseta similar al tratamiento control.

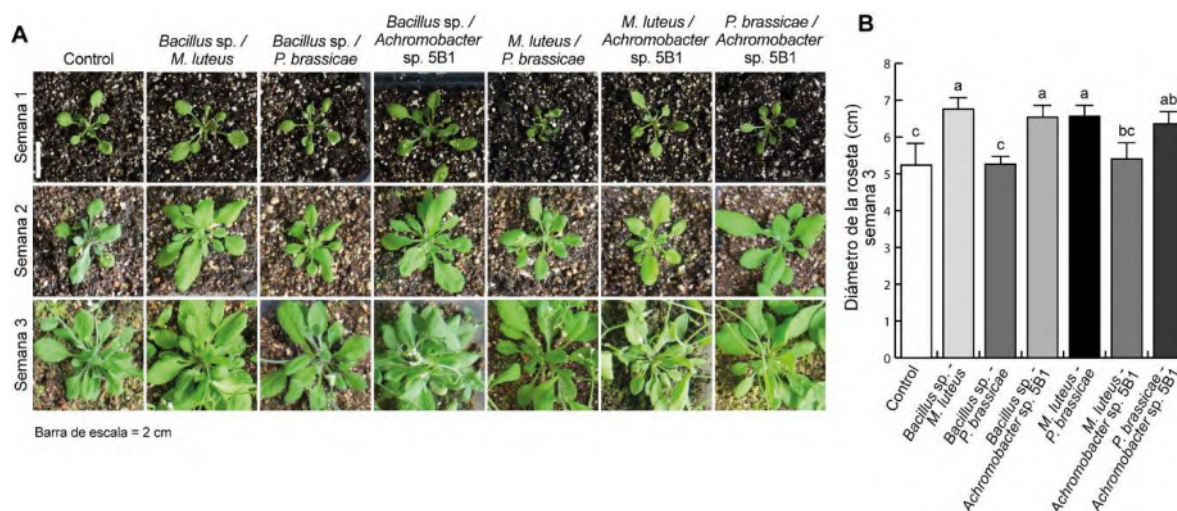


Figura 17. Análisis del diámetro de la roseta de *Arabidopsis*. **A)** Fotografías representativas de 12 plantas llevadas a sustrato artificial con la única inoculación de la primera etapa de vida de las plantas. Se analiza el diámetro de la roseta y se observan cambios desde la semana 1 hasta la semana 3. **B)** Análisis cuantitativo del diámetro de las rosetas en su mayor longitud en la semana 3.

Las fotografías de la **Figura 18A** visualizan el desarrollo foliar, mientras que en las gráficas se aprecian los brotes iniciales de los tallos florales, que en la semana 2 ya muestran diferencias significativas entre los tratamientos, siendo más claros para la comunidad sintética *Bacillus* sp.-*Achromobacter* sp. 5B1 que incrementa aproximadamente tres veces su tamaño en comparación con el tratamiento control (**Figura 18B**) y el tamaño máximo de la longitud de los tallos florales alcanzado en la semana 5, en donde se refleja que el consorcio *Bacillus* sp.-*Achromobacter* sp. 5B1 fue el que más promovió la elongación del tallo floral, seguido por los consorcios *Bacillus* sp.-*M. luteus*, *M. luteus*-*Achromobacter* sp. 5B1 y *P. brassicae*-*Achromobacter* sp. 5B1 que aunque tienden a ser mayores que en el tratamiento control, no presentan diferencia significativa con este (**Figura 18C**). Por el contrario, el consorcio *Bacillus* sp.-*P. brassicae* provoca una tendencia hacia la disminución en la longitud del tallo floral, aunque no implica una diferencia significativa.

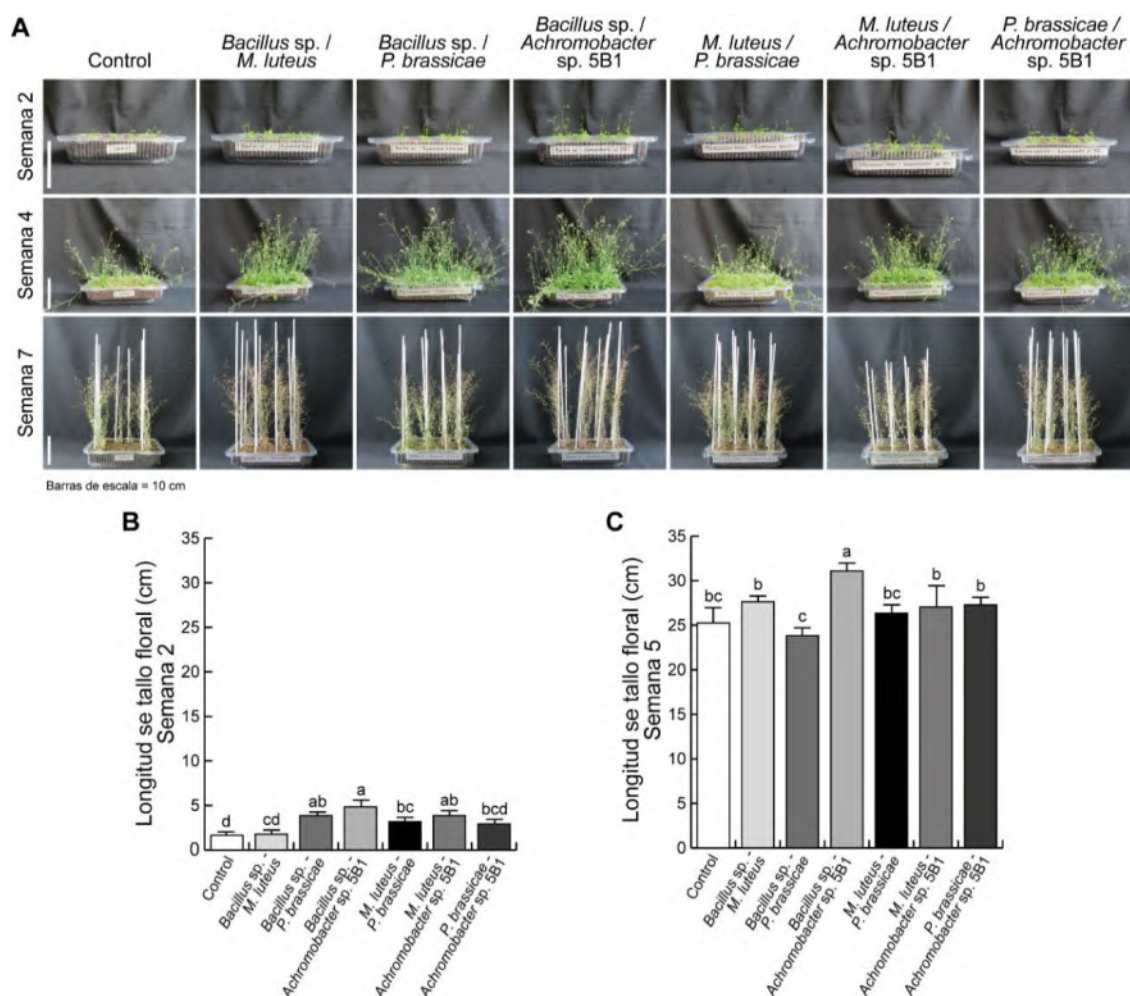


Figura 18. Efecto de las comunidades sintéticas en el desarrollo vegetativo y reproductivo de *Arabidopsis*. Las plantas silvestres (Col-0) en interacción por 7 días con las comunidades sintéticas fueron transferidas a sustrato artificial estéril para observar semanalmente **A)** el desarrollo de las plantas de *Arabidopsis* inoculadas con las comunidades sintéticas. Barra de escala = 10 cm **B)** Longitud del tallo floral principal de las plantas en la semana 2, se aprecian diferencias estadísticamente significativas, **C)** Longitud total alcanzada por el tallo floral primario en la semana 5. Se empleó la prueba Fisher con $p \leq 0.05$.

Posteriormente, se realizó un conteo de tallos, silicuas por planta, semillas por silicua y un cálculo de la cantidad de semillas totales. En la **Figura 19** se muestran las gráficas donde se aprecia los efectos en la cantidad de tallos de las inoculaciones de *Bacillus* sp.-*M. luteus*, *M. luteus*-*P. brassicae*, *M. luteus*-*Achromobacter* sp. 5B1 y *P. brassicae*-*Achromobacter* sp. 5B1 (**Figura 19A**). El tratamiento que obtuvo mayor cantidad de silicuas fue *Bacillus* sp.-*Achromobacter* sp. 5B1 que, aunque no presenta diferencia significativa con el tratamiento control

se observa la tendencia de producción desde esta gráfica, posteriormente los inóculos *Bacillus* sp.-*M. luteus*, *M. luteus*-*P. brassicae* y *P. brassicae*-*Achromobacter* sp. 5B1 tuvieron una producción de semillas similar al control, mientras que las comunidades con *Bacillus* sp.-*P. brassicae* y *M. luteus*-*Achromobacter* sp. 5B1 formaron menor cantidad de silicuas (**Figura 19B**). En la **Figura 19C** se aprecian tres tratamientos con mayor cantidad de semillas contenidas en la silicua, que corresponden a *Bacillus* sp.-*M. luteus*, *Bacillus* sp.-*Achromobacter* sp. 5B1 y *M. luteus*-*P. brassicae*, mientras que el resto presentan una generación de semillas similar al tratamiento control. Por último, en el panel D se muestra el cálculo de la producción total de semilla usando el promedio de semillas por silicua multiplicado por la cantidad de silicuas por planta, se obtuvieron datos en millares donde el consorcio *Bacillus* sp.-*Achromobacter* sp. 5B1 tuvo la mayor producción, seguido por *Bacillus* sp.-*M. luteus*, y luego *M. luteus*-*P. brassicae* y *P. brassicae*-*Achromobacter* sp. 5B1 con un rendimiento similar al control, finalizando con las inoculaciones de *Bacillus* sp.-*P. brassicae* y *M. luteus*-*Achromobacter* sp. 5B1 que mostraron un decremento en el rendimiento total de semilla.

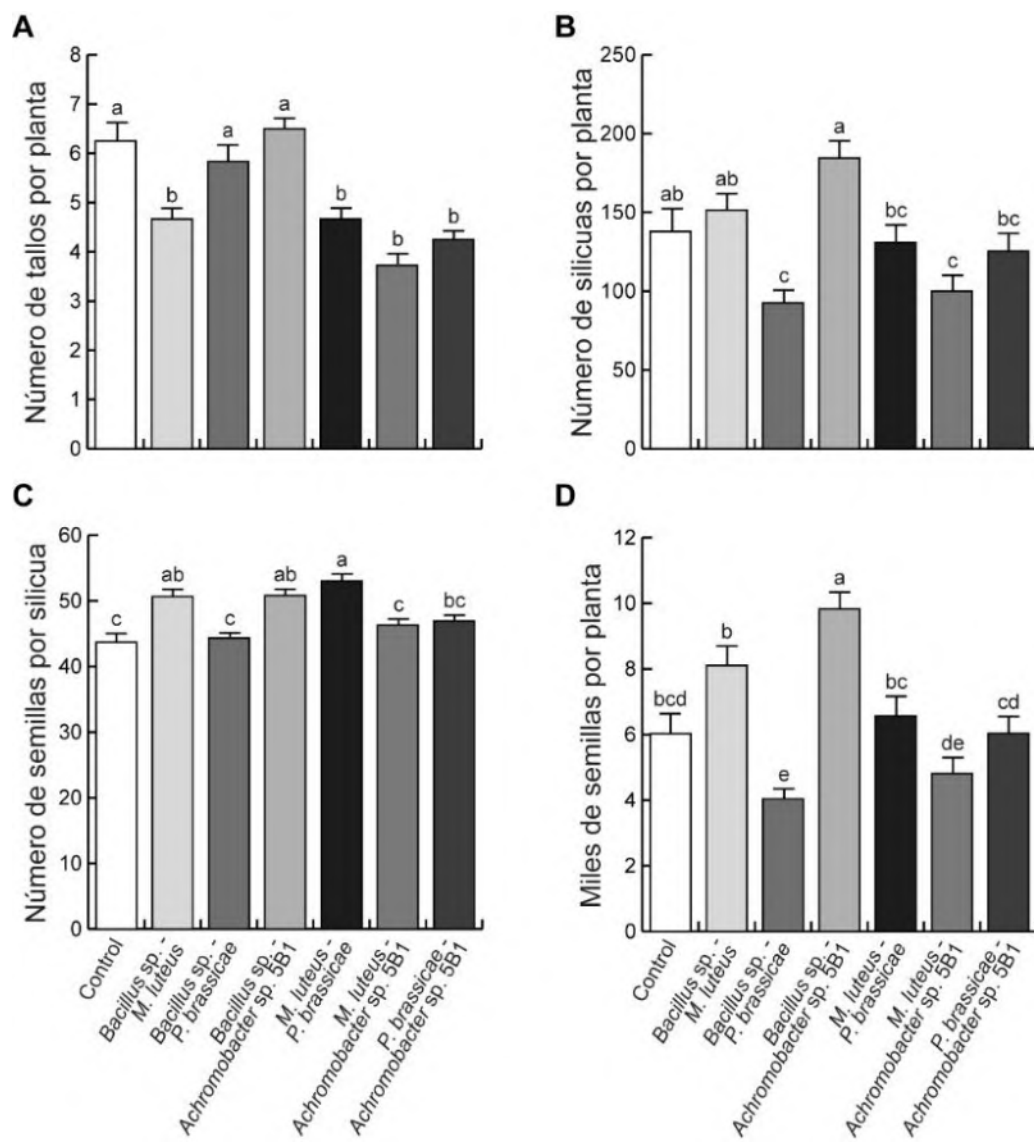


Figura 19. Análisis del efecto de las comunidades sintéticas en el rendimiento. En las plantas llevadas a sustrato artificial, al finalizar su ciclo de vida se llevó a cabo el conteo de **A)** tallos que brotan de la roseta, **B)** silicuas totales por planta, **C)** semillas por siliqua y **D)** calculo de semillas por planta. Las barras en las graficas son promedios de 12 plantas y las barras representan error estándar. Se empleó prueba de Fisher con $p \leq 0.05$.

9. DISCUSIÓN

Las inoculaciones de *Arabidopsis* con las comunidades sintéticas en placa de Petri permitieron hacer una comparación de las respuestas fenotípicas lo que posibilitó entender lo que ocurre a nivel molecular en los tejidos de las plantas, ya que se aprecian dos tipos de raíz primaria, corta y larga. El análisis de la expresión de *CYCB1:GUS*, proteína que participa en la transición de la etapa G2 a M del ciclo celular, se observó que las raíces primarias cortas no presentan expresión del gen y se encuentran diferenciadas, relacionándose con la pérdida de la actividad mitótica y por tanto, el arresto de su crecimiento. Por otro lado, raíces largas controles o bacterizadas mantuvieron la división celular y su meristemo intacto. Cabe resaltar que las inoculaciones con *Bacillus* sp.-*Achromobacter* sp. 5B1 y *M. luteus*-*Achromobacter* sp. 5B1 incrementaron la expresión de *ARR5:GUS*, que indica actividad de citocininas, y de *DR5:GUS*, que evidencia respuesta a las auxinas. Aunque generalmente se menciona que estas fitohormonas funcionan de manera antagónica, existen estudios recientes en donde se demuestra la actividad conjunta de estas hormonas y su importante participación en el mantenimiento de los meristemos, por lo que observar en estos dos tratamientos la expresión incrementada de ambos genes podría implicar un balance o incluso un fenómeno hormonal activo en los meristemos de la raíz primaria.

El incremento en la expresión de *DR5:GUS* estaría relacionado con una mayor expresión de *CYCB1:GUS*, pues las auxinas promueven la división celular y contribuyen con el mantenimiento del meristemo (Ioio *et al.*, 2007; Seo *et al.*, 2021). En la Figura 14 es posible apreciar que la expresión de *CYCB1:GUS* está ocurriendo en células que podrían pertenecer a la endodermis. Por otro lado, retomando el fenotipo de raíz primaria corta, que se encuentra en estado de diferenciación, en donde no se observa expresión de los genes *ARR5:GUS* y *DR5:GUS*, se puede establecer una relación directa entre la ausencia de actividad de auxinas y citocininas en este órgano con la pérdida de la dominancia apical de la raíz, y el incremento de las raíces laterales como mecanismo compensatorio (Aloni *et al.*, 2004, 2006).

Los resultados mostraron que las comunidades sintéticas son capaces de inducir la respuesta a diferentes fitohormonas, como las auxinas, las citocininas y el ácido jasmónico, asociadas a diferentes procesos de la planta como desarrollo del sistema radicular, estimulación de la diferenciación celular y respuestas de defensa, respectivamente.

Se observó que la inoculación con todos los consorcios induce la expresión del sistema de absorción de fósforo, específicamente los consorcios *Bacillus* sp.-*P. brassicae*, *M. luteus*-*P. brassicae* y *P. brassicae*-*Achromobacter* sp. 5B1 expresaron *AtPT2:GUS* en la punta de la raíz a pesar de mostrarse diferenciada. A su vez, estas mismas inoculaciones expresaron *JAZ1:GUS* y *JAZ10:GFP* en raíz primaria; esto se correlaciona con lo reportado por Castrillo y col. (2017) donde mencionan una relación existente entre genes de respuesta a bajo fósforo y la inducción de la expresión de genes de defensa, específicamente relacionados con la vía del ácido jasmónico, lo que, a su vez impacta directamente sobre el contenido de fósforo acumulado en las plantas y sobre la composición del microbioma. Lo anterior podría sugerir que la inoculación con las comunidades sintéticas permita una mayor absorción de fósforo en condiciones adversas de este nutriente. Por otro lado, sería interesante probar el estado de defensa de la planta enfrentándola a agentes fitopatógenos para identificar si las comunidades sintéticas brindan protección contra este tipo de estrés biótico.

Para validar si los efectos observados en placa Petri se mantienen a lo largo de la vida de la planta evaluamos el desarrollo de plantas de *Arabidopsis* inoculadas con las comunidades sintéticas crecidas ahora en un sustrato artificial previamente esterilizado. Se analizaron algunos parámetros semanalmente y se pudo comprobar que la respuesta de la planta es, como bien se sabe, adaptativa. No se realizó ninguna reinoculación, siendo así que lo que observamos es solo el resultado de un único acercamiento planta-comunidad sintética por 7 días. En esta parte se presentaron algunas variaciones en los efectos que tuvieron los tratamientos, diferente a lo que esperábamos, no todos promovieron el desarrollo vegetal, comenzando por las rosetas donde únicamente 4 tratamientos incrementaron el

diámetro, sin embargo, al complementar este análisis con la longitud del tallo floral no es un aumento en todo el cuerpo de la planta, pues solo una coincide con el incremento. Considerando también la producción de frutos, únicamente una comunidad resultó promotora del crecimiento vegetal, la conformada por *Bacillus* sp.-*Achromobacter* sp. 5B1. Este fenómeno es interesante, pues a pesar de que las cuatro bacterias han sido caracterizadas como PGPRs la interacción planta-bacteria-bacteria no resultó positiva para la planta salvo un solo caso que es el mismo que presentó expresión incrementada de *CYCB1:GUS*, *DR5:GUS* y *ARR5:GUS*, lo que coincide con la participación de auxinas y citocininas en el desarrollo no solo de la raíz, sino también de tejidos aéreos (Shani *et al.*, 2006).

La premisa de que en las comunidades sintéticas sus componentes trabajan de manera sinérgica no se cumple en nuestro análisis, es pertinente resaltar el gran número de variables que podrían afectar la respuesta vegetal a la inoculación como la colonización efectiva de la planta, la tolerancia a los exometabolitos de las otras bacterias, la permanencia de las especies bacterianas y la competencia (Martins *et al.*, 2023). En este caso, *Achromobacter* sp. 5B1 fue aislado de la rizósfera de un Mesquite en una poza salada con temperaturas elevadas en el desierto de Chihuahua; *Bacillus* sp.LC390B se tomó de la rizósfera de un cultivo de Maíz en Michoacán que presentaba suelo alcalino; *Micrococcus luteus* LS590 fue adquirida de la rizósfera de un cultivo de Maíz en otra región de Michoacán y finalmente la cepa de *Pseudomonas brassicae* H4-45 se aisló de una lombricomposta, es decir, todas las bacterias tienen orígenes y características diferentes aunque, con base en los antecedentes, comparten algunas características del sitio de origen o mecanismos de estimulación del crecimiento vegetal (Jiménez-Vázquez *et al.*, 2020; García-Cárdenas *et al.*, 2022; 2023, López-Hernández *et al.*, 2022).

En este trabajo se propone por primera vez una comunidad sintética con las bacterias *Bacillus* sp. LC390B y *Achromobacter* sp. 5B1 que al tener origen de suelo alcalino ambas bacterias, podría aportar protección a la planta en condiciones de salinidad, alcalinidad, o sequía. Por otro lado, se resalta la importancia de considerar diversos factores para la consolidación de una comunidad bacteriana sintética

funcional y la relevancia de realizar pruebas para evaluar el comportamiento ecológico de éstas si el objetivo final es aplicación en agricultura. También se abre una ventana de oportunidad y debate acerca de las legislaciones de bioinoculantes agrícolas en México.

10. CONCLUSIONES

El presente estudio tuvo como objetivo establecer comunidades sintéticas a partir de PGPRs previamente caracterizadas y evaluar su efecto sobre el desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. Los resultados mostraron que estas comunidades pueden ejercer efectos contrastantes sobre la planta, induciendo la activación de mecanismos de defensa y estimulando la promoción del crecimiento vegetal., concluyendo que, las comunidades sintéticas construidas estimulan el crecimiento y desarrollo de *Arabidopsis*. En particular, el consorcio conformado por *Bacillus sp.* y *Achromobacter sp.* 5B1 mostró un efecto positivo en la acumulación de biomasa y producción de frutos, mientras que el consorcio *Bacillus sp.*-*P. brassicae* presentó efectos inhibitorios.

Estos hallazgos subrayan la necesidad de considerar criterios específicos para el diseño efectivo de comunidades microbianas funcionales, tales como el origen ecológico de los aislados bacterianos, su compatibilidad metabólica y su efecto conjunto sobre el hospedero vegetal. En conjunto, este trabajo aporta evidencia útil para el desarrollo de estrategias microbianas aplicadas a la bioestimulación vegetal y sienta las bases para futuras investigaciones en microbiomas sintéticos con aplicaciones agrícolas.

11. REFERENCIAS

Abdel-Rahman HM, Salem AA, Moustafa MM, y El-Garhy HA (2017). A novice *Achromobacter* sp. EMCC1936 strain acts as a plant-growth-promoting agent. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(2), 61.

Adesemoye AO, y Kloepper JW (2009). Plant–microbe interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 1-12.

Alborn HT, Turlings TCJ, Jones TH, Stenhagen G, Loughrin JH, y Tumlinson JH (1997). An elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion. *Science*, 276, 945–949.

Alborn HT, Hansen TV, Jones TH, Bennett DC, Tumlinson JH, Schmelz EA, y Teal PE (2007). Disulfooxy fatty acids from the american bird grasshopper *Schistocerca americana*, elicitors of plant volatiles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 12976–12981.

Ali M, Ahmad Z, Ashraf MF, Dong W (2021). Maize endophytic microbial-communities revealed by removing PCR and 16S rRNA sequencing and their synthetic applications to suppress maize banded leaf and sheath blight. *Microbiological Research*, 242, 126639.

Aloni R, Aloni E, Langhans M y Ullrich CI (2006). Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. *Annals of Botany*, 97(5), 883–893.

Aloni R, Langhans M, Aloni E y Ullrich CI (2004). Role of cytokinin in the regulation of root gravitropism. *Planta*, 220:177–182.

Andres F, y Coupland G (2012). The genetic basis of flowering responses to seasonal cues. *Nature Reviews Genetics* 13, 627–639.

Antoun H, y Prévost D (2005). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. pp. 1-38. Dordrecht: Springer Netherlands.

Barea JM (2000). Rhizosphere and mycorrhiza of field crops. In *Biological resource management connecting Science and Policy*, pp. 81-92. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Benjamins R, y Scheres B (2008). Auxin: the looping star in plant development. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 443-65.

Berendsen RL, Vismans G, Yu K, Song Y, de Jonge R, Burgman WP, Burmølle M, Herschend J, Bakker PAHM, y Pieterse CMJ (2018). Disease-induced assemblage of a plant-beneficial bacterial consortium. *ISME J.* 12(6), 1496-1507.

Blair PM, Land ML, Piatek MJ, Jacobson DA, Lu TYS, Doktycz MJ, y Pelletier A (2018). Exploration of the biosynthetic potential of the *Populus* microbiome. *Msystems*, 3(5), 10-1128.

Bodenhause N, Somerville V, Desiro A, Walser JC, Borghi L, van Der Heijden MG, y Schlaeppi K (2019). Petunia-and *Arabidopsis*-specific root microbiota responses to phosphate supplementation. *Phytobiomes Journal*, 3(2), 112-124.

Busse HJ y Auling G (2015). *Achromobacter*. *Bergey's manual of systematics of Archaea and Bacteria*, 1-14.

Calvo P, Nelson LM, y Kloepper JW (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, 383(1), 3–41.

Carrión VJ, Perez-Jaramillo J, Cordovez V, Tracanna V, De Hollander M, Ruiz-Buck D, y Raaijmakers JM (2019). Pathogen-induced activation of disease-suppressive functions in the endophytic root microbiome. *Science*, 366(6465), 606-612.

Castrillo G, Teixeira PJPL, Paredes SH, Law TF, De Lorenzo L, Feltcher ME y Dangi JL (2017). Root microbiota drive direct integration of phosphate stress and immunity. *Nature*, 543(7646), 513-518.

Chagas FO, de Cassia Pessotti R, Caraballo-Rodríguez AM y Pupo MT (2018). Chemical signaling involved in plant–microbe interactions. *Chemical Society Reviews*, 47(5), 1652-1704.

Chang YC, Lee PH, Hsu CL, Wang WD, Chang YL, y Chuang HW (2024). Decoding the Impact of a Bacterial Strain of *Micrococcus luteus* on Arabidopsis Growth and Stress Tolerance. *Microorganisms*, 12(11), 2283.

Chen H, McCaig BC, Melotto M, He SY, y Howe GA (2004). Regulation of plant arginase by wounding, jasmonate, and the phytotoxin coronatine. *Journal of Biological Chemistry*, 279, 45998-46007.

Chen H, Wilkerson CG, Kuchar JA, Phinney BS, y Howe GA (2005). Jasmonate-inducible plant enzymes degrade essential amino acids in the herbivore midgut. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 18771-18772.

Chen MS (2008). Inducible direct plant defense against insect herbivores: a review. *Insect science*, 15(2), 101-114.

Clark FE (1949). Soil microorganisms and plant roots. *Advances in Agronomy*, 1, 241–288.

Colón-Carmona A, You R, Haimovitch Gal T, y Doerner P (1999). Spatio-temporal analysis of mitotic activity with a labile cyclin-GUS fusion protein. *Plant Journal*, 20:503–508.

Cornelis P (2010). Iron uptake and metabolism in pseudomonads. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 86, 1637-1645.

Corrales-Ramírez MSc LC, Caycedo-Lozano L, Gómez-Méndez MA, Ramos-Rojas SJ, y Rodríguez-Torres JN (2017). *Bacillus* spp: una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. *Nova*, 15(27), 46-65.

Curl EA, y Truelove B (1986). The rhizosphere. Springer, Berlin de Meyer G, Hofte M (1997) Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytis cinerea* on bean. *Phytopathology* 87:588–593.

D'Agostino IB, Deruere J, y Kieber JJ (2000). Characterization of the Response of the *Arabidopsis* Response Regulator Gene Family to Cytokinin, *Plant Physiologist* 124, 1706–1717.

Dangl JL, y McDowell JM (2006). Two modes of pathogen recognition by plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(23), 8575-8576.

De Vrieze M, Germanier F, Vuille N, y Weisskopf L (2018). Combining different potato-associated *Pseudomonas* strains for improved biocontrol of *Phytophthora infestans*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2573.

Delmotte N, Knief C, Chaffron S, Innerebner G, Roschitzki B, Schlapbach R, y Vorholt JA (2009). Community proteogenomics reveals insights into the physiology of phyllosphere bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(38), 16428-16433.

Demole E, Lederer E, y Mercier D (1962). Isolement et détermination de la structure du jasmonate de méthyle, constituant odorant caractéristique de l'essence de jasmin. *Helvetica Chimica Acta*, 45, 675–685.

Dicke M, y van Poecke RM (2002). 13 Signalling in plant-insect interactions: signal. *Plant Signal Transduction*, 38, 289.

Doss RP, Oliver JE, Proebsting WM, Potter SW, Kuy S, Clement SL, Williamson RT, Carney JR, y DeVilbiss ED (2000). Bruchins: Insect-derived plant regulators that stimulate neoplasm formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 6218–6223.

Dubey A, Kumar A, Khan ML, y oPayasi DK (2021). Plant growth-promoting and bio-control activity of *Micrococcus luteus* strain AKAD 3–5 isolated from the soybean (*Glycine max* (L.) Merr) rhizosphere. *The Open Microbiology Journal*, 15(1), 188-197.

Eijsackers H, Beneke P, Maboeta M, Louw JPE, y Reinecke AJ (2005). The implications of copper fungicide usage in vineyards for earthworm activity and resulting sustainable soil quality. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(1), 99-111.

Farrel LB, y Beachy RN (1990). Manipulation of β -glucuronidase for use as a reporter in vacuolar targeting studies. *Plant Molecular Biology*, 15, 680-685.

Ferry N, Edwards MG, Gatehouse JA, y Gatehouse AMR (2004). Plant-insect interactions: Molecular approaches to insect resistance. *Current Opinion in Biotechnology*, 15, 155-161.

Fitzpatrick CR, Mustafa Z, y Viliunas J (2019). Soil microbes alter plant fitness under competition and drought. *Journal of Evolutionary Biology*, 32(5), 438-450.

Flor HH (1956). The Complementary Genic Systems in Flax and Flax Rust. *Advances in Genetics*. 8, 29–54.

Gamalero E, y Glick BR (2011). Ethylene and abiotic stress tolerance in plants. In *Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change*, pp. 395-412. New York, NY: Springer New York.

Garbeva, P, van Elsas JD, y van Veen JA (2008). Rhizosphere microbial community and its response to plant species and soil history. *Plant Soil*, 302, 19–32.

García-Cárdenas E, Ortiz-Castro R, Ruiz-Herrera LF, Valencia-Cantero E, y López-Bucio J (2023). *Bacillus* sp. LC390B from the maize rhizosphere improves plant biomass, root elongation, and branching and requires the phytochromes PHYA and PHYB for phytostimulation. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(5), 3056-3070.

García-Cárdenas E, Ortiz-Castro R, Ruiz-Herrera LF, Valencia-Cantero E, y López-Bucio J (2022). *Micrococcus luteus* LS570 promotes root branching in Arabidopsis via decreasing apical dominance of the primary root and an enhanced auxin response. *Protoplasma*, 259(5), 1139-1155.

Gaspar T, Kevers C, Penel C, Greppin H, Reid DM, y Thorpe TA (1996). Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 32(4), 272-289.

Gehring CA, Sthultz CM, Flores-Rentería L, Whipple AV y Whitham TG (2017). Tree genetics defines fungal partner communities that may confer drought tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(42), 11169-11174.

Gibson SI (2004). Sugar and phytohormone response pathways: Navigating a signalling network. *Journal of Experimental Botany*, 55, 253–264.

Goswami D, Dhandhukia P, Patel P, y Thakker JN (2014). Screening of PGPR from saline desert of Kutch: growth promotion in *Arachis hypogea* by *Bacillus licheniformis* A2. *Microbiological Research*, 169(1), 66-75.

Gracioso LH, Vieira PB, Baltazar MP, Avanzi IR, Karolski B, Nascimento CA, y Perpetuo EA (2019). Removal of phenolic compounds from raw industrial wastewater by *Achromobacter* sp. isolated from a hydrocarbon-contaminated area. *Water and Environment Journal*, 33(1), 40-50.

Grayston SJ, Wang SQ, Campbell CD, y Edwards AC (1998). Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 30, 369–378.

Großkopf T, y Soyer OS (2014). Synthetic microbial communities. *Current Opinion in Microbiology*, 18, 72-77.

Grunewald W, Vanholme B, Pauwels L, Plovie E, Inze D, Gheysen G, y Goossens A (2009) Expression of the *Arabidopsis* jasmonate signalling repressor JAZ1/TIFY10A is stimulated by auxin. *EMBO reports*, 10, 923-928.

Hammond JP, y White PJ (2008). Sucrose transport in the phloem: Integrating root responses to phosphorus starvation. *Journal of Experimental Botany*, 59, 93–109.

Han GZ (2019). Origin and evolution of the plant immune system. *New Phytologist*, 222(1), 70-83.

Haverkort AJ, Boonekamp PM, Hutten R, Jacobsen E, Lotz LA, y Kessel GJ (2008). Societal costs of late blight in potato and prospects of durable resistance through cisgenic modification. *Potato Research*, 51, 47–57.

Helfrich EJ, Vogel CM, Ueoka R, Schäfer M, Ryffel F, Müller DB, y Vorholt JA (2018). Bipartite interactions, antibiotic production and biosynthetic potential of the *Arabidopsis* leaf microbiome. *Nature Microbiology*, 3(8), 909-919.

Herrera Paredes S, Gao T, Law TF, Finkel OM, Mucyn T, Teixeira PJPL, y Castrillo G (2018). Design of synthetic bacterial communities for predictable plant phenotypes. *PLoS Biology*, 16(2), e2003962.

Hestrin R, Hammer EC, Mueller CW, y Lehmann J (2019). Synergies between mycorrhizal fungi and soil microbial communities increase plant nitrogen acquisition. *Communications Biology*, 2(1), 233.

Hirose N, Takei K, Kuroha T, Kamada-Nobusada T, Hayashi H, y Sakakibara H (2008). Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation. *Journal of Experimental Botany*, 59, 75–83.

Holt *et al.* 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. Lippincott Williams y Wilkins; 9na edición.

Ibekwe AM, Poss JA, Grattan SR, Grieve CM, y Suarez D (2010). Bacterial diversity in cucumber (*Cucumis sativus*) rhizosphere in response to salinity, soil pH, and boron. *Soil Biology and Biochemistry*, 42, 567–575.

Ioio RD, Linhares FS, Scacchi E, Casamitjana-Martinez E, Heidstra R, Costantino P, y Sabatini S (2007). Cytokinins determine *Arabidopsis* root-meristem size by controlling cell differentiation. *Current Biology*, 17(8), 678-682.

Jeffery S, Gardi C, Jones A, Montanarella L, Marmo L, Miko L, Ritz K, Peres G, Roombke J, y van der Putten WH (2010). The soil environment. In: *European Atlas of Soil Biodiversity*, pp 17–48.

Jiang G, Zhang Y, Gan G, Li W, Wan W, Jiang Y, y Dini-Andreote F (2022). Exploring rhizo-microbiome transplants as a tool for protective plant-microbiome manipulation. *ISME Communications*, 2(1), 10.

Jiménez-Vázquez KR, García-Cárdenas E, Barrera-Ortiz S, Ortiz-Castro R, Ruiz-Herrera LF, Ramos-Acosta BP, y López-Bucio J (2020). The plant beneficial rhizobacterium *Achromobacter* sp. 5B1 influences root development through auxin signaling and redistribution. *The Plant Journal*, 103(5), 1639-1654.

Jiménez-Vázquez KR, López-Bucio JS, Ruíz-Herrera LF, y López-Bucio J (2025). Root cap transcription factors control directional root growth in *Arabidopsis* seedlings in response to the plant growth-promoting rhizobacterium *Achromobacter* sp. 5B1. *The Plant Journal*, 122(4), e70226.

- Jones JDG, y Dangl JL (2006). The plant immune system. *Nature*, 444, 323–329.
- Joshi P, y Bhatt AB (2011). Diversity and function of plant growth promoting rhizobacteria associated with wheat rhizosphere in North Himalayan region. *International Journal of Environmental Sciences*, 1(6), 1135.
- Kang SM, Khan AL, You YH, Kim JG, Kamran M, y Lee IJ (2014). Gibberellin production by newly isolated strain *Leifsonia soli* SE134 and its potential to promote plant growth. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 106–112.
- Karthikeyan AS, Varadarajan DK, Mukatira UT, D'Urzo MP, Damsz B, y Raghothama KG (2002). Regulated expression of Arabidopsis phosphate transporters. *Plant physiology*, 130(1), 221-233.
- Kepinski S y Leyser O (2005). Plant development: Auxin in loops. *Current Biology*, 15, R208–R210.
- Kessler A, y Baldwin IT (2002). Plant responses to insect herbivory. *Annual Review of Plant Biology*, 53, 299-328.
- Kloepper JW, Ubana RR, Zehnder GW, Murphy JF, Sikora E, y Fernandez C (1999). Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. *Australasian Plant Pathology*, 28, 21–26.
- Kloepper JW, Zablotowick RM, Tipping EM, y Lifshitz R (1991). Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In: *The rhizosphere and plant growth*. Kluwer Academic Publishers, pp 315–326.
- Kong HG, Song GC, y Ryu CM (2019). Inheritance of seed and rhizosphere microbial communities through plant–soil feedback and soil memory. *Environment, Microbiology Reports*, 11(4), 479-486.
- Koornneef M, y Meinke D (2010). The development of Arabidopsis as a model plant. *The Plant Journal*, 61, 909–921.

Korenblum E, Dong Y, Szymanski J, Panda S, Jozwiak A, Massalha H, Meir S, Rogachev I, y Aharoni A (2020). Rhizosphere microbiome mediates systemic root metabolite exudation by root-to-root signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(7), 3874-3883.

Krämer U (2015). Planting molecular functions in an ecological context with *Arabidopsis thaliana*. *Elife*, 4, e06100.

Kubota C (2016). Growth, development, transpiration and translocation as affected by abiotic environmental factors. In *Plant Factory* (pp. 151-164). Academic Press.

Lau JA, y Lennon JT (2012). Rapid responses of soil microorganisms improve plant fitness in novel environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(35), 14058-14062.

Lazzem A, Lekired A, Ouzari HI, Landoulsi A, Chatti A, y El May A (2024). Isolation and characterization of a newly chrysene-degrading *Achromobacter aegrifaciens*. *International Microbiology*, 27(3), 857-869.

Levy A, Salas Gonzalez I, Mittelviefhaus M, Clingenpeel S, Herrera Paredes S, Miao J, y Dangl JL (2018). Genomic features of bacterial adaptation to plants. *Nature genetics*, 50(1), 138-150.

Leyser O (2018). Auxin signaling. *Plant Physiology*, 176, 465–479.

Li C, Xu M, Cai X, Han Z, Si J, y Chen D. (2022). Jasmonate Signaling Pathway Modulates Plant Defense, Growth, and Their Trade-Offs. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), 3945.

Liu H, Qiu Z, Ye J, Verma JP, Li J, y Singh BK (2022). Effective colonization by a bacterial synthetic community promotes plant growth and alters soil microbial community. *Journal of Sustainable Agriculture and Environment*, 1(1), 30-42.

Liu Y, Xu Z, Chen L, Xun W, Shu X, Chen Y, y Zhang, R. (2024). Root colonization by beneficial rhizobacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 48(1), fuad066.

Loake G, y Grant M (2007). Salicylic acid in plant defence-the players and protagonists. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(5), 466–472.

López-Bucio J, Cruz-Ramírez A, y Herrera-Estrella L (2003). The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current Opinion in Plant Biology*, 6(3), 280-287.

López-Hernández J, García-Cárdenas E, López-Bucio JS, Jiménez-Vázquez KR, de la Cruz H, Ferrera-Rodríguez O, y López-Bucio J (2023). Screening of phosphate solubilization identifies six *Pseudomonas* species with contrasting phytostimulation properties in *Arabidopsis* seedlings. *Microbial Ecology*, 86(1), 431-445.

Lu T, Ke M, Lavoie M, Jin Y, Fan X, Zhang Z, y Zhu YG (2018). Rhizosphere microorganisms can influence the timing of plant flowering. *Microbiome*, 6, 1-12.

Lundberg DS, Lebeis SL, Paredes SH, Yourstone S, Gehring J, y Malfatti S (2012). Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. *Nature*, 488(1), 86–90.

Lynch JM (1987). Microbial interactions in the rhizosphere. *Soil microorganisms*, 30, 33-41.

Lynch JM, y Whipps JM (1990). Substrate flow in the rhizosphere. *Plant Soil*, 129, 1-10.

MacDonald LM, Paterson E, Dawson LA, y McDonald AJS (2004). Short-term effects of defoliation on the soil microbial community associated with two contrasting *Lolium perenne* cultivars. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 489–498.

Macedo M, y Vola M (2008). Principales grupos de bacilos Gram positivos aerobios. *Temas de bacteriología y virología médica*. 2ed. Editorial FEFMUR, Universidad de la República, Instituto de Higiene, Capítulo.

Maeda H, y Dudareva N (2012). The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 63, 73–105.

Maekawa T, Kufer TA, y Schulze-Lefert P (2011). NLR functions in plant and animal immune systems: so far and yet so close. *Nature Immunology*, 12, 817–826.

Malamy JE (2005). Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. *Plant, Cell & Environment*, 28, 67–77.

Malamy JE (2010). Lateral Root Development. In *Root Development*, pp. 83–126.

Malamy JE, Benfey PN (1997). Organization and cell differentiation in lateral roots of *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 124(1), 33–44.

Mandyam KG, Roe J, y Jumpponen A (2013). *Arabidopsis thaliana* model system reveals a continuum of responses to root endophyte colonization. *Fungal Biology*, 117(4), 250-260.

Marschner, P. (2012). Rhizosphere biology. In *Marschner's mineral nutrition of higher plants*, pp. 369-388. Academic Press.

Martins SJ, Pasche J, Silva HAO, Selten G, Savastano N, Abreu LM, Bais HP, Garrett KA, Kraisitudomsook N, Pieterse CMJ, y Cernava T (2023). The use of synthetic microbial communities to improve plant health. *Phytopathology*, 113(8), 1369–1379.

McCann HC, Li L, Liu Y, Li D, Pan H, Zhong C, y Huang H (2017). Origin and evolution of the kiwifruit canker pandemic. *Genome Biology and Evolution*, 9(4), 932-944.

Meinke DW, Cherry JM, Dean C, Rounsley SD, y Koornneef M (1998). *Arabidopsis thaliana*: a model plant for genome analysis. *Science*, 282(5389), 662-682.

Mendes R, Kruijt M, De Bruijn I, Dekkers E, Van Der Voort M, Schneider JH, y Raaijmakers JM (2011). Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science*, 332(6033), 1097-1100.

Mishra AK, y Baek KH (2021). Salicylic Acid Biosynthesis and Metabolism: A Divergent Pathway for Plants and Bacteria. *Biomolecules*, 11(5), 705.

Mishra BS, Singh M, Aggrawal P, y Laxmi A (2009). Glucose and auxin signaling interaction in controlling *Arabidopsis thaliana* seedlings root growth and development. *PLoS ONE*, 4, e4502.

Miyawaki K, Tarkowski P, Matsumoto-Kitano M, Kato T, Sato S, Tarkowska D, Tabata S, Sandberg G, y Kakimoto T (2006). Roles of Arabidopsis ATP/ADP isopentenyltransferases and tRNA isopentenyltransferases in cytokinin biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 16598–16603.

Mohamed R, Groulx E, Defilippi S, Erak T, Tambong JT, Tweddell RJ, y Avis TJ (2017). Physiological and molecular characterization of compost bacteria antagonistic to soil-borne plant pathogens. *Canadian Journal of Microbiology*, 63(5), 411-426.

Molina-Romero D, Baez A, Quintero-Hernández V, Castañeda-Lucio M, Fuentes-Ramírez LE, Bustillos-Cristales MDR, y Muñoz-Rojas J (2017). Compatible bacterial mixture, tolerant to desiccation, improves maize plant growth. *PloS ONE*, 12(11), e0187913.

Molina-Romero D, Bustillos-Cristales MDR, Rodríguez-Andrade O, Morales-García YE, Santiago-Saenz Y, y Castañeda-Lucio M (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biológicas*, 17, 24–34.

Mousavi SA, Chauvin A, Pascaud F, Kellenberger S, y Farmer EE (2013). GLUTAMATE RECEPTOR-LIKE genes mediate leaf-to-leaf wound signalling. *Nature*, 500, 422–426.

Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini MT, Landi L, Pietramellara G, Renella G, y Valori F (2007). Microbial diversity and microbial activity in the rhizosphere. *Ciencia del Suelo*, 25, 89–97.

Nemhauser JL (2008). Dawning of a new era: photomorphogenesis as an integrated molecular network. *Current Opinion in Plant Biology*, 11, 4–8.

O'Doherty I, Yim JJ, Schmelz EA, y Schroeder FC (2011). Synthesis of caeliferins, elicitors of plant immune responses: Accessing lipophilic natural products via cross metathesis. *Organic Letters*, 13, 5900–5903.

Oliver JE, Doss RP, Williamson RT, Carney JR, y DeVilbiss ED (2000). Bruchins-mitogenic 3-(hydroxypropanoyl) esters of long chain diols from weevils of the bruchidae. *Tetrahedron*, 56, 7633–7641.

Pang PP, y Meyerowitz EM (1987). *Arabidopsis thaliana*: a model system for plant molecular biology. *Bio/Technology*, 5(11), 1177-1181.

Paterson E, Gebbing T, Abel C, Sim A, y Telfer G (2007). Rhizodeposition shapes rhizosphere microbial community structure in organic soil. *New Phytologist*, 173, 600–610.

Petricka JJ, Winter CM, y Benfey PN (2012). Control of *Arabidopsis* root development. *Annual Review of Plant Biology*, 63, 563-590.

Pieterse CM, Zamioudis C, Berendsen RL, Weller DM, Van Wees SC, y Bakker PA (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology*, 52(1), 347-375.

Pillitteri LJ, Peterson KM, Horst RJ, y Torii KU (2011). Molecular profiling of stomatal meristemoids reveals new component of asymmetric cell division and commonalities among stem cell populations in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 23, 3260-3275.

Pinton R, Varanini Z, y Nannipieri P (2000). The rhizosphere as a site of biochemical interactions among soil components, plants and microorganisms. In *The Rhizosphere*, pp 17-34.

Puyen ZM, Villagrasa E, Maldonado J, Diestra E, Esteve I, y Solé A (2012). Biosorption of lead and copper by heavy-metal tolerant *Micrococcus luteus* DE2008. *Bioresource Technology*, 126, 233-237.

Rahman A, Bannigan A, Sulaman W, Pechter P, Blancaflor EB, y Baskin TI (2007). Auxin, actin and growth of the *Arabidopsis thaliana* primary root. *Plant Journal*, 50, 514–528.

Ravanbakhsh M, Sasidharan R, Voeselek LA, Kowalchuk GA, y Jousset A (2018). Microbial modulation of plant ethylene signaling: ecological and evolutionary consequences. *Microbiome*, 6(1), 1-10.

Rawat S, Izhari A, y Khan A (2011) Bacterial diversity in wheat rhizosphere and their characterization. *Advances in Applied Science Research*, 2, 351–356.

Richardson AE, y Simpson RJ (2011). Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. *Plant physiology*, 156(3), 989-996.

Rutherford ST, y Bassler BL (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(11), a012427.

Santhanam R, Luu VT, Weinhold A, Goldberg J, Oh Y, y Baldwin IT (2015). Native root-associated bacteria rescue a plant from a sudden-wilt disease that emerged during continuous cropping. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(36), E5013-E5020.

Schiefelbein JW, y Benfey PN (1991). The development of plant roots: New approaches to underground problems. *Plant Cell*, 3, 1147–1154.

Schmelz EA, Carroll MJ, LeClere S, Phipps SM, Meredith J, Chourey PS, Alborn HT, y Teal PE (2006). Fragments of ATP synthase mediate plant perception of insect attack. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 8894–8899.

Schmelz EA, LeClere S, Carroll MJ, Alborn HT, y Teal PE (2007). Cowpea chloroplastic ATP synthase is the source of multiple plant defense elicitors during insect herbivory. *Plant Physiology*, 144, 793–805.

Seo DH, Jeong H, Choi YD, y Jang G (2021). Auxin controls the division of root endodermal cells. *Plant physiology*, 187(3), 1577–1586.

Shade A, Jacques MA, y Barret M (2017). Ecological patterns of seed microbiome diversity, transmission, and assembly. *Current Opinion in Microbiology*, 37, 15-22.

Sharp RE, Poroyko V, Hejlek LG, Spollen WG, Springer GK, Bohnert HJ, y Nguyen HT (2004). Root growth maintenance during water deficits: Physiology to functional genomics. *Journal of Experimental Botany*, 55, 2343–2351.

- Shayanthan A, Ordoñez PAC, y Oresnik, IJ (2022). The role of synthetic microbial communities (SynCom) in sustainable agriculture. *Frontiers in Agronomy*, 4, 896307.
- Shetty KG, Hetrick BAD, Figge DAH, y Schwab AP (1994). Effects of mycorrhizae and other soil microbes on revegetation of heavy metal contaminated mine spoil. *Environmental Pollution*, 86, 181–188.
- Song S, Qi T, Wasternack C, y Xie D (2014). Jasmonate signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 21, 112–119.
- Stitt M, y Zeeman SC (2012). Starch turnover: pathways, regulation and role in growth. *Current Opinion in Plant Biology*, 15, 282–292.
- Su J, Liang D, y Lian T (2018). Comparison of denitrification performance by bacterium *Achromobacter* sp. A14 under different electron donor conditions. *Chemical Engineering Journal*, 333, 320-326.
- Teale WD, Paponov IA, y Palme K (2006). Auxin in action: Signalling, transport and the control of plant growth and development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7, 847–859.
- Tejera-Hernández B, Rojas-Badía MM, y Heydrich-Pérez M (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 42(3), 131-138.
- Teixeira LC, Peixoto RS, Cury JC, Sul WJ, Pellizari VH, Tiedje J, y Rosado AS (2010). Bacterial diversity in rhizosphere soil from Antarctic vascular plants of Admiralty Bay, maritime Antarctica. *The ISME Journal*, 4(8), 989-1001.
- Tian B, Zhang C, Ye Y, Wen J, Wu Y, Wang H, y Zhang K (2017). Beneficial traits of bacterial endophytes belonging to the core communities of the tomato root microbiome. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 247, 149-156.
- Torres-Cortés G, Bonneau S, Bouchez O, Genthon C, Briand M, Jacques MA, y Barret M (2018). Functional microbial features driving community assembly during seed germination and emergence. *Frontiers in Plant Science*, 9, 902.

Trivedi P, Leach JE, Tringe SG, Sa T, y Singh BK (2020). Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology*, 18(11), 607-621.

Trivedi P, Trivedi C, Grinyer J, Anderson IC, y Singh BK (2016). Harnessing host-vector microbiome for sustainable plant disease management of phloem-limited bacteria. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1423.

Ulmasov T, Murfett J, Hagen G, y Guilfoyle TJ (1997). Aux/IAA proteins repress expression of reporter genes containing natural and highly active synthetic auxin response elements. *Plant Cell*, 9(11), 1963-1971.

Umadevi K, y Krishnaveni M (2013). Antibacterial activity of pigment produced from *Micrococcus luteus* KF532949. *International Journal of Chemical and Analytical Science*, 4(3), 149-152.

Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud ML, Touraine B, Moënné-Loccoz Y, Muller D, y Prigent-Combaret C (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science*. 4(1), 356.

Vargas-Ayala R, Rodríguez-Kábana R, Morgan-Jones G, McInroy JA, y Kloepper JW (2000). Shifts in soil microflora induced by velvetbean (*Mucuna deeringiana*) in cropping systems to control root-knot nematodes. *Biological Control*, 17(1), 11-22.

Verbon EH, y Liberman LM (2016). Beneficial microbes affect endogenous mechanisms controlling root development. *Trends in Plant Science*, 21(3), 218-229.

Verma V, Ravindran P, y Kumar PP (2016). Plant hormone-mediated regulation of stress responses. *BMC Plant Biology*, 16(1), 86.

Vilaine DF, Thibivilliers S, Kusiak C, Sauge MH, y Dinant S (2007). Involvement of the xyloglucan endotransglycosylase/hydrolases encoded by celery XTH1 and Arabidopsis XTH33 in the phloem response to aphids. *Plant Cell & Environment*, 30, 187-201.

Vílchez JI, García-Fontana C, Román-Naranjo D, González-López J, y Manzanera M (2016). Plant drought tolerance enhancement by trehalose production of desiccation-tolerant microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1577.

Voges MJ, Bai Y, Schulze-Lefert P, y Sattely ES (2019). Plant-derived coumarins shape the composition of an Arabidopsis synthetic root microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(25), 12558-12565.

Vorholt JA (2012). Microbial life in the phyllosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 10, 828–840

Vorholt JA, Vogel C, Carlström CI, y Müller DB (2017). Establishing causality: opportunities of synthetic communities for plant microbiome research. *Cell Host & Microbe*, 22(2), 142-155.

Wang C, Li Y, Li M, Zhang K, Ma W, Zheng L, y Liao H (2021). Functional assembly of root-associated microbial consortia improves nutrient efficiency and yield in soybean. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(6), 1021-1035.

Wasternack C, y Hause B (2013). Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany*. *Annals of botany*, 111(6), 1021–1058.

Watanabe E, Mano S, Hara-Nishimura I, Nishimura M, y Yamada K (2017). HSP90 stabilizes auxin receptor TIR1 and ensures plasticity of auxin responses. *Plant Signaling & Behavior*, 12, 1–11.

Wei Z, Gu Y, Friman VP, Kowalchuk GA, Xu, Y, Shen Q, y Jousset A (2019). Initial soil microbiome composition and functioning predetermine future plant health. *Science Advances*, 5(9), eaaw0759.

Weishuang Z, Yingheng FEI, y Yi H (2009). Soluble protein and acid phosphatase exuded by ectomycorrhizal fungi and seedlings in response to excessive Cu and Cd. *Journal of Environmental Sciences*, 21, 1667–1672.

Whitman WB, Goodfellow M, Kämpfer P, Busse H, Trujillo ME, Ludwig W, y Suzuki K (Eds.). 2012. *Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 5: The Actinobacteria*. Springer Science & Business Media.

Winter CM, Austin RS, Blanvillain-Baufume S, Reback MA, Monniaux M, Wu MF, Sang Y, Yamaguchi A, Yamaguchi N, y Parker JE (2011). LEAFY target genes reveal floral regulatory logic, cis motifs, and a link to biotic stimulus response. *Developmental Cell*, 20, 430–443.

Woodward AW, y Bartel B (2005). A receptor for auxin. *The Plant Cell*, 17(9), 2425-2429.

Woodward AW y Bartel B (2018). Biology in bloom: a primer on the *Arabidopsis thaliana* model system. *Genetics*, 208(4), 1337-1349.

Yamoune A, Cuyacot AR, Zdarska M, y Hejatko J (2021). Hormonal orchestration of root apical meristem formation and maintenance in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 72(19), 6768–6788.

Zhong Q, Hu H, Fan B, Zhu C, y Chen Z (2021). Biosynthesis and roles of salicylic acid in balancing stress response and growth in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11672.

Joseline Suhail Alejo Guerra

Construcción y evaluación de comunidades sintéticas de bacterias promotoras del crecimiento vegetal.pdf

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:520989888

Fecha de entrega

31 oct 2025, 8:03 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

31 oct 2025, 8:09 a.m. GMT-6

Nombre del archivo

Construcción y evaluación de comunidades sintéticas de bacterias promotoras del crecimiento v....pdf

Tamaño del archivo

3.4 MB

81 páginas

19.820 palabras

114.361 caracteres

36% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Fuentes principales

- 35%  Fuentes de Internet
- 28%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
60 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.
-  **Texto oculto**
4 caracteres sospechosos en N.º de página
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Maestría en Ciencias en Biología Experimental	
Título del trabajo	Creación y evaluación de comunidades sintéticas de de bacterias promotoras del crecimiento vegetal	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	Joseline Suhail Alejo Guerra	1418260d@umich.mx
Director	D.C. José López Bucio	jbucio@umich.mx
Codirector	-	-
Coordinador del programa	D.C. Mauro Manuel Martínez Pacheco	mae.cs.biologia.experimental@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	No	

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	No	
Traducción a otra lengua	Si	Encontrar términos adecuados en inglés para usar en el abstract
Revisión y corrección de estilo	No	
Análisis de datos	No	
Búsqueda y organización de información	No	
Formateo de las referencias bibliográficas	No	
Generación de contenido multimedia	No	
Otro	No	

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Joseline Suhail Alejo Guerra 
Lugar y fecha	Morelia, Michoacán a 30 de octubre de 2025