

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA



Identificación Molecular De Bacterias Promotoras De Crecimiento Vegetal Asociadas A La
Planta De Candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc)

Por:

ZAIDA JOHANA BASTIDOS PARRA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Buenvista, Saltillo, Coahuila, México

Marzo, 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA



Identificación Molecular De Bacterias Promotoras De Crecimiento Vegetal Asociadas A La
Planta De Candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc)

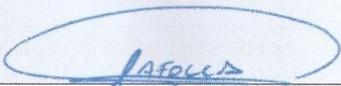
Por:

ZAIDA JOHANA BASTIDOS PARRA

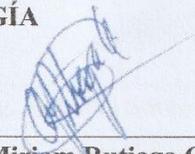
TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA


Dr. Julio César Tafolla Arellano

Asesor Principal


Dra. Olga Miriam Rutiaga Quiñones

Asesor Principal Externo

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Marzo, 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Identificación Molecular De Bacterias Promotoras De Crecimiento Vegetal Asociadas A La
Planta De Candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc)

Por:

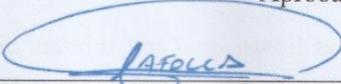
ZAIDA JOHANA BASTIDOS PARRA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

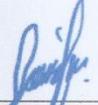
Aprobado por el Comité de Asesoría


Dr. Julio César Tafolla Arellano

Asesor Principal


Dra. Olga Miriam Rutiaga Quiñonez

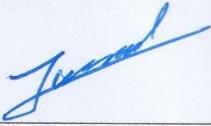
Asesora Principal Externa


Dr. Jesús Omar Díaz Rivas

Coasesor


Ing. Patricia Soria Venegas

Coasesora Externa


M.C. Sergio Sánchez Martínez

Coordinador de la División de Ingeniería



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Marzo, 2024

DERECHO DE AUTOR Y DECLARACIÓN NO PLAGIO

Todo material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor de los Estados Unidos Mexicanos, y pertenece al autor principal quien es el responsable directo y jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente. Así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa, organización, medio público o privado.

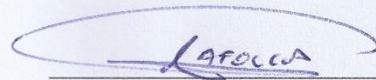
Atentamente

Ama Terra Mater



Zaida Johana Bastidos Parra

Autora Principal



Dr. Julio César Tafolla Arellano

Asesor Principal

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**.

A mi *Alma Terra Mater* la **Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”** por brindarme un lugar de aprendizaje impulsando mi crecimiento a lo largo mi carrera en nivel profesional y personal.

Al **Dr. Julio César Tafolla Arellano** quien me dio la oportunidad de desarrollar este proyecto, por la confianza, conocimiento y apoyo durante su tiempo compartido como profesor y mentor, gracias.

Agradezco mis coasesores en este proyecto **Dra. Olga Miriam Rutiaga Quiñonez**, a la **Ing. Patricia Sorio Venegas** y al **Dr. Jesús Omar Díaz Rivas** por su tiempo y conocimiento compartido.

A mi **familia** y **seres queridos** que desde la distancia rezaron por mí siempre, me brindaron palabras de ánimo y al volver me recibían con gran cariño.

A las grandes amistades que conocí durante mi estancia en la universidad, gracias por el apoyo, las risas y las experiencias. Si que se pasa más rápido el tiempo aprendiendo y disfrutando en equipo.

Agradezco al **Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular** por abrirme las puertas y permitirme haber sido parte de su equipo de trabajo. Así como al proyecto UAAAN-38111-425405001-0162 de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por el financiamiento para desarrollar esta tesis.

Agradezco al Laboratorio de Biología Molecular y Ecología Microbiana recibirme y enseñarme durante el poco tiempo que estuve de estancia.

DEDICATORIA

A los seres que me dieron la vida, mis padres **Benjamín Bastidos Martínez y Zaida Eleana Parra Juárez** gracias por llenar todos los días de mi vida de amor, por su fe y comprensión ante toda idea que surgiera en mi cabeza, criarme con valores y sueños. Ustedes son un gran impulso, hoy logro una meta importante que no sería posible sin su apoyo, los amo.

A mis hermanas **Dayanna Adriana y Brianna** que al llegar a este mundo llenaron mi vida de aventuras, espero ser un buen ejemplo para ustedes y tengan presente que con esfuerzo sueños y metas se cumplen. Ante las risas, enojos y abrazos las quiero siempre.

Al hombre de mi vida, **Luis Alejandro Reyes López** por amarme, escucharme con paciencia, apoyarme ante todo y creer siempre en mi capacidad para lograr lo que me propongo, por compartir tu vida a mí lado, de corazón, te amo.

Al niño que con su ternura y travesuras fue un rayito de sol en mi vida, **José Luis Figueroa Sáenz**.

A mis padrinos **Roberto Cabrera Rosales y Ana María Guadalupe Rodríguez Huerta** por su gran apoyo y cariño a lo largo de mi vida, los quiero.

A mi familia y seres queridos, en especial a mis abuelos paternos **Benjamín Bastidos Durán** (†) y **Belén Martínez Hernández**, a mi abuela materna **Martha Alejandrina Juárez Rodríguez** por consentirme y rezar por mí. A mis tías **Adriana Yadira Parra Juárez** y **Martha Bastidos Martínez** por su apoyo y el gran tiempo que paso a su lado.

ÍNDICE GENERAL DEL CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	V
DEDICATORIA	VI
ÍNDICE GENERAL DEL CONTENIDO	VII
ÍNDICE DE CUADROS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Hipótesis.....	3
1.2 Objetivo general	3
1.3 Objetivos específicos	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Zonas áridas.....	4
2.2 Candelilla	4
2.2.1 Taxonomía.....	6
2.2.2 Morfología.....	6
2.2.3 Importancia económica.....	7
2.2.4 Importancia ecológica	8
2.3 Rizósfera	8
2.3.1 Interacción planta-microorganismos.....	9
2.3.1.1 Exudados de la raíz	9
2.3.1.2 Colonización de la raíz.....	10
2.4. Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (BPCV).....	11
2.5 Mecanismos de acción directos	11
2.5.1 Fijación de nitrógeno	11
3.5.2 Solubilización de fosfato	12
2.5.3 Solubilización de potasio.....	13

2.5.4 Solubilización de zinc	13
2.5.5 Síntesis de fitohormonas	14
2.5.5.1 Auxinas	14
2.5.5.2 Citoquininas	15
2.5.5.3 Giberelinas	15
2.5.5.4 Etileno	16
2.6 Mecanismos de acción indirectos	16
2.6.1 Producción de sideróforos	16
2.6.2 Resistencia sistemática inducida	17
2.6.3 Control de patógenos por competencia	17
2.6.4 Producción de antibióticos	18
2.6.5 Producción de enzimas líticas	18
2.7.1 Identificación morfológica	19
2.7.2 Identificación molecular	20
2.7 Identificación de BPCV en candelilla	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1 Activación de las bacterias	22
3.2 Purificación de cepas	22
3.3 Siembra de bacterias en medio líquido	22
3.4 Extracción de DNA	23
3.5 Amplificación por PCR	24
3.6 Secuenciación y análisis <i>in silico</i>	24
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
4.1 Reactivación y purificación	26
4.2 Extracción de DNA	27
4.3 Amplificación por PCR	29
4.4 Secuenciación y filogenia	31
V. CONCLUSIONES	36
VI. LITERATURA CITADA	37

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Concentración de los productos de PCR y la relación 260/280 de los aislados UAAAN-LBBM-01 AL UAAAN-LBBM-04.....	30
Cuadro 2. Concentración de los productos de PCR y la relación 260/280 de los aislados UAAAN-LBBM-05 AL UAAAN-LBBM-08.....	30
Cuadro 3. Concentración de los productos de PCR y la relación 260/280 de los aislados UAAAN-LBBM-09 AL UAAAN-LBBM-12.....	31
Cuadro 4. Concentraciones de los productos de PCR y la relación 260/280 de los aislados UAAAN-LBBM-13 al UAAAN-LBBM-16.....	31
Cuadro 5. Identidad con las secuencias del NCBI.....	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de candelilla (<i>Euphorbia antisyphilitica</i> Zucc).....	5
Figura 2. Flores de candelilla.....	7
Figura 3. Siembra en medio líquido.	22
Figura 4. Proceso de extracción de DNA.....	23
Figura 5. Secuenciación por método de Sanger.....	25
Figura 6. Crecimiento de los aislados reactivados en a) agar nutritivo aislado UAAAN-LBBM-05 y b) purificados en medio LB sólido aislado UAAAN-LBBM-02.....	26
Figura 7. Tinción Gram de los aislados observados al microscopio 40X.....	27
Figura 8. Gel de agarosa al 1% de la extracción de DNA de los aislados UAAAN-LBBM-01 al UAAAN-LBBM-08.	28
Figura 9. Gel de agarosa al 1% de la extracción de DNA de los aislados UAAAN-LBBM-09 al UAAAN-LBBM-16.	28
Figura 10. Gel de agarosa al 1% de los resultados de PCR.....	29
Figura 11. Gel de agarosa al 1% de los resultados de PCR.	30
Figura 12. Árbol filogenético.	35

RESUMEN

En el desierto de Chihuahua se establece *Euphorbia antisyphilitica* Zucc, comúnmente conocida como candelilla, bajo condiciones de estrés hídrico, temperaturas extremas, en suelos salinos y pobres en nutrientes, lo que ha desarrollado en la planta mecanismos de adaptación a su hábitat como la producción de cera, la cual genera una derrama económica para la población de la zona. La asociación de las plantas con bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) influye en el desarrollo y adaptación debido a que hacen más accesibles nutrientes para su absorción mediante la fijación de nitrógeno, producción de potasio, fosfato, zinc, fitohormonas y sideróforos, también influye en el control de patógenos, etc. Una de las etapas cruciales en la caracterización de BPCV es la identificación molecular para conocer su diversidad, se ha reportado que cada planta que se ha analizado en diversas partes del mundo ha demostrado que contienen diferentes microorganismos influenciada por su ambiente y región de estudio. El objetivo de la presente investigación fue realizar una identificación molecular de bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a la planta candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) a través del gen 16S rRNA. Se identificaron dieciséis bacterias asociadas a la planta de candelilla que previamente se había analizado su capacidad de fijación de nitrógeno, producción de fosfato, producción de potasio y producción de sideróforos. De las cuales un 43.75 % de los aislados presentan similitud del 100% con el género *Enterobacter*, 25% se asocia a *Pantoea*, el género de *Bacillus* se asoció al 25% de los aislados y un solo aislado presentó similitud a *Chryseobacterium*. Los aislados identificados son bacterias promotoras de crecimiento vegetal con potencial aplicación en la agricultura. Un 81.25 % de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal del presente estudio es diferente con bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociados a la planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) previamente reportadas, por lo que la región de crecimiento podría influir en la diversidad de la microbiota de candelilla.

Palabras clave: Candelilla, rizósfera, BPCV, identificación molecular, diversidad genética.

I. INTRODUCCIÓN

En la planta se pueden identificar estructuras y zonas que interactúan con microorganismos como la rizósfera, la cual es la sección del suelo con mayor proximidad a las raíces y pelos radiculares de las plantas, donde se encuentran una amplia población de microorganismos. Un grupo de microorganismos importante son las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) (Beneduzi, Ambrosini & Passaglia, 2012).

Las BPCV influyen sobre las plantas, particularmente en su crecimiento al apoyar la adaptación en su hábitat mediante mecanismos directos e indirectos. En los directos encontramos la fijación de nitrógeno, solubilización de zinc, solubilización de fósforo, solubilización de potasio, la producción y regulación de fitohormonas (giberelinas, auxinas, etileno, citoquininas y ácido abscísico), así como sustancias que afectan directamente el metabolismo de las plantas o mejoran la absorción de nutrientes del suelo. Por su parte, los mecanismos indirectos ayudan en la protección contra diversos fitopatógenos (hongos, bacterias, insectos y virus) con la producción de antibióticos, compuestos volátiles, sideróforos, metabolitos secundarios que brindan la oportunidad a microorganismos benéficos de establecerse por sobre otros microorganismos patógenos en la rizósfera (Tabassum *et al.*, 2017).

Las bacterias asociadas a las plantas son cruciales para la salud de estas, la promoción del crecimiento y la resistencia a enfermedades (Feng *et al.*, 2021), siendo potencial su aplicación dentro de la agricultura actual para sustituir a fertilizantes y pesticidas (Busby *et al.*, 2017).

El estudio en diferentes zonas climáticas y plantas amplían la oportunidad encontrar diversidad en la microbiota que contribuya en el desarrollo de las plantas bajo condiciones extremas. Condiciones que actualmente pueden afectar cultivos con interés comercial. En el Desierto Chihuahuense se distribuye la planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) la cual se destaca por su producción de cera, un mecanismo que le permite crecer bajo condiciones de temperaturas extremas. Por su parte, la relación simbiótica que establece con algunas bacterias auxilia a la planta a desarrollarse en suelos de pH alcalino, salinos y pobres en nutrientes (Salazar-Ramírez *et al.*, 2019).

La investigación centrada en identificar posibles nuevas BPCV busca contribuir a la aplicación de estas como herramienta biotecnológica en la agricultura y la conservación de especies vegetales. En un estudio previo de nuestro equipo de investigación se aislaron 25 cepas bacterianas de las cuales; 8 pertenecen a rizósfera, 8 a suelo, 5 a bulbo desinfectado y 5 más de bulbo desinfectado. De estas, dieron positivas en al menos una de las características asociadas a RPCV: producción de sideróforos, solubilizadores de potasio o fosforo y fijación de nitrógeno (García-Perez, 2022) Por lo que el objetivo de la presente investigación fue identificar molecularmente bacterias catalogadas como promotoras de crecimiento asociadas a la rizósfera de la planta candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc).

1.1 Hipótesis

La diversidad genética de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a la planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) es influenciada por la región de crecimiento la planta.

1.2 Objetivo general

Realizar una identificación molecular de bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a la rizósfera de la planta candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) a través del gen 16S rRNA.

1.3 Objetivos específicos

1.3.1 Activar las cepas bacterianas asociadas a la rizósfera de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) en agar nutritivo (AN).

1.3.2 Purificar e incubar las bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a la rizósfera de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) en medio Luria-Bertani (LB).

1.3.3 Extraer DNA bacteriano de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a la planta candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) mediante el protocolo de fenol: cloroformo.

1.3.4 Amplificar la región 16S rRNA de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) por la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) utilizando cebadores universales.

1.3.5 Secuenciar la región 16S rRNA de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) por medio de la técnica Sanger.

1.3.6 Analizar *in silico* la diversidad genética de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a la rizósfera de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Zonas áridas

México posee en más de la mitad de su territorio zonas áridas y semiáridas distribuidas en el norte principalmente el noroeste y también en zonas centro del país, a pesar de las condiciones que las caracterizan como suelos poco fértiles, bajas precipitaciones, temperaturas extremas y alta radiación UV los ecosistemas áridos disponen de diversidad biológica y de alta interacción entre especies y el medio (Acosta, Herrera & Solís, 2018; Briones *et al.*, 2018; Chávez-Ambriz *et al.*, 2016; Soussi *et al.*, 2016).

La aplicación de biofertilizantes, bioestimulantes, biopesticidas provenientes de microorganismos benéficos se ha convertido en un sustituyente al uso de productos agrícolas químicos. Estos microorganismos deben tener la capacidad de beneficiar a las plantas bajo condiciones de salinidad y altas temperaturas, ya que son las condiciones que prevalecen en zonas agrícolas áridas y salinas. Se ha reportado la presencia de microorganismos benéficos en plantas desérticas como candelilla, lechuguilla, sotol, ocotillo y varios cactus, los cuales tienen un papel importante promoviendo nutrientes a este tipo de plantas (Salazar-Ramírez *et al.*, 2021). Cuando las PGPR son aisladas de plantas que crecen en suelos pobres y/o estresados, tienden a presentar efectos más destacados en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Kong & Liu, 2022).

Existe una importancia en el asociamiento de microorganismo en plantas, específicamente en aquellas que crecen en zonas áridas y desérticas. En los desiertos de América del Norte asociados a cactus se han encontrado grupos bacterianos como *Pseudomonas*, *Bacilli* y *Actinomicetos*, por otro lado, en el Desierto Mohave se ha estudiado la microbiota asociado a *Larrea tridentata*, conocida como gobernadora, dominando los filos *Proteobacteria*, *Bacteriodetes*, *Firmicutes* o *Bacillota* y *Actinobacteria* (Soussi *et al.*, 2016).

2.2 Candelilla

Euphorbia antisiphilitica Zucc conocida localmente como candelilla es una planta de importancia social, económica y ecológica que se distribuye principalmente en el desierto Chihuahuense en los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí y Zacatecas, así como Oaxaca, Hidalgo, Querétaro y Puebla, externo a

México puede ser localizada en Nuevo México y Texas, Estados Unidos (Bernadac-Meza, 2022).



Figura 1. Planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc).

Fuente: Bernadac-Meza, 2022.

El valor de la candelilla radica en la producción de cera que cubre sus tallos; esta se compone por principalmente por n-alcanos, ésteres de alto peso molecular, ácidos libres, alcoholes, esteroides y resinas, que confiere protección a la planta ante las condiciones climáticas en que crece (Bautista-Hernández *et al.*, 2021).

Es una especie que crece en condiciones adversas, como estrés hídrico y temperaturas extremas por lo que ha desarrollado mecanismos que le permiten sobrevivir y reproducirse bajo mencionadas condiciones. Se desarrolla en suelos con un pH entre 7.4 y 8.4, que poseen una textura franco-arenosa, pedregosos de poca profundidad con buen drenaje, ricos en carbonato de calcio, pero pobres en nitrógeno y de bajo contenido en materia orgánica (0.96 a 2.64%). Se desconocen plagas o enfermedades que le afecten (Rojas *et al.*, 2011; Hernández-Herrera *et al.*, 2019).

2.2.1 Taxonomía

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Dicotyledoneae*

Orden: *Euphorbiales*

Familia: *Euphorbiaceae*

Género: *Euphorbia*

Especie: *antisyphilitica*

2.2.2 Morfología

La planta de candelilla (**Figura 1**) es un arbusto generalmente con un diámetro de 90 cm, que puede generar más de 100 tallos, los cuales son erectos, cilíndricos y sin ramificaciones, de color verde grisáceo, regularmente con una altura de 30 a 60 cm, con un diámetro de entre 0.1 a 1.0 cm y sus raíces son pequeñas (Rojas *et al.*, 2011; Flores Del Ángel, 2013).

Solo poseen hojas por un corto periodo de tiempo, estas son sésiles y pequeñas, presentan una forma oblonda lanceolada, al inicio de color verde y se tornan a rojizo, llegan a medir 1 mm de ancho y entre 6 a 10 mm de largo. Las flores son pequeñas y se congregan en inflorescencia (**Figura 2**), distribuyéndose a lo largo de los tallos, presentan un color rosa durante la temporada de lluvia, son unisexuales (Flores Del Ángel, 2013; Instituto de candelilla, 2013; Rocha-Estrada *et al.*, 2023).



Figura 2. Flores de candelilla.

Fuente: Berrum-Aguilar, 2021.

El fruto tiene un diámetro de como máximo de 5 mm y contiene en su interior 3 semillas, tanto la semillas como el fruto son de color café. Las semillas poseen una forma entre elíptica y ovoide (Flores Del Ángel, 2013).

2.2.3 Importancia económica

La candelilla es utilizada principalmente por la cera que produce como mecanismo de supervivencia a las condiciones donde está establecida. Antiguamente en la época prehispánica tenía función de curtir pieles, tensar arcos y como ingrediente en remedios medicinales (Rocha-Estrada *et al.*, 2023). En la actualidad se considera multipropósito por sus propiedades únicas que la hacen factible dentro de la industria alimentaria, cosmetológica, farmacéutica y biotecnológica (Bautista-Hernández *et al.*, 2021).

En la industria alimentaria se utiliza como aditivo, agente de recubrimiento, emulsificante, espesante, con fines espesante y texturizaste considerando sus actividades antioxidantes y antimicrobianas (Aranda-Ledesma *et al.*, 2022).

Por su parte en la industria de los cosméticos debido a sus propiedades protectoras es aplicada en la producción de diversos cosméticos como labiales, cremas, entre otros. También se utiliza en la fabricación de cerillos, velas aislantes eléctricos, incluso en el desarrollo de biocombustible (Rocha-Estrada *et al.*, 2023).

Las amplias aplicaciones industriales de la cera de candelilla convierten su extracción en una importante fuente de ingresos para la población de las zonas rurales donde crece la planta.

2.2.4 Importancia ecológica

La planta de candelilla contribuye al ecosistema previniendo la erosión eólica, la pérdida de cubierta vegetal y de diversidad biológica. Si bien, no es una especie muy consumida por la fauna de la región sí promueve el crecimiento de otras plantas. Regularmente se asocia a guapilla (*Hechtia glomerata*), lechuguilla (*Agave lechuguilla*), ocotillo (*Fouquieria splendens*), palma samaldoca (*Yucca carnerosana*), sotol (*Dasylirion spp*) y a varias cactáceas. De igual manera, ocasionalmente se asocia con cardenche (*Opuntia imbricata*), cenizo común (*Leucophyllum texanum*), gobernadora (*Larrea tridentata*), guayule (*Parthenium argentatum*), hojásén (*Flourensia cernua*) y mezquite (*Prosopis juliflora*) (Muñoz-Ruiz *et al.*, 2016; Rocha-Estrada *et al.*, 2023; Instituto de la candelilla año, 2013; Flores del Ángel, 2013).

Vargas Piedra (2020) clasifica a *Euphorbia antisyphilitica* como la cuarta en importancia ecológica con base a la ecuación Cottam y Curtis que considera la abundancia, frecuencia y cobertura relativas en el área de estudio para determinar el valor ecológico de la especie en el ecosistema.

2.3 Rizósfera

El encuentro entre planta-microorganismo tiende a efectuarse en tres secciones de la planta, a la sección que involucra las estructuras frutos o flores, hojas y tallo, también denominadas estructuras aéreas se le nombra como filósfera, la siguiente sección denominada endósfera es la relacionada al sistema de transporte. Por último, tenemos la rizósfera que se identifica como el suelo más cercano a las raíces, cuya área regularmente es inexacta porque varía según el ambiente y las secreciones de la planta por las raíces (Benjumeda, 2017). La endorrizosfera, el rizoplano y la ectorrizosfera son secciones que se encuentran dentro del suelo denominado rizósfera (Huang *et al.*, 2014). El suelo rizosférico no posee una definición exacta en cuanto a límites de tamaño se considera un área dinámica, algunos autores limitan su tamaño al suelo que influenciado directamente por la raíz, otros consideran la extensión de los nutrientes, actividad enzimática y microbiana lo que lleva a limitarla entre 0.5 a 4 mm (Kuzuyakov & Razavi, 2019; Muñoz *et al.*, 2021; Bernad *et al.*, 2023).

En la rizósfera existe una acumulación de diversos microorganismos (bacterias, arqueas, hongos, nematodos, virus), destacándose la dominancia de hongos y bacterias, en su mayoría

estas últimas (Ling, Wang & Kuzyakov, 2022). Propiciando las interacciones biológicas entre planta-microorganismo y/o microorganismo-microorganismo como el mutualismo donde en una interacción planta-bacteria el beneficio es mutuo, la planta proporciona una fuente de nutrientes y las bacterias estimulan el crecimiento de la planta mediante diversos mecanismos (Morales & Hernández, 2023). También se pueden llegar a establecer otro tipo de interacciones denominadas: comensalismo donde una parte relacionada sale beneficiada y sin generar ningún tipo de efecto en la otra parte, el parasitismo consiste en la obtención de un beneficio afectando negativamente a la planta, la competencia es la relación entre microorganismos compiten por nutrientes y espacio, por último el amensalismo ocurre cuando una de las especies relacionadas tiene efecto negativo y la otra se mantiene (Martínez-Falcón, Martínez-Adriano & Dáttilo, 2019).

Las interacciones planta-bacteria ocurridas en la rizósfera proceden de la interacción de moléculas y los cambios sobre el microbioma de esta área se debe a las moléculas exudadas y el genotipo de la planta, el clima, y factores edáficos (Chepsergon & Moleleki, 2023). La importancia de mencionada relación se basa en su repercusión sobre el ciclo de nutrientes y el funcionamiento del ecosistema (Hassan, McInroy & Kloepper, 2019).

2.3.1 Interacción planta-microorganismos

2.3.1.1 Exudados de la raíz

En las plantas las células radiculares excretan compuestos orgánicos que son fuente principal de nutrientes en la rizósfera, la cantidad y tipos de exudados es variada por el tipo de planta y su etapa fisiológica, los exudados son indispensables para el desarrollo de nichos microbiológico en la rizósfera y el establecimiento de una interacción simbiótica (Hassan, McInroy & Kloepper, 2019). Los exudados de raíces de plantas son una composición compleja entre sustancias orgánicas e inorgánicas liberadas en el ambiente de la rizósfera a través del sistema de raíces durante el ciclo de vida de las plantas (Feng *et al.*, 2021). Estos modifican la química del suelo circundante donde se localiza la rizósfera, afectando la densidad y variedad de población microbiana, al actuar como atrayentes o repelentes químicos en esta área (Ramos & Álvarez, 2015). Los exudados representan la respuesta metabólica de la planta originada por las condiciones ambientales, influyendo en el tipo de comunidad microbiológica que se establezca en su rizósfera (Estrada-González *et al.*, 2023).

La composición de los exudados consiste en la mezcla de iones, compuestos de peso molecular bajo como: aminoácidos, azúcar, compuestos fenólicos; compuestos de alto peso molecular siendo estos el mucílago (ácido poliurónico y polisacáridos) y enzimas extracelulares (Ma & Tang, 2022).

Los compuestos de los exudados radiculares son liberados según determinen sus propiedades químicas, las moléculas de bajo peso molecular como ácidos carboxílicos, aminoácidos y compuestos fenólicos son excretados mediante difusión; por su parte, moléculas de alto peso molecular (carboxilatos y carbohidratos) se transportan por medio de proteínas de membrana, aquellos compuestos de alto peso molecular almacenados en vesículas se liberan por exocitosis (Vives-Peris *et al.*, 2020).

2.3.1.2 Colonización de la raíz

La interacción planta-microorganismo inicia con la colonización bacteriana del área rizosférica, lo que la determina como crucial en el proceso. Para que la colonización bacteriana se lleve a cabo, la planta regula la composición de sus exudados generando una respuesta inmune innata (Knights *et al.*, 2021).

La quimiotaxis, la capacidad de las bacterias móviles para dirigir su movimiento en gradientes de atrayentes y repelentes, juega un papel importante durante la colonización de la rizósfera por las rizobacterias estableciendo interacciones entre bacterias y raíces. Diversos estudios han demostrado que el desempeño de sus efectos beneficiosos para las plantas depende de una colonización eficiente de la rizósfera (Feng *et al.*, 2021).

Se han definido los mecanismos moleculares de unión en los géneros de importancia agrícola (*Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Agrobacterium* y *Salmonella*). Estas proteobacterias comparten un mecanismo de unión que implica al inicio una unión débil, no específica y reversible mediada por interacciones hidrofóbicas y electrostáticas entre células y moléculas de superficie adyacentes en la raíz (Knights *et al.*, 2021). La unión culmina en la formación de una microcolonia bacteriana en la raíz, que crece hasta formar biopelículas maduras en la superficie de la raíz, lo que permite una interacción más estrecha (Fitzpatrick *et al.*, 2018).

2.4. Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (BPCV)

En el suelo encontramos hongos, actinomicetos, protozoos y bacterias, éstas últimas son las más abundantes, se estima que por gramo de suelo se encuentren de 10^8 a 10^9 células bacterianas y total del total de bacterias encontradas en el suelo solo entre el 2 y 5 % son BPCV (Moreno Reséndez *et al.*, 2018; Oleńska *et al.*, 2020).

El término *Plant Growth Promoting Bacteria* (PGPB por sus siglas en inglés y BPCV en español) engloba a las bacterias que se establecen en la rizósfera y causan un efecto positivo en el crecimiento de las plantas, desempeñando múltiples funciones benéficas y ecológicas en el suelo de la rizósfera como el ciclo y la absorción de nutrientes, la inhibición del crecimiento de fitopatógenos potenciales, la estimulación de la inmunidad innata de las plantas y la mejora directa del crecimiento de estas mediante la producción de fitohormonas u otros metabolitos (Bonilla *et al.*, 2021). Otras funciones de importancia es la biorremediación del suelo al poseer capacidades de limpieza ambiental biorremediación del suelo (Khatoon *et al.*, 2020).

La mecanismo en que las BPCV estimulan el crecimiento de las plantas puede ser de manera directa incrementando la disponibilidad de nutrientes mediante la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfato, zinc y potasio, así como produciendo fitohormonas para regular el crecimiento de la planta y controlar el estado hormonal por estrés produciendo ACC desaminasa. Por otro lado, la forma indirecta en que las bacterias benefician a las plantas es por biocontrol de patógenos al producir enzimas líticas, antibióticos, sideróforos o generar resistencia adquirida a la planta hospedera (Oleńska *et al.*, 2020).

2.5 Mecanismos de acción directos

2.5.1 Fijación de nitrógeno

El nitrógeno es un elemento que dentro de la nutrición vegetal posee alta importancia al ser componente de aminoácidos, ácidos nucleicos, alcaloides, clorofila y vitaminas (Velasco-Jiménez *et al.*, 2020). La fijación de nitrógeno por parte de bacterias ha beneficiado los sistemas agrícolas globales aportando grandes cantidades de nitrógeno fijado (Jaiswal *et al.*, 2021).

La conversión fijación de nitrógeno atmosférico a amoníaco capturado y fijado en el suelo se lleva a cabo por bacterias diazotróficas, el amoníaco es el sustrato para iniciar el proceso

de nitrificación, las bacterias nitrificantes convierten el amonio a nitrato mediante la acción del complejo enzimático nitrogenasa. Existe un grupo de bacterias fijadores de nitrógeno denominadas rizobios, que pertenecen a los géneros *Rhizobium*, *Bradirhizobium*, *Allorhizobium*, *Neorhizobium*, *Shinella*, *Aminobacter*, *Phyllobacterium*, *Devosia*, y *Mesorhizobium* estas establecen una relación simbiótica con leguminosas, la simbiosis se caracteriza por la formación de nódulos que es donde se establecen los rizobios disminuyendo la competencia con otras rizobacterias por nutrientes a su vez estas le brindan de nitrógeno a la planta (Mathesis, 2022; Santoyo *et al.*, 2021; Lindström & Mousavi, 2020).

Otro grupo de bacterias capaces de fijar nitrógeno atmosférico son denominadas de vida libre y son una pequeña fracción del ecosistema en la rizósfera de las plantas, en la literatura encontramos reporte de *Azotobacter vinelandii*, *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas stutzeri*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum caulinodans* *Achromobacter insilitus*, *Bacillus megaterium*, *Enterobacter sacchari*, *Gluconacetobacter diazotrophicus* *Xanthomonas sp.*, *Nitrosospora*, *Burkholderia* (Singh *et al.*, 2020; Bueno-Batista & Daxon, 2019; Mahmud *et al.*, 2020).

3.5.2 Solubilización de fosfato

El fósforo es un importante macronutriente que en las plantas tiene intervención en procesos como la formación de membrana celular, la fotosíntesis, la glucólisis, la respiración y en la actividad de diversas enzimas. El fosfato orgánico en forma ortofosfórico es requerido por las plantas para su crecimiento. Sin embargo, su biodisponibilidad no tiende a superar los 10µM de concentración en el suelo. En suelos áridos y semiáridos es la principal limitación de nutrientes vegetales. Para la falta de este macronutriente en suelos agrícolas es fundamental implementar la aplicación de microorganismos capaces de solubilizar el P de formas orgánicas e inorgánicas. (Suleimanova *et al.*, 2023; Billah *et al.*, 2019).

Los microorganismos generalmente solubilizan el P fijo al reducir el pH, liberando ácidos orgánicos, se ha demostrado que logran bajar el pH liberando ácido glucónico, ácido oxálico, ácido tartárico y ácido láctico (Billah *et al.*, 2019).

Diferentes autores mencionan como bacterias solubilizadoras de fosfato pertenecientes de los géneros *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Massilia*, *Arthobacter*, *Enterobacter*, *Paenibacillus*, *Xanthomonas*, *Klepsiella*, *Erwinia*, *Micococcus*, *Burkholderia*

Pantoea (He & Wan, 2022; Röring *et al.*, 2023; Timofeeva, Galyamova & Sedykh, 2022; Chakdar *et al.*, 2018).

2.5.3 Solubilización de potasio

El potasio es un elemento abundante en el suelo, sin embargo, solo 1-2 % de este se encuentra disponible para las plantas. Es clave en el crecimiento metabolismo y desarrollo de las plantas, en virtud de que influye en la absorción de CO₂, reducción de nitratos, síntesis de almidón y en la degradación de azúcar. (Etesami, Emami & Alikhani, 2017; Restrepo-Correa *et al.*, 2017).

Las bacterias como *Bacillus mucilaginosus*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Paenibacillus* spp., *B. edaphicus*, *B. circulanstien*, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Burkholderia cenocepacia* poseen la capacidad para solubilizar potasio (Etesami, Emami & Alikhani, 2017; Pantigoso *et al.*, 2023; Raji & Thangavelu, 2021).

Las bacterias solubilizadoras de potasio (K) emplean como mecanismo la erosión del mineral mediante la síntesis de polisacáridos, enzimas extracelulares y quelatos predominando la producción de ácido carboxílico (Rana *et al.*, 2020). La solubilización de potasio se ve influenciada por el pH del suelo, la temperatura, la humedad y el índice de solubilidad (Baba *et al.*, 2021).

2.5.4 Solubilización de zinc

Mundialmente los suelos poseen una disponibilidad del zinc en su forma deseable para la absorción por plantas (iones zinc) de aproximadamente 30% (Eshaghi *et al.*, 2019). En las plantas, el zinc está implicado en diversos metabolismos, la deficiencia de este provoca amarillamiento en las plantas, reducción del tamaño de hoja, afecta en la calidad del grano, la formación de polen y el desarrollo de raíces (Kathoon *et al.*, 2020).

Se han reportado bacterias promotoras de crecimiento vegetal con la capacidad de solubilizar zinc, que mejoran el crecimiento y desarrollo de las plantas al colonizar la rizósfera haciendo más disponible el zinc para las plantas. Especies del género *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Serratia* incrementaron la movilización en zinc al ser aplicadas en trigo y soja (Kathoon *et al.*, 2020; Kamran *et al.*, 2017). Por su parte cepas identificadas como *Agrobacterium tumefaciens* y

Rizobium sp. han presentado capacidad de solubilización de zinc en estudios a nivel laboratorio (Khanghahi *et al.*, 2018).

Los microorganismos producen ácido orgánico, que secuestra los cationes de zinc y disminuyen el pH del suelo. Otros mecanismos posiblemente involucrados en la solubilización de zinc incluyen la producción de sideróforos y sistemas oxidorreductores de protones en membranas celulares y ligados quelados (Kamran *et al.*, 2017).

2.5.5 Síntesis de fitohormonas

Las fitohormonas, se clasifican considerando su estructura y su acción fisiológica, entre ellas se encuentran las auxinas, giberelinas, citoquininas y el etileno. Estas influyen en diversas etapas y funciones de la planta (Palacios-Rodríguez *et al.*, 2016).

2.5.5.1 Auxinas

Las auxinas son moléculas reguladoras involucradas en varios procesos de las plantas (Khatoon *et al.*, 2020). La auxina más investigada es el ácido indol acético (AIA), la cual se relaciona en formación de dominios apicales, iniciación de raíces, elongación de tallos y raíces y la diferenciación vascular, el ácido indol acético producido por bacterias modifica los depósitos de auxinas en las plantas aumentando la superficie y longitud de las raíces (Olanrewaju, Glick & Babalola, 2017). Las bacterias asociadas a la producción de AIA utilizan principalmente cinco rutas dependientes de triptófano. Denominadas por el compuesto intermedio son ruta del indol-3-acetamida (IAM), ruta del indol-3-acetonitrilo (IAN), ruta del indol-3-triptamina (TAM), la ruta de la oxidasa de cadena lateral del triptófano (TSO) y ruta del ácido indol-3-pirúvico (IPA/IPyA) que es la más utilizada por bacterias promotoras de crecimiento vegetal como *Azospirillum*, *Brazdyrhizobium*, *Enterobacter cloacae*, y *Rhizobium* (Vega-Celedón *et al.*, 2016; Tang *et al.*, 2023).

Los géneros bacterianos *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* y *Staphylococcus* se reportan con capacidad de producir IAA en diferentes concentraciones (Mike-Anosike, Braide & Adeleye, 2018).

2.5.5.2 Citoquininas

Las citoquininas o citocinas son derivadas de las adeninas y son responsables de regular la formación de brotes, inhiben el alargamiento de raíces y mejoran la división celular (Alcántara-Cortes *et al.*, 2019; Borjas-Ventura, Julca-Otiniano & Alvarado-Huamán, 2020).

La síntesis de citoquininas inicia con la prenilación del grupo N6-amino de nucleótidos de adenosina libres (AMP), en bacterias puede ser mediado por dos diferentes isopenteniltransferasas (IPT), adenilato IPT y 1 tARN IPT, siendo esta última la que domina en los microorganismos para la producción de citoquininas (Frébortová & Frébort, 2021).

Las bacterias reportadas por sintetizar *Azotobacter paspali*, *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus amyloliquefaciens* (Kudoyarova, Arkhipova & Dodd, 2019; Tsukanova *et al.*, 2017).

2.5.5.3 Giberelinas

Estas fitohormonas son moléculas complejas de di-terpenos ácidos carboxílicos que incrementan el crecimiento de los tallos, inducen la brotación de yemas, promueven la floración y principalmente interrumpen el periodo de latencia en las semillas (García-Sánchez, 2018; Hedden, 2020).

La biosíntesis de giberelina comienza del difosfato de geranil-geranilo (GCPP) hasta el difosfato de isopentenilo. La producción de giberelina por PGPR protege a las plantas de estrés biótico y abiótico modulando los niveles de antioxidantes (Khatoon *et al.*, 2020)

Existen cinco formas de giberelinas sintetizadas por bacterias: GA₁, GA₂, GA₃, GA₄ y GA₂₀, las bacterias reportadas con capacidad de producir GA son *Acinetobacter calcoaceticua*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Azospirillum spp.*, *Azotobacter spp.*, *Bacillus spp.*, *Gluconobacter* y *Herbaspirillum seropedicae* lo que induce en la planta la brotación de yemas, frutos y crecimiento de tallos (Mustafa *et al.*, 2019; Morales & Hernández, 2023).

2.5.5.4 Etileno

El etileno es una fitohormona involucrada en diversos procesos de las plantas como el desarrollo de pelos radiculares, la nodulación, germinación de semillas, así como en la maduración de los frutos y senescencia (Benjumea, 2017).

Se ha reportado que algunas bacterias promotoras de crecimiento vegetal que producen la enzima ACC desaminasa, exclusiva de microorganismos que degrada al precursor del etileno 1-aminociclopropano 1 carboxilo (ACC), dicha acción disminuye la síntesis del etileno por parte de la planta y minimiza el estrés ante condiciones de alta salinidad, sequía, temperaturas extremas o ante la presencia de metales pesados en el suelo (Benjumea, 2017; Ribaudó *et al.*, 2013; Esquivel-Cota *et al.*, 2013).

Dentro de las bacterias reportadas por la producción de ACC desaminasa se encuentran *Acinetobacter*, *Microbacterium*, *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Methylobacterium*, *Paenibacillus*, *Serratia*, *Rhizobium* (Ansari *et al.*, 2017; Bal & Adhya, 2021; Chieb & Gachomo).

2.6 Mecanismos de acción indirectos

2.6.1 Producción de sideróforos

El hierro férrico (Fe^{3+}) es un micronutriente importante para las plantas por su participación en la síntesis de pigmentos, además de formar parte estructural de algunas enzimas con actividad en procesos importantes en la planta (fotosíntesis, fijación de nitrógeno y respiración). Los sideróforos son descritos como compuestos de bajo peso molecular (entre 0.5-1.0 kDa) con capacidad de secuestrar el hierro férrico (Pedraza *et al.*, 2020; Palacio-Rodríguez *et al.*, 2016).

Los sideróforos son clasificados por el grupo funcional quelador: hidroximatos α -hidroxicarboxilatos, catecolatos y mixtos. La estructura de los sideróforos puede ser lineal o cíclica, presentando complejos más estables los cíclicos (Soares, 2022; Singh *et al.*, 2022).

Algunas bacterias, en su mayoría Gram negativas logran atraer al hierro hacia la rizósfera mediante moléculas quelantes que liberan y atraen a este micronutriente, colocándolo en una zona más accesible para que la planta lo absorba. La planta logra incrementar en su rizósfera

el crecimiento de microorganismos productores de sideróforos con exudados compuestos principalmente con fenoles (Palacio-Rodríguez *et al.*, 2016; Soares, 2022).

La producción de sideróforos por parte de bacterias promotoras de crecimiento vegetal como *Azotobacter vinelandii*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus circulance*, *Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas koreensis*, *Enterobacter casseliflavus*, *Bacillus megaterium*, *Pantoea cypripedii*, *Pantoea dispersa* se ve influida por condiciones ambientales como la temperatura, la fuente de nutrientes y el pH (Singh *et al.*, 2022; Olenska *et al.*, 2020).

2.6.2 Resistencia sistemática inducida

La resistencia sistemática inducida (ISR) es un estado fisiológico similar a la respuesta inmune innato de la planta, por lo que también se ve requerida la señalización del ácido jasmónico y el etileno, estos traducen los estímulos externos captados por receptores de las células e incorporan las respuestas internas al estímulo. (Molina-Romero *et al.*, 2015; Samaniego-Gómez *et al.*, 2017). Las plantas expuestas a las bacterias que liberan ácido salicílico, flagelos, lipopolisacáridos, lipopéptidos cíclicos y sideróforos activarán una respuesta inmunitaria por periodos prolongados en partes afectadas y no afectadas (Velasco-Jiménez *et al.*, 2020).

La interacción planta-microorganismo puede reducir el número de enfermedades de la planta o la severidad de la sintomatología de la infección generada por algunas bacterias, hongos, virus, nemátodos e insectos patógenos al inducir la resistencia sistemática inducida (Molina-Romero *et al.*, 2015).

Algunas bacterias promotoras de crecimiento vegetal capaces de promover el ISR en plantas son: *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. pasteurii*, *B. pumila*, *B. mycoide*, *B. sphaericus*, *Burkholderia phytofirmans*, *Gluconacetobacte*, *Rhizobium leguminosarum*; *P. putida 89B-27* y *Serratia marcescens* (Bhattacharyya 2012; Samaniego-Gómez *et al.*, 2017)

2.6.3 Control de patógenos por competencia

En los suelos existe un límite de nutrientes, oxígeno y superficie accesible para los microorganismos, lo que genera la competencia por estos recursos en las raíces de las plantas,

lo cual es aplicable como mecanismo para el control de fitopatógenos transmitidos por el suelo (Meneses, 2020).

Las bacterias aplicables para biocontrol poseen capacidad para colonizar el área que ocupan los fitopatógenos aprovechando de pili o fimbrias para tener ventaja ante la colonización de la rizósfera (Abdelaziz *et al.*, 2023. Por su parte el desarrollo de biopelículas permite a las bacterias, como agentes de control biológico, adaptarse a factores mecánicos y condiciones ambientales lo que hace a los microorganismos con esta capacidad buenos colonizadores (Pedraza *et al.*, 2020).

2.6.4 Producción de antibióticos

Los antibióticos son descritos en la literatura como metabolitos secundarios de bajo peso molecular con repercusiones nocivas en el crecimiento y metabolismo de otros microorganismos (Shameer & Prasad, 2018). Las bacterias que generan antibióticos pueden dominar nichos sobre otros microorganismos mediante estos compuestos que intervienen en la estructura de la membrana celular causando desestabilización e inhibiendo la síntesis de la pared celular y la formación del complejo que permite la iniciación de la traducción en los organismos fitopatógenos (Moreno *et al.*, 2018).

Dentro de las bacterias con capacidad de generar antibióticos encontramos a *Burkholderia sp.*, *Streptomyces venezuelae* (Molina-Romero *et al.*, 2015), al género *Bacillus* que genera antibióticos como subtilina, sublancina, cloroteína, bacillaeno, micobacilina, rizoxticinas, entre otras. Por su parte *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas fluorescens* producen oomicina A, butirolactonas, ectomicinas, karalicanas, entre otras (Goswami, Thakker & Dhandhukia, 2016).

2.6.5 Producción de enzimas líticas

La síntesis de enzimas líticas como lo son las β -1,3-glucanasas, lipasas, peroxidasas, proteasas y quitinasas permite a las bacterias promotoras de crecimiento vegetal con capacidad de generar mencionadas enzimas establecerse sobre ciertos fitopatógenos y proteger a la planta gracias a la capacidad de causar lisis celular a los organismos. Esto debido a que degrada la pared celular de los hongos, que se componen principalmente de quitina. La degradación con enzimas líticas libera oligómeros de quitina y glucano, lo que funciona para la planta como elicitores de las defensas (Pedraza *et al.*, 2020; Moreno *et al.*, 2018).

La β -1,3-glucanasa es sintetizada por *Streptomyces spp.* y *Paenibacillus spp.*, degrada la pared celular de *Fusarium oxysporum*. *Bacillus cepacia* por su parte al sintetizar la misma enzima degrada las paredes de *Rizonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Pythium. ultimum* (Goswami, Thakker & Dhandhukia, 2016).

Se ha reportado la producción de quitinasa por *Serratia mercenscens*, *Serratia plymuthica* y la degradación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* por cepas de *Paenibacillus* y *Streptomyces* mediante la secreción de enzimas hidrolíticas (Shameer & Prasad, 2018).

2.7 Identificación Bacteriana

La identificación de una bacteria es requerida en diversas áreas como la biotecnología, la industria agrícola y alimentaria, medicina, ecología y conservación, entre otras, con el objetivo de asociar con base a similitud y características de un grupo taxonómico o descartar su asociación con las bacterias ya identificadas (Morales & Hernández, 2023). El tiempo y precisión para tener la identidad de la bacteria son puntos de consideración al seleccionar metodología de identificación; la evaluación morfológica, bioquímica y serológica permite identificar las características del microorganismo en un tiempo de 2 a 5 días, inclusive más, por su parte, la identificación molecular reduce el tiempo; el complementar una técnica con la otra permite una identificación precisa (Franco-Duarte *et al.*, 2019).

2.7.1 Identificación morfológica

La identificación morfológica de las bacterias permite una aproximación a su identidad es mediante la observación de características macro y microscópicas, donde la experiencia de quien observa juega un papel importante. Los aspectos macroscópicos de la colonia que se evalúan son tamaño, color, elevación, forma, superficie y el comportamiento ante la luz. Microscópicamente pueden clasificarse como Gram positivas o negativas, mediante la tinción Gram, además de identificar su forma al microscópico. Complementar la identificación con pruebas bioquímicas mediante el uso de medios selectivos permiten asociar a taxones con actividades identificadas a determinado taxón y especie (Tandapilco, 2020; Franco-Duarte *et al.*, 2019).

2.7.2 Identificación molecular

La aplicación de técnicas moleculares en la identificación microbiana ha permitido ampliar el conocimiento sobre la diversidad de este grupo de microorganismos. Principalmente se utiliza por metodología la extracción de DNA para amplificar el gen 16S rRNA, el cual se encuentra en todas las bacterias con la misma función (codificar la subunidad menor del ribosoma). Este gen presenta cierta variabilidad y debido a su adecuado tamaño brinda la información idónea permitiendo con el análisis de las secuencias la construcción de árboles filogenéticos de los microorganismos (Ramos, 2018). También, es posible amplificar un gen presente en un microorganismo específico para comprobar su identidad. Brindando un sistema de clasificación eficaz, rápido y en conjunto a otros métodos más preciso para la identificación bacteriana en diversos ambientes (Guzmán & Montero, 2021).

2.7 Identificación de BPCV en candelilla

La investigación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a la planta de candelilla es limitada, se han aislado bacterias identificadas morfológicamente como *Bacillus* de la planta candelilla obtenida de Parras de la Fuente, Coahuila, las cuales fueron incorporadas en el desarrollo *in vitro* de la planta, concluyendo que 10 µL con concentración de 1×10^8 mostraba interacción planta-microorganismo y que de manera endófitas las bacterias *Bacillus sp.* indujeron cambios fisiológicos positivos para la planta (Hernández, 2012).

Por su parte, Salazar-Ramírez *et al.*, (2021) reportaron la identificación de rizobacterias promotoras de crecimiento aisladas en la rizósfera de candelilla en las comunidades de Sierra Mojada y Viesca, del estado de Coahuila. Se evaluó la producción de sideróforos, de ácido indol acético (AIA), solubilización de fosfatos y la actividad de la enzima ACC desamilasa para clasificarlas como PGPR, así como la identificación molecular secuenciando la región 16S rRNA identificando Las bacterias *Acinetobacter Iwoffii*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter lactucae*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mojavenis*, *Bacillus paramycoides*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pacificus*, *Bacillus pseudomycoides*, *Cronobacter muytjensii*, *Mixta gaviniae*, *Staphylococcus epidermidis* y *Siccibacter colletis*.

En nuestro grupo de investigación previamente se aislaron y caracterizaron los microorganismos asociados al suelo, rizósfera y bulbo de la planta candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc) del ejido Tortuga, Ramos Arizpe, Coahuila. En este estudio se

determinaron características promotoras de crecimiento vegetal, así como su efecto en la germinación y crecimiento de *Phaseolus vulgaris*. Las pruebas bioquímicas las cepas UAAAN-LBBM-01, UAAAN-LBBM-02, UAAAN-LBBM-03, UAAAN-LBBM-04, UAAAN-LBBM-05, UAAAN-LBBM-06, UAAAN-LBBM-07, UAAAN-LBBM-08, UAAAN-LBBM-09, UAAAN-LBBM-10, UAAAN-LBBM-11, UAAAN-LBBM-12, UAAAN-LBBM-13, UAAAN-LBBM-14, UAAAN-LBBM-15 y UAAAN-LBBM-16 mostraron características de PGPR. Las cepas UAAAN-LBBM-01, UAAAN-LBBM-05 y UAAAN-LBBM-16 fueron aplicadas en el crecimiento *in vitro* de *Phaseolus vulgaris*, estudio donde los resultados mostraron diferencia significativa en el peso fresco de la raíz al inocular con la cepa UAAAN-LBBM-01 (García-Peréz, 2022). Sin embargo, la identificación molecular no ha sido realizada, es por ello que el objetivo de la presente investigación fue identificar molecularmente bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a la rizósfera de la planta candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) a través del gen 16S rRNA.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Activación de las bacterias

Las bacterias se tomaron de la reserva de cepas aisladas en zonas del ejido La tortuga, Ramos Arizpe, Coahuila, con etiquetado UAAAN-LBBM-01, UAAAN-LBBM-02, UAAAN-LBBM-03, UAAAN-LBBM-04, UAAAN-LBBM-05, UAAAN-LBBM-06, UAAAN-LBBM-07, UAAAN-LBBM-08, UAAAN-LBBM-09, UAAAN-LBBM-10, UAAAN-LBBM-11, UAAAN-LBBM-12, UAAAN-LBBM-13, UAAAN-LBBM-14, UAAAN-LBBM-15, UAAAN-LBBM-16, identificadas previamente con actividades promotoras de crecimiento (García-Pérez, 2022). Con una asa bacteriológica se sembraron en agar nutritivo (AN) e incubaron a una temperatura de 28-30 C° por 24 horas para su activación.

3.2 Purificación de cepas

Los crecimientos bacterianos de la reactivación se observaron y considerando la previa descripción morfológica descrita por García-Pérez (2022) se resembraron en cajas Petri con medio Luria-Bertani (LB) sólido utilizando la técnica de estriado sobre cuatro cuadrantes, con la finalidad de obtener crecimiento puro y colonias aisladas.

3.3 Siembra de bacterias en medio líquido

Las colonias aisladas obtenidas se seleccionaron para sembrar en tubos de ensayo con 5 ml de medio líquido LB esterilizados, una vez inoculadas las bacterias se incubaron en agitación durante 16 horas (cultivo overnight) a 28°C (**Figura 3**).

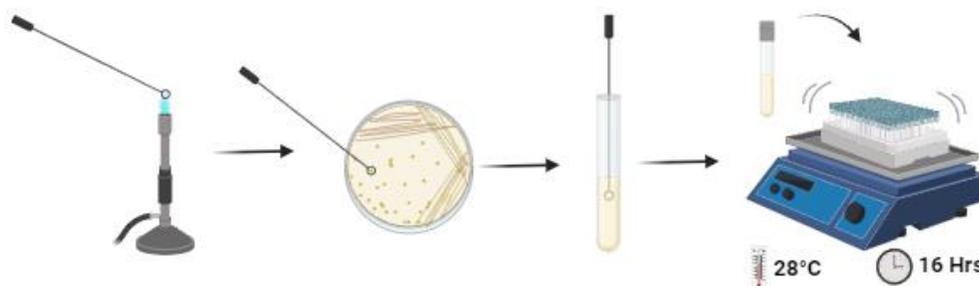


Figura 3. Siembra en medio líquido.

Created with **BioRender**

3.4 Extracción de DNA

La extracción del DNA de las bacterias se realizó mediante el protocolo fenol:cloroformo (Laboratorio de biología molecular y ecología microbiana, Cinvestav, 2023). La formación del pellet microbiano fue obtenido al centrifugar 1 ml de medio con crecimiento bacteriano a 13 000 rpm durante 5 minutos. Posteriormente, se realizó un primer lavado con TE 1X y se continuó con la adición de fenol: cloroformo, TE 1X, perlas, una solución de Triton x-100, SDS, NaCl, Tris y EDTA. Después, se centrifugó a 14 000 rpm durante cinco minutos para su separación en dos fases. Se recuperó fase superior y se añadió fenol: cloroformo nuevamente, repitiendo este paso una vez más. A la fase recuperada se agregó 1 ml de etanol al 100% frío, y se incubó a -20°C por 20 minutos. Finalmente, para terminar la extracción de DNA, se decantó por completo el etanol y se disolvió la pastilla DNA en $40\ \mu\text{L}$ de agua ultrapura (**Figura 4**).

La calidad del DNA extraído fue comprobada mediante la técnica de electroforesis en gel de agarosa al 1%, visualizado en el fotodocumentador ChemiDoc XRS+ System (BioRad).



Figura 4. Proceso de extracción de DNA.

A) Obtención pellet microbiano. B) Lavado con TE 1X. C) Lavados con fenol: cloroformo, se repite dos veces. D) Adición de etanol al 100% y 20 minutos a -20°C . E) Centrifugar 20 minutos a 4°C . F) Decantar el etanol y suspender en pastilla de DNA en agua ultrapura.

Created with **BioRender**

3.5 Amplificación por PCR

La amplificación del gen 16S rRNA se llevó a cabo de la siguiente manera: el mix de reacción de PCR contenía Taq DNA polymerase 5 U/ μ l (Thermo Scientific), Buffer Taq 10X (Thermo Scientific), dNTP's, los oligos 27F (AGA GTT TGA TCA TGG CTC A) y 1492R (TAC GGT TAC CTT GTT ACG ACT T), 1 μ l de DNA y se llevó a un volumen final de 50 μ l por reacción con agua ultrapura.

Las reacciones se realizaron en un termociclador T100 (BioRad). El programa utilizado fue de un tiempo de 3 minutos a 95°C como iniciación, 34 ciclos con las siguientes condiciones: desnaturalización 30 segundos a 95°C, alineamiento a 42°C durante 30 segundos y elongación por 1 minuto 40 segundos con temperatura de 72°C. La temperatura final se programó a 72°C a lo largo de 5 minutos.

La comprobación de los resultados de la PCR se realizó mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1%, visualizado en el fotodocumentador ChemiDoc XRS+ System (BioRad). La purificación de los productos previamente comprobados fue realizada con el uso del kit de purificación PCR Clean-Up & Gel Extraction Kit (PureDireX), siguiendo las indicaciones del proveedor. Adicionalmente, se cuantificó la concentración del DNA después de la purificación mediante la lectura en un espectrofotómetro NanoDrop 2000c (Thermo Scientific).

3.6 Secuenciación y análisis *in silico*

Los productos de PCR purificados secuenciaron por medio del método Sanger en el Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO) (**Figura 5**).

Las secuencias obtenidas se analizaron en el programa BLAST de la base de datos NCBI y la filogenia se realizó en el software MEGA 7.0.

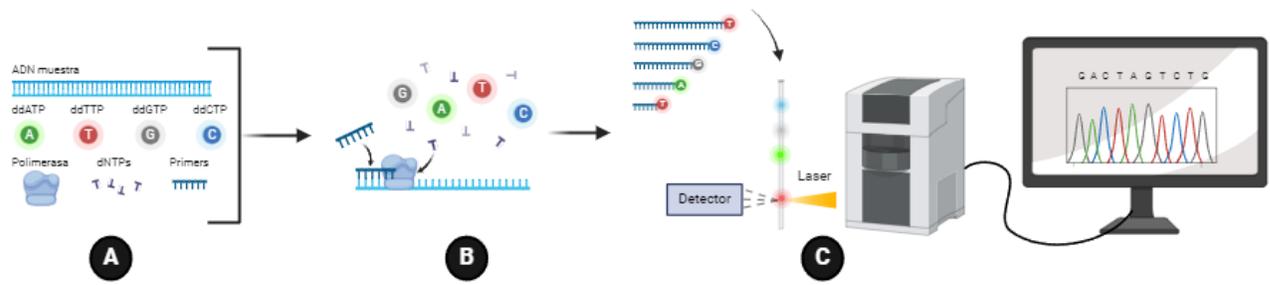


Figura 5. Secuenciación por método de Sanger.

- A) Elementos. B) La polimerasa se detiene en el dideoxinucleótido con fluorescencia.
 C) Los resultados de la PCR se analizan en un gel de electroforesis capilar.

Created with BioRender

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Activación y purificación

Todas las cepas seleccionadas para su activación crecieron en agar nutritivo a las 24 horas de incubación (**Figura 6**). El crecimiento de los aislados en el medio de cultivo LB sólido permitió obtener cepas puras, colonias aisladas y una apropiada siembra de los aislados en medio LB líquido.

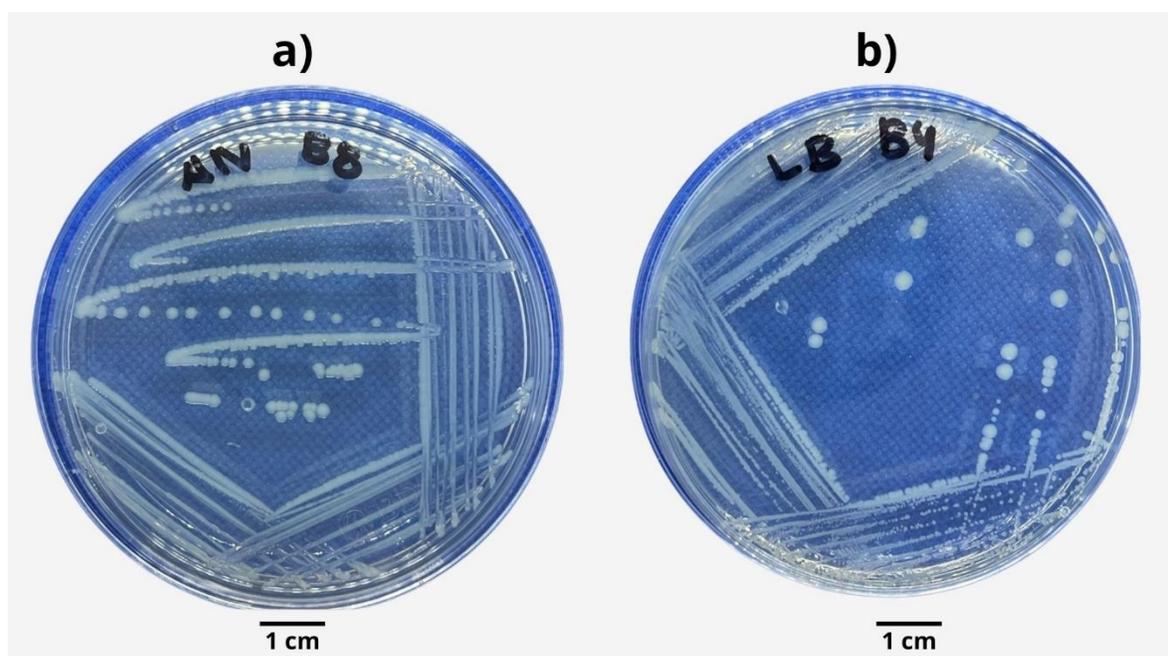


Figura 6. Crecimiento de los aislados reactivados en a) agar nutritivo aislado UAAAN-LBBM-05 y b) purificados en medio LB sólido aislado UAAAN-LBBM-02.

La descripción morfológica en las bacterias reactivadas concuerdan en su totalidad, la forma puntiforme en los aislados UAAAN-LBBM-01, UAAAN-LBBM-03, UAAAN-LBBM-05, UAAAN-LBBM-09, UAAAN-LBBM-13 y UAAAN-LBBM-16; la forma irregular en UAAAN-LBBM-07 y UAAAN-LBBM-14; en UAAAN-LBBM-02, UAAAN-LBBM-04, UAAAN-LBBM-06, UAAAN-LBBM-08, UAAAN-LBBM-10, UAAAN-LBBM-11 y UAAAN-LBBM-12 se presentó la forma redonda. Por otra parte, el borde en 12 de los aislados fue descrito como entero y 4 como irregular. La superficie coincidió siendo lisa en 13

aislados y 3 de superficie rugosa, de igual manera con la tinción Gram previamente reportada por García-Pérez (2022), en la **figura 7** podemos observar algunas de las tinciones realizadas. Del total de bacterias se cuenta con siete Gram positivas y nueve Gram negativas.

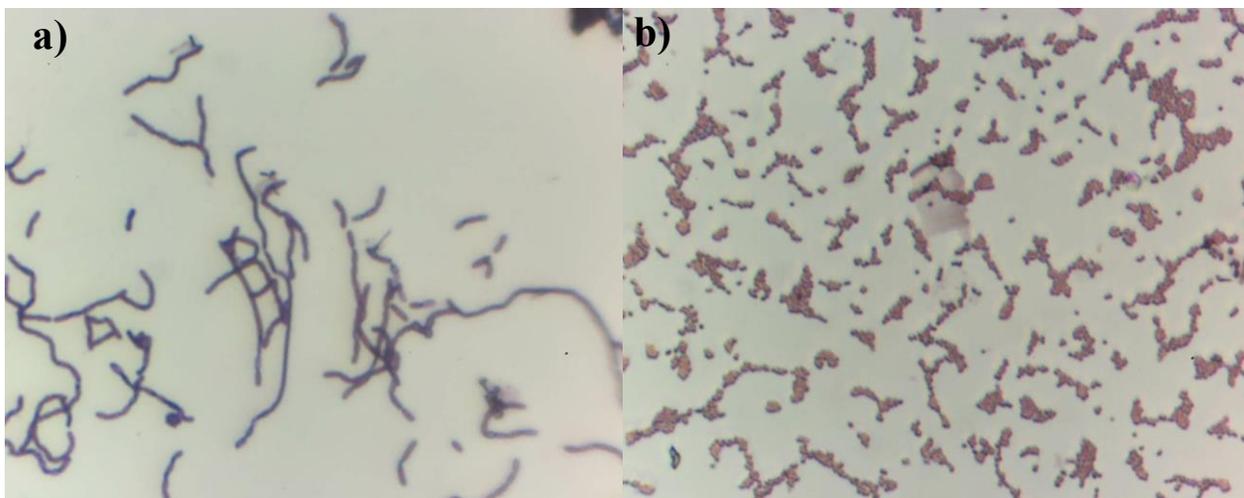


Figura 7. Tinción Gram de los aislados observados al microscopio 40X.

- a) Aislado UAAAN-LBBM-07 (Gram positivo). b) Aislado UAAAN-LBBM-03 (Gram negativo).

4.2 Extracción de DNA

La extracción de DNA realizada por medio del protocolo fenol: cloroformo permitió la obtención de DNA en los dieciséis aislados. La electroforesis confirmó los resultados de la extracción al visualizar la presencia del DNA bacteriano, como puede identificarse en la **figura 8** y la **figura 9**.

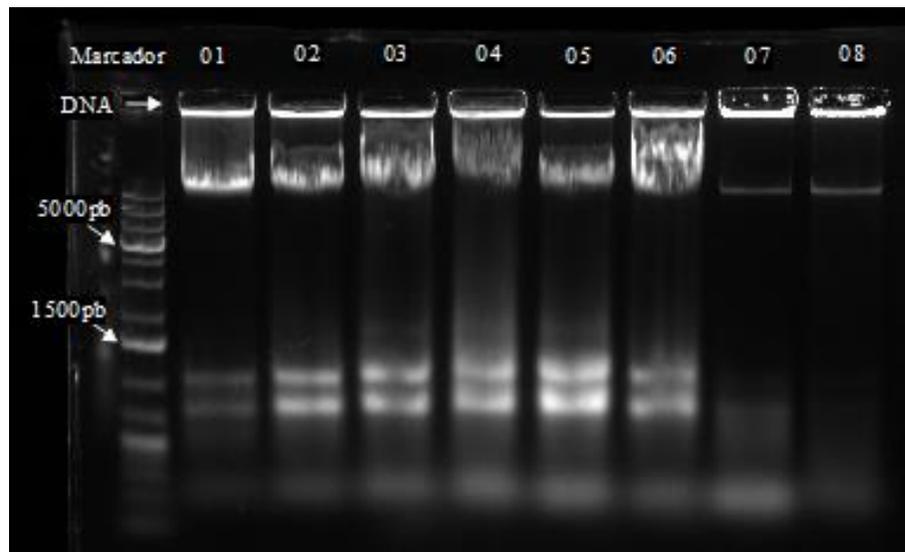


Figura 8. Gel de agarosa al 1% de la extracción de DNA de los aislados UAAAN-LBBM-01 al UAAAN-LBBM-08.

01) UAAAN-LBBM-01. 02) UAAAN-LBBM-02. 03) UAAAN-LBBM-03. 04) UAAAN-LBBM-04. 05) UAAAN-LBBM-05. 06) UAAAN-LBBM-06. 07) UAAAN-LBBM-7. 08) UAAAN-LBBM-08.

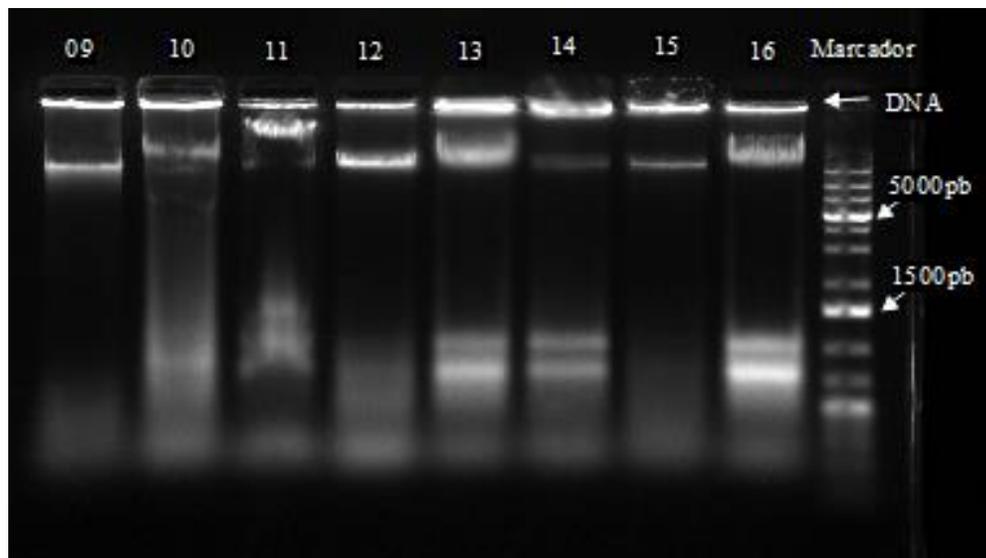


Figura 9. Gel de agarosa al 1% de la extracción de DNA de los aislados UAAAN-LBBM-09 al UAAAN-LBBM-16.

09) UAAAN-LBBM-09. 10) UAAAN-LBBM-10. 11) UAAAN-LBBM-11. 12) UAAAN-LBBM-12. 13) UAAAN-LBBM-13. 14) UAAAN-LBBM-14. 15) UAAAN-LBBM-15. 16) UAAAN-LBBM-16.

4.3 Amplificación por PCR

La identificación molecular en bacterias amplificando del gen 16S rRNA se utiliza con regularidad por las características que posee esta región. En este sentido, Salazar-Ramírez *et al.* en 2021 identificó bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas a candelilla de las regiones Sierra Mojada y Viesca, Coahuila, México.

Se verificaron los productos resultantes de la PCR mediante el uso de los primers generales 27F y 1492R utilizando la técnica de electroforesis, lo que mostró fragmentos que oscilaban en un tamaño entre las 1500 pares de bases y las 2000 pares de bases, correspondiendo a lo reportado en la identificación molecular de bacterias mediante el gen 16S rRNA, el cual presenta un tamaño entre el rango mencionado (Abellan-Schneyder *et al.*, 2021). Tales resultados se muestran en la **figura 10** y la **figura 11**.

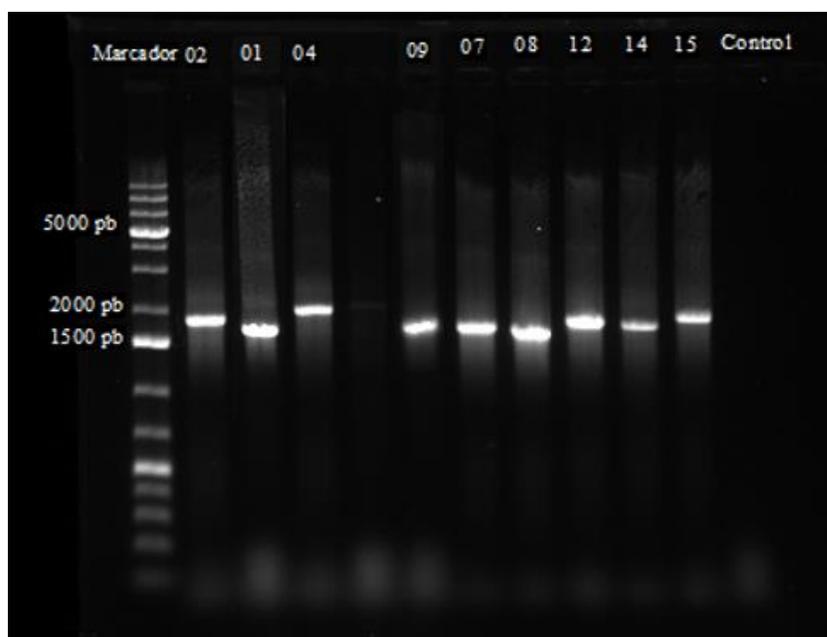


Figura 10. Gel de agarosa al 1% de los resultados de PCR.

Amplificación de la región 16S rRNA de los aislados 01) UAAAN-LBBM-01, 02) UAAAN-LBBM-02, 04) UAAAN-LBBM-04, 07) UAAAN-LBBM-07, 08) UAAAN-LBBM-08, 09) UAAAN-LBBM-09, 14) UAAAN-LBBM-14 y 15) UAAAN-LBBM-15 utilizando por control todos los elementos de la PCR excepto la muestra de DNA. La región obtenida posee un tamaño aproximado ente 1500 pb y 2000 pb.

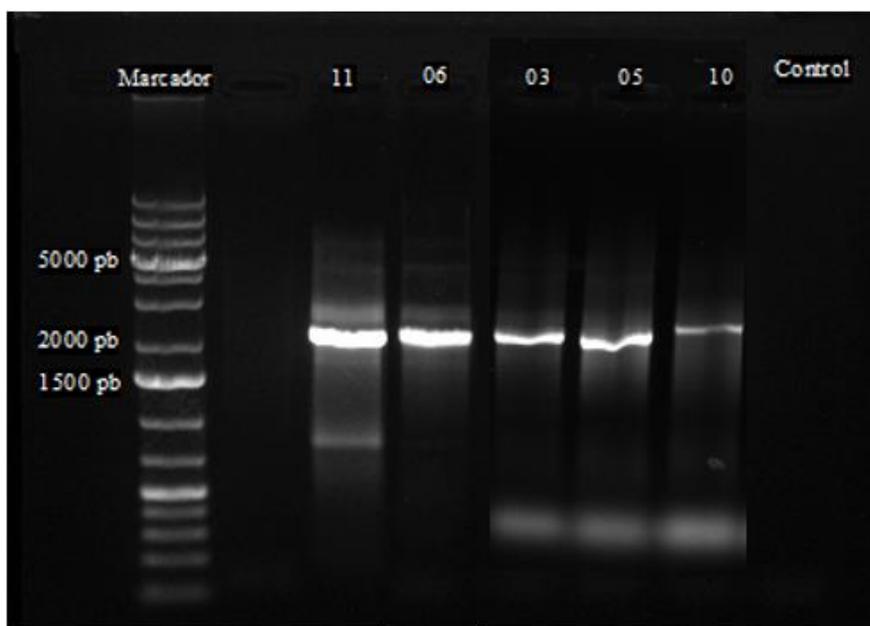


Figura 11. Gel de agarosa al 1% de los resultados de PCR.

Amplificación de la región 16S rRNA de los aislados 03) UAAAN-LBBM-03, 08) UAAAN-LBBM-05, 06) UAAAN-LBBM-06, 10) UAAAN-LBBM-10 y 11) UAAAN-LBBM-11 utilizando por control todos los elementos de la PCR excepto la muestra de DNA. La región obtenida posee un tamaño aproximado ente 1500 pb y 2000 pb.

Aislado	UAAAN-LBBM-01	UAAAN-LBBM-02	UAAAN-LBBM-03	UAAAN-LBBM-04
Concentración (ng/μl)	122.4	50.8	65.3	35.9
A _{260/280}	1.88	1.92	1.81	2.03

Cuadro 1. Concentración de los productos de PCR y la relación 260/280 de los aislados UAAAN-LBBM-01 AL UAAAN-LBBM-04.

Aislado	UAAAN-LBBM-05	UAAAN-LBBM-06	UAAAN-LBBM-07	UAAAN-LBBM-08
Concentración (ng/μl)	93.2	31.4	58.1	74.1
A _{260/280}	1.77	1.88	2.02	1.9

Cuadro 2. Concentración de los productos de PCR y la relación 260/280 de los aislados UAAAN-LBBM-05 al UAAAN-LBBM-08.

Aislado	UAAAN-LBBM-09	UAAAN-LBBM-10	UAAAN-LBBM-11	UAAAN-LBBM-12
Concentración (ng/μl)	43.1	68.2	77.7	53.4
A _{260/280}	1.90	1.65	1.79	1.90

Cuadro 3. Concentración de los productos de PCR y la relación 260/280 de los aislados

Aislado	UAAAN-LBBM-13	UAAAN-LBBM-14	UAAAN-LBBM-15	UAAAN-LBBM-16
Concentración (ng/μl)	62.4	34.1	76.3	23.5
A _{260/280}	1.86	1.90	1.88	1.75

Cuadro 4. Concentraciones de los productos de PCR y la relación 260/280 de los aislados UAAAN-LBBM-13 al UAAAN-LBBM-16.

En los cuadros 1, 2, 3 y 4 se presenta la concentración obtenida en los productos de PCR después de ser purificados. La relación 260/280 nos indica la contaminación presente por proteínas en una muestra de 50 μg de DNA, al medir por espectrofotometría en una onda de 260 nm el DNA y las proteínas en una onda de 280 nm, importante para determinar la pureza del DNA obtenido (Guzmán *et al.*, 2018). La lectura de la relación 260/280 en los productos de PCR purificados localiza a la mayoría dentro del rango óptimo de pureza que está establecida entre 1.8 y 2.1, los rangos de las muestras van de 1.65 a 2.03 logrando el mínimo requerido que es de 1.6 en todas.

4.4 Secuenciación y filogenia

En la literatura actual la identificación de bacterias con características promotoras de crecimiento asociadas a la planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) es limitada, siendo la presente información la segunda caracterización molecular.

La investigación publicada en 2021 por Salazar-Ramírez *et al.* identifica en la rizósfera de la planta candelilla bacterias pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Siccibacter*, *Cronobacter* y *Mixta* mostrando actividad solubilizadora de fosfatos, la producción de AIA y sideróforos. Los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron alto grado de similitud principalmente con el género *Enterocbater* (43.75%), seguido de *Pantoea* (25%) y *Bacillus* (25%), más un aislado perteneciente a *Chryseobacterium* (6.25%). Lo que difiere con los géneros reportados de bacterias

promotoras de crecimiento vegetal asociadas a candelilla por parte de Salazar-Ramírez y colaboradores (2021) excluyendo los tres aislados con similitud al género *Bacillus*. Lo que infiere que la microbiota en la planta de candelilla varía en relación a la región de crecimiento.

En el **cuadro 5** se presentan los resultados del alineamiento de las secuencias obtenidas de nuestros aislados con las secuencias de la base de datos NCBI, la filogenia corrobora la similitud y posible identificación de las cepas aisladas con la asociada en el cuadro.

Aislado	Taxón	Identidad	e-value	Acceso
UAAAN-LBBM-01	<i>Pantoea dispersa</i>	100 %	0	KF135238.1
UAAAN-LBBM-02	<i>Enterobacter hormaechei subsp. Xiangfangensis</i>	100 %	3e-179	OR975913.1
UAAAN-LBBM-03	<i>Enterobacter hormaechei</i>	100 %	0	MT640267.1
UAAAN-LBBM-04	<i>Enterobacter hormaechei</i>	100 %	0	MT640267.1
UAAAN-LBBM-05	<i>Enterobacter hormaechei</i>	100 %	0	MT640267.1
UAAAN-LBBM-06	<i>Enterobacter hormaechei</i>	100 %	0	MT640267.1
UAAAN-LBBM-07	<i>Priestria endophytica (Bacillus endophytic)</i>	100 %	0	MT326238.1
UAAAN-LBBM-08	<i>Bacillus sp.</i>	100 %	0	LC769489.1
UAAAN-LBBM-09	<i>Chryseobacterium sp</i>	98.72 %	0	OP623513.1
UAAAN-LBBM-10	<i>Enterobacter sp.</i>	100 %	0	MK209686.1
UAAAN-LBBM-11	<i>Pantoea dispersa</i>	100 %	0	KF135238.1
UAAAN-LBBM-12	<i>Bacillus sp.</i>	100 %	0	MT649293.1
UAAAN-LBBM-13	<i>Pantoea séptica</i>	100 %	0	MT379624.1
UAAAN-LBBM-14	<i>Enterobacter sp</i>	100 %	0	MK715483
UAAAN-LBBM-15	<i>Bacillus sp.</i>	100 %	0	OR890438.1
UAAAN-LBBM-16	<i>Panteoa sp.</i>	100 %	0	MK312601.1

Cuadro 5. Identificación molecular .

Los aislados UAAAN-LBBM-02, UAAAN-LBBM-03, UAAAN-LBBM-04, UAAAN-LBBM-05, UAAAN-LBBM-06, UAAAN-LBBM-10 y UAAAN-LBBM-14 con similitud a las bacterias *Enterobacter hormaechei* y *Enterobacter sp.* poseen actividades de fijación de nitrógeno, solubilización de potasio y producción de sideróforos (García-Pérez, 2022), esto

coincide con reportes en la literatura que identifica características de biocontrol y producción de enzimas tolerantes a estrés por parte de aislados identificados como *Enterobacter sp.* como la producción de amoníaco, cianuro de hidrogeno, sideróforos, ACC desamilasa, quitinasa, la fijación de nitrógeno y principalmente se destaca por su capacidad de solubilizar fósforo (P), además de potasio (K) inorgánico brindando disponibilidad a la planta. (Sagar *et al.*, 2020; Roslan *et al.*, 2020). La producción de cianuro de hidrogeno (HCN) suprime el crecimiento de patógenos al inhibir las enzimas citocromo C oxidasas en el sistema de transporte de electrones (Kumar, Maurya & Raghuwanshi, 2014). Se han reportado otras cepas capaces de mostrar actividades promotoras de crecimiento ante la presencia de fungicidas (Ahemad & Khan, 2010).

La cepa *Enterobacter hormaechei* (MF957335) se identifica con la posibilidad de solubilizar potasio, se evaluó su influencia en la planta de tomate obteniendo resultados positivos debido a que incremento la biomasa fresca y la longitud de los brotes y raíces (Ranawat, Mishra & Singh, 2021). También en tomate, Bendaha & Belaouni (2019) evaluaron el antagonismo de *Enterobacter hormaechei* subsp. *steigerwaltii* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicicis lycopersici* presentando antagonismo eficiente y mejorando longitud de tallo y raíces.

En 2016 Panwar y colaboradores reportaron un aislado identificado como *Pantoea dispersa* tolerante a condiciones salinas y con capacidad de solubilizar fosfato. En la evaluación por García-Pérez (2022) solo dos de los aislados identificados molecularmente en esta investigación pertenecientes al género *Pantoea* presentaron actividad de solubilización de fosfato. Previamente, se reportaron dos cepas aisladas del suelo rizosférico en plantas de caña de azúcar identificadas como *Pantoea dispersa*-AA7 y *Enterobacter asburriae*-BY4, las cuales toleran condiciones de estrés osmótico con capacidad de fijación de nitrógeno siendo candidatas a su aplicación en regiones con poca accesibilidad a agua y temperaturas altas (Singh *et al.*, 2021).

Bacillus es un género ampliamente reportado con bacterias que poseen actividades promotoras de crecimiento, industrialmente la mayoría de los productos agrícolas de origen biológico incluyen alguna bacteria del género. En el presente estudio tres de los aislados (UAAAN-LBBM-08, UAAAN-LBBM-12, UAAAN-LBBM-15) poseen una similitud del

100% con *Bacillus sp.* reportadas por Salazar-Ramírez *et al.* (2021) es precedente del género aislado en asociación a la planta de candelilla, las cepas aisladas presentan actividad en la solubilización de potasio y producción de sideróforos (García-Pérez, 2022).

La cepa UAAAN-LBBM-07 aislada presenta similitud del 100% con *Priestia edophytica* la que ha sido reportada en otras investigaciones como promotora de crecimiento aumentando la biomasa de plantas cultivadas bajo estrés salino, con capacidad fijadora de nitrógeno y su actividad biocontrol (Sharma *et al.*, 2022; Sharma *et al.*, 2023; Zhou, Jong & Kuipers, 2021).

El aislado UAAAN-LBBM-09 posee similitud a la bacteria *Chryseobacterium sp.* reportada por García- Pérez (2022) con actividad solubilizadora de potasio. Por otra parte, en la literatura se reporta con actividad de biocontrol ante el fitopatógeno *Phytophthora capsici* en la planta de pimiento, además de su aplicación en campo por su actividad de solubilización de fosfato (Sang *et al.*, 2018; Singh, Chandra, Geil, 2013).

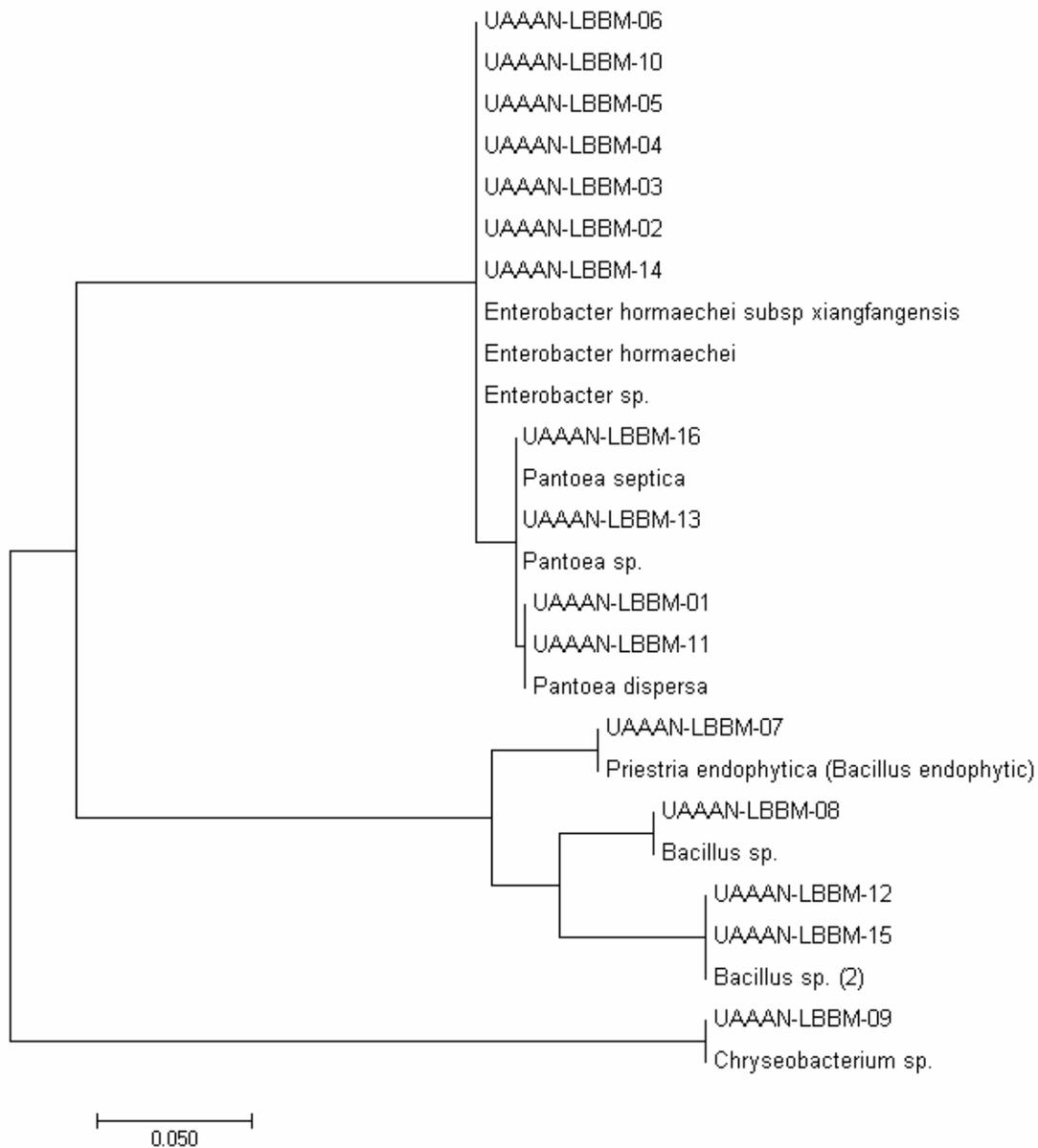


Figura 12. Árbol filogenético.

Construido con las secuencias del gen 16S Rrna de las cepas UAAAN-LBBM-01, UAAAN-LBBM-02, UAAAN-LBBM-03, UAAAN-LBBM-04, UAAAN-LBBM-05, UAAAN-LBBM-06, UAAAN-LBBM-07, UAAAN-LBBM-08, UAAAN-LBBM-09, UAAAN-LBBM-10, UAAAN-LBBM-11, UAAAN-LBBM-12, UAAAN-LBBM-13, UAAAN-LBBM-14, UAAAN-LBBM-15, UAAAN-LBBM-16, con los modelos Neighbor-Joining y BioNJ, utilizando un enfoque de Máxima Probabilidad Compuesta (MCL) en el software Mega 7.0.

V. CONCLUSIONES

El estudio de los aislados de bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociados a la planta de candelilla del ejido La tortuga, Ramos Arizpe, Coahuila permitió establecer el primer acercamiento en la identificación molecular mediante la amplificación del gen 16S rRNA. La secuenciación y análisis identificó a dos de las 16 bacterias aisladas como *Enterobacter sp.* y cinco con *Enterobacter hormaechei*, todas con una similitud de 100% hasta el momento, el estudio de estas como promotoras de crecimiento es limitado, pero se ha reportado su potencial para su aplicación en la agricultura. Tres de las bacterias secuenciadas mostraron un 100% de similitud con *Bacillus sp.* cuya aplicación en biofertilizantes, bioestimulantes y/o bioplaguicidas es amplio. Por otra parte, se encontró una asociación a *Pantoea séptica* en un 100% la cual no posee registro alguno en investigación o aplicación como promotora de crecimiento, sin embargo, coincidencias al mismo género *Pantoea sp.* y *Pantoea dispersa* con un grado de similitud del 100% han sido reportadas con resistencia a diversos estreses y solubilización de fosfato. Una de las bacterias aisladas identificó como *Priestria endophytica (Bacillus endophytic)* con similitud del 100% bacteria que se ha reportada en pocos estudios por sus actividades promotoras y por último se relacionó con un porcentaje de 98.72% una cepa a *Chryseobacterium sp.* catalogada como benéfica para las plantas.

Un 81.25 % de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal del presente estudio es diferente con bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociados a la planta de candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc) previamente reportadas, lo que influye en la diversidad de la microbiota de candelilla según su región de crecimiento.

Este estudio es una primera aproximación a la identificación molecular, por lo que se sugiere futuros análisis amplificando otras regiones del gen 16S rRNA considerando principalmente la región V1-V3 y V5-V6 por sus precedentes para la identificación de género y especie o el uso de genes específicos. Así como incluir otras regiones de aislamiento dentro del Desierto Chihuahuense. También se sugiere el estudio de otras actividades promotoras de crecimiento relacionadas a lo presentado en la literatura para las bacterias con las que presentan similitud los aislados del presente estudio.

VI. LITERATURA CITADA

Abdelaziz, A. M., Hashem, A. H., El-Sayyad, G. S., El-Wakil, D. A., Selim, S., Alkhalifah, D. H., & Attia, M. S. (2023). Biocontrol of soil borne diseases by plant growth promoting rhizobacteria. *Tropical Plant Pathology*, 48(2), 105-127.

Abellan-Schneyder, I., Matchado, MS, Reitmeier, S., Sommer, A., Sewald, Z., Baumbach, J., ... y Neuhaus, K. (2021). Cebadores, canalizaciones, parámetros: problemas en la secuenciación del gen 16S rRNA. *Mosphere*, 6 (1), 10-1128.

Acosta, S. J., Herrera, J. A. Q., & Solis, J. V. (2018). Captación de agua de lluvia: tipos, componentes y antecedentes en zonas áridas de México, como estrategia de uso sustentable del agua. *Vivienda y Comunidades Sustentables*, (3), 63-86.

Alcantara-Cortes, J. S., Acero Godoy, J., Alcántara Cortés, J. D., & Sánchez Mora, R. M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32), 109-129.

Ansari, R. A., Rizvi, R., Sumbul, A., & Mahmood, I. (2017). PGPR: current vogue in sustainable crop production. *Probiotics and plant health*, 455-472.

Aranda-Ledesma, N. E., Bautista-Hernández, I., Rojas, R., Aguilar-Zárate, P., del Pilar Medina-Herrera, N., Castro-López, C., & Martínez-Ávila, G. C. G. (2022). Candelilla wax: Prospective suitable applications within the food field. *LWT*, 159, 113170.

Baba, Z. A., Hamid, B., Sheikh, T. A., Alotaibi, S. H., El Enshasy, H. A., Ansari, M. J., Zuan, A. T. K., & Sayyed, R. Z. (2021). Psychrotolerant *Mesorhizobium* sp. Isolated from Temperate and Cold Desert Regions Solubilizes Potassium and Produces Multiple Plant Growth Promoting Metabolites. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(19), 5758. <https://doi.org/10.3390/molecules26195758>

Bal, H. B., & Adhya, T. K. (2021). Alleviation of submergence stress in rice seedlings by plant growth-promoting rhizobacteria with ACC deaminase activity. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 606158.

Bañuelos-Revilla, José Enrique, Palacio-Núñez, Jorge, Martínez-Montoya, Juan Felipe, Olmos-Oropeza, Genaro, & Flores-Cano, Jorge Alberto. (2019). Distribución

potencial y abundancia de candelilla (*Euphorbia antisiphilitica*) en el norte de Zacatecas, México. *Madera y bosques*, 25(1), e2511657. Epub 01 de marzo de 2019. <https://doi.org/10.21829/myb.2019.2511657>

Bautista-Hernández, I., Aranda-Ledesma, N. E., Rojas, R., Tafolla-Arellano, J. C., & Martínez-Ávila, G. C. (2021). Antioxidant activity of polyphenolic compounds obtained from *Euphorbia antisiphilitica* by-products. *Heliyon*, 7(4).

Benard, P., Bachmann, J., Zarebanadkouki, M., Schlüter, S., Blaser, S. R., Kaestner, A., & Carminati, A. (2023). Variations in pore size and contact angle distributions control rhizosphere rewetting. *Geoderma*, 437, 116576.

Bendaha, M. E. A., & Belaouni, H. A. (2019). Tomato growth and resistance promotion by *Enterobacter hormaechei* subsp. *steigerwaltii* EB8D. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 52(3-4), 318-332.

Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*, 35, 1044-1051.

Benjumeda Muñoz, D. (2017). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Mecanismos y aplicaciones.

Bernadac-Meza, B., (2022). Desarrollo de un protocolo para la propagación in vitro de candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc.) mediante organogénesis directa e indirecta.

Berrum-Aguilar, D. (2021). Caracterización fisicoquímica y funcional de la planta de candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc) en diferentes localidades.

Billah, M., Khan, M., Bano, A., Hassan, T. U., Munir, A., & Gurmani, A. R. (2019). Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. *Geomicrobiology Journal*, 36(10), 904-916.

Borjas-Ventura, R., Julca-Otiniano, A., & Alvarado-Huamán, L. (2020). Las fitohormonas una pieza clave en el desarrollo de la agricultura. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 150-164.

Briones, O., Búrquez, A., Martínez-Yrizar, A., Pavón, N., & Perroni, Y. (2018). Biomasa y productividad en las zonas áridas mexicanas. *Madera y bosques*, 24(SPE).

Bueno Batista, M., & Dixon, R. (2019). Manipulating nitrogen regulation in diazotrophic bacteria for agronomic benefit. *Biochemical Society transactions*, 47(2), 603–614. <https://doi.org/10.1042/BST20180342>

Busby, P. E., Soman, C., Wagner, M. R., Friesen, M. L., Kremer, J., Bennett, A., ... & Dangl, J. L. (2017). Research priorities for harnessing plant microbiomes in sustainable agriculture. *PLoS biology*, 15(3), e2001793.

Chávez-Ambriz, L. A., Hernández-Morales, A., Cabrera-Luna, J. A., Luna-Martínez, L., & Pacheco-Aguilar, J. R. (2016). Aislados de *Bacillus* provenientes de la rizósfera de cactus incrementan la germinación y la floración en *Mammillaria* spp.(Cactaceae). *Revista argentina de microbiología*, 48(4), 333-341. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.09.001>

Chepsergon, J., & Moleleki, L. N. (2023). Rhizosphere bacterial interactions and impact on plant health. *Current Opinion in Microbiology*, 73, 102297.

Chieb, M., & Gachomo, E. W. (2023). The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. *BMC Plant Biology*, 23(1), 407.

Cinvestav. (2023).

Eshaghi, E., Nosrati, R., Owlia, P., Malboobi, M. A., Ghaseminejad, P., & Ganjali, M. R. (2019). Zinc solubilization characteristics of efficient siderophore-producing soil bacteria. *Iranian Journal of Microbiology*, 11(5), 419.

Esquivel-Cote, R., Gavilanes-Ruiz, M., Cruz-Ortega, R., & Huante, P. (2013). Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Revista fitotecnica mexicana*, 36(3), 251-258.

Estrada-González, Á. J., Medina-De la Rosa, G., Rivas, J. F., & López-Lozano, N. E. (2023). LAS REGULACIONES FISIOLÓGICAS DE UN CACTUS ALTAMENTE TOLERANTE A LA SEQUÍA MODIFICAN LAS COMUNIDADES BACTERIANAS EN SU RIZOSFERA. *Hacia un conocimiento global y multidisciplinario del recurso suelo: propiedades del suelo y procesos*, 195.

Etesami, H., Emami, S., & Alikhani, H. A. (2017). Potassium solubilizing bacteria (KSB):: Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects A review. *Journal of soil science and plant nutrition*, 17(4), 897-911.

Feng, H., Fu, R., Hou, X., Lv, Y., Zhang, N., Liu, Y., Xu, Z., Miao, Y., Krell, T., Shen, Q., & Zhang, R. (2021). Chemotaxis of Beneficial Rhizobacteria to Root Exudates: The First Step towards Root-Microbe Rhizosphere Interactions. *International journal of molecular sciences*, 22(13), 6655. <https://doi.org/10.3390/ijms22136655>

Fitzpatrick, CR, Copeland, J., Wang, PW, Guttman, DS, Kotanen, PM y Johnson, MT (2018). Ensamblaje y función ecológica del microbioma de la raíz en especies de plantas angiospermas. *Actas de la Academia Nacional de Ciencias* , 115 (6), E1157-E1165.

Flores del Ángel, M. D. L. L. (2013). *Situación actual de las poblaciones de Candelilla (Euphorbia antisyphilitica Zucc): Inventario, su propagación sexual y asexual en el estado de Coahuila, México* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).

Franco-Duarte, R., Černáková, L., Kadam, S., S. Kaushik, K., Salehi, B., Bevilacqua, A., ... & Rodrigues, C. F. (2019). Advances in chemical and biological methods to identify microorganisms—from past to present. *Microorganisms*, 7(5), 130.

Frébortová, J., & Frébort, I. (2021). Biochemical and structural aspects of cytokinin biosynthesis and degradation in bacteria. *Microorganisms*, 9(6), 1314.

García-Pérez, E. Z. (2022). Aislamiento y caracterización de microorganismos asociados a la planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) y su efecto en la germinación y crecimiento en *Phaseolus vulgaris*.

Garcia Sanchez, J., (2018). Identificación de bacterias productoras de giberelinas presentes en plantas de *stanophea tigrina* con efecto promotor de crecimiento vegetal.

Goswami, D., Thakker, J. N., & Dhandhukia, P. C. (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1127500.

Guzmán Duchén, D., & Montero Torres, J. (2021). Interacción de bacterias y plantas en la fijación del nitrógeno. *Revista de investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 8(2), 87-101.

Guzmán Rodríguez, L. F., Cortés Cruz, M. A., Pichardo González, J. M., & Arteaga Garibay, R. I. (2018). Comparación de protocolos de aislamiento de DNA a partir de semilla de soya. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(8), 1691-1701.

Hassan, M. K., McInroy, J. A., & Kloepper, J. W. (2019). The interactions of rhizodeposits with plant growth-promoting rhizobacteria in the rhizosphere: a review. *Agriculture*, 9(7), 142.

He, D., & Wan, W. (2022). Distribution of Culturable Phosphate-Solubilizing Bacteria in Soil Aggregates and Their Potential for Phosphorus Acquisition. *Microbiology spectrum*, 10(3), e0029022. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00290-22>

Hedden, P. (2020). The current status of research on gibberellin biosynthesis. *Plant and Cell Physiology*, 61(11), 1832-1849.

Hernández-Herrera, J. A., Moreno-Reséndez, A., Valenzuela-Núñez, L. M., & Martínez-Salvador, M. (2019). Modelación de la presencia de *Euphorbia antisiphilitica* Zucc mediante propiedades físicas y químicas del suelo. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 6(18), 499-511.

HERNÁNDEZ, M. G. R. (2012). *INDUCCIÓN DEL DESARROLLO VEGETAL DE Euphorbia antisiphilitica MEDIANTE Bacillus sp* (Doctoral dissertation, INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL).

Huang, X. F., Chaparro, J. M., Reardon, K. F., Zhang, R., Shen, Q., & Vivanco, J. M. (2014). Rhizosphere interactions: root exudates, microbes, and microbial communities. *Botany*, 92(4), 267-275.

Instituto de la Candelilla (2013). La planta de la Candelilla.

Jaiswal, S. K., Mohammed, M., Ibny, F. Y., & Dakora, F. D. (2021). Rhizobia as a source of plant growth-promoting molecules: Potential applications and possible operational mechanisms. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 619676.

Kamran, S., Shahid, I., Baig, D. N., Rizwan, M., Malik, K. A., & Mehnaz, S. (2017). Contribution of zinc solubilizing bacteria in growth promotion and zinc content of wheat. *Frontiers in microbiology*, *8*, 2593.

Khanghahi, M. Y., Ricciuti, P., Allegretta, I., Terzano, R., & Crecchio, C. (2018). Solubilization of insoluble zinc compounds by zinc solubilizing bacteria (ZSB) and optimization of their growth conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*, 25862-25868.

Khatoon, Z., Huang, S., Rafique, M., Fakhar, A., Kamran, M. A., & Santoyo, G. (2020). Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria on soil health and the sustainability of agricultural systems. *Journal of environmental management*, *273*, 111118. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111118>

Knights, H. E., Jorin, B., Haskett, T. L., & Poole, P. S. (2021). Deciphering bacterial mechanisms of root colonization. *Environmental microbiology reports*, *13*(4), 428–444. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12934>

Kong, Z., & Liu, H. (2022). Modification of Rhizosphere Microbial Communities: A Possible Mechanism of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Enhancing Plant Growth and Fitness. *Frontiers in plant science*, *13*, 920813. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.920813>

Kudoyarova, G., Arkhipova, T., & Dodd, I. C. (2019). Phytohormone mediation of interactions between plants and non-symbiotic growth promoting bacteria under edaphic stresses. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 483140.

Kumar, A., Maurya, B. R., & Raghuwanshi, R. (2014). Isolation and characterization of PGPR and their effect on growth, yield and nutrient content in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *3*(4), 121-128.

Kuzyakov, Y., & Razavi, B. S. (2019). Rhizosphere size and shape: temporal dynamics and spatial stationarity. *Soil Biology and Biochemistry*, *135*, 343-360.

Lindström, K., & Mousavi, S. A. (2020). Effectiveness of nitrogen fixation in rhizobia. *Microbial biotechnology*, *13*(5), 1314-1335.

Ling, N., Wang, T., & Kuzyakov, Y. (2022). Rhizosphere bacteriome structure and functions. *Nature communications*, *13*(1), 836.

Ma, W., & Tang, S. (2022). Root exudates contribute to belowground ecosystem hotspots: a review. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 937940.

Mahmud, K., Makaju, S., Ibrahim, R., & Missaoui, A. (2020). Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research. *Plants*, *9*(1), 97.

Martínez-Falcón, A. P., Martínez-Adriano, C. A., & Dáttilo, W. (2019). Redes complejas como herramientas para estudiar la diversidad de las interacciones ecológicas. *La biodiversidad en un mundo cambiante: Fundamentos teóricos y metodológicos para su estudio*, 265-283.

Mathesius, U. (2022). Are legumes different? Origins and consequences of evolving nitrogen fixing symbioses. *Journal of Plant Physiology*, *276*, 153765.

Meneses Moran, E. D. (2020). Utilidad de los microorganismos para el control de fitopatógenos.

Mike-Anosike, E. E., Braide, W., & Adeleye, S. A. (2018). Studies on indole acetic acid (IAA) production by rhizobacteria and growth promoting potentials. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, *5*(2), 133-140.

Molina-Romero, D., Bustillos-Cristales, M. D. R., Rodríguez-Andrade, O., Morales-García, Y. E., Santiago-Saenz, Y., Castañeda-Lucio, M., & Muñoz-Rojas, J. (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biológicas*, *17*(2), 24-34.

Morales, I. M. M., & Hernández, D. M. G. (2023). Bacterias asociadas a la rizósfera: mecanismos de interacción y métodos de identificación. *Temas de Ciencia y Tecnología*, *27*(79).

Moreno Reséndez, A., Carda Mendoza, V., Reyes Carrillo, J. L., Vásquez Arroyo, J., & Cano Ríos, P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *20*(1), 68-83.

Muñoz-Ruiz, C. V., López-Díaz, S. I. G. I. F. R. E. D. O., Covarrubias-Villa, F. R. A. N. C. I. S. C. O., Villar-Luna, E. D. G. A. R., Medina-Medrano, J. R., & Barriada, L. G. (2016). Effect of abiotic stress conditions on the wax production in candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* zucc.). *Revista Latinoamericana de Química*, 44(1), 26-33.

Muñoz-Ucros, J., Zwetsloot, M. J., Cuellar-Gempeler, C., & Bauerle, T. L. (2021). Spatiotemporal patterns of rhizosphere microbiome assembly: From ecological theory to agricultural application. *Journal of Applied Ecology*, 58(5), 894-904.

Mustafa, S., Kabir, S., Shabbir, U. y Batool, R. (2019). El crecimiento de las plantas que promueven las rizobacterias en la agricultura sostenible: del enfoque teórico al pragmático. *Simbiosis* , 78 , 115-123.

Nitu, R., Rajinder, K., & Sukhminderjit, K. (2020). Zinc solubilizing bacteria to augment soil fertility—A comprehensive review. *Int. J. Agricult. Sci. Vet. Med*, 8, 38-44.

Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33, 1-16. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>

Oleńska, E., Małek, W., Wójcik, M., Swiecicka, I., Thijs, S., & Vangronsveld, J. (2020). Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review. *Science of the Total Environment*, 743, 140682.).

Palacio-Rodríguez, R., Ramos, B. P., Coria-Arellano, J. L., Reyes, B. N., & Sáenz-Mata, J. MECANISMOS DE LAS PGPR PARA MITIGAR EL ESTRÉS ABIÓTICO DE PLANTAS PGPR MECHANISMS TO ALLEVIATE THE ABIOTIC STRESS OF PLANTS.

Pantigoso, H. A., Manter, D. K., Fonte, S. J., & Vivanco, J. M. (2023). Root exudate-derived compounds stimulate the phosphorus solubilizing ability of bacteria. *Scientific reports*, 13(1), 4050. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30915-2>

Panwar, M., Tewari, R., Gulati, A. y Nayyar, H. (2016). La rizobacteria indígena *Pantoea dispersa* (PSB3), tolerante a la sal, reduce la absorción de sodio y mitiga los efectos

del estrés salino en el crecimiento y el rendimiento de los garbanzos. *Acta Physiologiae Plantarum* , 38 , 1-12.

Pedraza, Luz Adriana, López, Camilo Ernesto, & Uribe-Velez, Daniel. (2020). MECANISMOS DE ACCIÓN DE *Bacillus* spp. (Bacillaceae) CONTRA MICROORGANISMOS FITOPÁTOGENOS DURANTE SU INTERACCIÓN CON PLANTAS. *Acta Biológica Colombiana*, 25(1), 112-125. <https://doi.org/10.15446/abc.v25n1.75045>

Raji, M., & Thangavelu, M. (2021). Isolation and screening of potassium solubilizing bacteria from saxicolous habitat and their impact on tomato growth in different soil types. *Archives of microbiology*, 203(6), 3147–3161. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02284-9>

Ramos Acosta, B. P., & Álvarez Reyna, V. D. P. Aislamiento y caracterización de PGPR[™] S de mezquite (*Prosopis* spp).

Ramos Cabrera, E. V. (2018). *Investigación de microorganismos promotores del crecimiento vegetal en cultivos de interés agronómico mediante análisis metagenómico y microbiológico* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).

Rana, K. L., Kour, D., Kaur, T., Devi, R., Yadav, A. N., Yadav, N., Dhaliwal, H. S., & Saxena, A. K. (2020). Endophytic microbes: biodiversity, plant growth-promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability. *Antonie van Leeuwenhoek*, 113(8), 1075–1107. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01429-y>

Ranawat, B., Mishra, S., & Singh, A. (2021). *Enterobacter hormaechei* (MF957335) enhanced yield, disease and salinity tolerance in tomato. *Archives of microbiology*, 203, 2659-2667

Restrepo-Correa, S. P., Pineda-Meneses, E. C., & Ríos-Osorio, L. A. (2017). Mecanismos de acción de hongos y bacterias empleados como biofertilizantes en suelos agrícolas: una revisión sistemática. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(2), 335-351.

Restrepo-Franco, G. M., Marulanda-Moreno, S., de la Fe-Pérez, Y., Díaz-de la Osa, A., Lucia-Baldani, V., & Hernández-Rodríguez, A. (2015). Bacterias solubilizadoras de

fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 46(1), 63-76.

Rocha-Estrada, A., Foroughbakhch-Pournavab, R., Guzmán-Lucio, M. A., & Alvarado-Vázquez, M. A. (2023). Candelilla, *Euphorbia antisiphilitica* Zucc., aprovechamiento tradicional en el Norte de México. *Revista Ciencia UANL*, 24(110), 19–28. Recuperado a partir de <https://cienciauanl.uanl.mx/ojs/index.php/revista/article/view/245>

Rojas Molina, R., Saucedo Pompa, S., De León Zapata, M. A., Jasso Cantú, D., & Aguilar, C. N. (2011). Pasado, presente y futuro de la candelilla. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 2(6), 7-18.

Rörig, M. L., Rodríguez, A. M., Frasier, I., Setten, L., Estrada, E. O., Solans, M., ... & Grasso, D. H. (2023). Análisis y caracterización de poblaciones bacterianas solubilizadoras de P en un ensayo de larga duración con diferentes secuencias de cultivo. *Ecología Austral*, 33(1), 124-135.

Roslan, M. A. M., Zulkifli, N. N., Sobri, Z. M., Zuan, A. T. K., Cheak, S. C., & Abdul Rahman, N. A. (2020). Seed biopriming with P-and K-solubilizing *Enterobacter hormaechei* sp. improves the early vegetative growth and the P and K uptake of okra (*Abelmoschus esculentus*) seedling. *PloS one*, 15(7), e0232860.

Sagar, A., Riyazuddin, R., Shukla, P. K., Ramteke, P. W., & Sayyed, R. Z. (2020). Heavy metal stress tolerance in *Enterobacter* sp. PR14 is mediated by plasmid.

Salazar-Ramírez, M. T., PRECIADO-RANGEL, P., FORTIS-HERNÁNDEZ, M., RUEDA-PUENTE, E. O., YESCAS-CORONADO, P., & OROZCO-VIDAL, J. A. (2021). Plant growth-promoting rhizobacteria associated to candelilla rhizosphere (*Euphorbia antisiphilitica*) and its effects on *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49(2), 12294-12294.

Samaniego-Gómez, B. Y., Reyes-Ramírez, A., Moreno-Valenzuela, O. A., & Tun-Suárez, J. M. (2017). Resistencia sistémica inducida contra virus fitopatógenos mediada por la inoculación con la rizobacteria *Bacillus* spp. *Revista de Protección Vegetal*, 32(1), 10-22.

Sang, M. K., Jeong, J. J., Kim, J., & Kim, K. D. (2018). Growth promotion and root colonisation in pepper plants by phosphate-solubilising *Chryseobacterium* sp. strain ISE14 that suppresses *Phytophthora* blight. *Annals of Applied Biology*, *172*(2), 208-223.

Santoyo, G., Urtis-Flores, C. A., Loeza-Lara, P. D., Orozco-Mosqueda, M. D. C., & Glick, B. R. (2021). Rhizosphere colonization determinants by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Biology*, *10*(6), 475.

Shameer, S., & Prasad, T. N. V. K. V. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regulation*, *84*, 603-615.

Sharma, K., Chandel, N. S., Vaishnav, A., Rana, V. S., & Singh, S. (2023). Fenugreek associated bacterium *Priestia endophytica* SK1 induces defense response against fusarium wilt by accumulation of secondary metabolites. *South African Journal of Botany*, *160*, 229-234.

Sharma, K., Sharma, S., Vaishnav, A., Jain, R., Singh, D., Singh, H. B., ... & Singh, S. (2022). Salt-tolerant PGPR strain *Priestia endophytica* SK1 promotes fenugreek growth under salt stress by inducing nitrogen assimilation and secondary metabolites. *Journal of Applied Microbiology*, *133*(5), 2802-2813.

Singh, A. V., Chandra, R., & Goel, R. (2013). Phosphate solubilization by *Chryseobacterium* sp. and their combined effect with N and P fertilizers on plant growth promotion. *Archives of Agronomy and Soil Science*, *59*(5), 641-651.

Singh, P., Chauhan, P. K., Upadhyay, S. K., Singh, R. K., Dwivedi, P., Wang, J., & Jain, D. (2022). Mechanistic insights and potential use of siderophores producing microbes in rhizosphere for mitigation of stress in plants grown in degraded land. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 898979.

Singh, P., Singh, R. K., Li, H. B., Guo, D. J., Sharma, A., Lakshmanan, P., ... & Li, Y. R. (2021). Diazotrophic bacteria *Pantoea dispersa* and *Enterobacter asburiae* promote sugarcane growth by inducing nitrogen uptake and defense-related gene expression. *Frontiers in microbiology*, *11*, 600417.

Singh, R. K., Singh, P., Li, H. B., Song, Q. Q., Guo, D. J., Solanki, M. K., ... & Li, Y. R. (2020). Diversity of nitrogen-fixing rhizobacteria associated with sugarcane: a comprehensive study of plant-microbe interactions for growth enhancement in *Saccharum* spp. *BMC Plant Biology*, *20*, 1-21.

Soares, E. V. (2022). Perspective on the biotechnological production of bacterial siderophores and their use. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *106*(11), 3985-4004.

Soussi, A., Ferjani, R., Marasco, R., Guesmi, A., Cherif, H., Rolli, E., ... & Cherif, A. (2016). Plant-associated microbiomes in arid lands: diversity, ecology and biotechnological potential. *Plant and Soil*, *405*, 357-370.

Suleimanova, A., Bulmakova, D., Sokolnikova, L., Egorova, E., Itkina, D., Kuzminova, O., Gizatullina, A., & Sharipova, M. (2023). Phosphate Solubilization and Plant Growth Promotion by *Pantoea brenneri* Soil Isolates. *Microorganisms*, *11*(5), 1136. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051136>

Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Khan, M. S. I., Shahid, N., & Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Applied Soil Ecology*, *121*, 102-117.

Tandapilco Llumitaxi, J. W. (2020). Aislamiento y caracterización microbiológica, bioquímica y molecular de *Agrobacterium Tumefaciens* a partir de tejidos vegetales infectados.

Tang, J., Li, Y., Zhang, L., Mu, J., Jiang, Y., Fu, H., ... & Ye, Z. (2023). Biosynthetic pathways and functions of indole-3-acetic acid in microorganisms. *Microorganisms*, *11*(8), 2077.

Timofeeva, A., Galyamova, M., & Sedykh, S. (2022). Prospects for Using Phosphate-Solubilizing Microorganisms as Natural Fertilizers in Agriculture. *Plants (Basel, Switzerland)*, *11*(16), 2119. <https://doi.org/10.3390/plants11162119>

Tsukanova, K. A., Meyer, J. J. M., & Bibikova, T. N. (2017). Effect of plant growth-promoting Rhizobacteria on plant hormone homeostasis. *South African journal of botany*, *113*, 91-102.

Vargas Piedra, G. (2020). Ecología e influencia de las variables climáticas que caracterizan la productividad de *Euphorbia antisiphilitica* zucc en el norte de México.

Vega-Celedón, P., Canchignia Martínez, H., González, M., & Seeger, M. (2016). Biosíntesis de ácido indol-3-acético y promoción del crecimiento de plantas por bacterias. *Cultivos Tropicales*, 37, 33-39.

Vives-Peris, V., De Ollas, C., Gómez-Cadenas, A., & Pérez-Clemente, R. M. (2020). Root exudates: from plant to rhizosphere and beyond. *Plant cell reports*, 39(1), 3-17.

Walia, A., Guleria, S., Chauhan, A., Mehta, P. (2017). Bacterias endofíticas: papel en la solubilización de fosfatos. En: Maheshwari, D., Annapurna, K. (eds) Endófitos: productividad y protección de cultivos. Desarrollo sostenible y biodiversidad, vol 16. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-66544-3_4

Zhou, L., de Jong, A., & Kuipers, O. P. (2021). Characterization of the interaction between *Priestia endophytica* FH5 and *Rhizoctonia solani*: biocontrol potential against tomato damping-off. *Discovery of natural products from bacilli and pseudomonas for biocontrol of plant diseases*,

