

Aislamiento de microorganismos a partir de plantas: más allá del cultivo convencional

Bruce Manuel Morales-Barrón^{1,2} , Antonino Baez¹ , Laura Abisaí Pazos-Rojas^{3,4} , Kelsey Aguirre Schilder⁵ , Jesús Muñoz-Rojas^{1*} , Yolanda Elizabeth Morales-García^{1,6**} 

¹Grupo “Ecology and Survival of Microorganisms”, Laboratorio de Ecología Molecular Microbiana, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México. ²Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Prolongación Carpio y Plan de Ayala, Col. Santo Tomas, Alcaldía Miguel Hidalgo CP 11340, Ciudad de México, México. ³Facultad de Estomatología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México. ⁴Instituto Tecnológico de Monterrey, Escuela de Ingeniería y Ciencias, CP 64700, Monterrey, México. ⁵Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, España. ⁶Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Email autores para correspondencia: *jesus.munoz@correo.buap.mx; **yolanda.moralesg@correo.buap.mx

Recibido: 25 diciembre 2023. **Aceptado:** 31 diciembre 2023

Editado por: Andrés Corral-Lugo (Centro Nacional de Microbiología, Madrid, España)

RESUMEN

El presente artículo aborda la compleja diversidad microbiana en las plantas, explorando las dificultades asociadas con el cultivo de la mayoría de los microorganismos. Aunque los estudios han revelado nuevos microorganismos, se destaca que los cultivables representan una fracción mínima de la diversidad total. Se proponen diversas explicaciones, incluyendo preferencias nutricionales en los medios de cultivo, microorganismos en estado no cultivable, producción de sustancias inhibitorias y dependencia de metabolitos. Se destaca el cambio de paradigma con el advenimiento de estudios de microbiomas, permitiendo la comprensión de la composición microbiana sin necesidad de cultivo. Se enfatiza que, a diferencia de la aplicación exitosa en microbiomas intestinales, la aplicación práctica en agricultura aún enfrenta desafíos. Se aboga por un conocimiento exhaustivo de los microbiomas vegetales, incluyendo microorganismos no cultivables, y se destaca la importancia de diseñar formulaciones microbianas adaptadas a la agricultura. En última instancia, es importante señalar la necesidad de superar las limitaciones del cultivo tradicional para avanzar en la comprensión y aplicación de los microbiomas en el ámbito agrícola.

Palabras clave: diversidad microbiana; aislamiento bacteriano; no cultivable; microbiomas; agricultura.

ABSTRACT

The present article addresses the intricate microbial diversity in plants, exploring the challenges associated with cultivating the majority of microorganisms. While studies have revealed new microorganisms, it is highlighted that cultivable ones represent a minimal fraction of the total diversity. Various explanations are proposed, including nutritional preferences in cultivation media, microorganisms in a non-cultivable state, the production of inhibitory substances, and dependency on metabolites. The paradigm shift with the advent of microbiome studies is emphasized, allowing an understanding of microbial composition without the need for cultivation. It is stressed that, unlike the successful application in intestinal microbiomes, practical implementation in agriculture still faces challenges. There is an advocacy for a comprehensive understanding of plant microbiomes, including non-cultivable microorganisms, and the importance of designing microbial formulations adapted to agriculture. Ultimately, it is important to note the need to overcome the limitations of traditional cultivation to advance the understanding and application of microbiomes in agriculture.

Keywords: microbial diversity; bacterial isolation; non-culturable; microbiomes; agriculture.

CONTENIDO

La diversidad de microorganismos presentes en las plantas ha sido tema de estudio de muchos años [1–3]. Conocer a los microorganismos responsables de efectos adversos o benéficos para las plantas sigue siendo un tema de mucho interés para la comunidad científica del área de la microbiología [4–6]. De hecho, se continúan aislando nuevos microorganismos a partir de ambientes poco explorados e incluso a partir de ambientes ampliamente explorados [7,8]. Por ejemplo, recientemente se ha aislado la bacteria *Pantoea endophytica* a partir de plantas de maíz [7]. Sin embargo, los microorganismos cultivables representan un porcentaje muy bajo de la diversidad microbiana existente [9,10]. Aún se desconoce porque la mayoría de los

microorganismos no se puede cultivar, pero algunas explicaciones podrían ser las que a continuación se mencionan (Figura 1):

1) Los nutrientes de los medios de cultivo favorecen a ciertos microorganismos que sobrecrecen en las condiciones exploradas, impidiendo el crecimiento de otros microorganismos [9,10]. También se ha documentado la existencia de microorganismos oligotróficos que no son capaces de crecer en medios con altas concentraciones de fuentes de carbono o nitrógeno [9]; frecuentemente usadas en los medios de cultivo.

2) La mayoría de microorganismos en sus nichos naturales están en estado viable pero no cultivable (VBNC; por sus siglas en inglés), por

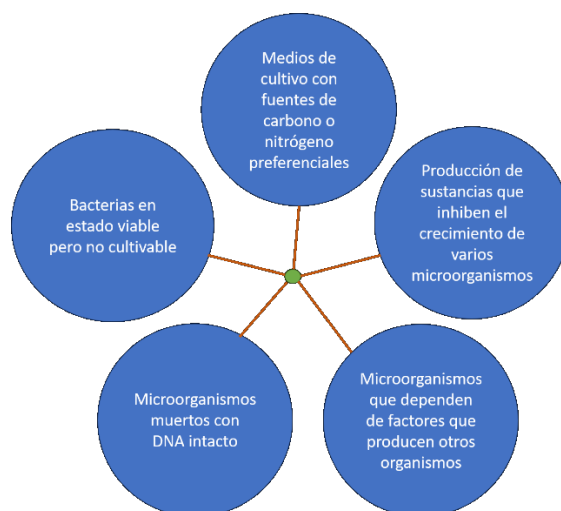


Figura 1. Posibles factores que limitan el crecimiento de varios microorganismos en medios de cultivo convencionales.

lo que no son capaces de crecer en medios de cultivo convencionales [11–13]. Cada vez se conoce más que los microorganismos usan al estado viable pero no cultivable como estrategia de supervivencia [14], especialmente en condiciones adversas que se presentan en el hábitat donde se desarrollan. El estado VBNC posiblemente es uno de los factores determinantes para el fallo frecuente del aislamiento de la mayoría de microorganismos, ya que se ha observado en algunos modelos bacterianos que la cultivabilidad solo se recupera bajo ciertas condiciones bastante específicas [11]; que raramente se consideran en un medio de cultivo para aislamiento.

3) Existe producción de sustancias inhibitorias en los medios de cultivo explorados por ciertas cepas microbianas y esas sustancias impiden el crecimiento de otros microorganismos [15]. El antagonismo entre cepas microbianas es una estrategia que se usa ampliamente para dominar

en un hábitat [16,17]. Las bacterias poseen un arsenal de diversas armas microbianas de naturaleza química diversa [15,17,18], entre las que podemos destacar bacteriocinas, antibióticos de amplio espectro, sideróforos, péptidos antimicrobianos y ácidos orgánicos [19]. Esas sustancias se pueden producir en los medios de cultivo, impidiendo el establecimiento de varias especies de microorganismos [10].

4) Aunque el DNA está intacto, muchos microorganismos están en fase de muerte [20]. Mediante técnicas de tinción (LIVE and DEAD) donde se puede evaluar el daño a membranas, se ha podido establecer que existen bacterias que se tornan rojas indicando un daño severo a membranas e interpretando que las bacterias están muertas [11]. Sin embargo, algunas células pueden permanecer en un nivel de daño subletal también observadas como rojas, pero no estar muertas [12]. Razón por la

que estas técnicas de tinción se acoplan a técnicas que evalúan la actividad metabólica, para el caso específico de células muertas, la actividad metabólica será nula [20]. A pesar de que las células están muertas, el DNA puede permanecer estable por un largo tiempo, permitiendo la amplificación de genes 16S DNAr durante los ensayos de determinación de diversidad metagenómica, lo cual podría dar como resultado la amplificación de secuencias pertenecientes a bacterias que ya no están activas en el medio ambiente evaluado.

5) Varios microorganismos dependen los metabolitos excretados por sus vecinos o por los exudados de las plantas [21]. Muchas bacterias requieren de factores especiales para su crecimiento y esos factores los obtienen de otras bacterias [22] o bien de las plantas hospederas [23]. Aún no se conoce con exactitud a esos factores, sin embargo, recientemente se ha observado que la homoserina lactona es un metabolito que permite el aislamiento de microorganismos que en ausencia de ese metabolito no podrían crecer en medios de cultivo convencionales [24].

Con el advenimiento del estudio de los microbiomas la concepción del mundo microbiano ha cambiado enormemente [25,26]. Aun cuando no podemos cultivar a todos los microorganismos podemos conocer la composición microbiana mediante estudios metagenómicos y darnos una idea de cómo varía esa composición en una condición respecto de otra, en función del espacio y tiempo [2,27,28]. Muchos trabajos referentes al microbioma de diversos ambientes y

hospederos se están publicando y se describe como la composición microbiana varía en las diferentes condiciones, en especial esas que generan estrés a los hospederos [2,29,30]. La cantidad de información relacionada con la diversidad microbiana obtenida a partir de estudios metagenómicos es tan grande que sería imposible de analizar sin las herramientas de bioinformática [31].

El conocimiento generado sobre los microbiomas vegetales ha revelado varios de los microorganismos asociados con la rizosfera o los tejidos internos de las plantas [32]. Sin embargo, este creciente conocimiento aún no se ha traducido en aplicaciones agrícolas de la misma manera que el estudio del microbioma intestinal [33], donde se ha demostrado que el trasplante fecal de individuos sanos a enfermos restaura un microbioma funcional [34-36]. La agricultura plantea desafíos únicos y la gran escala de la producción de cultivos agrícolas limita la viabilidad de utilizar el trasplante de suelo como medio para regenerar microbiomas de suelos no saludables. Por lo tanto, para desarrollar formulaciones microbianas útiles, se necesita un conocimiento integral de los microbiomas, incluido el aislamiento y la caracterización de microorganismos asociados a plantas hasta ahora no cultivables. El diseño de nuevas formulaciones que contengan estos nuevos microorganismos también requiere conocimiento del microbioma, especialmente si son de segunda generación, es decir, formulaciones multispecies que contienen varios microorganismos compatibles y tolerantes a diferentes estreses [37, 38].

Los desafíos de la ciencia son diversos y se requiere de ir mostrando a la comunidad científica y a la sociedad en general los avances en las distintas disciplinas para el desarrollo de la sociedad en conjunto [39]. Con el propósito de contribuir a resolver esos retos, en este número de la revista Alianzas y Tendencias BUAP se presentan 5 manuscritos:

- 1) Un manuscrito de revisión sobre la alteración de los parámetros celulares de la citometría hemática de los pacientes durante la severidad de la COVID-19 [40].
- 2) Un artículo que presenta un análisis bibliométrico del uso de estrategias tecnológicas en las micro, pequeñas y medianas empresas [41].
- 3) Una opinión sobre la alfabetización en ciencia y el pensamiento crítico en el aula [42].
- 4) Un trabajo original sobre la determinación de variables que afectan el encogimiento de suelas de PVC mediante un diseño factorial 2^5 [43].
- 5) Un artículo de revisión sobre la microbiota bacteriana intestinal y su asociación con el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas [44].
- 6) Un escrito sobre el significado de la portada del presente número [45].

Los trabajos recibidos en la revista han sido constantes y aunque no todos han llegado a culminar en publicaciones, la calidad de los trabajos se ha incrementado durante el proceso de la evaluación.

CONCLUSIÓN

El estudio de la diversidad microbiana en las plantas es importante para comprender como los microorganismos son responsables de

efectos tanto adversos como beneficiosos. A pesar de años de estudio, la mayoría de los microorganismos no se pueden cultivar, lo que plantea desafíos en la comprensión de su papel en los ecosistemas vegetales. Algunas posibles explicaciones para la dificultad en el cultivo de la mayoría de los microorganismos, incluyen preferencias nutricionales en los medios de cultivo, el estado viable no cultivable de muchos microorganismos, la producción de sustancias inhibitorias por ciertas cepas microbianas, la presencia de microorganismos en fase de muerte, y la dependencia de metabolitos excretados por otros microorganismos o por los exudados de las plantas. En este trabajo se destaca que, con el advenimiento de los estudios de microbiomas, la comprensión del mundo microbiano ha cambiado significativamente. Aunque no se pueden cultivar todos los microorganismos, los estudios metagenómicos permiten conocer la composición microbiana y cómo varía en diferentes condiciones, espacios y tiempos. Además, las herramientas de bioinformática son fundamentales para analizar la vasta cantidad de información relacionada con la diversidad microbiana obtenida de estos estudios. A pesar de los avances en la comprensión de los microbiomas vegetales, su aplicación en la agricultura aún no ha alcanzado el nivel de éxito observado en el estudio de microbiomas intestinales. Se requiere un conocimiento integral de los microbiomas vegetales, acoplado al aislamiento y caracterización de microorganismos no cultivables hasta ahora. Además, se destaca la

importancia de diseñar nuevas formulaciones microbianas que contengan microorganismos compatibles y tolerantes a diferentes estreses, especialmente si son de segunda generación y contienen varias especies. La ciencia enfrenta desafíos diversos que demandan la constante presentación de avances en diversas disciplinas para contribuir al progreso global de la sociedad. En este contexto, la revista Alianzas y Tendencias BUAP se erige como una destacada plataforma que permite exhibir estos logros. Funciona como un eficaz medio para informar a la comunidad científica y a la sociedad en general sobre los notables avances que impulsan el desarrollo conjunto de nuestra sociedad.

CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno de los autores tiene conflicto de interés en relación con lo mostrado en este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la VIEP BUAP por el apoyo para continuar con nuestras investigaciones. Laura Abisaí Pazos-Rojas, Yolanda Elizabeth Morales-García, Antonino Baez y Jesús Muñoz-Rojas pertenecen al Sistema Nacional de Investigadores del CONAHCyT, por lo que agradecemos a la Institución por el apoyo otorgado para hacer nuestras investigaciones. Bruce Manuel Morales Barrón fue becario CONAHCyT (CVU 710632) y agradece la beca otorgada. También agradecemos a la Dirección Internacionalización de la Investigación de la

BUAP, quienes amablemente nos apoyan para que el conocimiento rebase las fronteras nacionales.

REFERENCIAS

- [1]. Berg G, Köberl M, Rybakova D, Müller H, Grosch R, Smalla K. Plant microbial diversity is suggested as the key to future biocontrol and health trends. FEMS Microbiol Ecol [Internet]. 2017 May 1;93(5):fix050. Available from: <https://doi.org/10.1093/femsec/fix050>
- [2]. Mukhtar S, Mehnaz S, Malik KA. Microbial diversity in the rhizosphere of plants growing under extreme environments and its impact on crop improvement. Environ Sustain [Internet]. 2019;2(3):329–38. Available from: <https://doi.org/10.1007/s42398-019-00061-5>
- [3]. Kirk JL, Beaudette LA, Hart M, Moutoglis P, Klironomos JN, Lee H, *et al.* Methods of studying soil microbial diversity. J Microbiol Methods [Internet]. 2004;58(2):169–88. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701204000983>
- [4]. Morales-García YE, Juárez-Hernández D, Aragón-Hernández C, Mascarua-Esparza MA, Bustillos-Cristales MR, Fuentes-Ramírez LE, *et al.* Growth response of maize plantlets inoculated with *Enterobacter* spp., as a model for alternative agriculture. Rev Argent Microbiol. 2011;43:287–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22274827/>
- [5]. Caballero-Mellado J, Martínez-Aguilar L, Paredes-Valdez G, Santos PE los. *Burkholderia*

unamae sp. nov., an N₂-fixing rhizospheric and endophytic species. *Int J Syst Evol Microbiol* [Internet]. 2004;54(4):1165–72. Available from: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijs.0.02951-0>

[6]. Caballero-Mellado J, Onofre-Lemus J, Estrada-de los Santos P, Martínez-Aguilar L. The tomato rhizosphere, an environment rich in nitrogen-fixing *Burkholderia* species with capabilities of interest for agriculture and bioremediation. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2007 Aug 15;73(16):5308 LP – 5319. Available from: <http://aem.asm.org/content/73/16/5308.abstract>

[7]. Gao J, Xue J, Yan H, Tong S, Sayyar Khan M, Wang L, *et al.* *Pantoea endophytica* sp. nov., novel endophytic bacteria isolated from maize planting in different geographic regions of northern China. *Syst Appl Microbiol* [Internet]. 2019;42(4):488–94. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0723202019300451>

[8]. Guerra M, Carrasco-Fernández J, Valdés JH, Panichini M, Castro JF. Draft genome of *Pseudomonas* sp. RGM 2987 isolated from *Stevia philippiana* roots reveals its potential as a plant biostimulant and potentially constitutes a novel species. *Electron J Biotechnol* [Internet]. 2023;61:9–13. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0717345822000434>

[9]. Kapinusova G, Lopez Marin MA, Uhlik O. Reaching unreachable: Obstacles and successes of microbial cultivation and their reasons [Internet]. Vol. 14, *Frontiers in Microbiology*.

2023. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2023.1089630>

[10]. Morales-García YE, de la Torre-Zuñiga J, Duque E, Pérez-y- Terrón R, Martínez-Martínez L, Martínez-Contreras R, *et al.* Aspectos críticos a considerar para el aislamiento de bacterias benéficas. *Saberes Compart Rev Investig Científica, Tecnológica y Humanística* [Internet]. 2013;11(7):54–62. Available from: https://www.researchgate.net/publication/338593284_Aspectos_criticos_a_considerar_para_el_aislamiento_de_bacterias_beneficas

[11]. Pazos-Rojas LA, Cuellar-Sánchez A, Romero-Cerón AL, Rivera-Urbalejo A, Van Dillewijn P, Luna-Vital DA, *et al.* The Viable but Non-Culturable (VBNC) State, a Poorly Explored Aspect of Beneficial Bacteria. Vol. 12, *Microorganisms*. 2024. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-2607/12/1/39>

[12]. Pazos-Rojas LA, Muñoz-Arenas LC, Rodríguez-Andrade O, López-Cruz LE, López-Ortega O, Lopes-Olivares F, *et al.* Desiccation-induced viable but nonculturable state in *Pseudomonas putida* KT2440, a survival strategy. *PLoS One* [Internet]. 2019 Jul 19;14(7):e0219554. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219554>

[13]. Bernabé-Allende A. Estado viable no cultivable de *Pseudomonas putida* KT2440. In: Muñoz-Rojas J, editor. *Colección de ESMOS* [Internet]. Puebla, México: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; 2022. p. 1–3. Available from:

<https://sites.google.com/view/esmosbuap/esmos-2022/esmos-17>

[14]. İzgördü ÖK, Darcan C, Kariptaş E. Overview of VBNC, a survival strategy for microorganisms. 3 Biotech [Internet]. 2022;12(11):307. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03371-4>

[15]. Cesa-Luna C, Baez A, Quintero-Hernández V, De la Cruz-Enríquez J, Castañeda-Antonio MD, Muñoz-Rojas J. The importance of antimicrobial compounds produced by beneficial bacteria on the biocontrol of phytopathogens. Acta Biológica Colomb. 2020;25(1):140–54. Available from: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiolo/article/view/76867>

[16]. Mitchell M, Thornton L, Riley MA. Identifying more targeted antimicrobials active against selected bacterial phytopathogens. J Appl Microbiol [Internet]. 2022 Jun 1;132(6):4388–99. Available from: <https://doi.org/10.1111/jam.15531>

[17]. Riley MA, Wertz JE. Bacteriocins: Evolution, Ecology, and Application. Annu Rev Microbiol [Internet]. 2002 Oct 1;56(1):117–37. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.161024>

[18]. Tapia-Hernández A, Mascarúa-Esparza MA, Caballero-Mellado J. Production of bacteriocins and siderophore-like activity by *Azospirillum brasilense*. Microbios [Internet]. 1990;64(259):73–83. Available from: <http://europepmc.org/abstract/MED/2148964>

[19]. Muñoz-Rojas J. Bacteriocinas: una

estrategia de competencia microbiana propuesta como alternativa de antibióticos dirigidos para el futuro humano. In: Martínez-Romero E, Martínez-Romero J, editors. Microbios en línea [Internet]. Segunda ed. Cuernavaca, México: UNAM; 2004. p. 1–20. Available from: https://www.researchgate.net/publication/235953137_Bacteriocinas_una_estrategia_de_competencia_microbiana_propuesta_como_alternativa_de_antibioticos_dirigidos_para_el_futuro_humano

[20]. Patel RR, Kandel PP, Traverso E, Hockett KL, Triplett LR. *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola Uses Distinct Modes of Stationary-Phase Persistence To Survive Bacteriocin and Streptomycin Treatments. MBio [Internet]. 2021 Apr 13;12(2):10.1128/mbio.00161-21. Available from: <https://doi.org/10.1128/mbio.00161-21>

[21]. Dewi Puspita I, Kamagata Y, Tanaka M, Asano K, Nakatsu CH. Are Uncultivated Bacteria Really Uncultivable? Microbes Environ. 2012;27(4):356–66. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsme2/27/4/27_ME12092/article

[22]. Murugkar P, Dimise E, Stewart E, Viala SN, Clardy J, Dewhirst FE, *et al.* Identification of a growth factor required for culturing specific fastidious oral bacteria. J Oral Microbiol [Internet]. 2023 Jan 1;15(1):2143651. Available from: <https://doi.org/10.1080/20002297.2022.2143651>

[23]. Dhungana I, Kantar MB, Nguyen NH. Root exudate composition from different plant

species influences the growth of rhizosphere bacteria. Rhizosphere [Internet]. 2023;25:100645. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452219822001756>

[24]. Lopez Marin MA, Strejcek M, Uhlik O. Joining the bacterial conversation: increasing the cultivation efficiency of soil bacteria with acyl-homoserine lactones and cAMP. Microbiol Spectr [Internet]. 2023 Oct 3;11(6):e01860-23. Available from: <https://doi.org/10.1128/spectrum.01860-23>

[25]. Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès M-CC, Charles T, et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. Microbiome [Internet]. 2020;8(1):103. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>

[26]. Morales-García YE, Reyes-Rodríguez DP, Mares Duran OHA, Mendoza-Rojas E, Muñoz-Rojas J. Microorganismos reportados en los microbiomas son claves para la salud de los hospederos. Alianzas y Tendencias BUAP [Internet]. 2023;8(31):i–x. Available from: <https://www.aytbuap.mx/aytbuap-831>

[27]. Hartmann M, Six J. Soil structure and microbiome functions in agroecosystems. Nat Rev Earth Environ [Internet]. 2023;4(1):4–18. Available from: <https://doi.org/10.1038/s43017-022-00366-w>

[28]. Mokrani S, El-Hafid N. Rhizospheric Microbiome: Biodiversity, Current Advancement and Potential Biotechnological Applications BT-Advances in Plant Microbiome and Sustainable Agriculture: Diversity and

Biotechnological Applications. In: Yadav AN, Rastegari AA, Yadav N, Kour D, editors. Singapore: Springer Singapore; 2020. p. 39–60. Available from: https://doi.org/10.1007/978-981-15-3208-5_2

[29]. Timmusk S, Behers L, Muthoni J, Muraya A, Aronsson A-C. Perspectives and Challenges of Microbial Application for Crop Improvement. Front Plant Sci [Internet]. 2017;8:49. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2017.00049>

[30]. Chen Q-L, Cui H-L, Su J-Q, Penuelas J, Zhu Y-G. Antibiotic Resistomes in Plant Microbiomes. Trends Plant Sci [Internet]. 2019;24(6):530–41. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1360138519300524>

[31]. Mukherjee S, Palaniappan K, Seshadri R, Chu K, Ratner A, Huang J, *et al.* Bioinformatics Analysis Tools for Studying Microbiomes at the DOE Joint Genome Institute. J Indian Inst Sci [Internet]. 2023;103(3):857–75. Available from: <https://doi.org/10.1007/s41745-023-00365-w>

[32]. Santos LF, Olivares FL. Plant microbiome structure and benefits for sustainable agriculture. Curr Plant Biol [Internet]. 2021;26:100198. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214662821000049>

[33]. D'Argenio V, Salvatore F. The role of the gut microbiome in the healthy adult status. Clin Chim Acta [Internet]. 2015;451:97–102. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009272215000049>

[ii/S0009898115000170](https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1108738)

[34]. Wu N, Li X, Ma H, Zhang X, Liu B, Wang Y, *et al.* The role of the gut microbiota and fecal microbiota transplantation in neuroimmune diseases [Internet]. Vol. 14, *Frontiers in Neurology*. 2023. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2023.1108738>

[35]. Guzzardi MA, La Rosa F, Iozzo P. Trust the gut: Outcomes of gut microbiota transplant in metabolic and cognitive disorders. *Neurosci Biobehav Rev* [Internet]. 2023;149:105143. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763423001124>

[36]. Lou X, Xue J, Shao R, Yang Y, Ning D, Mo C, *et al.* Fecal microbiota transplantation and short-chain fatty acids reduce sepsis mortality by remodeling antibiotic-induced gut microbiota disturbances [Internet]. Vol. 13, *Frontiers in Immunology*. 2023. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.1063543>

[37]. Muñoz-Rojas J, Morales-García YE, Juárez-Hernández D, Fuentes-Ramírez LE, Munive-Hernández JA. Formulación de un inoculante multiespecies para potenciar el crecimiento de plantas [Internet]. México; MX2013007978A, 2013. p. 1–36. Available from: https://www.researchgate.net/publication/309550250_Formulacion_de_un_inoculante_multiespecies_para_potenciar_el_crecimiento_de_plantas

[38]. Morales-García YE, Baez A, Quintero-

Hernández V, Molina-Romero D, Rivera-Urbalejo AP, Pazos-Rojas LA, *et al.* Bacterial Mixtures, the Future Generation of Inoculants for Sustainable Crop Production BT-Field Crops: Sustainable Management by PGPR. In: Maheshwari DK, Dheeman S, editors. Cham: Springer International Publishing; 2019. p. 11–44. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-30926-8_2

[39]. Bustillos-Cristales M del R, Pazos-Rojas LA, Muñoz-Rojas J, Morales-García YE. Actividades de la APCM en 2022 y visibilidad de sus conferencias; un quehacer que tiene que ser reforzado. In: Rivera-Urbalejo AP, editor. Asociación Poblana de Ciencias Microbiológicas [Internet]. Puebla, México: APCM; 2022. p. 1–14. Available from: <https://sites.google.com/view/apcmac/2022-conferencias-conferences>

[40]. Fernández-Tilapa G, Azúcar-Heziquio JC, Morales-Hernández MA, Pérez-Arzate KI, Román-Román A. Alteración de los parámetros celulares de la citometría hemática durante la severidad de la COVID-19. *Alianzas y Tendencias BUAP* [Internet]. 2023;8(32):1–18. Available from: <https://www.aytbuap.mx/aytbuap-832/alteración-de-los-parámetros-celulares-de-la-citometría-hemática-durante-la>

[41]. Cruz Pérez GA. Bibliometric analysis of the use of technological strategies in micro, small and medium-size enterprises. *Alianzas y Tendencias BUAP* [Internet]. 2023;8(32):19–31. Available from:

<https://www.aytbuap.mx/aytbuap-832/bibliometric-analysis-of-the-use-of-technological-strategies-in-micro>

[42]. Mancilla C, Belmar F, Zavafer A. Alfabetización en ciencia y pensamiento crítico en el aula (Morandín, Villanueva y Romero): una revisión crítica y propositiva. Alianzas y Tendencias BUAP [Internet]. 2023;8(32):32–42. Available from:

<https://www.aytbuap.mx/aytbuap-832/alfabetización-en-ciencia-y-pensamiento-crítico-en-el-aula>

[43]. Muñoz-Hernández GV, Hernández-Ruiz MV, Pérez-Villaseñor F, Elías-Domínguez A, Castro-Agüero Á, Ortiz-Arroyo A. Determinación de variables que afectan el encogimiento de suelas de PVC mediante un diseño factorial 2^5 . Alianzas y Tendencias BUAP [Internet]. 2023;8(32):43–55. Available from: [https://www.aytbuap.mx/aytbuap-](https://www.aytbuap.mx/aytbuap-832/determinación-de-variables-que-afectan-el-encogimiento-de-suelas-de-pvc)

[832/determinación-de-variables-que-afectan-el-encogimiento-de-suelas-de-pvc](https://www.aytbuap.mx/aytbuap-832/determinación-de-variables-que-afectan-el-encogimiento-de-suelas-de-pvc)

[44]. Juárez-González VR, Vasco-Julio D. Microbiota bacteriana intestinal y su asociación con el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas. Alianzas y Tendencias BUAP [Internet]. 2023;8(32):56–77. Available from:

<https://www.aytbuap.mx/aytbuap-832/microbiota-bacteriana-intestinal-y-su-asociación-con-enfermedades>

[45]. Gordillo-Ibarra X, Muñoz-Morales JM. MicroBST Yoliza una empresa generada con ideas de académicos de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Alianzas y Tendencias BUAP [Internet]. 2023;8(32):78–81. Available from:

<https://www.aytbuap.mx/aytbuap-832/microbst-yoliza-una-empresa-generada-con-ideas-de-académicos-de-la-buap>