



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE PUEBLA**

Instituto de Ciencias

POSGRADO EN CIENCIAS MICROBIOLÓGICAS

**“AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE
MICROORGANISMOS ASOCIADOS A LA RIZOSFERA
DE *Sedum rubrotinctum* QUE CRECE EN
CONDICIONES LIMITANTES EN UN TECHO VERDE”**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:
**MAESTRA EN CIENCIAS (MICROBIOLOGÍA)
CON OPCIÓN EN: BIOQUÍMICA Y GENÉTICA
MICROBIANA**

PRESENTA:

IBT. Erika Mendoza Rojas

Asesor: D.C. Jesús Muñoz Rojas

Co-asesora: D.C. América Paulina Rivera Urbalejo

Puebla, Pue. Diciembre de 2025

DEDICATORIA

A Dios

Por iluminar mi mente, sostener mi espíritu y permitirme culminar esta meta.

A mis padres

Por ser los pilares de mi vida. A mi madre, por su amor y su apoyo incondicional que me ha ayudado a seguir adelante. A mi padre, por ser la estrella en el cielo que alumbra mi camino.

A mi hermano

Por su compañía constante, su apoyo y su cariño.

A mi

Por la valentía de continuar, por la disciplina, por la paciencia y por la fe en que este momento llegaría.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaria de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca 25478 otorgada para el financiamiento de mis estudios de maestría.

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) y al Centro de Investigación en Ciencias Microbiológicas (CICM) por abrirme sus puertas para continuar con mi formación.

Al D.C. Jesús Muñoz Rojas, por darme la oportunidad para desarrollar este proyecto, por sus enseñanzas, su apoyo y su motivación que me inspiraba en cada una de nuestras pláticas.

A la D.C. América Paulina Rivera Urbalejo, por ayudarme a resolver cada una de mis dudas.

A mi comité, D.C. Vianey Marín Cevada, D.C. María del Rocío Bustillos Cristales, D.C. José Antonio Munive Hernández, por cada una de sus observaciones, enseñanzas y sugerencias en cada uno de mis tutorales que me ayudaron a mejorar.

A la D.C. Yolanda Elizabeth Morales García y a la Lic. Julieta Muñoz Morales, por sus enseñanzas en el laboratorio y sus consejos para mejorar mis experimentos.

A mis amigos y compañeros de la maestría, Melissa, Frida, Alexa, Leonardo, Diego y Sergio, por ser mi red de apoyo, en lo académico y en lo personal. Gracias por estar aquí, los quiero mucho y los llevo conmigo.

A mis papás, Susana y Héctor, porque gracias a ustedes he logrado todo. Los amo con todo el corazón.

A mi hermano, Héctor, porque has estado conmigo y has sido una inspiración para seguir adelante. Te quiero tanto hermanito.

A las personas, cuya presencia silenciosa y apoyo constante fueron luz en los momentos más difíciles.



BUAP

Puebla, Pue. a 1 de Diciembre 2025.

**A LA ACADEMIA DEL POSGRADO
EN MICROBIOLOGÍA
CICM-ICUAP
PRESENTE.**

Por este conducto los abajo firmantes, integrantes del Comité revisor de tesis de Maestría de la alumna **Erika Mendoza Rojas**, les informamos que hemos revisado el escrito titulado:


“Aislamiento e identificación de microorganismos asociados a la rizosfera de *Sedum rubrotinctum* que crece en condiciones limitantes en un techo verde”


A nuestro juicio, la alumna **Erika Mendoza Rojas** puede proceder a la digitalización de la tesis y a la presentación del examen de grado correspondiente.


Sin más que agregar, nos despedimos afectuosamente de ustedes.

Atentamente.
“Pensar Bien Para Vivir Mejor”


D.C. José Antonio Munive Hernández


D.C. Vianey Marín Cevada


D.C. María del Rocío Bustillos Cristales


D.C. Yolanda Elizabeth Morales García

Posgrado en Ciencias Microbiológicas
Instituto de Ciencias (ICUAP)

Edificio IC11,
Ciudad Universitaria
Col. San Manuel, Puebla, Pue. C.P. 72570
01 (222) 229 55 00 Ext. 2522
posgrado.microbiologia@correo.buap.mx

INDICE

RESUMEN	6
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	8
Microbiota	10
<i>S. rubrotinctum</i>	14
Techos verdes	16
Caracterización de la microbiota	16
JUSTIFICACIÓN	18
OBJETIVOS	19
Objetivo general.....	19
Objetivos específicos	19
MATERIALES Y MÉTODOS	20
Aislamiento de microorganismos de suelo rizosférico	20
Identificación de microorganismos aislados.....	22
Estudio de microorganismos del suelo rizosférico por vía metagenómica	24
RESULTADOS	26
Aislamiento de microorganismos rizosféricos usando diferentes medios de cultivo. .	26
Identificación de los microorganismos aislados mediante observación microscópica y la secuenciación del gen 16S ADNr (bacterias) y región ITS (hongos).	28
Estudio de microorganismos del suelo rizosférico por vía metagenómica	42
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIONES.....	56
PERSPECTIVAS.....	57
BIBLIOGRAFÍA	58
ANEXOS	78

RESUMEN

Existe evidencia de que los microorganismos ayudan a tolerar ambientes adversos. El estudio de los microorganismos asociados a la rizosfera es fundamental para comprender su papel en el desarrollo y supervivencia de las plantas, especialmente en ambientes adversos como los techos verdes. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar microorganismos rizosféricos a partir de *Sedum rubrotinctum* cultivado en un techo verde, con el propósito de contribuir al conocimiento del microbioma de la planta. Se realizaron aislamientos a partir de suelo rizosférico en diferentes medios de cultivo, seguidos de la extracción de ADN (ácido desoxirribonucleico) genómico y amplificación de fragmentos de ADN, 16S ADNr (bacterias) e ITS (hongos) para su secuenciación. Los productos amplificados del 16S ADNr se sometieron a digestión con una enzima de restricción, se seleccionaron los patrones diferentes y posteriormente fueron secuenciados para su identificación taxonómica. Se aislaron 17 hongos y 33 bacterias, de las cuales solo 25 fueron secuenciadas. En total, se identificaron 12 géneros fúngicos y 15 bacterianos asociados a la rizosfera de la planta estudiada. Entre ellos se encuentran géneros con potencial biotecnológico y funciones benéficas en el crecimiento vegetal y la adaptación de las plantas en ambientes no convencionales. Estos resultados abren el panorama sobre la composición microbiana rizosférica de esta suculenta y dan pie a la investigación de cada cepa encontrada y su uso potencial en la investigación.

Palabras clave: Rizosfera, microbiota, *Sedum rubrotinctum*, aislamiento, secuenciación.

ABSTRACT

There is evidence that microorganisms help plants tolerate adverse conditions. The study of microorganisms associated with the rhizosphere is essential for understanding their role in plant development and survival, especially in challenging environments such as green roofs. This work aimed to isolate and identify rhizospheric microorganisms from *Sedum rubrotinctum* cultivated on a green roof, thereby contributing to the knowledge of the plant's microbiome. Isolations were carried out from rhizospheric soil

using different culture media, followed by genomic DNA (deoxyribonucleic acid) extraction and amplification of DNA fragments, 16S rDNA (bacteria) and ITS (fungi), for sequencing. The amplified 16S rDNA products were subjected to digestion with a restriction enzyme and were subsequently sequenced for taxonomic identification. 17 fungi and 33 bacteria were isolated, of which only 25 were sequenced. In total, 12 fungal genera and 15 bacterial genera associated with the plant's rhizosphere were identified. Among them are genera with biotechnological potential and beneficial functions in plant growth and adaptation to unconventional environments. These results expand our understanding of the rhizospheric microbial composition of this succulent and pave the way for further investigation of each strain and its potential applications in research.

Keywords: Rhizosphere, microbiota, *Sedum rubrotinctum*, isolation, sequencing.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias son las colonizadoras primarias del planeta Tierra (Kulasooriya, 2012; Morales-García *et al.*, 2010), ellas se originaron muchos millones de años antes de los primeros eucariontes (Beraldi-Campesi, 2014), por lo que, desde el surgimiento de las plantas, éstas siempre han estado en contacto con las bacterias (Kulasooriya, 2012). De esta manera, las bacterias han desarrollado a lo largo de su evolución formas efectivas de interaccionar con las plantas y se ha observado que otorgan funciones esenciales para el hospedero a cambio de fuente de carbono (Lambers *et al.*, 2009; E. Li *et al.*, 2021). La evolución de la interacción entre bacterias y plantas ha permitido la colonización efectiva en diversos ambientes (Delaux & Schornack, 2021; Mesny *et al.*, 2023), que incluso algunas bacterias llegan a un nivel mutualista con las plantas (Hawkins & Oresnik, 2022; Wiesmann *et al.*, 2023). En general, los microorganismos que interaccionan con sus hospederos sin causar daño y que proporcionan una ventaja a las plantas son considerados benéficos (Liu *et al.*, 2025; Ortiz & Sansinenea, 2022). Durante varios años los estudios de aislamiento de microorganismos benéficos se han llevado a cabo de forma dirigida, por ejemplo, se han aislado microorganismos nodulantes a partir de leguminosas con el propósito de capturar bacterias con potencial fijador de nitrógeno en una interacción mutualista (Paudyal *et al.*, 2021). Otro ejemplo es el aislamiento de bacterias con capacidad fijadora de nitrógeno, pero de forma asociativa (Zhang *et al.*, 2022). Sin embargo, en estos trabajos dirigidos se pierde de vista que hay otros microorganismos importantes en la microbiota explorada (Chialva *et al.*, 2022) y recientemente con el advenimiento de estudios de los microbiomas se ha elucidado que todo el conjunto de bacterias que interacciona en un hospedero es importante para su salud (Noman *et al.*, 2021). Por esta razón, es importante iniciar trabajos de aislamiento que no estén dirigidos a un tipo exclusivo de bacterias, sino que constituyan una exploración amplia para la recuperación de diversos grupos bacterianos. Esto podría lograrse mediante el uso de una mayor variedad de medios de cultivo durante el proceso de aislamiento (Donachie *et al.*, 2007; Morales-García *et al.*, 2013).

Por otro lado, los hongos miceliales se estima que se originaron entre 760 millones a 1.06 billones de años (Watkinson *et al.*, 2015) Estos habitan en diferentes ambientes,

unos hongos son cosmopolitas, otros se encuentran en el suelo, agua o colonizando plantas y animales (Lücking & Robert, 2017). Los hongos pueden formar asociaciones con otros organismos (Stajich Jason, 2017). Las interacciones entre hongos y plantas pueden ser patógenas, comensales o mutualistas (Argumedo-Delira *et al.*, 2022). En la rizosfera estos hongos desempeñan diferentes roles: saprófitos que mineralizan y reciclan nutrientes (Gujar *et al.*, 2013), promotores de crecimiento vegetal (Murali *et al.*, 2021), biocontroladores (Ashraf & Zuhair, 2013), entre otros. La importancia de estudiar hongos filamentosos en la rizosfera radica en su impacto directo sobre la nutrición vegetal, la supresión de enfermedades, la estructura y salud del suelo y la resiliencia frente a estrés abiótico; además, son prometedores en estrategias de manejo sostenible como los biofertilizantes y su uso como agentes de biocontrol (Argumedo-Delira *et al.*, 2022). También es fundamental reconocer que en la rizosfera pueden habitar hongos patógenos (Chapelle *et al.*, 2016). Conocerlos y caracterizar su presencia permite entender de qué manera afectan la salud de la planta y cuáles son los mecanismos mediante los cuales provocan enfermedades (Yang *et al.*, 2024). Este conocimiento es clave para desarrollar estrategias que permitan reducir sus efectos adversos y mejorar la sanidad vegetal (Bhargavi *et al.*, 2024).

El banco de microorganismos capturado, podría ser la base para estudios de características de las bacterias y hongos aislados, su posible función en la interacción con las plantas y el diseño de futuras estrategias de recolonización de los hospederos con mezclas complejas; mezclas que deberán contener microorganismos compatibles (Pineda-Pineda *et al.*, 2025).

A pesar de los avances en el campo microbiológico, se estima que solo se ha logrado aislar entre el 2 al 5 % de la diversidad bacteriana a partir de los distintos ambientes explorados (Amina & Lotfi, 2024; Morales-García *et al.*, 2013). En el caso de los hongos, se estima que se han descrito 120,000 especies de 2,2 y 3,8 millones de las especies que se cree existen en el planeta (Hawksworth & Lücking, 2017). Por esta razón, es importante continuar con trabajos que intenten la captura de los microorganismos que interaccionan con las plantas (Guardiola-Márquez *et al.*, 2023). Son los microorganismos

aislados los que podremos reproducir y explotar con fines biotecnológicos o con el propósito de regenerar los microbiomas de los hospederos.

Microbiota

La microbiota se conforma por el conjunto de microorganismos que se encuentran colonizando un entorno específico de un huésped (Tian *et al.*, 2020), puede hallarse en humanos, plantas y animales. La composición de la microbiota depende de las condiciones ambientales que proporciona el organismo hospedante, como la temperatura, pH, nivel de oxígeno, entre otras (Ikeda-Ohtsubo *et al.*, 2018).

Los organismos vegetales establecen relaciones simbióticas con los microorganismos a lo largo de su vida (Chialva *et al.*, 2022). Estas interacciones se pueden transmitir por el suelo y el ambiente, desde el momento en que la semilla germina, hasta llegar a habitar las raíces, el tallo, las hojas, flores y frutos (Kowalski *et al.*, 2015). Estas relaciones de microorganismo-hospedante son clave para el desarrollo y supervivencia de la planta, que, a su vez, ésta les proporciona a los microbios los nutrientes necesarios para su subsistencia (Durán, 2024).

Los microorganismos se encuentran distribuidos a lo largo de las plantas (Figura 1). Las plantas constituyen microhábitats muy diversos donde se desarrollan distintas comunidades microbianas (Cordero Elvia *et al.*, 2021). En la parte subterránea se encuentra la rizosfera, que corresponde a la franja de suelo influenciada por los exudados de la raíz de las plantas (Seitz *et al.*, 2022) y que concentra una elevada actividad microbiana (Mendes *et al.*, 2011). Directamente en contacto con la raíz se localiza el rizoplano, que es la superficie radicular donde los microorganismos se adhieren y forman biopelículas (Pietrangelo *et al.*, 2018). En el interior de los tejidos de la raíz y de otros órganos se ubica la endosfera (Compant *et al.*, 2021), donde habitan bacterias y hongos endófitos que establecen relaciones de asociación sin causar daño aparente y que pueden contribuir al crecimiento vegetal y a la defensa contra patógenos (Babalola & Adedayo, 2023).

En la parte aérea de la planta, la filosfera comprende la superficie de las hojas, en las que se diferencian los microorganismos epífitos que colonizan el exterior y los endófitos

que penetran al interior del tejido foliar (Sohrabi *et al.*, 2023). De manera semejante, la superficie de los tallos y ramas conforman la caulosfera, que, aunque menos estudiada, también alberga comunidades específicas (Onufrak *et al.*, 2020). Las flores constituyen la antosfera (Kim *et al.*, 2025a), un ambiente que puede influir en procesos de polinización y en la protección contra patógenos, mientras que los frutos conforman la carposfera (Zhang *et al.*, 2024), donde los microorganismos determinan aspectos de maduración, conservación y susceptibilidad a enfermedades (Kumar *et al.*, 2021). Por otra parte, las semillas también representan un ambiente clave; alrededor de ellas se define la espermosfera (Li *et al.*, 2025a), que corresponde a la región circundante a la semilla en germinación y que está enriquecida en compuestos liberados durante este proceso, atrayendo a colonizadores iniciales. En el interior de las semillas existe una endósfera propia, donde se resguarda la microbiota transmitida verticalmente desde la planta madre, constituyendo una forma de herencia microbiana (Shahzad *et al.*, 2018). Todos estos ambientes (rizosfera, rizoplano, endosfera, filosfera, caulosfera, antosfera, carposfera, espermosfera y endosfera de la semilla) conforman un mosaico de nichos ecológicos interconectados que sustentan la compleja microbiota asociada a las plantas (Beckers *et al.*, 2017). Por ello, empezar por el estudio de la rizosfera de *S. rubrotinctum* es relevante para entender cómo esta suculenta establece asociaciones microbianas que podrían contribuir a su desarrollo, adaptación y supervivencia. Ejemplos de microorganismos que se han aislado de estos ambientes en diversas plantas se muestran en la Tabla 1.

A partir del conocimiento de los microorganismos de las plantas se puede saber la composición de la microbiota presente en los diferentes tejidos y con ello estudiar cuáles son sus posibles funciones, cómo pueden cambiar frente a distintas condiciones ambientales y cuál es su posible rol en la salud de las plantas, la salud humana y la producción agrícola (Caro-Quintero *et al.*, 2018; Morales-García Yolanda Elizabeth *et al.*, 2023).

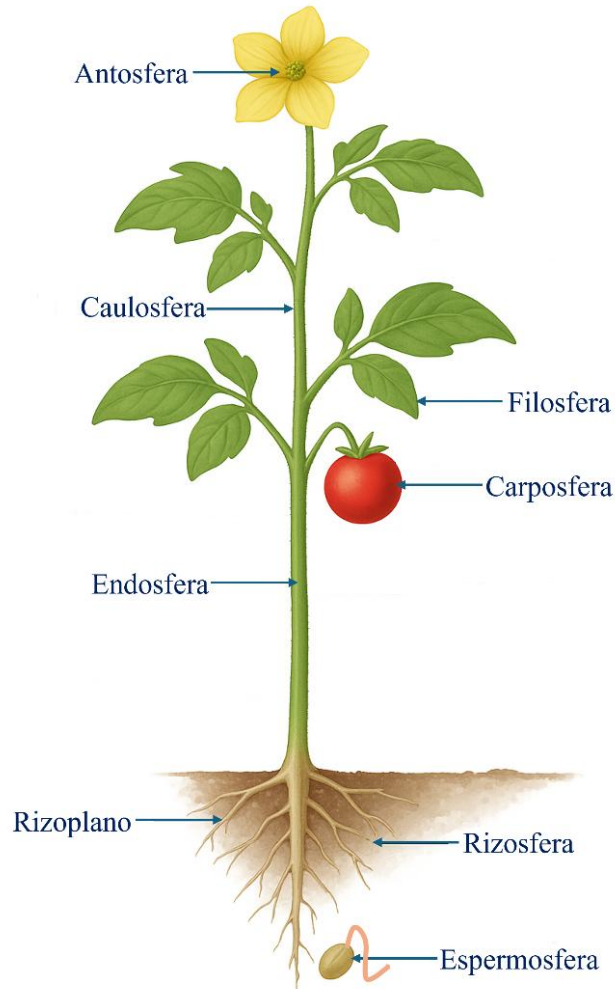


Figura 1. Representación esquemática de los principales nichos ecológicos asociados a una planta: rizosfera (suelo influenciado por las raíces), rizoplasma (superficie radicular), endosfera (interior de tejidos vegetales), filosfera (superficie de las hojas), caulosfera (tallos), antosfera (flores), carposfera (frutos) y espermosfera (semillas). Estos ambientes conforman microhábitats donde interactúan comunidades microbianas con funciones ecológicas y fisiológicas clave para la planta.

Un área fundamental que tiene interacción con las plantas es la rizosfera. En esta zona del suelo rizosférico suceden diversas interacciones: raíz-raíz, raíz-animales y raíz-microorganismos; una de las muchas reacciones presentes es la excreción de exudados químicos de las raíces que pueden traer consigo la atracción de un organismo o varios con un fin definido (Bais *et al.*, 2006). Estas interacciones al estar ocultas bajo tierra han pasado desapercibidas.

Tabla 1. Ejemplos de microorganismos encontrados en los diferentes nichos ecológicos de diversas plantas. Se muestra el nombre de microorganismo y el rol en la planta.

Microorganismo	Rol en la planta	Nicho	Planta hospedera	Referencia
<i>Acinetobacter</i> sp.	Promotor de crecimiento vegetal	Rizosfera	<i>Vanilla planifolia</i>	(Álvarez López et al., 2013)
<i>Aspergillus niger</i>	Solubilización de fosfatos y producción de fitohormonas	Rizosfera	<i>Parthenium hysterophorus</i>	(Hussain et al., 2024)
<i>Rhizobium</i> sp.	Promotor de crecimiento vegetal	Rizoplano	<i>Zea mays</i>	(López et al., 2015)
<i>Burkholderia phytofirmans</i> PsJN	Endófito promotor del crecimiento	Endosfera (raíz/tallo)	<i>Vitis vinifera</i>	(Stéphane et al., 2005)
<i>Fusarium oxisporum</i>	Potencial bioherbida	Endosfera	<i>Triticum aestivum</i> L,	(Asim et al., 2022)
<i>Thichoderma</i> sp.	Antagonista contra fitopatógenos	Filosfera (hojas)	<i>Oryza sativa</i>	(Herrera et al., 2023)
<i>Caulobacter</i> sp.	Atracción de polinizadores	Antosfera (flores)	<i>Lamiun purpureum</i>	(J. Kim et al., 2025b)
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	Coloniza frutos	Carposfera (frutos)	<i>Vitis vinifera</i>	(Mambuscay et al., 2013)
<i>Paenibacillus</i> sp.	Estimula germinación y crecimiento	Espermosfera (semilla en germinación)	<i>Ammopiptanthus mongholicus</i>	(Li et al., 2025b)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Transmitido verticalmente, promotor de crecimiento	Endosfera de semilla	<i>Oryza sativa</i>	(Hardoim et al., 2012)

Se han realizado múltiples investigaciones en diversas plantas, por ejemplo, Aguirre-Garrido et al. (2012) investigaron la comunidad bacteriana del suelo de raíces de tres cactus en la reserva natural de Tehuacán-Cuicatlán del centro de México, (Aguirre-Garrido et al., 2012), entre los taxones detectados se encontraron representantes de los filos α -Proteobacteria, Actinobacteria y Firmicutes, además del género *Ochrobactrum* sin embargo, a través de técnicas moleculares dirigidas al análisis de secuencias parciales del gen ADNr 16S se detectaron miembros pertenecientes a los filos Actinobacteria, Proteobacteria y Acidobacteria. Por otro lado, Luna-Olvera et al. (2012) caracterizaron

los suelos de cuatro cactáceas, en el estado de Querétaro obteniendo que las poblaciones bacterianas fueron constantes en todos los suelos, y los hongos abundaron más en uno de ellos (Luna Olvera *et al.*, 2012).

Los microorganismos asociados a la rizosfera cobran particular interés, debido a que han sido vinculados con la capacidad de tolerancia de las plantas a condiciones adversas (Jiang *et al.*, 2019; Ma *et al.*, 2019). Por ejemplo, *Pseudomonas putida* KT2440 cuando se asocia con las raíces es capaz de promover el crecimiento de las plantas bajo condiciones de alta temperatura (Molina-Romero *et al.*, 2017) o incluso de salinidad (Costa-Gutierrez *et al.*, 2020). El hongo *Leptosphaeria* sp. cepa T-2, ayuda a la tolerancia a la sequía y al estrés salino a las plantas cuando se asocia a estas (Yamaguchi & Kataoka, 2024). Los microorganismos de la rizosfera también pueden desencadenar respuesta de defensa en las plantas en condiciones hostiles, por lo que las plantas se mantienen sanas a pesar de que la condición ambiental es poco amigable (Choudhary *et al.*, 2007; Matilla *et al.*, 2010).

S. rubrotinctum

Sedum rubrotinctum pertenece a la familia Crassulaceae, esta planta surgió de la hibridación de dos especies diferentes *Sedum pachyphyllum* y *Sedum stahlii* (Mattei, 2013). Es una planta suculenta originaria de México, aunque también se puede encontrar en ciertas regiones de Latinoamérica y España. Comúnmente se le conoce como “dedo de niño” por sus hojas gorditas y redondeadas. Tiene la característica de cambiar su tonalidad verde a rojo en función de la cantidad e intensidad de luz que reciba (Vázquez, 2022) (Figura 2). Es un pequeño arbusto muy ramificado desde la base, alcanza una altura de unos 20 cm, en primavera florea, son flores pequeñas de color amarillo, su reproducción es asexual y muy sencilla, tan solo con que se desprenda una hoja y tenga las condiciones necesarias para su desarrollo empieza a enraizar (*Sedum Rubrotinctum*, n.d.).

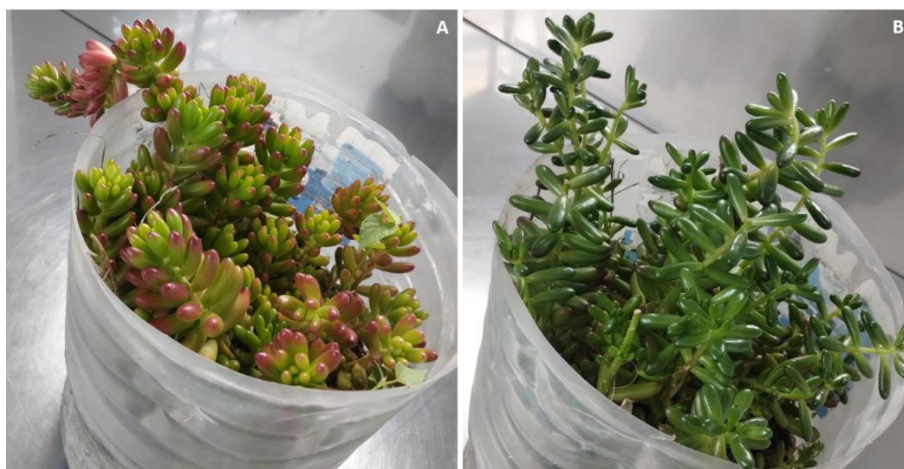


Figura 2. Comparación de la apariencia de *S. rubrotinctum* en dos condiciones: (A) Alta luminosidad (en techo verde) y (B) baja luminosidad (a la sombra).

La familia Crassulaceae es uno de los grupos botánicos donde el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) se ha estudiado ampliamente (Lüttge, 2004). El CAM es un tipo de metabolismo que se caracteriza por la fijación nocturna de CO₂ mediante la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa, acumulando ácidos orgánicos en las vacuolas. Durante el día, con los estomas mayormente cerrados, estos ácidos se descarboxilan para liberar CO₂ internamente, permitiendo la carboxilación por la Rubisco sin incurrir en pérdidas significativas de agua (Ting, 1985). En especies de *Sedum* se han documentado el CAM (Pilon-Smits *et al.*, 1991), incluido *Sedum rubrotinctum* (Terri *et al.*, 1986), mostrando oscilación diurna-nocturna de los ácidos orgánicos y la apertura estomática nocturna. Se ha observado que *S. rubrotinctum* mantiene la fijación nocturna de CO₂ en sistemas de techos verdes (Collazo-Ortega *et al.*, 2017). La expresión del metabolismo CAM en *S. rubrotinctum* resulta crucial para su adaptación a ambientes adversos, como deficiencia de agua y alta exposición solar, características comunes en los ecosistemas donde suele crecer y en ambientes urbanos donde se utiliza como planta ornamental (Collazo-Ortega *et al.*, 2017; Terri *et al.*, 1986).

Esta suculenta ha sido estudiada para su uso potencial en techos verdes (Collazo-Ortega *et al.*, 2017; Monterusso *et al.*, 2005; Vanwoert *et al.*, 2005), para remediación del aire, por su actividad de captación de dióxido de carbono en las grandes ciudades y por su capacidad de resistencia a largos periodos de sequía. También tradicionalmente, en la

región norte del estado de Puebla, se usan las hojas de la planta como alternativa para el tratamiento de infecciones en los ojos y oídos (Jerezano & Pazos, 2016), lo cual aún no hay evidencia científica de que tenga un efecto benéfico.

Techos verdes

Los techos verdes son estructuras diseñadas para cubrir con vegetación las superficies superiores de las edificaciones. Un techo correctamente estructurado se conforma por varias capas: impermeabilizante, drenaje, sustrato y vegetación, que permiten el establecimiento de plantas sobre superficies tradicionalmente inertes (Getter & Rowe, 2006). Las principales funciones de estas estructuras son: la reducción del efecto de isla de calor urbano, la retención de agua de lluvia y la mejora de la calidad del aire (EPA, 2025; Susca *et al.*, 2011).

Sin embargo, en los techos verdes, las plantas enfrentan condiciones ambientales contrastantes respecto al suelo natural. En estudios comparativos, la temperatura de la superficie de un techo verde se ha reportado hasta 18.4 °C menor que la de un techo convencional sin vegetación, lo que demuestra la magnitud del estrés térmico que puede generarse sobre las superficies expuestas (Smalls-Mantey & Montalto, 2021). Asimismo, el viento, la alta radiación solar, y la variación térmica diaria provocan una pérdida acelerada de agua, lo que genera un ambiente de estrés hídrico constante para las plantas que crecen en estos sistemas (Berardi *et al.*, 2014; Vijayaraghavan, 2016). Las comunidades microbianas de las plantas pueden ayudar a la adaptabilidad de la vegetación frente a estas condiciones negativas mediante mecanismos que amortiguan el estrés por falta de agua, la producción de hormonas vegetales y la promoción de la nutrición y la defensa de la planta (Fulthorpe *et al.*, 2018).

Caracterización de la microbiota

Para el estudio de diversidad microbiana, es necesario emplear diversas técnicas como son el aislamiento de los microorganismos en medios de cultivo y el uso de técnicas moleculares, esto debido a que existen microorganismos denominados viables no cultivables (Tamagnini & Paraje, 2015) que tienen metabolismo activo, pero no pueden desarrollar colonias en un medio de cultivo convencional y también los medios de cultivo

son limitantes al estar constituidos con nutrientes y reactivos específicos para el desarrollo de microorganismos particulares (Pham & Kim, 2012a). Por otro lado, hay evidencia de que algunos microorganismos no pueden ser detectados por medio de técnicas moleculares (Donachie *et al.*, 2007). Es por lo que se sugiere que se empleen ambos métodos para complementar la búsqueda de los microorganismos de la microbiota (Donachie *et al.*, 2007; Hinsu *et al.*, 2021).

Con los avances de la tecnología y ciencia podemos hacer el uso de la metagenómica, esta alternativa, complementada con la clonación y secuenciación permite el rastreo de microorganismos, accediendo a conocer mejor la diversidad de organismos microscópicos y sus interacciones en un entorno (Rivera-Urbalejo *et al.*, 2021), sin embargo, es importante aclarar que no rastreamos a la microbiota en su totalidad y que el método no permite capturar los taxones para poder aplicarlos desde una perspectiva biotecnológica. Lebeis (2014), nos dice que la secuenciación paralela masiva ha mejorado y nos permite identificar y cuantificar a los miembros del microbioma, incluso taxones extremadamente raros, descubriendo conocimientos que van más allá de la información proporcionada por los microbios individuales (Lebeis, 2014).

En eucariontes, existen dos regiones internas variables (ITS1 e ITS2) (Figura 3) que separan las subunidades 18S, 5.8S y 28S (Quijada *et al.*, 1997). Los datos obtenidos de esta región se usan en la identificación taxonómica, porque se pueden rastrear hongos desconocidos dentro de una especie o al menos en un grupo de especies (Rodríguez-Tovar *et al.*, 2004). En bacterias el ADN ribosomal 16S (ADNr 16S) se puede usar como marcador molecular clave para estudiar la diversidad encontrada en un ambiente, debido a su alta conservación. A partir de este gen se puede obtener información filogenética y taxonómica (Baker *et al.*, 2003; Martínez-Porchas *et al.*, 2017).



Figura 3. Región ITS y oligonucleótidos para su amplificación. Basado en Raja *et al.*, (2017).

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad aún se carece de información sobre la diversidad microbiana presente en *Sedum rubrotinctum*, también, se ha observado que esta planta se adapta fácilmente y puede desarrollarse en diferentes entornos, por ejemplo, entornos con baja disponibilidad de agua y alta luminosidad como los techos verdes, en donde la planta puede desempeñar funciones de limpieza ambiental sin necesidad de cuidado constante. Los microorganismos asociados a la planta de *S. rubrotinctum*, podrían desempeñar un papel clave para la adaptación de ésta a los diversos entornos ambientales. Con el propósito de conocer estos microorganismos, en el presente trabajo se planteó realizar el aislamiento de microorganismos asociados a la rizosfera de la planta que se desarrolla bajo condiciones limitantes. Asimismo, se busca establecer las bases para el estudio de los posibles OTUs capturados mediante ensayos moleculares; rumbo a la caracterización de su microbioma. El estudio de los microorganismos asociados a esta planta puede contribuir a comprender si éstos participan en alguna de las características que favorecen su adaptación al entorno.

OBJETIVOS

Objetivo general

Conocer la microbiota parcial de la rizosfera de la planta *Sedum rubrotinctum* que crece en condiciones limitantes de agua y nutrientes.

Objetivos específicos

1. Aislar microorganismos rizosféricos de *S. rubrotinctum* que crece en condiciones limitantes de agua y nutrientes.
2. Caracterizar los microorganismos aislados mediante la secuenciación del gen 16S ADNr (bacterias) y región ITS (hongos).
3. Construir árboles filogenéticos con las secuencias 16S ADNr (bacterias) y región ITS (hongos) obtenidas de los microorganismos aislados.
4. Explorar la viabilidad de aplicar ensayos de clonación y screening para acceder a la diversidad microbiana rizosférica de *S. rubrotinctum* mediante amplificación y clonación de fragmentos del gen 16S ADNr (bacterias) e ITS (hongos).

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de microorganismos de suelo rizosférico

La planta usada en este estudio, *Sedum rubrotinctum*, se encontraba ubicada en un techo verde de la zona sur de la ciudad de Puebla (18°59'16.6"N, 98°12'48.3"W). La característica relevante de estas plantas es que se inocularon con INOCREP en 2012; un inoculante de segunda generación formulado con 6 bacterias promotoras del crecimiento vegetal (Morales-García *et al.*, 2020). Estas plantas se crecieron en vermiculita sin adicionar ningún nutriente, y solo se adicionó agua cada 30 días. A pesar de que las plantas no fueron adicionadas con nutrientes y sufrieron periodos de desecación recurrentes, las plantas en noviembre de 2023 tenían una apariencia buena (Figura 2) y el suelo rizosférico mostraba la presencia de materia orgánica aparente que impedían distinguir la vermiculita (Figura 4). Una maceta con las plantas de interés se trasladó al laboratorio.

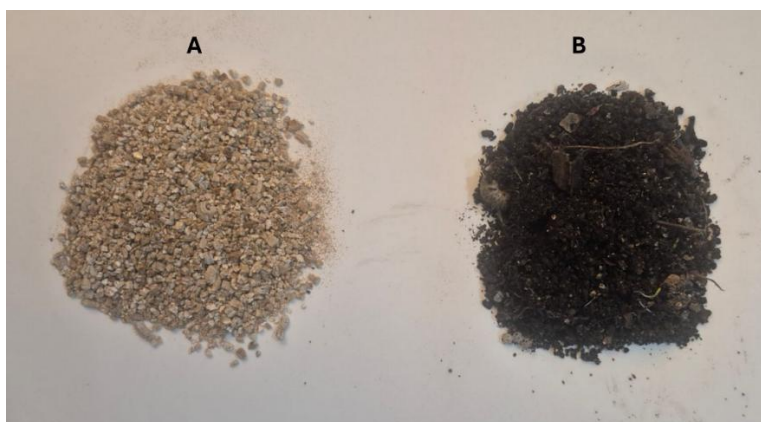


Figura 4. Comparación de la apariencia de la vermiculita usada para el crecimiento de *Sedum rubrotinctum* en enero de 2014 (A) versus la apariencia del suelo rizosférico de la planta en diciembre de 2023 (B).

La toma de muestra se realizó en condiciones axénicas dentro de una campana de flujo laminar, con una cuchara estéril se cavó un pequeño hoyo con profundidad de 3 cm aproximadamente en el suelo rizosférico de la maceta, se tomó 1 g de suelo y se

resuspendió en 9 ml de agua destilada estéril (1:10 p/v). Posteriormente, se hicieron diluciones seriadas (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7}). Por método de plaqueo (Morales-García *et al.*, 2013). Se sembró 100 μ l de cada dilución en placas Petri con los siguientes medios de cultivo: LB, Rojo Congo, BAc, SYP, LGI, PDA y V8 (50 ml/L Jugo V8® y 1 g/L NaCO₃), estos medios de cultivo se seleccionaron por sus distintas fuentes de carbono y por su aplicación en el laboratorio, las placas se incubaron a temperatura ambiente por 36 horas.

Las colonias independientes se sembraron por estría cruzada para favorecer su aislamiento en el mismo medio de cultivo. A partir de colonias independientes, de nuevo se realizó la resiembra en medios de cultivo nuevos. Este paso se realizó el número de veces suficiente hasta asegurar que los aislados estaban puros. La nomenclatura de cada aislado para su identificación correspondió al medio de cultivo y la dilución de la que se aisló (Figura 5).

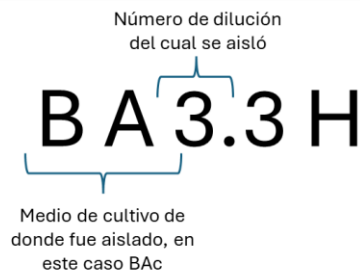


Figura 5. Nomenclatura de los aislados.

En una segunda fase los aislados bacterianos puros se sembraron en medio LB y los aislados de hongos filamentosos en medio PDA, para observar su morfología macroscópica, lo que permitió la comparación morfológica entre las cepas aisladas. Las cepas con morfología diferente se consideraron para ser resguardadas en glicerol a -80 °C para posteriormente usarlas en los experimentos de identificación.

Identificación de microorganismos aislados

Tinciones

Para la identificación morfológica de bacterias se realizó la tinción de Gram (Calvo Vélez *et al.*, 2008). Se tomaron fotografías (no mostrado) y se describió la forma microscópica de las bacterias si resultaron positivas (color violeta) o negativas (rojas) a la tinción. Para el caso de los hongos se llevó a cabo la tinción con azul de lactofenol (Gómez Garzón *et al.*, 2018) se tomaron fotografías y se describió la morfología macroscópica.

Identificación molecular

Se realizó la extracción del ADN genómico de los microorganismos aislados. Para hongos se inocularon placas de PDA y se incubaron a temperatura ambiente hasta que el micelio cubrió completamente la superficie del agar. El micelio se colectó de la placa siguiendo el protocolo de (González-Mendoza *et al.*, 2010) usando solo agua destilada estéril y para bacterias se inocularon tubos con medio líquido LB y se incubaron toda la noche a 37 °C. Para bacterias se utilizaron dos kits, por cuestiones de disponibilidad, Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit y Wizard® Genomic DNA Purification Kit y para hongos se utilizó el Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit ya que los reactivos aseguran la lisis completa de muestras difíciles de lisar como ciertos hongos (Zymo Research, n.d.). Se siguieron los protocolos de los fabricantes. La presencia de ADN se observó por electroforesis en gel de agarosa al 1 % en buffer TAE 1x. El ADN genómico se almacenó a -20 °C.

En el caso de los hongos se amplificó la región ITS (ITS1-5.8S-ITS2) del ADN ribosomal mediante PCR utilizando los oligonucleótidos ITS1F (5'-CTTGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Raja *et al.*, 2017). La reacción se realizó en un volumen de 30 µL, que contenía PCR Master Mix de Thermo Scientific, oligonucleótidos (10 pmol/µl), ADN genómico fúngico y agua libre de nucleasas. Para el control negativo la muestra se sustituyó por agua libre de nucleasas. Las condiciones de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) fueron a 95 °C por 5 min, seguida de 32 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 30 s, alineamiento a 53 °C por 45 s, y elongación a 72 °C por 1.5 min, con una elongación final a 72 °C por 7

min. El producto amplificado se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 % en buffer TAE 1x. Para bacterias se amplificó el gen 16S ADN ribosomal mediante PCR utilizando los oligonucleótidos fw (5'-TAGAGTTTCATCCTGGCTCAG-3') y rv (5'-CAGGGGCGGTGTGTACA-3'). La reacción se realizó en un volumen de 30 µL, que contenía PCR Master Mix de Thermo Scientific, oligonucleótidos (10 pmol/µl), ADN genómico bacteriano y agua libre de nucleasas. Para el control negativo la muestra se sustituyó por agua libre de nucleasas. Las condiciones de PCR fueron a 95 °C por 5 min, seguida de 32 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 30 s, alineamiento a 52 °C por 45 s, y elongación a 72 °C por 1.5 min, con una elongación final a 72 °C por 10 min. El producto amplificado se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 % en buffer TAE 1x.

Los amplificados del gen 16S ADN_r se sometieron a un análisis de digestión enzimática con la enzima de restricción HhaI de Thermo Fisher Scientific, siguiendo las condiciones recomendadas por el proveedor. Los fragmentos generados se separaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 % y se observaron los patrones de bandas obtenidos. Este análisis se realizó debido a la similitud morfológica macroscópica entre los aislados, con el propósito de identificar aquellos con perfiles de restricción distintos y, de esta manera, seleccionar las muestras representativas para secuenciación, optimizando así los costos del análisis. Se optó por usar la enzima HhaI, debido a que su uso permite distinguir aislamientos con fragmentos de ADN amplificado del gen 16S ADN_r presentando diferentes perfiles de restricción (Lee *et al.*, 2009; Radjasa *et al.*, 1999), y previamente en el laboratorio se tenía el antecedente de que esta enzima tiene una buena resolución para la comparación de bandas generadas tras la restricción de las cepas del inoculante multiespecies INOCREP (Morales-García *et al.*, 2012).

La purificación de los amplificados seleccionados para su secuenciación, se realizó mediante corte de banda del gel de agarosa, usando el Zymoclean Gel DNA Recovery Kit, siguiendo las condiciones del proveedor. El ADN purificado se cuantificó en Thermo Scientific Nanodrop 2000c. Para la secuenciación se enviaron las muestras al Instituto de Biotecnología de la UNAM, que se realiza por el método de Sanger, bajo las siguientes condiciones: ADN purificado por gel, concentración de 100-120 ng, mezclados con 10

pmoles de oligonucleótidos en un volumen final de 16 μ l, en un tubo Eppendorf de tapa plana de 0.2 ml para PCR. Se enviaron 2 muestras por cada secuencia (forward y reverso).

Para visualizar y limpiar las secuencias de cadena sencilla (directa e inversa), se utilizaron los softwares Chromas y SnapGene. El empalme se realizó en BLAST y después se hizo la búsqueda en la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) para su comparación y determinación de cercanía filogenética con algún microorganismo existente reportado previamente.

Análisis filogenético

Se descargaron las secuencias de las regiones estudiadas de hongos y bacterias relacionadas taxonómicamente con los microorganismos putativamente identificados mediante el BLASTN. Además, se descargaron 3 y 2 secuencias de referencia (para hongos y bacterias respectivamente) de microorganismos relacionados obtenidas de la base de datos del NCBI, para su alineación con las generadas en esta investigación. Las secuencias de referencia se seleccionaron para incluir géneros filogenéticamente próximos a los aislados identificados, proporcionado contexto evolutivo para la clasificación taxonómica. Los alineamientos múltiples se realizaron en MEGA 12 utilizando el algoritmo MUSCLE.

Se construyeron árboles filogenéticos con el software MEGA 12 utilizando el método de Neighbor-Joining. Las distancias evolutivas se calcularon utilizando el método de Tamura-Nei. Se realizaron 1000 réplicas de bootstrap para evaluar la confiabilidad de cada rama. Los valores de bootstrap $\geq 70\%$ se consideraron como apoyo estadístico moderado para las relaciones filogenéticas.

Estudio de microorganismos del suelo rizosférico por vía metagenómica

Para el estudio metagenómico, de la muestra de suelo tomada inicialmente 1:10 p/v, se extrajo el ADN total con el Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit, siguiendo el protocolo del proveedor.

Se realizó PCR para bacterias y hongos utilizando los oligonucleótidos antes ya mencionados. La purificación de los amplificados se llevó a cabo con el kit Genomic DNA Clean & Concentrator™, siguiendo las instrucciones del proveedor. El ADN purificado se cuantificó en Thermo Scientific Nanodrop 2000c.

Se prepararon las células quimio competentes. Se realizó un cultivo overnight de *E. coli* DH5α en medio líquido LB, se diluyó 1 ml del cultivo en 100 ml de medio líquido LB fresco y se incubó a 37 °C por 2 h a 200 rpm hasta una densidad óptica de 0.4 -0.7. Se centrifugó el cultivo por 10 min a 10,000 rpm. Se descartó el sobrenadante y se agregó al pellet 50 ml de CaCl₂ [0.1M] frío y se incubó por 2 h en hielo. Se centrifugó 10 min a 10,000 rpm para la recuperación de las células bacterianas. Se descartó el sobrenadante y se agregaron 5 ml de CaCl₂ [0.1M] frío y 850 µl de glicerol estéril. Se realizaron alícuotas de 1 ml y se congelaron a -20 °C.

Para la clonación se utilizó el vector pGEM-T Easy (Pacheco *et al.*, 2019). La reacción de ligación se realizó siguiendo el protocolo del proveedor. Se realizaron dos reacciones de ligación, una para el gen 16S ADN_r y otra para la región ITS amplificada. La construcción se transformó en *E. coli* DH5α por choque térmico, en un tubo Eppendorf se añadieron 2 µl de reacción de ligación y 50 µl de células competentes (previamente preparadas), se incubaron por 30 min en hielo, se colocaron en el termoblock a 42 °C por 2 min, inmediatamente se pasaron a hielo por 5 min, se añadió 950 µl de medio líquido LB a temperatura ambiente, se incubaron por 1.5 h a 37°C a 150 rpm, finalmente se sembraron 100 µl de cultivo en placas con medio LB sólido, adicionado con X-gal, IPTG y Ampicilina (Putra *et al.*, 2020) se incubaron a 37 °C por 16h. Las cepas transformadas (colonias blancas), se aislaron y se sembraron en medio LB sólido, adicionado con X-gal, IPTG y Ampicilina.

RESULTADOS

Aislamiento de microorganismos rizosféricos usando diferentes medios de cultivo.

Con la suspensión de 1 g de suelo rizosférico en 9 ml de agua destilada estéril, se hicieron las respectivas diluciones. Por cada medio de cultivo se inocularon 8 placas Petri cada una con 100 μ l de cada dilución y la última placa con la muestra cero.

En la tabla 2 se muestra el crecimiento de microorganismos en los diferentes medios de cultivo utilizados, se observa que en el medio donde hubo crecimiento en la dilución más alta es en PDA (3×10^8 UFC/ml), para los demás medios de cultivo se detectó crecimiento hasta las diluciones donde se coloca la imagen de la placa Petri (Rojo Congo 2×10^6 UFC/ml, SYP 1×10^5 UFC/ml, BAc 3×10^5 UFC/ml, LGI 1×10^5 UFC/ml y V8 1×10^7 UFC/ml).

Tabla 2. Siembra de las diluciones seriadas en los siete medios de cultivo diferentes.

SIEMBRA DE DILUCIONES SERIADAS								
Medio	Muestra 0	Dilución 1	Dilución 2	Dilución 3	Dilución 4	Dilución 5	Dilución 6	Dilución 7
Rojo Congo							-	-
LB					-	-	-	-
SYP						-	-	-
BAc						-	-	-
LGI						-	-	-
PDA								
V8								-

Para el aislamiento de microorganismos se tomaron las colonias independientes encontradas en las diluciones más altas, estas se sembraron por estría cruzada usando el mismo medio de cultivo del cual se detectaron por primera vez, por medio del estriado se verificó que el cultivo estuviera puro, ya sea bacteriano o fúngico (Figura 6). Se realizaron los pases necesarios hasta estar seguros de que los aislados estaban puros. Posteriormente cada aislado se preservó con glicerol al 50% en tubos Eppendorf con 5 réplicas cada uno y se almacenaron en congelación a -80°C .

Para verificar que los aislados estuvieran puros, se usó la técnica de goteo en placa (Morales-García *et al.*, 2016), se ha observado, en esta técnica, que en las diluciones más altas las colonias crecen de manera aislada y facilitan la visualización para su diferenciación en caso de que el cultivo no este puro (Figura 7).

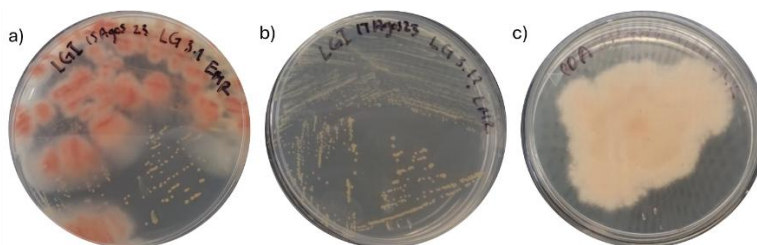


Figura 6. Aislamiento de microorganismos por siembra en estría cruzada. A) Se muestra crecimiento bacteriano y fúngico. B) y C) se muestran los cultivos puros bacteria y hongo respectivamente.

Se obtuvieron 17 aislados de hongos y 33 de bacterias presentados en la tabla 3, las primeras 2 letras de la nomenclatura de cada aislado nos indica el medio de cultivo del cual se aisló y el siguiente número nos indica la dilución de la cual fueron aislados. Para los aislados con iniciales CN, CV y SR, estos fueron de un trabajo de licenciatura donde 2 medios de cultivo se hicieron con agua de coco de dos frutos diferentes y el medio restante se hizo con hojas machacadas de *S. rubrotinctum*, en este estudio se retomaron los aislados obtenidos ya que no se llegaron a identificar en el trabajo previo.



Figura 7. Técnica de Goteo en placa. Se muestra el crecimiento puro del aislado BA3.3H en medio PDA.

Tabla 3. Listado de microorganismos aislados. Se muestran los hongos filamentosos y bacterias.

Hongos filamentosos		Bacterias		Bacterias	
1	BA3.1H	1	BA3.1CB	18	RC5.2
2	BA3.2H	2	BA4.1	19	SR3.3
3	BA3.3H	3	CN4.3.1G	20	SY3.1
4	CN4.1H	4	LB3.1	21	SY4.1
5	CN4.3H	5	LB3.2.?	22	V8.2C1
6	CN5.1H	6	LB3.3	23	V8.2C22
7	CN5.3H	7	LB3.4.2	24	V8.4
8	CN6.1H	8	LG3.1CB	25	V8.4.1CB
9	CV3.6H	9	LG3.2R	26	V8.4.3
10	CV4.3.1H	10	LG4.1R	27	V8.4.3.1G
11	LB3.2H	11	PD3.3.1	28	V8.4.4
12	LG3.1H	12	PD4.1	29	V8.4.5
13	PD3.1H	13	PD7.2	30	V8.4.6
14	SY3.2H	14	PD7.3	31	V8.5.1.?
15	V8.3H	15	RC4.2.2	32	V8.5.3.1
16	V8.4.1H	16	RC5.1T	33	V8.53.1R
17	V8.5H	17	RC5.1V		-





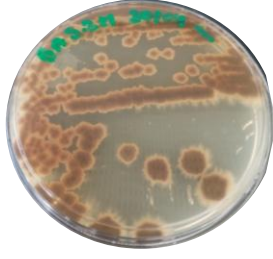


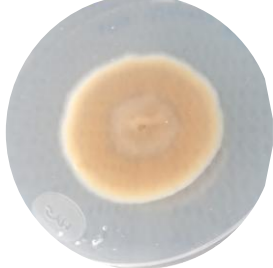
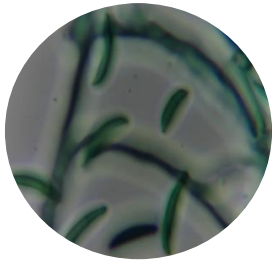
Identificación de los microorganismos aislados mediante observación microscópica y la secuenciación del gen 16S ADNr (bacterias) y región ITS (hongos).



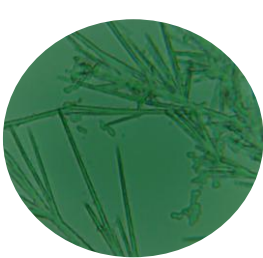



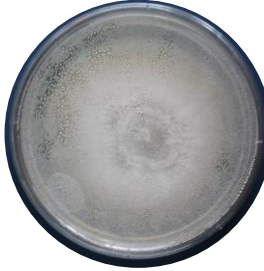
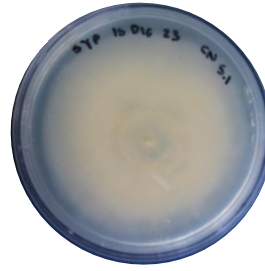




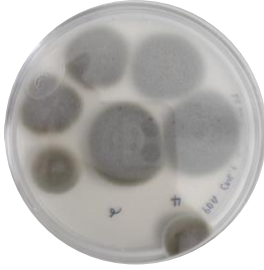
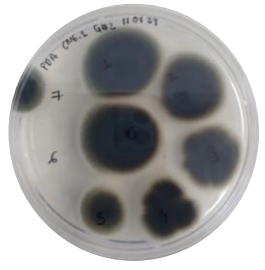
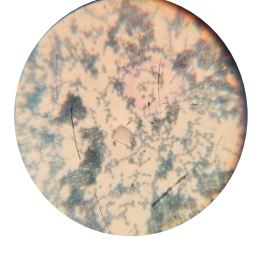



La identificación de microorganismos comenzó con las tinciones realizadas. Para los hongos se usó el método de micro cultivo (Langvad, 1980), se tiñeron las muestras con azul de lactofenol para observar al microscopio, este reactivo se usó ya que, al estar



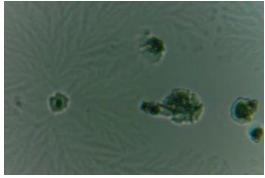


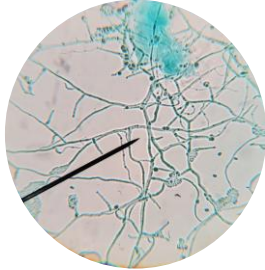





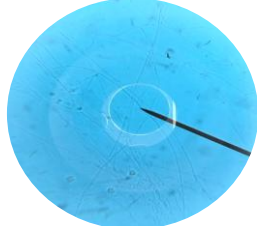



compuesto por fenol, ácido láctico y azul de algodón, además de dar una coloración azul a las estructuras del hongo, nos ayuda a fijar la muestra y preserva las estructuras fúngicas (Leck, 1999).



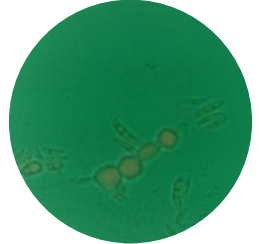


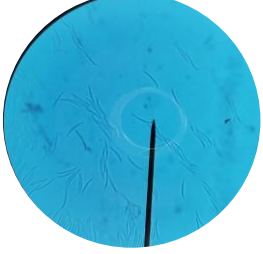

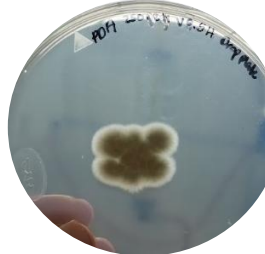
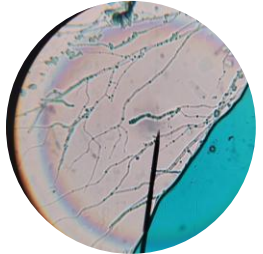
Las características microscópicas observadas para los hongos se presentan en la Tabla 4, así como la fotografía de la microscopia, además se observa la morfología de los diferentes hongos aislados.

Tabla 4. Características morfológicas de los hongos aislados tanto a nivel macroscópico (medio PDA), como a nivel microscópico mediante la tinción de azul de lactofenol.

HONGOS AISLADOS				
NOMBRE	CARACTERISTICAS	MACROSCOPIA ANVERSO	MACROSCOPIA REVERSO	MICROSCOPIA
BA3.1H	Aspecto colonia: algodonosa Micelio aéreo Hifas: septadas Presencia de esporangio con esporangiosporas			
BA3.2H	Aspecto colonia: pulverulenta Hifas: septadas Presencia de conidios			
BA3.3H	Aspecto colonia: algodonosa Micelio: aéreo Hifas: septadas Presencia de macroconidios septados			

CN4.1H	Aspecto colonia: algodonosa Micelio: aéreo Hifas: cenocíticas Presencia de conidióforo con conidios			
CN4.3H	Aspecto colonia: algodonosa Micelio: aéreo Hifas: cenocíticas Presencia de clamidoconidio			
CN5.1H	Aspecto colonia: algodonosa Micelio: vegetativo Hifas: cenocíticas			
CN5.3H	Aspecto colonia: algodonosa Micelio: aéreo Hifas: cenocíticas Presencia de clamidoconidio y microconidio			
CN6.1H	Aspecto colonia: polverulenta Micelio: vegetativo Presencia de conidios			
CV3.6H	Aspecto colonia: algodonosa Micelio: aéreo Hifas: cenocíticas Presencia de macroconidios			



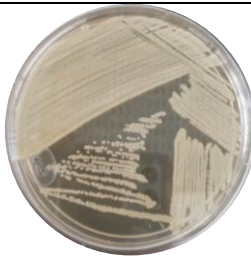







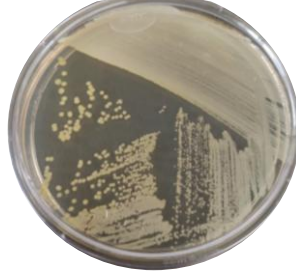







<p>CV4.3.1 H</p>	<p>Aspecto colonia: polverulenta</p>			
<p>LB3.2H</p>	<p>Aspecto colonia: algodonosa Micelio: aéreo Hifas cenocíticas Presencia de esporangios y esporangiosporas Presencia de macroconidios</p>			
<p>LG3.1H</p>	<p>Aspecto colonia: algodonosa Micelio: aéreo Hifas cenocíticas Presencia de esporangios Presencia de macroconidios septados</p>			
<p>PD3.1H</p>	<p>Aspecto colonia: algodonosa Hifas cenocíticas Presencia de esporangios</p>			
<p>SY3.2H</p>	<p>Aspecto colonia: algodonosa Micelio: aéreo Hifas cenocíticas Presencia de microconidios</p>			


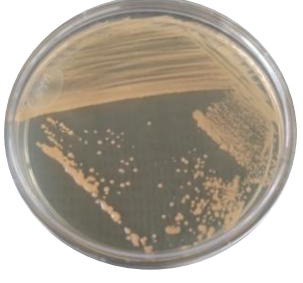
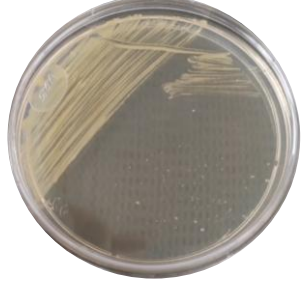






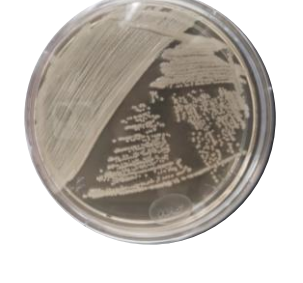

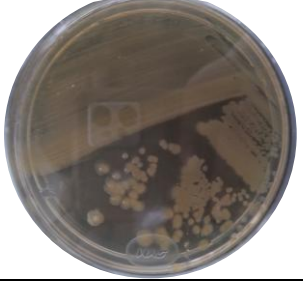

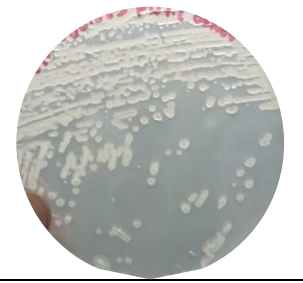

V8.3H	Aspecto colonia: algodonosa Micelio: aéreo Hifas cenocíticas Presencia de macroconidios septado			
V8.4.1H	Aspecto colonia: algodonosa Micelio: aéreo Hifas septadas Presencia de macroconidios			
V8.5H	Aspecto colonia: polverulenta Hifas septadas Presencia de esporangios y esporangiosporas			

En el caso de las bacterias, se realizó la técnica de tinción Gram. La forma y color de tinción se encuentran en la descripción de la tabla 5. También dentro del contenido de la tabla se describen las características de las colonias de los aislados y una imagen de su crecimiento en medio de cultivo LB.

Una vez que se describieron los aislados fúngicos y bacterianos, se realizó la extracción del ADN genómico de cada uno de ellos. Para corroborar la extracción exitosa del material genético se realizó electroforesis en gel de agarosa. En la figura 8, se visualiza el gel después del corrimiento de algunas muestras.

Tabla 5. Bacterias aisladas. Se presentan las características de las colonias y su morfología macroscópica en medio LB.

BACTERIAS AISLADAS					
NOMBRE	CARACTERISTICAS	MACROSCOPIA	NOMBRE	CARACTERISTICAS	MACROSCOPIA
BA3.1CB	Colonia circular, grande, blanquecina, convexa, lisa, bordes ligeramente rizoides, luz reflejada brillante, luz que trasmite opaca, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Cocos Gram +		SR3.3	Colonia circular, pequeña, amarilla tenue, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que trasmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Bacilos Gram + en cadenas cortas	
BA4.1	Colonia circular, mediana, blanquecina con centro amarillento, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que trasmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Cocos Gram +		SY3.1	Colonia circular, mediana, blanquecina amarillenta, plana, rugosa, con bordes regulares, luz reflejada mate, luz que trasmite opaca, consistencia membranosa, membranosa al emulsionar, no induce modificación al medio. Cocos Gram +	
CN4.3.1G	Colonia rizoide, grande, blanquecina, plana, lisa, con bordes ondulados irregulares, luz reflejada mate, luz que trasmite opaca, consistencia membranosa, granular al emulsionar, no induce modificación al medio. Cocobacilo Gram +		SY4.1	Colonia circular, grande, café claro con el tiempo se tornan blanca y polvosa, umbonada, lisa, con bordes regulares, luz reflejada mate, luz que trasmite opaca, consistencia membranosa adherida al medio, granular al emulsionar, el medio se torna de color café. Cocos Gram +	
LB3.1	Colonia circular, mediana, blanquecina, plana, rugosa, bordes regulares, luz reflejada mate, luz que trasmite opaca, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Bacilos Gram +		V8.2C1	Colonia irregular, mediana, amarilla tenue con punto café al centro, convexa, lisa, con bordes lobulados, luz reflejada brillante, luz que trasmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Cocos Gram +	
LB3.2.?	Colonia circular, mediana, blanquecina, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que trasmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Diplococos Gram +		V8.2C22	Colonia irregular, mediana, café clara, convexa, rugosa, con bordes irregulares, luz reflejada brillante, luz que trasmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Diplococos Gram +	
LB3.3	Colonia circular, mediana, amarilla transparente, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que trasmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Cocos Gram +		V8.4	Colonia circular, mediana, amarillo transparente, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que trasmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Cocos Gram +	
LB3.4.2	Colonia irregular, transparente, plana, rugosa, bordes no definidos, luz reflejada brillante, luz que trasmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Cocos Gram +		V8.4.1CB	Colonia circular, mediana, blanquecina, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que trasmite opaca, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Cocos Gram +	
LG3.1CB	Colonia circular, mediana, blanquecina amarilla, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que trasmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Diplococos Gram +		V8.4.3	Colonia circular, mediana, blanquecina con punto café al centro, convexa, lisa, con bordes regulares no lisos, luz reflejada brillante, luz que trasmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Diplococos Gram +	
LG3.2R	Colonia circular, grande, blanquecina amarilla, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que trasmite opaca, consistencia mucoide, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Bacilos Gram - formando cadenas		V8.4.3.1G	Colonia circular, grande, blanquecina con punto café al centro, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que trasmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Diplococos Gram +	

LG4.1R	Colonia circular, mediana, blanquecina con un punto amarillo al centro, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que transmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, el medio se torna de color café. Cocos Gram +		V8.4.4	Colonia circular, mediana, melón, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que transmite opaca, consistencia viscosa, granular al emulsionar, no induce modificación al medio. Cocos Gram +	
PD3.3.1	Colonia circular, puntiforme, transparente, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que transmite translúcida, consistencia membranosa, granular al emulsionar, no induce modificación al medio. Cocos Gram +		V8.4.5	Colonia circular, pequeña, salmón, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que transmite opaca, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Diplococos Gram +	
PD4.1	Colonia irregular, grande, blanquecina amarilla, plana, rugosa, con bordes ondulados, luz reflejada mate, luz que transmite opaca, consistencia membranosa, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Diplococos Gram +		V8.4.6	Colonia circular, pequeña, blanquecina, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que transmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Cocos Gram +	
PD7.3	Colonia irregular, grande, amarillo tenue, convexa, lisa, con bordes lobulados, luz reflejada brillante, luz que transmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Bacilos Gram +		V8.5.1.?	Colonia circular, mediana, blanquecina con punto amarillo al centro, convexa, lisa, con bordes regulares, pero no lisos, luz reflejada brillante, luz que transmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, el medio se torna de color café. Diplococos Gram +	
RC4.2.2	Colonia circular, mediana, amarilla transparente, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que transmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Cocos Gram +		V8.5.3.1	Colonia circular, mediana, blanquecina, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que transmite opaca, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Cocos Gram +	
RC5.1T	Colonia rizoide, mediana, amarilla tenue, plana, lisa, con bordes ondulados, luz reflejada brillante, luz que transmite opaca, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Bacilos Gram -		V8.5.3.1R	Colonia circular, mediana, amarilla café, convexa, lisa, con bordes ondulados, luz reflejada brillante, luz que transmite translúcida, consistencia viscosa, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Cocos Gram +	
RC5.1V	Colonia rizoide, mediana, blanquecina, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante y mate, luz que transmite opaca, consistencia adherida al agar, granular al emulsionar, no induce modificación al medio. Cocos Gram +		PD7.2	Colonia circular, mediana, blanquecina, convexa, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que transmite opaca, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Bacilo Gram +	
RC5.2	Colonia rizoide, mediana, amarilla transparente, umbonada, lisa, con bordes regulares, luz reflejada brillante, luz que transmite translúcida, consistencia butírica, fácilmente emulsionable, no induce modificación al medio. Cocos Gram +				

Para la amplificación de la región intergénica variable y el gen 16S ADNr, se utilizó la técnica de PCR. En la figura 8 se muestra la electroforesis de algunos ejemplos de los amplificados de la región ITS, los oligonucleótidos utilizados amplifican aproximadamente 500 pb, por lo que se puede observar que si tienen el tamaño esperado.

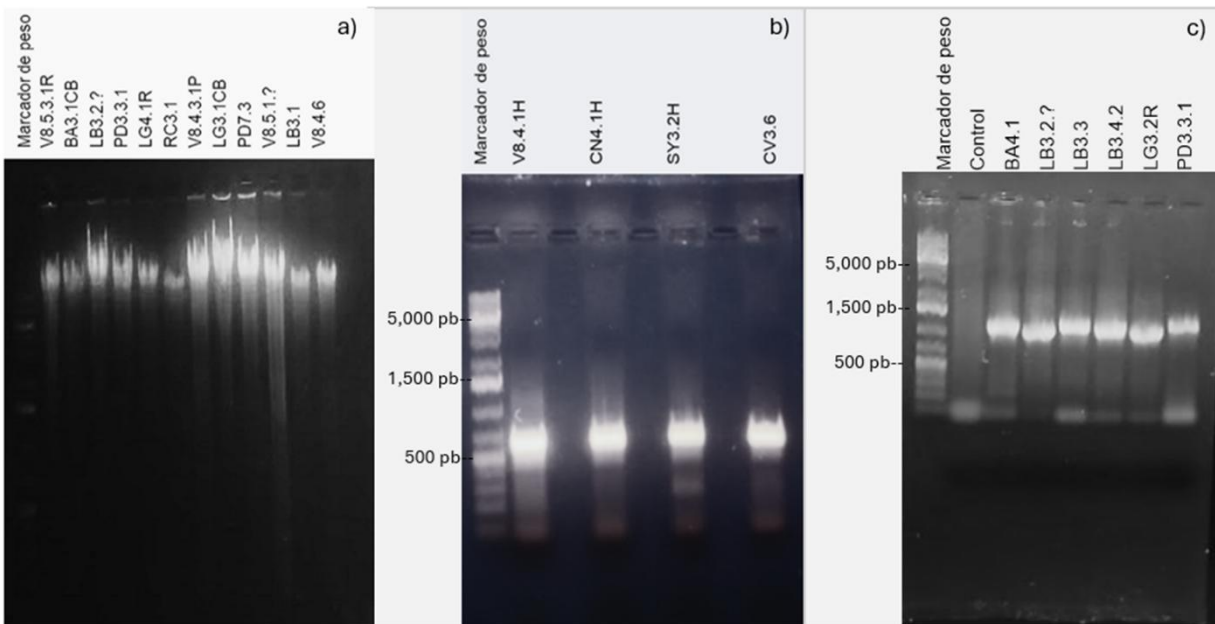


Figura 8. Electroforesis. a) Se observa el ADN genómico de algunos aislados. b) Se muestra la amplificación de la región ITS para hongos con una longitud aproximada de 500 pb y en c) se observa la amplificación del gen 16S ADNr con una longitud de aproximadamente 1,400 pb.

En el caso del gen 16S ADNr, los oligonucleótidos utilizados amplificaron un fragmento de aproximadamente 1,400 pb. En la figura 8 se muestra el gel de electroforesis, donde se observa que las bandas presentan un tamaño cercano a los 1,400 pb, lo que corrobora que se amplificó el gen de interés.

Los productos amplificados correspondientes a bacterias fueron sometidos a un ensayo de digestión enzimática utilizando la enzima de restricción HhaI, con el propósito de identificar patrones de restricción diferentes y enviar a secuenciación esas muestras y

así optimizar costos. En la figura 9 se muestran los geles de electroforesis con los patrones de digestión obtenidos.

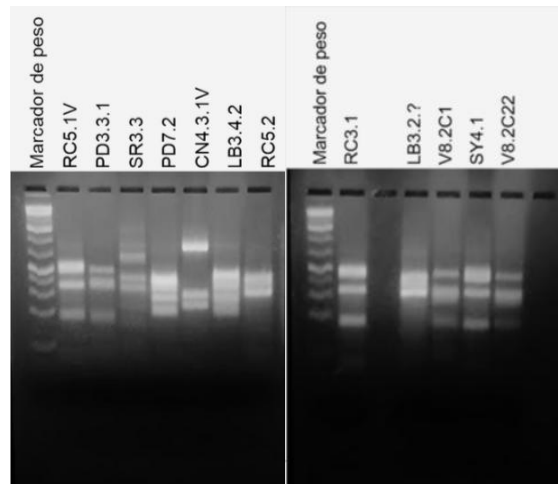


Figura 9. Cortes de bandas con la enzima de restricción HhaI.

Se eligieron 25 aislados bacterianos para mandar a secuenciar, mientras que los 8 restantes se preservaron en glicerol y almacenaron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ Los productos amplificados fueron purificados y preparados para su secuenciación. Las secuencias obtenidas se visualizaron en el software Chromas (Figura A1 y A2) con el objetivo de verificar la calidad y éxito del proceso de secuenciación. Dado que se trató de secuencias sencillas (secuencia forward y reverse), estas fueron empalmadas utilizando la herramienta BLAST. Posteriormente, las secuencias ensambladas se compararon en la base de datos del NCBI mediante BLAST para su identificación con secuencias previamente reportadas. En las tablas 6 y 7 se presentan los resultados correspondientes a la región ITS de los aislados de hongos y al gen 16S ADNr de las bacterias secuenciadas.

Se construyeron árboles filogenéticos para las secuencias fúngicas y bacterianas, para los 17 hongos aislados permitió clasificarlos en 12 géneros (Figura 10) y la secuenciación del gen 16S ADNr de las 25 bacterias aisladas permitió clasificarlos en 15 géneros (Figura 11).

Tabla 6. Alineamientos para las secuencias de la región ITS en hongos, obtenidos por BLAST.

Aislado	Alineamiento	Query Cover	E value	Porcentaje de identidad
BA3.1H	<i>Allophoma zantedeschiae</i>	100%	0.0	99.19%
BA3.2H	<i>Volutella</i> sp.	100%	0.0	99.49%
BA3.3H	<i>Fusicolla quarantena</i>	100%	0.0	96.95%
CN4.1H	<i>Lecanicillium aphanocladii</i>	100%	1x10 ⁻¹⁷³	100%
CN4.3H	<i>Ampelomyces</i> sp.	100%	0.0	100%
CN5.1H	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	100%	0.0	100%
CN5.3H	<i>Acremonium alternatum</i>	100%	0.0	100%
CN6.1H	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	100%	5x10 ⁻¹⁶⁷	100%
CV3.6H	<i>Scytalidium</i> sp.	100%	0.0	100%
CV4.3.1H	<i>Fusarium pernambucanum</i>	100%	5x10 ⁻¹⁵⁷	100%
LB3.2H	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	100%	0.0	100%
LG3.1H	<i>Fusarium equiseti</i>	100%	8x10 ⁻¹⁶⁵	100%
PD3.1H	<i>Volutella</i> sp.	100%	0.0	99.49%
SY3.2H	<i>Chaetothyriales</i> sp.	100%	0.0	99.73%
V8.3H	<i>Fusarium biseptatum</i>	100%	3x10 ⁻¹⁷⁴	100%
V8.4.1H	<i>Fusicolla quarantena</i>	99%	6x10 ⁻¹⁴⁶	98.67%
V8.5H	<i>Penicillium steckii</i>	100%	1x10 ⁻¹³¹	100%

El árbol filogenético construido basado en la región ITS incluye 68 secuencias: 17 aislados del presente estudio y 51 secuencias de referencia del NCBI de géneros filogenéticamente relacionados. El análisis se realizó en MEGA 12 mediante el método de Neighbor-Joining con 1000 réplicas de bootstrap. El árbol permite visualizar que los hongos aislados se distribuyen en 12 géneros diferentes: *Allophoma*, *Ampelomyces*, *Acremonium*, *Cladosporium*, *Chaetothyriales*, *Fusicolla*, *Fusarium*, *Lecanicillium*, *Penicillium*, *Purpureocillium*, *Scytalidium* y *Volutella* (Figura 10).

Los aislados se agrupan en diferentes clados junto con sus secuencias de referencia más cercanas, lo que muestra su ubicación taxonómica molecular. Se observan valores de bootstrap que varían desde bajos (13-24) en ramas internas hasta elevados (>90) en agrupamientos finales, indicando diferentes niveles de certeza en las relaciones filogenéticas. El género *Fusarium* presentó la mayor representación en la colección (3 aislados: BA3.3H, LG3.1H, V8.4.1H), seguido de *Acremonium* (2 aislados) y *Volutella* (2 aislados), mientras que los demás géneros fueron representados por un único aislado cada uno.

Tabla 7. Alineamientos de las secuencias del gen 16S ADNr en bacterias, obtenidos por BLAST.

Aislado	Alineamiento	Query Cover	E value	Porcentaje de identidad
BA3.1CB	<i>Serratia marcescens</i>	100%	0.0	99.49%
BA4.1	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	100%	0.0	99.91%
LB3.2.?	<i>Leucobacter komagatae</i>	100%	0.0	100%
LB3.3	<i>Agrococcus jenensis</i>	100%	0.0	99.74%
LB3.4.2	<i>Paenibacillus</i> sp.	100%	0.0	99.66%
LG3.2R	<i>Bacillus</i> sp.	100%	0.0	99.92%
PD3.3.1	<i>Microbacterium yannicii</i>	100%	0.0	99.91%
PD4.1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	100%	0.0	99.84%
PD7.2	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	100%	0.0	99.67%
PD7.3	<i>Bacillus safensis</i>	100%	0.0	99.92%
RC4.2.2	<i>Microbacterium yannicii</i>	100%	0.0	100%
RC5.1T	<i>Cytobacillus horneckiae</i>	100%	0.0	100%
RC5.1V	<i>Streptomyces variabilis</i>	100%	0.0	100%
RC5.2	<i>Mycobacterium</i> sp.	100%	0.0	99.83%
SR3.3	<i>Serratia marcescens</i>	100%	0.0	93.68%
SY3.1	<i>Alcaligenes</i> sp.	99%	0.0	98.65%
SY4.1	<i>Streptomyces</i> sp.	100%	0.0	99.13%
V8.2C22	<i>Pseudomonas protegens</i>	100%	0.0	99.84%
V8.4.1CB	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	100%	0.0	100%
V8.4.3	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	100%	0.0	99.92%
V8.4.4	<i>Paracoccus</i> sp.	100%	0.0	100%
V8.4.5	<i>Rhodococcus</i> sp.	100%	0.0	99.83%
V8.4.6	<i>Serratia</i> sp.	100%	0.0	99.66%
V8.5.1.?	<i>Pseudomonas</i> sp.	100%	3×10^{-136}	99.63%
V8.5.3.1R	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	100%	0.0	100%

El árbol filogenético basado en el gen 16S ADNr incluye un total de 75 secuencias: 25 aislados del presente estudio y 50 secuencias de referencia del NCBI de géneros bacterianos filogenéticamente relacionados. El análisis se realizó en MEGA 12 usando el método de Neighbor-Joining con 1000 repeticiones de bootstrap para evaluación de robustez. El árbol filogenético agrupa las 25 bacterias secuenciadas en 15 géneros diferentes: *Serratia*, *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Leucobacter*, *Agrococcus*, *Paenibacillus*, *Bacillus*, *Microbacterium*, *Cytobacillus*, *Streptomyces*, *Mycobacterium*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus*, *Paracoccus* y *Rhodococcus* (Figura 11).

La distribución filogenética muestra que los aislados bacterianos pertenecen principalmente a dos filos: Firmicutes (géneros *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Staphylococcus*)

y Proteobacteria (géneros *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Serratia*, *Paracoccus*, *Alcaligenes*). También se identificaron representantes de Actinobacteria (*Streptomyces*, *Mycobacterium*, *Microbacterium*, *Rhodococcus*). Los valores de bootstrap en el árbol varían considerablemente, desde valores bajos (5-24) en bifurcaciones internas hasta valores elevados (>95) en los agrupamientos terminales, reflejando diferentes niveles de incertidumbre en las relaciones filogenéticas profundas, pero confianza en la asignación taxonómica de cada aislado.

Los aislados tanto de hongos como de bacterias obtenidos en este trabajo se encuentran distribuidos en distintos clados, lo que demuestra que los medios de cultivo no tuvieron un sesgo preferencial de captura de algún grupo microbiano específico.

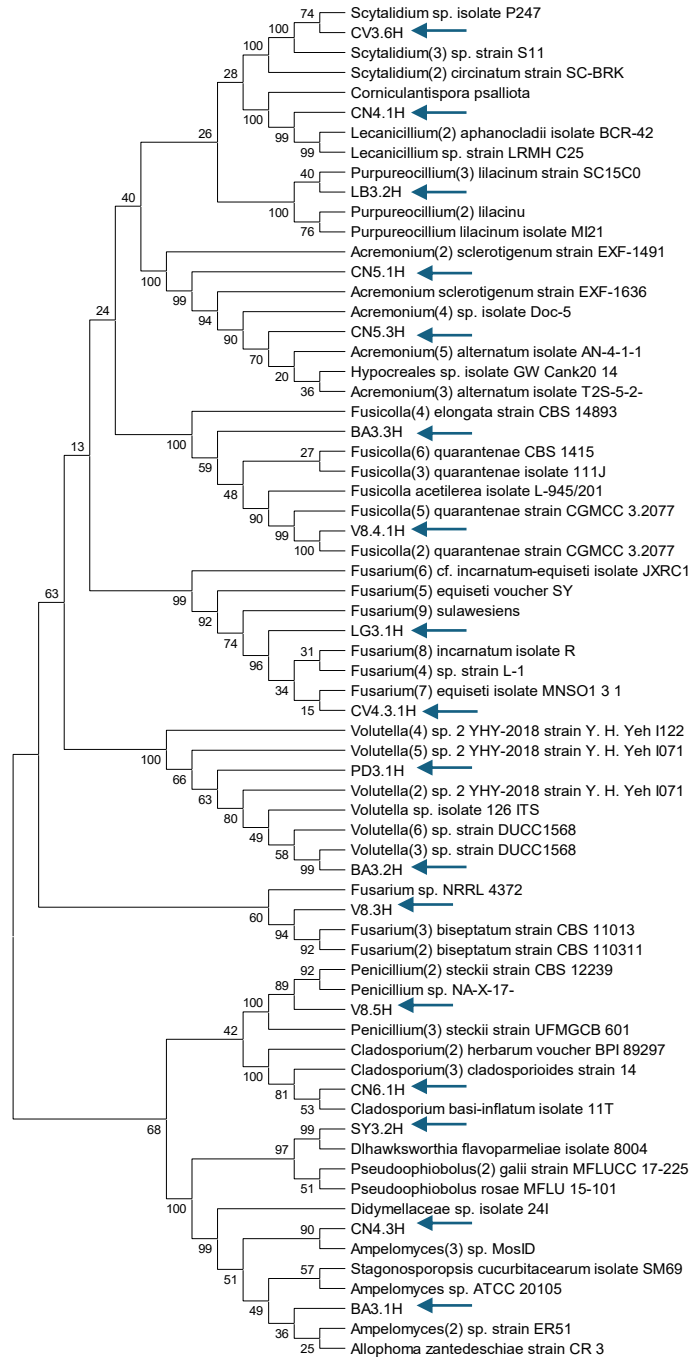


Figura 10. Árbol filogenético basado en secuencias ITS de hongos, se incluyen las 17 secuencias obtenidas en este estudio señaladas con una flecha. Los números en las ramas indican los valores de Bootstrap. Construido con el software MEGA 12.

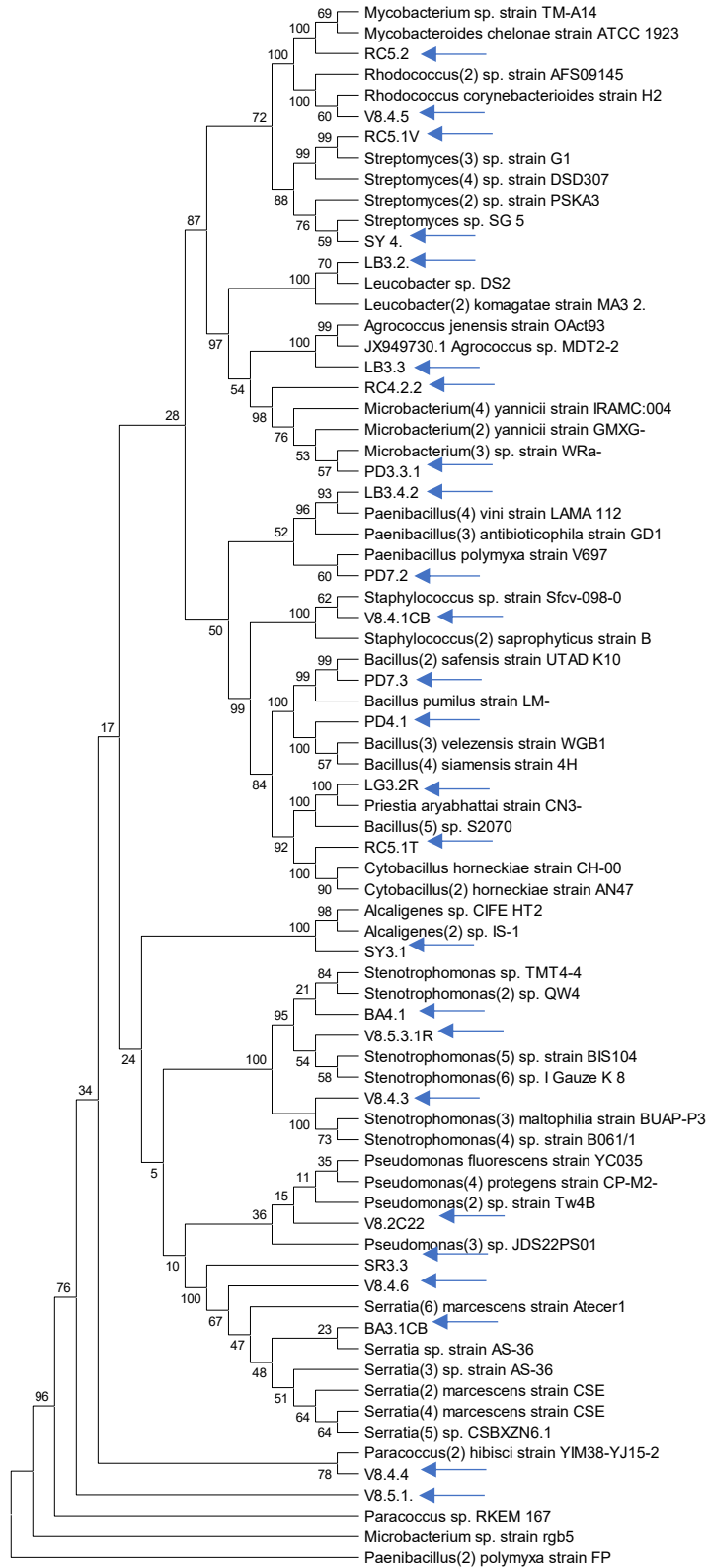


Figura 11. Árbol filogenético basado en secuencias que codifican para 16S ADNr de bacterias, se incluyen las 25 secuencias obtenidas en este estudio señaladas con una flecha. Los números en las ramas indican los valores de Bootstrap. Construido con el software MEGA 12.

Estudio de microorganismos del suelo rizosférico por vía metagenómica

Las células de *E. coli* DH5a transformadas con el vector ligado con las secuencias de interés se sembraron en las placas Petri con medio LB adicionado con X-gal, IPTG y ampicilina. Se observó el crecimiento de las colonias blancas y azules (Figura 12). Las colonias aisladas que contenían el vector con las secuencias de interés (colonias blancas) fueron aisladas obteniendo 44 colonias con el gen 16S ADNr y 17 para la región ITS como se ve en la figura 12.

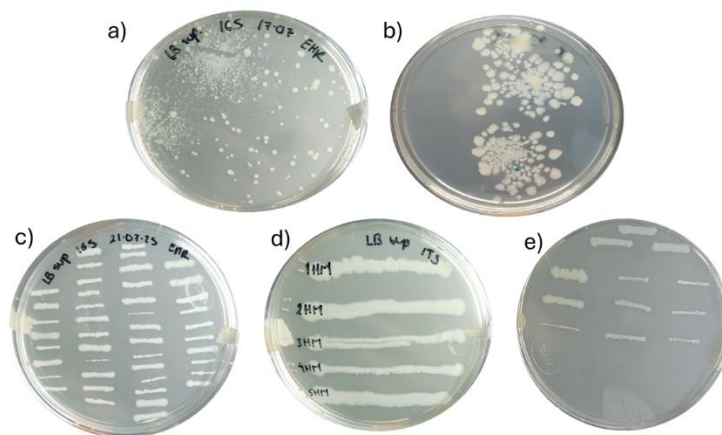


Figura 12. Crecimiento de las células transformadas, se observan colonias blancas y azules. Las colonias blancas en la placa Petri correspondieron a transformantes que portaban el inserto a) 16S rDNA y b) Región ITS. Colonias aisladas que contienen el vector con las secuencias de interés. c) Se muestran las 44 colonias aisladas para 16S ADNr, d) y e) muestran 17 colonias aisladas para la región ITS.

La eficiencia de transformación fue de 8.8×10^4 UFC/ μ g ADN para la reacción de 16S ADNr y de 6.8×10^4 UFC/ μ g. Actualmente se encuentra en proceso la obtención de un mayor número de colonias blancas para la captura de unidades taxonómicas operativas (OTUs) de bacterias y hongos, previo a su secuenciación. Aunque se han realizado múltiples clonaciones (datos no mostrados), el número de transformantes obtenidos ha sido bajo. Por lo que aún queda mucho trabajo por realizar para hacer representativa esta vía de captura para enriquecer el conocimiento de la diversidad microbiana asociada a *Sedum rubrotictum*.

DISCUSIÓN

Las bacterias y hongos obtenidos en este trabajo solo representan un momento de la rizosfera de la planta de estudio. La caracterización de comunidades microbianas en suelo rizosférico, solo representa un instante temporal de la composición de la microbiota ya que, la rizosfera, está sujeta a un constante cambio en respuesta a las características ambientales y las presiones selectivas del entorno (Xu *et al.*, 2018) como son: la disponibilidad de nutrientes y de agua, las variaciones de temperatura y de pH o también puede cambiar en defensa contra fitopatógenos (Goemann *et al.*, 2024; Mathur *et al.*, 2019).

El aislamiento de microorganismos, se realiza utilizando medios de cultivo diversos y esta captura permite conservar las cepas microbianas para futuras pruebas, investigaciones o aplicaciones (Morales-García *et al.*, 2010; Radhakrishnan & Krishnasamy, 2024). Como ejemplo, si los resultados son favorables las cepas se pueden emplear para la satisfacción de un producto o servicio, como es la formulación de biofertilizantes que promueven el crecimiento vegetal (Khan *et al.*, 2018). Estas cepas podrán cultivarse nuevamente bajo condiciones controladas, facilitando su replicación y uso. Además, se recomienda que se empleen varios medios de cultivo cuando se trata de estudios de diversidad, ya que hay microorganismos que no se detectan por métodos moleculares (Donachie *et al.*, 2007); debido a que pueden existir sesgos en la obtención de material genético como la preferencia de pegado de los oligonucleótidos usados (Sipos *et al.*, 2007). Sin embargo, es importante mencionar que los medios de cultivo también tienen limitantes para lograr el aislamiento de microorganismos. Se encuentran los microorganismos viables pero no cultivables (Tamagnini & Paraje, 2015), que no pueden desarrollarse en medio de cultivo, otro obstáculo es la composición del medio de cultivo que solo permite se desarrollen microorganismos que satisfagan sus requerimientos nutritivos (Pham & Kim, 2012b).

En este estudio se emplearon 8 medios de cultivo diferentes (Akram *et al.*, 2023; L. Y. Guo & Ko, 1993; Morales-García *et al.*, 2013), permitiendo recuperar distintos microorganismos al tener composición nutrimental diferentes. Dos de los medios de

cultivos, PDA y V8, son empleados principalmente para el crecimiento de hongos (Kouo-N'Golo *et al.*, 2024), siendo el V8 preferencial para oomycetos como *Phytophthora* y *Pythium* (Muhorakeye *et al.*, 2025). Los aislados obtenidos en este estudio, demostraron que no solo crecen hongos si no también ayudaron al aislamiento de bacterias. Además, los otros 6 medios de cultivo son usados para el crecimiento de las cepas que conforman el consorcio del inoculante INOCREP (Morales-García *et al.*, 2020). La planta utilizada en este estudio, pertenece a un grupo de plantas que fueron trasplantada en vermiculita (hace ~12 años) y únicamente fueron inoculadas con INOCREP. Estas plantas crecieron de forma exitosa y se incrementó la presencia de materia orgánica aparente (ver figura 2). Con el fin de rastrear los microorganismos inicialmente inoculados se usaron los medios de cultivo de captura para los miembros de INOCREP (*Azospirillum brasilense* Sp7, *Pseudomonas putida* KT2440, *Sphingomonas* sp. OF178, *Paraburkholderia unamae* MTI-641, *Bradyrhizobium* sp. MS22 y *Gluconacetobacter diazotrophicus*). En acuerdo con nuestros resultados, notamos que por lo menos entre los aislados más abundantes estudiados no se detectaron las cepas correspondientes a INOCREP. Sin embargo, se detectaron cepas de *Pseudomonas* sp., más cercanamente relacionadas a especies diferentes a *Pseudomonas putida* KT2440. Sin embargo, se requieren más estudios para determinar si las cepas del consorcio microbiano inicial pudieran estar presentes en números bajos; cuyas cepas minoritarias no fueron exploradas en este trabajo. Al no poder rastrear las demás cepas, estos resultados podrían sugerir que el suelo se va renovando al no tener una aplicación recurrente de inoculante (Papin *et al.*, 2024, 2025), y, por otro lado, también se demostró que estos medios de cultivo sirven para el crecimiento de diversos microorganismos de suelo rizosférico. Los árboles filogenéticos donde se incluyen las bacterias y hongos aislados en el trabajo presente, se observa la distribución y el grado de relación entre los microorganismos y se observa que están distribuidos en grupos filogenéticamente diversos, lo que sugiere que no hubo preferencia de captura de ciertos linajes. Los aislados de este estudio aparecen con la nomenclatura propuesta ayudando a visualizar la cercanía o lejanía filogenética que hay entre sí, considerando el medio de cultivo, se puede ver como el medio con jugo V8 a pesar que el número de microorganismos detectados fue de 1×10^7 UFC/ml menor que en medio PDA (3×10^8 UFC/ml), se obtuvieron 15 aislados, de los cuales se secuenciaron

3 géneros de hongos distintos (*Fusarium*, *Fusicolla* y *Penicillium*) y 6 géneros bacterianos distintos (*Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Paracoccus*, *Rhodococcus* y *Serratia*) presentando una mayor diversidad para captar bacterias como hongos, en comparación a los medios utilizados en este estudio, esto podría atribuirse a su contenido de carbohidratos principalmente glucosa, fructosa y sacarosa provenientes de jugos vegetales (Campbell Soup Company, n.d.). También se puede observar que el medio BAc puede ser utilizado para captar hongos de diferente género, esto podría ser debido a que contiene ácido succínico como fuente de carbono (Danh Duc *et al.*, 2024). Además, podemos observar que los aislados obtenidos de agar con agua de coco, también tienen una distribución diversa, por lo que se puede implementar el uso de agua de coco para obtener una mayor diversidad de crecimiento microbiano. Sekar *et al.*, (2013) en su estudio utilizando agua de coco tierno observó que la morfología de colonias de *E. coli* son muy similares a la morfología en medio LB (Sekar *et al.*, 2013).

Los aislados obtenidos fueron 17 hongos y 33 bacterias. En otros estudios (Eberly *et al.*, 2024; Liu *et al.*, 2024; Tang *et al.*, 2025), se muestra una tendencia similar a la que encontramos, en donde la comunidad bacteriana es mayor a la fúngica en la microbiota del suelo rizosférico sano. La selección de los aislados fúngicos para su análisis molecular se realizó a partir de observaciones macroscópicas y microscópicas. Durante su crecimiento en medio PDA se evidenciaron diferencias morfológicas notables entre los cultivos, lo que sugirió que podrían tratarse de especies distintas. Por esta razón, los 17 aislados fueron enviados a secuenciación de la región ITS del ADN ribosomal, la cual es ampliamente utilizada como marcador molecular en hongos, debido a que evoluciona con mayor rapidez y presenta una alta variabilidad entre especies, funcionando, así como un “código de barras” genético para su identificación taxonómica (Raja *et al.*, 2017; White *et al.*, 1990).

De las 33 bacterias aisladas, se seleccionaron 25 para su identificación molecular por secuenciación. Esta selección se basó en un análisis comparativo de sus características morfológicas y en los patrones de restricción generados por la enzima HhaI al cortar el amplificado 16S ADNr. El uso de esta enzima permitió distinguir aislamientos con fragmentos de ADN amplificado del gen 16S ADNr que presentaban diferentes perfiles

de restricción, lo que sugiere variabilidad genética entre ellos (Lee *et al.*, 2009; Radjasa *et al.*, 1999). Las 8 bacterias restantes al observar patrones similares, se almacenaron para futura identificación, ya que no podemos confirmar que sean del mismo género bacteriano o no, se necesita de otras pruebas con otras enzimas de restricción o de su secuenciación.

Sin embargo, en algunos casos se observó que, a pesar de compartir un mismo patrón de digestión con HhaI, las colonias exhibían diferencias morfológicas notables en cuanto a forma, color o textura, como el caso de BA3.1CB y V8.4.6, donde el tamaño y los bordes de la colonia diferían. Estos aislados también fueron enviados a secuenciación, pero los resultados arrojaron que pertenecían al mismo género. Esto puede deberse a la plasticidad fenotípica donde bacterias pertenecientes al mismo género pueden exhibir diferencias morfológicas y fisiológicas, por variaciones genéticas entre especies o cepas, o por la influencia de las condiciones ambientales durante su crecimiento. Por ejemplo, las cepas de *Bacillus* aisladas de ambientes templados y de fuentes termales mostraron diferencias en su morfología y tolerancia térmica, evidenciando una marcada plasticidad fenotípica asociada al ambiente de origen y a la temperatura de incubación (Hurtado-Bautista *et al.*, 2021). El análisis de restricción con la enzima HhaI permitió optimizar el número de muestras a secuenciar y reducir los costos de la investigación.

Los resultados de alineamiento obtenidos por BLAST nos muestran 12 y 15 géneros diferentes para hongos y para bacterias respectivamente. En el caso del aislado SR3.3, presentó un 93.68 % de identidad con su secuencia más cercana en BLASTn para el gen 16S ADNr relacionándose al género *Serratia*. De acuerdo con los umbrales comúnmente aceptados para la clasificación bacteriana, valores inferiores al 95 % no permiten asignar de manera confiable un género, e incluso pueden indicar la presencia de un linaje no descrito o no representado en la base de datos (Beye *et al.*, 2018; Hackmann, 2025). Debido a esto, se necesita analizar más la secuencia de nucleótidos, buscando genes claves que nos ayuden a la identificación taxonómica o realizar un enfoque polifásico (Vandamme *et al.*, 1996).

En el caso de los hongos, 10 géneros: *Volutella*, *Fusicolla*, *Lecanicillium*, *Acremonium*, *Cladosporium*, *Scytalidium*, *Fusarium*, *Purpureocillium*, *Chaetothyriales* y *Penicillium* ya

han sido encontrados en la rizosfera de diversas plantas (Baron et al., 2020; Chen et al., 2025; Debode et al., 2016; Deng et al., 2024; Nel et al., 2006; Park et al., 2020; Paul & Park, 2013; Tong et al., 2023; Zhang et al., 2022; Zhang et al., 2024), mientras que *Ampelomyces*, se ha hallado en la endosfera como parásito (Kiss, 2008) y *Allophoma* en tallos y hojas (Fang et al., 2019). Entre estos, destacan *Fusarium*, *Volutella* y *Acremonium*, que han sido frecuentemente aislados de ambientes rizosféricos. Por otro lado, los géneros con potencial biotecnológico que se podrían contemplar serían los aislados de *Fusicolla* han sido reportados con actividad antifúngica (Li et al., 2021); *Lecanicillium* es conocido como agente de biocontrol de ácaros y áfidos (Tello-Salgado et al., 2021); *Purpureocillium* se ha documentado como antagonista y como fitomejorador (Rigobelo et al., 2024). La presencia de estos géneros sugiere que la comunidad fúngica rizosférica de *S. rubroinctum* podría desempeñar funciones protectoras contra plagas u organismos competidores. Sin embargo, es importante reconocer que se requieren estudios funcionales específicos para validar estas capacidades en el contexto de este estudio particular.

El árbol filogenético de hongos muestra que la mayoría de los aislados se agrupa con confianza (bootstrap $\geq 70\%$) junto a referencias taxonómicas establecidas, corroborando la precisión de las identificaciones moleculares. Sin embargo, se observan algunas ramas con valores de bootstrap bajos (valores < 50), particularmente en la región basal del árbol lo que sugiere que estas relaciones evolutivas profundas pueden requerir confirmación mediante métodos complementarios de análisis filogenético (ej., máxima verosimilitud) o mediante análisis metagenómico para obtener información multilocus. El método Neighbor-Joining, basado en distancias, es eficiente y rápido, pero tienden a producir árboles con menor robustez en nodos basales comparados con métodos más complejos como Máxima Verosimilitud o Bayesiano, los cuales modelan de manera más explícita el proceso evolutivo y suelen generar soportes más confiables (Guindon & Gascuel, 2003; Penny, 2004).

En el caso de las bacterias los 15 géneros: *Serratia*, *Stenotrophomonas*, *Leucobacter*, *Agrococcus*, *Paenibacillus*, *Bacillus*, *Microbacterium*, *Cytobacillus*, *Streptomyces*, *Mycobacterium*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Paracoccus* y

Rhodococcus ya han sido reportadas en rizosferas de diferentes plantas (Álvarez López et al., 2013; Hao et al., 2021; Hernández-Gómez et al., 2020; Jia et al., 2022; S. Kim et al., 2023; Liu et al., 2023; Martínez et al., 2018; Pérez-Pérez et al., 2020; Pio et al., 2022; Sarkar et al., 2012; C. Xu et al., 2024).

El análisis filogenético reveló que la comunidad bacteriana está dominada por miembros de Firmicutes y Proteobacteria, lo cual es consistente con estudios previos en rizosferas de plantas sanas (Hartmann *et al.*, 2009). La presencia de múltiples géneros en una sola maceta sugiere una estructura comunitaria compleja y potencialmente funcional. Los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, conocidos promotores del crecimiento vegetal (PGPR) (Liu *et al.*, 2019; Zahra *et al.*, 2023), fueron capturados en múltiples ocasiones en diferentes diluciones y medios de cultivo, sugiriendo abundancia relativa en la comunidad.

El árbol filogenético muestra que las bacterias aisladas se agrupan según su filiación taxonómica conocida. Aunque la mayoría de los clados terminales tienen valores de bootstrap altos (>70%), observamos que varias ramas internas presentan valores de bootstrap inferiores a 50, particularmente en la región basal. Esto es frecuente cuando se analiza diversidad de genes 16S conservados y no implica error en la identificación de géneros individuales (que se respaldan en comparaciones BLAST directas), pero sí refleja limitaciones de los métodos filogenéticos basados en un marcador genético único.

Con respecto a relaciones con géneros patógenos, es importante notar que algunos géneros identificados como *Staphylococcus*, *Fusarium* y *Serratia* han sido reportados como potencialmente patógenos en ciertos contextos (Jayakumar *et al.*, 2020; Kulkova *et al.*, 2024; McGovern, 2015). Sin embargo, el hecho de que la planta (*S. rubrotinctum*) presentara apariencia visual sana en el momento del muestreo sugiere que estos microorganismos podrían estar presentes en configuraciones no-patogénicas o que su patogenicidad está suprimida por la comunidad comunitaria (Chapelle *et al.*, 2016). Esto subraya la importancia de no asumir que la mera presencia de un género patógeno implica enfermedad (Bulgarelli *et al.*, 2013), sino que requiere validación experimental (ensayos de patogenicidad, factor de virulencia, etc.).

El estudio metagenómico tuvo limitantes por lo que se quedó inconcluso. No se pudo determinar con exactitud cuál fue el problema debido a otra limitante: tiempo. En varias ligaciones no se obtuvieron colonias tras la transformación. Este resultado puede atribuirse a diferentes causas citadas en la literatura, entre las que se encuentran una ligación ineficiente por relaciones molares vector:inserto no óptimas, la presencia de inhibidores en la mezcla de ligación, baja competencia de las células utilizadas, la posible toxicidad del inserto para la cepa hospedera (Green & Sambrook, 2012). Se realizó purificación a los amplificadores y se cuantificó el ADN para agregar a la reacción la cantidad necesaria, teniendo así colonias con el plásmido ligado. Sin embargo, la eficiencia de transformación fue relativamente baja (Promega, 2021) ya que el manual del proveedor nos dice que se usen células de alta eficiencia (1×10^8 UFC/ μ g DNA) y se obtuvieron valores de la orden 10^4 UFC/ μ g DNA. Se necesita optimizar el proceso para la clonación exitosa y poder llegar a identificar los microorganismos rizosféricos por este método.

Posible rol de los microorganismos aislados en otros ambientes

La evidencia muestra que el género *Allophoma* (1 aislado) ha sido reportada en plantas de *Papaver dubium*, asociado a otros hongos provocan lesiones foliares desde amarillamiento hasta el marchitamiento (Razaghi & Zafari, 2018). Sin embargo, aún se requiere más evidencia científica para confirmar si este hongo actúa como patógeno o si pudiera tener potencial como en aplicaciones biotecnológicas. En el caso del género *Volutella* (2 aislados), en una investigación reciente, reportaron que una cepa de este hongo aislada del suelo, al biotransformar ácido suberoilánilida hidroxámico (SAHA) produjo metabolitos derivados de la anilina (Zhang et al., 2025). En el trabajo de tesis de López Pérez, (2024) hallaron este hongo en sedimentos de una mina en un medio de cultivo enriquecido con zinc, sin embargo, el autor menciona que se necesita de más investigación para descubrir el potencial de este hongo (López Pérez, 2024). Además, se ha informado que cepas específicas pueden producir enfermedades en plantas ornamentales (Garibaldi et al., 2016), teniendo como síntomas defoliación y retraso de crecimiento. Es importante saber si estos hongos pueden ser patógenos o funcionales. Otro género encontrado fue *Fusicolla* (2 aislados) y se han encontrado cepas de este

género con actividad antifúngica (Li *et al.*, 2021). Similarmente en (Sun *et al.*, 2024) encontraron que la rizosfera de maíz y trigo al estar expuestas a arsénico y cadmio, reclutan diversas bacterias y hongos, entre ellos a *Fusicolla* sp. tolerante a estos contaminantes. En el caso de *Lecanicillium* (1 aislado) se ha evaluado la capacidad de metabolizar hidrocarburos aromáticos policíclicos (Pozdnyakova *et al.*, 2019), también se ha encontrado que algunas cepas tienen propiedades entomopatógenas (Tello-Salgado *et al.*, 2021), con más investigación, se podría hallar su uso potencial como biocontrol de plagas de insectos. *Ampelomyces* (1 aislado), se considera un hongo endófito de algunas plantas que no produce efectos negativos y además tiene características que hacen que actúe como agente de control biológico contra otros hongos (Aly *et al.*, 2008; Németh *et al.*, 2023). El género *Acremonium* (2 aislados) se considera un hongo de interés, ya que se ha encontrado que puede actuar como promotor del crecimiento vegetal, agente de control biológico contra insectos, cómo agente contra el estrés por sequía e incluso como antifúngico (Khan *et al.*, 2021). *Cladosporium* (1 aislado) es endófito de algunas plantas y también considerado un hongo de interés, ya que tiene actividad promotora del crecimiento vegetal (Răut *et al.*, 2021); este hongo también se comporta como antifúngico contra hongos fitopatógenos (Torres *et al.*, 2017). Para el género *Scytalidium* (1 aislado), hay reportes que algunas especies producen infecciones en las uñas o plantas de los pies (Mendoza *et al.*, 2009), también pueden infectar algunas plantas, sin embargo, la mayoría de las especies se consideran saprótrofas y, además, pueden crecer en ambientes extremos (Jeong *et al.*, 2025). *Fusarium* sp. (3 aislados), fue el género más recurrente encontrado en esta investigación, este hongo es de importancia ya que la evidencia nos dice que la mayoría de especies son patógenos para las plantas, causándoles diversas enfermedades y sintomatología adversa (McGovern, 2015) y se está en constante estudio buscado la forma de como contrarrestar sus efectos adversos (Bandara & Kang, 2024; Xu *et al.*, 2022). *Purpureocillium* (1 aislado) se ha reportado que una especie específica promueve el crecimiento vegetal y además funciona como control biológico contra nemátodos (Rigobelo *et al.*, 2024) y también se ha encontrado que pueden metabolizar el cadmio del suelo para su biorremediación (Zheng *et al.*, 2021). *Chaetothyriales* (1 aislado) se ha reportado que este hongo puede crecer en suelos contaminados por metales pesados (Guo *et al.*, 2023) es necesario más investigación

para detectar si este hongo puede ayudar a la biorremediación del suelo. Finalmente, *Penicillium* (1 aislado) estudios previos han demostrado que puede promover el crecimiento vegetal (Shi *et al.*, 2024) y además puede actuar como control biológico contra hongos fitopatógenos de las plantas (Wang *et al.*, 2022).

Considerando la información reportada para cada género, es importante continuar con el estudio de los aislados obtenidos. Para el caso de hongos benéficos se podría continuar hacia la caracterización precisa y realizar ensayos para conocer su potencial biotecnológico.

En el caso de los aislados bacterianos encontrados tenemos a *Serratia* (3 aislados), existen reportes de que algunas cepas son patógenas en humanos y plantas, sin embargo, existen cepas de este género con actividad de promoción del crecimiento vegetal y también ayudan a enfrentar estrés abiótico como sequía y salinidad (Kulkova *et al.*, 2024). *Stenotrophomonas* (3 aislados) se encuentra en suelo y forma parte de la rizosfera de algunas plantas, ya que, promueve el crecimiento vegetal a través de producción de fitohormonas, solubilización de fosfatos y fijación biológica del nitrógeno (Criollo *et al.*, 2012; Pérez-Pérez *et al.*, 2020). El género *Leucobacter* (1 aislado) se ha encontrado en diferentes ambientes, incluidos la rizosfera. Se han descubierto cepas resistentes al cromo; otras se han investigado para su uso en biorremediación, por mostrar resistencia a herbicidas, también hay evidencia de que tiene actividad contra nematodos (Bates & King, 2021; Liu *et al.*, 2018). *Agrococcus* (1 aislado) este género, tiene reportes que ha sido aislado de ambientes extremos, como permafrost, agua de mar, suelos contaminados con cromo, pero también en la filosfera de papa (Behrendt *et al.*, 2008). Se sugiere que pueda ser tolerante a la desecación por su sobrevivencia a estos ambientes, también es un posible modelo para biorremediación (Kämpfer & Busse, 2015). *Paenibacillus* (2 aislados) es un género que mayormente se encuentra en el suelo, asociado con las raíces de las plantas. Diversas especies promueven el crecimiento de las plantas, ya que producen fitohormonas, sideróforos, pueden solubilizar fosfatos y fijan el nitrógeno atmosférico. Es por ello, que pueden ser usadas en la agricultura (Grady *et al.*, 2016). Las cepas de *Bacillus* (3 aislados), soportan ambientes adversos por su capacidad de formación de esporas (Pandey & Palni, 1997), esto hace que se puedan

hallar en la rizosfera de diversas plantas y que funjan como promotoras del crecimiento vegetal (Zahra *et al.*, 2023). Además, algunas cepas, pueden fungir como agente de biocontrol ya que cuentan con mecanismos de antibiosis, micoparasitismo y desencadenan resistencia sistémica inducida en las plantas hospederas (Gurikar *et al.*, 2022). *Microbacterium* (2 aislados), se han estudiado cepas de este género con actividad biorremediadora, contra el lindano y además de promoción del crecimiento vegetal (Singh & Singh, 2019); también se ha descubierto que pueden producir compuestos orgánicos volátiles que ayudan al crecimiento y salud de las plantas (Viviane *et al.*, 2018) y también se han descubierto una cepa fijadora de nitrógeno (Zheng *et al.*, 2024). También se encontró el género *Cytobacillus* (1 aislado), la evidencia nos muestra que una cepa aislada de una región semiárida creció en condiciones extremas de pH y resistió a la exposición de rayos UV, además presenta genes de promoción de crecimiento vegetal y actividad de inhibición contra el hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani* (Suárez-Bautista *et al.*, 2024). *Streptomyces* (2 aislados), estas bacterias actúan como agentes importantes en el suelo, ya que pueden degradar la celulosa, también producen metabolitos antagonistas contra enfermedades y plagas de las plantas y pueden estimular el crecimiento vegetal (Chater, 2016). Algunas cepas de *Pseudomonas* (2 aislados), se consideran promotoras del crecimiento de las plantas, ya que pueden solubilizar fosfatos (Liu *et al.*, 2019) y también ayudan al desarrollo vegetal en condiciones adversas como altas temperaturas (Molina-Romero *et al.*, 2017), además se ha demostrado su actividad antagónica contra hongos fitopatógenos (Wahyudi *et al.*, 2011), pero también su uso es debatido ya que existen cepas de este género que son patógenas (Höfte & De Vos, 2006). *Staphylococcus*. (1 aislado), es comúnmente conocido por su patogenicidad en humanos, sin embargo, se han reportado cepas de este género que pueden ser tolerantes a la sequía y estimular el crecimiento de plantas (Jayakumar *et al.*, 2020), también que solubilizan fosfatos y producen sideróforos (Rawat *et al.*, 2022). *Paracoccus* (1 aislado), algunas cepas de este género han sido reportadas que pueden degradar compuestos tóxicos que afectan a la flora y la fauna como es la deltametrina (Ning *et al.*, 2020) y el lindano (Sahoo *et al.*, 2019), además se ha reportado que tiene actividad promotora del crecimiento vegetal, como la fijación de nitrógeno y la producción de fitohormonas (Sahoo *et al.*, 2019). *Rhodococcus* (1aislado), existen

diversas cepas que se han reportado que producen compuestos de interés, como biosurfactantes, carotenoides, polihidroxicanoatos antimicrobianos, entre otros (Cappelletti *et al.*, 2020). Otro género encontrado *Mycobacterium* (1 aislado), tiene reporte de cepas patógenas de importancia que afectan al ser humano (Percival & Williams, 2014), pero también hay evidencia de que cepas pueden degradar hidrocarburos aromáticos policíclicos que pueden asociarse a las raíces de las plantas (Child, Miller, Liang, Narasimham, *et al.*, 2007; Child, Miller, Liang, Sims, *et al.*, 2007). Por último, *Alcaligenes* (1 aislado), se ha reportado que algunas cepas tienen actividad contra fitopatógenos cuando se asocian a la raíz de la planta (Kakar *et al.*, 2018), también degradación de metales pesados y promoción del crecimiento vegetal (Cavalca *et al.*, 2013).

Con la información previamente obtenida y una investigación más a fondo, se puede determinar el rol de cada cepa aislada en este estudio.

La microbiota de las suculentas, un tema para explorarse más profundamente

El estudio de la microbiota rizosférica en plantas suculentas y cactáceas ha cobrado interés en los últimos años debido a la capacidad de estos microorganismos de contribuir a la adaptación de las plantas a condiciones ambientales extremas (Jiang *et al.*, 2019; Ma *et al.*, 2019), como la escasez de agua y la baja disponibilidad de nutrientes. Por lo que, la exploración de la rizosfera de *Sedum rubrotinctum* resulta relevante, ya que aporta conocimiento sobre comunidades microbianas potencialmente útiles para aplicaciones biotecnológicas.

Una limitación importante de este trabajo es que el objetivo metagenómico quedó incompleto. Los métodos dependientes de cultivo capturaron solo una fracción cultivable de la microbiota. La metagenómica habría permitido acceso a una mayor diversidad microbiana incluyendo microorganismos no-cultivables (Ravin *et al.*, 2015). Este trabajo futuro es esencial para obtener una imagen más amplia de la diversidad microbiana rizosférica de *S. rubrotinctum*.

En la tabla 8, se muestran algunos microorganismos asociados a la rizósfera de especies de cactáceas y suculentas detectados en diversos trabajos de aislamiento y usando técnicas moleculares. Por ejemplo, géneros como *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Penicillium* son comúnmente descritos en la rizósfera de cactáceas donde se les atribuyen funciones de promoción del crecimiento vegetal, solubilización de fósforo y tolerancia a la sequía (Chávez-Ambriz *et al.*, 2016; Romero-Bastidas *et al.*, 2025; Shreshtha *et al.*, 2025). Esto sugiere que dichos microorganismos podrían representar componentes centrales del microbioma rizosférico de plantas adaptadas a ambientes áridos. La parcial caracterización de la microbiota rizosférica de *S. rubrotinctum* amplía el conocimiento sobre los microorganismos asociados a especies suculentas y su importancia.

Tabla 8. Investigaciones de aislamientos en cactáceas y suculentas.

Microorganismo	Planta usada para aislamiento	Referencia
<i>Bacillus</i> <i>Pseudomonas</i> .	<i>Aloe vera</i> (rizosfera)	(Thakur <i>et al.</i> , 2017)
<i>Pseudomonas</i> <i>Bacillus</i> <i>Priestia</i>	<i>Opuntia ficus-indica</i> (rizosfera)	(Shreshtha <i>et al.</i> , 2025)
<i>Penicillium</i> <i>Aspergillus</i>	<i>Pachycereus pringlei</i> (rizosfera)	(Romero-Bastidas <i>et al.</i> , 2025)
<i>Bacillus</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Stenotrophomonas</i> <i>Paenibacillus</i>	<i>Echinocactus platyacanthus</i> (rizosfera)	(Salinas Virgen <i>et al.</i> , 2020)
Taxones (Metagenómica)	Planta usada para muestreo	Referencia
<i>Proteobacteria</i> <i>Actinobacteria</i> <i>Bacteroidetes</i>	<i>Salicornia europaea</i> (rizosfera)	(Dragojević <i>et al.</i> , 2023)
<i>Actinobacteria</i> <i>Alphaproteobacteria</i> <i>Bacilli</i> <i>Acidobacteria</i> <i>Pleospolares</i> <i>Chaetothyriales</i> <i>Hypocreales</i>	<i>Myrtillocactus geometrizans</i> (rizosfera)	(Fonseca-García <i>et al.</i> , 2016)
<i>Actinobacteria</i> <i>Firmicutes</i> <i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Opuntia ficus-indica</i> (rizosfera)	(Karray <i>et al.</i> , 2020)

Se puede observar que es un tema que aún podría ser explorado con mayor profundidad. Aún hay muchas suculentas en las que se desconocen que microorganismos están asociados y tampoco se conoce su función al interactuar con las plantas.

CONCLUSIONES

En esta investigación se logró el aislamiento e identificación de microorganismos asociados a la rizosfera de *Sedum rubrotinctum* ubicada en un techo verde.

El uso de los siete medios de cultivo nos permitió aislar una diversidad microbiana amplia, abarcando distintos grupos de bacterias y hongos y no centrándonos en géneros particulares, por lo que se puede contribuir al conocimiento parcial de la microbiota asociada a la rizosfera. El medio V8, destacó, ya que de este se aislaron más microorganismos.

De los microorganismos secuenciados se obtuvieron 12 géneros fúngicos y 15 bacterianos. La mayoría de los géneros aislados ya se han reportado previamente en rizosfera de plantas y existe evidencia de que ciertos géneros son patógenos, sin embargo, gran parte, según la literatura citada, presentan actividad promotora del crecimiento vegetal, capacidad de tolerancia a estrés abiótico, degradación de compuestos tóxicos o con posible capacidad antagonista frente a fitopatógenos o plagas y por tanto podrían ser los ayudantes a su desarrollo y supervivencia en un techo verde, contribuyendo con el metabolismo ácido de las crasuláceas, sin embargo se debe profundizar el conocimiento mediante experimentación e investigación para determinar el rol verdadero de cada microorganismo en la rizosfera de *S. rubrotinctum*.

Además, los medios de cultivo sugieren que incluso en ambientes “artificiales”, como los techos verdes, puede establecerse una comunidad microbiana que podrían ser funcionales y contribuir al desarrollo y adaptación de la planta a condiciones limitantes como lo es baja disponibilidad de agua, altas temperaturas y limitación de nutrientes. Por otra parte, este trabajo es relevante para el conocimiento de las comunidades microbianas rizosféricas, debido a que la rizosfera de suculentas ha sido poco explorada.

Este estudio caracterizó parcialmente la microbiota cultivable. El análisis metagenómico planeado para conocer más diversidad de la comunidad rizosférica completa quedó en proceso y requiere ser completado en investigaciones futuras.

PERSPECTIVAS

El conocimiento de estos microorganismos abre el panorama sobre el rol de la microbiota en la salud y resistencia de *S. rubroinctum*. Además, pueden servir como base para futuros trabajos donde se busquen inoculantes que promuevan el crecimiento vegetal o para la biorremediación de suelos agrícolas y para la planta explorada. Es importante validar identidades mediante secuenciación multigénica o taxonomía polifásica.

Futuras investigaciones podrían enfocarse en evaluar las funciones específicas de las cepas obtenidas, como su potencial en la promoción del crecimiento vegetal, su papel en degradación de sustancias tóxicas, biocontrol de patógenos, su comportamiento frente a condiciones adversas como: desecación, altas temperaturas, salinidad, entre otras.

Completar el estudio metagenómico para conocer más ampliamente la diversidad microbiana rizosférica de la planta, será útil para comprender la dinámica y funciones de las bacterias y hongos con la planta.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre-Garrido, J. F., Montiel-Lugo, D., Hernández-Rodríguez, C., Torres-Cortes, G., Millán, V., Toro, N., Martínez-Abarca, F., & Ramírez-Saad, H. C. (2012). Bacterial community structure in the rhizosphere of three cactus species from semi-arid highlands in central Mexico. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 101(4), 891–904. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9705-3>
- Akram, H., Hussain, S., & Butt, T. E. (2023). Impacts of Different Sources of Carbonates on Growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in Different Growth Media. *Advances in Environmental and Engineering Research*, 04(04), 1–22. <https://doi.org/10.21926/aeer.2304049>
- Álvarez López, C. L., Osorio Vega, N. W., & Marín Montoya, M. (2013). Molecular Identification of Microorganisms Associated to the Rhizosphere of Vanilla Plants in Colombia. *Acta Biol. Colomb*, 18(2), 293–306. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi>
- Aly, A. H., Edrada-Ebel, R. A., Wray, V., Müller, W. E. G., Kozytska, S., Hentschel, U., Proksch, P., & Ebel, R. (2008). Bioactive metabolites from the endophytic fungus *Ampelomyces* sp. isolated from the medicinal plant *Urospermum picroides*. *Phytochemistry*, 69(8), 1716–1725. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2008.02.013>
- Amina, M., & Lotfi, G. (2024). An Overview of Extremophile: Microbial Diversity, Adaptive Strategies, and Potential Applications. In *Microbiology and Biotechnology Letters* (Vol. 52, Issue 3, pp. 233–254). Korean Society for Microbiolog and Biotechnology. <https://doi.org/10.48022/mbi.2406.06007>
- Argumedo-Delira, R., Gómez-Martínez, M. J., & Mora-Delgado, J. (2022). Plant growth promoting filamentous fungi and their application in the fertilization of pastures for animal consumption. *Agronomy*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/agronomy12123033>
- Ashraf, S., & Zuhaib, M. (2013). Fungal biodiversity: A potential tool in plant disease management. In A. Malik, E. Grohmann, & M. Alves (Eds.), *Management of Microbial Resources in the Environment* (pp. 69–90). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5931-2_4
- Asim, S., Hussain, A., Murad, W., Hamayun, M., Iqbal, A., Rehman, H., Tawab, A., Irshad, M., Alataway, A., Dewidar, A. Z., Elansary, H. O., & Lee, I.-J. (2022). Endophytic *Fusarium oxysporum* GW controlling weed and an effective biostimulant for wheat growth. *Frontiers in Plant Science, Volume 13-2022*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.922343>
- Babalola, O. O., & Adedayo, A. A. (2023). Endosphere microbial communities and plant nutrient acquisition toward sustainable agriculture. *Emerging Topics in Life Sciences*, 7(2), 207–217. <https://doi.org/10.1042/ETLS20230069>
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. In *Annual Review of Plant Biology* (Vol. 57, pp. 233–266). <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159>

- Baker, G. C., Smith, J. J., & Cowan, D. A. (2003). Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *Journal of Microbiological Methods*, 55(3), 541–555. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mimet.2003.08.009>
- Bandara, A. Y., & Kang, S. (2024). Trichoderma application methods differentially affect the tomato growth, rhizomicrobiome, and rhizosphere soil suppressiveness against *Fusarium oxysporum*. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1366690>
- Baron, N. C., Souza Pollo, A. de, & Rigobelo, E. C. (2020). *Purpureocillium lilacinum* and *Metarhizium marquandii* as plant growth-promoting fungi. *PeerJ*, 8, e9005. <https://doi.org/10.7717/peerj.9005>
- Bates, K. A., & King, K. C. (2021). *Leucobacter*. *Trends in Microbiology*, 29(11), 1046–1047. <https://doi.org/10.1016/J.TIM.2021.06.010>
- Beckers, B., Op De Beeck, M., Weyens, N., Boerjan, W., & Vangronsveld, J. (2017). Structural variability and niche differentiation in the rhizosphere and endosphere bacterial microbiome of field-grown poplar trees. *Microbiome*, 5(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0241-2>
- Behrendt, U., Schumann, P., & Ulrich, A. (2008). *Agrococcus versicolor* sp. nov., an actinobacterium associated with the phyllosphere of potato plants. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(12), 2833–2838. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.2008/001610-0>
- Beraldi-Campesi, H. (2014). *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana Volumen 66* (Issue 1). <http://www.ecologicalprocesses.com/series/BSC>
- Berardi, U., GhaffarianHoseini, A. H., & GhaffarianHoseini, A. (2014). State-of-the-art analysis of the environmental benefits of green roofs. *Applied Energy*, 115, 411–428. <https://doi.org/10.1016/J.APENERGY.2013.10.047>
- Beye, M., Fahsi, N., Raoult, D., & Fournier, P. E. (2018). Careful use of 16S rRNA gene sequence similarity values for the identification of *Mycobacterium* species. *New Microbes and New Infections*, 22, 24–29. <https://doi.org/10.1016/J.NMNI.2017.12.009>
- Bhargavi, G., Arya, M., Jambhulkar, P. P., Singh, A., Rout, A. K., Behera, B. K., Chaturvedi, S. K., & Singh, A. K. (2024). Evaluation of biocontrol efficacy of rhizosphere dwelling bacteria for management of *Fusarium* wilt and *Botrytis* gray mold of chickpea. *BMC Genomic Data*, 25(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s12863-023-01178-7>
- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., van Themaat, E. V. L., & Schulze-Lefert, P. (2013). Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology*, 64(Volume 64, 2013), 807–838. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120106>
- Calvo Vélez, P., Reymundo Meneses, L., & Zúñiga Dávila, D. (2008). A study of potato (*Solanum tuberosum*) crop rhizosphere microbial population in highland zones. *Ecología Aplicada*, 7(1).

- Campbell Soup Company. (n.d.). *Original 100% vegetable juice*. Nutrition Facts. Retrieved November 26, 2025, from <https://www.campbells.com/v8/products/v8-vegetable-juice/original-100-vegetable-juice/>
- Cappelletti, M., Presentato, A., Piacenza, E., Firrincieli, A., Turner, R. J., & Zannoni, D. (2020). Biotechnology of *Rhodococcus* for the production of valuable compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *104*(20), 8567–8594. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10861-z>
- Caro-Quintero, A., González, C., Balbín-Suárez, A., Wisniewski, M., Berg, G., Smalla, K., & Cotes, A. M. (2018). *Capítulo 4 Estudios del microbioma y su aplicación en el control biológico de fitopatógenos*.
- Cavalca, L., Corsini, A., Bachate, S. P., & Andreoni, V. (2013). Rhizosphere colonization and arsenic translocation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by arsenate reducing *Alcaligenes* sp. strain Dhal-L. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *29*(10), 1931–1940. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1359-4>
- Chapelle, E., Mendes, R., Bakker, P. A. H. M., & Raaijmakers, J. M. (2016). Fungal invasion of the rhizosphere microbiome. *The ISME Journal*, *10*(1), 265–268. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.82>
- Chater, K. F. (2016). Recent advances in understanding *Streptomyces*. *F1000Research*, *5*(2795). <https://doi.org/10.12688/f1000research.9534.1>
- Chávez-Ambríz, 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>
- Chen, C., Zhang, H., Liang, X., Li, M., & Gu, Y. (2025). Response of rhizosphere microenvironment of Mulberry (*Morus alba* L.) to different cultivars. *Microorganisms*, *13*(9). <https://doi.org/10.3390/microorganisms13092157>
- Chialva, M., Lanfranco, L., & Bonfante, P. (2022). The plant microbiota: composition, functions, and engineering. *Current Opinion in Biotechnology*, *73*, 135–142. <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2021.07.003>
- Child, R., Miller, C. D., Liang, Y., Narasimham, G., Chatterton, J., Harrison, P., Sims, R. C., Britt, D., & Anderson, A. J. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading *Mycobacterium* isolates: their association with plant roots. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *75*(3), 655–663. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-0840-0>
- Child, R., Miller, C. D., Liang, Y., Sims, R. C., & Anderson, A. J. (2007). Pyrene imneralization by *Mycobacterium* sp. strain KMS in a barley rhizosphere. *Journal of Environmental Quality*, *36*(5), 1260–1265. <https://doi.org/https://doi.org/10.2134/jeq2007.0008>
- Choudhary, D. K., Prakash, A., & Johri, B N. (2007). Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. In *Indian J. Microbiol* (Vol. 47).
- Collazo-Ortega, M., Rosas, U., & Reyes-Santiago, J. (2017). Towards Providing Solutions to the Air Quality Crisis in the Mexico City Metropolitan Area: Carbon Sequestration by Succulent

- Compant, S., Cambon, M. C., Vacher, C., Mitter, B., Samad, A., & Sessitsch, A. (2021). The plant endosphere world – bacterial life within plants. *Environmental Microbiology*, 23(4), 1812–1829. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1462-2920.15240>
- Cordero Elvia, J., de Freitas, J. R., & Germida, J. J. (2021). Bacterial Microbiomes Associated with the Rhizosphere, Root Interior, and Aboveground Plant Organs of Wheat and Canola at Different Growth Stages. *Phytobiomes Journal*, 5(4), 442–451. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-10-20-0073-R>
- Costa-Gutierrez, S. B., Lami, M. J., Santo, M. C. C. Di, Zenoff, A. M., Vincent, P. A., Molina-Henares, M. A., Espinosa-Urgel, M., & de Cristóbal, R. E. (2020). Plant growth promotion by *Pseudomonas putida* KT2440 under saline stress: role of *eptA*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(10), 4577–4592. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10516-z>
- Criollo, P. J., Obando, M., Sanchez M, L., & Bonilla, R. (2012). Efecto de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) asociadas a *Pennisetum clandestinum* en el altiplano cundiboyacense. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 13, 189–195.
- Danh Duc, H., Thi Thanh Thuy, H., Thanh Hung, N., Ngoc Chau, T., Thi Cam Tu, T., & Huynh Hong Vu, H. (2024). *Effects of nutrients and environmental conditions on thiobencarb degradation by a mixed culture of Pseudomonas sp. TH1 and Cupriavidus oxalaticus Th2*.
- de Sousa Leandro, P., Guerreiro-Filho, O., & Costa Mondego, J. M. (2022). The rhizosphere microbiomes of five species of coffee trees. *Microbiology Spectrum*, 10(2), e00444-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00444-22>
- Debode, J., De Tender, C., Soltaninejad, S., Van Malderghem, C., Haegeman, A., Van der Linden, I., Cottyn, B., Heyndrickx, M., & Maes, M. (2016). Chitin mixed in potting soil alters lettuce growth, the survival of zoonotic bacteria on the leaves and associated rhizosphere microbiology. *Frontiers in Microbiology*, Volume 7-2016. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2016.00565>
- Delaux, P.-M., & Schornack, S. (2021). Plant evolution driven by interactions with symbiotic and pathogenic microbes. *Science*, 371(6531). <https://doi.org/10.1126/science.aba6605>
- Deng, Y., Xiao, W., Xiong, Z., Sha, A., Luo, Y., Chen, X., & Li, Q. (2024). Assembly Mechanism of Rhizosphere Fungi in Plant Restoration in Lead Zinc Mining Areas. *Genes*, 15(11). <https://doi.org/10.3390/genes15111398>
- Donachie, S. P., Foster, J. S., & Brown, M. V. (2007). Culture clash: Challenging the dogma of microbial diversity. In *ISME Journal* (Vol. 1, Issue 2, pp. 97–99). <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.22>
- Dragojević, M., Stankovic, N., Djokic, L., Raičević, V., & Jovičić-Petrović, J. (2023). Endorhizosphere of indigenous succulent halophytes: a valuable resource of plant growth promoting bacteria. *Environmental Microbiome*, 18(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s40793-023-00477-x>

- Durán, P. (2024). The core microbiota across the green lineage. In *Current Opinion in Plant Biology* (Vol. 77). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2023.102487>
- Eberly, J. O., Hurd, A., Oli, D., Dyer, A. T., Seipel, T. F., & Carr, P. M. (2024). Compositional profiling of the rhizosphere microbiome of Canada thistle reveals consistent patterns across the United States northern Great Plains. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-69082-3>
- EPA. (2025, April 2). *Using Green Roofs to Reduce Heat Islands*. U.S. Environmental Protection Agency. <https://www.epa.gov/heatislands/using-green-roofs-reduce-heat-islands>
- Fang, K., Miao, Y.-F., Chen, L., Zhou, J., Yang, Z.-P., Dong, X.-F., & Zhang, H.-B. (2019). Tissue-Specific and Geographical Variation in Endophytic Fungi of *Ageratina adenophora* and Fungal Associations With the Environment. *Frontiers in Microbiology*, Volume 10-2019. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2019.02919>
- Fonseca-García, C., Coleman-Derr, D., Garrido, E., Visel, A., Tringe, S. G., & Partida-Martínez, L. P. (2016). The cacti microbiome: Interplay between habitat-filtering and host-specificity. *Frontiers in Microbiology*, Volume 7-2016. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2016.00150>
- Fulthorpe, R., MacIvor, J. S., Jia, P., & Yasui, S.-L. E. (2018). The green roof microbiome: Improving plant survival for ecosystem service delivery. *Frontiers in Ecology and Evolution*, Volume 6. <https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00005>
- Garibaldi, A., Bertetti, D., Ortu, G., & Gullino, M. L. (2016). First report of volutella blight caused by *pseudonectria buxi* on Japanese Boxwood (*Buxus microphylla*) in Italy. *Plant Disease*, 100(7), 1499. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-15-1027-PDN>
- Getter, K. L., & Rowe, D. B. (2006). The Role of Extensive Green Roofs in Sustainable Development. In *HORTSCIENCE* (Vol. 41, Issue 5). <https://journals.ashs.org>
- Goemann, H. M., Ulrich, D. E. M., Peyton, B. M., Gallegos-Graves, L. V., & Mueller, R. C. (2024). Severe and mild drought cause distinct phylogenetically linked shifts in the blue grama (*Bouteloua gracilis*) rhizobiome. *Frontiers in Microbiomes*, Volume 2-2023. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiomes/articles/10.3389/frmbi.2023.1310790>
- Gómez Garzón, M., León Enciso, J., & Alberto Rodríguez Rodríguez, C. (2018). Production of fungi slides for teaching. In *Hechos Microbiol* (Vol. 9, Issue 2). <http://www.udea.edu.co/hm>
- González-Mendoza, D., Argumedo-Delira, R., Morales-Trejo, A., Pulido-Herrera, A., Cervantes-Díaz, L., Grimaldo-Juarez, O., & Alarcón, A. (2010). A rapid method for isolation of total DNA from pathogenic filamentous plant fungi. *Genetics and Molecular Research*, 9(1), 162–166.
- Grady, E. N., MacDonald, J., Liu, L., Richman, A., & Yuan, Z. C. (2016). Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: A review. In *Microbial Cell Factories* (Vol. 15, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0603-7>
- Green, M. R., & Sambrook, Joseph. (2012). *Molecular cloning: a laboratory manual* (4th ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- Guardiola-Márquez, C. E., Santos-Ramírez, M. T., Figueroa-Montes, M. L., Valencia-de los Cobos, E. O., Stamatis-Félix, I. J., Navarro-López, D. E., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2023). Identification and Characterization of Beneficial Soil Microbial Strains for the Formulation of Biofertilizers Based on Native Plant Growth-Promoting Microorganisms Isolated from Northern Mexico. *Plants*, 12(18). <https://doi.org/10.3390/plants12183262>
- Guindon, S., & Gascuel, O. (2003). A Simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, 52(5), 696–704. <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>
- Gujar, P. D., Bhavsar, K. P., & Khire, J. M. (2013). Effect of phytase from *Aspergillus niger* on plant growth and mineral assimilation in wheat (*Triticum aestivum* Linn.) and its potential for use as a soil amendment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(9), 2242–2247. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsfa.6032>
- Guo, J., Dou, W., Liu, Z., Sun, J., Xu, D., Yang, Q., Lv, G., & Wang, D. (2023). Long-Term Heavy Metal Pollution Induces Complex Differences in Farmland Topsoil and Rhizosphere Microbial Communities. *Sustainability (Switzerland)*, 15(24). <https://doi.org/10.3390/su152416598>
- Guo, L. Y., & Ko, W. H. (1993). Two Widely Accessible Media for Growth and Reproduction of *Phytophthora* and *Pythium* Species. In *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* (Vol. 59, Issue 7).
- Guo-Hong, L., Narsing Rao, M. P., Ding-Qi, L., Tang, R., Qian-Qian, C., Shi, H., Liu, B., Wen-Jun, L., & Zhou, S.-G. (2023). *Cytobacillus citreus* sp. nov., isolated from citrus rhizosphere soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 73(3), 005753. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005753>
- Gurikar, C., Gowda, N. A. N., Hanumantharaju, K. N., & Netravati, B. P. (2022). Role of *Bacillus* species in soil fertility with reference to rhizosphere engineering. *Rhizosphere Engineering*, 65–76. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89973-4.00002-8>
- Hackmann, T. J. (2025). Setting new boundaries of 16S rRNA gene identity for prokaryotic taxonomy. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 75(4), 006747. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.006747>
- Hao, L., Zhang, Z., Hao, B., Diao, F., Zhang, J., Bao, Z., & Guo, W. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi alter microbiome structure of rhizosphere soil to enhance maize tolerance to La. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 212, 111996. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2021.111996>
- Hardoim, P. R., Hardoim, C. C. P., van Overbeek, L. S., & van Elsas, J. D. (2012). Dynamics of seed-borne rice endophytes on early plant growth stages. *PLoS ONE*, 7(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030438>
- Hartmann, A., Schmid, M., Tuinen, D. van, & Berg, G. (2009). Plant-driven selection of microbes. *Plant and Soil*, 321(1), 235–257. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9814-y>
- Hawkins, J. P., & Oresnik, I. J. (2022). The Rhizobium-Legume Symbiosis: Co-opting Successful Stress Management. *Frontiers in Plant Science, Volume 12-2021*. <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2021.796045>

- Hawksworth, D. L., & Lücking, R. (2017). Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiology Spectrum*, 5(4), 10.1128/microbiolspec.funk-0052–2016. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0052-2016>
- Hernández-Gómez, L. M., Salgado-García, S., Gómez-Leyva, J. F., Córdova-Sánchez, S., Ramírez-May, A. G., Aranda-Ibañez, E. M., & Ortiz-García, C. F. (2020). Diagnóstico sobre las bacterias rizosféricas asociadas al cultivo de caña de azúcar (*Saccharum* spp.). *Agro Productividad*, 13(4). <https://doi.org/10.32854/agrop.vi.1592>
- Herrera, R., Chong, M. de Von, Artola, A., Tuñón, J., Cruz, A., Camargo, V., González, F., & Mejía, F. (2023). Caracterización de microorganismos benéficos para el control biológico de patógenos de arroz. *Ciencia Agropecuaria*, 37, 35–61. <http://www.revistacienciaagropecuaria.ac.pa/index.php/ciencia-agropecuaria/article/view/615>
- Hinsu, A., Dumadiya, A., Joshi, A., Kotadiya, R., Andharia, K., Koringa, P., & Kothari, R. (2021). To culture or not to culture: a snapshot of culture-dependent and culture-independent bacterial diversity from peanut rhizosphere. *PeerJ*, 9. <https://doi.org/10.7717/peerj.12035>
- Höfte, M., & De Vos, P. (2006). Plant pathogenic *Pseudomonas* species. In S. S. Gnanamanickam (Ed.), *Plant-Associated Bacteria* (pp. 507–533). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4538-7_14
- Hurtado-Bautista, E., Pérez Sánchez, L. F., Islas-Robles, A., Santoyo, G., & Olmedo-Alvarez, G. (2021). Phenotypic plasticity and evolution of thermal tolerance in bacteria from temperate and hot spring environments. *PeerJ*, 9. <https://doi.org/10.7717/peerj.11734>
- Hussain, I., Irshad, M., Hussain, A., Qadir, M., Mehmood, A., Rahman, M., Alrefaei, A. F., Almutairi, M. H., Ali, S., & Hamayun, M. (2024). Phosphate solubilizing *Aspergillus Niger* PH1 ameliorates growth and alleviates lead stress in maize through improved photosynthetic and antioxidant response. *BMC Plant Biology*, 24(1), 642. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05361-5>
- Ikeda-Ohtsubo, W., Brugman, S., Warden, C. H., Rebel, J. M. J., Folkerts, G., & Pieterse, C. M. J. (2018). How Can We Define “Optimal Microbiota?”: A Comparative Review of Structure and Functions of Microbiota of Animals, Fish, and Plants in Agriculture. In *Frontiers in Nutrition* (Vol. 5). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00090>
- Jayakumar, A., Krishna, A., Nair, I. C., & Radhakrishnan, E. K. (2020). Drought-tolerant and plant growth-promoting endophytic *Staphylococcus* sp. having synergistic effect with silicate supplementation. *Archives of Microbiology*, 202(7), 1899–1906. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01911-1>
- Jeong, Y. S., Lim, S. K., Nam, S. W., Ten, L. N., Lee, S. Y., & Jung, H. Y. (2025). *Scytalidium terrigenum* sp. nov., a New Species Isolated from Soil in Korea. *Mycobiology*, 53(3), 295–304. <https://doi.org/10.1080/12298093.2025.2479241>
- Jerezano, A. V., & Pazos, D. del C. (2016). Some traditional medicinal plants of north region from Puebla, Mexico: Uses and potential pharmacological activity of *Rumex* spp. *Natural Products Chemistry & Research*, 04(04). <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000223>

- Jia, R., Chen, J., Hu, L., Liu, X., Xiao, K., & Wang, Y. (2022). *Alcaligenes faecalis* Juj3 alleviates *Plasmodiophora brassicae* stress to cabbage via promoting growth and inducing resistance. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, Volume 6-2022. <https://www.frontiersin.org/journals/sustainable-food-systems/articles/10.3389/fsufs.2022.942409>
- Jiang, H., Qi, P., Wang, T., Chi, X., Wang, M., Chen, M., Chen, N., & Pan, L. (2019). Role of halotolerant phosphate-solubilising bacteria on growth promotion of peanut (*Arachis hypogaea*) under saline soil. *Annals of Applied Biology*, 174(1), 20–30. <https://doi.org/10.1111/aab.12473>
- Kakar, K. U., Nawaz, Z., Cui, Z., Almoneafy, A. A., Ullah, R., & Shu, Q. -Y. (2018). Rhizosphere-associated *Alcaligenes* and *Bacillus* strains that induce resistance against blast and sheath blight diseases, enhance plant growth and improve mineral content in rice. *Journal of Applied Microbiology*, 124(3), 779–796. <https://doi.org/10.1111/jam.13678>
- Kämpfer, P., & Busse, H. (2015). *Agrococcus*. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (pp. 1–11). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00092>
- Karray, F., Gargouri, M., Chebaane, A., Mhiri, N., Mliki, A., & Sayadi, S. (2020). Climatic aridity gradient modulates the diversity of the rhizosphere and endosphere bacterial microbiomes of *Opuntia ficus-indica*. *Frontiers in Microbiology*, Volume 11-2020. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2020.01622>
- Khan, F. M., Inamul H, Nimatullah, Tariq S, Muhammad F, Ohia C, & Tauseef A. (2018). Isolation, Characterisation and Identification of Plant Growth Promoting Rhizobacteria from Cauliflower (*Brassica oleracea*) HHS Public Access. In *Arch Basic Appl Med* (Vol. 6, Issue 1).
- Khan, M. S., Gao, J., Munir, I., Zhang, M., Liu, Y., Moe, T. S., Xue, J., & Zhang, X. (2021). Characterization of Endophytic Fungi, *Acremonium* sp., from *Lilium davidii* and Analysis of Its Antifungal and Plant Growth-Promoting Effects. *BioMed Research International*, 2021(1), 9930210. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2021/9930210>
- Kim, J., Cui, Y., Nam, K.-H., Lee, J.-W., Kim, J.-G., & Chun, S.-J. (2025a). Microbial generalists as keystone species: constructing core network modules in the anthosphere of twelve diverse wild plant species. *Environmental Microbiome*, 20(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s40793-025-00666-w>
- Kim, J., Cui, Y., Nam, K.-H., Lee, J.-W., Kim, J.-G., & Chun, S.-J. (2025b). Microbial generalists as keystone species: constructing core network modules in the anthosphere of twelve diverse wild plant species. *Environmental Microbiome*, 20(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s40793-025-00666-w>
- Kim, S., Asano, T., Naito, H., Hamada, M., Weon, H.-Y., Kwon, S.-W., & Heo, J. (2023). *Leucobacter allii* sp. nov. and *Leucobacter rhizosphaerae* sp. nov., isolated from rhizospheres of onion and garlic, respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 73(5), 005883. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005883>
- Kiss, L. (2008). Chapter 3 Intracellular mycoparasites in action: Interactions between powdery mildew fungi and *Ampelomyces*. In S. V Avery, M. Stratford, & P. Van West (Eds.), *British*

Mycological Society Symposia Series (Vol. 27, pp. 37–52). Academic Press.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0275-0287\(08\)80045-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0275-0287(08)80045-8)

- Kouo-N’Golo, S., Seydou, T., Boni Clovis, K. N., Elloh Patrice, K. A., & Atta Hortense, D. (2024). Identification of growing media favorable for the growth of *Pythium aphanidermatum*, a telluric pathogen of papaya (*Carica papaya* L.) in Côte d’Ivoire. *Journal of Advances in Microbiology*, 24(7), 1–10.
- Kowalski, K. P., Bacon, C., Bickford, W., Braun, H., Clay, K., Leduc-Lapierre, M., Lillard, E., McCormick, M. K., Nelson, E., Torres, M., White, J., & Wilcox, D. A. (2015). Advancing the science of microbial symbiosis to support invasive species management: A case study on Phragmites in the Great Lakes. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 6, Issue FEB). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00095>
- Kulasooriya, S. (2012). Cyanobacteria: Pioneers of Planet Earth. *Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)*, 40(2), 71–88. <https://doi.org/10.4038/cjsbs.v40i2.3925>
- Kulkova, I., Wróbel, B., & Dobrzyński, J. (2024). *Serratia* spp. as plant growth-promoting bacteria alleviating salinity, drought, and nutrient imbalance stresses. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 15). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1342331>
- Kumar, A., Zhimo, Y., Biasi, A., Salim, S., Feygenberg, O., Wisniewski, M., & Droby, S. (2021). Endophytic Microbiome in the Carposphere and Its Importance in Fruit Physiology and Pathology. In D. Spadaro, S. Droby, & M. L. Gullino (Eds.), *Postharvest Pathology: Next Generation Solutions to Reducing Losses and Enhancing Safety* (pp. 73–88). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-56530-5_5
- Lambers, H., Mougél, C., Jaillard, B., & Hinsinger, P. (2009). Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: an evolutionary perspective. *Plant and Soil*, 321(1), 83–115. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0042-x>
- Langvad, F. (1980). A simple and rapid method for qualitative and quantitative study of the fungal flora of leaves. *Canadian Journal of Microbiology*, 26(6), 666–670. <https://doi.org/10.1139/m80-116>
- Lebeis, S. L. (2014). The potential for give and take in plant-microbiome relationships. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 5, Issue JUN). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00287>
- Leck, A. (1999). Preparation of Lactophenol Cotton Blue Slide Mounts. In *Community Eye Health* (Vol. 12).
- Lee, C.-W., Ng, A. Y.-F., Narayanan, K., Sim, E. U.-H., & Ng, C.-C. (2009). Aislamiento y caracterización de bacterias cultivables de aguas costeras tropicales. *Ciencias Marinas*, 35, 153–167.
- Li, D., Chen, W., Luo, W., Zhang, H., Liu, Y., Shu, D., & Wei, G. (2025a). Seed microbiomes promote *Astragalus mongholicus* seed germination through pathogen suppression and cellulose degradation. *Microbiome*, 13(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s40168-024-02014-5>

- Li, D., Chen, W., Luo, W., Zhang, H., Liu, Y., Shu, D., & Wei, G. (2025b). Seed microbiomes promote *Astragalus mongholicus* seed germination through pathogen suppression and cellulose degradation. *Microbiome*, *13*(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s40168-024-02014-5>
- Li, E., de Jonge, R., Liu, C., Jiang, H., Friman, V.-P., Pieterse, C. M. J., Bakker, P. A. H. M., & Jousset, A. (2021). Rapid evolution of bacterial mutualism in the plant rhizosphere. *Nature Communications*, *12*(1), 3829. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24005-y>
- Li, W., Long, Y., Mo, F., Shu, R., Yin, X., Wu, X., Zhang, R., Zhang, Z., He, L., Chen, T., & Chen, J. (2021). Antifungal activity and biocontrol mechanism of *fusicolla violacea* j-1 against soft rot in kiwifruit caused by *alternaria alternata*. *Journal of Fungi*, *7*(11). <https://doi.org/10.3390/jof7110937>
- Liu, J., Pan, D., Wu, X., Chen, H., Cao, H., Li, Q. X., & Hua, R. (2018). Enhanced degradation of prometryn and other s-triazine herbicides in pure cultures and wastewater by polyvinyl alcohol-sodium alginate immobilized *Leucobacter* sp. JW-1. *Science of The Total Environment*, *615*, 78–86. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2017.09.208>
- Liu, J., Zeng, D., Huang, Y., Zhong, L., Liao, J., Shi, Y., Jiang, H., Luo, Y., Liang, Y., & Chai, S. (2024). The structure and diversity of bacteria and fungi in the roots and rhizosphere soil of three different species of *Geodorum*. *BMC Genomics*, *25*(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10143-2>
- Liu, X., Jiang, X., He, X., Zhao, W., Cao, Y., Guo, T., Li, T., Ni, H., & Tang, X. (2019). Phosphate-Solubilizing *Pseudomonas* sp. Strain P34-L Promotes Wheat Growth by Colonizing the Wheat Rhizosphere and Improving the Wheat Root System and Soil Phosphorus Nutritional Status. *Journal of Plant Growth Regulation*, *38*(4), 1314–1324. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09935-8>
- Liu, Y., Shi, A., Chen, Y., Xu, Z., Liu, Y., Yao, Y., Wang, Y., & Jia, B. (2025). Beneficial microorganisms: Regulating growth and defense for plant welfare. *Plant Biotechnology Journal*, *23*(3), 986–998. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/pbi.14554>
- López Pérez, A. A. (2024). *Diversidad cultivable de micromicetes Zinc-tolerantes en desechos mineros de Taxco, Guerrero*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- López, V. L., Cruz Hernández, M., Fernández Dávila, S., & Mendoza Herrera, A. (2015). Diversidad bacteriana en raíces de maíz híbrido convencional y genéticamente modificado. *Journal of Experimental Botany*, *899*, 233–243.
- Luna Olvera, A., Espino Armendáriz, M., Luna Martínez, L., & Pacheco Aguilar, J. R. (2012). Caracterización de suelos en una localidad tipo que alberga cactáceas priotarias para su conservación. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *672–678*.
- Lüttge, U. (2004). Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). *Annals of Botany*, *93*(6), 629–652. <https://doi.org/10.1093/aob/mch087>
- Ma, Y., Vosátka, M., & Freitas, H. (2019). Editorial: Beneficial Microbes Alleviate Climatic Stresses in Plants. *Frontiers in Plant Science*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00595>

- Mambuscay, L. A., López, W. A., Cuervo, R. A., Argote, F., & Osorio, E. (2013). Identificación de las levaduras nativas presentes en zumos de piña, mora y uva. *Bioteología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 2, 136–144.
- Martínez, O. A., Encina, C., Tomckowiack, C., Droppelmann, F., Jara, R., Maldonado, C., Muñoz, O., García-Fraile, P., & Rivas, R. (2018). Serratia strains isolated from the rhizosphere of raulí (*Nothofagus alpina*) in volcanic soils harbour PGPR mechanisms and promote raulí plantlet growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 18(3), 804–819.
- Martinez-Porchas, M., Villalpando-Canchola, E., Ortiz Suarez, L. E., & Vargas-Albores, F. (2017). How conserved are the conserved 16S-rRNA regions? *PeerJ*, 5, e3036. <https://doi.org/10.7717/peerj.3036>
- Mathur, S., Tomar, R. S., & Jajoo, A. (2019). Arbuscular Mycorrhizal fungi (AMF) protects photosynthetic apparatus of wheat under drought stress. *Photosynthesis Research*, 139(1), 227–238. <https://doi.org/10.1007/s11120-018-0538-4>
- Matilla, M. A., Ramos, J. L., Bakker, P. A. H. M., Doornbos, R., Badri, D. V, Vivanco, J. M., & Ramos-González, M. I. (2010). Pseudomonas putida KT2440 causes induced systemic resistance and changes in Arabidopsis root exudation. *Environmental Microbiology Reports*, 2(3), 381–388. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00091.x>
- Mattei, E. (2013). *La Enciclopedia de Suculentas*. Sedum x Rubrotinctum. https://lilife.com/Encyclopedia/SUCCULENTS/Family/Crassulaceae/27216/Sedum_x_rubrotinctum
- McGovern, R. J. (2015). Management of tomato diseases caused by Fusarium oxysporum. *Crop Protection*, 73, 78–92. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2015.02.021>
- Mendes, R., Kruijt, M., de Bruijn, I., Dekkers, E., van der Voort, M., Schneider, J. H. M., Piceno, Y. M., DeSantis, T. Z., Andersen, G. L., Bakker, P. A. H. M., & Raaijmakers, J. M. (2011). Deciphering the Rhizosphere Microbiome for Disease-Suppressive Bacteria. *Science*, 332(6033), 1097–1100. <https://doi.org/10.1126/science.1203980>
- Mendoza, N., Arora, A., Arias, C. A., Hernandez, C. A., Madkam, V., & Tying, S. K. (2009). Cutaneous and subcutaneous mycoses. *Clinical Mycology with CD-ROM*, 509–523. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-5680-5.00024-4>
- Mesny, F., Hacquard, S., & Thomma, B. P. H. J. (2023). Co-evolution within the plant holobiont drives host performance. *EMBO Reports*, 24(9), e57455. <https://doi.org/https://doi.org/10.15252/embr.202357455>
- Molina-Romero, D., Morales-García, Y.-E., Hernández-Tenorio, A.-L., Castañeda-Lucio, M., Netzahuatl-Muñoz, A.-R., & Muñoz-Rojas, J. (2017). Pseudomonas putida estimula el crecimiento de maíz en función de la temperatura. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 4(1). www.reibci.org
- Monterusso, M. A., Rowe, D. B., & Rugh, C. L. (2005). Establishment and Persistence of Sedum spp. and Native Taxa for Green Roof Applications. In *HORTSCIENCE* (Vol. 40, Issue 2).

- Morales-García, Y. E., De, J., Zúñiga, T., Pérez, R., & Terrón, Y. (2013). Aspectos críticos a considerar para el aislamiento de bacterias benéficas. *ResearchGate*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5525568>
- Morales-García, Y. E., Hernández-Canseco, J., Ramos-Castillo, G., Pérez-Y-Terrón, R., & Muñoz-Rojas, J. (2016). Cuantificación de *Penicillium* sp. por el método de goteo en placa. *ReIBCi*, 3(2), 12–19. www.reibci.org
- Morales-García, Y. E., Juárez-Hernández, D., Hernández-Tenorio, A. L., Muñoz-Morales, J. M., Baez, A., & Muñoz-Rojas, J. (2020). Inoculante de segunda generación para incrementar el crecimiento y salud de plantas de jardín. *ALIANZAS y Tendencias BUAP*, 5, 136–154. <https://doi.org/10.11235/BUAP.05.20.06>
- Morales-García, Y. E., Rodríguez-Andrade, O., De, J., Zúñiga, T., & Contreras, R. D. M. (2010). Bacterias Preservadas, una Fuente Importante de Recursos Biotecnológicos. *BioTecnología*, 14, 11–29. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5525288>
- Morales-García, Y. E., Rodríguez-Andrade, O., Hernández-Tenorio, A., Juárez-Hernández, D., Castañeda-Antonio, D., Molina-Romero, D., & Muñoz-Rojas Jesús. (2012). *Caracterización molecular de cepas contenidas en un inoculante multiespecies*.
- Morales-García Yolanda Elizabeth, Reyes-Rodríguez Diana Paola, Mares Duran Oscar Horacio Alejandro, Mendoza-Rojas Erika, & Muñoz-Rojas Jesús. (2023). Microorganismos reportados en los microbiomas son claves para la salud de los hospederos. *AyTBUAP*, 8. <https://doi.org/http://doi.org/10.5281/zenodo.8396449>
- Muhorakeye, M. C., Namikoye, E. S., Khamis, F. M., Wanjohi, W., & Akutse, K. S. (2025). Effective homemade V8 juice formulation as alternative suitable medium for culturing *Phytophthora infestans*. *Discover Applied Sciences*, 7(10), 1163. <https://doi.org/10.1007/s42452-025-07495-z>
- Murali, M., Naziya, B., Ansari, M. A., Alomary, M. N., AlYahya, S., Almatroudi, A., Thriveni, M. C., Gowtham, H. G., Singh, S. B., Aiyaz, M., Kalegowda, N., Lakshmidevi, N., & Amruthesh, K. N. (2021). Bioprospecting of rhizosphere-resident fungi: Their role and importance in sustainable agriculture. *Journal of Fungi*, 7(4). <https://doi.org/10.3390/jof7040314>
- Nel, B., Steinberg, C., Labuschagne, N., & Viljoen, A. (2006). Isolation and characterization of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* isolates from the rhizosphere of healthy banana plants. *Plant Pathology*, 55(2), 207–216. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01343.x>
- Németh, M. Z., Seress, D., & Nonomura, T. (2023). Fungi Parasitizing Powdery Mildew Fungi: *Ampelomyces* Strains as Biocontrol Agents against Powdery Mildews. In *Agronomy* (Vol. 13, Issue 8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/agronomy13081991>
- Ning, M., Hao, W., Cao, C., Xie, X., Fan, W., Huang, H., Yue, Y., Tang, M., Wang, W., Gu, W., & Meng, Q. (2020). Toxicity of deltamethrin to *Eriocheir sinensis* and the isolation of a deltamethrin-degrading bacterium, *Paracoccus* sp. P-2. *Chemosphere*, 257, 127162. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.127162>

- Noman, M., Ahmed, T., Ijaz, U., Shahid, M., Azizullah, Li, D., Manzoor, I., & Song, F. (2021). Plant–microbiome crosstalk: Dawning from composition and assembly of microbial community to improvement of disease resilience in plants. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 13). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms22136852>
- Onufrak, A. J., Williams, G. M., Klingeman, W. E., Cregger, M. A., Klingeman, D. M., DeBruyn, J. M., Ginzal, M. D., & Hadziabdic, D. (2020). Regional Differences in the Structure of *Juglans nigra* Phytobiome Reflect Geographical Differences in Thousand Cankers Disease Severity. *Phytobiomes Journal*, 4(4), 388–404. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-05-20-0044-R>
- Ortiz, A., & Sansinenea, E. (2022). The Role of Beneficial Microorganisms in Soil Quality and Plant Health. In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 14, Issue 9). MDPI. <https://doi.org/10.3390/su14095358>
- Pacheco, C., Ferrer, E., & Herrera, F. (2019). Cloning of Plasmodium sequences for ITS use as controls in the molecular diagnosis. *IJASRE*, 31, 363–371. <https://doi.org/http://doi.org/10.31695/IJASRE.2020.33790>
- Pandey, A., & Palni, L. M. S. (1997). Bacillus species: The dominant bacteria of the rhizosphere of established tea bushes. *Microbiological Research*, 152(4), 359–365. [https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(97\)80052-3](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(97)80052-3)
- Papin, M., Philippot, L., Breuil, M. C., Bru, D., Dreux-Zigha, A., Mounier, A., Le Roux, X., Rouard, N., & Spor, A. (2024). Survival of a microbial inoculant in soil after recurrent inoculations. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54069-x>
- Papin, M., Polrot, A., Breuil, M.-C., Czarnes, S., Dreux-Zigha, A., Roux, X. Le, Taibi, A., Spor, A., & Philippot, L. (2025). Pre-sowing recurrent inoculation with *Pseudomonas fluorescens* promotes maize growth. *Biology and Fertility of Soils*, 61(1), 125–140. <https://doi.org/10.1007/s00374-024-01873-2>
- Park, M. S., Lee, J. W., Kim, S. H., Park, J.-H., You, Y.-H., & Lim, Y. W. (2020). Penicillium from Rhizosphere Soil in Terrestrial and Coastal Environments in South Korea. *Mycobiology*, 48(6), 431–442. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1823611>
- Paudyal, S. P., Kunwar, B., Paudel, N., & Das, B. D. (2021). Isolation and characterization of rhizobia from the root nodule of some cultivated legume crops . *European Journal of Biological Research*, 11(3). <https://doi.org/10.5281/zenodo.4906255>
- Paul, D., & Park, K. S. (2013). Identification of volatiles produced by *Cladosporium cladosporioides* CL-1, a fungal biocontrol agent that promotes plant growth. *Sensors*, 13(10), 13969–13977. <https://doi.org/10.3390/s131013969>
- Penny, D. (2004). Inferring phylogenies. *Systematic Biology*, 53(4), 669–670. <https://doi.org/10.1080/10635150490468530>
- Percival, S. L., & Williams, D. W. (2014). Mycobacterium. *Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks: Second Edition*, 177–207. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00009-3>

- Pérez-Pérez, R., Oudot, M., Hernández, I., Nápoles, M. C., & Sosa-Del Castillo, D. (2020). Aislamiento y caracterización de *Stenotrophomonas* asociada a rizosfera de maíz (*Zea Mays* L.). *Cultivos Tropicales*, 41(2). <http://ediciones.inca.edu.cu>
- Pham, V. H. T., & Kim, J. (2012a). Cultivation of unculturable soil bacteria. *Trends in Biotechnology*, 30(9), 475–484. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.05.007>
- Pham, V. H. T., & Kim, J. (2012b). Cultivation of unculturable soil bacteria. *Trends in Biotechnology*, 30(9), 475–484. <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2012.05.007>
- Pietrangolo, L., Bucci, A., Maiuro, L., Bulgarelli, D., & Naclerio, G. (2018). Unraveling the composition of the root-associated bacterial microbiota of *Phragmites australis* and *Typha latifolia*. *Frontiers in Microbiology*, 9(AUG). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01650>
- Pilon-Smits, E. A. H., 't Hart, H., Meesterburrie, J. A. N., Naber, P., Kreuler, R., & Van Brederode, J. (1991). Variation in crassulacean acid metabolism within the genus *Sedum*: Carbon isotope composition and water status dependent phosphoenolpyruvate carboxylase activity. *Journal of Plant Physiology*, 137(3), 342–346. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)80143-4](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)80143-4)
- Pineda, J. J., Muñoz, J., Morales, Y. E., Trenado, E., & Sigarreta, J. M. (2025). Quantification and Determination of Compatible Bacterial Consortia. *Microbial Biotechnology*, 18(9), e70198. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1751-7915.70198>
- Pozdnyakova, N. N., Varese, G. C., Prigione, V., Dubrovskaya, E. V, Balandina, S. A., & Turkovskaya, O. V. (2019). Degradative properties of two newly isolated strains of the ascomycetes *Fusarium oxysporum* and *Lecanicillium aphanocladii*. *International Microbiology*, 22(1), 103–110. <https://doi.org/10.1007/s10123-018-0032-z>
- Promega. (2021). *pGEM®-T and pGEM®-T Easy Vector Systems*. <https://worldwide.promega.com/-/media/files/resources/protocols/technical-manuals/0/pgem-t-and-pgem-t-easy-vector-systems-protocol.pdf?rev=42b7715403bf452cb4487ac142d2c61c>
- Putra, A., Azhar, M., Iryani, Ahda, Y., Puspasari, F., Ihsanawati, & Natalia, D. (2020). Cloning, Sequencing and Analyzing of 16S rRNA Gene from Inulin Hydrolyzing Bacteria. *International Journal of Advances in Scientific Research and Engineering*, 06(05), 88–95. <https://doi.org/10.31695/ijasre.2020.33790>
- Quijada, A., Méndez-Cárdenas, G., Hernández-Baños, B., & Álvarez-Buylla, E. (1997). La región de los ITS del ADN ribosomal del núcleo (nrADN), fuente de caracteres moleculares en la sistemática de las gimnospermas. *Botanical Sciences*, 60, 159–168. <https://doi.org/10.17129/botsci.1527>
- Radhakrishnan, N., & Krishnasamy, C. (2024). Isolation and characterization of salt-stress-tolerant rhizosphere soil bacteria and their effects on plant growth-promoting properties. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-75022-y>
- Radjasa, O. K., Urakawa, H., Kita-Tsukamoto, K., & Ohwada, K. (1999). Rapid Grouping of Marine Psychrotrophic bacteria using Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of PCR-Amplified 16S Rdna. *Journal of Coastal Development*, 3, 501–506.

- Raja, H. A., Miller, A. N., Pearce, C. J., & Oberlies, N. H. (2017). Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. In *Journal of Natural Products* (Vol. 80, Issue 3, pp. 756–770). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01085>
- Răut, I., Călin, M., Capră, L., Gurban, A.-M., Doni, M., Radu, N., & Jecu, L. (2021). *Cladosporium* sp. Isolate as Fungal Plant Growth Promoting Agent. <https://doi.org/10.3390/agronomy>
- Ravin, N. V., Mardanov, A. V., & Skryabin, K. G. (2015). Metagenomics as a tool for the investigation of uncultured microorganisms. *Russian Journal of Genetics*, 51(5), 431–439. <https://doi.org/10.1134/S1022795415050063>
- Rawat, P., Sharma, A., Shankhdhar, D., & Shankhdhar, S. C. (2022). Comparative Response of Phosphate Solubilizing Indigenous Bacillus licheniformis, Pantoea dispersa and Staphylococcus sp. From Rice Rhizosphere for Their Multifarious Growth Promoting Characteristics. *Geomicrobiology Journal*, 39(6), 445–452. <https://doi.org/10.1080/01490451.2022.2027049>
- Razaghi, P., & Zafari, D. (2018). Characterization of fungi causing lesion blight on Papaver dubium in Iran. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 111(3), 437–455. <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0966-8>
- Rigobelo, E. C., Nicodemo, D., Babalola, O. O., & Desoignies, N. (2024). Purpureocillium lilacinum as an Agent of Nematode Control and Plant Growth-Promoting Fungi. In *Agronomy* (Vol. 14, Issue 6). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/agronomy14061225>
- Rivera-Urbalejo, A., Vazquez-Sandoval, D., Fernández-Vázquez, J. L., Rosete-Enríquez, M., Cesa-Luna, C., Elizabeth Morales-García, Y., Muñoz-Rojas, J., & Quintero-Hernández, V. (2021). Contributions and difficulties of soil metagenomics and its impact on agriculture. *Acta Biologica Colombiana*, 26(3), 449–461. <https://doi.org/10.15446/abc.v26n3.85760>
- Rodríguez-Tovar, A., Xoconostle-Cásarez, B., & Valdés, M. (2004). Ecología molecular de los hongos Ectomicorrízicos. In *Artículo de Revisión Rev. Fitotec. Mex* (Vol. 27, Issue 3).
- Romero-Bastidas, M., Vega-Hernández, A., Villegas-Espinoza, J. A., & Zamora-Salgado, S. (2025). Antagonism of the genera Penicillium and Aspergillus, rhizospheric isolates of Giant Cardon (Pachycereus pringlei) against phytopathogenic fungi. *Bioagro*, 37(2), 209–222. <https://doi.org/10.51372/bioagro372.7>
- Sahoo, B., Ningthoujam, R., & Chaudhuri, S. (2019). Isolation and characterization of a lindane degrading bacteria Paracoccus sp. NITDBR1 and evaluation of its plant growth promoting traits. *International Microbiology*, 22(1), 155–167. <https://doi.org/10.1007/s10123-018-00037-1>
- Salinas Virgen, L. I., De la Torre Hernández, M. E., Aguirre Garrido, J. F., Ramírez Saad, H. C., Salinas Virgen, L. I., Torre Hernández, M. E. de la, Aguirre Garrido, J. F., & Ramírez Saad, H. C. (2020). Caracterización molecular de bacterias rizosféricas asociadas a Echinocactus platyacanthus en invernadero y silvestres. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(3), 531–542. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i3.2017>

- Sarkar, P., Yamasaki, S., Basak, S., Bera, A., & Bag, P. K. (2012). Purification and characterization of a new alkali-thermostable lipase from *Staphylococcus aureus* isolated from *Arachis hypogaea* rhizosphere. *Process Biochemistry*, 47(5), 858–866. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2012.02.023>
- Sedum rubrotinctum*. (n.d.). Plantas y Flores.
- Seitz, V., B, M. B., A, D. R., M, C. J., A, B. M., M, S. A., Stephen, K., Lindsay, S., E, S. M., C, W. K., & E, P. J. (2022). Variation in Root Exudate Composition Influences Soil Microbiome Membership and Function. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(11), e00226-22. <https://doi.org/10.1128/aem.00226-22>
- Sekar, N., Veetil, S. K., & Neerathilingam, M. (2013). Tender coconut water an economical growth medium for the production of recombinant proteins in *Escherichia coli*. *BMC Biotechnology*, 13(1), 70. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-13-70>
- Shahzad, R., Khan, A. L., Bilal, S., Asaf, S., & Lee, I.-J. (2018). What Is There in Seeds? Vertically Transmitted Endophytic Resources for Sustainable Improvement in Plant Growth. *Frontiers in Plant Science*, Volume 9-2018. <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2018.00024>
- Shi, M., Hao, S., Wang, Y., Zhang, S., Cui, G., Zhang, B., Zhou, W., Chen, H., & Wang, M. (2024). Plant growth-promoting fungi improve tobacco yield and chemical components by reassembling rhizosphere fungal microbiome and recruiting probiotic taxa. *Environmental Microbiome*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s40793-024-00629-7>
- Shreshtha, K., Prakash, A., Pandey, P. K., Pal, A. K., Singh, J., Tripathi, P., Mitra, D., Jaiswal, D. K., Santos-Villalobos, S. de los, & Tripathi, V. (2025). Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria from cacti root under drought condition. *Current Research in Microbial Sciences*, 8. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2024.100319>
- Singh, T., & Singh, D. K. (2019). Rhizospheric Microbacterium sp. P27 Showing Potential of Lindane Degradation and Plant Growth Promoting Traits. *Current Microbiology*, 76(7), 888–895. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01703-x>
- Sipos, R., Székely, A. J., Palatinszky, M., Révész, S., Márialigeti, K., & Nikolausz, M. (2007). Effect of primer mismatch, annealing temperature and PCR cycle number on 16S rRNA gene-targeting bacterial community analysis. *FEMS Microbiology Ecology*, 60(2), 341–350. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00283.x>
- Smalls-Mantey, L., & Montalto, F. (2021). The seasonal microclimate trends of a large scale extensive green roof. *Building and Environment*, 197, 107792. <https://doi.org/10.1016/J.BUILDENV.2021.107792>
- Sohrabi, R., Paasch, B. C., Liber, J. A., & He, S. Y. (2023). Phyllosphere Microbiome. *Annual Review of Plant Biology*, 74(Volume 74, 2023), 539–568. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-102820-032704>
- Stajich Jason, E. (2017). Fungal genomes and insights into the evolution of the kingdom. *Microbiology Spectrum*, 5(4), 10.1128/microbiolspec.funk-0055–2016. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0055-2016>

- Stéphane, C., Birgit, R., Angela, S., Jerzy, N., Christophe, C., & Essaïd, A. B. (2005). Endophytic Colonization of *Vitis vinifera* L. by Plant Growth-Promoting Bacterium *Burkholderia* sp. Strain PsJN. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(4), 1685–1693. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.4.1685-1693.2005>
- Suárez-Bautista, J. D., Manotas-Viloría, H. S., Leal-Mejía, L., Boyacá-Vásquez, J., Pineros-Castro, Y., Corrales, L. C., Cuervo-Soto, L., & Vanegas, J. (2024). Agricultural Biotechnological Potential of *Bacillus velezensis* C3-3 and *Cytobacillus* sp. T106 from Resource Islands of a Semi-arid Zone of La Guajira-Colombia. *Current Microbiology*, 81(10), 341. <https://doi.org/10.1007/s00284-024-03804-8>
- Sun, H., Chen, M., Wei, L., Xue, P., Zhao, Q., Gao, P., Geng, L., Wen, Q., & Liu, W. (2024). Roots recruited distinct rhizo-microbial communities to adapt to long-term Cd and As co-contaminated soil in wheat-maize rotation. *Environmental Pollution*, 342, 123053. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2023.123053>
- Susca, T., Gaffin, S. R., & Dell'Osso, G. R. (2011). Positive effects of vegetation: Urban heat island and green roofs. *Environmental Pollution*, 159(8–9), 2119–2126. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2011.03.007>
- Tamagnini, L. M., & Paraje, M. G. (2015). ¿Qué son las bacterias viables no cultivables? *REVISTA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES*, 2(2), 99–102. <https://doi.org/10.3389/fmicb>
- Tang, Z., Xie, L., Chen, J., Wang, Y., & Li, Y. (2025). Interspecific variation and environmental drivers of rhizosphere microbiomes in endemic *Impatiens* species. *Frontiers in Plant Science*, 16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1567041>
- Tello-Salgado, I., Burgos-Duenas, O., Del Rayo Sanchez-Carbente, M., & Burgos-Solorio, A. (2021). Identification of Fungi Associated to *Pseudips mexicanus* (Curculionidae: Scolytinae) as a Possible Biocontrol Agent. *American Journal of Agriculture and Forestry*, 9(4), 201. <https://doi.org/10.11648/j.ajaf.20210904.16>
- Terri, J. A., Turner, M., & Gurevitch, J. (1986). The response of leaf water potential and crassulacean acid metabolism to prolonged drought in *Sedum rubrotinctum*. *Plant Physiology*, 81(2), 678–680. <https://doi.org/10.1104/pp.81.2.678>
- Thakur, D., Kaur, M., & Mishra, A. (2017). Isolation and screening of plant growth promoting *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. and their effect on growth, rhizospheric population and phosphorous concentration of *Aloe vera*. *J Med Plants Stud*, 5(1), 187–192. <https://www.plantsjournal.com/archives/?year=2017&vol=5&issue=1&part=C&ArticleId=517>
- Tian, L., Lin, X., Tian, J., Ji, L., Chen, Y., Tran, L.-S. P., & Tian, C. (2020). Research Advances of Beneficial Microbiota Associated with Crop Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1792. <https://doi.org/10.3390/ijms21051792>
- Ting, I. P. (1985). Crassulacean acid metabolism. *Annual Review of Plant Biology*, 36(Volume 36, 1985), 595–622. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev.pp.36.060185.003115>
- Tong, S. Q., Peng, L., & Wu, Y. J. (2023). *Acremonium capsici* and *A. guizhouense*, two new members of *Acremonium* (Hypocreales, Sordariomycetes) isolated from the rhizosphere soil of *Capsicum annuum*. *MycKeys*, 95, 1–13. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.95.97062>

- Torres, D. E., Rojas-Martínez, R. I., Zavaleta-Mejía, E., Guevara-Fefer, P., Márquez-Guzmán, G. J., & Pérez-Martínez, C. (2017). Cladosporium cladosporioides and Cladosporium pseudocladosporioides as potential new fungal antagonists of Puccinia horiana Henn., the causal agent of chrysanthemum white rust. *PLoS ONE*, 12(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170782>
- Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., P, de V., Kersters, K., & Swings, J. (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiological Reviews*, 60(2), 407–438. <https://doi.org/10.1128/mr.60.2.407-438.1996>
- Vanwoert, N. D., Rowe, D. B., Andresen, J. A., Rugh, C. L., & Xiao, L. (2005). Watering Regime and Green Roof Substrate Design Affect Sedum Plant Growth. In *HORTSCIENCE* (Vol. 40, Issue 3).
- Vázquez, P. (2022, August 22). *Suculenta Sedum Rubrotinctum: cómo cuidarla para que luzca increíble en tu hogar*.
- Vijayaraghavan, K. (2016). Green roofs: A critical review on the role of components, benefits, limitations and trends. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 57, 740–752. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2015.12.119>
- Viviane, C., Sharella, S., Kees, H., Hervé, D. de B., Filip, C., Inge, H., M, R. J., & J, C. V. (2018). Priming of Plant Growth Promotion by Volatiles of Root-Associated Microbacterium spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(22), e01865-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.01865-18>
- Wahyudi, A. T., Astuti, R. I., & Giyanto, G. (2011). Screening of Pseudomonas sp. isolated from rhizosphere of soybean plant as plant growth promoter and biocontrol agent. *Revista Americana de Ciencias Agrícolas y Biológicas*, 6(1), 134–141. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2011.134.141>
- Wang, L., Zhang, Y., Wang, Y., Suo, M., Wu, H., Zhao, M., & Yang, H. (2022). Inoculation with Penicillium citrinum aids ginseng in resisting Fusarium oxysporum by regulating the root and rhizosphere microbial communities. *Rhizosphere*, 22, 100535. <https://doi.org/10.1016/J.RHISPH.2022.100535>
- Watkinson, S. C., Boddy, L., & Money, N. (2015). *The fungi* (Third Edition). Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/book/edited-volume/9780123820341/the-fungi>
- White, T., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., Innis, M., Gelfand, D., & Sninsky, J. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In *Pcr Protocols: a Guide to Methods and Applications*, (Vol. 31, pp. 315–322).
- Wiesmann, C. L., Wang, N. R., Zhang, Y., Liu, Z., & Haney, C. H. (2023). Origins of symbiosis: shared mechanisms underlying microbial pathogenesis, commensalism and mutualism of plants and animals. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 47, Issue 6). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuac048>
- Xu, C., Peng, H., Li, H., Xie, X., Chen, S., Dai, J., & Ren, H. (2024). Paracoccus actinidiae sp.nov., a novel bacterium isolated from kiwi tree rhizosphere soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 74(10), 006529. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.006529>

- Xu, H., Yan, L., Zhang, M., Chang, X., Zhu, D., Wei, D., Naeem, M., Song, C., Wu, X., Liu, T., Chen, W., & Yang, W. (2022). Changes in the Density and Composition of Rhizosphere Pathogenic Fusarium and Beneficial Trichoderma Contributing to Reduced Root Rot of Intercropped Soybean. *Pathogens*, *11*(4). <https://doi.org/10.3390/pathogens11040478>
- Xu, L., Naylor, D., Dong, Z., Simmons, T., Pierroz, G., Hixson, K. K., Kim, Y.-M., Zink, E. M., Engbrecht, K. M., Wang, Y., Gao, C., DeGraaf, S., Madera, M. A., Sievert, J. A., Hollingsworth, J., Birdseye, D., Scheller, H. V., Hutmacher, R., Dahlberg, J., ... Coleman-Derr, D. (2018). Drought delays development of the sorghum root microbiome and enriches for monoderm bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *115*(18), E4284–E4293. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717308115>
- Yamaguchi, T., & Kataoka, R. (2024). Novel endophytic fungus *Leptosphaeria* sp. strain T-2 improves plant growth and environmental stress tolerance. *Stress Biology*, *4*(1), 52. <https://doi.org/10.1007/s44154-024-00186-6>
- Yang, Y., Hu, J., Wei, X., Huang, K., Li, C., & Yang, G. (2024). Deciphering core microbiota in rhizosphere soil and roots of healthy and *Rhizoctonia solani*-infected potato plants from various locations. *Frontiers in Microbiology*, Volume 15-2024. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2024.1386417>
- Zahra, S. T., Tariq, M., Abdullah, M., Azeem, F., & Ashraf, M. A. (2023). Dominance of *Bacillus* species in the wheat (*Triticum aestivum* L.) rhizosphere and their plant growth promoting potential under salt stress conditions. *PeerJ*, *11*, e14621. <https://doi.org/10.7717/peerj.14621>
- Zhang, H., Li, Y., Xie, M., Deng, Z., Li, G., Zhu, D., Xu, M., & Hou, A. (2025). Production of Aniline Derivatives from *Cladosporium cladosporioides* TFU-13 and *Volutella* sp. TFU-28 in the Presence of SAHA. *Chemistry & Biodiversity*, *n/a*(*n/a*), e01158. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cbdv.202501158>
- Zhang, J., Liu, Q., Li, K., & Ma, L. (2022). Peanut root exudates suppress *Fusarium solani* and modulate the microbial community structure of rhizosphere in grape replant soil. *Horticulturae*, *8*(10). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8100892>
- Zhang, J., Zhu, C., Zhao, Z., & Liu, C. (2024). Microbial Diversity Associated with the Cabernet Sauvignon Carposphere (Fruit Surface) from Eight Vineyards in Henan Province, China. *Foods*, *13*(11). <https://doi.org/10.3390/foods13111626>
- Zhang, L., Liu, L., Sun, D., Han, M., Hu, Y., Shi, L., Wang, J., Xu, X., Ma, Z., Chen, Y., & Sheng, X. (2024). Enrichment of phytopathogen dominated by *Volutella* in the rhizosphere may be an important cause of continuous cropping obstacles in sweet potatoes. *Land Degradation & Development*, *35*(17), 5341–5356. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ldr.5300>
- Zhang, X., Tong, J., Dong, M., Akhtar, K., & He, B. (2022). Isolation, identification and characterization of nitrogen fixing endophytic bacteria and their effects on cassava production. *PeerJ*, *10*. <https://doi.org/10.7717/peerj.12677>
- Zheng, J., Liao, Y., Li, Y., Li, D., Sun, Y., & Xiao, Z. (2024). Description of *Microbacterium dauci* sp. nov., a plant growth hormone indoleacetic acid-producing and nitrogen-fixing bacterium

isolated from carrot rhizosphere soil. *Archives of Microbiology*, 206(3), 102. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03810-7>

Zheng, X., Yang, S., Chen, L., Kimotho, R. N., Chen, M., Chen, J., Zhang, J., & Li, X. (2021). A newly-isolated Cd-loving *Purpureocillium* sp. strain YZ1 substantially alleviates Cd toxicity to wheat. *Plant and Soil*, 464(1), 289–302. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-04954-5>

Zymo Research. (n.d.). *Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit*. Retrieved November 20, 2025, from <https://zymoresearch.eu/products/quick-dna-fungal-bacterial-miniprep-kit>

ANEXOS

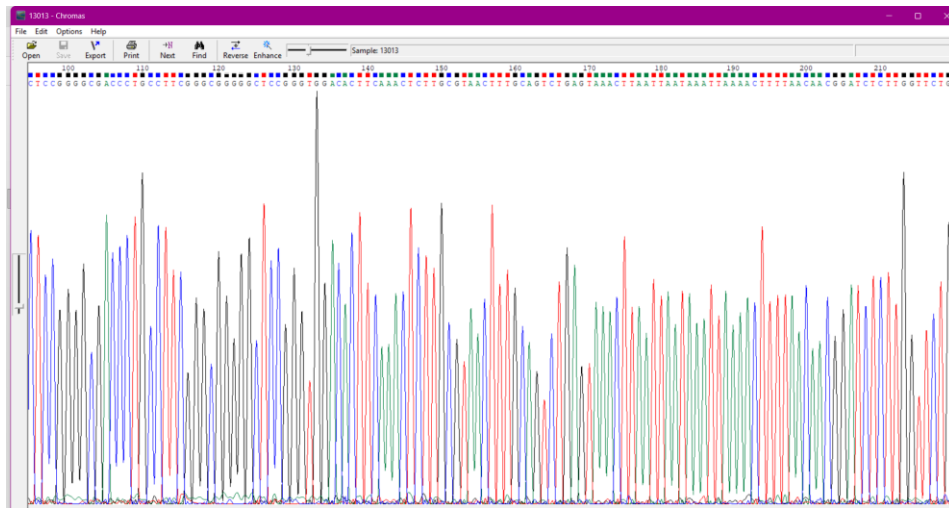


Figura A1. Cromatograma del aislado CN6.1H, secuencia forward visualizado en Chromas. Secuenciación por método de Sanger, cada pico representa un nucleótido.



Figura A2. Cromatograma del aislado LG3.2R, secuencia reverse, visualizado en Chromas. Secuenciación por método de Sanger, cada pico representa un nucleótido.