



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

**Identificación y comparación de secuencias de genes que
codifican proteínas relacionadas con actividades PGPR, en
bacterias del género *Bacillus***

Alumno: Roberto Rosario Reyes

Matrícula: 2153025062

Asesor Interno: Dr. Hugo César Ramírez Saad

Asesor Externo: Dra. María Eugenia de la Torre Hernández

Noviembre 2023

Índice

1	Marco teórico	3
1.1	Zonas áridas y semi-áridas (ZAS) en México.....	3
1.1.1	Semidesierto queretano	3
1.2	Familia Cactaceae.....	4
1.2.1	<i>Echinocactus platyacanthus</i> (biznaga dulce).....	4
1.3	Rizosfera.....	4
1.4	Bacterias promotoras de crecimiento vegetal	5
1.5	<i>Bacillus</i> sp.	6
1.5.1	Producción de fitohormonas.....	6
1.5.2	Solubilización de fosfatos.	8
1.5.3	Biocontrol de fitopatógenos	9
2	Justificación.....	12
3	Objetivos.....	14
3.1	Objetivo general.....	14
3.2	Objetivos específicos.....	14
4	Metodología.....	14
4.1	Recolección de información sobre genes y rutas metabólicas involucradas en las actividades PGPR reportadas en bacterias del género <i>Bacillus</i>	14
4.2	Consulta de secuencias	14
4.3	Almacenamiento y registro de secuencias de genes y genomas	15
4.4	Creación de una base de datos	16
5	Resultados.....	16
5.1	Organización de la base de datos	16
5.2	Genomas de <i>Bacillus</i> y sus genes descargados de BLAST	16
5.3	Secuencias de referencia (<i>Gene</i> NCBI)	17
5.4	Alineamiento con BLAST	22
5.5	Tabla descriptiva	23
6	Conclusiones.....	24
7	Referencias	24

1 Marco teórico

1.1 Zonas áridas y semi-áridas (ZAS) en México

Las zonas áridas son aquellas regiones en donde la provisión de agua es deficiente, su precipitación y humedad atmosférica suelen tener valores muy por debajo del promedio mundial anual (González Medrano, 2012), el cual es de 840 mm; y para la República Mexicana, según la Comisión Nacional de Zonas Áridas, la media anual es de 780 mm (CONAZA, 1994).

Cloudsley-Thompson (1979) propone la siguiente clasificación de las zonas áridas, considerando la precipitación pluvial anual expresada en milímetros (mm):

- Zonas extremadamente secas: de 0 a 100
- Zonas áridas: de 100 a 250
- Zonas semiáridas: de 250 a 350

Estos valores son un tanto relativos puesto que la eficiencia de la precipitación no depende sólo de la cantidad de agua que cae, sino que ésta se ve fuertemente influenciada por la temperatura (González Medrano, 2012).

Por su parte, la CONAZA establece que las superficies del territorio nacional con 250 mm anuales o menos, son consideradas como zonas áridas y las que oscilan entre más de 250 mm y menos de 500 mm son consideradas semiáridas.

Los suelos de las zonas áridas se caracterizan por estar presentes en planicies o superficies de escasa pendiente y de poca profundidad. La cantidad de agua acumulada en el suelo determina la disponibilidad de ésta para las plantas, misma que depende de la humedad provocada por la precipitación y que se ve afectada por la evaporación, evapotranspiración y la profundidad de percolación.

La humedad es uno de los factores limitantes para el crecimiento de las plantas. En las zonas áridas, por lo general, sólo la parte superficial del suelo se encuentra humedecida ya que la profundidad de penetración del agua depende de la textura del suelo (arenoso o arcilloso). La concentración de sales presente, principalmente el sodio, dificultan la penetración del agua y el movimiento de la misma en el suelo (González Medrano, 2012).

De acuerdo con la CONAZA (2019), en México, las zonas áridas y semiáridas representan aproximadamente el 60% del territorio nacional. Una región representativa de estas zonas es el desierto de Chihuahua, que comprende 507,000 km², abarcando parte del sur de Estados Unidos y las zonas norte y centro de México (Hernández, *et al.*, 2007).

1.1.1 Semidesierto queretano

En la porción extrema sur y disyunta del cuerpo principal del Desierto Chihuahuense, se localiza la Zona Árida Queretano-Hidalguense (Hernández-Magaña *et al.*, 2012) o Semidesierto queretano, que abarca parte de los estados de Querétaro, Hidalgo y Guanajuato.

Esta zona destaca como una de las áreas con mayor concentración de especies vegetales amenazadas, esto se debe a que las zonas áridas de México se encuentran afectadas por una problemática general de acelerada destrucción del hábitat, escasa aplicación de programas de manejo y un reducido número de instituciones dedicadas a la investigación, conservación y reproducción de especies *ex situ* (Sánchez *et al.*, 2006). Por estos motivos, es de vital importancia contar con estrategias de conservación o desarrollarlas, dando prioridad al análisis de estas especies en su hábitat.

El semidesierto queretano ha sido catalogado como una de las áreas con mayor número de endemismos de la familia Cactaceae (Sánchez *et al.*, 2006), que es una de las más representativas de la diversidad biológica de México.

1.2 Familia Cactaceae

Las cactáceas son exclusivas del continente americano y tienen su principal centro de diversificación en México (Hernández, *et al.*, 2007) donde se cuenta con un gran número de ejemplares de la familia Cactaceae, la cual consta de alrededor de 50 géneros y 550 especies (Hunt, 1999) que constituyen un grupo vegetal muy importante debido a su gran variedad morfológica y taxonómica.

1.2.1 *Echinocactus platyacanthus* (biznaga dulce)

Es una cactácea globular que puede alcanzar 2 metros de altura y 1.2 metros de diámetro; actualmente está protegida en México por la NOM-059-SEMARNAT-2010 bajo la categoría “sujeta a protección especial” y está en la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) en la categoría de “casi amenazada” (Hernández *et al.*, 2017).

Entre los riesgos que sufre la especie están:

- Perturbación de su hábitat
- Explotación para alimentación humana (fabricación de acitrón)
- Uso como forraje vivo para animales

La biznaga dulce posee una baja tasa de establecimiento y lento desarrollo cuando se encuentra en suelos erosionados y con bajas cantidades de nutrientes. Las cactáceas, como la mayoría de las plantas, se benefician de la presencia de microorganismos en el suelo para su temprano establecimiento y subsiguiente crecimiento (Bashan, *et al.*, 2003). La zona donde se localizan estos microorganismos es conocida como rizosfera.

1.3 Rizosfera

Según la definición de Hiltner (1904) “es el volumen de suelo que es influenciado por las raíces de las plantas”. Dicha influencia proviene principalmente de los exudados de las raíces, que son una mezcla compleja de sustancias orgánicas e inorgánicas que son liberadas hacia la rizosfera a través del sistema de raíces durante el crecimiento de las plantas; el 40% de los productos de la fotosíntesis son

liberados en forma de estos exudados y se pueden dividir en dos clases (Bais, *et al.*, 2006):

- **Compuestos de bajo peso molecular**
 - Aminoácidos
 - Ácidos orgánicos
 - Sacáridos simples
 - Metabolitos secundarios
- **Compuestos de alto peso molecular**
 - Polisacáridos
 - Proteínas

Los diferentes compuestos presentes en la rizosfera generan un ambiente adecuado en el suelo para la colonización de diversos tipos de microorganismos, entre los que destacan las bacterias. La comunidad bacteriana en la rizosfera es de 10 a 1000 veces más abundante que en el suelo no rizosférico (Lugtenberg y Kamilova, 2009; Hiltner, 1904).

1.4 Bacterias promotoras de crecimiento vegetal

Los exudados de las raíces son aprovechados por un gran número de especies bacterianas presentes en la rizosfera. Algunas de ellas son de particular interés porque tienen actividades promotoras del crecimiento vegetal, por lo que son conocidas como *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR, por sus siglas en inglés; Kumar, *et al.*, 2019).

Los mecanismos a través de los cuales estas bacterias ejercen su acción promotora del crecimiento vegetal pueden dividirse en dos tipos (Glick, 1995; Kumar *et al.*, 2019) que, a su vez, se subdividen en actividades:

- **Mecanismos directos**
 - Solubilización de fosfatos (Verma *et al.*, 2010)
 - Fijación de nitrógeno (Verma *et al.*, 2010)
 - Producción de fitohormonas (Idris *et al.*, 2007)
- **Mecanismos indirectos**
 - Biocontrol
 - Producción de sideróforos (Kumar, *et al.*, 2014)
 - Síntesis de antibióticos (Sayyed, 2019)
 - Producción de enzimas líticas (Tariq, *et al.*, 2017)

Además de su rol benéfico en el desarrollo y crecimiento de las plantas, poseen una rápida adaptabilidad a condiciones adversas del medio en el que se encuentran, como exceso de salinidad, calor, falta de agua y presencia de sustancias nocivas (Carro y Nouioui, 2017), entre otras.

Los siguientes grupos bacterianos han sido asociados con actividades PGPR:

- Proteobacteria

- *Pseudomonas* (Simonetti *et al.*, 2015; Bertani *et al.*, 2016)
- *Agrobacterium* (Tsavkelova *et al.*, 2007)
- *Rhizobium* (Banik *et al.*, 2016; García-Fraile *et al.*, 2012)
- *Serratia* (Kim *et al.*, 2011)
- Actinobacteria
 - *Streptomyces* (Goudjal *et al.*, 2014)
- Firmicutes
 - *Bacillus* (Banik *et al.*, 2016; Bal *et al.*, 2013; Simonetti *et al.*, 2015; Zhang, *et al.*, 2016; Idris, *et al.*, 2007; Meng, *et al.*, 2019)
- Bacteroidetes
 - *Flavobacterium* (Subramanian *et al.*, 2016; Gontia-Mishra *et al.*, 2016)

1.5 *Bacillus* sp.

En el Phylum Firmicutes, los estudios de Zhang *et al.* (2016), Idris *et al.* (2007) y Meng *et al.* (2019) han demostrado que el género predominante con actividad PGPR es *Bacillus*, específicamente en la producción de metabolitos secundarios que pueden ser aprovechados por las plantas y en la producción de compuestos que sirven para ejercer biocontrol sobre otras bacterias (Zhi, *et al.*, 2017) y hongos patógenos (Moyne, *et al.*, 2004; Furtado, *et al.*, 2011; Kim, *et al.*, 2017; Cai, *et al.*, 2017). Además, se ha demostrado que las bacterias del género *Bacillus* también son capaces de solubilizar fosfatos (Meng, *et al.*, 2019; Rodríguez, *et al.*, 2014) e incluso de producir sideróforos (Sun, *et al.*, 2017), una actividad normalmente atribuida al género *Pseudomonas*.

Las actividades PGPR que desarrolla el género *Bacillus* se detallan a continuación:

1.5.1 Producción de fitohormonas

Las fitohormonas actúan como mensajeros para coordinar actividades celulares y así para regular diversos procesos en las plantas. Las bacterias PGPR son capaces de producir algunas de estas fitohormonas como metabolitos secundarios, por lo que la concentración de ellos depende de la capacidad de colonización de las bacterias que los producen (Tsukanova, *et al.*, 2017).

El ácido indolacético (IAA) es una fitohormona muy abundante y es producida por un gran número de PGPR; el IAA secretado juega un papel importante en la regulación de diversos aspectos del crecimiento vegetal como la división celular, el desarrollo de frutos y estimula el crecimiento de pelo radicular, además de ayudar al incremento del número y la longitud de las raíces (Shao, *et al.*, 2015).

Meng *et al.* (2019) reportaron que las concentraciones de ácido indolacético aumentan en presencia de triptófano, que funciona como quimioatrayente y es uno de los componentes principales del exudado de las raíces de las plantas (Spaepen, *et al.*, 2007); se trata de un aminoácido que las bacterias utilizan como precursor para la síntesis de IAA.

Gollnick (1994) y Rivas *et al.*, (1990) identificaron la presencia del operón triptófano (*trp*) en *Bacillus subtilis*. Este operón contiene seis genes estructurales, *trpEDCFBA* y está involucrado en la biosíntesis de L-triptófano a partir de corismato (Sonenshein, *et al.*, 1993) (Figura 1).

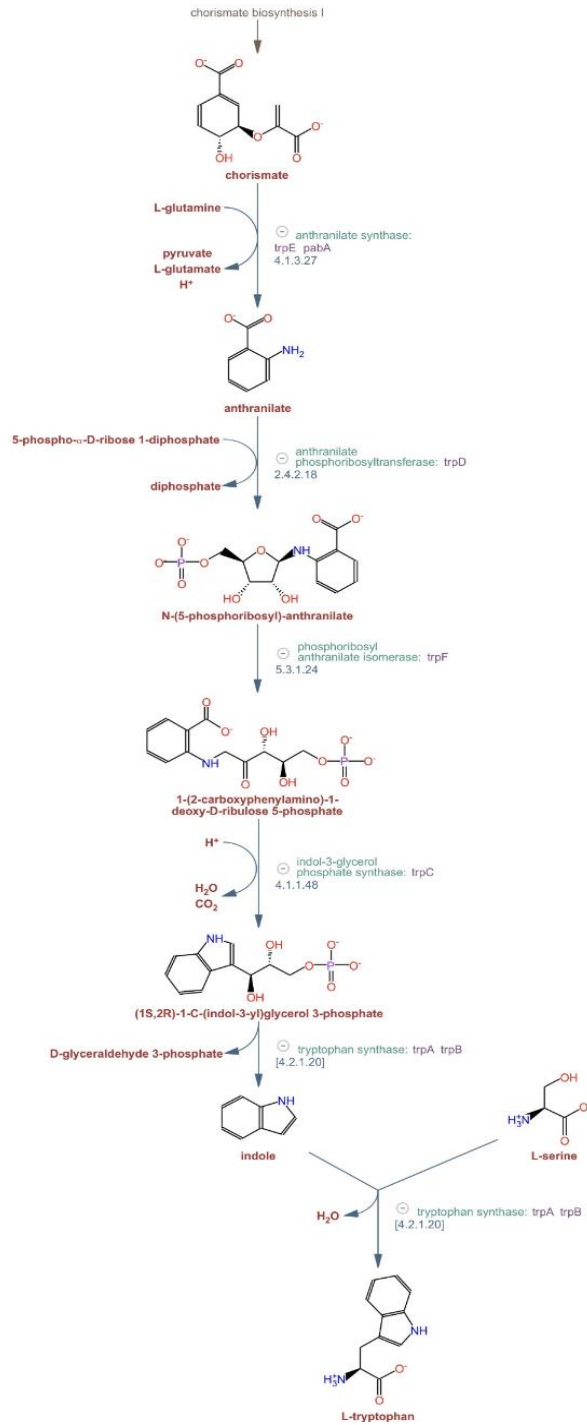


Figura 1. Ruta general de síntesis del L-triptófano en *Bacillus subtilis subsp. subtilis str. 168*. (Consultado en <https://biocyc.org/BSUB/NEW->

Yuwen *et al.* (2013) identificaron y secuenciaron el gen que codifica la enzima triptófano descarboxilasa (AADC) en *Bacillus atrophaeus*. Esta es una enzima estereoespecífica para L-aminoácidos y es la primera enzima de la vía de síntesis del IAA por la ruta de la triptamina (TAM); cataliza la reacción de L-triptófano a triptamina, misma que es convertida a acetaldehído indol (IAAld) por una amino oxidasa y, posteriormente, a IAA por una IAAld deshidrogenasa (Lin, *et al.*, 2015, Spaepen, *et al.*, 2007) (Figura 2).

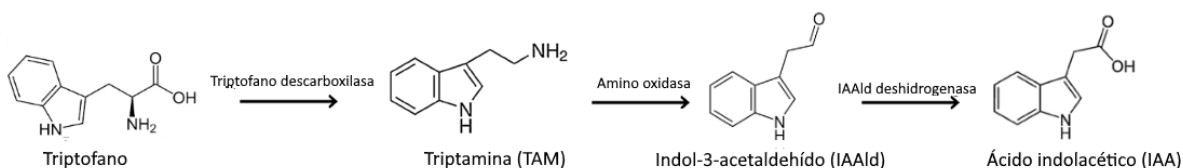


Figura 22. Vía de síntesis de IAA a partir de triptófano por la ruta de la triptamina (TAM). Modificado de Spaepen, *et al.*, 2007.

1.5.2 Solubilización de fosfatos.

El fósforo es el segundo macronutriente más importante requerido para el crecimiento y desarrollo vegetal por estar involucrado en funciones biológicas básicas como la división celular, la síntesis de ácidos nucleicos y la fotosíntesis. Normalmente el fósforo presente en el suelo se encuentra formando complejos insolubles, por tanto, no es aprovechable por las plantas (Batool e Iqbal, 2019).

El principal mecanismo microbiológico por el cual los compuestos fosfatados presentes en el suelo son solubilizados es mediante la disminución del pH hasta valores aproximados a 2.0, necesarios para que se lleve a cabo la solubilización (Mantilla, *et al.*, 2011). Este fenómeno se origina debido a la liberación de ácidos orgánicos de bajo peso molecular por parte de los microorganismos (Pineda, 2014).

Los ácidos orgánicos de bajo peso molecular provienen del metabolismo de compuestos de alto peso molecular como carbohidratos, péptidos y lípidos (Paredes *et al.*, 2010). Son producidos en el periplasma de bacterias Gram negativas a través de la ruta de oxidación directa de la glucosa. Las enzimas glucosa deshidrogenasa (GDH) y la gluconato-deshidrogenasa (GGADH), propias de esta ruta, están orientadas hacia la parte exterior de la membrana citoplasmática de las bacterias, de tal forma que puedan solubilizar sustratos en el espacio periplásmico (Anthony, 2004).

Consecuentemente los ácidos orgánicos difunden fuera de la célula y pueden causar la liberación de grandes cantidades de fosfatos solubles a partir de fosfatos minerales (Gadd, 1999).

Los microorganismos más eficientes para solubilizar fosfatos pertenecen a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, los cuales han mostrado capacidad de solubilización de fosfatos y la presencia de pirroloquinolina quinona (PQQ; Alaylar, *et al.*, 2018), una molécula termoestable y soluble en agua que actúa como cofactor

de la holoenzima glucosa deshidrogenasa (GDH)-PQQ; esta enzima cataliza la formación de ácido glucónico a partir de la oxidación directa de glucosa (Rodríguez y Fraga, 1999) y se ha reportado que participa en la formación de ácido 2-cetoglucónico (Ludueña, *et al.*, 2016; Halder y Chakrabarty, 1993).

Los genes biosintéticos de PQQ están agrupados en el operón *pqqABCDE* (An y Moe, 2016; Alaylar, *et al.*, 2018); se ha detectado la presencia del gen *pqqB* en *Bacillus cereus* (Alaylar, *et al.*, 2018), este gen codifica una proteína involucrada en el transporte de la PQQ a través de la membrana citoplasmática (Ludueña, *et al.*, 2017); también se ha reportado el gen *pqqC* en *Bacillus sp.*, el cual codifica la pirroloquinolinaquinona sintasa (Ser, *et al.*, 2020).

Un mecanismo secundario de la solubilización de fosfatos es mediante la producción de enzimas fosfatasas, las cuales tienen actividades hidrolíticas (Figura 3); *Bacillus subtilis* ha mostrado capacidad de producción de fosfatasa alcalina D a través de la expresión del gen *phoD* (Rodríguez, *et al.*, 2014).

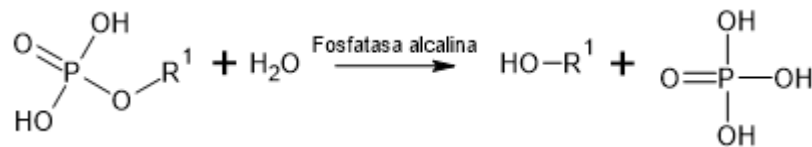


Figura 3: Hidrólisis enzimática de fosfato orgánico. Modificado de Dean, 2002

1.5.3 Biocontrol de fitopatógenos

1.5.3.1 Producción de sideróforos

Las plantas que crecen en suelos áridos enfrentan, además de la falta de agua, dos problemas principales: la alta salinidad y la deficiencia de hierro. La salinidad disminuye el crecimiento, afecta la fisiología de la planta y causa un desequilibrio de la nutrición. El hierro es un micronutriente esencial para el desarrollo vegetal ya que tiene un papel importante como cofactor de un gran número de proteínas, como acarreador de oxígeno, como catalizador en la síntesis de clorofila, así como participante en procesos de transferencia de electrones en la cadena de transporte de electrones (Ferreira, *et al.*, 2019).

Los sideróforos son agentes quelantes de bajo peso molecular (<1500 Da) específicos para Fe^{3+} , los cuales forman complejos con el hierro libre y lo transportan hacia la célula interactuando con los receptores de membrana (Saha *et al.*, 2016).

Los sideróforos producidos por bacterias se clasifican en tres categorías: hidroxamatos, catecolatos y carboxilatos (Schalk y Mislin, 2017) y brindan una ventaja competitiva a las PGPR que colonizan las raíces excluyendo a otros microorganismos posiblemente patógenos, por lo que ejercen un mecanismo de biocontrol lo que, indirectamente, favorece el crecimiento vegetal. Bajo condiciones altamente competitivas, la capacidad de adquirir hierro por medio de los sideróforos

determina el resultado de la competencia por las diferentes fuentes de carbono disponibles (Beneduzi, *et al.*, 2012).

Se ha demostrado la capacidad de sintetizar sideróforos como petrobactina (PB) y bacilibactina (BB) en *Bacillus subtilis*. El gen *yclQ* codifica la proteína *yclQ* de unión a petrobactina (Figura 4; Zawadzka, *et al.*, 2009) y el gen *besA* codifica la proteína *besA* ferri-bacilibactina esterasa (Miethke, *et al.*, 2006).

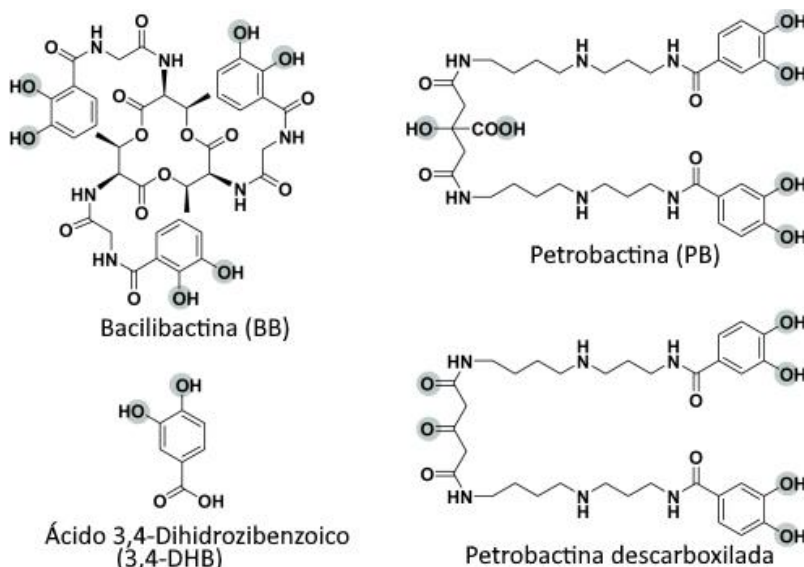


Figura 4: Estructuras moleculares de los sideróforos producidos por diferentes especies de *Bacillus*. Los átomos coordinadores de hierro están marcados en gris. Fuente: Zawadzka, *et al.*, 2009.

1.5.3.2 Síntesis de antibióticos

La producción de estos compuestos juega un papel importante en el manejo de enfermedades vegetales como un proceso de biocontrol, el cual se ha definido como la inhibición o supresión de microorganismos patogénicos a través de la producción de compuestos de bajo peso molecular por otros microorganismos. Las bacterias del género *Bacillus* producen diversas moléculas consideradas como antibióticos entre los que se encuentran: iturinas, micosubtilina, surfactina, fengicina y zwittermicina A (Sayyed, 2019).

1.5.3.2.1 Surfactina

Se ha demostrado la producción de surfactina en *Bacillus subtilis* (Stein, 2005) y *Bacillus amyloliquefaciens* (Zhi, *et al.*, 2017); se trata de un lipopéptido cíclico sintetizado por sintetasas peptídicas no ribosomales (NRPS) mismas que son codificadas por el operón *srfA* (*srfAA*, *srfAB*, *srfAC* y *srfAD*; Nakano, *et al.*, 1991); está compuesto por una porción lipídica que consta de un ácido graso con una longitud de 13 a 15 carbonos y su componente principal es un anillo lactónico asociado con un heptapéptido aniónico que contiene ácido glutámico (Glu), ácido aspártico (Asp), valina (Val) y leucina (Leu) (Figura 5; Vollenbroich, *et al.*, 1997). Como resultado de su estructura anfifílica, la surfactina es un poderoso agente

tensoactivo con propiedades antibacterianas (Lin, *et al.*, 1994; Tsukagoshi, *et al.*, 1970).

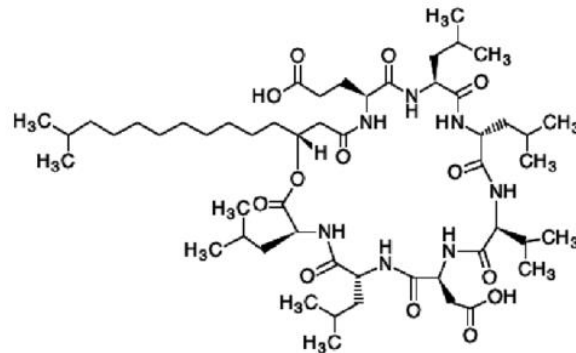


Figura 5. Estructura de la surfactina. Tomada de Mongkolthanaruk, 2012; Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG).

1.5.3.2.2 Iturinas

Bacillus thuringiensis y *Bacillus subtilis* han sido reportadas como especies productoras de iturina A (Dang, *et al.*, 2019). La estructura más común de las iturinas consiste en un péptido cíclico, el cual está compuesto de siete aminoácidos alfa y un único aminoácido beta, así como una cadena de ácido graso de 14 a 17 carbonos (Figura 6). Tienen un amplio espectro de efecto inhibitor en bacterias patógenas vegetales (Wan, *et al.*, 2022).

Debido a sus propiedades tensoactivas, puede penetrar en la membrana celular de patógenos, mientras que el extremo de los aminoácidos se mantiene en el suelo en el exterior. Esto crea una apertura en la membrana celular que inhibe el crecimiento de patógenos (Ongena y Jacques, 2008).

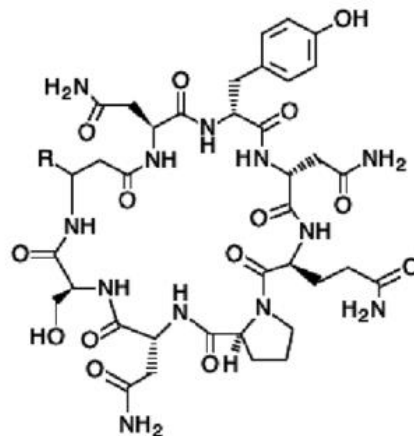


Figura 6. Estructura general de las Iturinas. R indica la cadena de ácidos grasos. Tomada de Mongkolthanaruk, 2012; Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG).

Al igual que la surfactina, son sintetizadas por NRPS; el operón que las codifica consiste en cuatro marcos de lectura abiertos (ORFs) llamados *ituD*, *ituA*, *ituB* e *ituC*. El gen *ituD* codifica la enzima malonil-CoA transacilasa, la cual está relacionada con la síntesis de ácidos grasos, mientras que *ituA*, *ituB* e *ituC* contienen módulos de aminoacilación que codifican a los péptidos y subunidades de la bacilomicina D sintetasa (Dang, *et al.*, 2019).

La iturina A también ha demostrado tener efecto en la inhibición de hongos patógenos vegetales (Pecci, *et al.*, 2010), sin embargo, existen otras sustancias que son más efectivas para el control de hongos de este tipo.

1.5.3.3 Producción de enzimas líticas

Las enzimas hidrolíticas, como glucanasas y quitinasas, están directamente involucradas en la lisis de la pared celular de hongos y otros microorganismos posiblemente patógenos. Estas enzimas también pueden descomponer materia orgánica proveniente de residuos vegetales para usarla como fuente nutricional (Tariq, *et al.*, 2017).

En *Bacillus subtilis* se han identificado tanto el gen *bgI/S*, que codifica la enzima β -1,3-1,4-glucanasa, como la actividad de dicha enzima (Furtado, *et al.*, 2011) y en *Bacillus thuringiensis* se ha caracterizado una endoquitinasa codificada por el gen *chi74* (Mehmood, *et al.*, 2010).

2 Justificación

La mayoría de los estudios realizados y citados con anterioridad están orientados hacia la sustentabilidad en la agricultura en un ámbito productivo, sin embargo, no se ha profundizado en la preservación y protección de especies vegetales como las cactáceas que están bajo alguna categoría de riesgo de extinción y son endémicas de zonas con condiciones ambientales poco favorables (y cada vez más agresivas), como es el caso de la biznaga dulce. Una forma de abordar esta problemática es a través del estudio de la comunidad bacteriana presente en la rizosfera de estas plantas, por lo cual, es de gran importancia conocer a nivel genómico qué elementos brindan a las cepas bacterianas las capacidades para promover el crecimiento vegetal.

Un gen relacionado con alguna actividad PGPR puede estar presente en una especie y ausente en otra, aun siendo ambas del mismo género (Gogarten y Townsend, 2005), esto puede ocurrir por dos razones: la bacteria posee el gen, pero sólo se induce su transcripción con un sustrato o condición específicos, o bien, se trata de un caso de transferencia horizontal de genes, ya sea por transducción de un bacteriófago, transformación por plásmidos de otras bacterias o por conjugación por contacto y transferencia de material genético directo de otra bacteria (Marrafini y Sontheimer, 2008).

Al hacer el análisis a nivel genómico de este fenómeno, podemos entender mejor la variabilidad genética y comprender el por qué bacterias que normalmente no se

desarrollan de forma natural en la rizosfera, como *Bacillus anthracis* (Yuwen, *et al.*, 2013) o *Pseudomonas aeruginosa* (Alaylar, *et al.*, 2018), poseen en sus genomas secuencias que, en teoría, les permiten sintetizar proteínas que coadyuven en actividades PGPR.

En el trabajo de Salinas Virgen (2019), realizado en el Laboratorio de Ecología Molecular de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, se identificaron bacterias con actividad PGPR aisladas de un muestreo de material rizosférico de 20 especímenes de biznaga dulce (*Echinocactus platyacanthus*) en una población silvestre de Tolimán, Querétaro. Las bacterias de género *Bacillus* que se identificaron y mostraron la capacidad de realizar más de una actividad PGPR *in vitro* fueron:

- *B. subtilis* subsp. *inaquosorum*
- *B. siamensis*
- *B. paramycoides*
- *B. velezensis*

Estas cepas se seleccionaron para probarlas *in planta* usando como modelo de estudio a *Arabidosis thaliana*. Las especies con las que se obtuvieron mejores resultados en cuanto a su actividad PGPR fueron *Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum* y *Bacillus paramycoides*. Actualmente, en el Laboratorio de Ecología Molecular se está realizando el análisis de las secuencias genómicas de estas cepas con la finalidad de identificar los genes relacionados con sus características PGPR.

3 Objetivos

3.1 Objetivo general

Comparar secuencias de genes que codifiquen proteínas involucradas en alguna de las actividades PGPR con genomas completos de *Bacillus* con actividad PGPR reportada en la bibliografía.

3.2 Objetivos específicos

1. Revisar y recolectar información sobre genes y rutas metabólicas involucradas en las actividades PGPR que se han identificado en bacterias del género *Bacillus*.
2. Buscar las secuencias de los genes de interés en GenBank
3. Comparar las secuencias referencia de los genes con la herramienta BLAST para determinar qué genomas completos de *Bacillus* tienen genes que pueden codificar metabolitos secundarios con actividad PGPR.
4. Hacer bases de datos propias.

4 Metodología

4.1 Recolección de información sobre genes y rutas metabólicas involucradas en las actividades PGPR reportadas en bacterias del género *Bacillus*.

Se utilizaron los siguientes motores de búsqueda, bases de datos y redes de colaboración.

- PubMed (*National Center for Biotechnology Information*)
- ScienceDirect (Elsevier)
- SpringerLink
- ResearchGate

Los criterios de inclusión/exclusión del material a considerar para su revisión fueron los siguientes:

- Idioma inglés
- Fecha de publicación posterior a 2016
- Artículos cuyos resultados contuvieran un genoma completo con número de acceso a GenBank
- Artículos de revisión bibliográfica.
- Artículos que, mediante un método experimental, reporten alguna actividad PGPR en alguna especie del género *Bacillus* similar a las se aislaron en el laboratorio de Ecología Molecular de la UAM Xochimilco.

4.2 Consulta de secuencias

Se usó la base de datos GenBank para consultar los números de acceso de genomas completos de *Bacillus* reportados en los artículos; cuando no se contó con un número de acceso, se usó la base de datos *Gene* de NCBI para buscar el nombre del gen reportado, registrando el ID del gen, procurando que perteneciera a una secuencia con las siguientes características:

- Provenir de cepa tipo (*Type strain*)
- Ser una RefSeq (secuencia de referencia)
- Estar reportada en un genoma completo

Para considerar que una secuencia es de una cepa tipo, se usaron las bases de datos:

- *Colección Española de Cultivos Tipo (CECT)* de la Universidad de Valencia.
- *DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH* del Instituto Leibniz en la sección de Catalogo de microorganismos (*Catalogue of microorganisms*)
- La base de datos *Assemble* de NCBI, revisando que la entrada del microorganismo posea la anotación “*Assembly from type material*”

Posteriormente, se usó la herramienta BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) para determinar qué otras especies de *Bacillus* poseen genes relacionados con actividades PGPR, usando los siguientes criterios:

- Data Base: *RefSeq representative genome*
- Organism: *Bacillus* (taxid:1386)

Los algoritmos (*program selection*) usados en orden de prioridad fueron:

- *Highly similar sequences* (Megablast)
- *More dissimilar sequences* (Discontinuous Megablast)

Al obtener resultados de BLAST, los criterios para seleccionar el/los genes de interés fueron:

- Porcentaje de identidad entre las secuencias comparadas (*percent identity*) mayor a 70%
- Valor E (*E value*) menor a 0.0001

4.3 Almacenamiento y registro de secuencias de genes y genomas

A partir de la base de datos GenBank se descargaron las secuencias de los genes de interés, así como las de los genomas completos de *Bacillus* (en formato FASTA). Los genes con actividad PGPR de las especies de *Bacillus* previamente reportadas se resumieron y organizaron en la tabla anexa indicando:

- Función
- Actividad
- Nombre del gen
- ID del gen
- Tamaño total del gen
- Posición en el genoma de *Bacillus*
- Referencia bibliográfica

4.4 Creación de una base de datos

Se creó y organizó una base de datos almacenando las secuencias referencia de cada gen de interés y de los genomas completos de las especies que hayan mostrado actividades PGPR.

5 Resultados

5.1 Organización de la base de datos

Las secuencias de los genomas completos y de los genes descargados se organizaron siguiendo la jerarquía de carpetas mostrada a continuación; el primer nivel corresponde a la carpeta raíz (●), el siguiente a las carpetas (○) y, el último, a las subcarpetas correspondientes (■):

- Secuencias de genes que codifican proteínas relacionadas con actividades PGPR, en bacterias del género *Bacillus*
 - Secuencias referencia de Gene (NCBI)
 - Actividad fungicida
 - Producción de fitohormonas
 - Producción de sideróforos
 - Síntesis de antibióticos
 - Solubilización de fosfatos
 - Genomas de *Bacillus* y sus genes descargados de BLAST
 - NC_000964.3 *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* str. 168 complete genome (T)
 - NC_014551.1 *Bacillus amyloliquefaciens* DSM 7 = ATCC 23350, complete sequence (T)
 - NZ_AJVF01000039.1 *Bacillus siamensis* KCTC 13613 strain KCTC 13613(T) contig39, whole genome shotgun sequence (R)
 - NZ_CM000753.1 *Bacillus thuringiensis* serovar berliner ATCC 10792 chromosome, whole genome shotgun sequence (T)
 - NZ_CP007640.1 *Bacillus atrophaeus* subsp. *globigii* strain BSS chromosome (R)
 - NZ_CP009679.1 *Bacillus velezensis* strain JS25R chromosome, complete genome (R)
 - NZ_CP034551.1 *Bacillus cereus* ATCC 14579 chromosome, complete genome (T)

5.2 Genomas de *Bacillus* y sus genes descargados de BLAST

En la base de datos de GenBank de NCBI, hay 1,563 genomas completos de *Bacillus* secuenciados, pertenecientes a 130 especies diferentes.

Se seleccionaron las especies de *Bacillus* que tienen actividad PGPR reportada en la literatura, las secuencias de sus genomas completos se descargaron procurando que provinieran de una cepa tipo (*Type strain*), que correspondieran a un genoma de referencia en NCBI, y que pertenecieran al grupo de secuencias RefSeq (*Reference Sequence*) de NCBI.

Se descargaron en total 7 genomas completos en formato FASTA, nombrándolos conforme el siguiente formato: [Número de acceso].fasta

Genoma completo	Nombre de archivo
<i>Bacillus subtilis</i> ^T	NC_000964.3.fasta
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ^T	NC_014551.1.fasta
<i>Bacillus thuringiensis</i> ^T	NZ_CM000753.1.fasta
<i>Bacillus cereus</i> ^T	NZ_CP034551.1.fasta
<i>Bacillus atrophaeus</i> (R)	NZ_CP007640.1.fasta
<i>Bacillus velezensis</i> (R)	NZ_CP009679.1.fasta
<i>Bacillus siamensis</i> (R)	NZ_AJVF01000039.1.fasta

Tabla 1. Especies de *Bacillus* cuyo genoma completo fue descargado y su nombre de archivo FASTA. ^T: secuencia proveniente de una cepa tipo (type strain). (R): secuencia RefSeq

5.3 Secuencias de referencia (Gene NCBI)

Se descargaron y guardaron en formato FASTA las secuencias de 26 genes de referencia que codifican alguna proteína relacionada con actividades PGPR, nombrándolos conforme el siguiente formato:

[Gen ID] [Nombre del gen].fasta

- 5 genes están relacionados con la **SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATOS**:

Nombre del gen	Nombre del archivo
<i>phoD</i>	938391 phoD.fasta
<i>phoA</i>	936265 phoA.fasta
<i>phoE</i>	939773 phoE.fasta
<i>bcrC</i>	936946 bcrC.fasta
<i>estA</i>	67469473 estA.fasta

Tabla 2. Genes relacionados con la solubilización de fosfatos y su nombre de archivo FASTA.

Los suelos áridos suelen tener bajos niveles de fósforo disponible, que es un macronutriente esencial para el crecimiento de las plantas (Egamberdieva, *et al.*, 2007).

La capacidad de solubilizar fosfatos inorgánicos insolubles que pueden presentar las bacterias PGPR presentes en la rizosfera aumenta la disponibilidad de fósforo en el suelo proporcionando un suministro constante de este elemento, lo que conduce a un mejor crecimiento y desarrollo de las plantas, incluso en suelos áridos (Batool e Iqbal, 2019).

Las cactáceas, al igual que muchas plantas adaptadas a vivir en suelos áridos, enfrentan un desafío constante en la adquisición de nutrientes esenciales debido a la baja disponibilidad de diversos elementos en los suelos. La solubilización del

fosfato y la consiguiente mejora en la absorción de nutrientes permiten que las cactáceas desarrollen sistemas radiculares más eficientes y extensos. Esto les permite acceder a fuentes de agua y nutrientes más profundas en el suelo, lo que es particularmente valioso durante las sequías (Timofeeva, *et al.*, 2022).

Algunas especies del género *Bacillus* son conocidas por su importancia ecológica como bacterias solubilizadoras de fosfatos, ya que participan en el ciclo biogeoquímico del fósforo (Rodríguez y Fraga, 1999).

Alaylar *et al.* (2018) evaluaron mediante análisis molecular *in vitro* la efectividad del primer *pqqB1* para la selección de cepas bacterianas solubilizadoras de fosfato obtenidas de muestras de suelo. La presencia de la región del gen *pqqB*, está fuertemente relacionada con la actividad solubilizadora de fosfato de bacterias; la presencia de este gen se monitoreó mediante PCR usando primers específicos. Los productos amplificados se secuenciaron y analizaron con BLAST para determinar homólogos de la secuencia de nucleótidos y compararlos con otras secuencias bacterianas en GenBank, concluyendo que *B. cereus* es su pariente filogenético más cercano.

Peña-Yam *et al.* (2016) aislaron 6 bacterias del género *Bacillus* a partir de una muestra obtenida de suelo rizosférico en Yucatán, analizaron y cuantificaron *in vivo* las actividades PGPR correspondientes a producción de IAA y solubilización de fosfatos en la rizosfera de *Capsicum annum* (chile jalapeño), las identificaron a través de un análisis genómico en el que compararon las secuencias obtenidas con datos de GenBank en NCBI y realizaron un análisis *in vitro* de estas dos actividades.

Las nueve cepas aisladas no mostraron diferencia significativa en el índice de solubilización (SI) de fosfatos, con un rango de 1.3 a 1.6.

- 7 genes están relacionados con la **PRODUCCIÓN DE ÁCIDO INDOLACÉTICO:**

Nombre del gen	Nombre del archivo
<i>trpA</i>	939011 trpA.fasta
<i>trpB</i>	939008 trpB.fasta
<i>trpC</i>	37862895 trpC.fasta
<i>trpD</i>	939007 trpD.fasta
<i>trpE</i>	939008 trpE.fasta
<i>cgeE</i>	940064 cgeE.fasta
<i>epsM</i>	936372 epsM.fasta

Tabla 3. Genes relacionados con la producción de ácido indolacético y su nombre de archivo FASTA.

Las PGPR que producen ácido indolacético (IAA) promueven el crecimiento de las plantas en condiciones de estrés hídrico y nutrientes limitados (Goswami, *et al.*, 2016).

En suelos áridos, la capacidad de las plantas para conservar y utilizar eficientemente el agua es crucial. El IAA actúa como una hormona vegetal que promueve la elongación de las raíces, lo que permite a las plantas acceder a fuentes de agua más profundas, facilitando y haciendo más eficiente su absorción y la de otros nutrientes esenciales (Bhattacharyya y Jha, 2011).

En el trabajo de Peña-Yam *et al.* (2016), para detectar la producción de IAA, se cultivaron las cepas bacterianas en medio Luria-Bertani (LB) suplementado con 40 µg/ml de triptófano como precursor de IAA, cuya producción se determinó en los sobrenadantes de los cultivos utilizando el reactivo de Salkowski (1.5 ml de FeCl₃•6H₂O en 80 ml de H₂SO₄ al 60%).

Las cepas *B. megaterium* ITC-BL8, *B. subtilis* ITC-BL11 y *B. subtilis* ITC-BL12 mostraron la mayor producción de IAA con valores de 16.9 a 24.3 µg/mL, los cuales fueron significativamente mayores que los de las otras cepas aisladas.

- 5 genes están relacionados con la **PRODUCCIÓN DE SIDERÓFOROS:**

Nombre del gen	Nombre del archivo
<i>menF</i>	937190 menF.fasta
<i>dhbC</i>	937162 dhbC.fasta
<i>dhbA</i>	936579 dhbA.fasta
<i>besA</i>	936592 besA.fasta
<i>yclQ</i>	64302245 yclQ.fasta

Tabla 4. Genes relacionados con la producción de sideróforos y su nombre de archivo FASTA.

Los suelos áridos suelen ser deficientes en hierro, lo que puede limitar el crecimiento de las plantas. En respuesta a esta deficiencia, las plantas inducen funciones que actúan en la zona donde interactúa la raíz con el suelo para solubilizar y, subsecuentemente, transferir el hierro a través de la membrana plasmática de las células de las raíces (Walker y Connolly, 2008).

Los sideróforos secretados por las PGPR pueden quelar el hierro presente en el suelo, convirtiéndolo en una forma más soluble y disponible para las raíces de las plantas, lo que aumenta su capacidad para absorber el hierro (Nadeem, *et al.*, 2012).

La disponibilidad de hierro es esencial para muchas funciones metabólicas de las plantas, incluyendo la fotosíntesis y la producción de clorofila (Ferreira, *et al.*, 2019). El suministro adecuado de hierro a las plantas en suelos áridos puede ayudar a mitigar el estrés nutricional (Goswami, *et al.*, 2016), lo que es fundamental para la supervivencia de las cactáceas en entornos con recursos limitados.

Además, la producción de estas sustancias brinda ventaja a las PGPR a la hora de colonizar la rizosfera sobre otros microorganismos con potencial patogénico, sirviendo, indirectamente, como mecanismo de biocontrol (Beneduzi, *et al.*, 2012),

algo importante en los suelos áridos donde la competencia entre organismos por los recursos es intensa debido a las abundantes condiciones de estrés abiótico (Persello-Cartieaux, *et al.*, 2003).

La producción de sideróforos es una actividad normalmente atribuida a las bacterias del género *Pseudomonas*, sin embargo, algunas especies de *Bacillus* han mostrado esta capacidad.

Rizzi *et al.*, (2019) compararon *in vitro* el crecimiento de una cepa silvestre de *Bacillus subtilis* contra el crecimiento de dos cepas mutantes en un medio suplementado con FeCl₃; una de las mutantes era deficiente en la producción de sideróforos (tenía una delección de los genes *dhbA-dhbF*) y la otra mutante era deficiente en la formación de biopelícula (tenía una delección de los genes *epsA-epsO* y el gen *tasA*).

El crecimiento de las cepas mutantes fue considerablemente disminuido comparado con la cepa silvestre. Además, observaron que, en las etapas tempranas de crecimiento, la cepa silvestre y la cepa mutante *epsA-O tasA* tenían el mismo nivel de producción de bacilibactina, la producción de esta se redujo aproximadamente después de 19 horas en la cepa mutante, al mismo tiempo que la cepa *silvestre* comenzó a formar biopelícula.

Miethke, *et al.*, (2006) demostraron, mediante un modelo *in vitro*, que la bacilibactina (BB) es el principal sideróforo producido por *Bacillus*. Compararon la cepa silvestre ATCC 21332 con la cepa JJM405 que carece de la segunda parte del gen *dhbF*. Las colonias de la cepa silvestre formaron halos de solubilización en medio agar-CAS, mientras que la cepa JJM405 tuvo una formación de halo drásticamente reducida. Esto se debe a que el operón *dhb*, además de codificar la NRPS de bacilibactina DhbEBF, también codifica las enzimas para la síntesis de 2,3-dihidroxibenzoato (DHB) DhbCBA, que es un agente quelante de hierro con baja eficacia.

Dado que *Bacillus* es un género extensamente presente en la naturaleza, sus capacidades para formar endosporas longevas y tolerantes al estrés -que le ayudan a sobrevivir a condiciones ambientales adversas- (Radhakrishnan, *et al.*, 2017) y para colonizar el terreno formando una biopelícula (Rizzi, *et al.*, 2019), la postulan como una PGPR apta para colonizar la rizosfera y asistir a las plantas a través de la producción de sideróforos.

- 5 genes están relacionados con **ACTIVIDADES ANTIFÚNGICAS:**

Nombre del gen	Nombre del archivo
<i>bglS</i>	937470 bglS.fasta
<i>bamA</i>	66322119 bamA.fasta
<i>bamD</i>	66322120 bamD.fasta
<i>bamB</i>	66322118 bamB.fasta
<i>bamC</i>	66322117 bamC.fasta

Tabla 5. Genes relacionados con actividades antifúngicas y su nombre de archivo FASTA.

- 4 genes están relacionados con la **SÍNTESIS DE ANTIBIÓTICOS:**

Nombre del gen	Nombre del archivo
<i>srfAA</i>	938306 srfAA.fasta
<i>srfAB</i>	938303 srfAB.fasta
<i>srfAC</i>	938308 srfAC.fasta
<i>srfAD</i>	938300 srfAD.fasta

Tabla 6. Genes relacionados con síntesis de antibióticos y su nombre de archivo FASTA.

Las plantas carecen de un sistema inmune adaptativo, por lo que dependen en gran medida de la protección proporcionada por las PGPR y sus mecanismos de biocontrol contra hongos y bacterias patógenas con potencial para inducir estrés biótico, privándolas de nutrientes necesarios (Singla y Krattinger, 2016) y perturbando su metabolismo normal, dando como resultado la limitación del crecimiento e incluso la muerte de la planta (Hashem, *et al.*, 2019).

Las PGPR tienen la capacidad de sintetizar enzimas y varios metabolitos con actividad antibiótica y antifúngica (Shoda, 2000), modificando el ambiente para su beneficio para protegerse y proteger a las plantas del estrés biótico previniendo infecciones causadas por hongos o bacterias, además de promover la salud de las raíces de las plantas (Hashem, *et al.*, 2019).

Gu, *et al.*, (2017), demostraron que *B. amyloliquefaciens* tiene una fuerte actividad antagonista contra *Fusarium graminearum* y que la bacilomicina está involucrada en este proceso. En la cepa *silvestre* FZB4, la proteína Sfp 4'-fosfopanteteinil transferasa actúa como la proteína peptidil transferasa y es esencial para la producción de tres polipéptidos y policétidos. Cuando se analizó *in vitro* la cepa CH03, deficiente de Sfp, no mostró actividad antifúngica, esto indicó que los lipopéptidos y policétidos producidos a través de la ruta dependiente de Sfp estaban involucrados en la supresión del crecimiento de *F. graminearum*.

Bartal *et al.*, (2023), identificaron 25 cepas de *Bacillus* de diferentes especies provenientes de suelo rizosférico de diferentes especies vegetales, y realizaron un análisis cuantitativo de la producción total de surfactina.

Las cepas de *B. velezensis* y *B. atrophaeus* produjeron surfactina en un rango de 2-7 mg/L. Las cepas de *B. subtilis* produjeron cantidades menores a 1 mg/L y en las de *B. cereus* no se detectó producción.

Los genes descargados se compararon con los genomas de *Bacillus* usando la herramienta BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), para determinar cuáles genomas contienen los genes de interés y descargar la secuencia correspondiente de cada gen en cada especie de *Bacillus*.

5.4 Alineamiento con BLAST

En el genoma de *B. subtilis* se encontraron genes que codifican proteínas con actividad solubilizadora de fosfatos, producción de ácido indolacético, producción de sideróforos y de síntesis de antibióticos. Sólo se encontró un gen codificante de una actividad fungicida. Esta cepa de *B. subtilis* es considerada en NCBI como la cepa de referencia y fue utilizada en este trabajo para obtener las secuencias de referencia de varios genes (Tabla 7).

En el genoma de *B. amyloliquefaciens* se encontraron genes con actividad solubilizadora de fosfatos, producción de ácido indolacético, actividad fungicida y de síntesis de antibióticos. Sólo se encontraron dos genes con actividad productora de sideróforos.

En los genomas de *B. thuringiensis* y *B. cereus* se encontraron los genes productores de ácido indolacético correspondientes al opero triptófano (*trp*) y un gen con actividad de solubilización de fosfatos.

En el genoma de *B. atrophaeus* se encontraron los 26 genes descargados para las cinco actividades PGPR.

En el genoma de *B. velezensis* se encontraron genes con actividad solubilizadora de fosfatos, producción de IAA, actividad fungicida, síntesis de antibióticos y dos genes productores de sideróforos.

En el genoma de *B. siamensis*, se encontraron dos genes con actividad solubilizadora de fosfatos, tres productores de sideroforos y uno con actividad fungicida.

En la Tabla 7 se resumen de los resultados se muestran qué genes se encontraron en los genomas descargados, indicando el porcentaje de similitud entre la secuencia del gen con el genoma de referencia.

Actividad	Gen	Especie / Similitud (%)						
		sub	amy	thur	cer	atro	vele	siam
Solub. de fosfatos	phoD	100	77.8	-	-	80.42	77.97	-
	phoA	100	71.55	-	-	77.05	71.11	-
	phoE	100	72.36	-	-	76.5	70.60	-
	bcrC	100	76.17	-	-	77.91	76.55	76.17
	estA	72.7	70.7	100	99.73	70	70.7	70.56
Producción de IAA	trpA	100	75.45	75.47	83.58	79.51	75.03	-
	trpB	100	76.56	75.16	74.89	79.15	76.72	-
	trpC	100	70.20	71.37	72.03	75.07	70.53	-
	trpD	100	73.99	76.6	76.6	74.78	73.04	-
	trpE	100	73	74.59	74.23	77.89	72.50	-
	cgeE	100	-	-	-	72.63	-	-
	epsM	100	-	-	-	70.12	-	-
Producción de sideróforos	menF	100	72.68	-	-	76.52	72.89	-
	dhbC	100	-	-	-	70.45	-	70.16
	dhbA	100	-	-	-	74.21	-	73.88
	besA	100	-	-	-	72	-	71.5
	yclQ	91.22	73.26	-	-	81.02	73.47	-
Actividad fungicida	bgIS	100	90.54	-	-	94.40	91.97	90.16
	bamA	-	90.79	-	-	85.48	100	-
	bamD	-	90.77	-	-	84.12	100	-
	bamB	-	90.02	-	-	85.32	100	-
	bamC	-	79.79	-	-	87.54	100	-
Síntesis de antibióticos	srfAA	100	73.41	-	-	77.1	73.49	-
	srfAB	100	74.04	-	-	77.18	73.88	-
	srfAC	100	71.37	-	-	74.66	86.72	-
	srfAD	100	75.57	-	-	79.44	75.32	-

Tabla 7. Porcentajes de similitud de cada gen tras el alineamiento en BLAST. Las abreviaturas en el encabezado de cada columna son: sub: *B. subtilis*, amy; *B. amyloliquefaciens*; thur: *B. thuringiensis*; cer: *B. cereus*; atro: *B. atrophaeus*; vele: *B. velezensis*; siam: *B. siamensis*

5.5 Tabla descriptiva

Se elaboró una tabla descriptiva con la información de cada gen, indicando su función, la descripción de la proteína que codifica, el nombre del gen, su ID en NCBI y el tamaño total del gen (en pares de bases).

Para diferenciar las especies de *Bacillus* reportadas en la tabla se usó el nombre de la especie, indicando si se trata de una cepa tipo (T) o una RefSeq (R) y su número de acceso en GenBank, así como la ubicación de cada gen en el genoma de la especie correspondiente, indicando sus posiciones de inicio y fin y su porcentaje de

similitud. Se indicaron las referencias que reportan a cada especie como PGPR (Tabla 8).

Función	Descripción	Gen	ID de gen en NCBI	Tamaño de gen (bp)	Especie						Referencia
					subtilis (T) NC_000964.3			atrophaeus (R) NZ_CP007640.1			
					Inicio	Final	Similitud (%)	Inicio	Final	Similitud (%)	
Solubilización de fosfatos	Fosfatasa alcalina	<i>phoD</i>	938391	1752	284011	285762	100	3845918	3847669	80.42	Rodriguez, <i>et al.</i> , 2014; Meng, <i>et al.</i> , 2019
		<i>phoA</i>	936265	1386	1017083	1018468	100	406125	407501	77.05	
	Fosfatasa	<i>phoE</i>	939773	582	1108736	1109317	100	507738	508303	76.5	Guo, <i>et al.</i> , 2013; Meng, <i>et al.</i> , 2019
		<i>bcrC</i>	936946	582	3758547	3759128	100	3098361	3098941	77.91	
Carboxilesterasa	<i>estA</i>	67469473	741	3454221	3454946	72.7	2819677	2820402	70	Zwick, 2012	

Tabla 8. Fragmento ilustrativo de Tabla anexa con la información de los genes de *Bacillus*, relacionados con actividades PGPR, cuyas secuencias fueron descargadas.

6 Conclusiones

1. Se realizó una extensa investigación bibliográfica sobre actividades PGPR de bacterias del género *Bacillus* y los genes involucrados en la síntesis de metabolitos involucrados en estas actividades.
2. Se buscaron los registros de los genes correspondientes, las secuencias referencia de los genes y de los genomas de las diferentes especies de *Bacillus* en la base de datos GenBank y se descargaron.
3. Se usó la herramienta BLAST para alinear las secuencias referencia de los genes con los genomas completos de *Bacillus*, descargando los fragmentos alineados.
4. Se creó una base de datos propia a partir de la información de las secuencias de los genes relacionados con actividades PGPR en el género *Bacillus*.

7 Referencias

- Alaylar, B., Gülluce, M., Karadayi, G., & Karadayi, M. (2018). Isolation of PGPR strains with phosphate solubilizing activity from Erzurum and Their Molecular Evaluation by Using Newly Designed Specific primer for *pqqB* Gene. *International Journal of Scientific & Engineering Research*. 9(5), 103-106.
- An, R., & Moe, L. A. (2016). Regulation of Pyrroloquinoline Quinone-Dependent Glucose Dehydrogenase Activity in the Model Rhizosphere-Dwelling Bacterium *Pseudomonas putida* KT2440. *Applied and environmental microbiology*, 82(16), 4955–4964.
- Anthony, C. (2004). The quinoprotein dehydrogenases for methanol and glucose. *Archives of biochemistry and biophysics*. 428(1), 2–9.
- 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. *Annual review of plant biology*. 57, 233–266.
- Bal, H. B., Das, S., Dangar, T. K., & Adhya, T. K. (2013). ACC deaminase and IAA producing growth promoting bacteria from the rhizosphere soil of tropical rice plants. *Journal of basic microbiology*. 53(12), 972-984
- Banik, A., Mukhopadhaya, S. K., & Dangar, T. K. (2016). Characterization of N₂-fixing plant growth promoting endophytic and epiphytic bacterial community of Indian cultivated and wild rice (*Oryza spp.*) genotypes. *Planta*. 243(3), 799-812.

- Bashan, Y., Esther, P., Salazar, B., de-Bashan, L. E., Bacilio, M., Hernández, J. P., Leyva, L. A., Romero, B., Villalpando, R., Bethlenfalvay, G. J. (2003). Reforestación de tierras erosionadas en el desierto: el papel de las bacterias promotoras de crecimiento en plantas y la materia orgánica. *Suelos Ecuatoriales*. 35(1), 70-77.
- Bartal, A., Huynh, T., Kecskeméti, A., Vörös, M., Kedves, O., Allaga, H., Varga, M., et al. (2023). Identifications of Surfactin-Type Biosurfactants Produced by *Bacillus* Species Isolated from Rhizosphere of Vegetables. *Molecules*, 28(3), 1172.
- Batool, S., & Iqbal, A. (2019). Phosphate solubilizing rhizobacteria as alternative of chemical fertilizer for growth and yield of *Triticum aestivum* (Var. Galaxy 2013). *Saudi journal of biological sciences*. 26(7), 1400-1410.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*. 35(4), 1044-1051.
- Bertani, I., Abbruscato, P., Piffanelli, P., Subramoni, S., & Venturi, V. (2016). Rice bacterial endophytes: isolation of a collection, identification of beneficial strains and microbiome analysis. *Environmental microbiology reports*. 8(3), 388-398.
- Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2011). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327–1350.
- Cai, X. C., Liu, C. H., Wang, B. T., & Xue, Y. R. (2017). Genomic and metabolic traits endow *Bacillus velezensis* CC09 with a potential biocontrol agent in control of wheat powdery mildew disease. *Microbiological research*. 196, 89–94.
- Carro, L., & Nouioui, I. (2017). Taxonomy and systematics of plant probiotic bacteria in the genomic era. *AIMS microbiology*. 3(3), 383–412.
- Cloudsley-Thompson, J. L. (1979). *El hombre y la biología de zonas áridas*. Blume Ecología, Barcelona. 255 pp.
- Comisión Nacional de las Zonas Áridas (CONAZA). (1994). *Mezquite (Prosopis spp.)*. Cultivo alternativo para las zonas áridas y semiáridas de México. CONAZA, Instituto Nacional de Ecología, México. 30 pp.
- Comisión Nacional de las Zonas Áridas (CONAZA). (2019) <https://www.gob.mx/conaza/prensa/priorizaran-atencion-a-comunidades-de-extrema-marginacion-de-las-zonas-aridas-y-en-proceso-de-desertificacion-198461>
- Dang, Y., Zhao, F., Liu, X., Fan, X., Huang, R., Gao, W., Wang, S., & Yang, C. (2019). Enhanced production of antifungal lipopeptide iturin A by *Bacillus amyloliquefaciens* LL3 through metabolic engineering and culture conditions optimization. *Microbial cell factories*. 18(1), 68.
- Dean, R. L. (2002). Kinetic studies with alkaline phosphatase in the presence and absence of inhibitors and divalent cations. *Biochemistry and molecular biology education*. 30, 401-407.
- Egamberdieva, D., Kamilova, F., Validov, S., Gafurova, L., Kucharova, Z., & Lugtenberg, B. (2007). High incidence of plant growth-stimulating bacteria associated with the rhizosphere of wheat grown on salinated soil in Uzbekistan. *Environmental Microbiology*.
- Ferreira, M. J., Silva H., Cunha, A. (2019). Siderophore-producing rhizobacteria as a promising tool for empowering plants to cope with iron limitation in saline soils: A review. *Pedosphere*. 29(4), 409-420.
- Furtado G. P., Ribeiro L. F., Santos C. R., Tonoli C. C., de Souza, A. R., Oliveira, R. R., Murakami M. T., Ward, R. J. (2011). Biochemical and structural characterization of a β -1,3-1,4-glucanase from *Bacillus subtilis* 168. *Process Biochemistry*. 46(5), 1202-1206.
- Gadd, G. M. (1999). Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes. *Advances in microbial physiology*. 41, 47–92.
- García-Fraile, P., Carro, L., Robledo, M., Ramírez-Bahena, M. H., Flores-Félix, J. D., Fernández, M. T., Mateos, P. F., Rivas, R., Igual, J. M., Martínez-Molina, E., Peix, Á., & Velázquez, E. (2012). Rhizobium promotes non-legumes growth and quality in several production steps: towards a biofertilization of edible raw vegetables healthy for humans. *PloS one*, 7(5), e38122.


- Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian journal of microbiology*, 41(2), 109–117.
- Gogarten, J. P., & Townsend, J. P. (2005). Horizontal gene transfer, genome innovation and evolution. *Nature reviews. Microbiology*. 3(9), 679–687.
- Gollnick, P. (1994). Regulation of the *Bacillus subtilis trp* operon by an RNA-binding protein. *Molecular Microbiology*. 11(6), 991–997.
- Gontia-Mishra, I., Sapre, S., Sharma, A., & Tiwari, S. (2016). Amelioration of drought tolerance in wheat by the interaction of plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Biology*. 18(6), 992–1000.
- González Medrano, F. (2012) Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales – Instituto Nacional de Ecología, México, D.F.
- Gu, Q., Yang, Y., Yuan, Q., Shi, G., Wu, L., Lou, Z., Huo, R., Wu, H., Borriss, R., & Gao, X. (2017). Bacillomycin D Produced by *Bacillus amyloliquefaciens* Is Involved in the Antagonistic Interaction with the Plant-Pathogenic Fungus *Fusarium graminearum*. *Applied and environmental microbiology*, 83(19), e01075-17.
- Dweipayan Goswami, Janki N. Thakker & Pinakin C. Dhandhukia | Manuel Tejada Moral (Reviewing Editor) (2016) Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review, *Cogent Food & Agriculture*, 2:1.
- Goudjal, Y., Toumatia, O., Yekkour, A., Sabaou, N., Mathieu, F., & Zitouni, A. (2014). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomato plant growth by endophytic actinomycetes isolated from native plants of Algerian Sahara. *Microbiological research*. 169(1), 59–65.
- Halder, A. K., & Chakrabartty, P. K. (1993). Solubilization of inorganic phosphate by *Rhizobium*. *Folia Microbiologica*. 38(4), 325–330.
- Hashem, A., Tabassum, B., & Fathi Abd_Allah, E. (2019). *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
- Hernández, H. M., Cházaro, M., Gómez-Hinostrosa, C. (2017). *Echinocactus platyacanthus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2017: e.T152537A121477917. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T152537A121477917.en>
- Hernández, J. G., Chávez R. J., & Sánchez M. (2007). Diversidad y estrategias para la conservación de cactáceas en el Semidesierto Queretano. *CONABIO. Biodiversitas*. 70, 6-9.
- Hernández-Magaña, R., Hernández-Oria, J. G., & Chávez, R. (2012). Datos para la conservación florística en función de la amplitud geográfica de las especies en el Semidesierto Queretano, México. *Acta botánica mexicana*. 105-140.
- Hiltner L (1904) Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. *Arb DLG* 98:59–78.
- Hunt, D. (1999). *Cites Cactaceae checklist*. Second Edition. Royal Botanic Gardens. United Kingdom. 190 pp
- Idris, E. E., Iglesias, D. J., Talon, M., & Borriss, R. (2007). Tryptophan-dependent production of indole-3-acetic acid (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Molecular plant-microbe interactions: MPMI*, 20(6), 619–626.
- Kim, S. Y., Lee, S. Y., Weon, H. Y., Sang, M. K., & Song, J. (2017). Complete genome sequence of *Bacillus velezensis* M75, a biocontrol agent against fungal plant pathogens, isolated from cotton waste. *Journal of biotechnology*. 241, 112–115.
- Kim, W. I., Cho, W. K., Kim, S. N., Chu, H., Ryu, K. Y., Yun, J. C., & Park, C. S. (2011). Genetic diversity of cultivable plant growth-promoting rhizobacteria in Korea. *Journal of microbiology and biotechnology*. 21(8), 777–790.
- Kumar, A., Kishor, A., & Kumar, P. (2019) *PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture*. Food Security and Environmental Management. First Edition. Woodhead Publishing. India. 267 pp, pp 1-10.

- Kumar, A., Maurya, B. R., & Raghuwanshi, R. (2014). Isolation and characterization of PGPR and their effect on growth, yield and nutrient content in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(4), 121–128.
- Lin, G. H., Chang, C. Y., & Lin, H. R. (2015). Systematic profiling of indole-3-acetic acid biosynthesis in bacteria using LC-MS/MS. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*. 988, 53–58.
- Lin, S. C., Minton, M. A., Sharma, M. M., & Georgiou, G. (1994). Structural and immunological characterization of a biosurfactant produced by *Bacillus licheniformis* JF-2. *Applied and environmental microbiology*. 60(1), 31–38.
- Ludueña, L. M., Anzuay, M. S., Angelini, J. G., Barros, G., Luna, M. F., Monge, M. del P., Fabra, A., Taurian, T. (2016). Role of bacterial pyrroloquinoline quinone in phosphate solubilizing ability and in plant growth promotion on strain *Serratia* sp. S119. *Symbiosis*. 72(1), 31–43.
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual review of microbiology*, 63, 541–556.
- Mantilla, L. C., Esquivel A. L., & Negrete P. J. (2011). Bacterias nativas solubilizadores de fosfatos para incrementar los cultivos en el departamento de Córdoba-Colombia. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. 9(2), 114–120.
- Marraffini, L. A., & Sontheimer, E. J. (2008). CRISPR interference limits horizontal gene transfer in *staphylococci* by targeting DNA. *Science (New York, N.Y.)*. 322(5909), 1843–1845.
- Mehmood, M. A., Xiao, X., Hafeez, F. Y., Gai, Y., & Wang, F. (2010). Molecular characterization of an endochitinase from *Bacillus thuringiensis* subsp. konkukian. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 26(12), 2171–2178.
- Meng, D., Zhai, L., Tian, Q., Guan, Z., Cai, Y., & Liao, X. (2019). Complete genome sequence of *Bacillus amyloliquefaciens* YP6, a plant growth rhizobacterium efficiently degrading a wide range of organophosphorus pesticides. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(11), 2668–2672.
- Miethke, M., Klotz, O., Linne, U., May, J. J., Beckering, C. L., & Marahiel, M. A. (2006). Ferric-bacillibactin uptake and hydrolysis in *Bacillus subtilis*. *Molecular microbiology*. 61(6), 1413–1427.
- Mongkolthararak W. (2012). Classification of *Bacillus* beneficial substances related to plants, humans and animals. *Journal of microbiology and biotechnology*, 22(12), 1597–1604.
- Moyne, A. L., Cleveland, T. E., & Tuzun, S. (2004). Molecular characterization and analysis of the operon encoding the antifungal lipopeptide bacillomycin D. *FEMS microbiology letters*. 234(1), 43-49.
- Nadeem, S. M., Shaharouna, B., Arshad, M., & Crowley, D. E. (2012). Population density and functional diversity of plant growth promoting rhizobacteria associated with avocado trees in saline soils. *Applied Soil Ecology*, 62, 147–154.
- Nakano, M. M., Magnuson, R., Myers, A., Curry, J., Grossman, A. D., & Zuber, P. (1991). *srfA* is an operon required for surfactin production, competence development, and efficient sporulation in *Bacillus subtilis*. *Journal of bacteriology*, 173(5), 1770–1778.
- Ongena, M., & Jacques, P. (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in microbiology*, 16(3), 115–125.
- Pecci, Y., Rivardo, F., Martinotti, M. G., & Allegrone, G. (2010). LC/ESI-MS/MS characterisation of lipopeptide biosurfactants produced by the *Bacillus licheniformis* V9T14 strain. *Journal of mass spectrometry: JMS*, 45(7), 772–778.
- PERSELLO-CARTIEAUX, F., NUSSAUME, L. and ROBAGLIA, C. (2003), Tales from the underground: molecular plant–rhizobacteria interactions. *Plant, Cell & Environment*, 26: 189-199.
- Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Abd Allah, E. F. (2017). *Bacillus*: A Biological Tool for Crop Improvement through Bio-Molecular Changes in Adverse Environments. *Frontiers in physiology*, 8, 667.
- Rivas, M. V., Jarvis, E. D., & Rudner, R. (1990). The structure of the *trpE*, *trpD* and 5' *trpC* genes of *Bacillus pumilus*. *Gene*, 87(1), 71–78.

- Rizzi, A., Roy, S., Bellenger, J. P., & Beaugard, P. B. (2019). Iron Homeostasis in *Bacillus subtilis* Requires Siderophore Production and Biofilm Formation. *Applied and environmental microbiology*, 85(3), e02439-18.
- Rodríguez, F., Lillington, J., Johnson, S., Timmel, C. R., Lea, S. M., & Berks, B. C. (2014). Crystal structure of the *Bacillus subtilis* phosphodiesterase *PhoD* reveals an iron and calcium-containing active site. *The Journal of biological chemistry*, 289(45), 30889–30899.
- Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17(4-5), 319-339.
- Saha, M., Sarkar, S., Sarkar, B., Sharma, B. K., Bhattacharjee, S., & Tribedi, P. (2016). Microbial siderophores and their potential applications: a review. *Environmental science and pollution research international*, 23(5), 3984–3999.
- Sánchez, M., Chávez, R., Hernández, J. (2006). Propagación de especies amenazadas de la familia Cactaceae del Semidesierto Queretano. *Boletín de la sociedad latinoamericana y del Caribe de cactáceas y otras suculentas*. 3, 9-13.
- Sayed, R. Z. (Ed.). (2019). *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Stress Management, Volume 2: Rhizobacteria in biotic stress management. Microorganisms for Sustainability*. Springer. India. 420 pp, pp 1-4.
- Schalk, I. J., & Mislin, G. L. A. (2017). Bacterial Iron Uptake Pathways: Gates for the Import of Bactericide Compounds. *Journal of medicinal chemistry*, 60(11), 4573–4576.
- SEMARNAT. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario oficial de la Federación. 30 de diciembre 2010. Segunda edición. México, D.F., México.
- Ser, H. L., Tan, W. S., Yin, W. F. & Chan, K. G., & Letchumanan, V. (2020). Whole genome sequence of MUM116, a *Bacillus* species isolated from intertidal soil. *Progress in microbes and molecular biology*. 3(1).
- Shao, J., Li, S., Zhang, N., Cui, X., Zhou, X., Zhang, G., Shen, Q., & Zhang, R. (2015). Analysis and cloning of the synthetic pathway of the phytohormone indole-3-acetic acid in the plant-beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. *Microbial cell factories*. 14, 130.
- Shoda, M. (2000). Bacterial control of plant diseases. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 89(6), 515–521. doi:10.1016/s1389-1723(00)80049-3
- Simonetti, E., Viso, N. P., Montecchia, M., Zilli, C., Balestrasse, K., & Carmona, M. (2015). Evaluation of native bacteria and manganese phosphite for alternative control of charcoal root rot of soybean. *Microbiological research*, 180, 40–48.
- Singla, J., & Krattinger, S. G. (2016). Biotic Stress Resistance Genes in Wheat. *Encyclopedia of Food Grains*, 388–392.
- Sonenshein, A., L., Hoch., J. A., Losick, R. (1993). *Bacillus subtilis* and other Gram-positive bacteria: Biochemistry, physiology, and molecular genetics. First Edition. American Society for Microbiology. United States of America. 987pp, pp. 269-280.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS microbiology reviews*, 31(4), 425–448.
- Stein, T. (2005). *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses, and specific functions. *Molecular microbiology*. 56(4), 845-857.
- Subramanian, P., Kim, K., Krishnamoorthy, R., Mageswari, A., Selvakumar, G., & Sa, T. (2016). Cold stress tolerance in psychrotolerant soil bacteria and their conferred chilling resistance in tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) under low temperatures. *PloS one*. 11(8), e0161592.
- Sun, M., Li, Y. Y., Wu, Y., Zhang, Y. Z., Guan, Z. B., Cai Y. J., Liao, X. R. (2017). Cloning, expression, and sequence analysis of siderophore synthesis enzyme genes *dhbA*, *dhbB* and *dhbC* of strain *Bacillus amyloliquefaciens* SYBC H47. *Genomics and Applied Biology*. 36, 4175–4183.
- Tariq, M., Noman, M., Ahmed, T., Hameed, A., Manzoor, N., & Zafar, M. (2017). Antagonistic features displayed by Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Review. *Journal of plant science and phytopathology*. 1, 38-43.

- Timofeeva, A., Galyamova, M., & Sedykh, S. (2022). Prospects for Using Phosphate-Solubilizing Microorganisms as Natural Fertilizers in Agriculture. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(16),
- Tsavkelova, E. A., Cherdyntseva, T. A., Botina, S. G., & Netrusov, A. I. (2007). Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiological research*, 162(1), 69–76.
- Tsukagoshi, N., Tamura, G., & Arima, K. (1970). A novel protoplast-bursting factor (surfactin) obtained from *Bacillus subtilis* IAM 1213. II. The interaction of surfactin with bacterial membranes and lipids. *Biochimica et biophysica acta*, 196(2), 211–214.
- Tsukanova, K. A., Chebotar, V. K., Meyer, J. J. M., & Bibikova, T. N. (2017). Effect of plant growth-promoting Rhizobacteria on plant hormone homeostasis. *South African Journal of Botany*, 113, 91–102.
- Verma, J. P., Yadav, J., Tiwari, K. N., & Singh, V. (2010). Impact of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Crop Production. *International Journal of Agricultural Research*. 5(11), 954–983.
- Vollenbroich, D., Pauli, G., Ozel, M., & Vater, J. (1997). Antimycoplasma properties and application in cell culture of surfactin, a lipopeptide antibiotic from *Bacillus subtilis*. *Applied and environmental microbiology*, 63(1), 44–49.
- Walker, E. L., & Connolly, E. L. (2008). Time to pump iron: iron-deficiency-signaling mechanisms of higher plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(5), 530–535.
- Wan, C., Fan, X., Lou, Z., Wang, H., Olatunde, A., & Rengasamy, K. R. R. (2022). Iturin: cyclic lipopeptide with multifunction biological potential. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(29), 7976–7988.
- Yuwen, L., Zhang, F. L., Chen, Q. H., Lin, S. J., Zhao, Y. L., & Li, Z. Y. (2013). The role of aromatic L-amino acid decarboxylase in bacillamide C biosynthesis by *Bacillus atrophaeus* C89. *Scientific reports*, 3, 1753.
- Zawadzka, A. M., Kim, Y., Maltseva, N., Nichiporuk, R., Fan, Y., Joachimiak, A., & Raymond, K. N. (2009). Characterization of a *Bacillus subtilis* transporter for petrobactin, an anthrax stealth siderophore. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(51), 21854–21859.
- Zhang, N., Yang, D., Kendall, J. R., Borriss, R., Druzhinina, I. S., Kubicek, C. P., Shen, Q., & Zhang, R. (2016). Comparative genomic analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis* reveals evolutionary traits for adaptation to plant-associated habitats. *Frontiers in microbiology*. 7, 2039.
- Zhi, Y., Wu, Q., & Xu, Y. (2017). Genome and transcriptome analysis of surfactin biosynthesis in *Bacillus amyloliquefaciens* MT45. *Scientific reports*, 7, 40976.

Vo. Bo. del contenido académico del Informe de Conclusión de Servicio Social titulado: "Identificación y comparación de secuencias de genes que codifican proteínas relacionadas con actividades PGPR, en bacterias del género *Bacillus*"


DR. HUGO CÉSAR RAMÍREZ SAAD
 Depto. Sistemas Biológicos
 No. Eco. 8642
 Asesor interno


DRA. MA. EUGENIA DE LA TORRE H.
 Catedrática CONHACYT-UAM XOCHIMILCO
 Cédula doctorado 8273669
 Asesora externa