



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA

Comunidades de bacterias y protozoos asociados a la
rizosfera de *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba* y
Ricciocarpos natans

Eliceo Quisehuatl Tepexicuapan

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2013

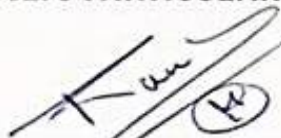
La presente tesis titulada: **Comunidades de bacterias y protozoos asociados a la rizosfera de *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba* y *Ricciocarpos natans***, realizada por el alumno: **Eliceo Quischnatl Tepexicuapan**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



RONALD FERRERA CERRATO

ASESOR:



ALEJANDRO ALARCÓN

ASESOR:



JUAN JOSÉ ALMARAZ SUÁREZ

ASESOR:



SALVADOR RODRÍGUEZ ZARAGOZA

ASESOR:



HILDA VICTORIA SILVA ROJAS

Montecillo, Texcoco, México, mayo 2013

COMUNIDADES DE BACTERIAS Y PROTOZOOS ASOCIADOS A LA RIZOSFERA

DE *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba* y *Ricciocarpos natans*

Eliceo Quisehuatl Tepexicuapan, M en C.

Colegio de Postgraduados, 2013

Las raíces de las plantas exudan compuestos que promueven la proliferación de microorganismos, fenómeno conocido como efecto rizosfera. Este efecto ha sido ampliamente estudiado en raíces de plantas terrestres; sin embargo, poco se conoce sobre la influencia de las raíces de plantas acuáticas en las comunidades microbianas. Por ello se analizaron los géneros bacterianos cultivables y de protozoos presentes en la rizosfera de *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba* y *Ricciocarpos natans* recolectadas de la Laguna de Tecocomulco (Hidalgo, Mexico). Los grupos funcionales bacterianos aislados de la rizosfera de *A. filiculoides*, *L. gibba* y *R. natans*, fueron cultivados y caracterizados macro y microscópicamente, e identificados usando el 16S rDNA. El 96% de las bacterias aisladas fueron Gram-negativas, y las bacterias de vida libre fijadoras de nitrógeno fueron el grupo funcional más numeroso. El análisis molecular reveló la presencia de quince géneros bacterianos en la rizosfera de *R. natans*, mientras que en la rizosfera de *A. filiculoides* y de *L. gibba* se encontraron cinco géneros, siendo *Aeromonas* spp. el clado predominante. Se identificaron 25 géneros de protozoarios flagelados y 20 de ciliados; el flagelado más abundante fue *Bodo* spp., mientras que *Halteria* spp. fue el ciliado más frecuente. Se concluye que las tres plantas acuáticas muestran un efecto rizosférico. La comunidad más abundante y diversa de protozoos estuvo presente en *A. filiculoides*, donde también se encontró la comunidad bacteriana más abundante; Sin embargo, la mayor diversidad bacteriana se encontró en *R. natans*.

Palabras clave: 16S rDNA, ciliados, efecto rizosférico, flagelados, plantas acuáticas

**COMMUNITIES OF BACTERIA AND PROTOZOA ASSOCIATED TO THE
RHIZOSPHERE FROM *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba* AND *Ricciocarpos natans***

Eliceo Quisehuatl Tepexicuapan, M. Sc.

Colegio de Postgraduados, 2013

The rhizospheric effect is the microbial proliferation promoted by root's exudes. This effect has been broadly studied in roots of terrestrial plants, however, little is known about this phenomenon in aquatic plants. We compared the functional groups of cultivable bacterial and protozoa present in the rhizosphere of *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba* and *Ricciocarpos natans*, collected from the Tecocomulco Lagoon (Hidalgo, Mexico). The functional bacterial groups isolated from the rhizosphere of *A. filiculoides*, *L. gibba* and *R. natans*, were characterized by colonial morphology and identified using the 16S rDNA gen. The 96% of isolated bacteria were gram-negative, and the free-living nitrogen-fixing bacteria were the most abundant functional group. The molecular analysis detected 15 bacterial genera in the rhizosphere of *R. natans*, whereas only five genera were found on the rhizosphere of *A. filiculoides* and *L. gibba* from which *Aeromonas* spp. was the predominant. Twenty-five genera of flagellated protozoa and 20 ciliated protozoa were identified; was *Bodo* the most abundant among flagellates genus, whereas *Halteria* was the more frequent ciliated genus. Roots of these aquatic plants showed a rhizospheric effect. The most abundant and diverse community of protozoa was found in *A. filiculoides*, where also was found the largest bacterial community. Nevertheless, the highest bacterial diversity was found in *R. natans*.

Keywords: 16S rDNA, aquatic plants, ciliate, flagellate, rhizosphere effect.

Dedico esta tesis a:

Mis compatriotas que, a través del CONACYT, COMECYT y el Colegio de Postgraduados, me han dado la oportunidad de completar mi formación personal y profesional.

Al Dr. Ronald, Dr. Salvador, Dra. Hilda, Dr. Alejandro y Dr. Juan por su tiempo, su paciencia, su dedicación, pero sobre todo por su apoyo, pues no sólo se han convertido en mis mentores sino en mis amigos, pues me han acompañado y dirigido en el periodo de la maestría, por ello se han ganado mi amistad y lealtad incondicional.

A mis padres y hermanos por su comprensión, guía y apoyo absoluto.

Agradecimientos

A la línea prioritaria de investigación LPI 5: biotecnología microbiana vegetal y animal por haberme facilitado el uso de la infraestructura y equipos para realizar este trabajo de investigación.

Muy en especial a mi hermanita Susy, Laura Dosantos y la jefa Bere, ya que al aceptar ser mis Gurús y Senseis han logrado hacer de mi alguien mejor, hoy se han convertido en mis amigas y agradezco su tiempo, su esfuerzo, paciencia y correctivos☺.

A mis amigos del Colpos: Andrey, Orjus (Arturo Jiménez Martínez), Ale, Mariela y Edgar, por los momentos en que estuvimos juntos, siempre aconsejándonos o regañándonos ¡échenle ganas amigos!;

A los amigos del labo de Fijación de Nitrógeno: Maestra Mary, Susy, Cris, Alis, Dey, Brig, Isa, Jess, Paco, Mario, Yadi, Raul, Katy, Miguel, Claudia... o sea a todos los chicos que me acompañaron en el labo ☺ por haber compartido conmigo su tiempo sus consejos, sus sonrisas y su amistad;

A la Banda Micro: Laura, Sandra, James, George, Cruz, Anahí, Sam, Ana, Isabel, Abid, Candis, Rebe, Daniel, Erik, Angelica, Horaceo, Chucho, Mario, Miguel... (Disculpen si se me olvida alguien), por compartir su alegría, su comida☺, su sabiduría y despertar de nuevo en mí el espíritu deportivo;

A mis amigos y compañeros de Biotecnología de Semillas: la jefa Bere, Cesar, el maestro jedi Octavio, Kenia, Andrés, Rossana, Omar, y Elí, por hacer de cada fin de semana un convivio y por compartir conmigo su buena vibra y desde luego sus conocimientos.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1 Las plantas acuáticas y su función en el ecosistema	2
2.2 El helecho acuático <i>Azolla</i>	3
2.2.1 Aspectos taxonómicos e importancia ecológica.....	3
2.2.2 Simbiosis con cianobacterias	5
2.2.3 Aplicaciones biotecnológicas de <i>Azolla</i>	6
2.2.4 Uso potencial de <i>Azolla</i> en la remediación	7
2.3 <i>Lemna</i>: importancia y función ecosistémica	7
2.4 <i>Ricciocarpos</i>: condición acuática y sus implicaciones ecológicas.....	9
2.5 El efecto rizosfera: importancia, función y su estudio en plantas acuáticas.....	11
2.6 Bacterias de la rizosfera.....	14
2.7 Protozoos de la rizosfera.....	15
2.8 Discusión general de la revisión de literatura	17
3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	18
3.1 Objetivo general.....	18
3.2 Objetivos particulares.....	18
3.3 Hipótesis general.....	18
3.4 Hipótesis particulares	18
4. MATERIALES Y MÉTODOS	19
4.1 Descripción de sitio y colecta de muestras.....	19
4.2 Análisis de agua.....	20
4.3 Cuantificación de bacterias cultivables	20
4.3.1 Análisis estadístico de UFC	21
4.3.2 Caracterización morfológica de bacterias	21
4.4 Caracterización molecular de grupos bacterianos.....	22
4.4.1 Extracción de DNA por el método de lisis.....	22
4.4.2. Amplificación por PCR del 16S rDNA.....	22
4.4.3. Análisis filogenético mediante el 16S rDNA.....	23

4.4.4 Análisis estadístico de frecuencias de géneros de bacterias.....	24
4.5 Identificación morfológica de protozoos	24
4.5.1 Identificación morfológica de protozoos ciliados y flagelados.....	24
4.5.2 Análisis estadístico de frecuencias de géneros de ciliados y flagelados	24
5. RESULTADOS	25
6. DISCUSIÓN	39
7. CONCLUSIONES.....	48
8. BIBLIOGRAFÍA.....	49
9. ANEXOS.....	xi
9.1 Preparación de los medios de cultivo.....	xi
9.2 Soluciones, extractos y mezclas	xiv
9.3 Secuencias de 16S rDNA correspondientes a bacterias aisladas de la rizosfera de <i>Azolla filiculoides</i>	xvi
9.4 Secuencias de 16S rDNA correspondientes a bacterias aisladas de la rizosfera de <i>Lemna gibba</i>	xxiii
9.5 Secuencias de 16S rDNA correspondientes a bacterias aisladas de la rizosfera de <i>Ricciocarpus natans</i>	xxx
9.6 Secuencias de 16S rDNA correspondientes a bacterias aisladas de la rizosfera de agua sin influencia de plantas	xxxvii
9.7 Morfología las colonias funcionales bacterianas aisladas, se contemplaron características macroscópicas (forma, borde, elevación, textura, color, disposición de color y luz reflejada) y microscópicas (forma microscópica y tinción de Gram)	xxxviii
9.8 Cepas funcionales bacterianas identificadas molecularmente, se incluye en nombre de la cepa, actividad fisiológica, hospedante y número de accesión GenBank	xlvi

Lista de cuadros

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del género <i>Azolla</i> (National Center for Biotechnology Information, 2013)	4
Cuadro 2. Clasificación taxonómica del género <i>Lemna</i> (National Center for Biotechnology Information, 2013)	8
Cuadro 3. Clasificación taxonómica de <i>Ricciocarpos</i> (National Center for Biotechnology Information, 2013)	10
Cuadro 4. Medios de cultivo y diluciones usadas para cuantificar las poblaciones de los grupos microbianos estudiados	21
Cuadro 5. Características nutrimentales de la laguna de Tecocomulco, Hidalgo, colectada en 2011. A - agua de la zona litoral donde crecen las plantas acuáticas, B - agua alejada de la zona litoral	25
Cuadro 6. Relación de absorción de sodio (RAS), porcentaje de sodio intercambiable (PSI) y clase del agua de la laguna de Tecocomulco, Hidalgo, colectada en 2011. A - agua de la zona litoral donde crecen las plantas acuáticas , B - agua alejada de la zona litoral	25
Cuadro 7. Unidades formadoras de colonias (UFC) de los grupos bacterianos presentes en la rizosfera de <i>Azolla filiculoides</i> , <i>Lemna gibba</i> , <i>Ricciocarpos natans</i> y en agua a distancia	28
Cuadro 8. Índice rizosférico obtenido para los grupos bacterianos funcionales y morfológicos	29
Cuadro 9. Frecuencias de los principales géneros de protozoos ciliados y flagelados observados en la rizosfera de <i>Azolla filiculoides</i> , <i>Lemna gibba</i> y <i>Ricciocarpos natans</i>	37

Lista de figuras

- Figura 1.** A - Estructuras reproductivas de *Azolla* sp., m) microsporoangio y M) megasporangio. B – megasporocarpo, ic) megasporocarpo en germinación, f) flotadores, la barrar representa 100 μm en ambos casos (tomado de Peters y Perkins, 1993; Perkins y Peters, 1993) 5
- Figura 2.** Anatomía general de la raíz y las zonas comprendidas por la rizosfera (modificado de Ferrera-Cerrato, 1995) 13
- Figura 3.** Mapa de la laguna de Tecocomulco, Hidalgo. La zona de muestreo se indica con un círculo. La barra representa 2 km 19
- Figura 4.** Aspecto de las plantas recolectadas en 2011 de la laguna de Tecocomulco, Hidalgo, y su sistema radical 27
- Figura 5.** Porcentaje de grupos bacterianos aislados de la zona rizosférica de *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba*, *Ricciocarpos natans* y de agua sin influencia de plantas 30
- Figura 6.** Análisis filogenético de los géneros bacterianos identificados en la rizosfera de *Azolla filiculoides* 31
- Figura 7.** Análisis filogenético de los géneros bacterianos identificados en la rizosfera de *Lemna gibba* 32
- Figura 8.** Análisis filogenético de las colonias bacterianas identificadas en el rizoide de *Ricciocapus natans* 34
- Figura 9.** Índice de Sørensen de las comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera de *Azolla filiculoides* (Azolla), *Lemna gibba* (Lemna) y *Ricciocarpos natans* (Riccioc), y agua a sin influencia de plantas (water) 35
- Figura 10.** Índice de Sørensen de las comunidades de protozoos ciliados y flagelados asociadas a la rizosfera de *Azolla filiculoides* (Azolla), *Lemna gibba* (Lemna) y *Ricciocarpos natans* (Ricciocar), y agua sin influencia de plantas (Water) 38

1. INTRODUCCIÓN

Las raíces de las plantas exudan aminoácidos, ácidos grasos, nucleótidos, esteroides, azúcares, vitaminas y ácidos orgánicos (Lugtenberg y Kamilova, 2009). Estos compuestos atraen diversos microorganismos, fenómeno que se denomina efecto rizosfera. El término rizosfera fue definido por Hiltner (1904) para el estudio microbiológico del suelo, y lo concibió como el área del suelo influenciada por la raíz (Hiltner, 1904), cuyas poblaciones de bacterias alcanzan densidades 10-1000 veces mayores al resto del suelo (Lugtenberg y Kamilova, 2009).

Las raíces de plantas acuáticas flotadoras como las pertenecientes al género *Lemna* exudan compuestos que tienen un efecto similar al que ejercen las raíces de las plantas terrestres (Zuberer, 1984); sin embargo, este efecto rizosférico ha sido poco estudiado en plantas acuáticas. Por ello, se realizó la identificación de bacterias cultivables y de protozoos (ciliados y flagelados) presentes en muestras de agua y en la zona rizosférica de tres plantas libremente flotadoras: *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba* y *Ricciocarpos natans* procedentes de la laguna de Tecocomulco, Hidalgo. Además las comunidades de bacterias y protozoos identificados se compararon para determinar la existencia del efecto rizosférico.

Las plantas acuáticas seleccionadas son libremente flotadoras (Arora y Singh, 2003; Rzedowski y Rzedowski, 2005; Ruiz, 2008) y proliferan vegetativamente (Uheda y Nakamura, 2000; Arroyave, 2004; Banu-Fattah y Kumer, 2010). Sin embargo, poseen características que pueden influir en su posible efecto rizosférico. *Ricciocarpos natans* es una planta hepática (Brown y Lemmon, 2008) y no presenta una raíz diferenciada, mientras que *A. filiculoides* y *L. gibba* tienen una raíz bien desarrollada. Por otra parte, *A. filiculoides* vive en simbiosis mutualista con una cianobacteria diazotrófica, lo que le permite obtener nitrógeno atmosférico (Ran *et al.*, 2010).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Las plantas acuáticas y su función en el ecosistema

Existe una gran diversidad de plantas adaptadas a los ambientes acuáticos, en agua dulce se pueden encontrar plantas de los grupos Charophyta, Bryophyta, Pteridophyta y Spermatophyta. Sin embargo, la identificación morfológica de las plantas acuáticas presenta una especial dificultad, debido a que tienen la capacidad de modificar su morfología cuando las condiciones ambientales cambian. Además, en muchas ocasiones no presentan estructuras reproductivas y se multiplican vegetativamente. Afortunadamente, la gran diversidad de plantas acuáticas ha sido distribuida en tres grupos, tomando en cuenta su forma de vida (Pokorný y Květ, 2004):

- a) Hyperhydantes o helofitas, emergen del lago, entre ellas se pueden distinguir a las gramíneas.
- b) Ephydates o sobrenadantes, son plantas de hojas flotantes como las pertenecientes a los géneros *Azolla* y *Lemna*.
- c) Hyphydates, viven sumergidas, se puede mencionar el caso de los géneros *Riccia* y *Elodea*.

Las plantas acuáticas brindan alimento, protección y son el hábitat para organismos de los sistemas acuáticos (Arroyave, 2004). Estas plantas pueden absorber nutrientes tanto a través de sus hojas como a través de sus raíces (Pokorný y Květ, 2004), por ende, la eutrofización puede promover su proliferación y convertirlas en plagas o malezas de los cuerpos de agua (Canales-Gutiérrez, 2010), con lo que indican cambios en el nivel y calidad del agua. Tomando en cuenta el factor de concentración (concentración de un elemento en planta seca/concentración de un elemento en agua), una planta acuática puede retener elementos minerales hasta 1000 veces más

que el agua, y en los casos particulares de P, K y Mn puede llegar a acumular hasta 10 000 veces más (Dykyjová y Úlehlová 1998).

Cuando las plantas mueren, la liberación de los nutrientes contenidos en ellas es proporcional a su tasa de descomposición, por lo que también constituyen un reservorio de nutrientes (Pokorný y Květ, 2004). Al respecto, las plantas sumergidas contienen mayor cantidad de agua y cenizas, por lo que se descomponen muy fácilmente, mientras que la vegetación emergente tiene un proceso de descomposición lenta, y la vegetación flotante presenta un nivel intermedio (Dykyjová y Úlehlová 1998).

2.2 El helecho acuático *Azolla*

2.2.1 Aspectos taxonómicos e importancia ecológica

El término *Azolla* se usa para delimitar un género de helechos acuáticos libremente flotadores (**Cuadro 1**), distribuidos en zonas tropicales y templadas de todo el mundo (Arora y Singh, 2003; Reid *et al.*, 2006). La palabra *Azolla* proviene del griego *Azo*: secar y *olloyo*: muerte; o muerto en sequía (AOAC, 1981). El género fue descrito por Lamarck en 1783, y alberga siete especies distribuidas en sus dos secciones. Por un lado, la sección *Azolla* se distingue por presentar especies con tres flotadores en su megaspora (**Figura 1B**), en ella se encuentran *A. mexicana*, *A. microphylla*, *A. rubra*, *A. filiculoides* y *A. caroliniana*; mientras que las especies de la sección *Rhizosperma*, que incluye a las especies *A. nilotica* y *A. pinnata*, presenta nueve flotadores (Reid *et al.*, 2006). Estos helechos tienen forma alargada con un tamaño frecuente de 0.5 a 7 cm de largo, excepto en *A. nilotica* la cual puede medir hasta 40 cm (Rai *et al.*, 2000). El esporofito cuenta con ramificación pinnada y una raíz simple que cuelga hacia abajo, las hojas

consisten en un lóbulo dorsal fotosintético y uno ventral flotante, y se disponen de forma alterna y superpuesta (Peters y Mayne, 1974).

Las plantas del género *Azolla* presentan esporas de diferentes tamaños y sexos (Pryer *et al.*, 2004), y se reproducen sexualmente vía formación de esporocarpos, pero la forma de reproducción dominante es asexual a través de fragmentación vegetativa (Uheda y Nakamura, 2000); ya que la reproducción sexual (esporulación y germinación) depende del balance entre factores tales como intensidad de luz, temperatura y pH (Kar *et al.*, 1999), sin embargo, cuando se logra, se forman los microsporangios masculinos y las megasporas femeninas (Figura 1A) (Peters y Perkins, 1993).

Una característica especial de este helecho, es que vive asociado con una cianobacteria. Se cree que la relación cianobacteria-*Azolla* comenzó hace 140 millones de años, desde entonces el hospedante interactuó con su huésped hasta integrarlo como un nuevo orgánulo (Ran *et al.*, 2010). Esta forma de asociación puede describirse como una endosimbiosis mutualista.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del género *Azolla* (National Center for Biotechnology Information, 2013).

Nivel taxonómico	Clasificación
Super reino	Eukaryota
Dominio	Viridiplantae
Phylum	Streptophyta
Clase	Polypodiopsida
Orden	Salviniales
Familia	Azollaceae
Género	<i>Azolla</i>

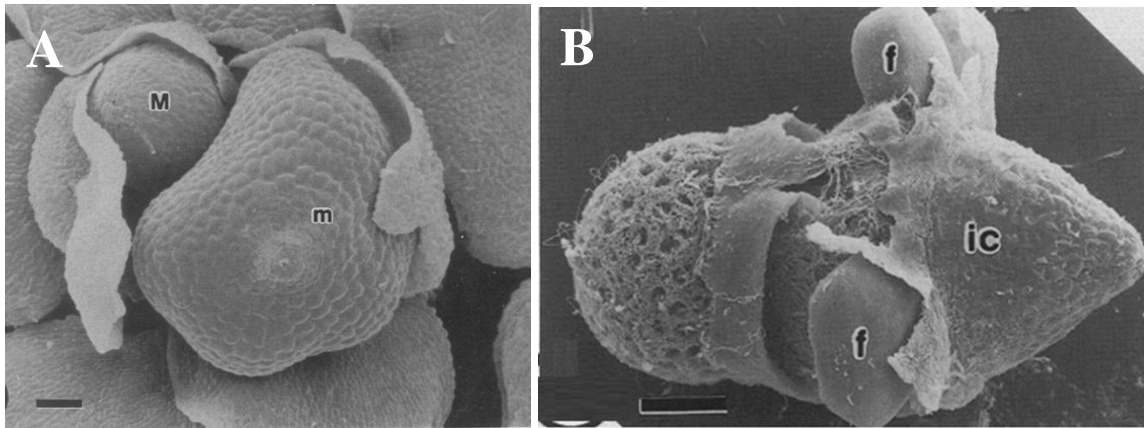


Figura 1. A - Estructuras reproductivas de *Azolla* sp., m) microsporangio y M) megasporangio. B – megasporocarpo, ic) megasporocarpo en germinación, f) flotadores, la barrar representa 100 μ m en ambos casos (tomado de Peters y Perkins, 1993; Perkins y Peters, 1993).

2.2.2 Simbiosis con cianobacterias

Las hojas de *Azolla* presentan una cavidad donde residen aproximadamente de 2000 a 5000 células cianobacterianas. Durante el crecimiento, ambos simbiontes tienen tasas mitóticas altas cerca del ápice, y disminuyen conforme se alejan de éste. Cuando el crecimiento del hospedante se detiene, la proliferación de la cianobacteria finaliza (Bergman *et al.*, 2007). Durante la reproducción sexual, el helecho hereda verticalmente a su huésped (Bright y Bulgheresi, 2010), de tal forma que el megasporocarpo contiene una carga cianobacteriana que asegura cianobiontes a la siguiente generación.

Cuando la reproducción es de forma vegetativa, las brácteas se separan en respuesta a un ambiente adverso. En este caso, la planta hereda la simbiosis generando colonias de cianobacterias a partir del inóculo presente en cada bráctea (Rai *et al.*, 2000). Gracias a su mecanismo de transmisión, la simbiosis cianobacteria-*Azolla* es permanente.

Muchas cianobacterias tienen la capacidad de fijar nitrógeno en vida libre, en cuyo caso, la cantidad de heterocistos que produce una cianobacteria oscila entre el 5 y 10% del total de

células del filamento; sin embargo, en simbiosis pueden llegar a alcanzar el 80% (Rai *et al.*, 2000). Debido a esto, en *Azolla* la fijación de nitrógeno en condiciones óptimas puede llegar a 110-330 kg N/hm² por año (Liu *et al.*, 2008) y el helecho puede duplicar su biomasa en tres días, por lo que algunos investigadores sugieren que puede ser comparada con la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa (Arora y Singh, 2003; Mosquera y Calderón, 2002).

La cianobacteria asociada con *Azolla* fue identificada por Strasburger (1873), ubicándola dentro del género *Anabaena*, sin embargo, actualmente se debate la confirmación de la clasificación. Por un lado se ha propuesto que el cianobionte en realidad pertenece al género *Nostoc* (Plazinski *et al.*, 1990), de tal forma que unos investigadores lo denominan *Nostoc azollae* (Ran *et al.*, 2010) y otros *Anabaena azollae* (Pereira *et al.*, 2009). Incluso, se ha mencionado que el cianobionte no está emparentado filogenéticamente con *Anabaena* o *Nostoc*, sino que pertenece al género *Trichormus* (Baker *et al.*, 2003). Al respecto, artículos recientes comentan que esta variabilidad en los simbioses se debe a la existencia de subgrupos asociados a *Azolla* y a las diferencias genéticas que existen entre los cultivos de cianobacterias extraídas de *Azolla* spp. (Sood *et al.*, 2008). En lo que todos los autores están de acuerdo es que el cianobionte pertenece al grupo de las Nostocales, las cuales forman heterocistos que tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico.

2.2.3 Aplicaciones biotecnológicas de *Azolla*

Azolla junto con su simbionte fijador de N₂, ha sido utilizada para fertilizar cultivos de arroz desde hace mucho tiempo en algunas regiones de Asia (Arora y Singh, 2003) y ha sido integrada como complemento alimenticio de cerdos (Leterme *et al.*, 2010), peces y aves de corral (Kathiresan, 2007) debido a la calidad de sus proteínas y a su contenido mineral (Chojnacka,

2006). En estudios realizados en cultivos de pepino y lechuga, se ha observado el potencial de *Azolla* en el manejo de plagas y como fertilizante orgánico (Castro *et al.*, 2009; Bharati *et al.*, 2000).

2.2.4 Uso potencial de *Azolla* en la remediación

Se ha evaluado la resistencia de *Azolla filiculoides* frente a metales como Cu (Sanchez-Viveros, *et al.*, 2010) y se ha observado que presenta potencial para depurar agua contaminada con plomo, cadmio, níquel y zinc (Rakhshae *et al.*, 2006; Khosravi *et al.*, 2005; Oren *et al.*, 2004). Adicionalmente, se ha observado que *Azolla caroliniana* logra degradar fenantreno y la degradación se puede incrementar mediante la bioaumentación con *Bacillus stearothermophilus* y *Oscillatoria* sp. (Castro-Carrillo *et al.*, 2008). Por otra parte, Forni (2008) evaluó la resistencia de *Azolla filiculoides* frente al detergente dodecil sulfato de sodio y se encontró que es capaz de degradarlo, posiblemente gracias a la bacteria *Arthrobacter* que vive asociada a éste helecho.

2.3 *Lemna*: importancia y función ecosistémica

El género *Lemna* pertenece a la familia Araceae (**Cuadro 2**) y agrupa plantas libremente flotadoras; la lámina es lanceolada, elíptica u ovalada, de color verde o a veces coloreada de púrpura en ambas superficies, en cada fronda hay una sola raíz con vaina (Rzedowski y Rzedowski, 2005). Estas plantas son angiospermas monocotiledóneas, monoicas con flores unisexuales, y sus flores nacen de hendiduras ubicadas en el borde de la fronda y son comúnmente conocidas como lentejas de agua (Arroyave, 2004).

Cuadro 2. Clasificación taxonómica del género *Lemna* (National Center for Biotechnology Information, 2013).

Nivel taxonómico	Clasificación
Super reino	Eukaryota
Dominio	Viridiplantae
Phylum	Streptophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Alismatales
Familia	Araceae
Género	<i>Lemna</i>

A la fecha, en el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, por sus siglas en inglés) se tienen catalogadas 15 especies dentro del género *Lemna* (*L. aequinoctialis*, *L. disperma*, *L. ecuadoriensis*, *L. gibba*, *L. japonica*, *L. minor*, *L. minuta*, *L. obscura*, *L. paucicostata*, *L. perpusilla*, *L. tenera*, *L. trisulca*, *L. turionifera*, *L. valdiviana*, *L. yungensis*), las cuales se distribuyen en clima tropical húmedo y en zonas templadas de Europa, Asia, Australia, África, América del Sur y América del Norte, prefieren ambientes cálidos, pero son resistentes a temperaturas bajas y proliferan en aguas estancadas ricas en nitratos, carbonatos y fosfatos (Arroyave, 2004). Por esto, es fácil encontrarla en cuerpos de agua que tienden a la eutrofización y en ocasiones se ha convertido en plaga, ya que debido a su rápida proliferación puede formar densas capas sobre la superficie del agua (Canales-Gutierrez, 2010).

La forma más común de reproducción de las lentejas de agua es asexual por gemación, la cual ocurre en los bordes del talo, donde se desarrollan plantas nuevas a partir de yemas, que se separan de la planta progenitora, por ello, suelen encontrarse formando grupos de varios individuos (Arroyave, 2004).

Lemna se caracteriza por presentar un contenido proteico que va de 6.8 a 45%, fibra cruda de 5.7 a 16.2% y ceniza 12 a 27.6% (Ponce *et al.*, 2005). Dado su contenido nutrimental, se ha evaluado su potencial como complemento alimenticio de porcinos, ya que actúa como un sustituto proteico de bajo costo (Gutiérrez *et al.*, 2001). Por otra parte, se ha observado que *Lemna* puede sustituir la proteína en el alimento de aves, y con esto disminuir los costos de alimentación entre un 25% a 30% (Men *et al.*, 2001).

En aguas ricas en nutrimentos se ha observado que *Lemna* puede producir 168 t ha⁻¹ año⁻¹ de biomasa seca (Ponce *et al.*, 2005). Por su alta tasa de crecimiento, alto contenido de carbohidratos, celulosa y hemicelulosa que pueden convertirse en azúcares simples y en última instancia en etanol, algunas de las especies de *Lemna* se han propuesto como posibles sustitutos del maíz y la caña de azúcar en la producción de bioetanol. A partir de un kilogramo de peso seco de *L. gibba* se podría producir alrededor de 330 mL de etanol (Sharma *et al.*, 2010).

Lemna tiene potencial en la depuración de aguas residuales al remover patógenos (Falabi *et al.*, 2002), y esta planta acuática es una acumuladora eficiente de elementos tóxicos como el boro, arsénico, plomo y uranio (Sobrino *et al.*, 2010; Sasmaz y Obek, 2009).

2.4 Ricciocarpos: condición acuática y sus implicaciones ecológicas

Ricciocarpos es un género que presenta sólo una especie, *R. natans* (**Cuadro 3**). Estas plantas no vasculares pertenecen al grupo de las denominadas hepáticas, con distribución cosmopolita, y aunque son plantas terrestres, se han adaptado a la vida en ambientes acuáticos (Ruiz, 2008). La forma acuática es generalmente estéril mientras que la terrestre es fértil (Banu-Fattah y Kumer, 2010). Por consiguiente, en ambientes acuáticos se reproduce vegetativamente por fragmentación del talo (Ruiz, 2008).

Las plantas hepáticas se agrupan en tres formas básicas de acuerdo con su arreglo gametofítico: la foliar, el talo simple y el talo complejo. El talo en *Ricciocarpos* puede alcanzar los dos y medio centímetros de longitud, es dorsiventralmente aplanado y dicotómicamente dividido en la parte apical. Además, presenta una epidermis inferior y una superior porosa que permite el intercambio gaseoso; la porción interna del talo está conformada por parénquima constituido por células fotosintéticas ricas en cloroplastos y un conjunto de espacios aéreos, seguidos de varias filas de escamas formadas por una sola capa de células que a menudo son color púrpura en la zona ventral (Ruiz, 2008; Garber, 1904).

La reproducción de estas plantas puede llevarse a cabo vegetativamente por fragmentación del talo o por vía sexual. Esta última mediante anterozoides producidos en los anteridios y las ovocélulas de los arquegonios, ambos gametos se unen para formar un cigoto (2n) que mediante división celular produce una gran cantidad de esporas (Ruiz, 2008).

Cuadro 3. Clasificación taxonómica de *Ricciocarpos* (National Center for Biotechnology Information, 2013).

Nivel taxonómico	Clasificación
Super reino	Eukaryota
Dominio	Viridiplantae
Phylum	Streptophyta
Clase	Marchantiopsida
Orden	Marchantiales
Familia	Ricciaceae
Género	<i>Ricciocarpos</i>

El género *Ricciocarpos* tiene poros simples, gametangios dispersos y esporofitos pequeños con una gran capacidad de resistencia a la desecación, lo que le permite colonizar áreas perturbadas (Brown y Lemmon, 2008). Sin embargo, al parecer no existen estudios que analicen la resistencia de estas plantas a diversos agentes en zonas contaminadas, quizá debido a que *Ricciocarpos* no soporta altos niveles de eutrofización y la presencia de dicha planta se ha asociado a bajos niveles de sulfatos y fósforo total (Kočić *et al.*, 2008).

Las plantas hepáticas son consideradas fósiles vivientes; no obstante, en ellas hay más variación en la organización microtubular y en la organización del citoesqueleto en comparación con otros grupos de plantas. Por lo anterior, *R. natans* ha servido de modelo en evolución molecular debido a que se cree que proviene de un talo simple como el de las hepáticas Blasiales y a partir de él fue divergiendo hasta convertirse en un talo complejo y altamente evolucionado (Brown y Lemmon, 2008). Sin embargo, los reportes sobre este género en otros ámbitos como la biorremediación, la ganadería o la agricultura, son escasos o inexistentes. Aunque, se puede mencionar que en algunos países, *R. natans* se usa como alimento para aves y como ornamental (Ruiz, 2008).

2.5 El efecto rizosfera: importancia, función y su estudio en plantas acuáticas

Las plantas liberan exudados radicales que equivalen hasta en un 20% del carbono fijado mediante la fotosíntesis (Lugtenberg y Kamilova, 2009; Pilon-Smits, 2005). Se ha estimado que en la etapa de crecimiento, la raíz liberan aproximadamente de 2 a 10 g de C kg suelo⁻¹ mes⁻¹, es decir, el carbono suficiente para generar de 50 a 100 veces la biomasa microbiana activa del suelo (Jones *et al.*, 2009).

Entre los compuestos liberados por la raíz se encuentran aminoácidos, ácidos grasos, nucleótidos, esteroides, azúcares, vitaminas y ácidos orgánicos (Lugtenberg y Kamilova, 2009). Se sabe que la composición de los exudados radicales está influenciada por el estado fisiológico de la planta y el sustrato, así como por la presencia de compuestos secretados por rizobacterias (Kamilova *et al.*, 2006; Phillips *et al.*, 2004).

Los carbohidratos y aminoácidos excretados ejercen quimiotaxis en la superficie de la raíz (Somers *et al.*, 2004), de esta forma la raíz puede regular las poblaciones microbianas de su alrededor para hacer frente a la herbivoría y fomentar simbiosis mutualistas (Nardi *et al.*, 2000). En consecuencia, la población de microorganismos en el área circundante a la raíz puede ser de uno a cuatro veces mayor que en el resto del suelo, a este fenómeno se ha denominado “efecto rizosfera” (Salt *et al.*, 1998).

El término rizosfera fue definido para el estudio microbiológico del suelo por Hiltner (1904), y la concibió como el área del suelo influenciada por la raíz; adicionalmente, otros autores recientemente han agregado que la rizosfera se extiende 1 mm alrededor de la raíz (Pilon-Smits, 2005). En la rizosfera suelen reconocerse tres zonas: a) la ectorrizosfera, que hace referencia al sustrato que circunda la raíz; b) el rizoplano, que contempla la superficie de la raíz, y c) la endorrizosfera, constituida por la epidermis y células corticales de la raíz (**Figura 2**) (Campbell y Greaves, 1990).

En la zona rizosférica ocurren interacciones que pueden ser tanto de atracción como de repulsión, entre la raíz y los microorganismos tanto patógenos como benéficos (Bais *et al.*, 2001). La microbiota rizosférica competirá entre sí por los nutrientes que la raíz ofrece. A su vez algunas interacciones raíz-microorganismo pueden influenciar el crecimiento de la planta, por ejemplo, mediante la fijación de nitrógeno atmosférico (Moulin *et al.*, 2001), incrementando la

tolerancia de la planta al estrés (Schardl *et al.*, 2004), o promoviendo el crecimiento vegetal (Gray y Smith, 2005).

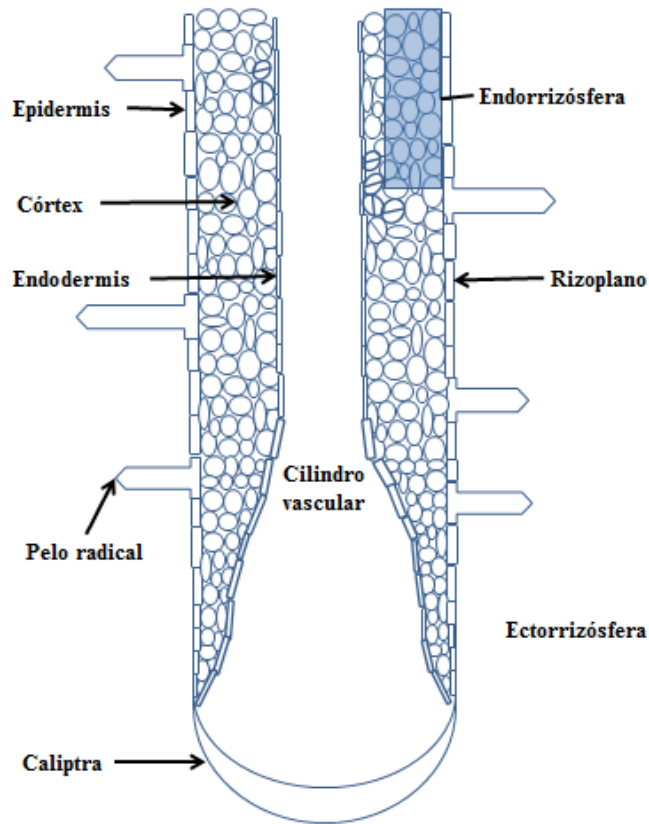


Figura 2. Anatomía general de la raíz y las zonas comprendidas por la rizosfera (modificado de Ferrera-Cerrato, 1995).

En 1984, Zuberer realizó una búsqueda de los microorganismos asociados a la fronda y la raíz de *Lemna*, encontrando que la raíz alberga principalmente bacterias y cianobacterias, además de otros microorganismos, debido a que la raíz se encuentra cubierta de una capa mucilaginosa similar a la encontrada en las plantas terrestres (Zuberer, 1984). Algunos otros estudios mencionan la influencia de la rizosfera acuática en la nitrificación y la desnitrificación (Risgaard-Petersen y Jensen, 1997), o sobre la oxidación de compuestos orgánicos (Bondo *et al.*,

1994), pero pocos estudios han evaluado la influencia de la rizosfera acuática sobre la composición de las comunidades microbianas.

2.6 Bacterias de la rizosfera

En la rizosfera, las poblaciones de bacterias pueden alcanzar densidades 10-1000 veces mayores que en el resto del suelo. Sin embargo, las bacterias no se distribuyen uniformemente sobre la raíz, en general, prefieren las zonas de surgimiento de las raíces laterales y las uniones entre las células epidérmicas (Lugtenberg y Kamilova, 2009). Existen bacterias en la rizosfera de plantas terrestres y acuáticas con la capacidad de solubilizar fósforo inorgánico haciéndolo biodisponible para la planta (Gyaneshwar *et al.*, 2002). En un estudio sobre manglares se lograron cultivar 13 especies de bacterias en medio sólido con fosfato tribásico de calcio, las cuales produjeron ácido láctico, succínico, isovalérico, isobutílico y acético, como mecanismo para solubilizar el fósforo presente en dicho compuesto (Vázquez *et al.*, 2000).

Las bacterias pueden también facilitar la disponibilidad de nitrógeno para las plantas, un ejemplo de ello es la oxidación del amonio a nitrito realizada por las bacterias oxidantes de amonio (Jackson *et al.*, 2008). La rizosfera promueve la proliferación de bacterias amonio-oxidantes y desnitrificantes, y además se ha observado que los diferentes estadios de crecimiento de la planta influyen de forma importante en la estructura y abundancia de las comunidades amonio-oxidantes y desnitrificantes (Hussain *et al.*, 2011).

Al igual que sucede con el nitrógeno, las bacterias hacen disponibles los compuestos de carbono degradándolos mediante distintos tipos de enzimas, por ejemplo enzimas lipolíticas, dentro de las que se pueden mencionar las carboxilesterasas, que hidrolizan moléculas que contienen ésteres y los hacen parcialmente solubles en agua; las lipasas, que degradan

principalmente largas cadenas de triglicéridos insolubles, y las fosfolipasas. Diversos géneros bacterianos como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter* y *Aeromonas*, producen estos tipos de enzimas, así como algunas actinobacterias como *Streptomyces* y cianobacterias como *Spirulina* (Arpigny y Jaeger, 1999). Además de las formas lipídicas de carbono, los microorganismos pueden degradar cadenas de celulosa, como es el caso de las actinobacterias *Streptomyces* y *Thermomonospora* (Ramírez y Cocha, 2003). Inclusive, algunas comunidades bacterianas asociadas a la raíz tienen la capacidad de obtener carbono a partir de la degradación de compuestos aromáticos como el fenol, la anilina y el diclorofenol (Toyama *et al.*, 2006).

Los exudados microbianos pueden modificar los grupos funcionales de compuestos orgánicos y así favorecer su biodisponibilidad, de igual forma pueden actuar como agentes quelantes de metales para impedir su absorción por la planta o bien oxidar metales a formas insolubles (Weiss *et al.*, 2007). Las bacterias pueden incluso proteger a las plantas formando biofilms o produciendo antibióticos contra patógenos (Bais *et al.*, 2004).

2.7 Protozoos de la rizosfera

Los sistemas oligotróficos son muy productivos y poseen enormes reservas de carbono en forma de bacterias, por lo que la bacterivoría es una importante vía de flujo de carbono (Christaki *et al.*, 1999). La fracción disuelta de carbono se transfiere a los niveles tróficos más altos mediante una red heterotrófica lineal vía bacterias, nanoflagelados y ciliados (Jürgens y Massana, 2008).

Los protozoos se alimentan de bacterias, algas, partículas y materia orgánica disuelta e inclusive de otros protozoos (Vaerewijck *et al.*, 2008), por lo que en cuerpos de agua los protistas fagotróficos como ciliados y flagelados son una de las principales causas de mortalidad

microbiana, y una parte importante de las redes tróficas marinas y dulceacuícolas, al regular las poblaciones de bacterias (Lee, 2008; Jürgens y Massana, 2008; Macek *et al.*, 2006; Pernthaler, 2005; Finlay, 2004; Thingstad, 2000).

La alimentación de los protistas bacterívoros acuáticos puede ser por filtración, la cual es más ventajosa para protozoos sésiles, pero también la llevan a cabo algunos flagelados como los coanoflagelados y por pequeños ciliados, por otro lado, los protistas también pueden alimentarse interceptando el alimento (Massana *et al.*, 2002). Un protista puede recolectar las partículas de un volumen de agua 10 mil veces su propio volumen en agua cada hora (Hansen *et al.*, 1997).

El proceso de bacterivoría es realizado principalmente por nanoflagelados (Jürgens y Massana, 2008), los cuales presentan cierta selectividad de presas, ya que al parecer requieren un mayor tiempo para digerir una bacteria Gram positiva que una Gram negativa (González *et al.*, 1990).

En los ecosistemas marinos y dulceacuícolas, los miembros del taxa heterokonta, constituyen del 20 al 50% de la biomasa de flagelados heterotróficos, seguida de los coanoflagelados (5-40%) y el grupo katablepharida (10-25%) (Boenigk, y Arndt, 2002). La cantidad de nanoflagelados heterotróficos varía en los hábitats pelágicos desde 100 a 10000 células por mililitro (Boenigk, y Arndt, 2002), y estudios en agua dulce han mostrado que los flagelados del género *Spumella* son particularmente abundantes en lagos (Cleven y Weisse, 2001) junto con los grupos de ciliados oligotrichios, peritrichios y scuticociliados (Šimek *et al.*, 2000).

Los protozoos de la rizosfera se han estudiado tradicionalmente en el suelo y se ha observado que junto con las bacterias son organismos importantes en el sistema para la nutrición de la planta. Los protozoos más abundantes asociados a la rizosfera suelen ser heteroflagelados y

ciliados (Cardon y Gage, 2006). Sin embargo, la información de protozoos en la rizosfera de plantas acuáticas es escasa o nula.

2.8 Discusión general de la revisión de literatura

El efecto rizosférico produce un incremento de las poblaciones microbianas alrededor de la raíz, a diferencia del resto del suelo. Considerando que las plantas acuáticas tienen la capacidad de exudar compuestos a través de su raíz, entonces es posible que estas plantas produzcan un efecto rizosférico tal como sucede en el suelo, y aunque se maneja que la rizosfera está presente en las plantas acuáticas, pocos estudios o ninguno, se han enfocado al conocimiento de su efecto en la composición de las comunidades microbianas.

Las especies acuáticas *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba* y *Ricciocarpos natans*, presentan características similares entre sí, ya que se encuentran flotando libremente en cuerpos de agua y proliferan principalmente de forma vegetativa. Por otra parte, tienen características que pueden influir en el efecto rizosférico que estas plantas puedan tener; *R. natans* es una planta hepática y no presenta una raíz diferenciada, mientras que *A. filiculoides* y *L. gibba* tienen una raíz bien desarrollada. Adicionalmente, *A. filiculoides* cuenta con un simbionte que le provee nitrógeno atmosférico.

Por lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo conocer el efecto rizosférico de las plantas acuáticas sobre algunos grupos funcionales microbianos, con el fin de tener una idea de la importancia que tienen estas plantas en los ecosistemas acuáticos. Además, se plantea identificar bacterias y protozoos (ciliados y flagelados) y con ello conocer los géneros que conforman a las comunidades microbianas asociadas a la raíz, y potencialmente encontrar géneros con relevancia biotecnológica.

3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3.1 Objetivo general

Cuantificar, determinar y comparar las comunidades de bacterias y protozoos asociados a la zona rizosférica de las plantas acuáticas *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba* y *Ricciocarpos natans*.

3.2 Objetivos particulares

- 1.- Caracterizar morfológicamente e identificar filogenéticamente los grupos funcionales bacterianos que conforman a la rizosfera de *A. filiculoides*, *L. gibba* y *R. natans*, en comparación de las comunidades encontradas en agua sin influencia de plantas.
- 2.- Identificar morfológicamente y cuantificar los protozoos (ciliados y flagelados) asociados a la zona rizosférica de *A. filiculoides*, *L. gibba* y *R. natans*, en comparación de las comunidades encontradas en agua sin influencia de plantas.

3.3 Hipótesis general

Las plantas acuáticas *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba* y *Ricciocarpos natans* presentan un efecto rizosférico que repercute en variaciones de las comunidades de bacterias y protozoos asociados a cada rizosfera.

3.4 Hipótesis particulares

- 1.- Las comunidades de grupos funcionales bacterianos de la rizosfera de *A. filiculoides*, *L. gibba* y *R. natans* serán más diversas y abundantes que aquellas presentes en agua sin la influencia de plantas.
- 2.- Las comunidades de protozoos (ciliados y flagelados) asociados a la zona rizosférica de *A. filiculoides*, *L. gibba* y *R. natans*, serán más diversas y abundantes que aquellas presentes en agua sin la influencia de plantas.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Descripción de sitio y colecta de muestras

Las muestras (plantas, agua rizosférica y agua sin influencia de plantas) se recolectaron de la “Laguna de Tecocomulco” en el estado de Hidalgo a 2520 msnm, en las coordenadas 19° 51’ 58.27” N 98°23’28.14” W (**Figura 3**). Se recolectaron, por separado, aproximadamente 200 g de biomasa fresca de *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba*. y *Ricciocarpos natans.*, acompañadas de 5 L de agua del sitio en botellones de polietileno. Adicionalmente se recolectó 1 L de agua del litoral donde crecen las plantas acuáticas, y otro litro de agua a 10 metros de distancia del crecimiento vegetal. Las muestras se mantuvieron en botellas de polietileno de 1 L a 4 °C.

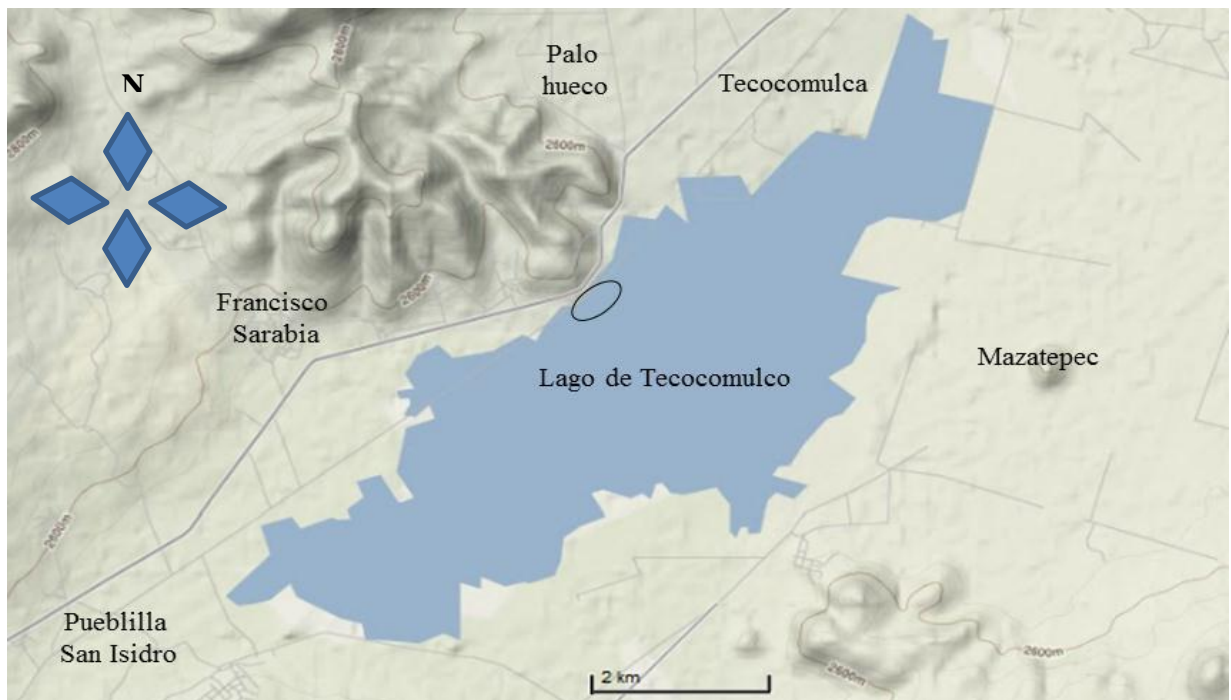


Figura 3. Mapa de la laguna de Tecocomulco, Hidalgo. La zona de muestreo se indica con un círculo. La barra representa 2 km.

4.2 Análisis de agua

Las muestras de agua (con crecimiento de plantas acuáticas y otra sin crecimiento plantas) se analizaron para determinar el pH y la conductividad eléctrica, además del contenido de nitratos mediante la prueba de nitración del ácido salicílico (Robarge *et al.*, 1983), y la concentración de sulfatos por el método de turbidimetría (Horwitz, 1980). El contenido de carbonatos y bicarbonatos se estimó por volumetría de neutralización, mientras que los cloruros por volumetría de precipitación; además, el contenido de calcio y de magnesio se determinó mediante espectroscopía de absorción atómica, y el contenido de sodio y de potasio por espectrofotometría de emisión atómica (Richards, 1954).

4.3 Cuantificación de bacterias cultivables

Se cortaron, de forma individual, las raíces de las plantas acuáticas recolectadas y se colocó 1 g de raíces de cada especie acuática en tubos de ensaye al que se agregaron 9 mL de agua estéril, y se agitaron en vortex (MSI minishaker IKA®) por 10 min. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas desde 10^{-2} hasta 10^{-4} . De cada dilución se tomó una alícuota de 0.1 mL que se distribuyó sobre la placa de agar correspondiente a cada medio de cultivo especificado para cada grupo microbiano. Este procedimiento se aplicó para cada muestra de raíz y por triplicado en cada medio de cultivo utilizado para cuantificar los grupos contemplados en esta investigación (**Cuadro 4**).

Las cajas de Petri se incubaron a 28 °C, se cuantificaron las colonias crecidas y mediante esto se determinó el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC mL⁻¹). Por otro lado, se calculó un índice rizosfera/agua (R/A), al dividir el número de las UFC cuantificadas para la rizosfera sobre las UFC del agua a distancia, un índice creciente indica un mayor efecto rizosférico.

4.3.1 Análisis estadístico de UFC

Los datos de las UFC cuantificadas fueron normalizados al estimar sus correspondientes valores logarítmicos, y se les aplicó un análisis de varianza y la prueba de comparación de medias (LSD, $\alpha=0.05$), utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) para Windows versión 9.

4.3.2 Caracterización morfológica de bacterias

Se aislaron diferentes formas coloniales de bacterias distinguiéndolas mediante el color, forma de crecimiento, borde, elevación y textura. Estas se cultivaron por estría cruzada en agar nutritivo (Merck®), incubadas a 28°C de 24 a 96 h (**Cuadro 4**). A los cultivos puros de bacterias se les realizó la tinción de Gram y se caracterizó su morfología microscópica.

Cuadro 4. Medios de cultivo y diluciones usadas para cuantificar las poblaciones de los grupos microbianos estudiados.

	Grupos	Medio de cultivo	Diluciones analizadas	T° de Incubación
Funcional	Bacterias de fácil crecimiento	Agar nutritivo Merck®	10 ⁻³ y 10 ⁻⁴	28 °C Obscuridad
	Solubilizadoras de fósforo	Agar de Pikovskaya (Pikovskaya, 1948)		
	Lipolíticas	Agar Tween 20		
	Amilolítica	Agar Almidón		
	Celulolíticas	Agar Carboximetilcelulosa Rennie (Rennie, 1981)		
Morfológico	Fijadoras de nitrógeno		10 ⁻² y 10 ⁻³	25 °C, 12 h fotoperiodo
	Actinobacterias	Agar de Czapek BD Bioxon®		
	Cianobacterias	BG-11 sólido modificado		

Para componentes de cada medio de cultivo, ver anexo 8.1

4.4 Caracterización molecular de grupos bacterianos

4.4.1 Extracción de DNA por el método de lisis

Se colocaron 35 μ L de solución de lisis celular (desarrollada en el Colegio de Postgraduados, Laboratorio de Biotecnología de Semillas, patente en trámite) junto con la muestra bacteriana pura en tubos eppendorf de 0.2 mL, se resuspendió y se calentó durante 5 min en baño maría a 95 °C, en seguida se centrifugó a 9391 rcf (1000 rpm) por 5 min. Se tomaron 1.5 μ L del sobrenadante para cuantificar la cantidad de DNA en suspensión mediante un espectrofotómetro NanoDrop® 2000 (Thermo Scientific, USA).

4.4.2. Amplificación por PCR del 16S rDNA

Se amplificó el 16S rDNA por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) con los iniciadores 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') y 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'), que amplifica un fragmento de 1500 pares de bases (bp) aproximadamente. La mezcla de reacción para PCR se preparó para un volumen final de 25 μ L conteniendo 0.3 unidades de la enzima *Taq* DNA polimerasa (Invitrogen, USA), 0.8 mM deoxinucleosido trifosfatos, 100 ng DNA, 20 pmol de cada iniciador y 5 μ L de 5X Green Go*Taq*® Reaction Buffer (Promega, USA). Las amplificaciones se realizaron en un Thermal Cycler DNA Engine® (BioRad, Mexico), con un ciclo inicial de desnaturalización a 95 °C por 2 min, seguida de 35 ciclos de: 2 min para desnaturalización a 95 °C, un alineamiento a 59 °C por 1 min, y una extensión a 72 °C por 1.5 min; y una extensión final a 72 °C por 5 min. La verificación de los productos de PCR se realizó por medio de una electroforesis a 111 volts en gel de agarosa al 1.5 % preparado con 1x TAE buffer (Tris Acetate-EDTA) durante una hora

(ver anexo 8.2 h). El gel se tiñó con gel red (Biotim, USA) y las bandas se visualizaron en un transiluminador Infinity-3026 WL/LC/26MX (Vilber Lourmat, Alemania).

Los productos de PCR del 16S rDNA amplificados se limpiaron con una minicolumna con membrana de sílice por medio del kit de limpieza Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante. Posteriormente la secuencia de bases se determinó por electroforesis capilar en un secuenciador modelo 3130 Genetic Analyser® (Applied Biosystem, USA), con los iniciadores U514F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3') y 800R (5'-CTACCAGGGTATCTAAT-3'), y un kit de secuenciación Big Dye® Terminator V.3.1 Cycle Sequencing kit standard (Applied Biosystem, USA).

4.4.3. Análisis filogenético mediante el 16S rDNA

Las secuencias de ambas regiones se ensamblaron y editaron usando el programa BioEdit Sequence Alignment Editor versión 7.1.3.0 (Hall, 1999), con el cual se creó una secuencia consenso. Esta secuencia, se comparó con las secuencias depositadas en el GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI), mediante la opción BLASTN 2.2.19 (Zhang *et al.*, 2000). Para el análisis filogenético, la secuencia consenso se compiló en un archivo fasta y se alineó con el Clustal W 1.8.1 en “modo perfil” (Thompson *et al.*, 1994), incluido en el programa Mega 5.1 (Tamura *et al.*, 2011) y analizada con el método de Máxima Parsimonia utilizando la opción Close Neighbour Interchange (CNI) search (nivel=1) (Saitou y Nei, 1987), con Initial tree por adición al azar (10 reps). Para determinar los valores de confianza de los agrupamientos dentro del árbol filogenético resultante, un análisis de bootstrap se estimó con 1000 repeticiones (Felsenstein, 1985). *Euglena acus* número de acceso AJ532457 se asignó como fuera de grupo para la construcción de los árboles filogenéticos.

4.4.4 Análisis estadístico de frecuencias de géneros de bacterias

Las frecuencias de bacterias identificadas filogenéticamente se organizaron en una hoja de cálculo con formato wk1 para analizarlas con el programa PC-ORD 6.0 y se obtuvo el índice de Sørensen mediante el método de encadenamiento de promedio de grupos (Mc Cune y Mefford, 1999).

4.5 Identificación morfológica de protozoos

4.5.1 Identificación morfológica de protozoos ciliados y flagelados

A partir de las tres plantas acuáticas (*Azolla filiculoides*, *Lemna gibba* y *Ricciocarpos natans*) junto con el agua a distancia, se realizó la identificación morfológica de protozoos. En tubos eppendorf® por triplicado, se colocaron 2 mL del agua circundante a la raíz de cada macrófita acuática o del agua a distancia, y se centrifugó a 2348 rcf (5000 rpm) durante 5 min para concentrar a los organismos. Del fondo del tubo se extrajeron tres muestras que fueron observadas con el microscopio de contraste de fases modelo 4708019097 (Carl Zeiss, México), a 10X y 40X, y se grabaron videos durante el tiempo que fue observada la preparación y a partir de ellos se realizó la identificación morfológica con ayuda de las claves de Lee *et al.* (2000) y Patterson (1996), además de literatura especializada (Patterson y Larsen, 1991).

4.5.2 Análisis estadístico de frecuencias de géneros de ciliados y flagelados

Las frecuencias de géneros de protozoos ciliados y flagelados identificados morfológicamente se cuantificaron y se organizaron en una hoja de cálculo con formato wk1 para analizarlas con el programa PC-ORD 6.0, y con ello, se obtuvo el índice de Sørensen mediante el método de encadenamiento de promedio de grupos (Mc Cune y Mefford, 1999).

5. RESULTADOS

Las características nutrimentales de la muestra de agua de la zona litoral donde crecen las plantas en estudio y de la muestra de agua alejada de la zona litoral fueron similares (**Cuadro 5**). Los valores de los cationes observados (**Cuadro 6**) permitieron calcular la relación de absorción de sodio (RAS) y el porcentaje de sodio intercambiable, para clasificar el agua de la laguna dentro de la clase c2-s1, que corresponde a agua de salinidad media con bajo riesgo de salinidad según Richards (1954).

Cuadro 5. Características nutrimentales de la laguna de Tecocomulco, Hidalgo, colectada en 2011. A - agua de la zona litoral donde crecen las plantas acuáticas, B - agua alejada de la zona litoral.

Zona	CE	pH	CO ₃ ²⁻	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺
	dSm ⁻¹		meqL ⁻¹								
A	0.22	7.3	t	1.82	0.19	0.25	t	0.37	0.57	0.5	0.8
B	0.21	7.6	t	1.12	0.19	0.25	t	0.37	0.58	0.5	0.7

t=trazas

Cuadro 6. Relación de absorción de sodio (RAS), porcentaje de sodio intercambiable (PSI) y clase del agua de la laguna de Tecocomulco, Hidalgo, colectada en 2011. A - agua de la zona litoral donde crecen las plantas acuáticas, B - agua alejada de la zona litoral.

Zona	RAS	PSI	Clase
A	1.09	0.34	c2-s1
B	0.99	0.19	c2-s1

Ricciocarpos natans es una planta hepaticophyta, por lo que carece de una estructura diferenciada como raíz; por otro lado, *Azolla filiculoides* pertenece al grupo de los pteridofitas y *Lemna gibba* es una espermatofita, por lo que ambas poseen raíz (Rzedowski y Rzedowski, 2005). Sin embargo, poseen ciertas similitudes, las tres plantas suelen propagarse principalmente de forma vegetativa por fragmentación, flotan libremente en la laguna y presentan una zona radical sumergida, que en el caso de *R. natans* está formado por rizoides.

La observación al microscopio óptico mostró que el rizoide de *R. natans* está formado por un agregado de escamas alargadas constituidas por una monocapa de células rodeada de estructuras puntiformes, sin tejido vascular evidente (**Figura 4a-c**). En contraste, *L. gibba* presenta una raíz solitaria con haces vasculares y una vaina en la zona joven de ésta (**Figura 4d-f**). Por otra parte, *A. filiculoides* presentó un tejido vascular a lo largo de una raíz rodeada de pelos radicales (**Figura 4g-i**).

Las raíces de las tres plantas acuáticas muestran diferencias estructurales que pudieran tener influencia en las poblaciones microbianas de la laguna, al compararlas tomando en cuenta el número de unidades formadoras de colonias (UFC) aisladas de la zona rizosférica y de una muestra de agua sin influencia de plantas.

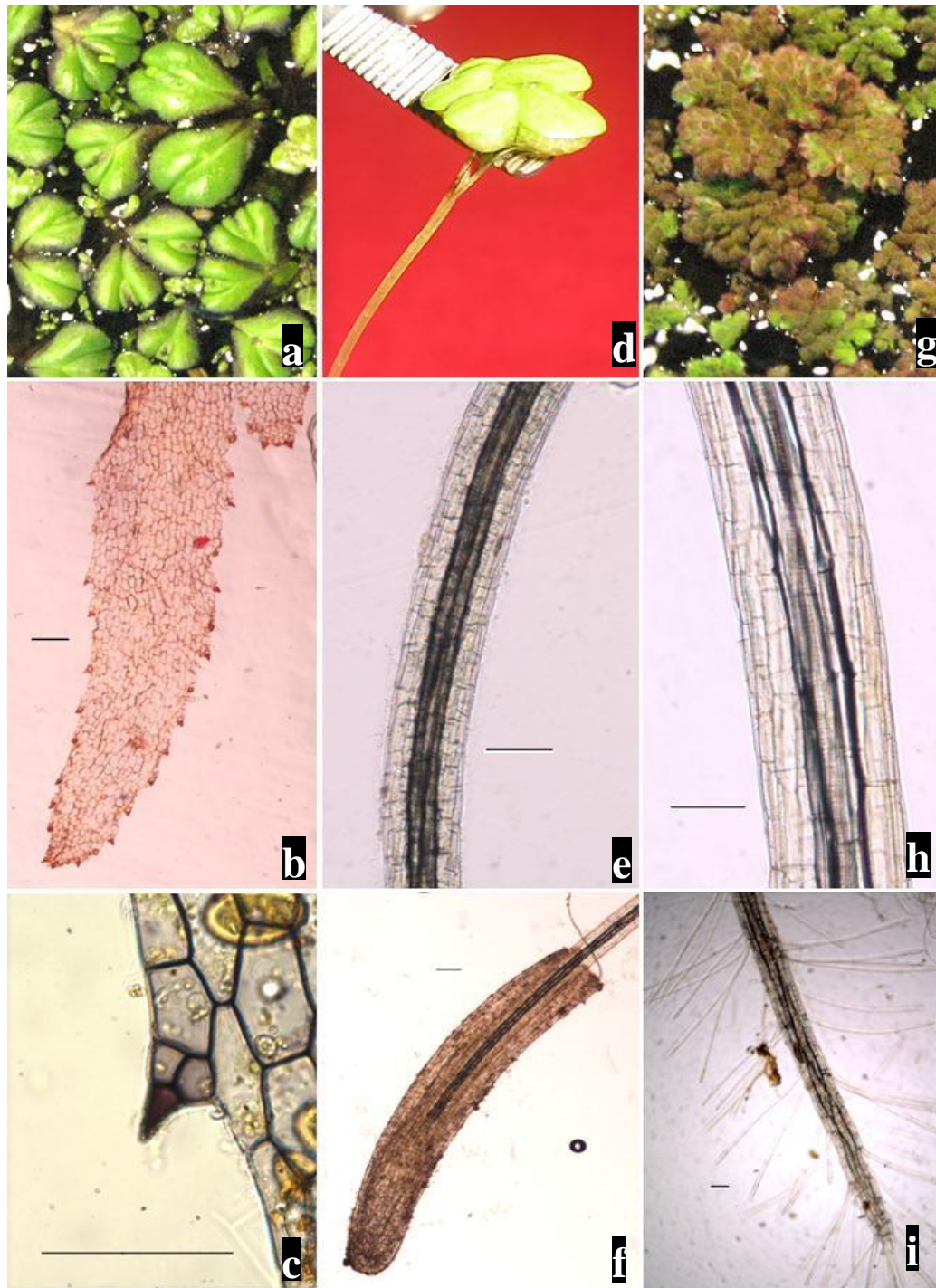


Figura 4. Aspecto de las plantas recolectadas en 2011 de la laguna de Tecocomulco, Hidalgo, y su sistema radical. a-c) *Ricciocarpos natans*: b) Escama rizoidal (4X), c) estructuras laterales puntiformes de la escama (40X); d-f) *Lemna gibba*: e) porción de raíz madura (10X), f) vaina de la raíz (4X); g-i) *Azolla filiculoides*: h) porción de raíz madura (10X), i) porción de raíz joven con pelos radicales (4X). La barra representa 100 µm en todos los casos.

Las zonas radicales de las tres plantas acuáticas mostraron un número significativamente mayor (LSD, $\alpha=0.05$) de grupos bacterianos, en comparación con el agua sin presencia de plantas en la cual se observó el menor número de UFC en todos los casos. Únicamente en el conteo de grupos morfológicos se observó una diferencia entre plantas, donde se distingue que *A. filiculoides* presentó mayor número de UFC de actinobacterias, y *R. natans* mostró mayor número de UFC de cianobacterias (**Cuadro 7**). El conteo de UFC mostró mayor riqueza bacteriana en la zona rizosférica que en el agua a distancia (LSD, $\alpha=0.05$). Adicionalmente, para tener una referencia de la influencia que ejerce cada raíz sobre las poblaciones bacterianas, se calculó el índice rizosférico, observándose una tendencia decreciente de los grupos microbianos en el siguiente orden *Azolla* > *Lemna* > *Ricciocarpos* (**Cuadro 8**).

Cuadro 7. Unidades formadoras de colonias (UFC) de los grupos bacterianos presentes en la rizosfera de *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba*, *Ricciocarpos natans* y en agua a distancia.

Grupo	UFC x 10 ³ mL ⁻¹			
	<i>Azolla filiculoides</i>	<i>Lemna gibba</i>	<i>Ricciocarpos natans</i>	Agua a distancia
Fácil crecimiento	6733 a	7433 a	4100 a	15 b
Lipolíticas	5400 a	5133 a	3766 a	43 b
Fijadoras de N	13500 a	9233 a	6866 a	73 b
* Celulolíticas	40	100	40	10
Amilolíticas	1600 a	2350 a	700 a	0
Solubilizadores de P	1033 a	900 a	250 a	0
Morfológico	Actinobacterias	40 a	0	20 b
	Cianobacterias	26.6 a	15.6 b	51.6 b

Letras idénticas en la misma línea no estadísticamente iguales (LSD, $\alpha = 0.05$). n= 3.

*El número de repeticiones no permitió el análisis estadístico.

Cuadro 8. Índice rizosférico obtenido para los grupos bacterianos funcionales y morfológicos.

Grupo bacteriano		Índice rizosférico (rizosfera/agua)		
		<i>Azolla filiculoides</i>	<i>Lemna gibba</i>	<i>Ricciocarpos natans</i>
Funcional	Fácil crecimiento	488.8	495.5	273.3
	Lipolíticas	124.6	118.46	86.9
	Fijadoras de N	184	125.9	93.6
	Celulolíticas	4	10	4
	Amilolíticas	-	-	-
	Solubilizadores de P	-	-	-
Morfológico	Actinobacterias	-	-	-
	Cianobacterias	18.1	10.68	35.2
Ambos	Total	198.2	175.8	110.3

Las diferentes colonias bacterianas cultivadas se aislaron y caracterizaron morfológicamente (Anexo 10.7), en total se lograron aislar 109 cepas. Del total de aislados, 43% correspondió a *Azolla filiculoides*, en contraste, sólo el 3 % de las bacterias correspondieron al agua sin influencia de plantas (**Figura 5**).

A partir de *A. filiculoides* y *R. natans* se lograron cultivar colonias de todos los grupos bacterianos evaluados aunque en diferentes proporciones, a diferencia de *L. gibba* donde los grupos de actinobacterias, cianobacterias y celulolíticos no se lograron aislar. Por otro lado, el agua sin influencia de plantas sólo presentó crecimiento del grupo de fijadores de nitrógeno y cianobacterias. Del total de colonias bacterianas aisladas, el grupo de bacterias fijadoras de nitrógeno fue el más numeroso y estuvo presente en todas las condiciones evaluadas (**Figura 5**).

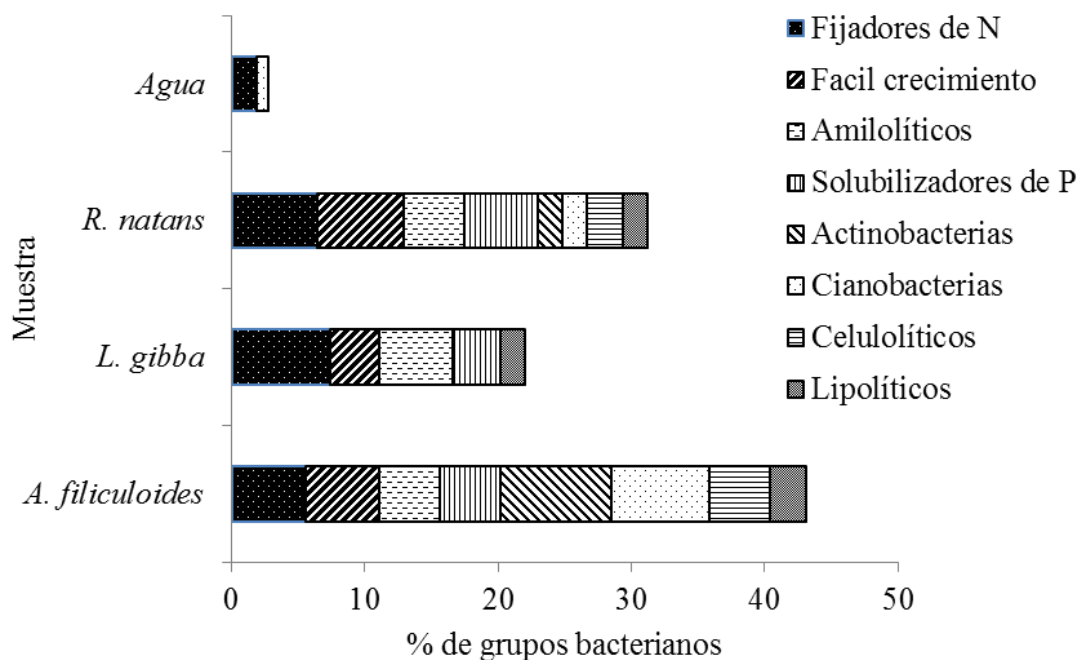


Figura 5. Porcentaje de grupos bacterianos aislados de la zona rizosférica de *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba*, *Ricciocarpos natans* y de agua sin influencia de plantas.

Del total de las colonias bacterianas aisladas sólo 84 cepas fueron utilizadas para la extracción de DNA y para su identificación filogenética debido a su fácil y rápido crecimiento en el medio de cultivo; no obstante, 29 cepas bacterianas fueron negativas a la amplificación con iniciadores para reconocer bacterias, y en consecuencia sólo se analizaron molecularmente 55 cepas bacterianas.

El análisis filogenético permitió observar la afinidad de ciertas especies de bacterias de cada rizosfera analizada, lo anterior permitió construir un árbol filogenético para cada rizosfera. De los aislados identificados, en agua sin influencia de plantas se determinaron dos especies, *Acinetobacter* sp. y *Nocardioides* sp., mientras que 53 cepas bacterianas estuvieron asociadas a la zona rizosférica de las tres plantas acuáticas. Se identificaron 20 cepas asociadas a la raíz de *A.*

filiculoides, las cuales se distribuyeron en cinco géneros. En la Figura 6, se observa un clado dominante formado por el género *Aeromonas*, donde se aprecian las especies *Aeromonas* sp., *A. hydrophila* y *A. veronii*. Además se detectaron clados menores constituidos por *Pseudomonas*, *Chryseobacterium*, *Afipia* y *Acidovorax* (**Figura 6**).

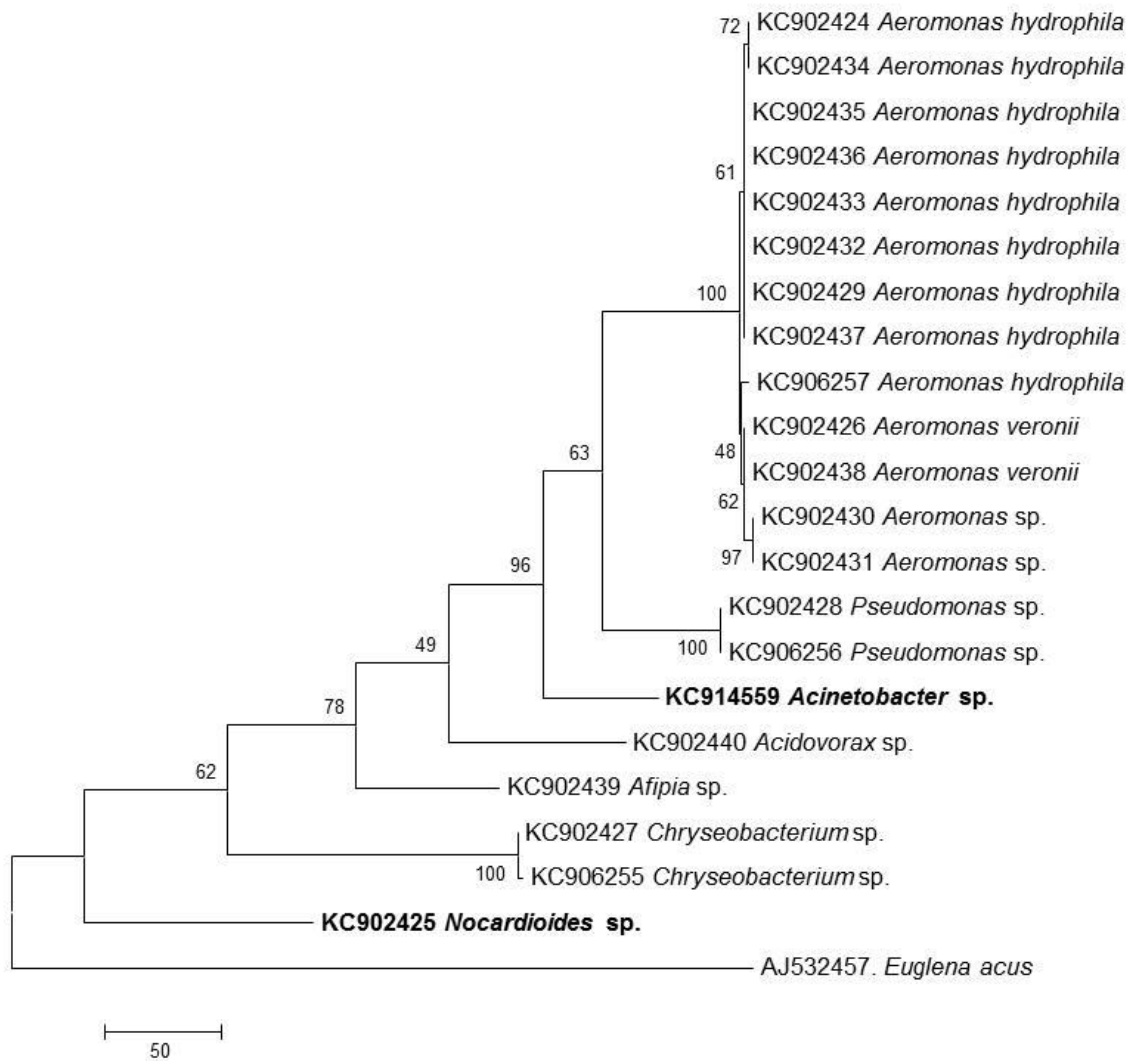


Figura 6. Análisis filogenético de los géneros bacterianos identificados en la rizosfera de *Azolla filiculoides*. En negritas se remarcan los dos géneros encontrados en agua sin influencia de plantas, mientras que *Euglena acus* se asignó como grupo externo. El árbol filogenético se realizó por el método de máxima parsimonia con un análisis de bootstrap con 1000 repeticiones. La barra indica 50 sustituciones por sitio.

En la rizosfera de *L. gibba* se identificaron 17 cepas bacterianas distribuidas en cinco géneros que se agrupan principalmente en dos clados: 1) *Aeromonas*, formado por *Aeromonas* sp., *A. jandaei*, *A. veronii*, *A. allosaccharophila* y *A. hydrophila*; y 2) *Exiguobacterium*, donde se ubicó a *Exiguobacterium* sp. y *E. acetylicum*. Además, las especies *Pelomonas* sp., *Equitalea denitrificans* y *Rhodobacter blasticus* formaron clados menores (Figura 7).

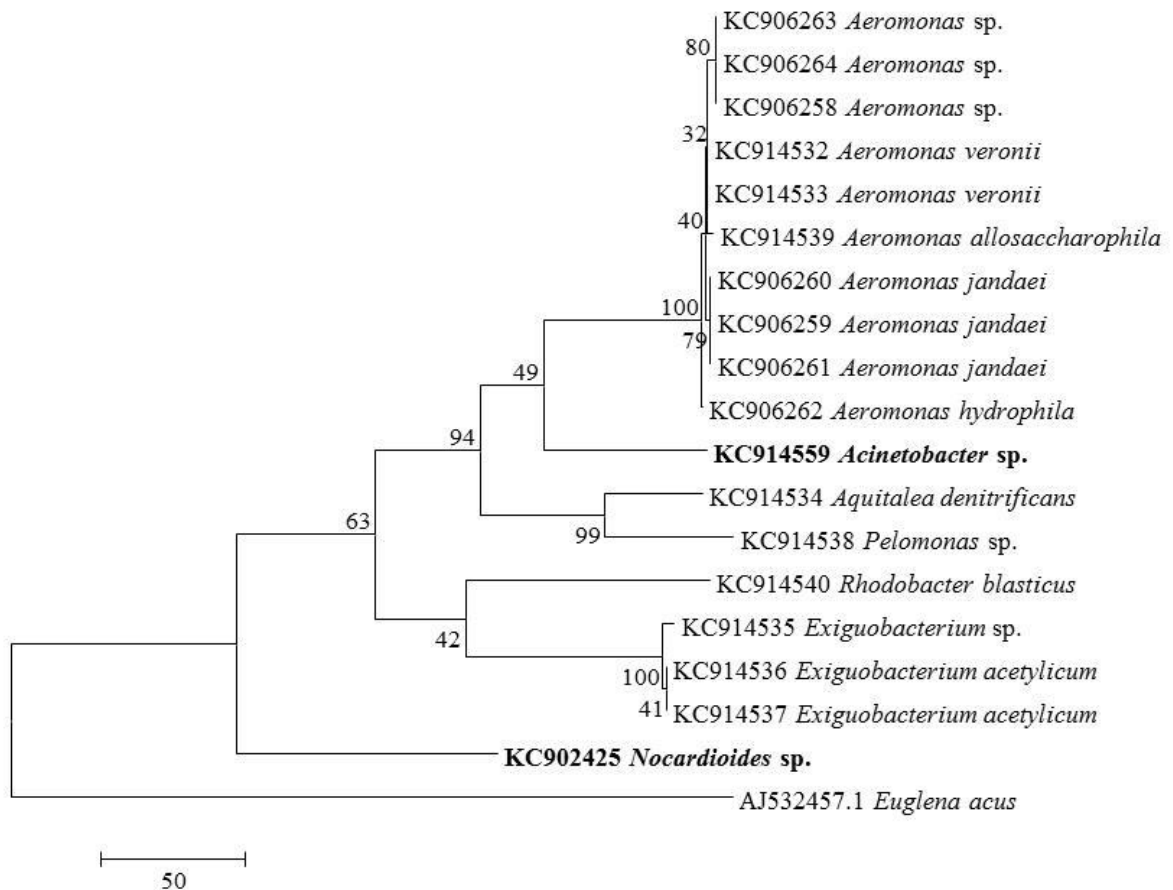


Figura 7. Análisis filogenético de los géneros bacterianos identificados en la rizosfera de *Lemna gibba*. En negritas se remarcan los dos géneros encontrados en agua sin influencia de plantas, mientras que *Euglena acus* se asignó como grupo externo. El árbol filogenético se realizó por el método de máxima parsimonia con un análisis de bootstrap con 1000 repeticiones. La barra representa 50 sustituciones por sitio.

Los 20 aislados bacterianos identificados en el rizoides de *R. natans* se distribuyeron en 15 géneros bacterianos. Esta comunidad bacteriana fue la más diversa de las tres rizosferas y sin presentar una especie predominante.

Las especies bacterianas identificadas se distribuyeron en cinco clados, uno en el que se agruparon diez especies (*Acidovorax* sp., *Pelomonas saccharophila*, *Pelomonas* sp., *Zooglea* sp., *Ralstonia* sp., *Stenotrophomonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas putida*, *Shewanwlla* sp. y *Aeromonas veronii*), mientras que clados menores fueron conformados por *Caulobacter* sp. y *Porphyrobacter* sp.; *Bacillus pumilus* y *Terribacillus* sp.; *Arthrobacter* sp. y *Pedobacter terrae* (Figura 8).

Se realizó la comparación entre las comunidades de las zonas rizosféricas, inicialmente tomando en cuenta sólo la presencia de especies y posteriormente, considerando la frecuencia de cada una de ellas, para lo cual se usó el índice de Sørensen. Ambos análisis, por presencia y por frecuencia de especies, mostraron que las poblaciones bacterianas de las raíces de *Lemna gibba* y de *Azolla filiculoides* presentan similitud, mientras que la raíz de *Ricciocarpos natans* difiere en más de 30% y la población bacteriana del agua a distancia es completamente diferente de las comunidades bacterianas de las zonas rizosféricas (**Figura 9**).

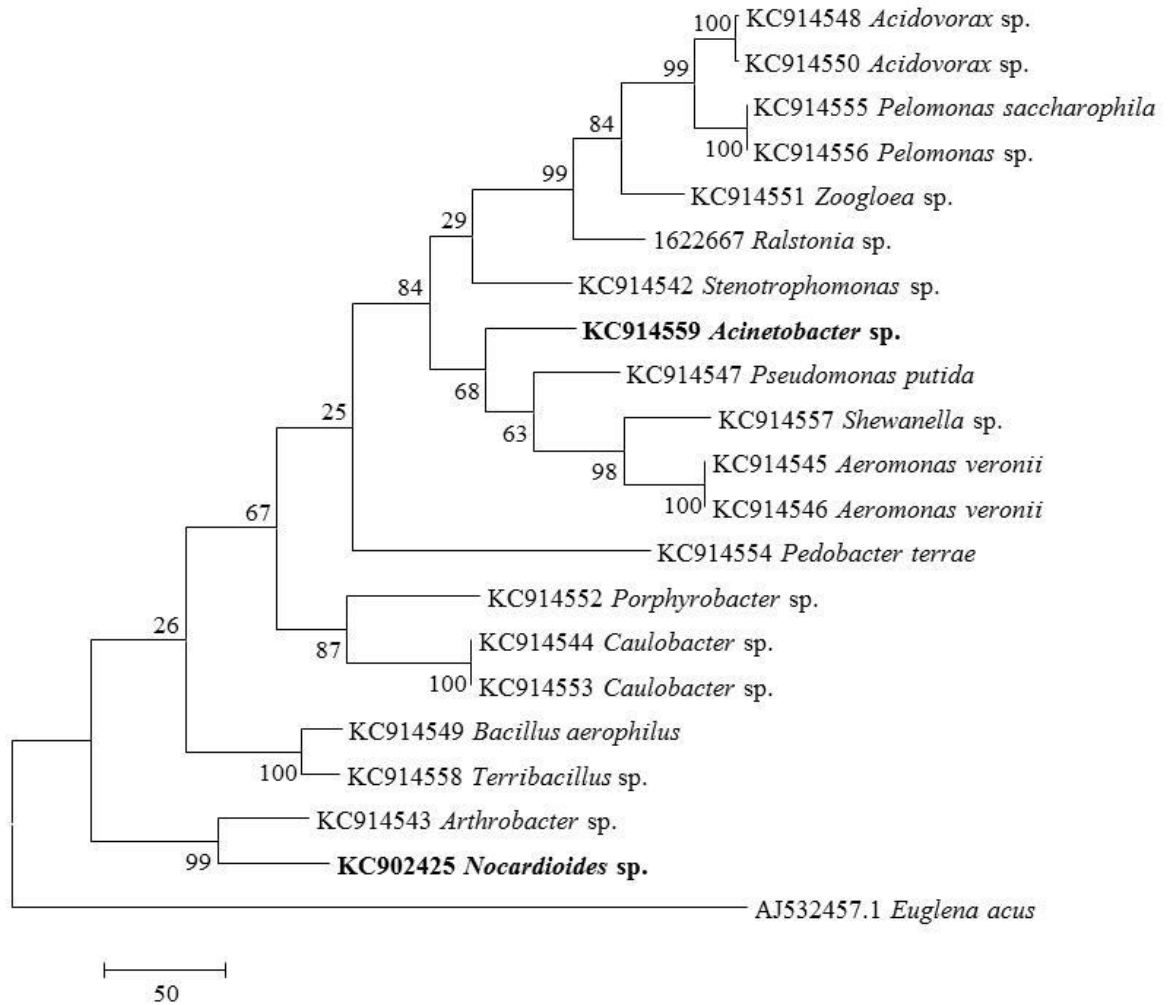


Figura 8. Análisis filogenético de las colonias bacterianas identificadas en el rizoide de *Ricciocapus natans*. En negritas se remarcan los dos géneros encontrados en agua sin influencia de plantas, mientras que *Euglena acus* se asignó como grupo externo. El árbol filogenético se realizó por el método de máxima parsimonia con un análisis de bootstrap con 1000 repeticiones. La barra representa 50 sustituciones por sitio.

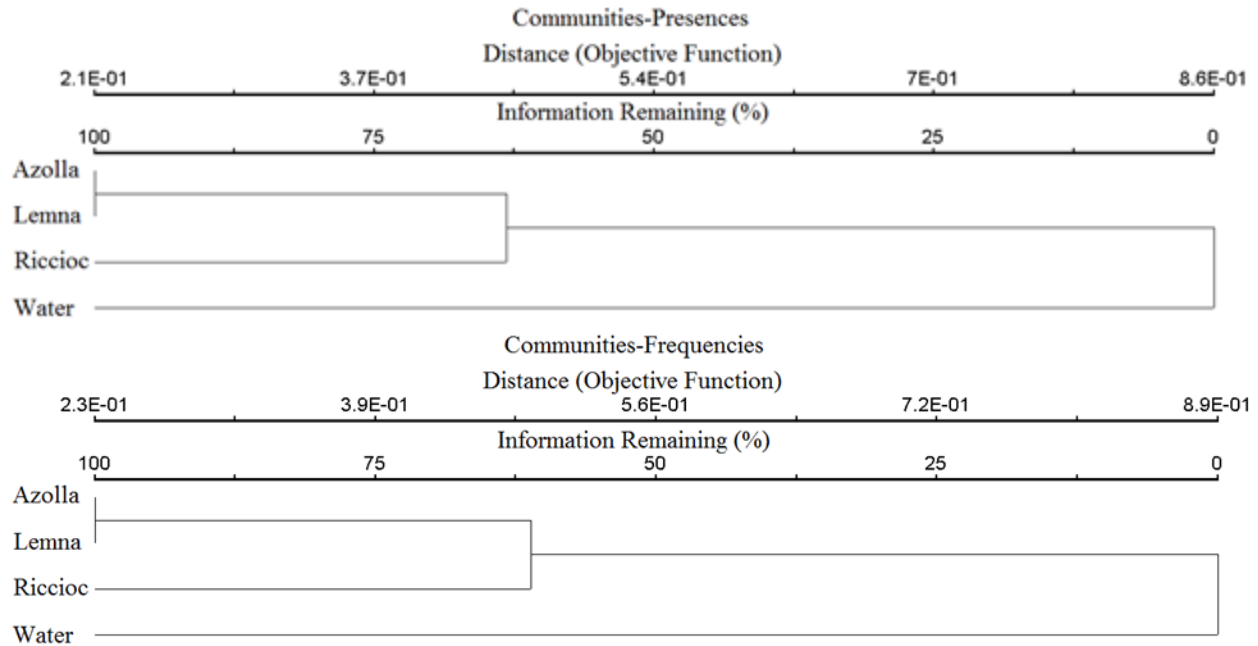


Figura 9. Índice de Sørensen de las comunidades bacterianas asociadas a la rizosfera de *Azolla filiculoides* (Azolla), *Lemna gibba* (Lemna) y *Ricciocarpos natans* (Riccioc), y agua a sin influencia de plantas (water). Arriba, basado en presencia de especies; abajo, basado en frecuencias de especies. El análisis se realizó mediante el método de encadenamiento de promedio de grupos.

Las comunidades de protozoos ciliados y flagelados de las tres zonas rizosféricas mostraron ser distintas en cada planta. Se identificaron morfológicamente 25 géneros de flagelados y 20 de ciliados (**Cuadro 9**).

Los géneros más abundantes fueron *Bodo*, *Cercomona*, *Halteria* y *Rincomona*. En el agua a distancia únicamente estuvieron presentes 8 géneros, 5 de flagelados (*Goniomona*, *Notosolenus*, *Spumella*, *Trachelomona* y *Phalangerium*) y 3 de ciliados (*Coleps*, *Cyclidium* y ciliado 5), ninguno de ellos mostró una frecuencia importante. En contraste, *A. filiculoides* presentó 31 géneros de los cuales, 19 fueron flagelados y 12 ciliados. Por otro lado, se

encontraron 18 géneros de flagelados y nueve de ciliados en la rizosfera de *L. gibba*, mientras que en la rizosfera de *R. natans* se identificaron once géneros de flagelados y ocho géneros de ciliados. Se puede notar que en todas las condiciones (rizosferas) se presentó mayor número de géneros de protozoos flagelados en comparación con los protozoos ciliados (**Cuadro 9**).

Los géneros *Cyclidium*, *Goniomona* y *Spumella*, estuvieron presentes tanto en la rizosfera como en el agua a distancia, mientras que *Anisonema*, *Anthophysa*, *Bodo*, *Cercomona*, *Halteria* y *Peranema* se encontraron asociados únicamente a la zona rizosférica, además, de dichos géneros *Bodo* fue el más abundante (**Cuadro 9**).

Se realizó una comparación entre las comunidades de protozoos ciliados y flagelados presentes en la zona rizosférica mediante el índice de Sørensen, en primera instancia se consideró la presencia de especies, y posteriormente, la frecuencia de especies. El índice de Sørensen basado en la presencia de especies mostró una similitud de 100% entre las comunidades de protozoos de la rizosfera de *A. filiculoides* y *L. gibba*, mientras que *R. natans* fue diferente en más de 35%; en contraste, el agua a distancia presentó una población completamente distinta con respecto a las tres zonas rizosféricas (Figura 10).

Por otra parte, el índice de Sørensen basado en frecuencias de protozoos ciliados y flagelados mostró una similitud de 100% en las poblaciones de *R. natans* y *L. gibba*, y una diferencia de más de 35% con *A. filiculoides*; en contraste, la población del agua a distancia resultó ser completamente diferente a las comunidades presentes en la rizosfera (**Figura 10**).

Cuadro 9. Frecuencias de los principales géneros de protozoos ciliados y flagelados observados en la rizosfera de *Azolla filiculoides*, *Lemna gibba* y *Ricciocarpos natans*. La identificación se realizó morfológicamente mediante observación en microscopio óptico.

Género	<i>A. filiculoides</i>	<i>L. gibba</i>	<i>R. natans</i>	Agua
<i>Anisonema</i>	1	2	2	0
<i>Aspidisca</i>	5	2	0	0
<i>Athophysa</i>	1	2	2	0
<i>Bodo</i>	36	8	9	0
<i>Bodo saltans</i>	13	0	2	0
<i>Bodomorpha</i>	1	0	0	0
<i>Cafeteria</i>	2	0	0	0
<i>Cercomona</i>	10	2	9	0
<i>Climacostomum</i>	0	0	2	0
<i>Clorogonium</i>	0	1	0	0
<i>Coleps</i>	0	6	0	2
<i>Cryptomona</i>	0	2	0	0
<i>Cyclidium</i>	2	3	1	1
<i>Entosiphon</i>	1	0	0	0
<i>Euglena acus</i>	1	1	0	0
<i>Euglena</i>	1	1	0	0
<i>Euplotes</i>	0	1	0	0
<i>Goniomona</i>	2	4	4	1
<i>Gymnodinium</i>	0	1	0	0
<i>Halteria</i>	13	2	1	0
<i>Lacrymaria</i>	0	2	0	0
<i>Monosiga</i>	5	0	0	0
<i>Notosolenus</i>	2	1	0	2
<i>Paramecium</i>	1	0	0	0
<i>Paraphysomona</i>	1	0	3	0
<i>Peranema</i>	2	2	1	0
<i>Petalomona</i>	4	1	0	0
<i>Phacus</i>	0	1	1	0
<i>Phalanterium</i>	1	0	0	1
<i>Plagiophyla</i>	0	0	1	0
<i>Platyophrya</i>	1	0	0	0
<i>Protaspis</i>	0	2	0	0
<i>Pseudodendromona</i>	0	1	0	0
<i>Rinchomona nasuta</i>	8	2	0	0
<i>Spumella</i>	14	2	4	1
<i>Strobilidium</i>	4	0	0	0

Cuadro 9. Continuación.

Género	<i>A. filiculoides</i>	<i>L. gibba</i>	<i>R. natans</i>	Agua
<i>Tetrahymena</i>	1	1	0	0
<i>Trachelomona</i>	1	0	2	1
<i>Uronema</i>	1	0	0	0
<i>Vorticella</i>	1	0	1	0
ciliado 1	2	0	0	0
ciliado 2	1	3	0	0
ciliado 3	0	0	1	0
ciliado 4	0	0	2	0
ciliado 5	0	1	0	1
ciliado 6	10	0	0	0
ciliado 7	0	0	6	0

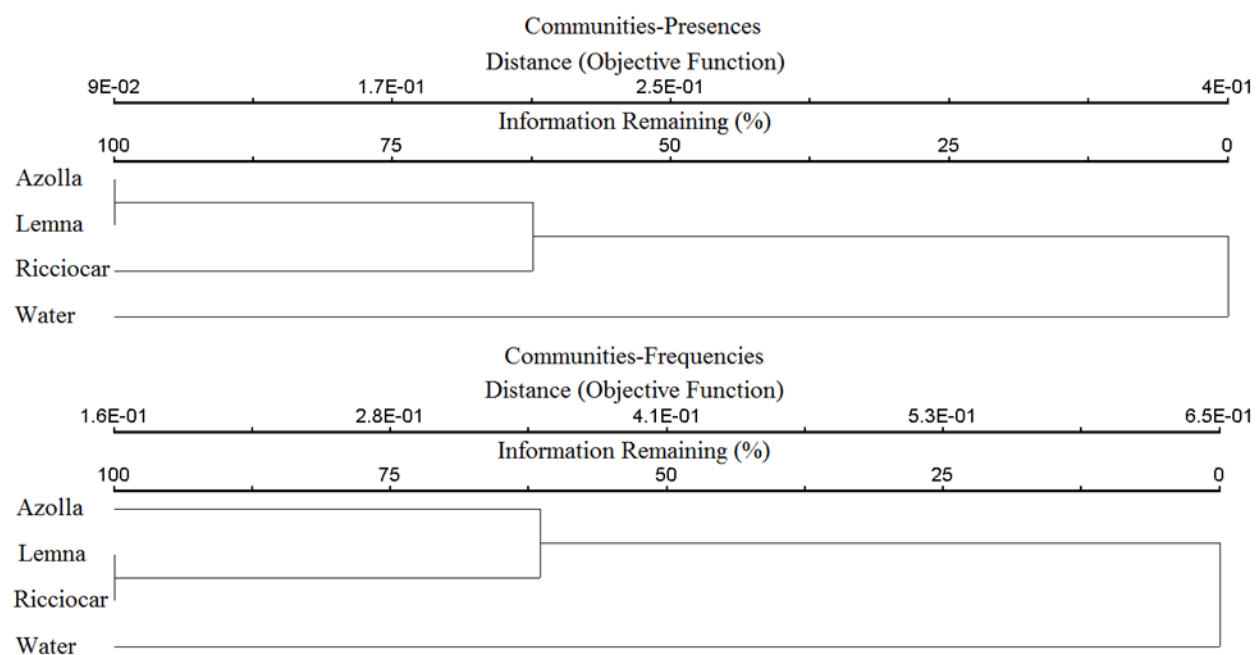


Figura 10. Índice de Sørensen de las comunidades de protozoos ciliados y flagelados asociadas a la rizosfera de *Azolla filiculoides* (Azolla), *Lemna gibba* (Lemna) y *Ricciocarpos natans* (Ricciocar), y agua sin influencia de plantas (Water). Arriba, basado en presencia de especies; abajo, basado en frecuencias de especies. El análisis se realizó mediante el método de encadenamiento de promedio de grupos.

6. DISCUSIÓN

Las raíces de las plantas exudan diversos compuestos de bajo peso molecular en la rizosfera, con lo que se generan interacciones dinámicas entre la raíz y los microorganismos (Bais *et al.*, 2006). Las interacciones con microorganismos se han observado en raíces de plantas acuáticas (Zuberer, 1984) y plantas terrestres (Hirsch *et al.*, 2003), en éstas últimas se ha observado que las bacterias pueden cuadruplicar su densidad poblacional en la zona rizosférica (Salt *et al.*, 1998) e incluso la distribución microbiana varía a lo largo de la zona rizosférica (Grillo *et al.*, 2013). Sin embargo, pocos o ningún estudio se ha enfocado a conocer la influencia de la rizosfera acuática sobre las comunidades microbianas.

Zuberer (1984) observó bacterias, cianobacterias, protozoos, diatomeas y algas verdes asociados a la raíz de *Lemna minor* y *Spirodela oligorhiza*, esto sugiere que las plantas acuáticas de pequeño tamaño pueden ser un buen modelo para el estudio de las comunidades microbianas en la rizosfera acuática. Se ha reportado que los géneros *Lemna* y *Azolla* crecen flotando libremente en el litoral de la laguna de Tecocomulco, Hidalgo (Lot-Helgueras, 2005) por lo que se consideraron para el presente estudio. Además, plantas del género *Ricciocarpus* se encontraron en la misma zona y se incorporó al estudio por ser acuática flotadora.

En primera instancia se procedió a conocer las condiciones nutrimentales de la laguna, se tomó una muestra de agua de la zona litoral (en contacto con plantas) y otra a 10 metros de distancia de la orilla (agua sin la presencia de plantas). Los valores nutrimentales de la laguna resultaron similares tanto en el agua sin la presencia de plantas como en el agua del litoral. Esto indica que las características nutrimentales de la laguna son homogéneas y tienen poca influencia sobre la distribución horizontal de las poblaciones microbianas de la laguna.

Con base en los valores obtenidos de los iones (CO_3^{2-} , HCO_3^- , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+) del agua de la laguna y los cálculos de SAR y el PSI, el agua de la laguna se clasificó como c2-s1, lo que corresponde a agua con bajo contenido de sodio que puede ser usada para riego con bajo riesgo de salinización (Allison *et al.*, 1954).

Azolla filiculoides, *Lemna gibba* y *Ricciocarpos natans* presentan características comunes (flotan libremente en el laguna, se propagan principalmente de forma vegetativa por fragmentación y poseen una zona radical sumergida); sin embargo, también presentan diferencias. *R. natans* es una hepática y por ende presenta un rizoma y no una raíz, por lo que el término rizosfera tendría que ser revisado para aplicarlo ella. Por otro lado, *A. filiculoides* es un helecho que mantiene una asociación mutualista perpetua con cianobacterias (Ran *et al.*, 2010), dicha característica podría influir en el efecto rizosférico debido a que los sistemas simbióticos planta-cianobacteria fijadora de nitrógeno tienen mayor capacidad de fijación de carbono (Cocking, 2003), y alrededor del 20% del carbono fijado por la planta es trasladado a la raíz (Lugtenberg y Kamilova, 2009).

La observación al microscopio de las estructuras radicales de cada planta permitió distinguir diferencias morfológicas adicionales. *A. filiculoides* posee una raíz solitaria que presenta pelos radicales en la porción más joven, lo que puede incrementar la presencia de bacterias ya que tienen afinidad por dichas zonas (Lugtenberg y Kamilova, 2009). Por otro lado, *L. gibba* presenta una vaina en la punta de la raíz donde existe una gran abundancia de microorganismos (Zuberer, 1984).

El conteo de UFC bacterianas sugieren la existencia de un efecto rizosférico ejercido por las tres plantas, ya que en todos los casos, las UFC del agua sin la presencia de la planta fueron significativamente menores (LSD, $\alpha=0.05$). Además, *A. filiculoides* y *L. gibba* presentaron los

índices rizosféricos más altos, implicando la existencia del efecto rizosférico. Dado que el contenido de nutrimentos fue similar en el agua sin presencia de plantas y en el agua obtenida del litoral donde crecen las tres especies de plantas, el único factor que pudo ser el responsable de las diferencias en las poblaciones bacterianas fue el efecto rizosférico. Las raíces de las plantas liberan carbono como exudados radicales y se ha estimado que en la etapa de crecimiento, la raíz libera aproximadamente de 2 a 10 g de C kg suelo⁻¹ mes⁻¹, es decir, el carbono suficiente para generar de 50 a 100 veces la biomasa microbiana activa del suelo (Jones *et al.*, 2009).

Un dato sobresaliente es que *R. natans* presentó un efecto rizosférico aún sin contar con una raíz. Al respecto, Vicre *et al.* (2005) mencionan que las plantas también secretan exudados radicales transportándolos a través de la membrana celular, este fenómeno podría darse en la monocapa de células que conforman al rizoide de *R. natans*, explicando el efecto rizosférico que se presentó.

Con el fin de hacer la mejor estimación de la verdadera diversidad de las comunidades bacterianas asociadas a la raíz, se utilizaron múltiples medios de cultivo, tal como lo sugieren Vartoukian *et al.* (2010). Algunas de las bacterias presentaron un buen crecimiento cuando la muestra de agua en diluciones seriales se distribuyó en los medios de cultivo; sin embargo, una vez crecidas las colonias y transferidas a cajas con medio para resembrarlas se resistieron a la manipulación y a su cultivo continuo, esto es particularmente notorio en bacterias del grupo de las lipolíticas, celulolíticas, cianobacterias y en algunas de las bacterias de fácil crecimiento, y en especial de aquellas cuantificadas en *L. gibba* y en agua sin la presencia de plantas. Esto podría deberse a que la cuantificación de UFC se realizó en cajas Petri que presentaron crecimiento de diversas colonias bacterianas, lo que facilita la cooperación metabólica entre especies (Belenguer *et al.*, 2006), la cual fue suprimida al intentar el aislamiento de cepas puras. Por otra parte, las

bacterias pueden ser difíciles de cultivar en ausencia de compuestos que están presentes únicamente en su ambiente natural (Nichols *et al.*, 2008). En este caso la rizosfera puede ser fuente de compuestos necesarios para el crecimiento bacteriano (Bertin *et al.*, 2003). Dichos principios también explican el por qué 25 de las colonias inicialmente aisladas, quedaron inactivas durante el proceso de purificación.

Todos los grupos funcionales bacterianos evaluados estuvieron presentes en *A. filiculoides* y *R. natans*, esto podría deberse a que estas plantas proveen una gran diversidad de compuestos que fomentan un mayor crecimiento bacteriano, o a que los grupos bacterianos que ahí se desarrollan dependen en menor grado de los exudados secretados por la planta, lo que les permitió crecer sin problema en el medio de cultivo, un ejemplo puede ser el género *Aeromonas*, ya que posee una amplia versatilidad metabólica y no exige requisitos nutricionales, lo que le permite adaptarse a variados ambientes (Khardori y Fainstein, 1988).

El grupo de bacterias fijadoras de nitrógeno fue el más numeroso y estuvo presente en las tres rizosferas evaluadas así como en agua a distancia, esto es debido a que dichos microorganismos pueden encontrarse en vida libre o asociarse a la rizosfera de las plantas para obtener energía en forma de hidratos de carbono (Cocking, 2003).

El agua sin presencia de plantas presentó crecimiento sólo de cianobacterias y bacterias de fácil crecimiento, lo que posiblemente se debe a que la cantidad de compuestos ricos en energía presente en el agua es menor que en la rizosfera, esto concuerda con lo mencionado en estudios donde la rizosfera de plantas terrestres presenta altas concentraciones de bacterias (Salt *et al.*, 1998).

Debido a que del total de las colonias bacterianas aisladas, 25 quedaron inactivas y 28 fueron negativas a la amplificación con los iniciadores para bacterias, únicamente se

identificaron 56 colonias bacterianas. En agua sin influencia de plantas se identificaron únicamente dos géneros, *Acinetobacter* y *Nocardioides*. El primero se refiere bacterias muy abundantes en agua que pueden usar un gran número de compuestos de carbono como fuente de energía (azúcares, ácidos grasos, alcoholes alifáticos, aminoácidos, hidrocarburos no ramificados, aromáticos y alicíclicos), pero suelen crecer en medios minerales que contengan solo una fuente de carbono, usan el amonio o sales de nitrato como fuente de nitrógeno, y muy pocas especies requieren factores de crecimiento (Juni, 1978). Por otro lado, el género *Nocardioides* engloba actinobacterias que pueden ser móviles (Krieg y Holt, 1984), y se reproducen por fragmentación del filamento (Goodfellow y Minnikin, 1977). Esto puede explicar la presencia de ambas especies en agua sin influencia de plantas.

Las especies identificadas de la zona rizosférica de *A. filiculoides* mostraron un clado predominante de *Aeromonas*, que son bacterias muy comunes en aguas dulces o residuales, son anaeróbicas facultativas y móviles gracias a un flagelo, hidrolizan almidón, dextrina y glicerol, reducen nitrato a nitrito, producen lipasas y proteasas, y su variada maquinaria enzimática les permite vivir en variados ambientes lo que podría permitirles aprovechar los recursos disponibles en la rizosfera (Khardori y Fainstein, 1988). La presencia de *Aeromonas* también fue predominante en la rizosfera de *L. gibba*, ambas plantas presentan raíz verdadera y esto podría influir, ya que los exudados radicales podrían ser ricos en compuestos carbonados.

Lemna gibba presentó, además de *Aeromonas*, un clado de *Exiguobacterium*, estas bacterias tienen capacidad de vivir en ambientes extremos, ya que han sido aisladas de glaciares, aguas termales (Rodrigues y Tiedje, 2007) y lagos oligotróficos (Lopez *et al.*, 2005).

El análisis de la comunidad de la población bacteriana de *R. natans* no muestra la dominancia de algún género o especie. Sin embargo, en su rizosfera se encuentra una gran

diversidad de géneros bacterianos, tal como la degradadora de compuestos orgánicos complejos *Pseudomonas putida* que además es de rápido crecimiento (Timmis, 2002), que también se ha encontrado anteriormente en la rizosfera de plantas cultivadas (Nelson *et al.*, 2002). También hubo otros géneros en la el rizosfera de *R. natans*, las más notables fueron *Caulobacter* y *Arthrobacter*, que posee enzimas que degradan material vegetal en descomposición y actividad proteolítica respectivamente (Laub *et al.*, 2007; Adamitsch *et al.*, 2003); *Pelomonas saccharophila* (con capacidad para degradar compuestos aromáticos) y *Bacillus pumilus* (bacteria promotoras de crecimiento) (Gomila *et al.*, 2007; Probanza *et al.*, 1996). El género *Ralstonia* agrupa especies patógenas de plantas que pueden invadir tejidos corticales de raíces y los vasos del xilema (Genin y Denny, 2012).

La población de bacterias cultivables de la rizosfera acuática fue taxonómica y fisiológicamente diversa. *Aeromonas hydrophila* presentó actividad amilolítica, celulolítica, lipolítica, solubilizadora de fosforo y fijadora de nitrógeno; en contraste *Aeromonas veronni* no presento actividad celulolítica. Por otro lado, *Aeromonas jandaei* solo mostró actividad celulolítica y solubilizadora de fósforo, y *Aeromonas allosaccharophila* solo fue capaz de degradar almidón. Esto confirma la variada maquinaria enzimática del género *Aeromonas* (Khardori y Fainstein, 1988).

Los géneros bacterianos *Acinetobacter* sp., *Nocardioides* sp., *Exiguobacterium acetylicum*, *Chryseobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Caulobacter* sp. puede crecer en condiciones pobres de nitrógeno (Laub *et al.*, 2007), así como *Pedobacter terrae*, *Shewanella* sp., *Terribacillus* sp., y *Zoogloea* sp. cuya capacidad de crecer en condiciones limitadas de nitrógeno, no se tenía reportado. Particularmente, *Acinetobacter* sp., tiene la capacidad reducir las sales de nitrato y nitrito a formas asimilables (Juni, 1978).

Además, varias especies de bacterias tales como *Pseudomonas* sp., *Bacillus pumilus*, *Ralstonia* sp. y *Caulobacter* sp. fueron capaces de solubilizar fósforo (Wagner *et al.*, 2006); asimismo, especies tales como *Acidoborax*, *Afipia* y *Pseudomonas putida* que posee una gran versatilidad metabólica (Timmis, 2002), mostraron también actividad celulolítica. Además se observó actividad lipolítica de *Arthrobacter*, que también presenta actividad proteolítica (Adamitsch *et al.*, 2003).

Las plantas acuáticas estudiadas parecen tener una influencia significativa sobre las bacterias cultivables de la rizosfera, tal como lo mencionan Bais *et al.* (2006). Además las características fisiológicas de las bacterias encontradas en la rizosfera podrían mejorar la tolerancia al estrés y estimular el crecimiento de la planta tal como sucede con la presencia de *Bacillus pumilus* (Probanza *et al.*, 1996) o perjudicarla como podría hacerlo *Ralstonia* sp. (Genin y Denny, 2012). Además las relaciones bacteria-planta presentes en la rizosfera son responsables de procesos como secuestro de carbono y reciclaje de nutrientes importantes para el ecosistema (Singh *et al.*, 2004). No obstante, aún se requieren investigaciones detalladas para describir los beneficios de las bacterias rizosféricas asociadas a las plantas acuáticas.

Al comparar las poblaciones bacterianas identificadas filogenéticamente, mediante el índice de Sørensen, se puede apreciar que tanto el análisis basado en presencia como en frecuencia mostraron resultados muy similares. *A. filiculoides* y *L. gibba* son similares en un 100% ya que comparten especies bacterianas y un clado predominante formado por *Aeromonas*. Es evidente la diferencia de la población bacteriana del agua a distancia con las zonas rizosféricas. Además *R. natans* posee una población bacteriana distinta a *L. gibba* y *A. filiculoides*.

La identificación y cuantificación de los protozoos ciliados y flagelados tanto de la rizosfera como del agua a distancia mostró que los flagelados del género *Bodo*, *Cercomona* y *Spumella* fueron los más abundantes. Los géneros *Bodo* y *Cercomona* son principalmente bacterívoros, esto concuerda con trabajos que mencionan a dichos géneros como los más abundantes en la rizosfera de plantas terrestres (Ekelund y Rønn, 1994), además de que *Spumella* es de los flagelados más comunes en lagos (Cleven y Weisse, 2001). Los flagelados mencionados estuvieron asociados con mayor frecuencia a la raíz de *A. filiculoides*, lo que se puede explicar debido a que *A. filiculoides* presentó el mayor índice rizosférico total, por lo que la presencia de mayor cantidad de bacterias favorecería la presencia de estos flagelados.

Al comparar las poblaciones de ciliados y flagelados por presencia de especies se distingue que la raíces de *A. filiculoides* y *L. gibba* son similares en un 100%, y puede deberse a que ambas especies acuáticas presentan una raíz vascularizada que provee los compuestos necesarios para el desarrollo de estos microorganismos. Sin embargo, el índice de Sørensen basado en frecuencias muestra que *A. filiculoides* es diferente en más de 30%, esto se debe a que en su rizosfera se presentaron las frecuencias más altas de ciliados y flagelados, además de ser la que presentó una mayor diversidad de especies. Por otra parte, la población de protozoos sin influencia de plantas es completamente diferente a las demás rizosferas debido a que presentó el menor número de especies y de frecuencias de estas especies.

El índice rizosférico y la cuantificación de UFC de bacterias muestran que las plantas acuáticas ejercen a través de su rizosfera una gran influencia sobre la composición de las comunidades microbianas del lago, por lo que son de suma importancia en el ecosistema, ya que las bacterias y los protozoos son muy importantes para el reciclaje de nutrientes. Adicionalmente la identificación de grupos funcionales nos acerca al conocimiento de las relaciones metabólicas

existentes entre las bacterias y las plantas acuáticas flotadoras. De manera importante, la identificación de bacterias y protozoos proporcionó información sobre los microorganismos presentes en el lago, su importancia ecológica y sus funciones metabólicas con potencial biotecnológico.

7. CONCLUSIONES

Azolla filiculoides, *Lemna gibba* y *Ricciocarpos natans* ejercen un efecto rizosférico y las comunidades de bacterias asociadas a su rizosfera son distintas, y presentan capacidades metabólicas para solubilizar fósforo, fijar nitrógeno, degradar almidón, celulosa y grasas.

La caracterización morfológica y el análisis filogenético muestran mayor abundancia y diversidad de bacterias en las rizosferas con respecto al agua sin influencia de plantas, siendo *A. filiculoides* la que presenta la comunidad de bacterias más abundante y *R. natans* la que tiene la mayor diversidad.

La identificación morfológica de los protozoos ciliados y flagelados asociados a la rizosfera corroboró el efecto rizosférico ejercido por las plantas acuáticas, además, mostró la mayor abundancia y diversidad de protozoos en *A. filiculoides*.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Adamitsch BF, Karner F, Hampel W. 2003. Proteolytic activity of a yeast cell wall lytic *Arthrobacter* species. *Lett Appl Microbiol* 36: 227-229.
- Allison LE, Bernstein L, Bower CA, Brow JW, Fireman M, Hatcher JT, Hayward HE, Pearson, GA, Reeve RC, Richards LA, Wilcox LV. 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkaline soils. Washington: United States Department of Agriculture. 160 p.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 1980. Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemist, 15 ed. Washington DC. 1248 p.
- Arora A, Singh PK. 2003. Comparison of biomass productivity and nitrogen fixing potential of *Azolla* spp. *Biomass Bioenerg* 24: 175-178.
- Arpigny JL, Jaeger KE. 1999. Bacterial lipolytic enzymes: classification and properties. *Biochem J* 343: 177-183.
- Arroyave MP. 2004. La lenteja de agua (*Lemna minor* L.): una planta acuática promisoría. *EIA* 1: 33-38.
- Bais HP, Fall R, Vivanco JM. 2004. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of Arabidopsis roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant Physiol* 134: 307-19.
- Bais HP, Loyola VM, Flores HE, Vivanco JM. 2001. Root specific metabolism: the biology and biochemistry of underground organs. *In vitro Cell Dev Biol-Plant* 37: 730-741.
- Bais HP, Weir TL, Perry LG, Gilroy S, Vivanco M. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu Rev Plant Biol* 57: 233-66.
- Baker JA, Entsch B, McKay DB. 2003. The cyanobiont in an *Azolla* fern is neither *Anabaena* nor *Nostoc*. *FEMS Microbiol Lett* 229: 43-47.
- Banu-Fattah K, Kumer S. 2010. Bryophyte flora of greater Mymensingh district of Bangladesh-class: hepaticopsida and anthocerotopsida. *Bangladesh J Plant Taxon* 17: 55-67.
- Belenguer A, Duncan SH, Calder AG, Holtrop G, Louis P, Lobley GE, Flint HJ. 2006. Two routes of metabolic cross-feeding between *Bifidobacterium adolescentis* and butyrate-producing anaerobes from the human gut. *Appl Environ Microbiol* 72: 3593-3599.
- Bergman B, Rai AN, Rasmussen U. 2007. Cyanobacterial associations. In: Elmerich C, Newton WE, editores. Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations. Dordrecht: Springer. p. 256-301.
- Bertin C, Yang X, Weston LA. 2003. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant Soil* 256:67-83.

- Bharati K, Mohanty S, Singh D, Rao V, Adhya T. 2000. Influence of incorporation or dual cropping of *Azolla* on methane emission from flooded alluvial soil planted to rice in eastern India. *Agric Ecosyst Environ* 79: 73–83.
- Boenigk J, Arndt H. 2002. Bacterivory by heterotrophic flagellates: community structure and feeding strategies. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81: 465-480.
- Bondo PC, Revsbech NP, Sand-Jensen K. 1994. Microsensor analysis of oxygen in the rhizosphere of the aquatic macrophyte *Littorella uniflora* (L.) Ascherson. *Plant Physiol* 105: 847-852.
- Bright M, Bulgheresi S. 2010. A complex journey: transmission of microbial symbionts. *Microbiology* 8: 218-230.
- Brown RC, Lemmon BE. 2008. γ -Tubulin and microtubule organization during meiosis in the liverwort *Ricciocarpus natans* (Ricciaceae). *Am J Bot* 95: 664-671.
- Campbell R, Greaves MP. 1990. Anatomy and community structure of the rhizosphere. In: Lynch JM, editor. *The rhizosphere*. Nueva York: John Wiley and Sons. p 11-34.
- Canales-Gutiérrez A. 2010. Evaluación de la biomasa y manejo de *Lemna gibba* (lenteja de agua) en la bahía interior del lago Titicaca, Puno. *Ecol Apl* 9:91-99.
- Cardon ZG, Gage DJ. 2006. Resource exchange in the rhizosphere: molecular tools and the microbial perspective. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 37: 459-488.
- Castro R, Rodríguez M, Alvarez GE, Gil M, Novo R, Castro IR. 2009. Efecto de la incorporación del abono verde *Azolla* sp. en la reducción de los daños causados por fitonematodos en cultivos de organopónicos. *Cultivos Tropicales* 30: 10-13.
- Castro-Carrillo LA, Delgadillo-Martínez J, Ferrera-Cerrato R, Alarcon A. 2008. Remoción de fenantreno por *Azolla caroliniana* utilizando bioaumentación con microorganismos hidrocarbonoclastas. *Interciencia*. 33: 591-597.
- Chojnacka K. 2006. The application of multielemental analysis in the elaboration of mineral feed additives based on *Lemna minor* biomass. *Talanta* 70: 966–972.
- Christaki U, Van Wambeke F, Dolan JR. 1999. Nanoflagellates (mixotrophs, heterotrophs and autotrophs) in the oligotrophic eastern Mediterranean: standing stocks, bacterivory and relationships with bacterial production. *Mar Ecol-Prog Ser* 181: 297-307.
- Cleven EJ, Weisse T. 2001. Seasonal succession and taxon-specific bacterial grazing rates of heterotrophic nanoflagellates in Lake Constance. *Aquat Microb Ecol* 23: 147–161.
- Cocking EC. 2003. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. *Plant Soil* 252: 169–175.
- Dykyjová D, Ulehlová B. 1998. Mineral economy and cycling of minerals in wetlands. In: Westlake DF, Květ J, Szczepański A, editores. *The Production Ecology of Wetlands*. Cambridge: Cambridge University Press. p 319–66.

- Ekelund F, Rønn R. 1994. Notes on protozoa in agricultural soil with emphasis on heterotrophic flagellates and naked amoebae and their ecology. *FEMS Microbiol Rev* 15: 321-353.
- Falabi JA, Gerba CP, Karpisca MM. 2002. *Giardia* and *Cryptosporidium* removal from wastewater by a duckweed (*Lemna gibba* L.) covered pond. *Lett Appl Microbiol* 34: 384-387.
- Felsenstein J, 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Ferrera-Cerrato R. 1995. Efecto de rizósfera. In: Ferrera-Cerrato R, Pérez-Moreno J, editores. *Agromicrobiología, elemento útil en la agricultura sustentable*. México: Colegio de Postgraduados. p 39-53.
- Finlay BJ. 2004. Protist taxonomy: an ecological perspective. *Philos Trans R Soc B-Biol Sci* 359: 599-610.
- Forni C, Giordani F, Pintore M, Campanella L. 2008. Effects of sodium dodecyl sulphate on the aquatic macrophytes *Azolla* and *Lemna*. *Plant Biosyst* 142: 665-668.
- Garber JF. 1904. The life history of *Ricciocarpus natans*. *Bot Gaz* 37: 161-177.
- Genin S, Denny TP. 2012. Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Annu Rev Phytopathol* 50: 67-89.
- Gomila M, Bowien B, Falsen E, Moore ERB, Lalucat J. 2007. Description of *Pelomonas aquatica* sp. nov. and *Pelomonas puraquae* sp. nov., isolated from industrial and haemodialysis water. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 2629-2635.
- González JM, Iriberry J, Egea L, Barcina I. 1990. Differential rates of digestion of bacteria by freshwater and marine phagotrophic protozoa. *Appl Environ Microbiol* 56: 1851-1857.
- Goodfellow M, Minnikin DE. 1977. Nocardioform bacteria. *Annu Rev Microbiol* 31: 159-180.
- Gray EJ, Smith DL, 2005. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biol Biochem* 37: 395-410.
- Grillo JA, Opere BO, Adeniyi BA. 2013. Microbial Occurrence and Distribution at Different Rhizosphere Depths of *Musa sapientum* var *parasidiaca* and *Senna Occidentalis*. *Brit microbiol Res J* 3: 73-83.
- Gutiérrez K, Sanginés L, Pérez F, Martínez L. 2001. Estudios del potencial de la planta acuática *Lemna gibba* en la alimentación de cerdos. *Rev Cuba Cienc Agric* 35: 367-372.
- Gyaneshwar P, Naresh Kumar G, Parekh, LJ, Poole PS. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil* 245:83-93.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acids Symp Ser* 41:95-98.

- Hansen PJ, Bjornsen PK, Hansen BW. 1997. Zooplankton grazing and growth: scaling within the 2–2,000- μ m body size range. *Limnol Oceanogr* 42: 687-704.
- Hiltner L. 1904. Über neue Erfahrungen und probleme auf dem gebiet der bodenbakteriologie und unter besonderer berucksichtigung der grundungung und brache. *Arb Deut Landwirsch Ges* 98: 59–78.
- Hirsch AM, Bauer WD, Bird DM, Cullimore J, Tyler B, Yoder JI. 2003. Molecular signals and receptors: controlling rhizosphere interactions between plants and other organisms. *Ecology* 84: 858-868.
- Horwitz W, editor. 1980. Official methods of analysis of the Association of official analytical chemists, 13th edition. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists. 1248 p.
- Hussain Q, Liu Y, Jin Z, Zhang A, Pan G, Li L, Crowley D, Zhang X, Song X, Cui L. 2011. Temporal dynamics of ammonia oxidizer (*amoA*) and denitrifier (*nirK*) communities in the rhizosphere of a rice ecosystem from Tai Lake region, China. *Appl Soil Ecol* 48: 210–218.
- Jackson LE, Burger M, Cavagnaro TR. 2008. Roots, nitrogen transformations, and ecosystem services. *Annu Rev Plant Biol* 59: 341-363.
- Jones DL, Nguyen C, Finlay RD. 2009. Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil–root interface. *Plant Soil* 321: 5-33.
- Juni E. 1978. Genetics and physiology of *Acinetobacter*. *Annu Rev Microbiol* 32: 349-371.
- Jürgens K, Massana R, 2008. Protist grazing on marine bacterioplankton. In: Kirchman, D. L (editor) *Microbial ecology of the oceans*, 2nd edn. New York: Wiley-Liss, p. 383-441.
- Kamilova F, Kravchenko LV, Shaposhnikov AI, Azarova T, Makarova N, Lugtenberg BJJ. 2006. Organic acids, sugars, and L-tryptophane in exudates of vegetables growing on stonewool and their effects on activities of rhizosphere bacteria. *Mol Plant-Microbe Interact* 19: 250-56.
- Kar PP, Mishra S, Singh DP. 1999. Influence of gibberellic acid on the sporulation of *Azolla caroliniana*, *Azolla microphylla*, and *Azolla pinnata*. *Biol Fertil Soils* 29: 424-429.
- Kathiresan R. 2007. Integration of elements of a farming system for sustainable weed and pest management in the tropics. *Crop Prot* 25: 424-429.
- Khadori N, Fainstein V. 1988. *Aeroimonas* and *pleiomonas* as etiological agents. *Annu Rev Microbiol* 42: 395-419.
- Khosravi M, Rakhshae R, Taghi Ganji M, 2005. Pre-treatment processes of *Azolla filiculoides* to remove Pb(II), Cd(II), Ni(II) and Zn(II) from aqueous solution in the batch and fixed-bed reactors. *J Hazard Mater* 127: 228-237.
- Kočić A, Hengl T, Horvatic J. 2008. Water nutrient concentrations in channels in relation to occurrence of aquatic plants: a case study in eastern Croatia. *Hydrobiologia* 603:253-266.

- Krieg NR, Holt JG. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 1. Baltimore: Williams & Wilkins. 964 p.
- Laub MT, Shapiro L, McAdams HH. 2007. Systems biology of *Caulobacter*. Annu Rev Genet 41: 429-41.
- Lee JJ, Leedale G, Bradbury P, editores. 2000. The illustrated guide to the protozoa. 2° ed. Vol 1 y 2. Laurence: Allen pres. 1432 p.
- Lee, W. J. 2008. Free-living heterotrophic euglenids from marine sediments of the Gippsland Basin, southeastern Australia. Mar Biol Res 4: 333-349.
- Leterme P, Londoño AM, Ordoñez DC, Rosales A, Estrada F, Bindelle J, A Buldgen. 2010. Nutritional value and intake of aquatic ferns (*Azolla filiculoides* Lam. and *Salvinia molesta* Mitchell.) in sows. Anim Feed Sci Technol 155: 55-64.
- Liu X, Min C, Xia-shi L, Chungchu L. 2008. Research on some functions of *Azolla* in CELSS system. Acta Astronaut 63: 1061-1066.
- Lopez L, Pozo C, Rodelas B, Calvo C, Juarez B, Martinez-Toledo MV, Gonzalez-Lopez J. 2005. Identification of bacteria isolated from an oligotrophic lake with pesticide removal capacities. Ecotoxicology 14: 299-312
- Lot-Helgueras A. 2005. Vegetación acuática de la laguna de Tecocomulco. In: Huizar-Alvarez, R, Jiménez-Fernández EJ, Juárez-López C, editores. La Laguna de Tecocomulco. México, DF: Instituto de Geología, UNAM. p. 141-147.
- Lugtenberg B, Kamilova F. 2009. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. Annu Rev Microbiol 63: 541-556.
- Macek M, Callieri C, Simek K, Vázquez AL. 2006. Seasonal dynamics, composition and feeding patterns of ciliate assemblages in oligotrophic lakes covering a wide pH range. Arch Hydrobiol 166: 261-287.
- Massana R, Guillou L, Diez B, Pedros-Alio C. 2002. Unveiling the organisms behind novel eukaryotic ribosomal DNA sequences from the ocean. Appl Environ Microbiol 68: 4554-4558.
- Mc Cune B, Mefford MJ. 1999. PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Version 6. Oregon: MjM Software Design. 237 p.
- Men BX, Ogle B, Limberg JE. 2001. Use of duckweed as a protein supplement for breeding ducks. J Anim Sci 6: 866-871.
- Mosquera LJ, Calderón RA. 2002. Evaluación de parámetros bioquímicos y morfogenéticos en la simbiosis *Azolla filiculoides* – *Anabaena azollae* como respuesta a la interacción de la calidad de luz y dos niveles de nitrógeno. Ecol Apl 1: 89-94.
- Moulin L, Munive A, Dreyfus B, Boivin-Masson C. 2001. Nodulation of legumes by members of the beta-subclass of Proteobacteria. Nature 411: 948-50.

- Nardi S, Concheri G, Pizzeghello D, Sturaro A, Rella R, Parvoli G. 2000. Soil organic matter mobilization by root exudates. *Chemosphere* 5: 653-658.
- National Center for Biotechnology Information [Internet], U.S. National Library of Medicine. [consultada en mayo de 2013] disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Nelson KE, Weinel C, Paulsen IT, Dodson RJ, Hilbert H, Martins dos Santos VAP, Fouts DE, SR, Pop M, Holmes M, Brinkac L, Beanan M, DeBoy RT, Daugherty S, Kolonay J, Madupu R, Nelson W, White O, Peterson J, Khouri H, Hance I, Chris Lee P, Holtzapple E, Scanlan D, Tran K, Moazzez A, Utterback T, Rizzo M, Lee K, Kosack D, Moestl D, Wedler H, Lauber J, Stjepandic D, Hoheisel J, Straetz M, Heim S, Kiewitz C, Eisen J, Timmis KN, Düsterhöft A, Tümmeler B, Fraser CM. 2002. Complete genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile *Pseudomonas putida* KT2440. *Environ Microbiol* 4: 799-808.
- Nichols D, Lewis K, Orjala J, Mo S, Ortenberg R, O'Connor P, Zhao C, Vouros P, Kaeberlein T, Epstein SS. 2008. Short peptide induces an "uncultivable" microorganism to grow in vitro. *Appl Environ Microb* 74: 4889-4897.
- Oren BR, Tzin V, Tel-Or E, Zamski E. 2004. Lead accumulation in the aquatic fern *Azolla filiculoides*. *Plant Physiol Bioch* 42: 639-645.
- Patterson D, 1996. Free-living freshwater protozoa. Sydney: Manson Publishing. p. 223.
- Patterson DJ, Larsen J. 1991. The biology of Free-living heterotrophic flagellates. New York: Oxford University Press. p. 505.
- Pereira AL, Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Carrapico F. 2009. Volatile compounds from the symbiotic system *Azolla filiculoides*-*Anabaena azollae* bacteria. *Plant Biosyst* 143: 268-274.
- Perkins SK, Peters GA. 1993. The *Azolla*-*Anabaena* symbiosis: Endophyte continuity in the *Azolla* life-cycle is facilitated by epidermal trichomes, partitioning of the endophytic *Anabaena* into developing sporocarps. *New Phytol* 123: 53-64.
- Pernthaler J. 2005. Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications. *Nat Rev Microbiol* 3: 537-546.
- Peters GA, Mayne BC. 1974. The *Azolla*, *Anabaena* *Azollae* relationship: initial characterization of the association. *Plant Physiol* 53: 813-819.
- Peters GA, Perkins SK. 1993. The *Azolla*-*Anabaena* symbiosis: Endophyte continuity in the *Azolla* life-cycle is facilitated by epidermal trichomes, re-establishment of the symbiosis following gametogenesis and embryogenesis. *New Phytol* 123: 65-75.
- Phillips DA, Fox TC, King MD, Bhuvaneshwari TV, Teuber LR. 2004. Microbial products trigger amino acid exudation from plant roots. *Plant Physiol* 136: 2887-94.

- Pikovskaya RI. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Microbiology* 17: 362-370.
- Pilon-Smits E. 2005. Phytoremediation. *Annu Rev Plant Biol* 56:15–39.
- Plazinski J, Zheng Q, Taylor R, Croft L, Rolfe BG, Gunning BES. 1990. DNA probes show genetic variation in cyanobacterial symbionts of the *Azolla* fern and a closer relationship to free-living Nostoc strains than to free-living *Anabaena* strains. *Appl Environ Microbiol* 56: 1263-1270.
- Pokorný J, Květ J. 2004. Aquatic Plants and Lake Ecosystems. In: O'Sullivan PE, Reynolds CS, editores. *The Lakes Handbook, Limnology and Limnetic Ecology*. Massachusetts: Blackwell Publishing. p. 309-340.
- Ponce PJT, Febrero I, González R, Romero O, Estrada O. 2005. Perspectivas de la *Lemna* sp. para la alimentación de peces. *Rev Electrón Vet* 6: 1-6.
- Probanza A, Lucas JA, Acero N, Gutiérrez-Mañero FJ. 1996. The influence of native rhizobacteria on european alder (*Alnus glutinosa* [L.] Gaertn.) growth. I. Characterization of growth promoting and growth inhibiting bacterial strains. *Plant Soil* 182: 59–66.
- Pryer KM, Schuettpelz E, Wolf PG, Schneider H, Smith AR, Cranfill R. 2004 Phylogeny and evolution of ferns (monilophytes) with a focus on the early leptosporangiate divergences. *Am J Bot* 91: 1582-1598.
- Rai AN, Söderbäck E, Bergman B. 2000. Cyanobacterium-plant symbioses. *New Phytol* 147: 449-481.
- Rakhshae R, Khosravi M, Taghi Ganji M, 2006. Kinetic modeling and thermodynamic study to remove Pb(II), Cd(II), Ni(II) and Zn(II) from aqueous solution using dead and living *Azolla filiculoides*. *J Hazard Mater* 134:120-129.
- Ramírez P, Cocha JM. 2003. Degradación enzimática de celulosa por actinomicetos termófilos: aislamiento, caracterización y determinación de la actividad celulolítica. *Rev Peru biol* 10: 67-77.
- Ran L, Larsson J, Vigil-Stenman T, Nylander JAA, Ininbergs K, Zheng WW, Lapidus A, Lowry S, Haselkorn R, Bergman B. 2010. Genome erosion in a nitrogen-fixing vertically transmitted endosymbiotic multicellular cyanobacterium. *PLoS ONE* 5:e11486.
- Reid JD, Plunkett GM, Peters GA. 2006. Phylogenetic relationships in the heterosporous fern genus *Azolla* (azollaceae) based on DNA sequence data from three noncoding regions. *Int J Plant Sci* 167: 529-538.
- Rennie RJ. 1981. A single medium for the isolation of acetylene-reducing (dinitrogen-fixing) bacteria from soils. *Can J Microbiol* 27: 8-14.
- Richards LA, editor. 1954. *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkaline Soils*, Washington: U.S. Government Printing Office. p. 159.

- Risgaard-Petersen N, Jensen K. 1997. Nitrification and denitrification in the rhizosphere of the aquatic macrophyte *Lobelia dortmanna* L. *Limnol Oceanogr* 42: 529-537.
- Robarge WP, Edwards A, Johnson B. 1983. Water and waste water analysis for nitrate via nitration of salicylic acid 1. *Commun Soil Sci Plant Anal* 14: 1207-1215.
- Rodrigues DF, Tiedje JM. 2007. Multi-locus real-time PCR for quantitation of bacteria in the environment reveals *Exiguobacterium* to be prevalent in permafrost. *FEMS Microbiol Ecol* 59: 489-499.
- Ruiz AM. 2008. *Ricciocarpus natans* (Marchantiophyta), una hepática acuática en México. *ContactoS* 70: 67-70.
- Rzedowski J, Rzedowski G, editores. 2005. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a. ed. Michoacán: Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. p. 1406.
- Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4: 406-425.
- Salt DE, Smith RD, Raskin I. 1998. Phytoremediation. *Annual Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 49: 643-68.
- Sanchez-Viveros G, Gonzalez-Mendoza D, Alarcon A, Ferrera-Cerrato R. 2010. Copper effects on photosynthetic activity and membrane leakage of *Azolla filiculoides* and *A. caroliniana*. *Int J Agric Biol* 12: 365-368.
- Sasmaz A, Obek E. 2009. The accumulation of arsenic, uranium, and boron in *Lemna gibba* L. exposed to secondary effluents. *Ecol Eng* 35: 1564-1567.
- Schardl CL, Leuchtman A, Spiering MJ. 2004. Symbioses of grasses with seed-borne fungal endophyte. *Annu Rev Plant Biol* 55: 315-40.
- Sharma D, Subramanian B, Arunachalam A. 2010. Bioethanol production from *Lemna gibba* L. *Curr Sci* 98: 1162-1163.
- Šimek K, Jürgens K, Nedoma J, Comerma M, Armengol J. 2000. Ecological role and bacterial grazing of *Halteria* spp.: small freshwater oligotrichs as dominant pelagic ciliate bacterivores. *Aquat Microb Ecol* 22: 43-56.
- Singh BK, Millard P, Whiteley AS, Murrell JC. 2004. Unravelling rhizosphere-microbial interactions: opportunities and limitations. *Trends Microbiol* 12: 386-393.
- Sobrino AS, Miranda MG, Alvarez C, Quiroz A. 2010. Bio-accumulation and toxicity of lead (Pb) in *Lemna gibba* L (duckweed). *J Environ Sci Health part A-Toxic/Hazard Subst Environ Eng* 45: 107-110.
- Somers E, Vanderleyden J, Srinivasan M. 2004. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Crit Rev Microbiol* 30: 205-235.

- Sood A, Prasanna R, Singh PK. 2008. Fingerprinting of freshly separated and cultured cyanobionts from different *Azolla* species using morphological and molecular markers. *Aquat Bot* 88: 142–147.
- Strasburger E. 1873. *Über Azolla*. Hermann Dabis Verlag, Jena, German Democratic Republic. p. 86.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, and Kumar S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Biol Evol* 28: 2731-2739.
- Thingstad TF, 2000. Elements of a theory for the mechanisms controlling abundance, diversity, and biogeochemical role of lytic bacterial viruses in aquatic systems. *Limnol Oceanogr* 45: 1320-1328.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 22: 4673-4680.
- Timmis KM. 2002. *Pseudomonas putida*: a cosmopolitan opportunist par excellence. *Environ Microbiol* 4:779–78.
- Toyama T, Yu N, Kumada H, Sei K, Ike M, Fujita M. 2006. Accelerated aromatic compounds degradation in aquatic environment by use of interaction between *Spirodela polyrrhiza* and bacteria in its rhizosphere. *J Biosci Bioeng* 101: 346-353.
- Uheda E, Nakamura S. 2000. Abscission of *Azolla* branches induced by ethylene and sodium azide. *Plant Cell Physiol* 41: 1365-1372.
- Vaerewijck MJ, Sabbe K, Baré J, Houf K. 2008. Microscopic and molecular studies of the diversity of free-living protozoa in meat-cutting plants. *Appl Environ Microbiol* 74: 5741-5749.
- Vartoukian SR, Palmer RM, Wabe WG. 2010. Strategies for culture of “unculturable” bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 309: 1–7.
- Vázquez P, Holguin G, Puente ME, Lopez-Cortes A, Bashan Y. 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biol Fertil Soils* 30: 460–468.
- Vicre M, Santaella C, Blanchet S, Gateau A, Driouich A. 2005. Root border-like cells of *Arabidopsis*. Microscopical characterization and role in the interaction with rhizobacteria. *Plant Physiol* 138: 998–1008.
- Wagner JK, Setayeshgar S, Sharon LA, Reilly JP, Brun YV. 2006. A nutrient uptake role for bacterial cell envelope extensions. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 11772-11777.
- Weiss JB, Rentz JA, Plaia T, Neubauer SC, Merrill-Floyd M, Lilburn T, Bradburne C, Megonigal JP, Emerson D. 2007. Characterization of neutrophilic Fe (II)-oxidizing

bacteria isolated from the rhizosphere of wetland plants and description of *Ferritrophicum radicola* gen. nov. sp. nov., and *Sideroxydans paludicola* sp. nov. Geomicrobiol J 24: 559-570.

Zhang Z, Schwartz S, Wagner L, Miller W. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. J Comput Biol 7: 203-214.

Zuberer DA. 1984. Microbial colonization of some duckweeds (Lemnaceae): examination by scanning and transmission electron and light microscopy. Aquat Bot 18: 275-285.

9. ANEXOS

9.1 Preparación de los medios de cultivo

9.1a. Medio Agar Nutritivo Merck®

Componente	Cantidad
Extracto de carne	3 g
Peptona de carne	5 g
Agar-agar	12 g
Agua destilada	1000 mL

El pH se ajusta a 7 ± 2

9.1b. Medio de cultivo Agar Tween 20

Componente	Cantidad
Peptona	10 g
Cloruro de calcio hidratado	0.1 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Tween 20 (Monolaurato de sorbitan)	10 mL
Agar agar	20 g
Agua destilada	1000 mL

Se añaden todos los ingredientes al agua excepto el Tween 20, el cual se disuelven hirviendo y se ajusta el pH a 6. Tanto el medio como el Tween se esterilizan en autoclave pero por separado. Al final se agrega el Tween estéril a la solución.

9.1c. Medio Papa Dextrosa Agar adicionado con Rosa de Bengala

Componente	Cantidad
Infusión de papa	4 g
Dextrosa	20 g
Agar-agar	15 g
Agua destilada	1000 mL
Rosa de bengala	33 mg

Al tiempo de vaciar se agregan 30 mg de estreptomina. El pH puede variar de 5 - 6.

9.1d. Medio de cultivo Pikovskaya (Pikovskaya, 1948)

Componente	Cantidad
Extracto de levadura	0.5 g
Dextrosa	10 g
Ca(PO ₄) ₂	5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5 g
KCl	0.2 g
MgSO ₄	0.1 g
MnSO ₄	0.0001 g
FeSO ₄	0.0001 g
Agar -agar	15 g
Agua destilada	1000 mL

9.1e. Medio Agar de Czapek BD Bioxon®

Componente	Cantidad
Sacarosa	30 g
Nitrato de sodio	3 g
Fosfato dipotásico	1 g
Sulfato de magnesio	0.05 g
Cloruro de potasio	0.5 g
Sulfato ferroso	0.01g
Agar-agar	13 g
Agua destilada	1000 mL

El pH se ajusta a 7.3 ± 2

9.1f. Medio Agar Almidón

Componente	Cantidad
Extracto de carne (opcional)	3 g
Almidón soluble	10 g
Agar-agar	12 g
Agua destilada	1000 mL

El pH final se ajusta a 7.5 ± 0.2 a 25 ° C, el almidón en medio basal fundido

9.1g. Medio de Rennie sólido (Rennie, 1981)

Solución A	
Componente	Cantidad
KH ₂ PO ₄	0.2 g
K ₂ HPO ₄	0.8 g
NaCl	0.1 g
Quelato de Fe	0.014 g
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.025 g
Extracto de levadura	0.1 g
Manitol en polvo	5 g
Sacarosa	5 g
Lactato de sodio 60 % (v/v)	0.5 mL
Agar-agar	15 g
Agua destilada	900 mL

El pH final de la solución A se debe ajustar a 7 antes de la esterilización.

Solución B	
Componente	Cantidad
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.06 g
Agua destilada	100 mL
Biotina (anexo 8.2a)	0.5 mL
Acido p-aminobenzoico (anexo 8.2b)	1.0 mL

Después de que se esterilizó y enfrió la solución B se adicionan 100 µL de biotina y 200 µL de ácido para-aminobenzoico.

9.1h. Medio de carboximetilcelulosa

Componente	Cantidad
Carboximetilcelulosa	10 g
(viscosidad media) NH ₄ NO ₃	1 g
Agua destilada	1000 mL
Solución salina estándar de Winogradski (anexo 8.2c)	5 mL
Solución de micronutrientes (anexo 8.2d)	1 mL
Extracto de suelo (anexo 8.2e)	20 mL

El pH final se ajusta a 6.5. El revelado se realiza aplicando Rojo congo y dejando reposar por 15 minutos, posteriormente se aplica una solución de NaCl 1 M durante 15 min.

9.1i. Medio BG-11 sólido modificado

Componente	Cantidad
NaNO ₃	1.5 g
K ₂ HPO ₄	0.04 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.075 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.036 g
Ácido cítrico	0.006 g
Citrato férrico	0.006 g
Agar-agar	15 g
Solución nutritiva BG-11 (anexo 8.2f)	1 mL
Agua destilada	999 mL

9.2 Soluciones, extractos y mezclas

9.2a. Solución de Biotina

Componente	Cantidad
Biotina	0.001 g
Agua destilada estéril	100 mL

Filtrar con membrana, tamaño de poro de 0.2 µm

9.2b. Solución de ácido p-aminobenzoico

Componente	Cantidad
Acido p-aminobenzoico	0.001 g
Agua destilada estéril	100 mL

Filtrar con membrana, tamaño de poro de 0.2 µm

9.2c. Solución salina estándar de Winogradsky

Componente	Cantidad
K ₂ HPO ₄	5 g
MgSO ₄	2.5 g
NaCl	2.5 g
Fe (SO ₄) ₃	0.05 g
Agua destilada	1000 mL

El pH se ajusta a 7

9.2d. Solución de micronutrientes

Componente	Cantidad
KMoO ₄	0.05 g
MnSO ₄	0.05 g
Na ₃ BO ₃	0.05 g
Agua destilada	1000 mL

9.2e. Extracto de suelo

Componente	Cantidad
Suelo fértil	1000 g
Agua corriente	1000 mL

Mezclar el suelo con el agua y ponerlo en autoclave a 121°C por 18 min, se permite reposar por 24 h. Decantar el extracto y filtrar usando papel filtro, posteriormente centrifugar a 5000 rpm por 10 min. Esterilizar a 121°C por 20 min., y almacenar en frasco ámbar.

9.2f. Solución nutritiva BG-11

Componente	Cantidad
H ₂ BO ₃	2.86 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	1.81 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.222 g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.39 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.079 g
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0.0494 g
Agua destilada	1000 mL

9.2g. Gel de agarosa

Componente	Cantidad
Agarosa	3 g
Solución TAE 1 X	200 mL
Gel red	4 µL

Calentar en microondas durante 2 min, agitar y reintroducir al microondas por 2 minutos. el Gel red se adiciona al final

9.3 Secuencias de 16S rDNA correspondientes a bacterias aisladas de la rizosfera de *Azolla filiculoides*

>KC902424 *Aeromonas hydrophila*

TAATACCGCATACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGC GCGATTGGATATGCCCAG
GTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATG
ATCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCAC
AATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTC
AGCGAGGAGGAAAGGTTGATGCCTAATACGTATCAACTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGC
TAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAA
GCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAAA
CTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTG
GAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGA
GCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTTCGATTTGGAGGCTGTGTCCTTGA
GACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACC
TTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGTAGAGATACGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGG
TGCTGCATGGCTGTCGTACGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCCT
GTCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAA

>KC902426 *Aeromonas veronii*

CGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGCAGCGGGAAAGTAGCTTGCTACTTTTGCCGGC
GAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTGGGGATCTGCCAGTCGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGT
AGCTAATACCGCATACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGC GCGATTGGATGAAC
CCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAG
GATGATCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATT
GCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCA
CTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGGTAGCGAATAACTGCCAGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCA
CCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCG
TAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTT
AAAAGTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAG
ATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGT
GGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTTCGATTTGGAGGCTGTGTC
CTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAA
ACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAA
GAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAAC
ACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTACGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAA
CCCTGTCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACGGGAGG
AAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCG
TACAGAGGGCTGCAAGCTAGCGATAGTGAGCGAATCCCAAAAAGCGCGTCGTAGTCCGGATCGGAGT
CTGCAACTCGACTCCGTGAAGTCGGAAT

>KC902427 *Chryseobacterium* sp.

ATAGCCTTTCGAAAGGAAGATTAATACCCCATTAATTTAGAATGGCATCATTTTAAATTGAAAACTC
CGGTGGATAGAGATGGGCACGCGCAAGATTAGATAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGTCTGCGA

TCTTTAGGGGGCCTGAGAGGGTGTATCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAG
GCAGCAGTGAGGAATATTGGACAATGGGTGCGAGCCTGATCCAGCCATCCCAGCGTGAAGGACGACGG
CCCTATGGGTTGTAAACTTCTTTTGTATAGGGATAAACCTACCCTCGTGAGGGTAGCTGAAGGTACTAT
ACGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTATCCGG
ATTTATTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGATGTGTAAGTCAGTGGTGAAATCTCACAGCTTAACTGT
GAAACTGCCATTGATACTGCATGTCTTGAGTGTGTTGAAGTAGCTGGAATAAGTAGTGTAGCGGTGA
AATGCATAGATATTACTTAGAACACCAATTGCGAAGGCAGGTTACTAAGCAACAACCTGACGCTGATGG
ACGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGCTAACTCG
TTTTTGGGTTTTTCGGATTACAGAGACTAAGCGAAAGTGATAAGTTAGCCACCTGGGGAGTACGAACGCA
AGTTTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGATTATGTGGTTTAAATTCGATGAT
ACGCGAGGAACCTTACCAAGGCTTAAATGGGAAATGACAGGTTTAGAAATAGACTTTTCTTCGGACAT
TTTTCAAGGTGCTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGTTAGGTTAAGTCCTGCAACGAGCG
CAACCCCTGTCAGTGTGCCATCATTAAGTTGGGGACTCTAGTGAGACTGCCTACGC

>KC902428 *Pseudomonas* sp.

GATTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTTCGAAA
GGAACGCTAATACCGCATAACGTCCTACGGGAGAAAGTGGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATCAGATG
AGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGA
GAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGAGACAAGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAT
ATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGC
ACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGC
GTAAAGCGCGCGTAGGTTGGTTCAGCAAGTTGGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATC
CAAACTACTGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAT
ATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGT
GGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTAGCCGTTGGGATC
CTTGAGATCTTAGTGGCGCAGCTAACGCGATAAGTCGACC GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAA
ACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAA
GAACCTTACCTGGCCTTGACATGCAGAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACCTCTGAC
ACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCCTAACGAGCGCAA
CCCTTGTCTTAGTTACCAGCACCTCGGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGA
AGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTACGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCCGT
ACA

>KC902429 *Aeromonas hydrophila*

ATAACAGTTGGAAACGACTGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGGC
TTGCGCGATTGGATATGCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGAT
CCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAG
GCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGG
CCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGATGCCTAATACGTATCAACTGTGACGT
TACTCGCAGAAGAAGCACCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTT
AATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCT
CAACCTGGGAATTGCATTTAAACTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCAGGTGTA
GCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGAC
GCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATG
TCGATTTGGAGGCTGTGTCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGA
GTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTT

TAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAG
TGCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAA
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGACT
GCCGGTGAT

>KC902430 *Aeromonas* sp.

AGTCGAGGGGGATAACAGTTGGAAACGACTGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGG
ACCTTCGGGCCCTTGCGCGATTGGATGAACCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACC
AAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGAC
TCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTG
TGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGGTAGCGAATAACTGC
CAGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAG
GGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGA
AAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAAAGTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGA
ATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGG
ACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG
CCGTAAACGATGTTCGATTTGGAGGCTGTGTCCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCG
ACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAAGTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTG
GAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCCTAA
GAGATTGGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTA
GATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAAC
TCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCAT

>KC902431 *Aeromonas* sp.

GCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCGATTGGATGAACCC
AGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGA
TGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGC
ACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAGCACTT
TCAGCGAGGAGGAAAGGTTGGTAGCGAATAACTGCCAGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCG
GCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAA
AGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAA
ACTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCT
GGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGG
AGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCGTAAACGATGTTCGATTTGGAGGCTGTGTCCTTG
AGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAAGTCA
AAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAAC
CTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCCTAAGAGATTGGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAG
GTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TGTCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGA

>KC902432 *Aeromonas hydrophila*

GCCGGCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTGGGAAATTGCCAGTCGAGGGGGATAACAGTTGGA
AACGACTGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCGATTGG
ATATGCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTC
TGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGG
AATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTA

AAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGATGCCTAATACGTATCAACTGTGACGTTACTCGCAGAAGA
AGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTG
GGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTG
CATTAAAACTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGT
AGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTGCGATTTGGAGGCTG
TGTCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGT
TAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGC
GAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAG
AACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCG
CAACCCCTGTCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGG
AGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCTAC

>KC902433 *Aeromonas hydrophila*

TACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCGATTGGATATGCCCAGGTGGGATTAGCTAGTTG
GTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAA
CTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTG
ATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGG
TTGATGCCTAATACGTATCAACTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCA
GCCGCGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTT
GGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAAACTGTCCAGCTAGAGTC
TTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGG
CGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGA
TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTGCGATTTGGAGGCTGTGTCTTGAGACGTGGCTTCCGGA
GCTAACGCGTTAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGAC
ATGTCTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTC
GTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCCTTTGTTGCCAGC
ACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTC

>KC902434 *Aeromonas hydrophila*

ATAACAGTTGGAAACGACTGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCC
TTGCGCGATTGGATATGCCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGAT
CCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAG
GCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGG
CCTTCGGGTTGTAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGATGCCTAATACGTATCAACTGTGACGT
TACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTT
AATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCT
CAACCTGGGAATTGCATTTAAAACTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTA
GCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGAC
GCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATG
TCGATTTGGAGGCTGTGTCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAATCGACCGCCTGGGGA
GTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTT
TAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGTAGAGATACGGGAG
TGCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTA
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGACT
GCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTC

>KC902435 *Aeromonas hydrophila*

CAGTCGAGGGGGATAACAGTTGGAAACGACTGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGG
GACCTTCGGGCCTTGCGCGATTGGATATGCCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCAC
CAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGA
CTCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGT
GTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGATGCCTAATACGTAT
CAACTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAG
GGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGA
AAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAAACCTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGA
ATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGG
ACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG
CCGTAAACGATGTCGATTTGGAGGCTGTGTCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCG
ACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTG
GAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGCA
GAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGAAC
TCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTAC
GGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCGTACAGAGGGCTGCAAGCTAGCGATAGTGAGCGAAT

>KC902436 *Aeromonas hydrophila*

CTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGCAGCGGGAAAGTAGCTTGCT
ACTTTTGCCGGCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTGGGAAATTGCCCAGTCGAGGGGGATAACA
GTTGGAACGACTGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGC
GATTGGATATGCCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAG
CTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA
GTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCG
GGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGATGCCTAATACGTATCAACTGTGACGTTACTCG
CAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGG
AATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCT
GGGAATTGCATTTAAAACCTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAG
GTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGATTT
GGAGGCTGTGTCCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCTGGGGAGTACGGC
CGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATCG
ATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCTTC
GGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCG
CAACGAGCGCAACCCCTGTCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGAAGTCAAGGGAGACTGCCGGTG
ATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTG
CTACAATGGCGCGTACAGAGGGCTGCAAGCTAGCGATAGTGAGCGAAT

>KC902437 *Aeromonas hydrophila*

CGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTGGGAAATTGCCCAGTCGAGGGGGATAACAGTTGGAAACGA
CTGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCGATTGGATATGC
CCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAG
GATGATCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATT
GCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAGCA

CTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGATGCCTAATACGTATCAACTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGT
AAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTAACCTGGGAATTGCATTTA
AACTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGA
TCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTG
GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCGATTTGGAGGCTGTGTCC
TTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAA
CTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAG
AACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACA
CAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
CCCTGTCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACC GGAGGA
AGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATG

>KC902438 *Aeromonas veronii*

CAGTCGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGG
GACCTTCGGGCCTTGCGCGATTGGATGAACCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCAC
CAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGA
CTCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGT
GTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGGTAGCGAATAACTG
CCAGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGA
GGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTG
AAAGCCCCGGGCTAACCTGGGAATTGCATTTAAACTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAG
AATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTG
GACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCAC
GCCGTAACGATGTCGATTTGGAGGCTGTGTCTTGTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATC
GACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAGCGGT
GGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGC
AGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTG
AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTGTCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAA
CTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACC GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATG

>KC902439 *Afipia* sp.

GGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGGCACTTCGGTGCTAGTGGCAGACGGGTGAGTAACACGTGGGA
ACGTACCTTTCGGTTCGGAATAATACAGGGAAACTTGTACTAATACCGGATACGCCCTTCTGGGGAAA
GATTTATCGCCGATTGATCGGCCCGCTGCTGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGA
CGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACG
GGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGATG
AAGGCCTTAGGGTTGTAAAGCACTTTTGTCCGGGAAGATAATGACTGTACCGGAAGAATAAGCCCCGG
CTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGCTCGGAATCACTGGGCGTAAA
GGGCGCGTAGGCGGACTCTTAAGTCGGGGGTGAAAGCCCAGGGCTCAACCCTGGAATTGCCTTCGATA
CTGAGAGTCTTGAGTTCGGAAGAGGTTGGTGGAACTGCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCCG
CAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCCAACTGGTCCGATACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGA
GCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAATGCCAGCCGTTGGGGTGCATGC
ACCTCAGTGGCGCAGCTAACGCTTAAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGTGCAGATTAAAACTCAA
AGGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCT
TACCAGCTTTTGACATGTCCGGTTTGATCGGCAGAGATGCCTTTCTTCAGTTCGGCTGGCCGGAACACA

GGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TCGCCCCTAGTTGCCATCATTAGTTGGGAACTCTAGGGGGACTGCCGGTGATAAGCCGCGAGGA

>KC902440 *Acidovorax* sp.

TGAGTAATACATCGGAACGTGCCGAGAGTGGGGGATAACGAAGCGAAAGCTTTGCTAATACCGCAT
ACGATCTCAGGATGAAAGCAGGGGACCGCAAGGCCTTTCGCTCACGGAGCGGCCGATGGCAGATTAG
GTAGTTGGTGGGATAAAAAGCTTACCAAGCCGACGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCAGCCAC
ACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGGACAATGGGCGC
AAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGCAGGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAACTGCTTTTGTACGGAAC
GAAAAGACTCTGGTTAATACTGGGGTTCATGACGGTACCGTAAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTG
CCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCAGCAG
GCGGTTATGTAAGACAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTTGTGACTGCATAGCT
AGAGTACGGCAGAGGGGGATGGAATTCGCGTGTAGCAGTGAATGCGTAGATATGCCGAGGAACAC
CGATGGCGAAGGCAATCCCCTGGGCCTGTACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGG
ATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACTGGTTGTTGGGTCTTACTGACTCAGTAA
CGAAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGA
CGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTTACCCACCTT
TGACATGTACGGAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCTCGAAAGAGAGCCGTAACACAGGTGCTGCAT
GGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTATTAGT
TGCTACATTCAGTTGGGCACTCTAATGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTG

>KC906255 *Chryseobacterium* sp.

CGGGATCCAGAGAGCGGGGTACGGGTGCGGAACACGTGTGCAACCTGCCTTTATCAGGGGGATAGCC
TTTCGAAAGGAAGATTAATACCCATAATATTTAGAATGGCATCATTTTAAATTGAAAACCTCCGGTGG
ATAGAGATGGGCACGCGCAAGATTAGATAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGTCTGCGATCTTTAG
GGGGCCTGAGAGGGTGATCCCCCACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA
GTGAGGAATATTGGACAATGGGTGCGAGCCTGATCCAGCCATCCCGCGTGAAGGACGACGGCCCTAT
GGGTTGTAACTTCTTTTGTATAGGGATAAACCTACCCTCGTGAGGGTAGCTGAAGGTACTATACGAA
TAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTATCCGGATTTAT
TGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCTGATGTGTAAGTCAGTGGTGAATCTCACAGCTTAACTGTGAACT
GCCATTGATACTGCATGTCTTGAGTGTTGTTGAAGTAGCTGGAATAAGTAGTGTAGCGGTGAAATGCA
TAGATATTACTTAGAACACCCATTGCGAAGGCAGGTTACTAAGCAACAACCTGACGCTGATGGACGAAA
GCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGCTAACTCGTTTTTGG
GTTTTTCGGATTCAGAGACTAAGCGAAAGTGATAAGTTAGCCACCTGGGGAGTACGAACGCAAGTTGA
AACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGATTATGTGGTTAATTCGATGATACGCGAG
GAACCTTACCAAGGCTTAAATGGGAAATGACAGGTTTAGAAATAGACTTTTCTTCGGACATTTTTCAA
GGTGCTGCATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGTTAGGTTAAGTCCGCAACGAGCGCAACCC
CTGTACTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGACTCTAGTGAGACTGCCTACGCAAGTAGAGAGGAAGGT
GGGGATGACGTC

>KC906256 *Pseudomonas* sp.

CGAAAGGAACGCTAATACCGCATACTCCTACGGGAGAAAGTGGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATC
AGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGG
TCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAAGTGCAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGG
GGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTG
TAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCAACAGAA

TAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAC
TGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTCAGCAAGTTGGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATT
GCATCCAAAACACTACTGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCG
TAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAA
AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTGCGACTAGCCGTTG
GGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCAGCTAACGCGATAAGTCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAG
GTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAA
CGGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGCAGAGAACTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAAC
TCTGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGA
GCGCAACCCTTGTCTTAGTTACCAGCACCTCGGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACC
GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCA

>KC906257 *Aeromonas hydrophila*

GCCGGCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTGGGGATCTGCCAGTCGAGGGGGATAACTACTGGA
AACGGTAGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCGATTGG
ATGAACCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTC
TGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGACGCGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGG
AATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTA
AAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTCAGTAGCTAATATCTGCTGGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGA
AGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTG
GGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTG
CATTTAAAACCTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGT
AGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTGATTTGGAGGCTG
TGTCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGT
TAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGC
GAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGTAGAGATACGGGAGTGCCTTCGGGAATCAG
AACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCG
CAACCCCTGTCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACC GG
AGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGG
CGCGTACAGA

9.4 Secuencias de 16S rDNA correspondientes a bacterias aisladas de la rizosfera de *Lemna gibba*

>KC906258 *Aeromonas* sp.

GATCTGCCAGTCGAGGGGGATAACAGTTGGAAACGACTGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGA
AAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCGATTGGATGAACCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAA
TGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGCAC
GGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCA
TGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGGTAGCG
AATAACTGCCAGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTA
ATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTT
AGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAAACCTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGG

GGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGG
CCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGaGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTA
GTCCACGCCGTAAACGATGTTCGATTTGGAGGCTGTGTCCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGT
TAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCGCACA
AGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAA
TCCCTAAGAGATTGGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTTCGTACGCTCGT
GTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCCTGTCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGG
TGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGG
CCCTTACGGCCA

>KC906259 *Aeromonas jandaei*

TGGGGATCTGCCAGTCGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGCCCTACGG
GGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCGATTGGATGAACCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGA
GGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGA
GACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATATTGCACAATGGGGGAAACCCCTGATGC
AGCCATGCCCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTCAG
TAGCTAATATCTGCTGGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCG
CGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGAT
AAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAAACTGTCCAGCTAGAGTCTTGT
AGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAA
GGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACC
CTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTTCGATTTGGAGGCTGTGTCCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTA
ACGCGTTAAATCGACCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCC
CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGT
CTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTTCGTCA
GCTCGTGTTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCCTGTCCTTTGTTGCCAGCACGT
AATGGTGGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAT
CATGGCCCTTAC

>KC906260 *Aeromonas jandaei*

GAGTAATGCCTGGGGATCTGCCAGTCGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATA
CGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCGATTGGATGAACCCAGGTGGGATTAGC
TAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACAC
TGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATATTGCACAATGGGGGAAA
CCCTGATGCAGCCATGCCCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGA
AAGTTCAGTAGCTAATATCTGCTGGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCC
AGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGC
GGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAAACTGTCCAGCTAG
AGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCG
GTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGAT
TAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTTCGATTTGGAGGCTGTGTCCTTGAGACGTGGCTTCC
GGAGCTAACGCGTTAATCGACCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTT
GACATGTCTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCT
GTCGTGAGCTCGTGTTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCCTGTCCTTTGTTGCC
AGCACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGAT

>KC906261 *Aeromonas jandaei*

GTGAGTAATGCCTGGGGATCTGCCAGTCGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCAT
ACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGC GCGATTGGATGAACCCAGGTGGGATTAG
CTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACA
CTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAA
ACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTA AAGCACTTTCAGCGAGGAGG
AAAGGTCAGTAGCTAATATCTGCTGGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGC
CAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGG
CGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAA ACTGTCCAGCTA
GAGTCTTGATAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACC
GGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGG
ATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGATTTGGAGGCTGTGTCCTTGAGACGTGGCTT
CCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAA ACTCAAATGAATTG
ACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCC
TTGACATGTCTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGG
CTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCTTTGTTG
CCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACG
TCAAGTCATCAT

>KC906262 *Aeromonas hydrophila*

CATGCAAGTCGAGCGGCAGCGGGAAAGTAGCTTGTACTTTTTGCCGGCGAGCGGGCGGACGGGTGAGT
AATGCCTGGGAAATTGCCAGTCGAGGGGGATAACAGTTGGAAACGACTGCTAATACCGCATAACGCC
CTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGC GCGATTGGATATGCCAGGTGGGATTAGCTAGTT
GGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCT
GATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTA AAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAG
GTTGATGCCTAATACGTATCAACTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGT
TGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAA ACTGTCCAGCTAGAGT
CTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTG
GCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAG
ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGATTTGGAGGCTGTGTCCTTGAGACGTGGCTTCCGG
AGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAA ACTCAAATGAATTGACGG
GGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGA
CATGTCTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCTTTGTTGCCAG
CACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGAT

>KC906263 *Aeromonas* sp.

GCCGGCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTGGGGATCTGCCAGTCGAGGGGGATAACAGTTGGA
AACGACTGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGC GCGATTGG
ATGAACCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTC
TGAGAGGATGATCAGCCACACTGGA ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGG
AATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTA
AAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGGTAGCGAATAACTGCCAGCTGTGACGTTACTCGCAGAAG
AAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACT

GGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATT
GCATTTAAAAGTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCG
TAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAA
AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGCGATTTGGAGGCT
GTGTCCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGG
TTAAAAGTCAAATGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACG
CGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCCCAAGAGATTGGGGAGTGCCTTCGGGAATCA
GAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGC
GCAACCCCTGTCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCG
GAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCTAC

>KC906264 *Aeromonas* sp.

TAATACCGCATACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCGATTGGATGAACCCA
GGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGAT
GATCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCA
CAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTT
CAGCGAGGAGGAAAGGTTGGTAGCGAATAACTGCCAGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGG
CTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAA
GCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAA
CTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTG
GAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGA
GCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGCGATTTGGAGGCTGTGTCCTTGA
GACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAAGTCA
AATGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACC
TTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCCTAAGAGATTGGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGG
TGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCT
GTCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGG
TGGGGATGACGTCAAGTCATCAT

>KC914532 *Aeromonas veronii*

TGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGA
ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCT
GATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAG
GTTGGTAGCTAATAACTGCCAGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGT
TGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAAAGTGTCCAGCTAGAGT
CTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTG
GCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAG
ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGCGATTTGGAGGCTGTGTCCTTGAGACGTGGCTTCCGG
AGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAAGTCAAATGAATTGACGG
GGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGA
CATGTCTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCCTTTGTTGCCAG
CACGTAATG

>KC914533 *Aeromonas veronii*

CGGCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTGGGGATCTGCCAGTCGAGGGGGATAACTACTGGAAA
CGGTAGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCGATTGGATG
AACCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGA
GAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAT
ATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAG
CACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGGTAGCTAATAACTGCCAGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGC
ACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGC
GTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATT
TAAAAGTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA
GATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCG
TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGATTTGGAGGCTGTGT
CCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAA
AACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGA
AGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGCAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAA
CACAGGTGCTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA
ACCCCTGTCCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAG
GAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGC
GTACAG

>KC914534 *Aquitalea denitrificans*

AGCTTGCTCCGCTGACGAGTGGCGAACGGGTGAGTAATGCGTCGGAACGTGCCGAGTAGTGGGGGAT
AACTATCCGAAAGGATAGCTAATACCGCATAACGCTTTGAGAAGGAAAGCAGGGGATCGTAAGACCTT
GCGCTATTTCGAGCGGCCGACGTCTGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAGAGCTCACCAAGGCGACGATCA
GTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGC
AGCAGTGGGGAATTTTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTCTGAAGAAGGCCT
TCGGGTTGTAAAGGACTTTTGTGTCAGGGAGGAAATCCCTAAGGTTAATACCCTTGGGGGATGACAGTAC
CTGAAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTAAT
CGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCAGAGGCGGTTGTGTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAAC
CTGGGAACTGCATTGGAGACTGCACAGCTAGAGTGCCTCAGAGGGGGGTAGAATTCGCGTGTAGCA
GTGAAATGCGTAGAGATGCGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGATGACACTGACGCT
CATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCA
ACTAGCTGTTGGGGGTTTGAATCCTTGGTAGCGTAGCTAACGCGAGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTAC
GGCCGCAAGGTTAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAAT
TCGATGCAACGCGAAAAACCTTACCTGGTCTTGACATGTACGGAACCTGCCAGAGATGGCTTGGTGTCT
CGAAAGAGAGCCGTAACACAGGTGCTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAG
TCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGCCATTAGTTGCTACCATTAGTTGAGCACTCTAATGGGACTGCCG
GTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTATGACCAGGGCTTCACAC
GTCATACAATGGTTCGGTACAGA

>KC914535 *Exiguobacterium* sp.

TGAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAAGGAACCTGCCCAAGGATTGGGATAACTCCGAGAAATC
GGAGCTAATACCGAATAGTTCTTCAGACCGCATGGTCTGATGATGAAAGGCGCTTCGGCGTCACCTTG
GGATGGCCTTTCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGGGGTAACGGCCACCAAGGCGACGATGCATAGCCGA
CCTGAGAGGGTATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAG
GGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCG

TAAAACCTCTGTTGTAAGGGAAGAACAAGTACGAGAGGTAATGCTCGTACCTTGACGGTACCTTGCGAG
AAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTAT
TGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCCTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGCTCAACCGGGGAGG
GTCATTGGAAACTGGAAGGCTTGAGTACAGAAGAGAAGAGTGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTTTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCG
AAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGTAGGTG
TTGGGGGGTTTCCGCCCCTCAGTGCTGAAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGC
AAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAG
CAACGCGAAGAACCTTACCAACTCTTGACATCCCCTTGACCGCTTGAGAGATCAAGTTTTCCCTTCGGG
GACAAGGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCA
ACGAGCGCAACCCCTATCCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGGGAGACTGCCGGTGACAA
ACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTC

>KC914536 *Exiguobacterium acetylicum*

CCTCAAGGATTGGGATAACTCCGAGAAATCGGAGCTAATACCGGATAGTTCAACGGACCGCATGGTCC
GCTGATGAAAGGCGCTTCGGCGTCACCTTGAGATGGCCTTGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGGGGTAA
TGGCCACCAAGGCGACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACAC
GGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAA
CGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTAAGGGAAGAACACGTACGAGAG
GTAATGCTCGTACCTTGACGGTACCTTACGAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTA
ATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCCTTTTAAGTCT
GATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGCCATTGGAAACTGGAAGGCTTGAGTACAGAAGAGA
AGAGTGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGA
CTCTTTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTA
GTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGGGGGTTTCCGCCCCTCAGTGCTGAAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAACTCTTGACATCCCATTG
ACCGCTTGAGAGATCAAGTTTTCCCTTCGGGGACAATGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCT
CGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTTAGTTGCCAGCATTTAGT
TGGGCACTCTAGGGAGACTGCCGGTGACA

>KC914537 *Exiguobacterium acetylicum*

TGAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAAGGAACCTGCCTCAAGGATTGGGATAACTCCGAGAAATC
GGAGCTAATACCGGATAGTTCAACGGACCGCATGGTCCGCTGATGAAAGGCGCTTCGGCGTCACCTTG
AGATGGCCTTGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAATGGCCACCAAGGCGACGATGCATAGCCGA
CCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAG
GGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCG
TAAAACCTCTGTTGTAAGGGAAGAACAACGTACGAGAGGTAATGCTCGTACCTTGACGGTACCTTACGAG
AAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTAT
TGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCCTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGCTCAACCGGGGAGG
GCCATTGGAAACTGGAAGGCTTGAGTACAGAAGAGAAGAGTGAATTCACGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTTTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCG
AAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGTAGGTG
TTGGGGGGTTTCCGCCCCTCAGTGCTGAAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGC
AAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAG
CAACGCGAAGAACCTTACCAACTCTTGACATCCCATTGACCGCTTGAGAGATCAAGTTTTCCCTTCGGG
GACAATGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCA

ACGAGCGCAACCCCTATCCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGGGAGACTGCCGGTGACAA
ACCGGAGGA

>KC914538 *Pelomonas* sp.

GTCGTGGGGGATAACTACTCGAAAGAGTGGCTAATACCGCATAACGACCTGAGGGTGAAAGCGGGGGA
CCGTAAGGCCTCGCGCGATTGGAGCGGCCGATATCAGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAAGCCCACCA
AGGCGACGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACT
CCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGGACAATGGACGCAAGTCTGATCCAGCCATGCCGCGTGC
GGGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAACCGCTTTTGTACAGGGAAGAAACGAGTTTCTCTAATACAGAGAC
TTAATGACGGTACCTGAAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGT
GCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCAGGCGGTTATGCAAGACAGAGGTGAAAT
CCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCCTTTGTGACTGCATAGCTAGAGTACGGCAGAGGGGGATGGAATT
CCGCGTGTAGCAGTGAATGCGTAGATATGCGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAATCCCCTGGGCC
TGTACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCT
AAACGATGTCAACTGGTTGTTGGGAGGGTTTCTTCTCAGTAACGTAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGC
CTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGA
TGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTTACCTACCCTTGACATGCCAGGAATCCTGCAGAGAT
GTGGGAGTGCTCGAAAGAGAACCTGGACACAGGTGCTGCATGGCCGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCAATTAGTTGCTACGAAAGGGCACTCTAATGAGA
CTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCA

>KC914539 *Aeromonas allosaccharophila*

AGTCGAGGGGGATAACAGTTGGAAACGACTGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGG
ACCTTCGGGCCTTGCRCGATTGGATGAACCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAAGTAATGGCTCACC
AAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGAC
TCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTG
TGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGGTAGCGAATAACTGC
CAGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAG
GGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGA
AAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAAACCTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGA
ATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGG
ACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG
CCGTAACGATGTGATTTGGAGGCTGTGTCCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCG
ACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTG
GAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGTA
GAGATACGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGTA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTGTCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAAC
TCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCAGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTAC
GGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCGTACAGAGGGCTGCAAGCTAGCGATAGTGAGCGAAT

>KC914540 *Rhodobacter blasticus*

GTCCTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGAACGTGCCCTTTGCTTCGGAATAGCCCTGGGAAAC
TGGGAGTAATACCGAATGTGCCCTACGGGGGAAAGATTTATCGGCAAAGGATCGGCCCGCGTTGGATT
AGGTAGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGCCGACGATCCATAGCTGGTTTGGAGAGGATGATCAGCCA
CACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATCTTAGACAATGGGCG
CAAGCCTGATCTAGCCATGCCGCGTGAGCGATGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTCGTGGGGGA

AGATAATGACTGTACCCCAAGAAGAAGCCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAG
GGGGCTAGCGTTGTTTCGGAATTAAGCGCACGTAGGCGGACTGGAAAGTCAGGGGTGA
AATCCCGGGGCTCAACCCCGGAACTGCCTTTGAAACTCCAGTCTTGAGGTCGAGAGAGGTGAGTGGA
ATTCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGGCTACTGG
CTCGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG
CCGTAAACGATGAATGCCAGACGTCGGCAAGCATGCTTGTCCGGTGTACACCTAACGGATTAAGCATT
CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGG
AGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCAACCCTTGACATGGGTATCGCGGGACCA
GAGATGGTCTTTTTCAGTTCGGCTGGATACCACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGTA
GATGTTCCGGTTAAGTCCGGCAACGAGCGCAACCCACACTTCCAGTTGCCATCATTAGTTGGGCACTCT
GGAGGAACTGCCGGTGATAAGCCGGAGGAAGGTGTGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTACGGG
TTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTGGTGACAATGGGTAAATCCCAAAAAGCCATCTCAGTTCCGGAT
TGTCGTCTGCAACTCGGCGGCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGTAACAGCATGACGCGGTGAA
TACGTTCCCGGG

9.5 Secuencias de 16S rDNA correspondientes a bacterias aisladas de la rizosfera de *Ricciocarpus natans*

>1622667 *Ralstonia* sp.

TGCCGGCGAGTGGCGAACGGGTGAGTAATACATCGGAACGTGCCCTGTAGTGGGGGATAACTAGTCG
AAAGATTAGCTAATACCGCATAACGACCTGAGGGGTGAAAGTGGGGGACCGCAAGGCCTCATGCTATAG
GAGCGGCCGATGTCTGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCACCAAGGCGACGATCAGTAGCTGGT
CTGAGAGGACGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGG
GAATTTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGT
AAAGCACTTTTGTCCGGAAAGAAATGGCTCTGGTTAATACCTGGGGTCGATGACGGTACCGGAAGAAT
AAGGACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTCCAAGCGTTAATCGGAATTACT
GGGCGTAAAGCGTGCAGGCGGTTGTGCAAGACCGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTG
CATTGGTACTGCACGGCTAGAGTGTGTGAGAGGGGGGTAGAATCCACGTGTAGCAGTGAAATGCGT
AGAGATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGATAAACTGACGCTCATGCACGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACTAGTTGTTGG
GGATTCATTTCTTAGTAACGTAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGTGCAGAAATT
AAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAATTCGATGCAACGC
GAAAAACCTTACCTACCTTGACATGCCACTAACGAAGCAGAGATGCATTAGGTGCTCGAAAGAGAA
AGTGGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACG
AGCGCAACCCTTGTCTCTAGTTGCTACGAAAGGGCACTCTAGAGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGG
AAGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATG

>KC914542 *Stenotrophomonas* sp.

CGTGGGGGATAACGTAGGGAACTTACGCTAATACCGCATAACGACCTTCGGGTGAAAGCAGGGGACC
TTCGGGCCTTGCAGGATAGATGAGCCGATGTCGGATTAGCTAGTTGGCGGGGTAAAGGCCACCAAG
GCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTACGACACGGTCCAGACTCCT
ACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATACCGGTGGGGT
AAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCCCTTTTGTGGGAAAGAAAAGCAATCGATTAATACTCGGTTGTT
CTGACGGTACCCAAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGC

AAGCGTACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGTAGGTGGTTGTTTAAGTCTGTTGTGAAAGCCC
TGGGCTCAACCTGGGAATTGCAGTGGATACTGGGCGACTAGAGTGTGGTAGAGGGTAGTGGAATCC
GGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATCGGGAGGAACATCCATGGCGAAGGCAGCTACCTGGACCAAC
ACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAA
ACGATGCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTTGGCACGCAGTATCGAAGCTAACGCGTTAAGTTCGCCGC
CTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTA
TGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATGTCGAGAACTTCCAGAGAT
GGATTGGTGCCTTCGGGAACCTCGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGT
TGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACCTCTAA
GGAGACCGCCGGTGACAAACCGGAG

>KC914543 *Arthrobacter* sp.

CGATGATCCGGTGCTTGCACCGGGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCCCTT
AACTCTGGGATAAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACTCCTCATCGCATGGTGGGGGGT
GGAAAGCTTTTTTGTGGTTTTGGATGGACTCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGAGTAATGGCTCACCA
AGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACT
CCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGA
GGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGTAGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAG
AAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTATCCGGAAT
TATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTTGTCGCGTCTGCCGTGAAAGTCCGGGGCTCAACTCCGGA
TCTGCGGTGGGTACGGCAGACTAGAGTGATGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAA
TGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGGTCTCTGGGCATTAACCTGACGCTGAGGAG
CGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGTTGGGCACTAGG
TGTGGGGGACATTCCACGTTTTCCGCGCCGTAGCTAACGCATTAAGTGCCCCGCTGGGGAGTACGGC
CGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGCGGAGCATGCGGATTAATTTCG
ATGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATGAACCGGTAATACCTGGAAACAGGTGCCCGGCTT
GCGTTCGTTTTACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCA
ACGAGCGCAACCCTCGTTCTATGTTGCCAGCACGTGATGGTGGGGACTCATAGGAGACTGCCGGGGTTC
AACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTTCACGCATGCTA
CAATG

>KC914544 *Caulobacter* sp.

GGAGCGGCCCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAGGCTCACCAAGGCGACGATCAGTAGCTG
GTCTGAGAGGATGATCAGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG
GGGAATCTTTCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCCATGCCGCGTGAATGATGAAGGTCTTAGGATT
GTAAAATTCTTTCACCGGGGACGATAATGACGGTACCCGGAGAAGAAGCCCCGGCTAACTTCGTGCCA
GCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGCTCGGAATTACTGGGCGTAAAGGGAGCGTAGGGC
GACTGTTTAGTCAGAGGTGAAAGCCAGGGCTCAACCTTGAATTGCCTTTGATACTGGCAGTCTTGA
GTACGGAAGAGGTATGTGGAACCTCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAAGAACCAG
TGGCGAAGGCGACATACTGGTCCGTTACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATT
AGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAGTTGTCGGCATGCATGCATGTCGGTGACC
CAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAAAACCTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCACCTTTG
ACATGCCCGGACCACAGAGAGATCTGGCTTCCCTTCGGGGACTGGGACACAGGTGCTGCATGGCTG
TCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGC

>KC914545 *Aeromonas veronii*

CCTTGC GCGATTGGATGAACCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACG
ATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGA
GGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAG
GCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGGTAGCTAATAACTGCCAGCTGTGACG
TACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGT
TAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGC
TCAACCTGGGAATTGCATTTAAACTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGT
AGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGA
CGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGAT
GTCGATTTGGAGGCTGTGTCTTGTAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGG
AGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGT
TTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTGTAGAGATACGGGA
GTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT
AAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCCTGTCTTTGTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCAAGGGAGAC
TGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCA

>KC914546 *Aeromonas veronii*

TCTGCCAGTCGAGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAA
GCAGGGGACCTTCGGGCCTTGC GCGATTGGATGAACCCAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATG
GCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGG
TCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATG
CCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTTGGTAGCTAAT
AACTGCCAGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA
CGGAGGGTGCAAGCGTAAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGA
TGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAACTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGG
GTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCC
CCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT
CCACGCCGTAAACGATGTGATTTGGAGGCTGTGTCTTGTAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTA
AATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAG
CGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATC
CTGTAGAGATACGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGT
CGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCCTGTCTTTGTGCCAGCACGTAATGGTG
GGA ACTCAAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTC

>KC914547 *Pseudomonas putida*

CGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGACAACGTTTCGAAAGGAACGCTAA
TACCGCATAACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGC GCTATCAGATGAGCCTAGGTC
GGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTA ACTGGTCTGAGAGGATGATC
AGTCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAAT
GGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGT
TGGGAGGAAGGGCATTAACTAATACGTTAGTGTTTTACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAAC
TCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGC
GCGTAGGTGGTTTGTAAAGTTGGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATCCAAAAGTGG
CAAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAG
GAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCA

AACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAATCCTTGAGAT
TTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAAT
GAATTGACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTA
CCAGGCCTTGACATGCAGAGAACTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTCTGACACAGGTGC
TGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTC
TTAGTTACCAGCACGTTATGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGG
GATGACGTCAAGTCATCATG

>KC914548 *Acidovorax* sp.

GCTTTGCTAATACCGCATAACGATCTCAGGATGAAAGCAGGGGACCGCAAGGCCTTGCCTCACGGAGC
GGCCGATGGCAGATTAGGTAGTTGGTGGGATAAAAGCTTACCAAGCCGACGATCTGTAGCTGGTCTGA
GAGGACGACCAGCCACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAAT
TTTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGCAGGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAC
TGCTTTTGTACGGAACGAAAAGACTCTGGTTAATACCTGGGGTCCATGACGGTACCGTAAGAATAAGC
ACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTACTGGGC
GTAAAGCGTGCAGGCGGTTATATAAGACAGATGTGAAATCCCCGGGCTAACCTGGGAACTGCATT
TGTGACTGTATAGCTAGAGTACGGCAGAGGGGGATGGAATTCCGCGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGA
TATGCGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAATCCCCGGGCTGTACTGACGCTCATGCACGAAAGCG
TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAACGATGTCAACTGGTTGTTGGGTC
TTCCTGACTCAGTAACGAAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTGAA
ACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAA
AAACCTTACCCACCTTTGACATGTATGGAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCTCGAAAGAGAGCCATA
ACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
AACCTTGCCATTAGTTGCTACGAAAGGGCACTCTAATGgGACTGCCGGTGAC

>KC914549 *Bacillus aerophilus*

GAGCTTGCTCCCGGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGG
ATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAGTTCCCTTGAACCGCATGGTTCAAGGATGAAAGAC
GGTTTCGGCTGTCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCTCACAA
GGCgACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTC
CTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAG
TGATGAAGGTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCGAGAGTAACTGCTCGCA
CCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGG
CAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCC
CCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTC
CACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTG
TAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT
AAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCC
GCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAG
CATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCTAGAG
ATAGGGCTTTCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTAAG
GTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCT

>KC914550 *Acidovorax* sp.

ATGCTGACGAGTGGCGAACGGGTGAGTAATACATCGGAACGTGCCCGAGAGTGGGGGATAACGAGGC
GAAAGCTTTGCTAATACCGCATAACGATCTCAGGATGAAAGCAGGGGACCGCAAGGCCTTGCCTCACG
GAGCGGCCGATGGCAGATTAGGTAGTTGGTGGGATAAAAAGCTTACCAAGCCGACGATCTGTAGCTGGT
CTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGG
GAATTTTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGCAGGATGAAGGCCTTCGGGTTGT
AAACTGCTTTTGTACGGAACGAAAAGACTCTGGTTAATACCTGGGGTCCATGACGGTACCGTAAGAAT
AAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTACT
GGGCGTAAAGCGTGCAGCAGGCGTTATATAAGACAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACT
GCATTTGTGACTGTATAGCTAGAGTACGGTAGAGGGGGATGGAATTCGCGTGTAGCAGTGAATGCC
TAGATATGCGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAATCCCCTGGACCTGTACTGACGCTCATGCACGAA
AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACTGGTTGTTG
GGTCTTCACTGACTCAGTAACGAAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGT
TGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGTTTAATTCGATGCAACG
CGAAAAACCTTACCCACCTTTGACATGTATGGAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCTCGAAAGAGAGC
CATAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCACTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGA
GCGCAACCCTTGCCATTAGTTGCTACGAAAGGGCACTCTAATGGGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGA
AGGTGGGGATGACGTCAAGT

>KC914551 *Zoogloea* sp.

TGAGGGGGAAAGTGGGGGACCGTAAGGCCTCACGCTATATGAGCGGCCGATGTCCGATTAGCTAGTT
GGTAGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCCGTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGG
ACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGGACAATGGGCGCAAGCCT
GATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCAGACGGAAAGAAATC
TCTCAGGATAAATACCTTGGGAGGATGACGGTACCGTAAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCAGGCGGT
GATGTAAGACAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCGTTTGTGACTGCATCACTCGAGT
ACGGCAGAGGGAGGTGGAATTCGCGTGTAGCAGTGAATGCGTAGATATGCGGAGGAACACCGATG
GCGAAGGCAGCCTCCTGGGCCAGTACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAG
ATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACTAGTTGTTTCGGTGTAGGAGACTCATTGAGTAACG
CAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTTACCTACCCTTG
ACATGCCAGGAACCTTACCAGAGATGGTTTGGTGTCTCGAAAGAGAGCCTGGACACAGGTGCTGCATGG
CTGTCGTCACTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTTAATTG
CCATCATTAAGTTGGGCACTTTAGCGAGACTGCCGGTG

>KC914552 *Porphyrobacter* sp.

TCTTCGGACCAAAGATTTATCGCCTTTAGATGGGCCCGCGTTGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGG
CCTACCAAGGCGACGATCCATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGC
CCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGC
CGCGTGAGTGATGAAGGCCTTAGGGTTGTAAGCTCTTTTACCAGGGATGATAATGACAGTACCTGGA
GAATAAGCTCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGAGCTAGCGTTGTTCCGGAAT
TACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGCTTTTTAAGTCAGGGGTGAAATCCCCGGGCTCAACCCCGGA
ACTGCCCTTGAAGTGGGAAGCTAGAATCTTGGAGAGGCGAGTGAATTCGAGTGTAGAGGTGAAA
TTCGTAGATATTCGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCGCTGGACAAGTATTGACGCTGAGGTGC
GAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGATAACTAGCT

GTCCGGGTTTCATGGAACCTTGGGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTATCCGCCTGGGGAGTACGGTTCG
AAGATTA AAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCTGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAG
CAACGCGCAGAACCTTACCAGCCTTTGACATCCTAGGGCGACTTCTGGAGACAGATTTCTTCCCTTCG
GGACCTAGTGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGTTAAGTCCCGCA
ACGAGCGCAACCCTCGTCCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTTTAA

>KC914553 *Caulobacter* sp.

AGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGAACGTGCCCTTTGGTTCGGAACAACCTCAGGGAAACTTGA
GCTAATACCGGATGTGCCCTTCGGGGGAAAGATTTATCGCCATTGGAGCGGCCCGCGTCTGATTAGCT
AGTTGGTGAGGTAAAGGCTACCAAGGCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACAT
TGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATCTTGCGCAATGGGCGAAA
GCCTGACGCAGCCATGCCGCGTGAATGATGAAGGTCTTAGGATTGTAAAATTTCTTACCGGGGACGA
TAATGACGGTACCCGGAGAAGAAGCCCCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGG
GCTAGCGTTGCTCGGAATTACTGGGCGTAAAGGGAGCGTAGGCGGACTGTTTAGTCAGAGGTGAAAG
CCCAGGGCTCAACCTTGAATTCCTTTGATACTGGCAGTCTTGAGTACGGAAGAGGTATGTGGAAC
CCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAAGAACCAGTGGCGAAGGCGACATACTGGTCC
GTTACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT
AAACGATGAGTGCTAGTTGTGCGCATGCATGCATGTCGGTGACGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGC
CTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTA AAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCA
TGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCACCTTTTGACATGCCCCGACCACCAGAGAGAT
CTGGCTTTCCCTTCGGGGACTGGGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTT
GGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCGATTAGTTGCCATCAGGTTT

>KC914554 *Pedobacter terrae*

CTACCTTAATCAGGGGGATAGCCCGGAGAAATCCGGATTAACACCGCATAAAAACACAGGATAGCAT
TATCCAATGTTCAAATATTAATAGGATTGAGATGGGCATGCGTGTGATTAGCTAGTTGGCGGGGTAAC
GGCCACCAAGGCGACGATGACTAGGGGATCTGAGAGGATGACCCCCACACTGGTACTGAGACACG
GACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAAGGAATATTGGTCAATGGAGGCAACTCTGAACCAGCCAT
GCCGCGTGCAGGAAGACTGCCCTATGGGTTGTAACTGCTTTTATCCGGGAATAAACCTCAATACGAG
TATTGAGCTGAATGTACCGGAAGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGG
AGGATCCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGTTTAAAGGGTGCGTAGGCGGCCTGTTAAGTCAGGGGTG
AAAGACGGTAGCTCAACTATCGCAGTGCCCTTGATACTGATGGGCTTGAATGGACTAGAGGTAGGCGG
AATGAGACAAGTAGCGGTGAAATGCATAGATATGTCTCAGAACACCGATTGCGAAGGCAGCTTACTAT
GGTTAATTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGC
CCTAAACGATGAACACTCGCTGTTGGCGATACACAGTCAGCGGCTAAGCGAAAGCGTTAAGTGTTC
CCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGAGGAGC
ATGTGGTTTAATTCGATGATACGCGAGGAACCTTACCCGGGCTTGAAGTTAGTGAATGATTTAGAGA
TAGATCAGTCCGCAAGGACACGAAACTAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGTT
GGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTATGTTTAGTTGCCAGCATGTAATGGTGGGGACTCTAAA
CAGACTGCCTGTGC

>KC914555 *Pelomonas saccharophila*

TAAGCTGACGAGTGGCGAACGGGTGAGTAATATATCGGAACGTGCCAGTCGTGGGGGATAACTGCT
CGAAAGAGCAGCTAATACCGCATAACGACCTGAGGGTGAAAGCGGGGGATCGCAAGACCTCGCGCGAT
TGGAGCGGCCGATATCAGATTAGGTAGTTGGTGGGGTAAAAGCTACCAAGCCAACGATCTGTAGCTG
GTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG

GGGAATTTTGGACAATGGACGCAAGTCTGATCCAGCCATGCCGCGTGCGGGAAGAAGGCCTTCGGGT
GTAAACCGCTTTTTGTCAGGGAAGAAAAGGTTCTGGTTAATACCTGGGACTCATGACGGTACCTGAAGA
ATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTA
CTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTATGCAAGACAGAGGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAA
CTGCCTTTGTGACTGCATAGCTAGAGTACGGTAGAGGGGGATGGAATCCGCGTGTAGCAGTGAAATG
CGTAGATATGCGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAATCCCCTGGACCTGTACTGACGCTCATGCACG
AAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACTGGTTGT
TGGGAGGGTTTCTTCTCAGTAACGTAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAG
GTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGTTTAATTCGATGCAAC
GCGAAAAACCTTACCTACCCTTGACATGTCTGGAATCCTGAAGAGATTTGGGAGTGCTCGAAAGAGAG
CCAGAACACAGGTGCTGCATGGCCGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACG
AGCGCAACCCTTGTATTAGTTGCTACGAAAGGGCACTCTAATGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGG
AAGGTGGGGATGACGTCAGGTCATCATGGCCCTTATG

>KC914556 *Pelomonas* sp.

GCTGACGAGTGGCGAACGGGTGAGTAATATATCGGAACGTGCCAGTCGTGGGGGATAACTGCTCGA
AAGAGCAGCTAATACCGCATAACGACCTGAGGGTGAAGCGGGGGATCGCAAGACCTCGCGCGATTGG
AGCGGCCGATATCAGATTAGGTAGTTGGTGGGGTAAAAGCTCACCAAGCCAACGATCTGTAGCTGGTC
TGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGG
AATTTTGGACAATGGACGCAAGTCTGATCCAGCCATGCCGCGTGCGGGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTA
AACCGCTTTTGTGAGGGAAGAAAAGGTTCTGGTTAATACCTGGGACTCATGACGGTACCTGAAGAATA
AGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTG
GGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTATGCAAGACAGAGGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTG
CCTTTGTGACTGCATAGCTAGAGTACGGTAGAGGGGGATGGAATCCGCGTGTAGCAGTGAAATGCGT
AGATATGCGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAATCCCCTGGACCTGTACTGACGCTCATGCACGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACTGGTTGTTGG
GAGGGTTTCTTCTCAGTAACGTAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTT
GAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGTTTAATTCGATGCAACGC
GAAAAACCTTACCTACCCTTGACATGTCTGGAATCCTGAAGAGATTTGGGAGTGCTCGAAAGAGAGCC
AGAACACAGGTGCTGCATGGCCGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAG
CGCAACCCTTGTATTAGTTGCTACGAAAGGGCACTCTAATGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAA
GGTGGGGATGACGTCAGGTCATCAT

>KC914557 *Shewanella* sp.

ACGACTGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTCGCGATTGGAT
GAACCTAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGTTCTG
AGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA
TATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAA
GCACTTTCAGTAGGGAGGAAAGGGTGAGTCTTAATACGGCTCATCTGTGACGTTACCTACAGAAGAAG
GACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTCCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGG
CGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTGTAAAGCGAGATGTGAAAGCCCTGGGCTCAACCTAGGAATAGCAT
TTCGAACTGGCGAACTAGAGTCTTGTAGAGGGGGTGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAG
AGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCATGCACGAAAGC
GTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCTACTCGGAGTTTGGT
GTCTTGAACACTGGGCTCTCAAGCTAACGCATTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTA
AAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCG
AAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCACAGAAGACTGCAGAGATGCGGTTGTGCCTTCGGGAACTGTG

AGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGC
AACCCTATCCTTATTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCTAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGA
GGAAGGTGGGGACGACGTC

>KC914558 *Terribacillus* sp.

CTAATACCGGATAGTATTTCTTTCTCCTGATTGGAAATGGAAAGACGGTTTCGGCTGTCACTTACAGA
TGGGCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCACCAAGGCGACGATGCATAGCCGACCT
GAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGA
ATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCCGGTGAGCGATGAAGGCCCTTCGGGTCGTA
AAGTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACGAGAGTAACTGCTCGTACCTTGACGGTACCTAACCGAA
AGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
GGCGTAAAGGGCTCGTAGGGCGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACAGCTCAACTGTGGAGGGTC
ATTGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGT
AGATATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAGGTGTTA
GGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAG
GCTGAAACTCAAAGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAA
CGGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCGCTGACAATCTTGGAGACAAGACGTTCCCTTCGGGGAC
AGCGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGA
GCGCAACCCTTGATTCTAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTAGAGTACTGCCGGTGACAAACCG
GAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGG
AT

9.6 Secuencias de 16S rDNA correspondientes a bacterias aisladas de la rizosfera de agua sin influencia de plantas

>KC902425 *Nocardioides* sp.

ATAACCGCGGGAAGCTGCGGCTAATACTTGATATGACCACGTCTCGCATGGGGTGTGGTGGAAAGCGT
TTAGTGGTGAGGGATGTGCTCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGAGGTAGTGGCTACCAAGGCTTCGA
CGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGA
GGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAACGCCCGGTGAGGGATGACG
GCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCACCTCTGACGAAGCGCAAGTGACGGTAAGGGGAGAAGAAGGACC
GGCCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTCCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTA
AAGGGCTCGTAGGCGGTTTGTGCGGTCGGGAGTGAAAACCAGGTGCTTAACACCTGGCTTGCTCCGA
TACGGGCAGACTAGAGGTATGCAGGGGAGAATGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATAT
CAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGTTCTCTCGGCATTACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGTGTGG
GGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACACCGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGATCCAT
TCCACGGGTTCCGTGCCGAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAA
ACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGCGGAGCATGCGGATTAATTCGATGCAACGCGAA
GAACCTTACCTGGGTTTGACATACGCCGAAAGCTGCAGAGATGTGGCCTCCTTTTGGCCGGTGTACA
GGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TCGTCTATGTTGCCAGCACGCCCTTCGGGGTGGTGGGGACTCATAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCG
GA

>KC914559 *Acinetobacter* sp.

TAGGAATCTGCCTATTAGTGGGGGACAACATTCCGAAAGGAATGCTAATACCGCATACGCCCTACGGG
GGAAAGCAGGGGATCTTCGGACCTTGCCTAATAGATGAGCCTAAGTCAGATTAGCTAGTTGGTGGGG
TAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCTGTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGGACTGAGA
CACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAG
CCATGCCCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTGGTTGTAAAGCACTTTAAGCGAGGAGGAGGCTACTTGGA
TTAATACTCTAGGATAGTGGACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCG
GTAATACAGAGGGTGCAGCGTTAATCGGATTTACTGGGCGTAAAGCGTGCGTAGGCGGCTTTTTAAG
TCGGATGTGAAATCCCTGAGCTTAACTTAGGAATTGCATTTCGATACTGGGAAGCTAGAGTATGGGAGA
GGATGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGC
AGCCATCTGGCCTAATACTGACGCTGAGGTACGAAAGCATGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTG
GTAGTCCATGCCGTAAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGGCCTTTGAGGCTTTAGTGGCGCAGCTAACG
CGATAAGTAGACCGCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGC
ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGTCTTGACATAGTAA
GAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTTACATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCT
CGTGTGTCGAGATGTTGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTTTCCTTATTTGCCAGCGGGTTAA
GCCGGGAACTTTAAGGATACTGCCAGTGACAAACTGGAGGAAGGCGG

9.7 Morfología las colonias funcionales bacterianas aisladas, se contemplaron características macroscópicas (forma, borde, elevación, textura, color, disposición de color y luz reflejada) y microscópicas (forma microscópica y tinción de Gram).

Clave	Forma	Borde	Elevación	Textura	Color	Disposición de color	Luz reflejada	Forma microscópica	Tinción Gram
AA/A/1	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AA/A/12	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AA/A/2a	Circular	Entero	Umbonada	Viscosa	Amarillo	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AA/A/2b	Circular	Entero	Umbonada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AA/A/7	Circular	Entero	Elevada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AA/L/1	Circular	Entero	Umbonada	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AA/L/10	Circular	Entero	Convexa	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AA/L/13	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	-	-
AA/L/2	Circular	Entero	Convexa	Membranosa	Amarillo	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AA/L/3	Circular	Entero	Elevada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AA/L/4	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AA/R/10	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema claro	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilococos	negativos
AA/R/11	Circular	Entero	Convexa	Membranosa	Blanco	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AA/R/2	Circular	Entero	Convexa	Viscosa	Blanco	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos

La clave incluye el medio de cultivo usado para su crecimiento, agar almidón (AA); planta de procedencia, *Azolla filiculoides* (A), *Lemna gibba* (L), *Ricciocarpos natans* (R); número de identificación.

9. 7 Continuación

Clave	Forma	Borde	Elevación	Textura	Color	Disposición de color	Luz reflejada	Forma microscópica	Tinción Gram
AA/R/20a	Circular	Entero	Umbonada	Membranosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AA/R20b	Circular	Entero	Convexa	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AN/A/1a	Circular	Entero	Elevada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilococos	negativos
AN/A/1b	Ameboide	Entero	Elevada	Viscosa	Amarillo	Circunscrito a la colonia	Brillante	-	-
AN/A/2	Circular	Entero	Umbonada	Butirosa	Amarillo	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AN/A/3	Circular	Ondulado	Umbonada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AN/A/4	Circular	Entero	Convexa	Viscosa	Crema claro	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilococos	negativos
AN/A/5b	Puntiforme	Entero	Convexa	Viscosa	Crema claro	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AN/L/1	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema claro	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AN/L/3	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AN/L/4	Circular	Entero	Elevada	Butirosa	Amarillo	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilococos	negativos
AN/L/5	Circular	Entero	Convexa	Viscosa	Café claro	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AN/R/2	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Rosa	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AN/R/3	Circular	Entero	Convexa	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos

La clave incluye el medio de cultivo usado para su crecimiento, agar almidón (AA), agar nutritivo (AN); planta de procedencia, *Azolla filiculoides* (A), *Lemma gibba* (L), *Ricciocarpos natans* (R); número de identificación.

9. 7 Continuación

Clave	Forma	Borde	Elevación	Textura	Color	Disposición de color	Luz reflejada	Forma microscópica	Tinción Gram
AN/R/4	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	estreptobacilos	negativos
AN/R/5	Circular	Entero	Umbonada	Butirosa	Anaranjado	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilococos	negativos
AN/R/6	Ameboide	Ondulado	Endida	Butirosa	Crema claro	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AN/R/7	Circular	Entero	Umbonada	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AN/R/8	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AT/A/10	Circular	Entero	Umbonada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AT/A/10	Circular	Entero	Plana	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AT/A/11	Circular	Entero	Umbonada	Membranosa	Crema y blanco	Circunscrito a la colonia	Mate	-	-
AT/L/1	Circular	Entero	Umbonada	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AT/L/2	Circular	Entero	Elevada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AT/R/3	Circular	Entero	Elevada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AT/R/4	Ameboide	Entero	Convexa	Butirosa	Crema claro	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos

La clave incluye el medio de cultivo usado para su crecimiento, agar nutritivo (AN), agar Tween (AT); planta de procedencia, *Azolla filiculoides*

(A), *Lemma gibba* (L), *Ricciocarpos natans* (R); número de identificación.

9. 7 Continuación

Clave	Forma	Borde	Elevación	Textura	Color	Disposición de color	Luz reflejada	Forma microscópica	Tinción Gram
CA/A/1	Circular	Ondulado	Endida	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
CA/A/2	Puntiforme	Entero	Convexa	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
CA/A/3a	Puntiforme	Entero	Convexa	Butirosa	Rojo	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
CA/A/3b	Circular	Entero	Convexa	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
CA/A/12	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
CA/R/10b	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema claro	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
CA/R/13	Circular	Entero	Convexa	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
CA/R/8	Circular	Entero	Umbonada	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
AN/L/2	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Blanco	Circunscrito a la colonia	Brillante	-	-
PK/A/1	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
PK/A/10	Ameboide	Entero	Plana	Viscosa	Café	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
PK/A/16	Circular	Entero	Elevada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos

La clave incluye el medio de cultivo usado para su crecimiento, agar nutritivo (AN), agar nutritivo (CA), agar Pikovskaya (PK); planta de procedencia, *Azolla filiculoides* (A), *Lemna gibba* (L), *Ricciocarpus natans* (R); número de identificación.

9. 7 Continuación

Clave	Forma	Borde	Elevación	Textura	Color	Disposición de color	Luz reflejada	Forma microscópica	Tinción Gram
PK/A/4	Circular	Entero	Umbonada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
PK/A/5	Circular	Entero	Elevada	Butirosa	Blanco	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilococos	negativos
PK/L/1	Circular	Ondulado	Elevada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
PK/L/16	Circular	Entero	Elevada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
PK/L/21	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
PK/L/4	Circular	Ondulado	Convexa	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
PK/R/1	Puntiforme	Entero	Convexa	Viscosa	Blanco	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
PK/R/2	Circular	Ondulado	Umbonada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
PK/R/2	Circular	Entero	Plana	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
PK/R/3	Puntiforme	Entero	Convexa	Viscosa	Blanco	Circunscrito a la colonia	Brillante	cocos	negativos
PK/R/4	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema claro	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
PK/R/5	Ameboide	Lobulado	Rugosa	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos

La clave incluye el medio de cultivo usado para su crecimiento, agar Pikovskaya (PK); planta de procedencia, *Azolla filiculoides* (A), *Lemna gibba* (L), *Ricciocarpus natans* (R); número de identificación.

9. 7 Continuación

Clave	Forma	Borde	Elevación	Textura	Color	Disposición de color	Luz reflejada	Forma microscópica	Tinción Gram
RE/R/10	Circular	Entero	Convexa	Viscosa	Rosa	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/A/10	Puntiforme	Entero	Convexa	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/A/14	Circular	Entero	Umbonada	Viscosa	Amarillo	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/A/15	Circular	Entero	Umbonada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/A/2	Circular	Ondulado	Plana	Viscosa	Café	Difuso en el medio	Brillante	bacilos	negativos
RE/A/8	Circular	Entero	Umbonada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/A/9	Circular	Entero	Elevada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/L/1	Circular	Entero	Umbonada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	positivos
RE/L/10	Circular	Entero	Elevada	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/L/11	Circular	Entero	Convexa	Viscosa	Blanco	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/L/2	Circular	Entero	Elevada	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/L/21	Circular	Entero	Elevada	Butirosa	Anaranjado	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilocos	negativos

La clave incluye el medio de cultivo usado para su crecimiento, medio de Rennie (RE); planta de procedencia, *Azolla filiculoides* (A), *Lemma gibba* (L), *Ricciocarpus natans* (R); número de identificación.

9. 7 Continuación

Clave	Forma	Borde	Elevación	Textura	Color	Disposición de color	Luz reflejada	Forma microscópica	Tinción Gram
RE/L/3	Circular	Entero	Umbonada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	-	-
RE/L/6	Puntiforme	Entero	Convexa	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/L/8	Circular	Entero	Convexa	Viscosa	Amarillo	Circunscrito a la colonia	Brillante	-	-
RE/R/12	Circular	Entero	Convexa	Viscosa	Crema claro	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/R/13	Circular	Entero	Umbonada	Butirosa	Anaranjado	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilococos	negativos
RE/R/15	Puntiforme	Entero	Convexa	Viscosa	Crema claro	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/R/16	Circular	Entero	Convexa	Viscosa	Amarillo	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	positivos
RE/R/3	Circular	Entero	Convexa	Membranosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilococos	negativos
RE/R/6	Puntiforme	Entero	Convexa	Butirosa	Amarillo	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/R/7	Circular	Entero	Umbonada	Butirosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/W/1	Circular	Entero	Umbonada	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilococos	negativos
RE/W/2	Circular	Entero	Convexa	Butirosa	Crema claro	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	negativos
RE/W/4	Puntiforme	Entero	Convexa	Viscosa	Crema	Circunscrito a la colonia	Brillante	bacilos	positivos

La clave incluye el medio de cultivo usado para su crecimiento, medio de Rennie (RE); planta de procedencia, *Lemna gibba* (L.), *Ricciocarpus natans* (R), agua a distancia (W); número de identificación.

9.8 Cepas funcionales bacterianas identificadas molecularmente, se incluye el nombre de la cepa, actividad fisiológica, hospedante y número de accesión GenBank.

GenBank	Género o especie	Hospedante	Actividad	Cepa
KC902424	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Azolla</i>	Amilolítico	CPO 4.001
KC902425	<i>Nocardioides</i> sp.	Agua	Fijador de N	CPO 4.002
KC902426	<i>Aeromonas veronii</i>	<i>Azolla</i>	Solubilizador de P	CPO 4.003
KC902427	<i>Chryseobacterium</i> sp.	<i>Azolla</i>	Fijador de N	CPO 4.004
KC902428	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Azolla</i>	Solubilizador de P	CPO 4.005
KC902429	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Azolla</i>	Lipolítico	CPO 4.006
KC902430	<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Azolla</i>	Solubilizador de P	CPO 4.007
KC902431	<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Azolla</i>	Fijador de N	CPO 4.008
KC902432	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Azolla</i>	Amilolítico	CPO 4.009
KC902433	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Azolla</i>	Facil crecimiento	CPO 4.010
KC902434	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Azolla</i>	Amilolítico	CPO 4.011
KC902435	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Azolla</i>	Facil crecimiento	CPO 4.012
KC902436	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Azolla</i>	Celulolítico	CPO 4.013
KC902437	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Azolla</i>	Solubilizador de P	CPO 4.014
KC902438	<i>Aeromonas veronii</i>	<i>Azolla</i>	Fijador de N	CPO 4.015
KC902439	<i>Afipia</i> sp.	<i>Azolla</i>	Celulolítico	CPO 4.016
KC902440	<i>Acidovorax</i> sp.	<i>Azolla</i>	Celulolítico	CPO 4.017
KC906255	<i>Chryseobacterium</i> sp.	<i>Azolla</i>	Facil crecimiento	CPO 4.018
KC906256	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Azolla</i>	Fijador de N	CPO 4.019
KC906257	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Azolla</i>	Fijador de N	CPO 4.020
KC906258	<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Lemna</i>	Solubilizador de P	CPO 4.021
KC906259	<i>Aeromonas jandaei</i>	<i>Lemna</i>	Solubilizador de P	CPO 4.022
KC906260	<i>Aeromonas jandaei</i>	<i>Lemna</i>	Amilolítico	CPO 4.023
KC906261	<i>Aeromonas jandaei</i>	<i>Lemna</i>	Solubilizador de P	CPO 4.024
KC906262	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Lemna</i>	Fijador de N	CPO 4.025
KC906263	<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Lemna</i>	Lipolítico	CPO 4.026
KC906264	<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Lemna</i>	Amilolítico	CPO 4.027
KC914532	<i>Aeromonas veronii</i>	<i>Lemna</i>	Solubilizador de P	CPO 4.028

9.8 Continuación

GenBank	Género o especie	Hospedante	Actividad	Cepa
KC914533	<i>Aeromonas veronii</i>	<i>Lemna</i>	Amilolítico	CPO 4.029
KC914534	<i>Aquitalea denitrificans</i>	<i>Lemna</i>	Amilolítico	CPO 4.030
KC914535	<i>Exiguobacterium</i> sp.	<i>Lemna</i>	Fijador de N	CPO 4.031
KC914536	<i>Exiguobacterium acetylicum</i>	<i>Lemna</i>	Fijador de N	CPO 4.032
KC914537	<i>Exiguobacterium acetylicum</i>	<i>Lemna</i>	Fijador de N	CPO 4.033
KC914538	<i>Pelomonas</i> sp.	<i>Lemna</i>	Facil crecimiento	CPO 4.034
KC914539	<i>Aeromonas allosaccharophila</i>	<i>Lemna</i>	Amilolítico	CPO 4.035
KC914540	<i>Rhodobacter blasticus</i>	<i>Lemna</i>	Facil crecimiento	CPO 4.036
KC914541	<i>Ralstonia</i> sp.	<i>Ricciocarpus</i>	Solubilizador de P	CPO 4.037
KC914542	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	<i>Ricciocarpus</i>	Facil crecimiento	CPO 4.038
KC914543	<i>Arthrobacter</i> sp.	<i>Ricciocarpus</i>	Lipolítico	CPO 4.039
KC914544	<i>Caulobacter</i> sp.	<i>Ricciocarpus</i>	Solubilizador de P	CPO 4.040
KC914545	<i>Aeromonas veronii</i>	<i>Ricciocarpus</i>	Lipolítico	CPO 4.041
KC914546	<i>Aeromonas veronii</i>	<i>Ricciocarpus</i>	Solubilizador de P	CPO 4.042
KC914547	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Ricciocarpus</i>	Celulolítico	CPO 4.043
KC914548	<i>Acidovorax</i> sp.	<i>Ricciocarpus</i>	Facil crecimiento	CPO 4.044
KC914549	<i>Bacillus aerophilus</i>	<i>Ricciocarpus</i>	Solubilizador de P	CPO 4.045
KC914550	<i>Acidovorax</i> sp.	<i>Ricciocarpus</i>	Facil crecimiento	CPO 4.046
KC914551	<i>Zoogloea</i> sp.	<i>Ricciocarpus</i>	Fijador de N	CPO 4.047
KC914552	<i>Porphyrobacter</i> sp.	<i>Ricciocarpus</i>	Cianobacteria	CPO 4.048
KC914553	<i>Caulobacter</i> sp.	<i>Ricciocarpus</i>	Fijador de N	CPO 4.049
KC914554	<i>Pedobacter terrae</i>	<i>Ricciocarpus</i>	Fijador de N	CPO 4.050
KC914555	<i>Pelomonas saccharophila</i>	<i>Ricciocarpus</i>	Amilolítico	CPO 4.051
KC914556	<i>Pelomonas</i> sp.	<i>Ricciocarpus</i>	Amilolítico	CPO 4.052
KC914557	<i>Shewanella</i> sp.	<i>Ricciocarpus</i>	Fijador de N	CPO 4.053
KC914558	<i>Terribacillus</i> sp.	<i>Ricciocarpus</i>	Fijador de N	CPO 4.054
KC914559	<i>Acinetobacter</i> sp.	Agua	Fijador de N	CPO 4.055