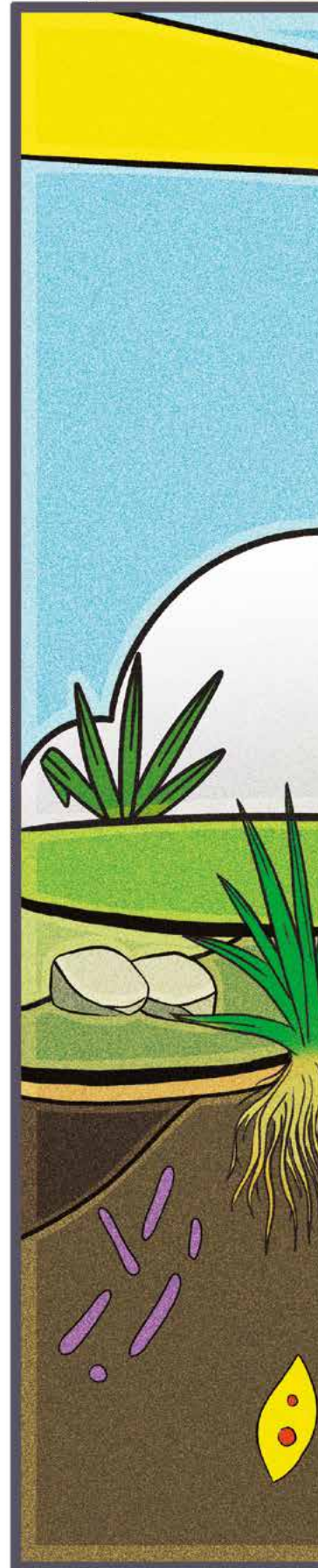


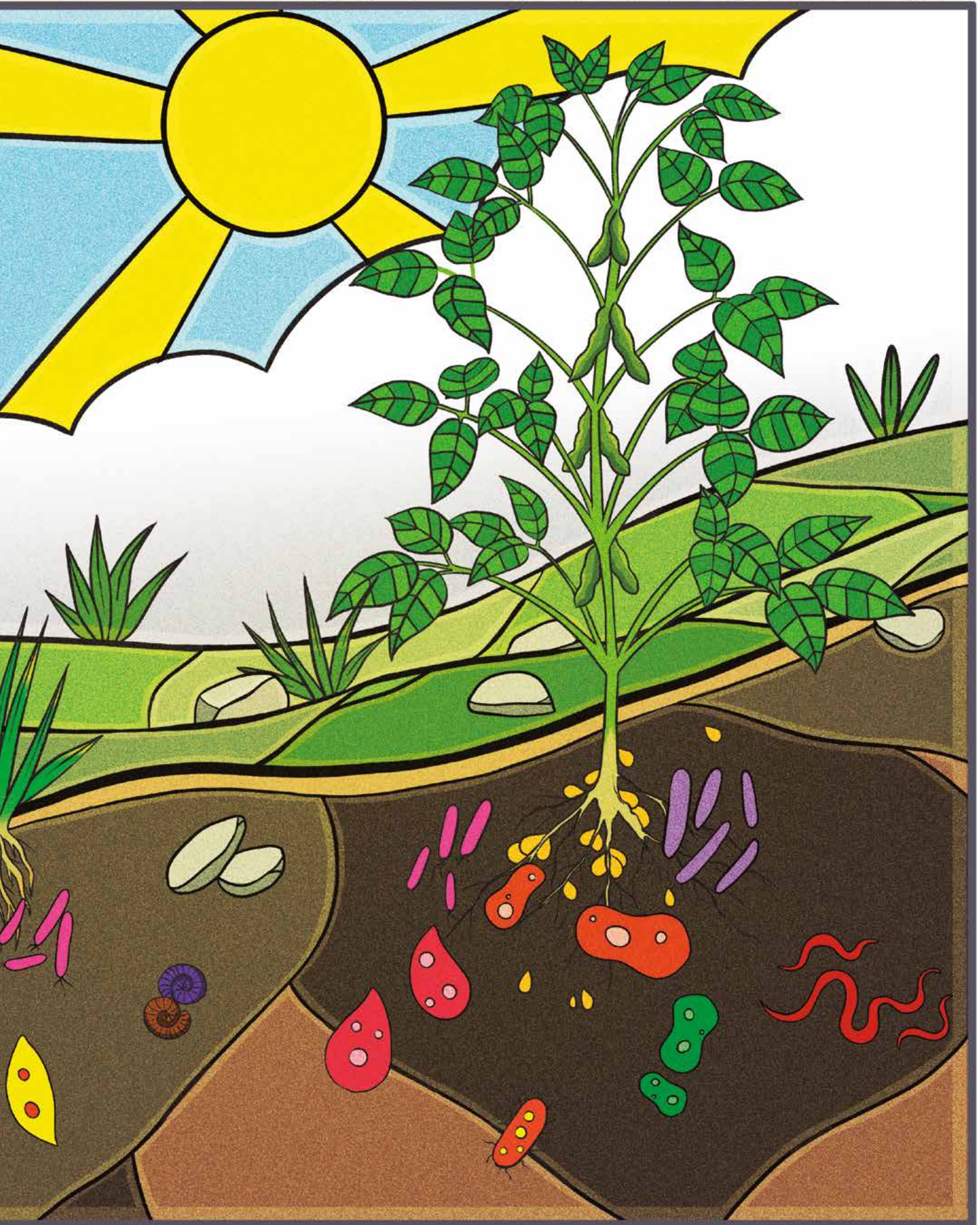
5

Mecanismos de promoción del crecimiento vegetal por rizobios simbióticos y asimbióticos

Blanca Estela Romero López¹
Getzabeth González Gutiérrez¹

1. Grupo de Microbiología Ambiental, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, México.





Introducción

La necesidad de realizar prácticas agrícolas y forestales sustentables, así como de resolver problemas ambientales de degradación y contaminación de suelos, ha incentivado el interés por expandir el aprovechamiento de los rizobios, particularmente su versatilidad fisiológica y capacidad de establecer relaciones con las plantas.

Los rizobios son un grupo complejo de bacterias Gram-negativas que viven en el suelo como saprófitos, en asociación con plantas o en simbiosis (Benhizia et al., 2004; Rosenblueth et al., 2018). Estas bacterias son bien conocidas por establecer una relación simbiótica con plantas de la familia Fabaceae, conocidas como *leguminosas*, a las que proveen de compuestos nitrogenados mediante la fijación de nitrógeno atmosférico (N_2), a cambio de fuentes de carbono y otros nutrientes. Las primeras descripciones de los rizobios fueron realizadas por Beijerinck y Frank a finales del siglo XIX, cuando se descubrió que estas bacterias eran responsables de la formación de nódulos y de la fijación de nitrógeno, función previamente asignada a las leguminosas. Las bacterias simbióticas nodulantes fueron inicialmente clasificadas en el género *Rhizobium*, pero posteriormente se fueron agregando otros géneros, designados de acuerdo con su velocidad de crecimiento y especificidad con el hospedador (Das et al., 2017). La clasificación taxonómica de los rizobios es muy dinámica, ya que a los rasgos tradicionales de morfología celular, los rasgos bioquímicos y la especificidad de hospedadores se han ido sumando los atributos fisiológicos y genéticos (Latif et al., 2013). Actualmente, la mayoría de los rizobios pertenecen a la subclase Alfa-Proteobacteria, en la cual se estima una diversidad aproximada de 40 géneros, entre los cuales se destacan los siguientes: *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* y *Sinorhizobium* (Carvalho et al., 2010; Laguerre et al., 2001; Latif et al., 2013; Sessitsch et al., 2002), además de *Devosia* y *Methylobacterium* (Balachandar et al., 2007; Senthilkumar et al., 2009). En las últimas dos décadas se han reportado algunos representantes de la subclase Beta-Proteobacteria (por ejemplo, *Burkholderia*, *Cupriavidus* y *Herbaspirillum*) como bacterias atípicas que también inducen la formación de nódulos (Balachandar et al., 2007; Bontemps et al., 2010; Das et al., 2017), y también se han reportado miembros de la subclase Gama-Proteobacteria como ocupantes de nódulos, específicamente del género *Pantoea*, así como de los órdenes Enterobacteriales y Pseudomonadales (Benhizia et al., 2004; Peix et al., 2015).

Los rizobios presentan una variedad de estrategias y estilos de vida que les permiten asociarse a un amplio espectro de familias botánicas y, así, producir efectos diversos (Antoun et al., 1998; Mehboob et al., 2012; Van Loon, 2007). Además de la fijación simbiótica de nitrógeno, otros mecanismos que contribuyen al crecimiento vegetal están relacionados con la producción de metabolitos fitoefectivos, como fitohormonas, sideróforos, vitaminas y antibióticos, así como con la producción de otros metabolitos “fitoefectivos”, como lipoquitooligosacáridos (LCO) y exopolisacáridos (Mehboob et al., 2012), los cuales se describen brevemente en esta revisión. De acuerdo con su modo de acción, los rizobios se utilizan en diferentes aplicaciones biotecnológicas como fitoestimulantes, biofertilizantes, bioplaguicidas y rizorremediadores (Figueiredo et al., 2011).

Asociaciones simbióticas fabáceas-rizobios

Para que la simbiosis rizobio-leguminosa pueda establecerse exitosamente, se debe llevar a cabo un proceso de colonización intracelular mediado por una compleja vía de señalización molecular (Oldroyd et al., 2011). Esta señalización es tan precisa que les permite a las leguminosas seleccionar únicamente a ciertos rizobios dentro de la comunidad bacteriana (Figura 5.1a). El mecanismo de interacción bacteria-planta requiere de dos procesos esenciales que se encuentran finamente coordinados: formación del nódulo e infección (Figura 5.1b). Todo el proceso inicia cuando la planta comienza a secretar en sus exudados compuestos fenólicos que atraen a los rizobios hacia la raíz (Peters & Verma, 1990). Una vez que los rizobios se encuentran cerca de los pelos radicales, la planta libera flavonoides al medio, los cuales inducen la producción, por parte de los rizobios, de Lco llamados *factores de nodulación (NodD)* (Spaink, 2000). Los factores *NodD* son reconocidos por la planta mediante receptores (*LysM*) que se encuentran en la membrana plasmática de las células de la raíz (Zipfel & Oldroyd, 2017). Mediante proteínas de adherencia, los rizobios se unen a los pelos radicales, por lo cual estos se enroscan, y así ingresan al pelo radical (Gibson et al., 2008). Durante este proceso de invasión, además de la síntesis del factor *NodD*, las bacterias requieren de la producción de exopolisacáridos y de especies reactivas de oxígeno para inducir en la planta la formación del canal de infección, y una vez alcanzan la corteza del pelo radical, los factores *NodD* promueven la división celular (Figura 5.1a). En esta división celular se dispara un mecanismo de señalización en el cual participan las fitohormonas citoquininas y auxinas, para dar lugar a la organogénesis del nódulo (Zipfel & Oldroyd, 2017).

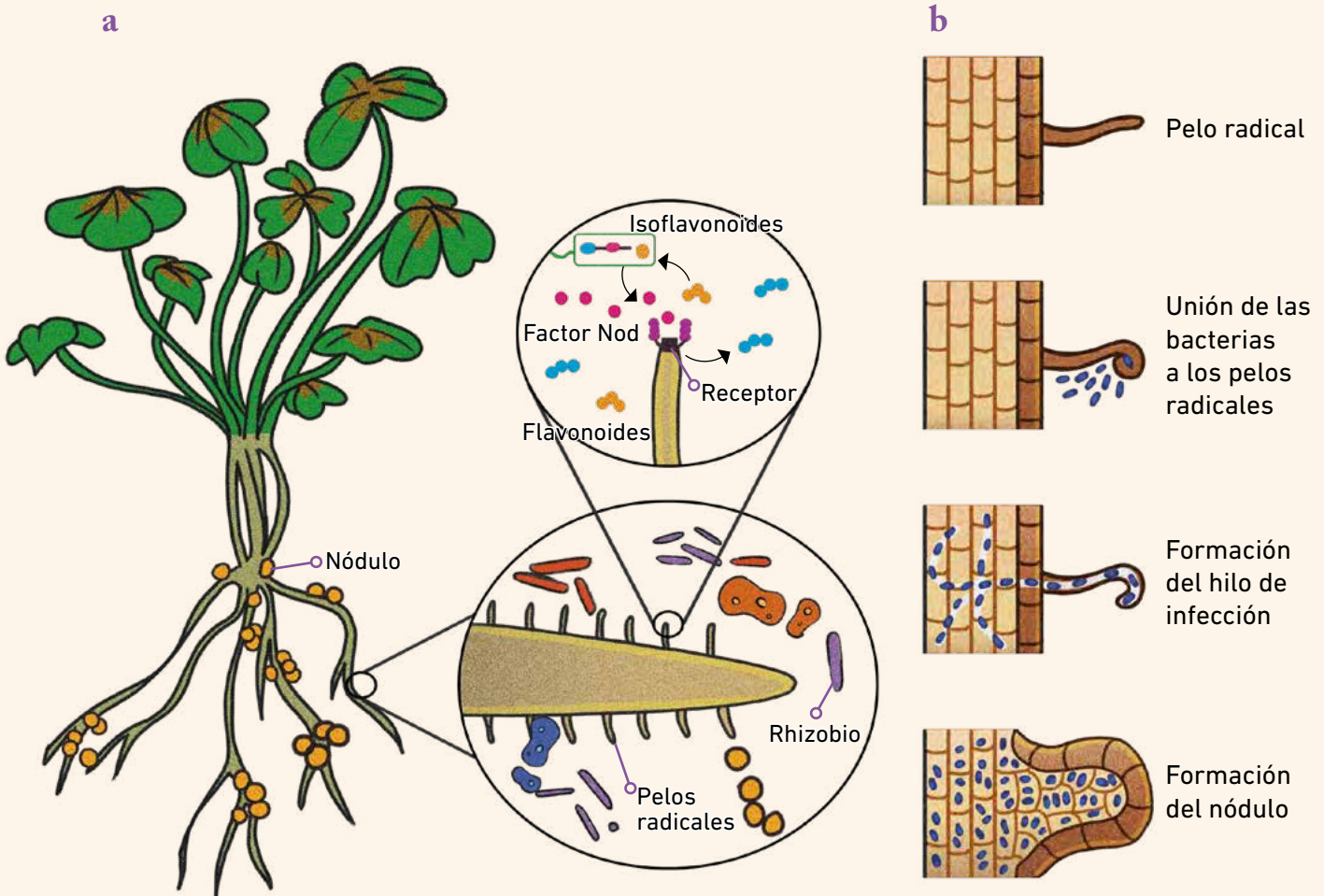
El mecanismo general de infección de rizobios se da a través de canales de infección. Una vez que estos canales comienzan a formarse, las bacterias son transportadas hacia el citoplasma de las células hospederas a través del canal de infección por un mecanismo de endocitosis (Bianco, 2014). Cada célula es envuelta por una membrana peribacteroidal (MPB), dando lugar a su forma simbiótica, llamada *bacteroide*, el cual, bajo condiciones microaerófilas dentro del nódulo, es capaz de realizar enzimáticamente la



transformación de N_2 en formas biológicamente activas de nitrógeno (Figura 5.1b). Esta transformación es llevada a cabo por la enzima nitrogenasa, que está conformada por dos unidades proteicas: una proteína homodimérica que contiene Fe y es codificada por *nifH*, y una proteína tetramérica que contiene Fe y Mo (y en algunos casos V), codificadas por los genes *nifD* y *nifK*, respectivamente (Raymond et al., 2004). Este complejo enzimático es la unidad central de fijación de nitrógeno en todas las bacterias diazotróficas conocidas a la fecha. En esta relación simbiótica, la planta provee a los bacteroides los nutrientes y la energía necesarios para llevar a cabo la fijación de nitrógeno. Compuestos como succinato, malato y fumarato son transportados a través de la membrana peribacteroidal hacia el interior de los bacteroides.

Estos compuestos son utilizados para la producción de ATP y posteriormente son convertidos en piruvato, que actúa como fuente de electrones para la reducción de N_2 a amonio, el cual puede ser directamente asimilado por las plantas (Poole et al., 2018).

- **Figura 5.1.** Procesos que dan lugar a la formación de nódulos por parte de rizobios en leguminosas. *a.* Sistema de señalización del proceso de colonización de rizobios en leguminosas; *b.* Proceso general de infección y formación del nódulo.
Fuente: Elaboración propia con base en Clúa et al. (2018)





Asociaciones no simbióticas

En las últimas dos décadas se han estudiado progresivamente las interacciones asociativas no específicas entre diversas plantas y rizobios. En plantas distintas a las leguminosas, los rizobios pueden colonizar exitosamente diferentes órganos y tejidos, como las partes aéreas de la filósfera (hojas, tallos, partes florales y frutos), los nichos rizosféricos (zona de influencia de la raíz o el rizoplaneo) y la endosfera, es decir, el interior de diversos tejidos vegetales (Chi et al., 2005; Schloter et al., 1997). De hecho, en especies no leguminosas, los rizobios colonizan de manera endofítica, es decir, en el interior de los tejidos, sin ocasionarles enfermedad a las plantas (Sessitsch et al., 2002), o como rizobacterias. Entre la amplia diversidad de especies vegetales que son colonizadas por estos microorganismos, se encuentran el arroz, la avena, el trigo, el maíz, el algodón, la cebada, la canola, la lechuga, la mostaza, el sorgo, el pasto Sudán, el mijo perla, el girasol, la oca, la papa, el tabaco, el nabo y el espárrago (Antoun et al., 1998; Biswas et al., 2009; Glick, 2012, 2014; Mehboob et al., 2012). Aunque los rizobios pueden colonizar de manera abundante especies vegetales no leguminosas, solo en casos excepcionales se forman estructuras semejantes a nódulos o tejidos hipertróficos, cuya tasa de fijación de nitrógeno es limitada (Senthilkumar et al., 2009; Trinick & Hadobas, 1995). Con respecto al efecto observado en las plantas, se distinguen tres tipos de interacciones entre rizobios y no leguminosas: 1) las positivas, que promueven el crecimiento y rendimiento de las plantas; 2) las débiles o negativas, que tienen un

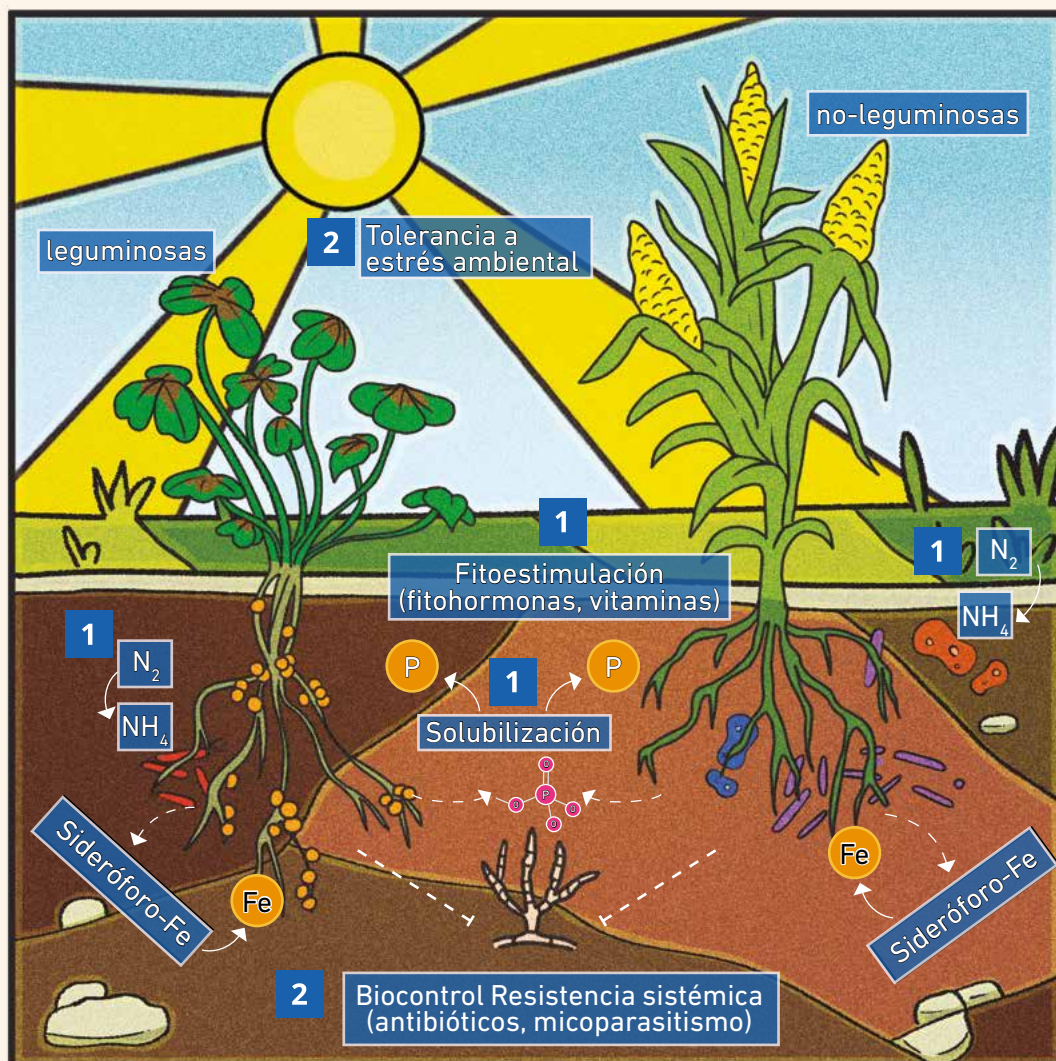
mínimo o nulo efecto en el crecimiento de las plantas, y 3) las neutras o sin efecto, que no producen ni incremento ni disminución en el crecimiento (Perrine-Walker et al., 2007). En las interacciones positivas se ha observado un incremento en la germinación, la tasa de elongación radicular, el vigor de las plántulas, el crecimiento del tallo, el área foliar, la absorción de nutrientes, la actividad fotosintética, el contenido de clorofila, la conductancia estomática, la tolerancia al estrés abiótico, el rendimiento y el contenido de proteína (Cassán et al., 2009; Chi et al., 2005; Hussain et al., 2016; McInroy & Kloepper, 1995; Shakhawat Hossain & Mårtensson, 2008). En ciertas condiciones de tiempo y lugar, algunas interacciones rizobios-no leguminosas producen efectos insignificantes en el crecimiento y rendimiento de las plantas inoculadas, y en otras, incluso se producen efectos negativos. La evidencia indica que ciertos efectos negativos están relacionados con la sobreproducción de compuestos de tipo fitohormonas (por ejemplo, ácido indolacético) y HCN (cianuro de hidrógeno) por parte de los inoculantes rizobiales, así como con la acumulación de ácido nítrico dentro de las raíces (Antoun et al., 1998; Mehboob et al., 2009; Perrine-Walker et al., 2007). Actualmente, se sabe que el tipo y la intensidad del efecto que tienen los rizobios en plantas distintas a las leguminosas dependen del tipo de cultivo, la bacteria inoculada, las condiciones de cultivo, la microbiota nativa y el suelo, entre otros factores ecológicos (Antoun et al., 1998; Hussain et al., 2016; Mehboob et al., 2011).

Mecanismos de promoción del crecimiento de los rizobios

Los rizobios, simbióticos o no simbióticos, al igual que otras rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, pueden mejorar el crecimiento o desempeño fisiológico de las plantas a través de modos de acción directos o indirectos. Los mecanismos de acción directos promueven el mejoramiento del mecanismo de nutrición (fijación de nitrógeno, solubilización

de fosfatos, quelación de hierro y producción de fitohormonas), mientras que los indirectos favorecen el desempeño de las plantas en cuanto a la tolerancia a factores bióticos o abióticos (supresión de organismos patógenos e inducción de resistencia tanto a patógenos como a estreses ambientales) (Figura 5.2) (Glick, 2012; Gopalakrishnan et al., 2015; Van Loon, 2007).

- **Figura 5.2.** Mecanismos de promoción del crecimiento vegetal por rizobios simbióticos (con leguminosas) y no simbióticos (con no leguminosas). 1. Mecanismos directos; 2. Mecanismos indirectos.
Fuente: Elaboración propia



Mecanismos directos

Fijación de nitrógeno

El nitrógeno es un elemento esencial para el crecimiento de las plantas, debido a que es indispensable en la síntesis de ácidos nucleicos, enzimas, proteínas y clorofila (Lazar, 2003). Aunque el 78% del aire atmosférico es N, no se encuentra en forma disponible para las plantas, de manera que estas lo obtienen a través de síntesis industrial, procesos biológicos y, en menor grado, deposiciones atmosféricas de compuestos nitrogenados oxidados o reducidos (Lassaletta et al., 2014). Se estima que la fijación biológica contribuye con un 54%-65% del N utilizado en la agricultura (Peoples et al., 2009). El proceso de fijación biológica en leguminosas requiere un alto gasto de energía, por parte de las plantas, para el mantenimiento de la relación simbiótica, y por parte de las bacterias, para ejecutar la serie de reacciones en cadena que reducen el nitrógeno N₂ a NH₃ (Gopalakrishnan et al., 2015; Laranjo et al., 2014). Tanto la nodulación como la efectividad de la fijación simbiótica pueden ser limitadas por diversos factores que en general limitan la supervivencia, competencia e infectividad de los rizobios, entre los cuales están la deficiencia hídrica en el suelo, el estrés osmótico, temperaturas extremas, la salinidad, la acidez o alcalinidad de los suelos, la deficiencia de nutrientes y la sobredosis de fertilizantes o plaguicidas (Gopalakrishnan et al., 2015; Zahran, 2001).

Como se ha explicado anteriormente, los esfuerzos por extrapolar de manera eficiente la fijación de nitrógeno por rizobios a plantas no leguminosas, especialmente cereales, han tenido una reducida aplicación práctica debido a efectos insignificantes o contrastantes en este intento (Hussain et al., 2016; Rosenblueth et al., 2018; Sessitsch et al., 2002). En muchos casos, no hay evidencia contundente de la fijación de nitrógeno como el principal mecanismo de promoción del crecimiento; sin embargo, diferentes estudios sobre inoculación con rizobios en cereales, principalmente maíz y arroz, reportan, además de una colonización efectiva, efectos benéficos que incluyen incremento en la absorción de nutrientes, mayor eficiencia fotosintética, así como mayor rendimiento y contenido de nitrógeno en grano (Chi et al., 2005;

Hussain et al., 2016). En la búsqueda de diazótrofos naturalmente asociados a cereales, se ha reportado la ocurrencia común de rizobios afiliados a los grupos Alfa- y Beta-Proteobacteria, como *Bradyrhizobium* y *Rhizobium*, a partir de secuencias de *nifH* en ADN en la rizósfera y en diferentes tejidos de maíz (Roesch et al., 2008), en macerados de arroz (Engelhard et al., 2000) y en rizósfera de sorgo (Rodrigues Coelho et al., 2008). Análisis moleculares funcionales mediante aproximaciones de transcriptómica y proteómica han mostrado que ciertos grupos de diazótrofos de arroz, específicamente *Bradyrhizobium*, son activos a fijación de nitrógeno en asociación con la planta (Rosenblueth et al., 2018). De manera similar, en un estudio con plantas de caña de azúcar cultivadas en maceta, Thaweenut et al. (2011) sugieren que la proliferación de diazótrofes, entre ellas *Bradyrhizobium* sp. y *Azorhizobium caulinodans*, está relacionada con la expresión abundante de genes *nifH* y la tasa de fijación de nitrógeno analizada por dilución isotópica. Además de las bacterias asociadas que proveen naturalmente de nitrógeno a las plantas, las estrategias actuales involucran la modificación genética, especialmente de gramíneas, a través aproximaciones dirigidas a 1) transferir los genes de la nitrogenasa, 2) desarrollar la simbiosis por nodulación y, alternativamente, 3) desarrollar cereales que promuevan el crecimiento de diazótrofes (véase Rosenblueth et al., 2018).

Solubilización de fósforo

Después del nitrógeno, el fósforo es el segundo nutriente más importante para las plantas. En el suelo, el fósforo se encuentra en forma orgánica (ligada) o inorgánica (ligada, fijada o disponible), en concentraciones que dependen principalmente de la composición del material parental; sin embargo, su disponibilidad es influenciada por las características fisicoquímicas del suelo (especialmente el pH y la materia orgánica), de la exudación de las raíces y de la microbiota disponible (Gopalakrishnan et al., 2015). Los rizobios pueden liberar el fósforo ligado a formas orgánicas a través de la acción de fosfomonoesterasas y fitasas (mineralización), o por solubilización de formas inorgánicas mediante la liberación de ácidos como 2-ceto-glucónico, glutámico, sulfúrico, nítrico y carbónico (Afzal & Bano, 2008; Alikhani et al., 2007; Makoudi et al., 2018), y de esta manera incrementan

la absorción de P y promueven el crecimiento de las plantas. Diversos rizobios exhiben la capacidad de mineralizar o solubilizar el P en simbiosis con leguminosas o asociadas endofíticamente con otras especies; entre estos rizobios se encuentran *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium meliloti*, *Mesorhizobium mediterraneum*, *Bradyrhizobium* sp. y *Bradyrhizobium japonicum* (Afzal & Bano, 2008; Antoun et al., 1998; Makoudi et al., 2018; Tao et al., 2008; Vessey, 2003; Wang et al., 2006).

Formación de sideróforos: disponibilidad de hierro

El hierro es un micronutriente necesario para el óptimo desarrollo de las plantas. Específicamente en la relación simbiótica rizobios-leguminosas, el hierro es necesario para que la planta pueda sintetizar proteínas como la leghemoglobina (indispensable para mantener bajas las concentraciones de oxígeno dentro del nódulo), y en los bacteroides es necesario para la síntesis de nitrogenasas, citocromos, ferredoxinas e hidrogenasas (Brear et al., 2013; Guerinot, 1991). Aunque el hierro es un

micronutriente abundante en los suelos, normalmente se encuentra en estado insoluble, lo cual impide que pueda ser aprovechado por la mayoría de los organismos (Ahemad & Kibret, 2014). En este sentido, algunos microorganismos han desarrollado estrategias para la producción de compuestos de bajo peso molecular llamados *sideróforos*, que son capaces de unirse al hierro insoluble (quelante) y, así, facilitar su transporte al interior de la célula. Las plantas utilizan el hierro proveniente de los sideróforos de distintas maneras, ya sea incorporándolo directamente desde el sideróforo, utilizando quelantes para liberar el hierro soluble o bien mediante una reacción de intercambio de ligandos (Schmidt, 1999). Se ha observado que los sideróforos pueden actuar como fuente importante de hierro en plantas con deficiencias de este nutriente (Radzki et al., 2013), por lo que los rizobios pueden asistir a las plantas en su adquisición. Algunas especies reconocidas por la producción de sideróforos son *R. meliloti*, *Rhizobium tropici*, *R. leguminosarum* bv. *viciae*, *R. leguminosarum* bv. *trifolii*, *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, *Sinorhizobium meliloti* y *Bradyrhizobium* sp. (Antoun et al., 1998; Chabot et al., 1996; Gopalakrishnan et al., 2015).



Producción de fitohormonas

Las fitohormonas son mensajeros químicos producidos en una célula o tejido que modulan procesos celulares en otra parte de la planta, por lo que requieren concentraciones micromolares más bajas (Lazar, 2003). Los rizobios, como la mayoría de las bacterias rizosféricas, pueden inducir el crecimiento vegetal a través de la producción de fitohormonas como auxinas, citoquininas, giberelinas y ácido abscísico, y la producción de la enzima ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) desaminasa (ACC- desaminasa) (Mehboob et al., 2012). Los principales efectos de las hormonas producidas por rizobios inoculados en semillas o raíces de plantas no leguminosas son mejoras en el desempeño fisiológico de las plantas, como una mayor eficiencia fotosintética, un mejor uso del agua y un aumento en la absorción de nutrientes, los cuales resultan en un incremento de la productividad de los cultivos (Chi et al., 2005; Hussain et al., 2016; Mehboob et al., 2012), mientras que, en leguminosas, están mayormente relacionados con la nodulación.

Las auxinas fueron de las primeras hormonas descritas y, en conjunto con las citoquininas, difieren de otras fitohormonas en que son vitales para las plantas, ya que se utilizan de forma continua, mientras que otras fitohormonas tienen mecanismos de encendido y apagado. Las auxinas regulan procesos del desarrollo de las plantas como la elongación de tallos, la dominancia apical, la organogénesis, el desarrollo de frutos y meristemas y el crecimiento orientado, o tropismo. El ácido indolacético (AIA) es la auxina más abundante y fisiológicamente importante, ya que regula procesos de división celular y formación y diferenciación del haz vascular (Benková et al., 2003). Numerosos estudios reportan que la aplicación exógena de AIA estimula la formación de primordios de nódulos en ciertas leguminosas; sin embargo, se ha encontrado que los requerimientos de auxinas para la organogénesis de los nódulos varían entre tipos de nódulos, así como que la sensibilidad ocurre en ciertos intervalos de concentraciones (Ferguson & Mathesius, 2014; Turner et al., 2013). En la simbiosis leguminosa-rizobios, los controles locales (en el nódulo) y sistémicos (en el sistema radicular) de nodulación están regulados por el balance entre las diferentes fitohormonas. Esto se lleva a cabo a través de dos mecanismos a través de los cuales la señalización de las fitohormonas se altera durante la nodulación: 1) mediante la síntesis directa por rizobios y 2) mediante la manipulación indirecta del balance de fitohormonas en la planta desencadenado por los factores *NodD*, los cuales son un prerrequisito para la formación de nódulos (Ferguson & Mathesius, 2014). Entre los rizobios más sobresalientes por la producción de AIA se encuentran *A. caulinodans*, *B. japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii*, *Mesorhizobium loti*, *Rhizobium japonicum*, *R. leguminosarum*, *Rhizobium lupini*, *R. meliloti*, *Rhizobium phaseoli*, *Rhizobium trifolii* y *Sinorhizobium* spp. (Gopalakrishnan et al., 2015).

Por su parte, las citoquininas estimulan la división y el alargamiento celulares y, en algunos casos, el desarrollo de raíces y la formación de pelos radiculares (Mehboob et al., 2012).

A pesar de que se tiene reportada una gran diversidad de citoquininas de origen microbiano, hasta ahora solo se ha reconocido a los géneros Rhizobium y Methylobacterium como productores de estos compuestos (Senthilkumar et al., 2009).

Las giberelinas, representadas por el ácido giberélico, son responsables de la elongación de tallos y la expansión de hojas, pero no tienen efecto en las raíces. La aplicación de giberelinas estimula la germinación de semillas, induce la formación de frutos sin semillas e incrementa el número de botones, la expresión sexual en flores y la nodulación en leguminosas (Biswas et al., 2009). Se sabe de la producción de giberelinas por *Rhizobium* y *S. meliloti*, pero pocos estudios han mostrado evidencia del efecto específico de giberelinas producidas por rizobios inoculados en no leguminosas. En un estudio reciente, la inoculación de *Rhizobium* sp. 10268 en caña de azúcar produjo efectos positivos en la producción de brotes y el crecimiento de las plantas, probablemente a través de la producción de giberelinas (Ferreira et al., 2020).

Por su parte, el ácido abscísico (ABA) es sintetizado primordialmente en las hojas, y su producción se acentúa a bajas temperaturas y en estrés hídrico. El ABA regula la apertura y el cierre estomático y funciona como regulador del crecimiento vegetal al inhibir el crecimiento de tallos e inducir dormancia de semillas (Gopalakrishnan et al., 2015). Por algún tiempo se consideró que su efecto era inhibitorio de la formación de nódulos; sin embargo, se ha visto que su función es compleja, al ser requerido solo en algunos tejidos o en etapas fenológicas específicas, mientras que puede ser inhibitorio cuando sus concentraciones son elevadas, posiblemente ante condiciones de estrés (Ferguson & Mathesius, 2014; Turner et al., 2013).

La ACC-desaminasa, que se considera dentro de la familia de las enzimas triptófano sintasas, requiere de la vitamina B6 como cofactor para llevar a cabo

su actividad. El principal efecto del ACC es reducir los niveles de etileno producido por estrés ambiental (Glick, 2014). Las bacterias que producen AIA son capaces de producir también altos niveles de ACC, como *R. leguminosarum* bv. *viciae*, *Rhizobium hedysari*, *R. japonicum*, *Rhizobium gallicum*, *B. japonicum*, *B. elkanii*, *M. loti* y *S. meliloti*. Algunos de estos rizobios se han inoculado en plantas sometidas a diferentes estreses (metales pesados, patógenos, sequía, alta radiación o salinidad), y se ha tenido como resultado una disminución en los niveles de etileno en la raíz, además de un aumento en la elongación de raíces, una mejor absorción de nutrientes, un incremento en la nodulación y un aumento en la longitud de los tallos (Glick, 2014; Gopalakrishnan et al., 2015).

Producción de otros compuestos fitoestimulantes

Otros compuestos con efecto estimulante del crecimiento vegetal en plantas no leguminosas están representados por moléculas señal producidas por rizobios como los LCO, riboflavina y lumicromo, el compuesto que deriva de la degradación de la riboflavina (Mehboob et al., 2012). Algunos géneros de rizobios con capacidad de producir estos compuestos son *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium* y *Sinorhizobium* (Dakora et al., 2015; Yang et al., 2002). En general, estos compuestos, aplicados en concentraciones micromoleculares, como es el caso de los LCO, pueden incrementar la producción de fotosintatos y el rendimiento en granos. De manera similar, el lumicromo puede mitigar el estrés hídrico, mientras que la riboflavina tiene un efecto promotor del crecimiento vegetal vía un aumento de la respiración radicular (Dakora et al., 2015; Yang et al., 2002).



Mecanismos indirectos

Biocontrol e inducción de resistencia sistémica

Además del beneficio de la fijación de nitrógeno y otros mecanismos directos de promoción vegetal, los rizobios tienen propiedades para biocontrol e inducción de resistencia sistémica contra fitopatógenos y plagas de insectos. Estos mecanismos se basan en la producción de principios activos como los siguientes:



Antibióticos

Como el 2,4-diacetilfloroglucinol (DAPG), kanosamina, fenazina-1-ácido-carboxílico, pioluteorina, neomicina A, pirrolnitrina, piocianina y viscosinamida, entre los cuales el más sobresaliente es el DAPG por su amplio espectro antibacteriano y su actividad antifúngica y antihelmíntica.



Metabolitos de bajo peso molecular

Como el cianuro de hidrógeno (HCN), que inhibe metaloenzimas, en general, pero particularmente de cobre contenido en la citocromo C oxidasa.



Sideróforos

Para una mayor absorción de hierro, lo que priva, por competencia, a los hongos fitopatógenos.



Enzimas líticas

Como la quitinasa, β -1,3-glucanasa, proteasa y lipasa, que lisan paredes y membranas celulares de patógenos fúngicos y bacterianos.

Además de la producción de metabolitos, los rizobios pueden inhibir el crecimiento de fitopatógenos edáficos a través de 1) la exclusión competitiva por nutrientes o del sitio de colonización en la planta y 2) el micoparasitismo de las hifas o la inhibición de estructuras reproductivas como esclerotios o zoosporas (Das et al., 2017; Gopalakrishnan et al., 2015).

Por otro lado, en la inducción de resistencia sistémica se generan señales que se distribuyen sistémicamente y fortalecen los mecanismos de defensa de las plantas a través de la acción de metabolitos como los mencionados anteriormente o mediante la expresión de genes y la producción de enzimas líticas y antioxidantes,

como la peroxidasa, el polifenol oxidasa, el superóxido dismutasa, las catalasas, las lipoxigenasas y el ascorbato peroxidasa, además de fitoalexinas y flavonoides o incluso lipopolisacáridos que han mostrado efecto en la protección contra nematodos (Das et al., 2017; Gopalakrishnan et al., 2015). Algunas especies, como *B. japonicum*, *R. meliloti* y *R. leguminosarum*, son conocidas por su eficiencia en el control de fitopatógenos fúngicos del suelo como *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Macrophomina* (Das et al., 2017). La capacidad de biocontrol e inducción de resistencia sistémica de los rizobios se ha probado mediante el uso de extractos de nódulos o la inoculación en plantas, tanto leguminosas como de otras familias botánicas.

Mitigación de estreses abióticos: salinidad, acidez del suelo y metales pesados

De manera natural, los rizobios presentan algunos mecanismos clave para la tolerancia o resistencia a diferentes condiciones estresantes, como estrés ambiental, déficit hídrico, temperaturas extremas, salinidad, pH extremos, metales pesados y plaguicidas. La asociación artificial o la simbiosis de plantas con rizobios pueden mitigar el daño de estos factores estresantes, que limitan la productividad de los cultivos (Yang et al., 2002).

Es bien sabido que las altas temperaturas ambientales producen efectos negativos en las plantas, principalmente a causa de las pérdidas de agua por aumento de la transpiración. Asimismo, se limita la actividad enzimática para llevar a cabo procesos vitales para las plantas, como la fotosíntesis, mientras que, en leguminosas, se limitan considerablemente los procesos asociados a la nodulación. Aunque los rizobios son, en general, susceptibles a altas temperaturas, muchos de ellos exhiben adaptación natural al calor a través de procesos regulatorios complejos que involucran el uso de proteínas y lipopolisacáridos (LPS) (Gopalakrishnan et al., 2015; Zahran, 2001). Al someter a cepas de rizobios tolerantes a temperaturas por encima de los 30 °C, se ha observado un incremento en la producción de sustancias poliméricas extracelulares o exopolisacáridos (EPS), así como una mayor expresión de proteínas de *shock* térmico (Nandal et al., 2005). Aumentos considerables en la producción de EPS y la formación de *biofilms* (biopelículas) constituyen también mecanismos de tolerancia a la desecación y, por lo tanto, pueden asistir a las plantas para sobrellevar el déficit hídrico. Recientemente se ha propuesto que la producción de poliaminas por parte de rizobios puede mitigar el estrés hídrico a través de un mecanismo de comunicación cruzada de poliaminas con fitohormonas (Menéndez et al., 2019).

La salinidad en el suelo reduce la absorción de nutrientes por parte de las plantas debido a la

unión del sodio con cationes esenciales, como el P, o bien por la acumulación de iones de Na⁺, Cl⁻ y SO₄²⁻ en el interior de las células vegetales, lo cual inactiva enzimas que inhiben la síntesis de proteínas y la fotosíntesis (Zhu, 2001). La salinidad afecta el proceso de infección, colonización y formación de nódulos, impactando su eficiencia en el aprovisionamiento de nitrógeno a las plantas. Aunque los rizobios son sensibles a altas concentraciones de sales, hay especies tolerantes de los géneros *Rhizobium* y *Sinorhizobium* (Gopalakrishnan et al., 2015; Zahran, 2001). En algunas de estas especies se han caracterizado metabolitos que, al igual que en las plantas, les permiten compensar los potenciales altamente negativos que produce la salinidad en el interior de las células, entre los cuales están los denominados solutos compatibles (trehalosa, N-acetilglutamilglutamina amida y glutamato) y los osmoprotectores (betaínas, glucanos, trehalosa, sucrosa, ectoína, 3-dimetilsulfoniopropionato, ácido piperídico y cationes como Ca⁺ y K⁺), cuya producción está modulada por familias de genes bien identificados (Sugawara et al., 2010).

Debido a su naturaleza no degradable, los metales pesados representan un grupo de contaminantes cuya abundancia en suelos causa daños tanto a plantas como a la microbiota. Los efectos de los metales pesados en el crecimiento, la abundancia, la morfología y la fisiología de los rizobios están bien documentados. En términos generales, se ha observado que la acumulación de metales como As, Mo, Hg, Cd y Cu reduce considerablemente la simbiosis leguminosa-rizobios debido a que su efecto tóxico disminuye las poblaciones de bacterias de vida libre, su viabilidad y consecuencia, las posibilidades de colonización y la formación de nódulos (Paudyal et al., 2007). A pesar de ello, cepas con buena eficiencia simbiótica, como *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*, muestran una tolerancia natural a algunos metales a través de la producción de EPS y biopolímeros, sideróforos, metalotioninas o fitoquelatinas que pueden acomplejar metales pesados, o bien a través de mecanismos genéticos que involucran una mayor diversidad de tipos de plásmidos (Fagorzi et al., 2018; Nonnoi et al., 2012).

Conclusiones

Los rizobios son un grupo ampliamente conocido por sus relaciones simbióticas con leguminosas; sin embargo, también establecen relaciones con plantas de otras familias botánicas, ocupando diferentes nichos, particularmente los endofíticos.

Los rizobios son un grupo taxonómicamente diverso que se enriquece con la exploración de nuevas especies vegetales de la extensa y ampliamente distribuida familia de las leguminosas, además de otras plantas que albergan géneros menos diversos de rizobios. En las relaciones simbióticas con rizobios, el mayor beneficio que tienen las plantas es la obtención de compuestos nitrogenados producto de la fijación del nitrógeno molecular atmosférico, mientras que, en relaciones asociativas con plantas no leguminosas, el beneficio se obtiene a través de otros mecanismos relacionados con la adquisición de nutrientes y la inducción del crecimiento por fitohormonas producidas por los rizobios, además de otros mecanismos indirectos, como la producción de metabolitos fitoefectivos (antibióticos, enzimas, sideróforos, moléculas señal, entre otros) para biocontrol, la inducción de resistencia sistémica y la mitigación del estrés ambiental, los cuales mejoran el desempeño fisiológico de las plantas y el rendimiento de los cultivos. Actualmente, las aproximaciones para extrapolar el beneficio de la fijación de nitrógeno a gramíneas de interés alimenticio se basan en manipulaciones genéticas, tanto de las plantas como de los rizobios. La literatura indica que los rizobios confieren a las leguminosas una vasta lista de efectos positivos, muchos de ellos relacionados con la nodulación y la eficiencia en la fijación de nitrógeno. Aunado a ello, se ha descrito su participación en la disponibilidad y absorción de fósforo, además de otros beneficios indirectos que cubren toda la gama de mecanismos aquí presentados. La evidencia colectada sobre los efectos de promoción del crecimiento en leguminosas proviene principalmente de estudios sobre inoculación con rizobios, mientras que en otras plantas los estudios abarcan experimentos con extractos de nódulos, extractos de cultivos e inoculación de raíces.

A pesar de la versatilidad que exhiben los rizobios para establecer relaciones simbióticas obligadas, cruzadas o asociativas, hay diversos factores que determinan una nodulación eficiente y, por lo tanto, pueden limitar los efectos deseados. Entre estos factores se distinguen el genotipo de la planta y el rizobio, los factores fisicoquímicos del suelo (pH, contenido de humedad, salinidad, etc.), los factores ambientales, la exudación radicular, así como la composición de la microbiota, ya sea esta residente del suelo o naturalmente asociada a las plantas. Debido a que los rizobios tienen capacidades sobresalientes para producir de manera natural un amplio espectro de metabolitos para sobrellevar diferentes tipos de estrés, se reconoce que estos microorganismos pueden utilizarse de manera eficiente no solo como biofertilizantes sino también como agentes para biocontrol e inducción de resistencia sistémica contra fitopatógenos, así como para favorecer el desempeño de las plantas en condiciones ambientales adversas o en suelos degradados o contaminados.

Referencias

- Afzal, A., & Bano, A. (2008). *Rhizobium* and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 10(1), 85-88. https://www.researchgate.net/publication/228684375_Rhizobium_and_Phosphate_Solubilizing_Bacteria_Improve_the_Yield_and_Phosphorus_Uptake_in_Wheat_Triticum_aestivum
- Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26(1), 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>
- Alikhani, H. A., Saleh-Rastin, N., & Antoun, H. (2007). Phosphate solubilization activity of rhizobia native to Iranian soils. En E. Velázquez, & C. Rodríguez-Barrueco (eds.), *First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Developments in Plant and Soil Sciences* (vol. 102, pp. 35-41). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5765-6_4
- Antoun, H., Beauchamp, C. J., Goussard, N., Chabot, R., & Lalande, R. (1998). Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: Effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). En G. Hardarson, & W. J. Broughton (eds.), *Molecular microbial ecology of the soil: Results from an FAO/IAEA co-ordinated research programme, 1992-1996* (pp. 57-67). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-017-2321-3_5
- Balachandar, D., Raja, P., Kumar, K., & Sundaram, S. P. (2007). Non-rhizobial nodulation in legumes. *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 2(2), 49-57. <https://doi.org/10.5897/BMBR2007.0004>
- Benhizia, Y., Benhizia, H., Benguedouar, A., Muresu, R., Giacomini, A., & Squartini, A. (2004). Gamma proteobacteria can nodulate legumes of the genus *Hedysarum*. *Systematic and Applied Microbiology*, 27(4), 462-468. <https://doi.org/10.1078/0723202041438527>
- Benková, E., Michniewicz, M., Sauer, M., Teichmann, T., Seifertová, D., Jürgens, G., & Friml, J. (2003). Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. *Cell*, 115(5), 591-602. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00924-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00924-3)
- Bianco, L. (2014). Rhizobial infection in *Adesmia bicolor* (Fabaceae) roots. *Archives of Microbiology*, 196(9), 675-679. <https://doi.org/10.1007/s00203-014-1004-0>
- Biswas, B., Chan, P. K., & Gresshoff, P. M. (2009). A novel ABA insensitive mutant of *Lotus japonicus* with a wilted phenotype displays unaltered nodulation regulation. *Molecular Plant*, 2(3), 487-499. <https://doi.org/10.1093/mp/ssp009>
- Bontemps, C., Elliott, G. N., Simon, M. F., Dos Reis Júnior, F. B., Gross, E., Lawton, R. C., Neto, N. E., De Fátima Loureiro, M., De Faria, S. M., Sprent, J. I., James, E. K., & Young, J. P. W. (2010). *Burkholderia* species are ancient symbionts of legumes. *Molecular Ecology*, 19(1), 44-52. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04458.x>
- Brear, E. M., Day, D. A., & Smith, P. M. C. (2013). Iron: An essential micronutrient for the legume-rhizobium symbiosis. *Frontiers in Plant Science*, 4, artículo 359. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00359>
- Carvalho, F. M., Souza, R. C., Barcellos, F. G., Hungria, M., & Vasconcelos, A. T. R. (2010). Genomic and evolutionary comparisons of diazotrophic and pathogenic bacteria of the order Rhizobiales. *BMC Microbiology*, 10(1), artículo 37. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-37>
- Cassán, F., Perrig, D., Sgroy, V., Masciarelli, O., Penna, C., & Luna, V. (2009). *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European Journal of Soil Biology*, 45(1), 28-35. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.08.005>
- Chabot, R., Antoun, H., & Cescas, M. P. (1996). Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar. *phaseoli*. *Plant and Soil*, 184(2), 311-321. <https://doi.org/10.1007/BF00010460>
- Chi, F., Shen, S.-H., Cheng, H.-P., Jing, Y.-X., Yanni, Y. G., & Dazzo, F. B. (2005). Ascending migration of endophytic rhizobia, from roots to leaves, inside rice plants and assessment of benefits to rice growth physiology. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(11), 7.271-7.278. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.7271-7278.2005>
- Clúa, J., Roda, C., Zanetti, M. E., & Blanco, F. A. (2018). Compatibility between legumes and Rhizobia for the establishment of a successful nitrogen-fixing symbiosis. *Genes*, 9(3), artículo 125. <https://doi.org/10.3390/genes9030125>
- Dakora, F. D., Matiru, V. N., & Kanu, A. S. (2015). Rhizosphere ecology of lumichrome and riboflavin, two bacterial signal molecules eliciting developmental changes in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6, artículo 700. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00700>
- Das, K., Prasanna, R., & Saxena, A. K. (2017). Rhizobia: A potential biocontrol agent for soilborne fungal pathogens. *Folia Microbiologica*, 62(5), 425-435. <https://doi.org/10.1007/s12223-017-0513-z>
- Engelhard, M., Hurek, T., & Reinhold-Hurek, B. (2000). Preferential occurrence of diazotrophic endophytes, *Azoarcus* spp., in wild rice species and land races of *Oryza sativa* in comparison with modern races. *Environmental Microbiology*, 2(2), 131-141. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2000.00078.x>
- Fagorzi, C., Checcucci, A., diCenzo, G. C., Debiec-Andrzejewska, K., Dziewit, L., Pini, F., & Mengoni, A. (2018). Harnessing rhizobia to improve heavy-metal phytoremediation by legumes. *Genes*, 9(11), artículo 542. <https://doi.org/10.3390/genes9110542>
- Ferguson, B. J., & Mathesius, U. (2014). Phytohormone regulation of legume-rhizobia interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 40(7), 770-790. <https://doi.org/10.1007/s10886-014-0472-7>

- Ferreira, N. S., Matos, G. F., Meneses, C. H. S. G., Reis, V. M., Rouws, J. R. C., Schwab, S., Baldani, J. I., & Rouws, L. F. M. (2020). Interaction of phytohormone-producing rhizobia with sugarcane mini-setts and their effect on plant development. *Plant and Soil*, 451(1), 221-238. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04388-0>
- Figueiredo, M. do V. B., Seldin, L., de Araujo, F. F., & Mariano, R. de L. R. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: Fundamentals and applications. En D. K. Maheshwari (ed.), *Plant growth and health promoting bacteria* (pp. 21-43). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_2
- Gibson, K. E., Kobayashi, H., & Walker, G. C. (2008). Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. *Annual Review of Genetics*, 42, 413-441. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.42.110807.091427>
- Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, artículo 963401. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Glick, B. R. (2014). Bacteria with acc deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169(1), 30-39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>
- Gopalakrishnan, S., Sathya, A., Vijayabharathi, R., Varshney, R. K., Gowda, C. L. L., & Krishnamurthy, L. (2015). Plant growth promoting rhizobia: Challenges and opportunities. *3 Biotech*, 5(4), 355-377. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0241-x>
- Guerinot, M. L. (1991). Iron uptake and metabolism in the rhizobia/legume symbioses. En Y. Chen, & Y. Hadar (eds.), *Iron nutrition and interactions in plants: "Proceedings of the Fifth International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants", 11-17 June 1989, Jerusalem, Israel, 1989* (pp. 239-249). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-011-3294-7_29
- Hussain, M. B., Zahir, Z. A., Asghar, H. N., Mubarak, R., & Naveed, M. (2016). Efficacy of *Rhizobia* for improving photosynthesis, productivity, and mineral nutrition of maize. *Clean: Soil, Air, Water*, 44(11), 1.564-1.571. <https://doi.org/10.1002/clen.201500912>
- Laguerre, G., Nour, S. M., Macheret, V., Sanjuan, J., Drouin, P., & Amarger, N. (2001). Classification of rhizobia based on *nodC* and *nifH* gene analysis reveals a close phylogenetic relationship among *Phaseolus vulgaris* symbionts. *Microbiology*, 147(4), 981-993. <https://doi.org/10.1099/00221287-147-4-981>
- Laranjo, M., Alexandre, A., & Oliveira, S. (2014). Legume growth-promoting rhizobia: An overview on the *Mesorhizobium* genus. *Microbiological Research*, 169(1), 2-17. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.012>
- Lassaletta, L., Billen, G., Grizzetti, B., Anglade, J., & Garnier, J. (2014). 50 year trends in nitrogen use efficiency of world cropping systems: The relationship between yield and nitrogen input to cropland. *Environmental Research Letters*, 9(10), artículo 105011. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/9/10/105011>
- Latif, S., Khan, S., Naveed, M., Mustafa, G., Bashir, T., & Mumtaz, A. S. (2013). The diversity of Rhizobia, *Sinorhizobia* and novel non-Rhizobial *Paenibacillus* nodulating wild herbaceous legumes. *Archives of Microbiology*, 195(9), 647-653. <https://doi.org/10.1007/s00203-013-0914-6>
- Lazar, T. (2003). *Plant physiology*. 3rd edn [reseña]. *Annals of Botany*, 91(6), 750-751. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg079>
- Makoudi, B., Kabbadj, A., Mouradi, M., Amenc, L., Domergue, O., Blair, M., Drevon, J.-J., & Ghoulam, C. (2018). Phosphorus deficiency increases nodule phytase activity of faba bean-rhizobia symbiosis. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(3), artículo 63. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2619-6>
- McInroy, J. A., & Kloepper, J. W. (1995). Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. *Plant and Soil*, 173(2), 337-342. <https://doi.org/10.1007/BF00011472>
- Mehboob, I., Naveed, M., & Zahir, Z. A. (2009). Rhizobial association with non-legumes: Mechanisms and applications. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 28(6), 432-456. <https://doi.org/10.1080/07352680903187753>
- Mehboob, I., Naveed, M., Zahir, Z. A., & Ashraf, M. (2012). Potential of rhizobia for sustainable production of non-legumes. En M. Ashraf, M. Öztürk, M. S. A. Ahmad, & A. Aksoy (eds.), *Crop production for agricultural improvement* (pp. 659-704). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4116-4_26
- Mehboob, I., Zahir, Z. A., Arshad, M., Tanveer, A., & Azam, F. (2011). Growth promoting activities of different *Rhizobium* spp., in wheat. *Pakistan Journal of Botany*, 43(3), 1.643-1.650. https://www.researchgate.net/publication/265979200_Growth_promoting_activities_of_different_rhizobium_spp_in_wheat
- Menéndez, A. B., Calzadilla, P. I., Sansberro, P. A., Espasandin, F. D., Gazquez, A., Bordenave, C. D., Maiale, S. J., Rodríguez, A. A., Maguire, V. G., Campestre, M. P., Garriz, A., Rossi, F. R., Romero, F. M., Solmi, L., Salloum, M. S., Monteoliva, M. I., Debat, J. H., & Ruiz, O. A. (2019). Polyamines and legumes: Joint stories of stress, nitrogen fixation and environment. *Frontiers in Plant Science*, 10, artículo 1415. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01415>
- Nandal, K., Sehrawat, A. R., Yadav, A. S., Vashishat, R. K., & Boora, K. S. (2005). High temperature-induced changes in exopolysaccharides, lipopolysaccharides and protein profile of heat-resistant mutants of *Rhizobium* sp. (*Cajanus*). *Microbiological Research*, 160(4), 367-373. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2005.02.011>
- Nonnoi, F., Chinnaswamy, A., García de la Torre, V. S., Caba de la Peña, T., Lucas, M. M., & Pueyo, J. J. (2012). Metal tolerance of rhizobial strains isolated from nodules of herbaceous legumes (*Medicago*

- spp. and *Trifolium* spp.) growing in mercury-contaminated soils. *Applied Soil Ecology*, 61, 49-59. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.06.004>
- Oldroyd, G. E., Murray, J. D., Poole, P. S., & Downie, J. A. (2011). The rules of engagement in the legume-rhizobial symbiosis. *Annual Review of Genetics*, 45, 119-144. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110410-132549>
- Paudyal, S. P., Aryal, R. R., Chauhan, S. V. S., & Maheshwari, D. K. (2007). Effect of heavy metals on growth of *Rhizobium* strains and symbiotic efficiency of two species of tropical legumes. *Scientific World*, 5(5), 27-32. <https://doi.org/10.3126/sw.v5i5.2652>
- Peix, A., Ramírez-Bahena, M. H., Velázquez, E., & Bedmar, E. J. (2015). Bacterial associations with legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34(1-3), 17-42. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.897899>
- Peoples, M. B., Brockwell, J., Herridge, D. F., Rochester, I. J., Alves, B. J. R., Urquiaga, S., Boddey, R. M., Dakora, F. D., Bhattarai, S., Maskey, S. L., Sampet, C., Rerkasem, B., Khan, D. F., Hauggaard-Nielsen, H., & Jensen, E. S. (2009). The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. *Symbiosis*, 48(1), 1-17. <https://doi.org/10.1007/BF03179980>
- Perrine-Walker, F. M., Gartner, E., Hocart, C. H., Becker, A., & Rolfe, B. G. (2007). *Rhizobium*-initiated rice growth inhibition caused by nitric oxide accumulation. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(3), 283-292. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-3-0283>
- Peters, K. N., & Verma, D. P. (1990). Phenolic compounds as regulators of gene expression in plant-microbe relations. *Molecular Plant Microbe Interaction*, 3(1), 4-8. <https://doi.org/10.1094/mpmi-3-004>
- Poole, P., Ramachandran, V., & Terpolilli, J. (2018). Rhizobia: From saprophytes to endosymbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 16(5), 291-303. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.171>
- Radzki, W., Gutierrez Mañero, F. J., Algar, E., Lucas García, J. A., García-Villaraco, A., & Ramos Solano, B. (2013). Bacterial siderophores efficiently provide iron to iron-starved tomato plants in hydroponics culture. *Antonie van Leeuwenhoek*, 104(3), 321-330. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-9954-9>
- Raymond, J., Siefert, J. L., Staples, C. R., & Blankenship, R. E. (2004). The natural history of nitrogen fixation. *Molecular Biology Evolution*, 21(3), 541-554. <https://doi.org/10.1093/molbev/msh047>
- Rodrigues Coelho, M. R., De Vos, M., Carneiro, N. P., Marriel, I. E., Paiva, E., & Seldin, L. (2008). Diversity of *nifH* gene pools in the rhizosphere of two cultivars of sorghum (*Sorghum bicolor*) treated with contrasting levels of nitrogen fertilizer. *FEMS Microbiology Letters*, 279(1), 15-22. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00975.x>
- Roesch, L. F. W., Camargo, F. A. O., Bento, F. M., & Triplett, E. W. (2008). Biodiversity of diazotrophic bacteria within the soil, root and stem of field-grown maize. *Plant and Soil*, 302(1), 91-104. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9458-3>
- Rosenblueth, M., Ormeño-Orrillo, E., López-López, A., Rogel, M. A., Reyes-Hernández, B. J., Martínez-Romero, J. C., Reddy, P. M., & Martínez-Romero, E. (2018). Nitrogen fixation in cereals. *Frontiers in Microbiology*, 9, artículo 1794. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01794>
- Schlöter, M., Wiehe, W., Assmus, B., Steindl, H., Becke, H., Höflich, G., & Hartmann, A. (1997). Root colonization of different plants by plant-growth-promoting *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* R39 studied with monospecific polyclonal antisera. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(5), 2.038-2.046. <http://aem.asm.org/content/63/5/2038.abstract>
- Schmidt, W. (1999). Mechanisms and regulation of reduction-based iron uptake in plants. *New Phytologist*, 141(1), 1-26. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00331.x>
- Senthilkumar, M., Madhaiyan, M., Sundaram, S. P., & Kannaiyan, S. (2009). Intercellular colonization and growth promoting effects of *Methylobacterium* sp. with plant-growth regulators on rice (*Oryza sativa* L. Cv CO-43). *Microbiological Research*, 164(1), 92-104. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.10.007>
- Sessitsch, A., Reiter, B., Pfeifer, U., & Wilhelm, E. (2002). Cultivation-independent population analysis of bacterial endophytes in three potato varieties based on eubacterial and *Actinomyces*-specific PCR of 16S rRNA genes. *FEMS Microbiology Ecology*, 39(1), 23-32. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2002.tb00903.x>
- Shakhawat Hossain, M., & Mårtensson, A. (2008). Potential use of *Rhizobium* spp. to improve fitness of non-nitrogen-fixing plants. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 58(4), 352-358. <https://doi.org/10.1080/09064710701788810>
- Spaink, H. P. (2000). Root nodulation and infection factors produced by rhizobial bacteria. *Annual Review Microbiology*, 54, 257-288. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.257>
- Sugawara, M., Cytryn, E. J., & Sadowsky, M. J. (2010). Functional role of *Bradyrhizobium japonicum* trehalose biosynthesis and metabolism genes during physiological stress and nodulation. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(4), 1.071-1.081. <https://doi.org/10.1128/AEM.02483-09>
- Tao, G.-C., Tian, S.-J., Cai, M.-Y., & Xie, G.-H. (2008). Phosphate-solubilizing and -mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. *Pedosphere*, 18(4), 515-523. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(08\)60042-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(08)60042-9)
- Thaweenut, N., Hachisuka, Y., Ando, S., Yanagisawa, S., & Yoneyama, T. (2011). Two seasons' study on *nifH* gene expression and

- nitrogen fixation by diazotrophic endophytes in sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids): Expression of *nifH* genes similar to those of rhizobia. *Plant and Soil*, 338(1), 435-449. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0557-1>
- Trinick, M. J., & Hadobas, P. A. (1995). Formation of nodular structures on the non-legumes *Brassica napus*, *B. campestris*, *B. juncea* and *Arabidopsis thaliana* with *Bradyrhizobium* and *Rhizobium* isolated from *Parasponia* spp. or legumes grown in tropical soils. *Plant and Soil*, 172(2), 207-219. <https://doi.org/10.1007/BF00011323>
- Turner, M., Nizampatnam, N. R., Baron, M., Coppin, S., Damodaran, S., Adhikari, S., Arunachalam, S. P., Yu, O., & Subramanian, S. (2013). Ectopic expression of miR160 results in auxin hypersensitivity, cytokinin hyposensitivity, and inhibition of symbiotic nodule development in soybean. *Plant Physiology*, 162(4), 2.042-2.055. <https://doi.org/10.1104/pp.113.220699>
- Van Loon, L. C. (2007). Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. En P. A. H. M. Bakker, J. M. Raaijmakers, G. Bloemberg, M. Höfte, P. Lemanceau, & B. M. Cooke (eds.), *New perspectives and approaches in plant growth-promoting rhizobacteria research* (pp. 243-254). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6776-1_2
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, 571-586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>
- Wang, E. T., Tan, Z. Y., Guo, X. W., Rodríguez-Duran, R., Boll, G., & Martínez-Romero, E. (2006). Diverse endophytic bacteria isolated from a leguminous tree *Conzattia multiflora* grown in Mexico. *Archives of Microbiology*, 186(4), 251-259. <https://doi.org/10.1007/s00203-006-0141-5>
- Yang, G., Bhuvaneswari, T. V., Joseph, C. M., King, M. D., & Phillips, D. A. (2002). Roles for riboflavin in the *Sinorhizobium*-alfalfa association. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 15(5), 456-462. <https://doi.org/10.1094/mpmi.2002.15.5.456>
- Zahran, H. H. (2001). Rhizobia from wild legumes: Diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. *Journal of Biotechnology*, 91(2), 143-153. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00342-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00342-X)
- Zhu, J.-K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*, 6(2), 66-71. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01838-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01838-0)
- Zipfel, C., & Oldroyd, G. E. D. (2017). Plant signalling in symbiosis and immunity. *Nature*, 543(7.645), 328-336. <https://doi.org/10.1038/nature22009>