

3

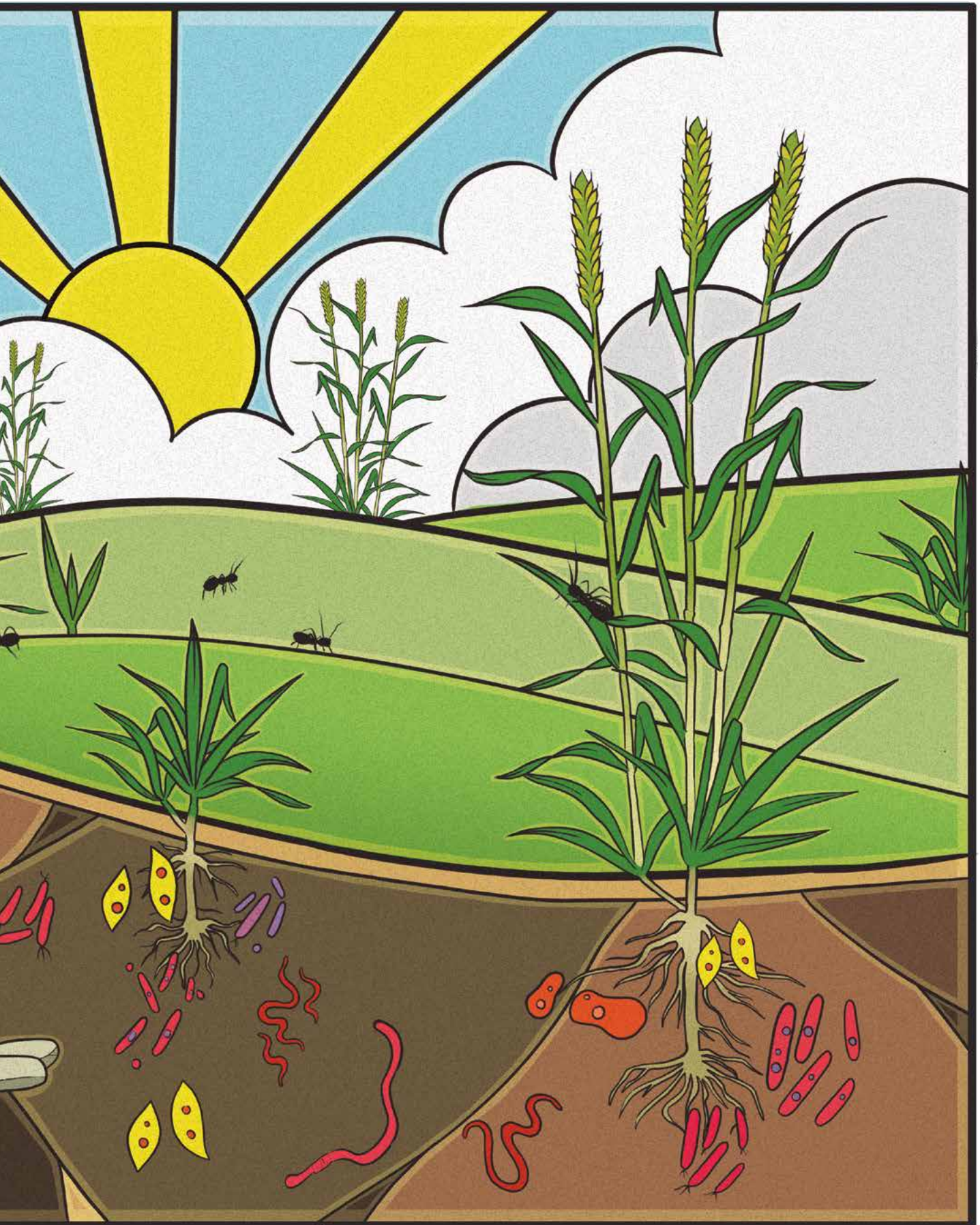
Mecanismos de promoción de crecimiento de las PGPB

Luisa Fernanda Posada Uribe¹
Andrés Eduardo Moreno Galván²
Marilyn Tatiana Santos Torres²
Germán Andrés Estrada Bonilla²

1. Grupo Zentech. Departamento de Ingeniería Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia .

2. Sistemas Agropecuarios Sostenibles. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA. Centro de Investigación Tibaitatá. Cundinamarca. Colombia.





Introducción

La tendencia hacia cambios en los regímenes hídricos, alteraciones en la estabilidad y composición de los suelos y, en general, el cambio climático han generado efectos importantes en la productividad de los sistemas agrícolas, lo que ha requerido un aumento en el uso de agroquímicos de síntesis para lograr las metas y los estándares de producción (Tilman et al., 2002). De esta manera, pareciera que la premisa en el sector agrícola es producir más para satisfacer la demanda, sin importar las consecuencias del método que se emplee.

La mayoría de los métodos disponibles para el manejo y control de los cultivos se basa en el mejoramiento de las propiedades fisicoquímicas del suelo, dejando los factores biológicos como un tema de menor importancia (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2002). Sin embargo, el conocimiento de los factores biológicos del suelo se ha desarrollado por siglos, desde Teofrasto (372-287 a.C.), quien enunció la importancia de mezclar diferentes suelos para mejorar su riqueza, hasta la actualidad, cuando se conoce el uso de bioinsumos como una alternativa para una agricultura sostenible (Prasad et al., 2019). Sin embargo, los principios de la biología del suelo relacionada con la promoción del crecimiento de la planta solo se conocen desde un siglo atrás, cuando Hellriegel y Wilfarth iniciaron investigaciones sobre la fijación biológica de nitrógeno (N) atmosférico, y cuando Lorentz Hiltner, en 1904, descubrió que la capa de suelo inmediatamente aledaña a las raíces de las plantas es más rica biológicamente que el suelo que no tiene influencia radicular (Bhattacharyya & Jha, 2012).

En 1978, Kloepper y Schroth, de la Universidad de Berkeley, denominaron *PGPR* (*plant growth promoting rhizobacteria*) a las bacterias que se encuentran adyacentes a las raíces de las plantas y generan efectos positivos en su crecimiento, y se enfocaron principalmente en los mecanismos indirectos de

promoción del crecimiento vegetal (Kloepper et al., 1980; Kloepper & Schroth, 1978). De forma paralela pero independiente, el estudio de las bacterias que mejoraban el crecimiento vegetal por medio de mecanismos directos salió a la luz por investigaciones realizadas por Dobereiner y Day (1976) y Bashan et al. (1989), siendo estos últimos los encargados de estudiar los microorganismos benéficos de vida libre con efectos de promoción del crecimiento vegetal, a los que posteriormente Bashan y Holguin denominaron *PGPB* (*plant growth promoting bacteria*). Esta denominación no está relacionada solo con la rizósfera, sino que agrupa bacterias benéficas para el crecimiento de las plantas aisladas de diversas fuentes. A su vez, estos autores propusieron clasificar estos microorganismos en *PGPB*, para aquellos que actúan por mecanismos directos de promoción, y *biocontrol-PGPB*, para aquellos que actúan por mecanismos indirectos (Bashan & Holguin, 1998). Otros términos, como *YIB* (*yield increasing bacteria*) y *EPR* (*emergence-promoting rhizobacteria*), también se encuentran en la literatura, pero han tenido menor aceptación (Ramírez y Kloepper, 2012).

Los mecanismos de promoción de crecimiento que estos microorganismos emplean incluyen la síntesis de fitohormonas (Egamberdieva et al., 2017); el aumento en la disponibilidad de nutrientes como nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), entre otros (Mendes et al., 2013); la supresión de fitopatógenos como protozoos, virus, nematodos, bacterias y hongos, debido a la producción de compuestos antibióticos (Raaijmakers et al., 2009); la competencia por espacio y alimento, predación y parasitismo (Moreno Reséndez et al., 2018); ayuda para superar el estrés abiótico debido a exceso de sal en los sustratos, sequía y altas o bajas temperaturas (Viscardi et al., 2016), y la activación de las respuestas de defensa en las plantas (Pertot et al., 2013). Estos mecanismos están muy bien documentados para proteobacterias y firmicutes, especialmente de los géneros *Azospirillum*, *Pseudomonas* y *Bacillus* (Bashan & de-Bashan, 2010; Tiwari et al., 2019).

Una característica importante de las PGPB, además de la promoción del crecimiento, es su habilidad para colonizar la rizósfera de la planta y mantener una relación estable con la superficie de las raíces (Bais et al., 2004).

El proceso de colonización requiere de diferentes pasos: reconocimiento, adherencia, colonización y crecimiento de la población. Cada uno de ellos se ve favorecido por diversas capacidades de producción de metabolitos de estas PGPB. Entre estas capacidades, se destaca la producción de biopelículas (Bais et al., 2004) de exopolisacáridos (EPS) (Branda et al., 2006), de enzimas (Hassan et al., 2019) o de lipopéptidos (Beauregard, 2015).

A continuación, en la Figura 3.1, se presentan, de forma detallada, los diferentes mecanismos de promoción de crecimiento vegetal, agrupados como directos e indirectos; además, se presentan las capacidades microbianas que favorecen la colonización de las raíces para que esta promoción se haga efectiva.

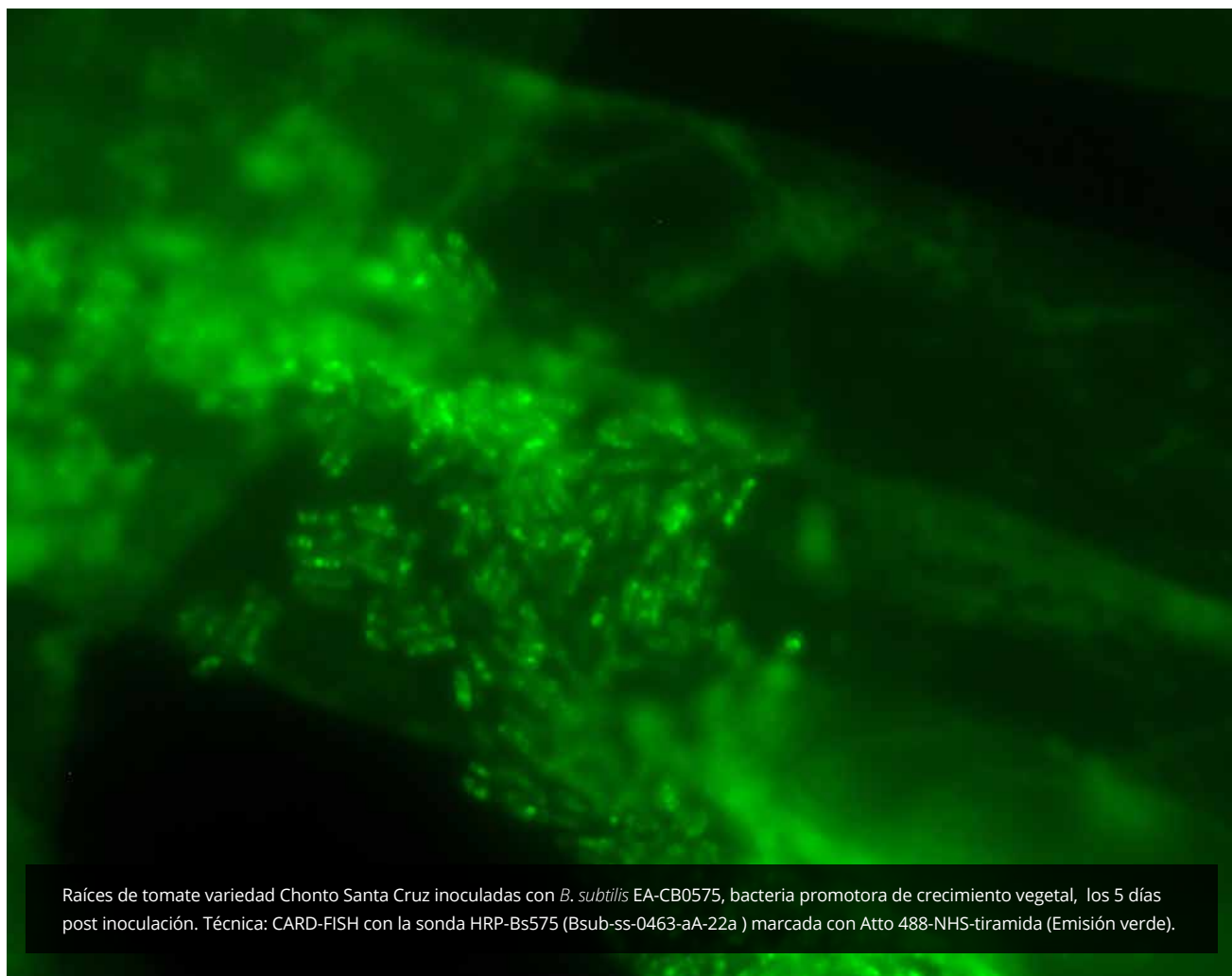
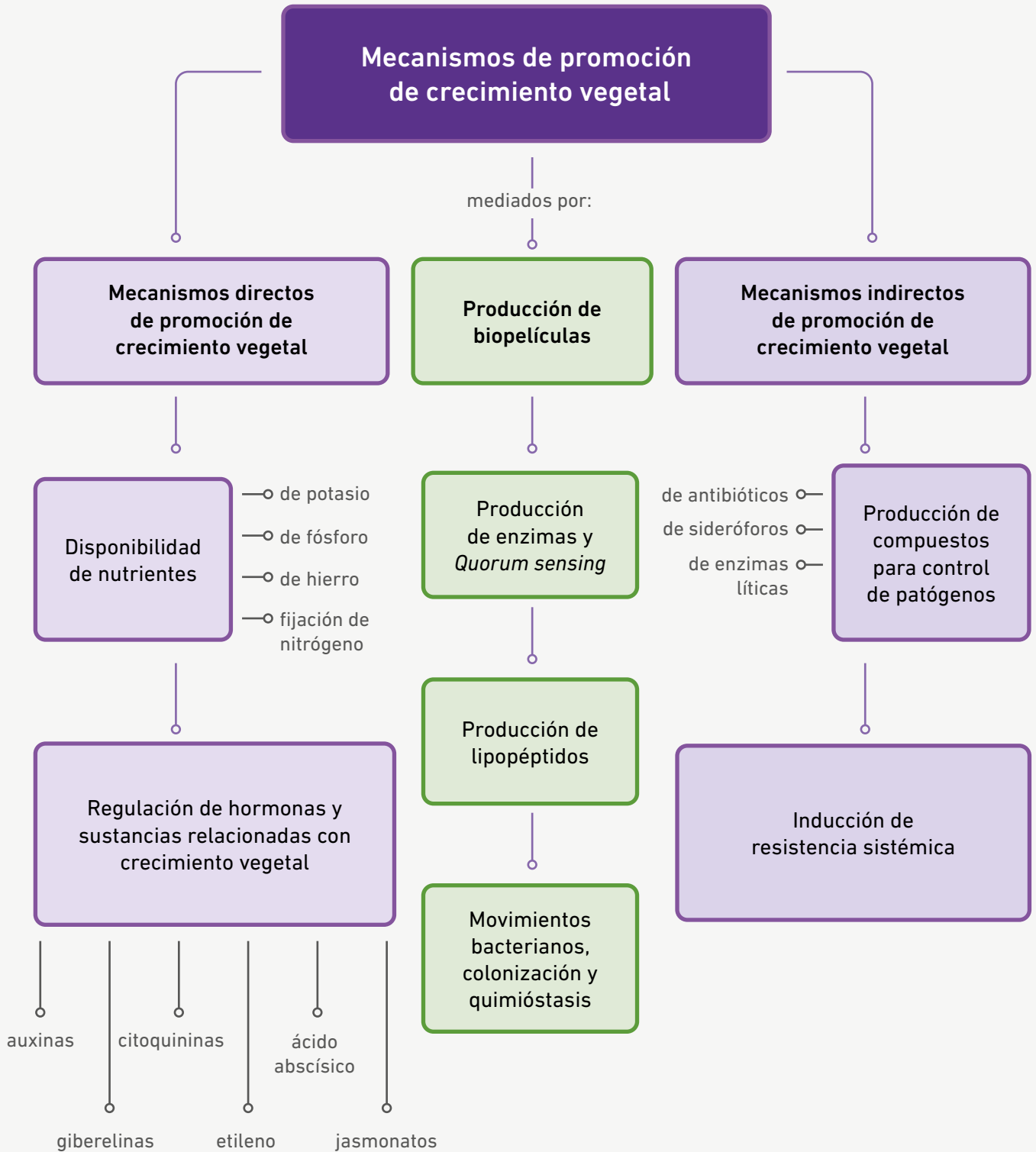


Foto: Luisa Fernanda Posada Uribe

■ **Figura 3.1.** Mecanismos directos e indirectos de promoción del crecimiento vegetal y capacidades de las PGPB para facilitar la activación de estos mecanismos en la planta.
Fuente: Elaboración propia



Mecanismos de promoción de crecimiento vegetal

Son diversos los mecanismos que pueden estar implicados en las interacciones entre planta y PGPB. Se considera que la comprensión de las formas de acción de las PGPB puede ayudar a seleccionar de forma eficiente los microorganismos promisorios para el desarrollo de productos para la agricultura (Bhattacharyya & Jha, 2012; Ramírez & Kloepper, 2012). Estos mecanismos se clasifican en dos grandes grupos: los directos, relacionados con la nutrición vegetal y la biofertilización de las plantas al ser inoculadas con los microorganismos PGPB, y los indirectos, relacionados con el control de patógenos que pueden afectar las plantas (Bashan & Holguin, 1998).

Mecanismos directos de promoción del crecimiento vegetal por PGPB

Solubilización o fijación de nutrientes

Algunas bacterias promotoras de crecimiento solubilizan o mineralizan el P del suelo, ya sea orgánico o inorgánico (Shrivastava et al., 2018), solubilizan el K (Gupta et al., 2015) o fijan el N atmosférico (Glick, 2012). Estos son mecanismos de promoción por solubilización-mineralización o fijación de nutrientes, y hacen disponibles nutrientes que no son asimilables o de fácil absorción para las plantas, por lo que mejoran su nutrición.

Solubilización de fósforo

Los bajos niveles de P en los suelos pueden limitar el crecimiento de las plantas. Los suelos contienen diferentes formas de P, pero, en su mayoría, no son disponibles para las plantas, las cuales solo pueden absorberlo en sus formas monobásica (H_2PO_4^-) o dibásica (HPO_4^{2-}) (Vessey, 2003). Algunos microorganismos promotores de crecimiento mineralizan o solubilizan el P del suelo convirtiéndolo a las formas asimilables, ya sea por producción de enzimas, como las fitasas, fosfomonoesterasa no específicas, fosfatonasas o C-P liasas, en caso de P orgánico; por producción de ácidos orgánicos, como ácido glucónico, oxálico, malónico, succínico, cítrico y propiónico, iones hidroxilo, CO_2 , sideróforos y protones (Rodríguez et al., 2006; Sharma et al., 2013), o por extrusión de protones (Lugtenberg & Kamilova, 2009), en caso de P inorgánico. Diversos géneros bacterianos, entre los que se encuentran *Azospirillum* spp., *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., *Burkholderia* spp., *Enterobacter* spp., *Erwinia* spp., *Herbaspirillum* spp., *Flavobacterium* spp., *Microbacterium* spp., *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp. y *Rhizobium* spp., entre otros, han sido reportados como solubilizadores de fosfatos (Antoun & Prévost, 2006; Romero-Perdomo et al., 2021).

Se reporta la producción de ácidos orgánicos como el principal mecanismo de solubilización del fosfato inorgánico. Los ácidos orgánicos producidos por bacterias solubilizadoras de P tienen una acción directa en la acidificación del medio, la quelación, la precipitación y las reacciones de oxidación-reducción en la rizósfera (Kucey, 1988). Algunos ácidos producidos por estos microorganismos se presentan en la tabla 3.1, entre los cuales el glucónico ha sido considerado como el ácido clave para la solubilización de fosfato (Rashid et al., 2004).

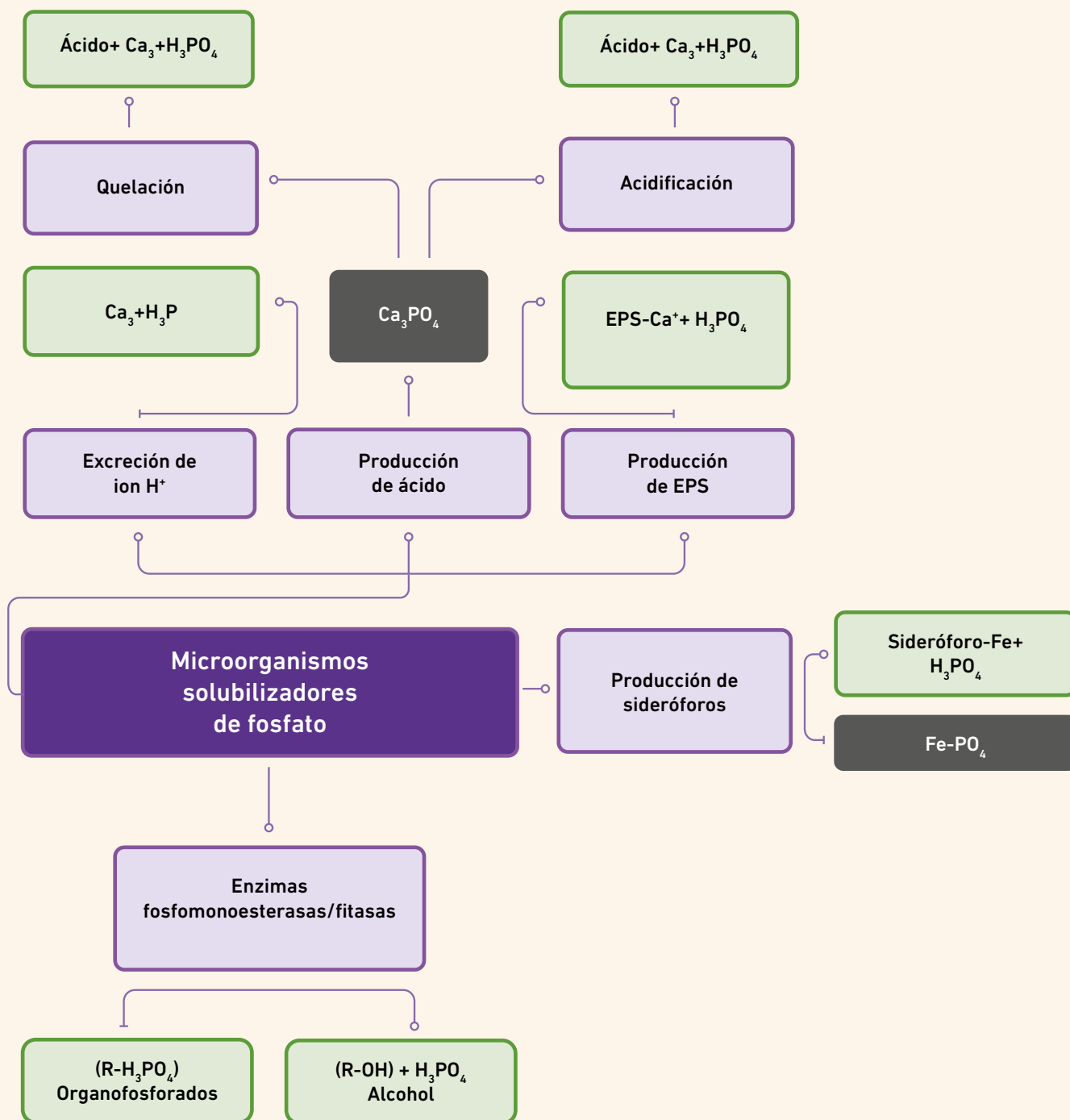
■ **Tabla 3.1.** Producción de ácidos orgánicos por bacterias solubilizadoras de fosfato
Fuente: Elaboración propia con base en Santos Torres (2020)

<p>1 Ácido Acético Ruta biosintética: Oxidación incompleta de azúcares (fermentación acética) Bacteria: <i>Acetobacter acetii</i>, <i>Gluconobacter oxydans</i> y <i>Pseudomonas fluorescens</i>. Referencia: Singh y Amberger (1998)</p>	<p>6 Ácido 2-cetoglucónico Ruta biosintética: Oxidación directa de la glucosa Bacteria: <i>Rhizobium leguminosarum</i>, <i>Rhizobium meliloti</i> y <i>Bacillus firmus</i> Referencia: Halder et al. (1990)</p>
<p>2 Ácido Oxálico Ruta biosintética: Ácidos tricarbóxicos Bacteria: <i>Pseudomonas fluorescens</i> Referencia: Singh y Amberger (1998)</p>	<p>7 Ácido Glucónico Ruta biosintética: Oxidación directa de la glucosa Bacteria: <i>Erwinia herbicola</i>, <i>Pseudomonas cepacia</i> y <i>Burkholderia cepacia</i> Referencia: Illmer y Schinner (1992), Liu et al. (1992) y Goldstein et al. (1993) Marra et al. (2015).</p>
<p>3 Ácido Succínico Ruta biosintética: Ciclo del glioxilato y ácidos tricarbóxicos Bacteria: <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Pseudomonas fluorescens</i> Referencia: Liu et al. (1992)</p>	<p>8 Ácido Málico, 2-cetogluconico, succínico/láctico Ruta biosintética: Oxidación directa de la glucosa Bacteria: <i>Rhizobium tropici</i> Referencia: Marra et al. (2015)</p>
<p>4 Ácido Málico Ruta biosintética: Ácidos tricarbóxicos Bacteria: <i>Bacillus megaterium</i> Referencia: Singh y Amberger (1997)</p>	<p>9 Ácido Fórmico Bacteria: <i>Burkholderia cepacia</i> Referencia: Li et al. (2010)</p>
<p>5 Ácido Propiónico Ruta biosintética: Ácidos tricarbóxicos Bacteria: <i>Bacillus megaterium</i> Referencia: Chen et al. (2006)</p>	<p>10 Ácido Glucónico Ruta biosintética: Oxidación directa de la glucosa (quinoproteína glucosa deshidrogenasa); oxidación directa de la glucosa (1-deshidrogenasa-pirroloquinolina quinona) Bacteria: <i>Rhizobium sp.</i> y <i>Herbaspirillum sp.</i> Referencia: Santos-Torres et al. (2021)</p>

La acción de los ácidos orgánicos en la solubilización de minerales puede atribuirse a que disminuyen el pH y a que forman complejos estables con Ca^{+2} , Mg^{+2} , Fe^{+3} y Al^{+3} (Figura 3.2). Estas reacciones similares ocurren

cuando se previene la fijación de fosfatos solubles añadidos al suelo como fertilizantes (Paredes-Mendoza & Espinosa-Victoria, 2010).

■ **Figura 3.2.** Mecanismos inorgánicos y orgánicos de solubilización de fosfatos por microorganismos.



Nota: R: Compuesto químico unido al grupo funcional generado en la reacción; eps: exopolisacáridos.

Fuente: Elaboración propia con base en Prabhu et al. (2019)

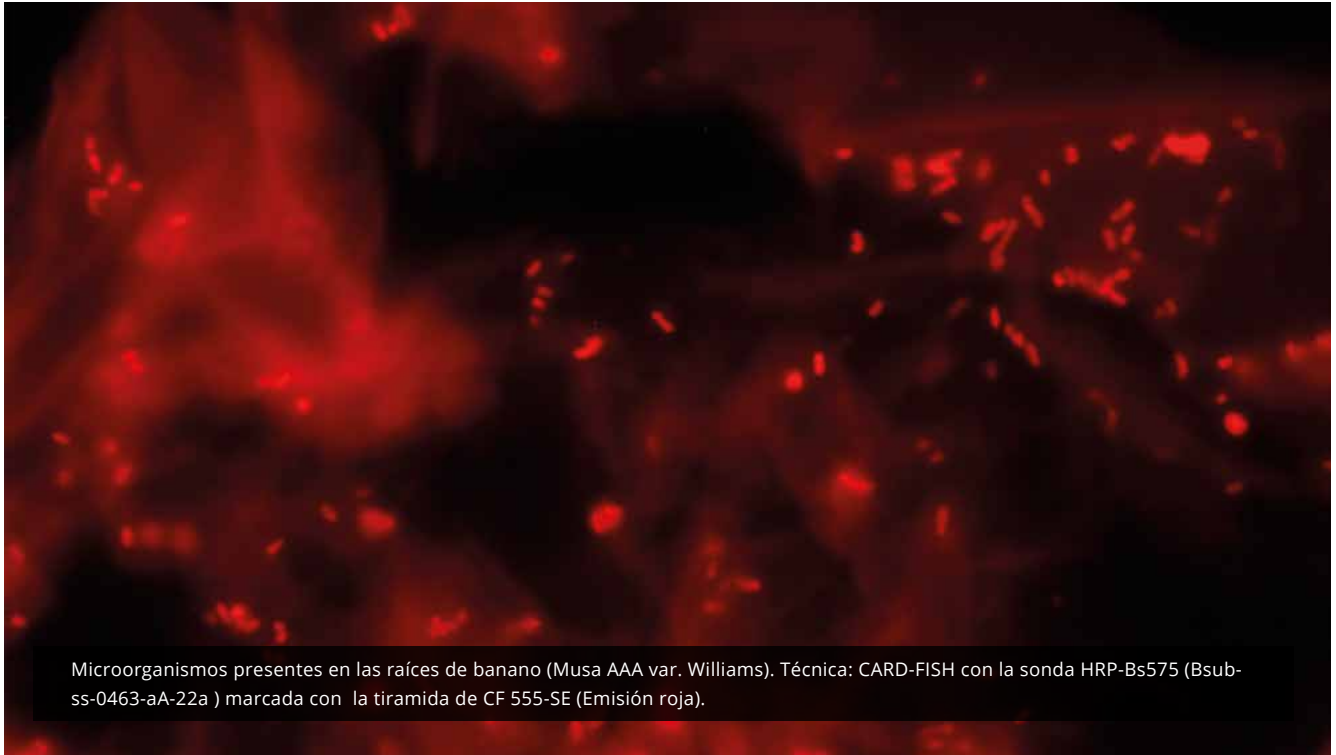


Foto: Luisa Fernanda Posada Uribe

La producción de ácidos inorgánicos como el ácido sulfúrico, el ácido nítrico y los ácidos carbónicos también ha sido reportada como un mecanismo de solubilización de fosfatos (Rodríguez et al., 2006). Estos ácidos reaccionan con compuestos de fosfato insolubles y los convierten en formas solubles, aunque se ha descrito que la efectividad de los ácidos inorgánicos en la liberación de ortofosfato parece ser menor que la de los ácidos orgánicos (Vazquez et al., 2000). También se ha reportado que la solubilización de fosfatos ocurre incluso sin producción de ácido, caso en el cual la acidificación del medio ocurre debido a la excreción de H^+ , que se presenta, así, como un mecanismo alternativo de solubilización de fosfato inorgánico. La excreción de H^+ se origina por la asimilación del NH_4^+ , la producción de H_2CO_3 en la respiración y la extrusión de aniones de ácidos orgánicos (Prabhu et al., 2019). La producción de EPS tiene un efecto indirecto en la solubilización de P. Estos EPS son producidos en gran parte por los microorganismos en respuesta al estrés ambiental. Los estudios sobre EPS microbianos han revelado su capacidad para unirse a metales en el suelo, por lo que pueden influir en la solubilidad de los fosfatos metálicos en el suelo (Ochoa-Loza et al., 2001). Asimismo, a la producción de sideróforos se le

ha atribuido su influencia indirecta en la solubilización de fosfatos de hierro en el suelo, ya que los sideróforos son sustancias secretadas por los microorganismos que muestran afinidad por la quelación del Fe.

En cuanto a la mineralización de fosfatos orgánicos en los suelos, como los presentes en los ácidos nucleicos, fosfolípidos, fosfonatos, ácido fítico, polifosfonatos y fosfatos de azúcar, se ha reportado su dependencia de enzimas microbianas como las fosfomonoesterasas o la fosfohidrolasa, las fitasas, la fosfonatasa y las C-P liasas. Las fosfomonoesterasas desfosforilan los enlaces fosfoéster o fosfoanhídrido de la materia orgánica liberando iones fosfato. En función de su pH óptimo, se dividen en fosfomonoesterasas ácidas o alcalinas, que pueden ser producidas por los microorganismos solubilizadores de fosfato dependiendo de las condiciones externas (Kim et al., 1998). Las enzimas fitasas hidrolizan compuestos de ácido fítico o mioinositol fosfato liberando el P (Estrada-Bonilla et al., 2021). La fosfonatasa y la C-P liasa hidrolizan los enlaces éster de los fosfonatos (ej., fosfoenol piruvato, fosfonoacetato) y convierten a estos últimos en hidrocarburos e iones fosfato para su asimilación (Prabhu et al., 2019).

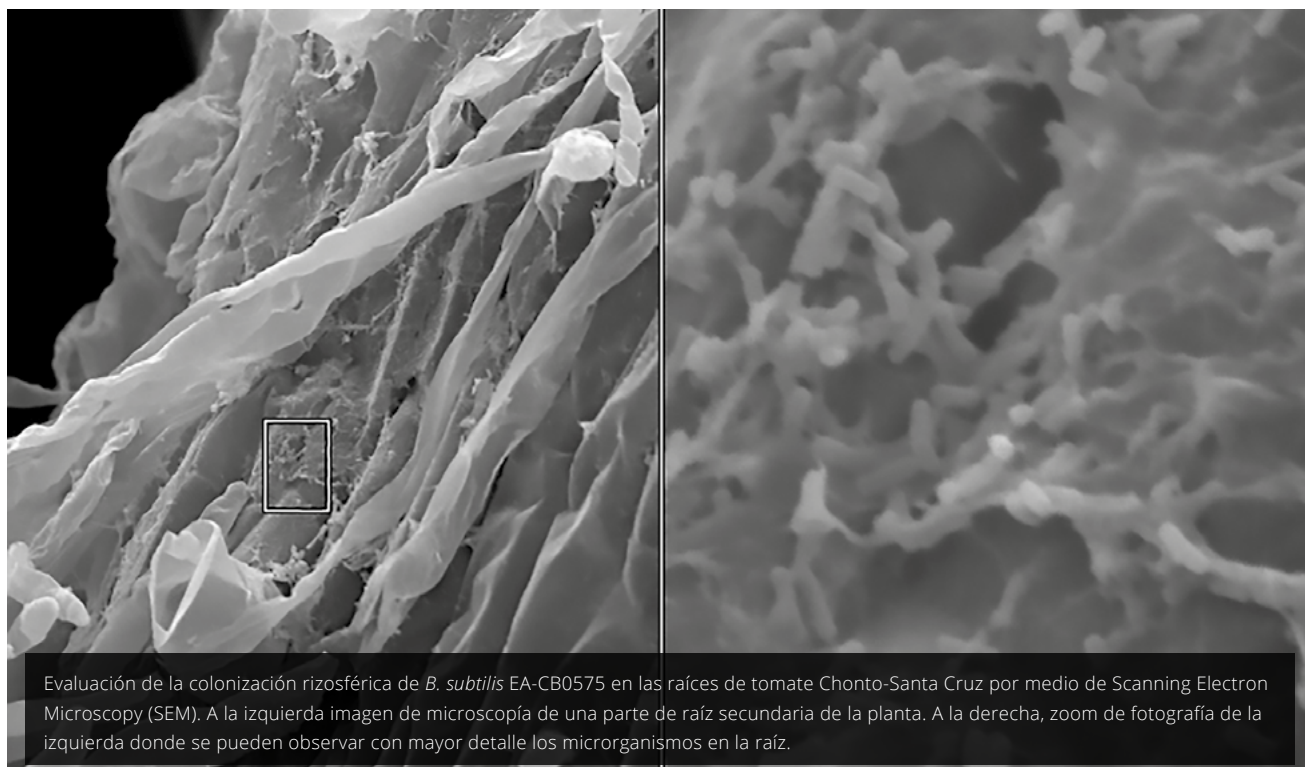
Solubilización de potasio

Aunque el K está presente en el suelo como un elemento abundante o se aplica en los campos como fertilizante natural o sintético, solo el 1 o 2 % de este está disponible para las plantas, pues el resto está unido a otros minerales y, por lo tanto, no está disponible. Los componentes del K en el suelo más comunes (90-98 %) son el feldespato y la mica (McAfee, 2008). Ciertos microorganismos (hongos y bacterias) son capaces de disolver el K insoluble y ponerlo a disposición de las plantas; estas poblaciones de microorganismos solubilizadores de K están presentes en el suelo rizosférico y promueven el crecimiento de las plantas (Meena et al., 2014). Se conoce una amplia gama de microorganismos solubilizadores de K que lo liberan y lo disponibilizan para la planta a partir de minerales que contienen este elemento en el suelo; los principales reportados son *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus edaphicus*, *Bacillus circulans*, *Paenibacillus* spp., *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Pseudomonas* spp., *Burkholderia* spp. (Basak & Biswas, 2012; Lian et al., 2002; Liu et al., 2012; Rajawat et al., 2011; Sheng et al., 2008; Singh et al., 2010), *Arthrobacter* sp. (Zarjani et al., 2013), *Enterobacter hormaechei* (KSB-8) (Prajapati et al., 2013) y *Paenibacillus mucilaginosus*

(Liu et al., 2012). En general, se ha aceptado que el mecanismo principal de la solubilización de K mineral es la acción de ácidos orgánicos sintetizados por estos microbios (Meena et al., 2014). Estos ácidos están acompañados por reacciones de intercambio de acidólisis y complexólisis, procesos clave atribuidos a su conversión en forma soluble (Uroz et al., 2009). Los mecanismos relacionados con la solubilización de K son una disminución en el pH o la mejora en la quelación de los cationes unidos al K; además, también se puede presentar acidólisis del área circundante de los microorganismos (Meena et al., 2014). De los diferentes ácidos orgánicos involucrados en la solubilización de K insoluble, los ácidos succínico, cítrico, glucónico, α -cetoglucónico y oxálico son los más prominentes liberados por las cepas microbianas (Archana et al., 2012; Zhang et al., 2013).

Fijación de nitrógeno atmosférico

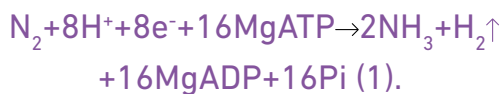
Este proceso es el primer paso en el ciclo del N desde la atmósfera hasta la biósfera, y es clave en la nutrición vegetal (Barea et al., 2005). Es un mecanismo de biofertilización, ya que por medio de este el N del aire, que se encuentra en una proporción aproximada del 78 %, es fijado por las bacterias y puede ser



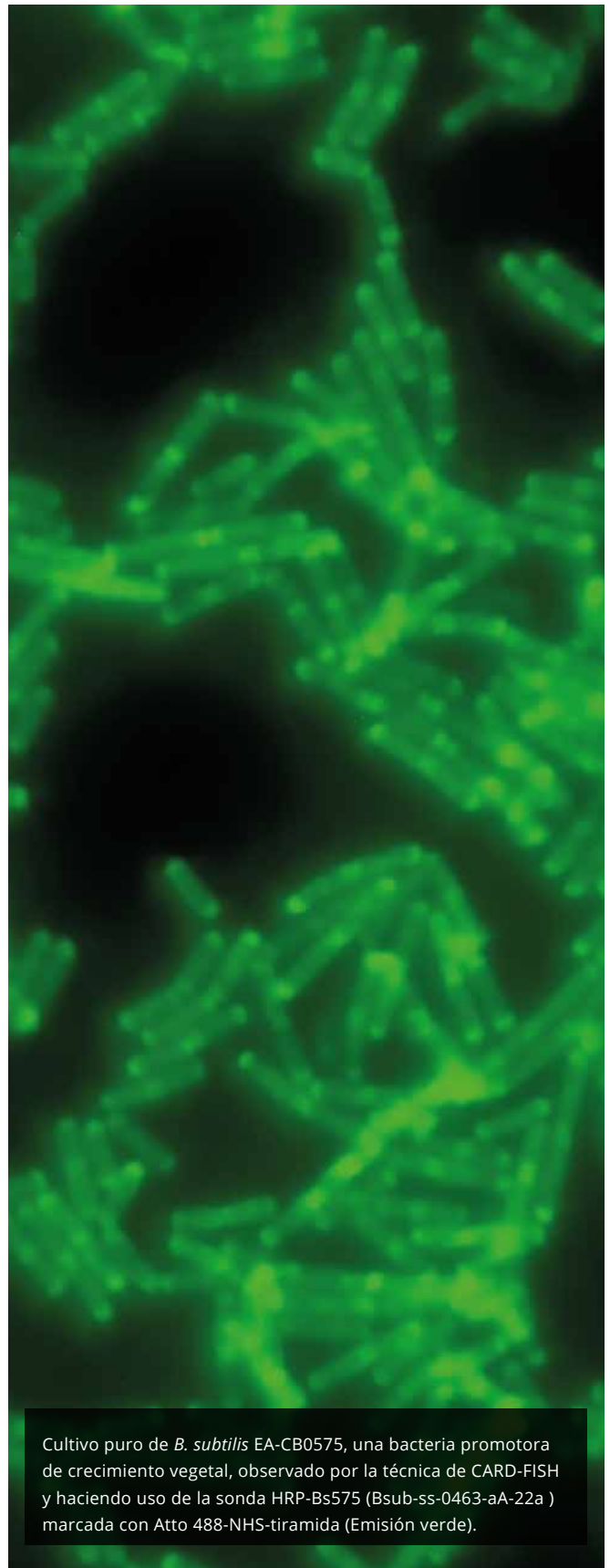
Evaluación de la colonización rizosférica de *B. subtilis* EA-CB0575 en las raíces de tomate Chonto-Santa Cruz por medio de Scanning Electron Microscopy (SEM). A la izquierda imagen de microscopía de una parte de raíz secundaria de la planta. A la derecha, zoom de fotografía de la izquierda donde se pueden observar con mayor detalle los microorganismos en la raíz.

Foto: Luisa Fernanda Posada Uribe

asimilado por las plantas para su nutrición (Ladha & Reddy, 2003). Los procariotas son los únicos organismos que producen la enzima nitrogenasa, la cual cataliza la reducción del N_2 atmosférico a amoníaco (Hoffman et al., 2014). Actualmente, este mecanismo suma alrededor del 65% del suplemento de N en los cultivos en el mundo, debido principalmente a las leguminosas. Este proceso es realizado por géneros bacterianos con la capacidad de formar nódulos (simbióticos) en la raíz, tales como *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, entre otros, o por fijadores asimbióticos, como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Serratia* y *Azospirillum* (Bashan & de-Bashan, 2010). Este proceso es molecular y genéticamente complejo, debido a que existen dos componentes sensibles al oxígeno que regulan la nitrogenasa; uno de ellos, el componente I, se compone de 2 subunidades de β -proteínas, 2 subunidades de α -proteínas, 24 moléculas de Fe, 2 moléculas de molibdeno y un cofactor de Fe y molibdeno, llamado FeMoCo. El componente II, por su parte, está conformado por 2 unidades de proteínas α asociadas a Fe; además, en este componente II se requiere de un complejo de magnesio y energía en forma de ATP para que la nitrogenasa actúe reduciendo el N_2 hasta NH_3 , tal como lo presenta la ecuación (1).



El proceso de fijación de N puede ser monitoreado debido a que, además de la reducción ya enunciada, la nitrogenasa reduce acetileno a etileno, y la detección de este último gas implica la presencia y acción de la enzima (Glick et al., 2010). Las bacterias fijadoras de N_2 simbióticas fijan el N dentro de los nódulos. A estos microorganismos no se los considera PGPR, pues no son bacterias de vida libre, pero sí se consideran parte de las PGPB, debido a su actividad benéfica en la planta. Los nódulos se forman como respuesta a un proceso de señalización iniciado cuando la planta secreta flavonoides que inducen la expresión de los genes *nod* y la producción de los factores *Nod*. A su vez, las bacterias secretan moléculas de lipoquitooligosacáridos (Lco) que dan señales a la planta para desencadenar la división



Cultivo puro de *B. subtilis* EA-CB0575, una bacteria promotora de crecimiento vegetal, observado por la técnica de CARD-FISH y haciendo uso de la sonda HRP-Bs575 (Bsub-ss-0463-aA-22a) marcada con Atto 488-NHS-tiramida (Emisión verde).

Foto: Luisa Fernanda Posada Uribe

mitótica en las raíces, penetrar en la corteza, formar los nódulos, reproducirse y producir el complejo de la nitrogenasa, que actúa a bajas concentraciones de oxígeno. Este es un proceso simbiótico, pues las bacterias entregan N atmosférico a la planta en formas asimilables y la planta brinda a la bacteria diversas fuentes de nutrientes (Hayat et al., 2010).

Sobre la genética de la fijación biológica de N, se conoce que los genes *nif* y *fix* están directamente implicados en el proceso, y han sido caracterizados de forma detallada para bacterias tanto simbióticas como asimbióticas (Bashan & de-Bashan, 2010; Merrick, 2005). Con base en estas investigaciones, se han realizado inserciones de los genes *nif* a diferentes especies de plantas, con el fin de mejorar la fijación de N y la nutrición vegetal. Los genes que deben transferirse para tal fin incluyen *nifH*, *nifD* y *nifK*, los cuales codifican tres polipéptidos de la enzima nitrogenasa, y los genes *nifB*, *nifN* y *nifE*, además de *nifV*, *nifM*, *nifS* y *nifU*, envueltos en la síntesis del cofactor de Fe-molibdeno y de la proteína de Fe activa (Ladha & Reddy, 2003).

Producción de hormonas y reguladores del crecimiento

La producción de hormonas de crecimiento vegetal es el mecanismo de promoción del crecimiento más estudiado. Las bacterias que se encuentran en la rizósfera pueden intervenir en el crecimiento vegetal por la producción de hormonas, tipo fitohormonas, como auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico (ABA), etileno y jasmonatos (JA) (Backer et al., 2018).

Producción de auxinas

La hormona vegetal más estudiada es el ácido indolacético (AIA), el cual se ha reportado como un inductor del crecimiento vegetal que facilita la iniciación de raíces, la división celular y la elongación (Kang et al., 2019). Esta hormona pertenece al grupo de las auxinas, las cuales ayudan a la proliferación, elongación y establecimiento de raíces cuando tienen contacto con la planta. Específicamente para el caso del AIA, se conoce que se asocia también con algunas patologías, como infecciones por *Agrobacterium tumefaciens* y diferentes patovares de *Pseudomonas syringae*, induciendo la formación de protuberancias en las plantas. El AIA es un compuesto de la familia de los indoles que, al estimular la raíz, mejora el anclaje de la planta en el suelo, la captación de nutrientes y la capacidad de supervivencia por parte de esta (Patten & Glick, 2002). Los efectos que se generan a nivel vegetal por este indol dependen de su concentración: a bajas concentraciones, puede estimular el crecimiento, pero a altas, puede ser inhibitorio (Ahmad et al., 2005). Se ha encontrado, además, que las auxinas ayudan a disminuir el nivel de etileno en las plantas por el ciclo propuesto por Glick et al. (1998).

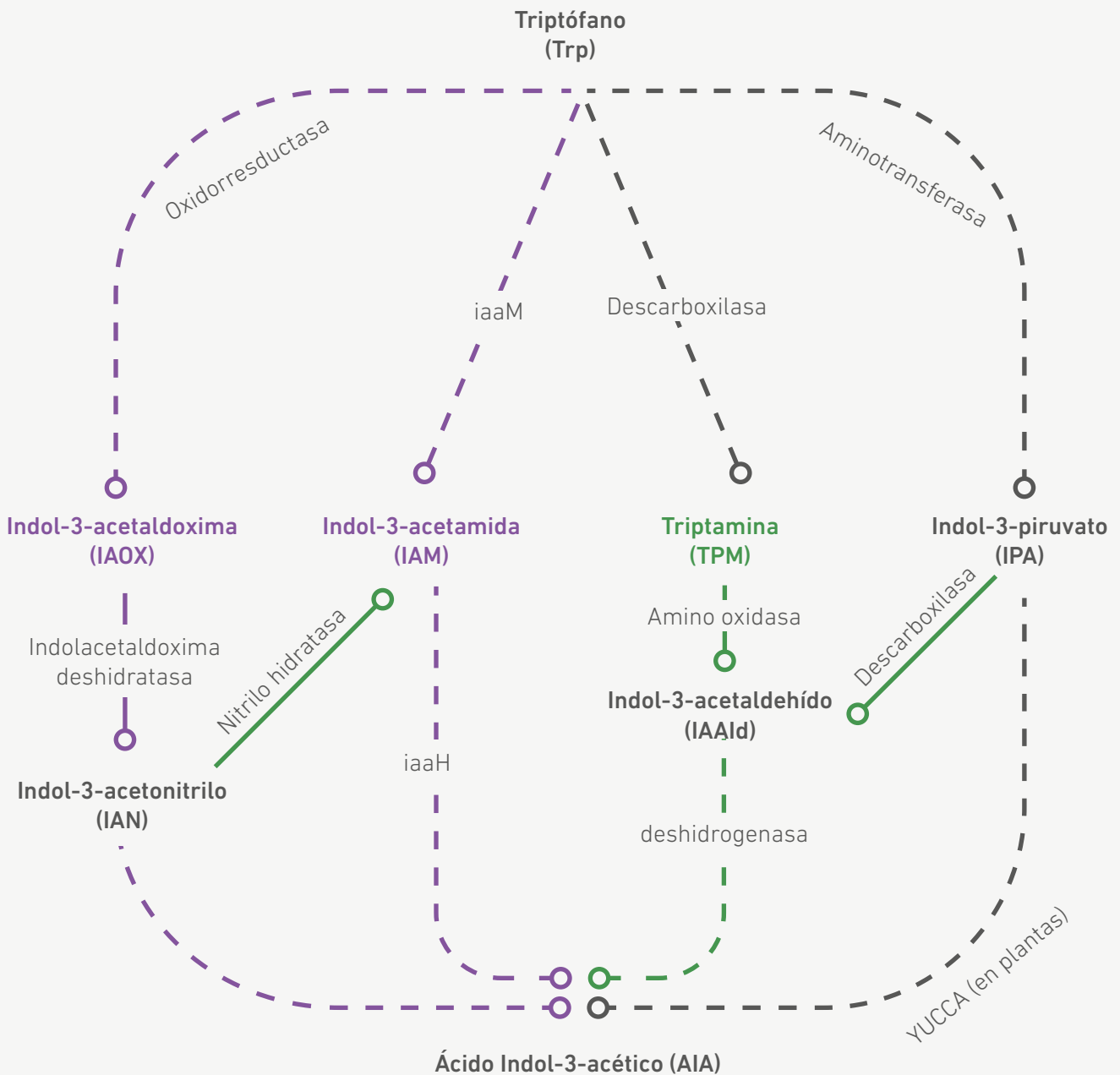
En bacterias, el AIA puede ser biosintetizado mediante dos vías: una dependiente y una independiente del L-triptófano (Patten & Glick, 1996); sin embargo, la vía independiente de triptófano todavía es elusiva en bacterias (Zhang et al., 2019).

Entre las vías dependientes en bacterias, encontramos principalmente cuatro: indol-3-piruvato (IPA), triptamina (TPM), indol-3-acetonitrilo (IAN) e indol-3-acetamida (IAM), las cuales involucran diferentes enzimas, incluyendo oxidasas, descarboxilasas, hidratatasas, oxidorreductasas y nitrilasas (Figura 3.3) (Patten & Glick, 1996; Zhang

et al., 2019). La producción de compuestos indólicos a partir de triptófano ha sido reportada en PGPB como *Azotobacter* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium* sp. y *Sinorhizobium meliloti*, entre otros (Moreno-Galván et al., 2020; Rojas-Tapias et al., 2012; Zhang et al., 2019).

■ **Figura 3.3.** Vías principales de biosíntesis de ácido indolacético (AIA) dependientes de triptófano en bacterias.

Fuente: Elaboración propia con base en Zhang et al. (2019)



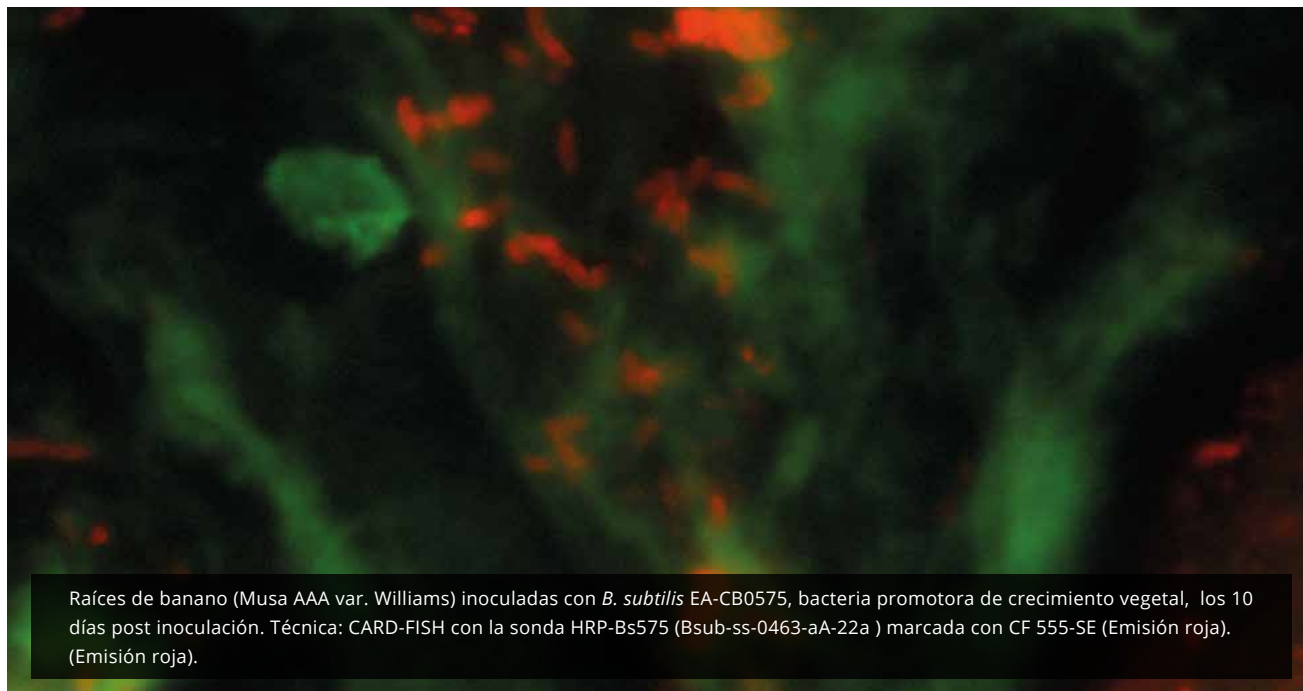


Foto: Luisa Fernanda Posada Uribe

Producción de giberelinas

Las giberelinas son otra hormona de crecimiento producida por PGPB como *Rhizobium meliloti*, *Bacillus* spp., *Azospirillum* spp., *Acetobacter diazotrophicus* y *Herbaspirillum seropedicae*, y tienen como función el desarrollo vegetativo de la planta (Bottini et al., 2004; Masciarelli et al., 2014; Ullah et al., 2019; Vejan et al., 2016). Las giberelinas reciben su nombre del hongo *Gibberella fujikuroi* y fueron identificadas por primera vez en 1926 (Arteca, 1996). Su notación se realiza mediante el símbolo GA, seguido de su numeración (GA₁, GA₂, GA₃, etc.), siendo el ácido giberélico (GA₃) la forma más activa, usualmente encontrado en forma libre o unido a glicósidos (Duca, 2015). Las giberelinas son sintetizadas en plantas mayores, hongos y bacterias, y su estructura base son ácidos diterpenoides, que consisten en residuos de isoprenos (generalmente de cuatro anillos); existen aproximadamente 136 diferentes giberelinas identificadas y caracterizadas (Gamalero & Glick, 2011).

La importancia biológica de este grupo de hormonas radica en la estimulación de la elongación del tallo (Vejan et al., 2016), el estímulo del crecimiento de la fruta, la determinación de cambios en el fotoperiodo, la participación en el cese de la dormancia de brotes y semillas, y la participación en la florescencia. Estas

hormonas, además, han sido asociadas a la promoción del crecimiento radicular, debido a que regulan la abundancia de los pelos radiculares. Sin embargo, se ha determinado que interactúan con otras hormonas en los procesos mencionados, con el fin de alterar el balance hormonal y producir crecimiento (Gamalero & Glick, 2011). Las giberelinas se han vinculado a la producción de α -amilasas, algunas proteasas, fosfatasa ácida, β -glucanasa, α -glucosidasa y ribonucleasa. Asimismo, estimulan la división celular, controlan la actividad mitótica y activan las enzimas responsables de la biosíntesis de fosfolípidos (Duca, 2015; Spaepen, 2015; Sun et al., 2019).

Producción de citoquininas

Esta hormona es de baja concentración en la mayoría de las muestras biológicas y de difícil cuantificación. Tiene una gran importancia a nivel vegetal debido a que regula la citoquinesis y ayuda en el mejoramiento de la división celular, la producción de raíces y la formación de pelos absorbentes. A pesar de la dificultad en su medición, las técnicas de radiomarcación de citoquininas han permitido determinar su ruta metabólica, y el uso de técnicas como inmunoarreglos y la cromatografía de capa fina han ayudado a caracterizar su producción por microorganismos como *Pseudomonas fluorescens* (García de Salamone et al., 2001).

Producción de ácido abscísico (ABA)

El ABA es una hormona asociada con la inducción del cierre estomático, la maduración de frutos y la inhibición de la germinación de semillas. Adicionalmente, está vinculada con la dormancia de los brotes y las respuestas de protección contra estreses abióticos como sequía, estrés por salinidad y toxicidad por metales (Sharma et al., 2019; Spaepen, 2015; Ullah et al., 2019). Desde un punto de vista fisiológico, el ABA apoya el flujo del agua en las plantas, debido a su efecto regulatorio en los estomas, e incluso algunos autores han llegado a considerar al ABA como la verdadera señal bajo condiciones de estrés hídrico (Cassán et al., 2011).

La producción bacteriana de ABA ha sido reportada para cepas de *Azospirillum brasilense*, *Azospirillum lipoferum*, *Rhizobium* spp., *Bradyrhizobium japonicum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis* y *Pseudomonas fluorescens*; sin embargo, sus vías biosintéticas siguen en estudio (Hayat et al., 2010; Ullah et al., 2019). Adicionalmente, bajo condiciones de estrés, la producción bacteriana de ABA podría sostener el pool interno de ABA en las plantas y, así, mitigar los efectos negativos generados por el estrés (Spaepen, 2015). Sin embargo, cabe resaltar que la cuantificación de ABA producido por bacterias solo se ha realizado en medios de cultivo en laboratorio (Ullah et al., 2019).

Producción de etileno

El etileno es otra de las hormonas que pueden ser producidas por PGPB. Este compuesto gaseoso es un potente regulador del crecimiento vegetal y afecta procesos como el desarrollo de raíces adventicias, la producción de pelos absorbentes y la germinación y senescencia de la planta; cuando esta hormona permanece en altas concentraciones aun después de la germinación, puede causar inhibición de la elongación radicular (Hayat et al., 2010). Glick et al. (1998) propusieron una estrecha interacción entre la concentración de AIA en las plantas y el AIA producido por las rizobacterias, la concentración de esta

hormona en la planta y la concentración de etileno, cuyo intermediario es el 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC). En este sistema, las bacterias de la rizósfera que producen AIA generan grandes cantidades de esta hormona. Una parte del AIA se emplea para la elongación y proliferación vegetal, y el exceso restante activa la ACC-sintasa, encargada de la conversión de la S-adenosilmetionina en ACC. Si se produce un exceso de ACC en la planta, la enzima ACC-oxidasa la convierte en etileno, cuya presencia en la planta podría presentar efectos secundarios. Adicionalmente, algunas PGPB pueden producir la enzima ACC-deaminasa, la cual convierte el ACC en amoníaco y α -cetobutirato, evitando su conversión a etileno. En este modelo se plantea, de esta forma, que la sobreproducción de AIA conlleva un aumento en la concentración de etileno en la planta (Glick et al., 1998).

Producción de jasmonatos (JA)

Los JA son ésteres identificados y caracterizados a partir de la flor de jazmín (*Jasminum grandiflorum*), de donde fue extraído el metil jasmonato (MeJA). Estos modulan varias funciones esenciales en el desarrollo de las plantas, desde germinación hasta crecimiento vegetativo y senescencia. Adicionalmente, los JA activan los mecanismos de defensa de las plantas en respuesta a heridas producidas por insectos, ataques de patógenos y estreses ambientales como baja temperatura, salinidad y toxicidad por metales pesados (Sharma & Laxmi, 2016). Se ha reportado la producción microbiana de ácido jasmónico y su precursor, el ácido 12-oxo-fitodienoico (OPDA), en bacterias endófitas aisladas tanto de girasol (Forchetti et al., 2007) como de la raíz del arbusto halófito *Prosopis strombulifera* (Piccoli et al., 2011), de lo cual es interesante que estos microorganismos hayan sido aislados bajo condiciones de estrés ambiental como déficit hídrico y salinidad, respectivamente. Lo anterior puede indicar que la producción de JA por estos endófitos puede estar relacionada con la mitigación de los efectos deletéreos de estreses abióticos, aunque no existe una investigación profunda sobre la biosíntesis de estos compuestos por microorganismos.

Mecanismos indirectos de promoción del crecimiento vegetal por PGPB

Las PGPB pueden reducir la acción de microorganismos fitopatógenos por medio de mecanismos como la producción de sustancias antibióticas, la producción de enzimas líticas, la producción de sideróforos o la activación de los genes de defensa, que a su vez tienen diferentes repercusiones en las actividades para enfrentar el ataque de los fitopatógenos. Estas se consideran las dos clases más importantes de mecanismos indirectos de promoción del crecimiento vegetal por PGPB (Olanrewaju et al., 2017).

Producción de antibióticos

La producción de antibióticos es posiblemente el mecanismo más poderoso que las PGPB tienen para el control de fitopatógenos. Estos microorganismos son capaces de producir una amplia gama de compuestos eficaces contra muchos patógenos (Bashan & de-Bashan, 2005). Entre los géneros de PGPB con mayor producción de antibióticos, están *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Streptomyces*. Los compuestos de las familias de fenazinas, pirrolnitrinas, pioluteorina, floroglucinoles, lipopéptidos cíclicos y cianuro de hidrógeno han sido descritos para el género *Pseudomonas* (Raaijmakers et al., 2009). La zwittermicina A, el HCN (cianuro de hidrógeno), los lipopéptidos como las surfactinas, iturinas y fengicinas, además de compuestos antibióticos volátiles como el 2,3-butanodiol, son ejemplos de antibióticos producidos por microorganismos del género *Bacillus* (Ongena & Jacques, 2008), mientras que *Streptomyces* sp. produce antibióticos de la familia kasugamicina, una amplia gama de antibióticos bien reconocidos, y otros como estreptomycin, avermectina, milbemicina, etc. (De Lima Procópio et al., 2012).

Producción de enzimas líticas

Las bacterias promotoras de crecimiento pueden producir enzimas líticas como las glucanasas, quitinasas y celulasas, las cuales degradan las paredes de los patógenos. Se han reportado investigaciones con diversos aislados productores de β -1,3, β -1,4 y β -1,6 glucanasas (Compant et al., 2005), quitina (Kavino et al., 2010), celulasas (Bashan & de-Bashan, 2005; Glick, 2012), entre otras, con el fin de controlar una diversidad de patógenos, tales como *Phytophthora cinnamomi*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, entre otros. Aunque algunas plantas son capaces de producir estas enzimas y lograr que funcionen como proteínas PR (relacionadas con la patogénesis), los microorganismos pueden ser una fuente importante de estas para el biocontrol (Ko et al., 2009).

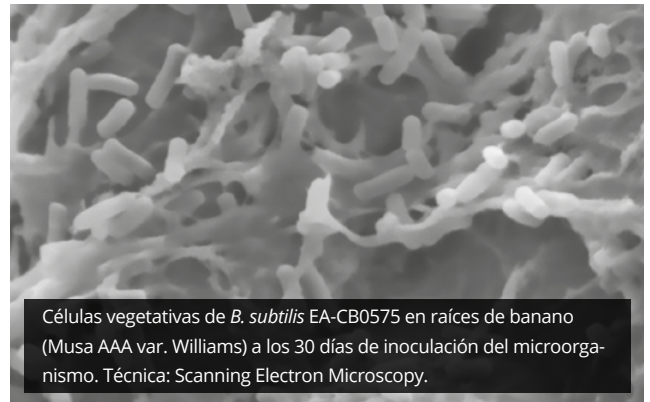
Otros metabolitos, como los compuestos volátiles acetoína y 2,3-butanodiol, además de promover el crecimiento vegetal, pueden generar biocontrol de patógenos debido a que son inductores de resistencia sistémica en la planta (Ryu et al., 2004).

Producción de sideróforos

Las plantas toman el Fe en forma de ion ferroso (Fe^{+2}), pero la forma comúnmente encontrada en el suelo es el ion férrico (Fe^{+3}) (Vessey, 2003). Algunas PGPB tienen la capacidad de solubilizar el Fe del suelo por la producción de compuestos quelantes, los cuales se denominan *sideróforos*. Estos compuestos, que son sintetizados por los microorganismos para sobrevivir, tienen pesos moleculares de entre 400 y 1.000 Da y poseen una alta afinidad con el Fe. Los sideróforos hacen disponible el Fe para el crecimiento microbiano y brindan este nutriente a la planta. Una consecuencia de este mecanismo es la reducción en la proliferación de patógenos por la competencia por nutrientes. El género más estudiado por la producción de este tipo de compuestos es *Pseudomonas* (Antoun & Prévost, 2006). Bashan y de-Bashan (2005) reportan un estudio con un mutante de *Pseudomonas putida* sobreproductor de sideróforos, el cual fue más eficiente que la bacteria silvestre en el biocontrol de *Fusarium oxysporum* en tomate, lo que brinda indicios de que la producción de sideróforos es un método de biocontrol efectivo, además porque diversos estudios posteriores lo han corroborado (Chaiharn et al., 2009; Laslo et al., 2012). Para el género *Pseudomonas* se han dilucidado compuestos sideróforos como la pioverdina (Pvd), la ferropioverdina (Pvd con hierro) y la pseudobactina. Adicionalmente, en diversos estudios con mutantes no productores y con mutantes sobreproductores de estos compuestos se ha encontrado que hay un alto potencial de biocontrol por parte de las especies que los producen (Sasirekha & Srividya, 2016).

Inducción de resistencia sistémica

Las plantas han desarrollado mecanismos complejos para reconocer y defenderse de los ataques de fitopatógenos. Por medio de ellos, se producen moléculas elicitoras de diferentes rutas de señalización de defensa vegetal. En 1991, los científicos Kloepper (Auburn University, Estados Unidos) y Schippers (Baarn, Países Bajos) descubrieron de forma independiente un mecanismo al que denominaron *resistencia sistémica inducida* (ISR, por sus siglas en inglés), que consiste en el desencadenamiento de una ruta de señalización



Células vegetativas de *B. subtilis* EA-CB0575 en raíces de banano (*Musa* AAA var. Williams) a los 30 días de inoculación del microorganismo. Técnica: Scanning Electron Microscopy.

Foto: Luisa Fernanda Posada Uribe

que mantiene a la planta alerta ante la llegada de microorganismos patógenos. Esta activación disminuye la eficiencia con la que un patógeno puede llegar a la planta y, por tanto, ayuda a reducir o evitar la enfermedad (Walters & Heil, 2007). La inducción de la resistencia sistémica confiere a las plantas una mejora en su respuesta de defensa por periodos prolongados frente a ataques de fitopatógenos, sean bacterias, virus u hongos, o frente a estímulos químicos (Pieterse et al., 2014). Para que el mecanismo exista, en la planta deben estar presentes una serie de compuestos inductores diferentes a los patogénicos, entre los que se encuentran lipopolisacáridos, sideróforos y 2,3-butanodiol. Se han descrito rutas de señalización de este mecanismo y se han evaluado diversos determinantes bacterianos que disparan las respuestas de resistencia sistémica en la planta; sin embargo, hoy en día el tema es de interés y existe un campo de investigación grande que trata de responder diversos aspectos aún no comprendidos (Ramírez & Kloepper, 2012). Este mecanismo es fenotípicamente similar a la resistencia sistémica adquirida (SAR, por sus siglas en inglés), la cual es activada por la presencia de patógenos. Mientras que para la SAR se requiere de la acumulación de ácido salicílico, para la ISR se requiere de inductores como el etileno, el ácido jasmónico u otros previamente enunciados (Bhattacharyya & Jha, 2012). El principio de este fenómeno de ISR radica en que los mecanismos de defensa están activos antes de la infección del patógeno, y de esta manera la enfermedad puede ser reducida una vez el fitopatógeno llegue a infectar. La resistencia sistémica puede ser activada por lipopolisacáridos, sideróforos, lipopéptidos, antibióticos, acil-homoseril-lactonas (AHL), compuestos volátiles como 2,3-butanodiol y acetoina. Además, formas avirulentas de los patógenos o microorganismos no patógenos son también elicitores (Ongena & Jacques, 2008; Van Loon, 2007).

Mecanismos de interacción de las PGPB y la planta

Las plantas son colonizadas por un número increíble de microorganismos que pueden alcanzar densidades mayores a las mismas células vegetales, lo que genera un “pool” asombroso de genes en la rizósfera (Mendes et al., 2013).

Diversos estudios moleculares han demostrado la existencia de cerca de 4.000 especies de microorganismos por gramo de suelo, los cuales son ecológicamente versátiles y tienen fuertes interacciones con las plantas (Bhattacharyya & Jha, 2012). Desde este punto de vista, las plantas pueden verse como superorganismos que tienen la capacidad de depositar fotosintatos hacia la esfermósfera, la filósfera, la rizósfera o la micorrizósfera y que alojan poblaciones de microorganismos que son afectadas por los metabolitos presentes en los sustratos (Mendes et al., 2013). Algunos de esos microorganismos generan efectos deletéreos a nivel vegetal, es decir, pueden inhibir el crecimiento por producción de compuestos que alteran el ciclo productivo vegetal, como en el caso del etileno (Nehl et al., 1997); otros, denominados *neutros*, no producen un efecto significativo, y otros generan un efecto positivo en el crecimiento de la planta. Son estos últimos microorganismos en los que se enfoca este trabajo, pues promueven el crecimiento de la planta y pueden inducir su sanidad.

Las plantas exudan una gran cantidad de nutrientes por medio de sus raíces; por ejemplo, entre el 10 y el 44 % del carbono que las plantas consumen se libera al suelo. Estos exudados son en su mayor proporción ácido glutámico, ácido aspártico, leucina, isoleucina, lisina, entre otros aminoácidos; ácidos orgánicos como el ácido málico, cítrico, succínico, entre otros, y azúcares como glucosa y xilosa. Estos exudados atraen una gran cantidad de microorganismos que generan rizodepósitos alrededor de las raíces, con una concentración que puede llegar a ser 1.000 veces mayor que en el suelo (Bais et al., 2004; Lugtenberg & Kamilova, 2009). Allí, en estas zonas de alta concentración de nutrientes, las bacterias se desarrollan, colonizan las raíces y generan importantes interacciones con las plantas, entre las que se resalta la colonización de microorganismos promotores de crecimiento (como las PGPB), los cuales pueden producir aumento en el vigor, la sanidad o la productividad del cultivo, además de resistencia a diferentes condiciones de estrés biótico o abiótico (Bais et al., 2004). Asimismo, se ha reportado el efecto de muchos de los exudados de la raíz en la quimiotaxis con la planta, especialmente por ácidos orgánicos como el málico, pero existe una dependencia de los diferentes compuestos exudados y de la selección de la microbiota reclutada hacia la planta (Rudrappa et al., 2008). Una vez reclutados, estos microorganismos comienzan un proceso de colonización en el cual se forman biopelículas, que dependen de la secreción de compuestos orgánicos en forma diferencial en la longitud de la raíz.

La colonización de las raíces de las plantas por los microorganismos allí presentes incluye pasos de reconocimiento, adherencia, invasión, colonización y, finalmente, crecimiento de la población. En el caso del proceso de reconocimiento, las raíces de las plantas generan señales químicas que

son detectadas por los microorganismos, y estos desencadenan, a su vez, otras señales para el inicio de la colonización (Bais et al., 2006; Berg, 2009). La invasión, por su parte, se presenta solamente si el microorganismo que coloniza es un endófito o un patógeno. Existen diversos estudios de colonización de microorganismos en suelo y rizósfera; sin embargo, la gran mayoría se ha enfocado en bacterias Gram-negativas, como *Pseudomonas* spp., siendo menor la cantidad de los reportes en bacterias Gram-positivas, como *Bacillus* spp., aunque estos estudios ya están en desarrollo (Posada et al., 2018).

Los patrones de colonización o distribución de los microorganismos promotores del crecimiento han sido previamente estudiados para diversos sistemas planta-microorganismo (Dietel et al., 2013; Posada et al., 2016; Sharma et al., 2008), por medio de metodologías como inserción del gen de fluorescencia verde (GFP, por sus siglas en inglés) o sus derivados, o de genes reporteros, como el *LacZ*, para la β -galactosidasa, o el *GUS*, para la β -glucuronidasa (Choudhary & Johri, 2009; Fan et al., 2011; Liu et al., 2006). En el caso de los *Bacillus*, el uso de GFP también ha sido una alternativa; sin embargo, la falta de estabilidad del gen y la generación de mutantes con problemas en actividad han hecho que otras metodologías como FISH (*fluorescence in situ hybridization*) y RING-FISH (*recognition of individual genes-fluorescence in situ hybridization*) empiecen a ganar terreno (De-Bashan et al., 2010; Posada et al., 2018). Estas metodologías han permitido determinar que los microorganismos colonizan las raíces de las plantas principalmente en tres zonas: la punta de la raíz y las zonas de elongación, las zonas de emergencia de raíces laterales y los puntos de emergencia axiales en las raíces laterales. La punta de la raíz es la zona predominante de colonización, debido a la producción de una mayor cantidad de exudados carbonados a causa del desencapsulamiento en la cofia (Hawes et al., 2000). Sin embargo, estos patrones pueden variar de planta a planta y de acuerdo con los exudados que se encuentren en las raíces (Fan et al., 2011). Así, la formación de biopelícula se presentará en forma diferencial a lo largo de la raíz, debido a gradientes en la secreción de exudados (Rudrappa et al., 2008). La colonización rizosférica se da por medio de diferentes mecanismos, algunos de los cuales se presentan a continuación.

Producción de biopelícula

El mecanismo más importante de colonización en la rizósfera es la producción de biopelícula. Para entender el concepto, es necesario aclarar que nuestra percepción de *bacteria* está profundamente arraigada al paradigma del cultivo puro, pero las bacterias no se encuentran individualmente, sino en poblaciones o comunidades que cada día son más fáciles de visualizar para el hombre, debido a los avances en la microscopía y la biología molecular. Esto ha permitido determinar que las bacterias se comportan como un consorcio cooperativo, en el cual funcionan de forma coordinada y compleja (Davey & O'toole, 2000; Vlamakis et al., 2013). Este grupo o consorcio de microorganismos está asociado a productos extracelulares que permiten su anclaje en

Estas metodologías han permitido determinar que los microorganismos colonizan las raíces de las plantas principalmente en tres zonas: la punta de la raíz y las zonas de elongación, las zonas de emergencia de raíces laterales y los puntos de emergencia axiales en las raíces laterales.

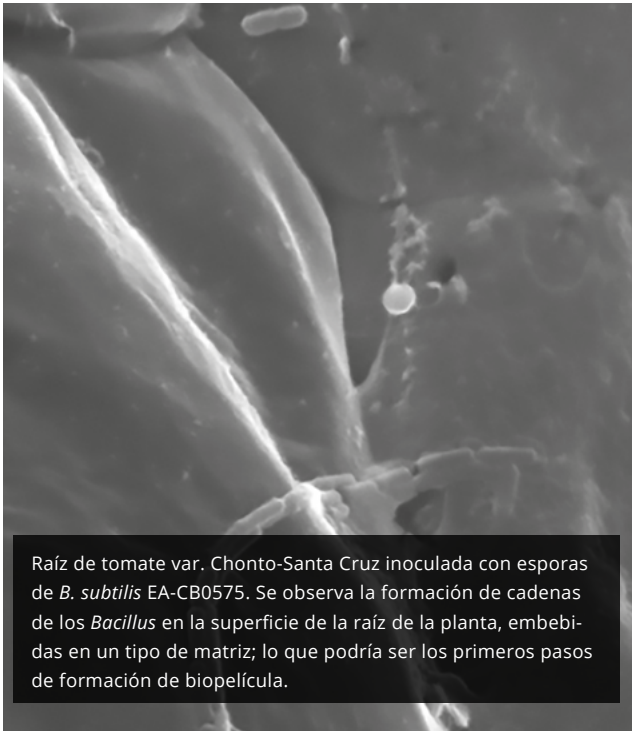
superficies bióticas o abióticas, y, en el caso específico de la rizósfera, las biopelículas suelen formarse en agregados de suelo o en las raíces de las plantas, donde las microcolonias son las unidades básicas de crecimiento (Seneviratne et al., 2011; Wang et al., 2019). La colonización de la superficie de las raíces es similar a la colonización de superficies abióticas, y, allí, la formación de la biopelícula es el fenómeno que permite la adherencia de estas microcolonias (Beauregard, 2015). La producción de biopelícula está directamente relacionada con la presencia de sustancias como proteínas, metabolitos secundarios, ácidos orgánicos y péptidos, que inician la cadena de señales para el desencadenamiento de la expresión génica (Berg, 2009). Las biopelículas microbianas están formadas por células que se encuentran embebidas en una matriz proteica, con exopolisacáridos (EPS) y ácidos nucleicos, como el ADN, la cual se forma por

los compuestos que las mismas bacterias producen. Los microorganismos que constituyen esta matriz son motiles, no motiles o esporas, y su presencia en la biopelícula les permite a las células expandirse en las superficies, extenderse, tomar nutrientes y, a su vez, continuar la producción de sustancias químicas, como las proteínas TasA y BslA, las cuales polimerizan fibras amiloides y brindan la naturaleza hidrofóbica a la superficie en la que se encuentran (Branda et al., 2006; Vlamakis et al., 2013). La producción de biopelícula se relaciona con la capacidad de diferentes cepas de *Bacillus* para colonizar las raíces de las plantas, y su relación ha sido previamente estudiada *in vitro* e *in vivo* (Zhang et al., 2015). Además, diferentes reportes bibliográficos indican que, al mutar genes relacionados con la formación de las biopelículas, se reduce o se pierde por completo la capacidad de colonizar las raíces (Bais et al., 2004; Zhou et al., 2016).



Raíz de banano (*Musa* AAA var. Williams) inoculada con esporas de *B. subtilis* EA-CB0575, las cuales se observan ya germinadas como células vegetativas en la raíz a los 15 días post inoculación. La zona donde se observan los microorganismos corresponde a la parte superior de una raíz primaria de banano. Se empleó la técnica CARD-FISH con la sonda HRP-Bs575 (Bsub-ss-0463-aA-22a) marcada con CF 555-SE (Emisión roja) y contraste con DAPI (emisión azul).

Foto: Luisa Fernanda Posada Uribe



Raíz de tomate var. Chonto-Santa Cruz inoculada con esporas de *B. subtilis* EA-CB0575. Se observa la formación de cadenas de los *Bacillus* en la superficie de la raíz de la planta, embebidas en un tipo de matriz; lo que podría ser los primeros pasos de formación de biopelícula.

Foto: Luisa Fernanda Posada Uribe

Producción de enzimas y *quorum sensing* (QS)

El proceso de producción de biopelícula se lleva a cabo por la comunicación química bacteriana existente en zonas como la rizósfera, donde se regula la expresión de diversos genes de acuerdo con la densidad poblacional de microorganismos, por un proceso denominado *quorum sensing* (QS) (Seneviratne et al., 2011). El QS afecta procesos como la transferencia horizontal de genes, la producción de toxinas y antibióticos, la maceración de tejidos y la ya enunciada producción de biopelícula. Este proceso está mediado por moléculas señal como la acil-homoseril-lactona (AHL), gama-butirolactonas y el ácido cis-11-metil-2-dodecanoico (DSF), en bacterias Gram-negativas, y por moléculas como oligopéptidos y gama-butirolactonas sustituidas, en bacterias Gram-positivas. Además, en ambos grupos se ha encontrado que la feromona LuxS es un intermediario común *sensing* (Seneviratne et al., 2011). En el caso de las bacterias presentes en la rizósfera, el tipo de suelo donde se inoculan suele ser determinante para que el QS se presente, debido a que

en algunos tipos de suelos se encuentran enzimas que pueden impedir este proceso al interrumpir la cadena de señalización por la degradación de las moléculas señal, proceso que se denomina *quorum quenching* (QQ). Enzimas como las acil-homoserin-lactonasas y las AHL acilasas tienen esta capacidad, ya sea por el rompimiento del anillo lactona de las moléculas señal AHL o por la degradación del enlace amida de las AHL. En el primer caso, se produce acil-homoserina, la cual tiene baja actividad biológica, y en el segundo, se generan homoserinlactona y ácidos grasos, también con poca actividad (Kumar et al., 2011).

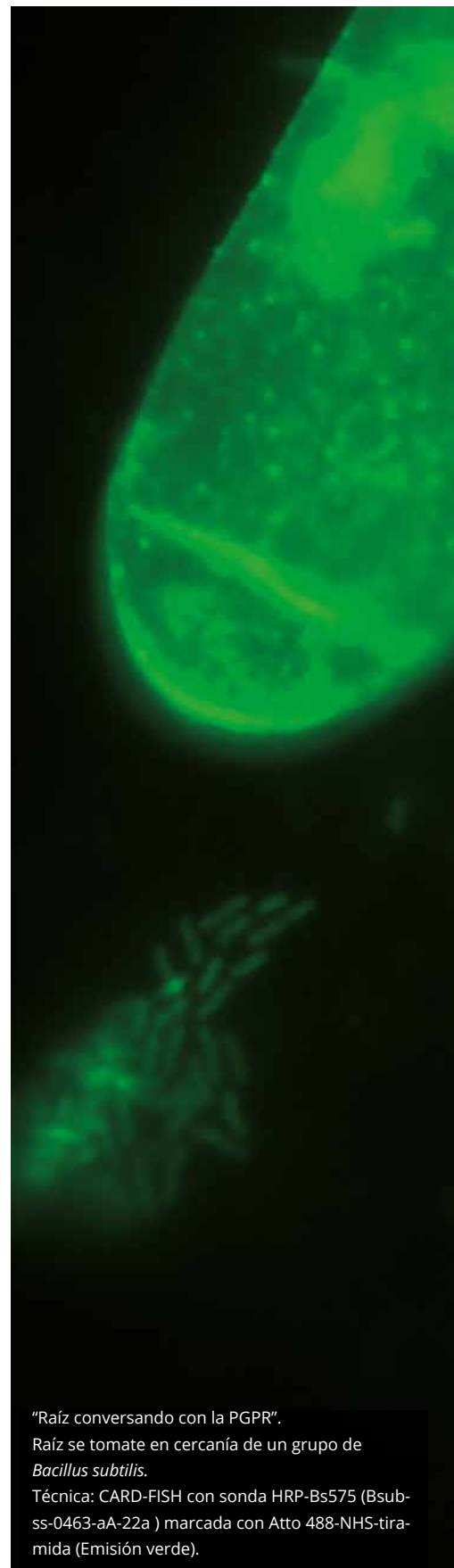
Producción de lipopéptidos

Diversas sustancias como los lipopéptidos también han sido relacionadas con la colonización de los microorganismos en la rizósfera. Varios reportes científicos han mostrado que los microorganismos del género *Bacillus* son muy versátiles en la producción de sustancias lipopeptídicas que median en la formación de biopelículas y en la colonización de la rizósfera, además de la activación de defensas en la planta. Estas moléculas están compuestas de un anillo cíclico-peptídico que a su vez se une a una cadena acil de carbonos lipídicos; de acuerdo con sus propiedades, los lipopéptidos se agrupan en tres familias principales: las surfactinas, las iturinas y las fengicinas, cada una de ellas con características bioquímicas y antimicrobiales diferentes (Ongena & Jacques, 2008). De estas familias, las surfactinas son predominantemente estudiadas en el campo de la colonización microbiana en la rizósfera (Bais et al., 2004; Nihorimbere et al., 2012; Pertot et al., 2013). Además, se conoce que, en general, la producción de lipopéptidos por el género *Bacillus* juega un rol muy importante en la habilidad de estos microorganismos para difundirse y colonizar las raíces de las plantas y otras superficies. Para la colonización microbiana en la rizósfera, el aporte de estos compuestos radica en la reducción de la tensión superficial del agua, lo que permite la movilidad de los microorganismos (Ongena & Jacques, 2008). En el agar, los microorganismos productores de estas sustancias generan movimientos

coordinados y patrones de crecimiento secuenciales y organizados que permiten ver colonias ordenadas y con crecimiento concéntrico (Rudrappa et al., 2008). Las surfactinas se han relacionado con los procesos de colonización por PGPB en la raíz de las plantas (Bais et al., 2004), y se ha encontrado, además, que ayudan a la motilidad de las células, especialmente en el desplazamiento de los microorganismos en sus nichos (Kearns et al., 2004). Asimismo, se ha reportado que estos lipopéptidos son reconocidos por las células vegetales y pueden mediar en procesos de defensa de las plantas ante fitopatógenos, razón por la cual se han incluido en el grupo de los MAMP (*microbe-associated molecular patterns*), junto con otros lipopéptidos como las fengicinas (Chandler et al., 2015). Además, se conoce que pueden elicitar procesos como la resistencia sistémica, en la cual se hace un *priming* en la planta, para estar preparados contra y contraponerse a la infección cuando los patógenos lleguen (Nihorimbere et al., 2012). Sin embargo, la detección de surfactinas —y en general de lipopéptidos— en el suelo es muy compleja, debido a la adsorción de metabolitos en las partículas del suelo, por lo que se prefieren estudios en hidroponía o en medio de cultivo sintético (Pertot et al., 2013).

Movimientos bacterianos, colonización y quimióstasis

Los movimientos que permiten el desplazamiento de las bacterias en la zona adyacente a la raíz y en el medio sintético son *swimming*, *swarming*, *twitching*, *gliding* y *spreading*, todos designados con palabras en inglés, pues permiten su recordación. La diferencia entre estos tipos de movimientos radica en la forma como la bacteria se mueve, el medio en el que lo hace y las estructuras que emplea. El *swimming* se da debido a un movimiento flagelar único en medio líquido o semilíquido; por su parte, el *swarming* hace referencia a un movimiento flagelar en medio sólido-semisólido; el *twitching* es un movimiento que se da debido a los pulsos que generan los direccionamientos de las fimbrias o cilias, en bacterias tanto flagelares como no flagelares; el *gliding* es un movimiento de bacterias sin pili, flagelos o fimbrias que se da por el deslizamiento del microorganismo en medios con componentes que permiten su desplazamiento, como los polisacáridos, y, finalmente, el *spreading* o *sliding* se presenta cuando las bacterias se resbalan al exterior de la colonia debido a la reducción de la tensión superficial en el medio, lo que genera patrones de crecimiento regulares y uniformes (Kearns, 2010). Estos movimientos permiten que los microorganismos se recluten en las raíces de las plantas y procedan a la colonización. La motilidad por *swarming* se ha identificado como un rasgo esencial del género *Bacillus* para la supervivencia en diversos ambientes, y se ha determinado que diversos ácidos orgánicos de los exudados mejoran la motilidad de los microorganismos y, de esta manera, su colonización en la rizósfera (Tan et al., 2013).



“Raíz conversando con la PGPR”.

Raíz se tomate en cercanía de un grupo de *Bacillus subtilis*.

Técnica: CARD-FISH con sonda HRP-Bs575 (Bsub-ss-0463-aA-22a) marcada con Atto 488-NHS-tiramida (Emisión verde).

Foto: Luisa Fernanda Posada Uribe

Referencias

- Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. S. (2005). Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turkish Journal of Biology*, 29(1), 29-34. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/121463>
- Antoun, H., & Prévost, D. (2006). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. En Z. A. Siddiqui (ed.), *PGPR: Biocontrol and biofertilization* (pp. 1-38). Springer. https://doi.org/10.1007/1-4020-4152-7_1
- Archana, D. S., Nandish, M. S., Savalagi, V. P., & Alagawadi, A. R. (2012). Screening of potassium solubilizing bacteria (KSB) for plant growth promotional activity. *Bioinfolet*, 9(4), 627-630. https://www.researchgate.net/publication/284757144_Screening_of_potassium_solubilizing_bacteria_KSB_for_plant_growth_promotional_activity
- Arteca, R. N. (1996). Historical aspects and fundamental terms and concepts. En R. N. Arteta (ed.), *Plant growth substances: Principles and applications* (pp. 1-27). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2451-6_1
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S., & Smith, D. L. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria: Context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 9, artículo 1473. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
- Bais, H. P., Fall, R., & Vivanco, J. M. (2004). Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of arabidopsis roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant Physiology*, 134(1), 307-319. <https://doi.org/10.1104/pp.103.028712>
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57(1), 233-266. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159>
- Barea, J. M., Azcón, R., & Azcón-Aguilar, C. (2005). Interactions between mycorrhizal fungi and bacteria to improve plant nutrient cycling and soil structure. En A. Varma, & F. Buscot (eds.), *Microorganisms in soils: Roles in genesis and functions* (pp. 195-212). Springer.
- Basak, B., & Biswas, D. (2012). *Modification of waste mica for alternative source of potassium: Evaluation of potassium release in soil from waste mica treated with potassium solubilizing bacteria (ksb)*. Lambert Academic Publishing.
- Bashan, Y., & de-Bashan, L. E. (2005). Bacteria/plant growth-promotion. En D. Hillel (ed.), *Encyclopedia of soils in the environment* (vol. 1, pp. 103-115). Elsevier.
- Bashan, Y., & de-Bashan, L. E. (2010). Chapter two - How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—A critical assessment. En D. L. Sparks (ed.), *Advances in agronomy* (vol. 108, pp. 77-136). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)08002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)08002-8)
- Bashan, Y., & Holguin, G. (1998). Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: Biocontrol-PGPB (Plant Growth-Promoting Bacteria) and PGPB. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(8), 1.225-1.228. <https://europepmc.org/article/agr/ind21969784>
- Bashan, Y., Singh, M., & Levanony, H. (1989). Contribution of *Azospirillum brasilense* Cd to growth of tomato seedlings is not through nitrogen fixation. *Canadian Journal of Botany*, 67(8), 2.429-2.434. <https://doi.org/10.1139/b89-312>
- Beauregard, P. B. (2015). Chapter one - Not just sweet talkers: How roots stimulate their colonization by beneficial bacteria. En H. Bais, & J. Sherrier (eds.), *Advances in botanical research* (vol. 75, pp. 1-20). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2015.07.001>
- Berg, G. (2009). Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: Perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84(1), 11-18. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2092-7>
- Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1.327-1.350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- Bottini, R., Cassán, F., & Piccoli, P. (2004). Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65(5), 497-503. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1696-1>
- Branda, S. S., Chu, F., Kearns, D. B., Losick, R., & Kolter, R. (2006). A major protein component of the *Bacillus subtilis* biofilm matrix. *Molecular Microbiology*, 59(4), 1.229-1.238. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.05020.x>
- Cassán, F., Perrig, D., Sgroy, V., & Luna, V. (2011). Basic and technological aspects of phytohormone production by microorganisms: *Azospirillum* sp. as a model of plant growth promoting rhizobacteria. En D. K. Maheshwari (ed.), *Bacteria in agrobiology: Plant nutrient management* (pp. 141-182). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-21061-7_7
- Chaiharn, M., Chunchaleuchanon, S., & Lumyong, S. (2009). Screening siderophore producing bacteria as potential biological control agent for fungal rice pathogens in Thailand. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(11), 1.919-1.928. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0090-7>
- Chandler, S., Van Hese, N., Coutte, F., Jacques, P., Höfte, M., & De Vleeschauwer, D. (2015). Role of cyclic lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* in mounting induced immunity in rice (*Oryza*

- sativa* L.). *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 91, 20-30. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2015.05.010>
- Chen, Y. P., Rekha, P. D., Arun, A. B., Shen, F. T., Lai, W.-A., & Young, C. C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*, 34(1), 33-41. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2005.12.002>
- Choudhary, D. K., & Johri, B. N. (2009). Interactions of *Bacillus* spp. and plants – With special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*, 164(5), 493-513. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2008.08.007>
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., & Barka, E. A. (2005). Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 4.951-4.959. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>
- Davey, M. E., & O'toole, G. A. (2000). Microbial biofilms: From ecology to molecular genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(4), 847-867. <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.4.847-867.2000>
- De Lima Procópio, R. E., da Silva, I. R., Martins, M. K., de Azevedo, J. L., & de Araújo, J. M. (2012). Antibiotics produced by *Streptomyces*. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 16(5), 466-471. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2012.08.014>
- De-Bashan, L. E., Hernandez, J.-P., Bashan, Y., & Maier, R. M. (2010). *Bacillus pumilus* ES4: Candidate plant growth-promoting bacterium to enhance establishment of plants in mine tailings. *Environmental and Experimental Botany*, 69(3), 343-352. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.04.014>
- Dietel, K., Beator, B., Budiharjo, A., Fan, B., & Borriss, R. (2013). Bacterial traits involved in colonization of *Arabidopsis thaliana* roots by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *The Plant Pathology Journal*, 29(1), 59-66. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.10.2012.0155>
- Dobereiner, J., & Day, J. M. (1976). Associative symbioses in tropical grasses: Characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. En W. E. Newton, & C. J. N. Nyman (eds.), *Proceedings of the 1st International Symposium on Nitrogen Fixation* (pp. 518-538). Washington State University Press.
- Duca, M. (2015). *Plant physiology* (5.ª ed.). Springer.
- Egamberdieva, D., Wirth, S. J., Alqarawi, A. A., Abd_Allah, E. F., & Hashem, A. (2017). Phytohormones and beneficial microbes: Essential components for plants to balance stress and fitness. *Frontiers in Microbiology*, 8, artículo 2104. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02104>
- Estrada-Bonilla, G. A., Durrer, A., Cardoso, E. J. B. N. (2021). Use of compost and phosphate-solubilizing bacteria affect sugarcane mineral nutrition, phosphorus availability, and the soil bacterial community. *Applied Soil Ecology*, 157, artículo 103760. <http://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103760>
- Fan, B., Chen, X. H., Budiharjo, A., Bleiss, W., Vater, J., & Borriss, R. (2011). Efficient colonization of plant roots by the plant growth promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42, engineered to express green fluorescent protein. *Journal of Biotechnology*, 151(4), 303-311. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.12.022>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2002). *Manual on integrated soil management and conservation practices*. <http://www.fao.org/3/x4799e/x4799e.pdf>
- Forchetti, G., Masciarelli, O., Alemano, S., Alvarez, D., & Abdala, G. (2007). Endophytic bacteria in sunflower (*Helianthus annuus* L.): Isolation, characterization, and production of jasmonates and abscisic acid in culture medium. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 76(5), 1.145-1.152. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1077-7>
- Gamalero, E., & Glick, B. R. (2011). Mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. En D. K. Maheshwari (ed.), *Bacteria in agrobiología: Plant nutrient management* (pp. 17-46). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-21061-7_2
- García de Salamone, I. E., Hynes, R. K., & Nelson, L. M. (2001). Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(5), 404-411. <https://doi.org/10.1139/w01-029>
- 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., Pasternak, J. J., & Patten, C. L. (2010). *Molecular biotechnology: Principles and applications of recombinant DNA* (4.ª ed.). ASM Press.
- Glick, B. R., Penrose, D. M., & Li, J. (1998). A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology*, 190(1), 63-68. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1997.0532>
- Goldstein, A. H., Rogers, R. D., & Mead, G. (1993). Separating phosphate from ores via bioprocessing. *Biotechnology*, 11, 1.250-1.254.
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., & Singh, V. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Current and future prospects for development of sustainable agriculture. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 7(2), 96-102. <https://www.longdom.org/abstract/plant-growth-promoting-rhizobacteria-pgpr-current-and-future-prospects-for-development-of-sustainable-agriculture-11186.html>
- Halder, A. K., Mishra, A. K., Bhattacharyya, P., & Chakrabarty, P. K. (1990). Solubilization of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 36(2), 81-92. <https://doi.org/10.2323/jgam.36.81>
- Hassan, M. K., McInroy, J. A., & Kloepper, J. W. (2019). The interactions of rhizodeposits with plant growth-promoting rhizobacteria in the rhizosphere: A review. *Agriculture*, 9(142). <https://doi.org/10.3390/agriculture9070142>

- Hawes, M. C., Gunawardena, U., Miyasaka, S., & Zhao, X. (2000). The role of root border cells in plant defense. *Trends in Plant Science*, 5(3), 128-133. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01556-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01556-9)
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., & Ahmed, I. (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: A review. *Annals of Microbiology*, 60(4), 579-598. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0117-1>
- Hoffman, B. M., Lukoyanov, D., Yang, Z.-Y., Dean, D. R., & Seefeldt, L. C. (2014). Mechanism of nitrogen fixation by nitrogenase: The next stage. *Chemical Reviews*, 114(8), 4.041-4.062. <https://doi.org/10.1021/cr400641x>
- Illmer, P., & Schinner, F. (1992). Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 24(4), 389-395. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(92\)90199-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(92)90199-8)
- Kang, S.-M., Shahzad, R., Bilal, S., Khan, A. L., Park, Y.-G., Lee, K.-E., Asaf, S., Khan, M. A., & Lee, I.-J. (2019). Indole-3-acetic-acid and ACC deaminase producing *Leclercia adecarboxylata* MO1 improves *Solanum lycopersicum* L. growth and salinity stress tolerance by endogenous secondary metabolites regulation. *BMC Microbiology*, 19(1), artículo 80. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1450-6>
- Kavino, M., Harish, S., Kumar, N., Saravanakumar, D., & Samiyappan, R. (2010). Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa* spp.) under field conditions. *Applied Soil Ecology*, 45(2), 71-77. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.02.003>
- Kearns, D. B. (2010). A field guide to bacterial swarming motility. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 634-644. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2405>
- Kearns, D. B., Chu, F., Rudner, R., & Losick, R. (2004). Genes governing swarming in *Bacillus subtilis* and evidence for a phase variation mechanism controlling surface motility. *Molecular Microbiology*, 52(2), 357-369. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.03996.x>
- Kim, K. Y., Jordan, D., & McDonald, G. A. (1998). *Enterobacter agglomerans*, phosphate solubilizing bacteria, and microbial activity in soil: Effect of carbon sources. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(8-9), 995-1.003. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(98\)00007-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(98)00007-8)
- Kloepper, J. W., & Schroth, M. N. (1978). Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. En Station de Pathologie Végétale et Phytobactériologie (ed.), *Proceedings of the IV International Conference on Plant Pathogenic Bacteria* (pp. 879-882). https://www.researchgate.net/publication/284682983_Plant_growth-promoting_rhizobacteria_on_radishes_IV_international_conference_on_plant_pathogenic_bacteria#:~:text=The%20term%20Plant%20growth%20promoting,Jha%20and%20Saraf%2C%202015.
- Kloepper, J. W., Schroth, M. N., & Miller, T. D. (1980). Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology*, 70(11), 1.078-1.082. <https://doi.org/10.1094/Phyto-70-1078>
- Ko, H.-S., Jin, R.-D., Krishnan, H. B., Lee, S.-B., & Kim, K.-Y. (2009). Biocontrol ability of *Lysobacter antibioticus* HS124 against *Phytophthora* blight is mediated by the production of 4-Hydroxyphenylacetic acid and several lytic enzymes. *Current Microbiology*, 59(6), 608-615. <https://doi.org/10.1007/s00284-009-9481-0>
- Kucey, R. M. N. (1988). Effect of *Penicillium bilaji* on the solubility and uptake of P and micronutrients from soil by wheat. *Canadian Journal of Soil Science*, 68(2), 261-270. <https://doi.org/10.4141/cjss88-026>
- Kumar, A., Prakash, A., & Johri, B. N. (2011). *Bacillus* as PGPR in crop ecosystem. En D. K. Maheshwari (ed.), *Bacteria in agrobiology: Crop ecosystems* (pp. 37-59). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-18357-7_2
- Ladha, J. K., & Reddy, P. M. (2003). Nitrogen fixation in rice systems: State of knowledge and future prospects. *Plant and Soil*, 252(1), 151-167. <https://doi.org/10.1023/A:1024175307238>
- Lasto, E., György, É., Gyöngyvér, M., Tamás, É., Ábrahám, B., & Lányi, S. (2012). Screening of plant growth promoting rhizobacteria as potential microbial inoculants. *Crop Protection*, 40, 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.05.002>
- Li, W. C., Ye, Z. H., & Wong, M. H. (2010). Metal mobilization and production of short-chain organic acids by rhizosphere bacteria associated with a Cd/Zn hyperaccumulating plant, *Sedum alfredii*. *Plant and Soil*, 326(1), 453-467. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0025-y>
- Lian, B., Fu, P. Q., Mo, D. M., & Liu, C.-Q. (2002). A comprehensive review of the mechanism of potassium releasing by silicate bacteria. *Acta Mineralogica Sinica*, 22(2), 179-183. https://www.researchgate.net/publication/284547861_A_comprehensive_review_of_the_mechanism_of_potassium_releasing_by_silicate_bacteria
- Liu, D., Lian, B., & Dong, H. (2012). Isolation of *Paenibacillus* sp. and assessment of its potential for enhancing mineral weathering. *Geomicrobiology Journal*, 29(5), 413-421. <https://doi.org/10.1080/01490451.2011.576602>
- Liu, S. T., Lee, L. Y., Tai, C. Y., Hung, C. H., Chang, Y. S., Wolfram, J. H., Rogers, R., & Goldstein, A. H. (1992). Cloning of an *Erwinia herbicola* gene necessary for gluconic acid production and enhanced mineral phosphate solubilization in *Escherichia coli* HB101: Nucleotide sequence and probable involvement in biosynthesis of the coenzyme pyrroloquinoline quinone. *Journal of Bacteriology*, 174(18), 5.814-5.819. <https://doi.org/10.1128/jb.174.18.5814-5819.1992>
- Liu, X., Zhao, H., & Chen, S. (2006). Colonization of maize and rice plants by strain *Bacillus megaterium* C4. *Current Microbiology*, 52(3), 186-190. <https://doi.org/10.1007/s00284-005-0162-3>
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63(1), 541-556. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>
- Marra, L. M., de Oliveira-Longatti, S. M., Soares, C. R. F. S., de Lima, J. M., Olivares, F. L., & Moreira, F. M. S. (2015). Initial pH of medium affects organic acids production but do not affect phosphate solubilization. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(2), 367-375. <https://doi.org/10.1590/S1517-838246246220131102>

- Masciarelli, O., Llanes, A., & Luna, V. (2014). A new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation. *Microbiological Research*, 169(7), 609-615. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.10.001>
- McAfee, J. (2008). Potassium, a key nutrient for plant growth. *Department of Soil and Crop Sciences*.
- Meena, V. S., Maurya, B. R., & Verma, J. P. (2014). Does a rhizospheric microorganism enhance K⁺ availability in agricultural soils? *Microbiological Research*, 169(5-6), 337-347. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.003>
- Mendes, R., Garbeva, P., & Raaijmakers, J. M. (2013). The rhizosphere microbiome: Significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 634-663. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>
- Merrick, M. J. (2005). Regulation of nitrogen fixation in free-living diazotrophs. En W. Klipp, B. Masepohl, J. R. Gallon, & W. E. Newton (eds.), *Genetics and regulation of nitrogen fixation in free-living bacteria* (pp. 197-223). Springer. https://doi.org/10.1007/1-4020-2179-8_9
- Moreno Reséndez, A., García Mendoza, V., Reyes Carrillo, J. L., Vásquez Arroyo, J., & Cano Ríos, P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1), 68-83. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707>
- Moreno-Galván, A., Romero-Perdomo, F. A., Estrada-Bonilla, G., Meneses, C. H. S. G., & Bonilla, R. R. (2020). Dry-Caribbean *Bacillus* spp. strains ameliorate drought stress in maize by a strain-specific antioxidant response modulation. *Microorganisms*, 8(6), artículo 823. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060823>
- Nehl, D. B., Allen, S. J., & Brown, J. F. (1997). Deleterious rhizosphere bacteria: An integrating perspective. *Applied Soil Ecology*, 5(1), 1-20. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(96\)00124-2](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(96)00124-2)
- Nihorimbere, V., Cawoy, H., Seyer, A., Brunelle, A., Thonart, P., & Ongena, M. (2012). Impact of rhizosphere factors on cyclic lipopeptide signature from the plant beneficial strain *Bacillus amyloliquefaciens* S499. *FEMS Microbiology Ecology*, 79(1), 176-191. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01208.x>
- Ochoa-Loza, F. J., Artiola, J. F., & Maier, R. M. (2001). Stability constants for the complexation of various metals with a rhamnolipid biosurfactant. *Journal of Environmental Quality*, 30(2), 479-485. <https://doi.org/10.2134/jeq2001.302479x>
- Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(11), artículo 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>
- Ongena, M., & Jacques, P. (2008). *Bacillus* lipopeptides: Versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*, 16(3), 115-125. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.12.009>
- Paredes-Mendoza, M., & Espinosa-Victoria, D. (2010). Ácidos orgánicos producidos por rizobacterias que solubilizan fosfato: una revisión crítica. *Terra Latinoamericana*, 28(1), 61-70. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792010000100007
- Patten, C. L., & Glick, B. R. (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology*, 42(3), 207-220. <https://doi.org/10.1139/m96-032>
- Patten, C. L., & Glick, B. R. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(8), 3.795-3.801. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.8.3795-3801.2002>
- Pertot, I., Puopolo, G., Hosni, T., Pedrotti, L., Jourdan, E., & Ongena, M. (2013). Limited impact of abiotic stress on surfactin production *in planta* and on disease resistance induced by *Bacillus amyloliquefaciens* S499 in tomato and bean. *FEMS Microbiology Ecology*, 86(3), 505-519. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12177>
- Piccoli, P., Travaglia, C., Cohen, A., Sosa, L., Cornejo, P., Masuelli, R., & Bottini, R. (2011). An endophytic bacterium isolated from roots of the halophyte *Prosopis strombulifera* produces ABA, IAA, gibberellins A₁ and A₃ and jasmonic acid in chemically-defined culture medium. *Plant Growth Regulation*, 64(2), 207-210. <https://doi.org/10.1007/s10725-010-9536-z>
- Pieterse, C. M. J., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C. M., & Bakker, P. A. H. M. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology*, 52(1), 347-375. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>
- Posada, L. F., Alvarez, J. C., Hu, C.-H., de-Bashan, L. E., & Bashan, Y. (2016). Construction of probe of the plant growth-promoting bacteria *Bacillus subtilis* useful for fluorescence *in situ* hybridization. *Journal of Microbiological Methods*, 128, 125-129. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.05.029>
- Posada, L. F., Álvarez, J. C., Romero-Tabarez, M., de-Bashan, L., & Villegas-Escobar, V. (2018). Enhanced molecular visualization of root colonization and growth promotion by *Bacillus subtilis* EA-CB0575 in different growth systems. *Microbiological Research*, 217, 69-80. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.08.017>
- Prabhu, N., Borkar, S., & Garg, S. (2019). Chapter 11 - Phosphate solubilization by microorganisms: Overview, mechanisms, applications and advances. En S. N. Meena, & M. M. Naik (eds.), *Advances in biological science research* (pp. 161-176). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817497-5.00011-2>
- Prajapati, K., Sharma, M. C., & Modi, H. A. (2013). Growth promoting effect of potassium solubilizing microorganisms on okra (*Abelmoschus esculentus*). *International Journal of Agricultural Science and Research (IJASR)*, 3(1), 181-188. https://www.researchgate.net/publication/235943493_Growth_promoting_effect_of_potassium_solubilizing_microorganisms_on_okra_Abelmoschus_esculentus
- Prasad, M., Srinivasan, R., Chaudhary, M., Choudhary, M., & Jat, L. K. (2019). Chapter Seven - Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture: Perspectives and challenges. En A. K. Singh, A. Kumar, & P. K. Singh (eds.), *PGPR amelioration in sustainable agriculture* (pp. 129-157). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815879-1.00007-0>

- Raaijmakers, J. M., Paulitz, T. C., Steinberg, C., Alabouvette, C., & Moëne-Loccoz, Y. (2009). The rhizosphere: A playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and Soil*, 321(1-2), 341-361. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9568-6>
- Rajawat, M. V. S., Singh, S., Singh, G., & Saxena, A. (2011). *Isolation and characterization of K-solubilizing bacteria isolated from different rhizospheric soil* [presentación en conferencia]. 53rd Annual Conference of Association of Microbiologists of India, India.
- Ramírez, C., & Kloepper, J. W. (2012). Bacterias promotoras de crecimiento vegetal. En L. M. Hoyos Carvajal (ed.), *Enfermedades de las plantas: control biológico* (pp. 97-126). Universidad Nacional de Colombia.
- Rashid, M., Khalil, S., Ayub, N., Alam, S., & Latif, F. (2004). Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under *in vitro* conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(2), 187-196. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2004.187.196>
- Rodríguez, H., Fraga, R., Gonzalez, T., & Bashan, Y. (2006). Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil*, 287(1), 15-21. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9056-9>
- Rojas-Tapias, D., Moreno-Galván, A., Pardo-Díaz, S., Obando, M., Rivera, D., & Bonilla, R. (2012). Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). *Applied Soil Ecology*, 61, 264-272. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.01.006>
- Romero-Perdomo, F., Beltrán, I., Mendoza-Labrador, J., Estrada-Bonilla, G., & Bonilla, R. (2021). Phosphorus nutrition and growth of cotton plants inoculated with growth-promoting bacteria under low phosphate availability. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, artículo 618425. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fsufs.2020.618425/full>
- Rudrappa, T., Biedrzycki, M. L., & Bais, H. P. (2008). Causes and consequences of plant-associated biofilms. *FEMS Microbiology Ecology*, 64(2), 153-166. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00465.x>
- Ryu, C.-M., Farag, M. A., Hu, C.-H., Reddy, M. S., Kloepper, J. W., & Paré, P. W. (2004). Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 134(3), 1.017-1.026. <https://doi.org/10.1104/pp.103.026583>
- Santos Torres, M. T. (2020). *Mejoramiento de la fertilización fosfatada en la asociación ryegrass y trébol rojo mediante el uso de bacterias solubilizadoras de fosfato* [tesis de maestría, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/77905>
- Santos-Torres, M., Romero-Perdomo, F., Mendoza-Labrador, J., Gutiérrez, A. Y., Vargas, C., Castro-Rincon, E., Caro-Quintero, A., Uribe-Velez, D., & Estrada-Bonilla, G. A. (2021). Genomic and phenotypic analysis of rock phosphate-solubilizing rhizobacteria. *Rhizosphere*, 17, artículo 100290. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100290>
- Sasirekha, B., & Srividya, S. (2016). Siderophore production by *Pseudomonas aeruginosa* FP6, a biocontrol strain for *Rhizoctonia solani* and *Colletotrichum gloeosporioides* causing diseases in chilli. *Agriculture and Natural Resources*, 50(4), 250-256. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2016.02.003>
- Seneviratne, G., Weerasekara, M. L. M. A. W., Seneviratne, K. A. C. N., Zavahir, J. S., Kecskés, M. L., & Kennedy, I. R. (2011). Importance of biofilm formation in plant growth promoting rhizobacterial action. En D. K. Maheshwari (ed.), *Plant growth and health promoting bacteria* (pp. 81-95). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_4
- Sharma, A., Shahzad, B., Kumar, V., Kohli, S. K., Sidhu, G. P. S., Bali, A. S., Handa, N., Kapoor, D., Bhardwaj, R., & Zheng, B. (2019). Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress. *Biomolecules*, 9(7), artículo 285. <https://doi.org/10.3390/biom9070285>
- Sharma, M., & Laxmi, A. (2016). Jasmonates: Emerging players in controlling temperature stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 6, artículo 1129. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01129>
- Sharma, S., Sharma, S., Singh, R. K., & Vaishampayan, A. (2008). Colonization behavior of bacterium *Burkholderia cepacia* inside the *Oryza sativa* roots visualized using green fluorescent protein reporter. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(7), 1.169-1.175. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9589-y>
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2(1), artículo 587. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
- Sheng, X. F., Zhao, F., He, L. Y., Qiu, G., & Chen, L. (2008). Isolation and characterization of silicate mineral-solubilizing *Bacillus globisporus* Q12 from the surfaces of weathered feldspar. *Canadian Journal of Microbiology*, 54(12), 1.064-1.068. <https://doi.org/10.1139/W08-089>
- Shrivastava, M., Srivastava, P. C., & D'Souza, S. F. (2018). Phosphate-solubilizing microbes: Diversity and phosphates solubilization mechanism. En V. S. Meena (ed.), *Role of rhizospheric microbes in soil. Volume 2: Nutrient management and crop improvement* (pp. 137-165). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0044-8_5
- Singh, C. P., & Amberger, A. (1997). Solubilization of rock phosphate by humic and fulvic acids extracted from atraw compost. *Agrochimica*, 41(5), 221-228. <https://mediatum.ub.tum.de/doc/1306532/1306532.pdf>
- Singh, C. P., & Amberger, A. (1998). Organic acids and phosphorus solubilization in straw composted with rock phosphate. *Bioresource Technology*, 63(1), 13-16. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(97\)00104-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(97)00104-1)
- Singh, G., Biswas, D. R., & Marwaha, T. S. (2010). Mobilization of potassium from waste mica by plant growth promoting rhizobacteria and its assimilation by maize (*Zea mays*) and wheat

- (*Triticum aestivum* L.): A hydroponics study under phytotron growth chamber. *Journal of Plant Nutrition*, 33(8), 1.236-1.251. <https://doi.org/10.1080/01904161003765760>
- Spaepen, S. (2015). Plant hormones produced by microbes. En B. Lugtenberg (ed.), *Principles of plant-microbe interactions: Microbes for sustainable agriculture* (pp. 247-256). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-08575-3_26
- Sun, L. R., Zhao, Z. J., & Hao, F. S. (2019). NADPH oxidases, essential players of hormone signalings in plant development and response to stresses. *Plant Signaling & Behavior*, 14(11), artículo 1657343. <https://doi.org/10.1080/15592324.2019.1657343>
- Tan, S., Yang, C., Mei, X., Shen, S., Raza, W., Shen, Q., & Xu, Y. (2013). The effect of organic acids from tomato root exudates on rhizosphere colonization of *Bacillus amyloliquefaciens* T-5. *Applied Soil Ecology*, 64, 15-22. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.10.011>
- Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R., & Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418, 671-677. <https://doi.org/10.1038/nature01014>
- Tiwari, S., Prasad, V., & Lata, C. (2019). Chapter 3 - *Bacillus*: Plant growth promoting bacteria for sustainable agriculture and environment. En J. S. Singh, & D. P. Singh (eds.), *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 43-55). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64191-5.00003-1>
- Ullah, A., Nisar, M., Ali, H., Hazrat, A., Hayat, K., Keerio, A. A., Ihsan, M., Laiq, M., Ullah, S., Fahad, S., Khan, A., Khan, A. H., Akbar, A., & Yang, X. (2019). Drought tolerance improvement in plants: An endophytic bacterial approach. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(18), 7.385-7.397. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10045-4>
- Uroz, S., Calvaruso, C., Turpault, M.-P., & Frey-Klett, P. (2009). Mineral weathering by bacteria: Ecology, actors and mechanisms. *Trends in Microbiology*, 17(8), 378-387. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.05.004>
- 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
- Vazquez, P., Holguin, G., Puente, M. E., Lopez-Cortes, A., & Bashan, Y. (2000). Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biology and Fertility of Soils*, 30(5), 460-468. <https://doi.org/10.1007/s003740050024>
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Boyce, A. N. (2016). Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—A review. *Molecules*, 21(5), artículo 573. <https://doi.org/10.3390/molecules21050573>
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, 571-586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>
- Viscardi, S., Ventorino, V., Duran, P., Maggio, A., De Pascale, S., Mora, M. L., & Pepe, O. (2016). Assessment of plant growth promoting activities and abiotic stress tolerance of *Azotobacter chroococcum* strains for a potential use in sustainable agriculture. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 16(3), 848-863. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162016005000060>
- Vlamakis, H., Chai, Y., Beaugregard, P., Losick, R., & Kolter, R. (2013). Sticking together: Building a biofilm the *Bacillus subtilis* way. *Nature Reviews Microbiology*, 11(3), 157-168. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2960>
- Walters, D., & Heil, M. (2007). Costs and trade-offs associated with induced resistance. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 71(1-3), 3-17. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2007.09.008>
- Wang, D.-C., Jiang, C.-H., Zhang, L.-N., Chen, L., Zhang, X.-Y., & Guo, J.-H. (2019). Biofilms positively contribute to *Bacillus amyloliquefaciens* 54-induced drought tolerance in tomato plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(24), 6.271-6.287. <https://doi.org/10.3390/ijms20246271>
- Zarjani, J. K., Aliasgharzad, N., Oustan, S., Emadi, M., & Ahmadi, A. (2013). Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria in some Iranian soils. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 59(12), 1.713-1.723. <https://doi.org/10.1080/03650340.2012.756977>
- Zhang, A., Zhao, G., Gao, T., Wang, W., Li, J., Zhang, S., & Zhu, B. (2013). Solubilization of insoluble potassium and phosphate by *Paenibacillus kribensis* CX-7: A soil microorganism with biological control potential. *African Journal of Microbiology Research*, 7(1), 41-47. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1485>
- Zhang, N., Yang, D., Wang, D., Miao, Y., Shao, J., Zhou, X., Xu, Z., Li, Q., Feng, H., Li, S., Shen, Q., & Zhang, R. (2015). Whole transcriptomic analysis of the plant-beneficial rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 during enhanced biofilm formation regulated by maize root exudates. *BMC Genomics*, 16(1), artículo 685. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1825-5>
- Zhang, P., Jin, T., Sahu, S. K., Xu, J., Shi, Q., Liu, H., & Wang, Y. (2019). The distribution of tryptophan-dependent indole-3-acetic acid synthesis pathways in bacteria unraveled by large-scale genomic analysis. *Molecules*, 24(7), 1-14. <https://doi.org/10.3390/molecules24071411>
- Zhou, H., Luo, C., Fang, X., Xiang, Y., Wang, X., Zhang, R., & Chen, Z. (2016). Loss of GltB inhibits biofilm formation and biocontrol efficiency of *Bacillus subtilis* Bs916 by altering the production of -Polyglutamate and three lipopeptides. *PLoS ONE*, 11(5), artículo e0156247. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156247>