

“EL MICROBIOMA DE LA RIZOSFERA Y LA SALUD DE LAS PLANTAS”

“The rhizosphere microbiome and
plant health”

Trabajo de fin de grado:

Déborah Nazareth Méndez Martín

Tutorizado por Milagros León Barrios.

Grado en Biología. Julio de 2023.

Índice

Resumen	1
Abstract	1
1. Introducción	2
1.1. Población mundial, demanda en la productividad agrícola y fertilizantes químicos.	2
1.2. Microorganismos beneficiosos: el camino hacia la agricultura más respetuosa con el medio ambiente.	3
1.3. Nuevas metodologías de secuenciación y caracterización de las comunidades microbianas.	4
2. Objetivos	5
3. Metodología	5
4. Resultados y discusión	6
4.1. Los microorganismos de la raíz en un contexto actual.	6
4.2. Principales actividades y funciones del microbioma en la rizosfera.	9
4.3. Biofertilización de los suelos.	10
• <i>Fijación de nitrógeno.</i>	11
• <i>Solubilizadores de fósforo.</i>	13
• <i>Solubilizadores de hierro y producción de sideróforos.</i>	15
• <i>Solubilizadores de potasio.</i>	16
4.4. Promoción del crecimiento vegetal por PGRP productoras de fitohormonas.	17
• <i>Producción de auxinas.</i>	18
• <i>Producción de giberelinas.</i>	19
• <i>Producción de citocinas.</i>	19
• <i>Producción de etileno.</i>	20
4.5. Defensa de las plantas: PGPR como agentes de biocontrol.	20
• <i>Producción de antibióticos.</i>	21
• <i>Producción de compuestos volátiles.</i>	22
• <i>Producción de enzimas líticas.</i>	22
• <i>Producción de sideróforos.</i>	23
• <i>Resistencia sistémica inducida y adquirida.</i>	24
4.6. Aspectos prácticos del microbioma rizosférico en la agricultura.	25
5. Conclusiones	28
6. Conclusions	28
7. Bibliografía	29
Agradecimientos	32

Resumen

Las plantas no deben ser consideradas como entidades independientes, se requiere una visión holística que contemple la diversidad de microorganismos asociados a sus tejidos que son esenciales para su buena “salud”, entendida como un buen crecimiento, adaptación al medio físico y lucha frente a patógenos. Lo sorprendente de estos holobiontes es la existencia de una compleja red de interacciones genéticas y metabólicas microorganismos-planta, que le otorga la capacidad a los vegetales de modular la microbiota adecuándola a sus necesidades. La microbiota del suelo es la “cantera” a partir de cual la planta configura el microbioma de la rizosfera, que se consideran como el “segundo genoma de los vegetales” debido a su gran importancia en funciones tan trascendentes como la estimulación del crecimiento mediante la producción de fitohormonas, la mejora de la nutrición del vegetal (aportando directamente de nutrientes o facilitando su toma), la resistencia frente a estreses abióticos y la inducción de una respuesta inmune sistémica que le facilita su supervivencia ante el ataque de patógenos.

El conocimiento de la diversidad y composición de las comunidades microbianas asociadas a la rizosfera de plantas, de los mecanismos que rigen su selección y de las actividades que desempeñan en la rizosfera brindará oportunidades para implementar metodologías que favorezcan el rendimiento en los sistemas de producción vegetal y crear así una alternativa más sostenible a la fertilización química (altamente contaminante) usada tradicionalmente para mejorar la producción agrícola y combatir los fitopatógenos.

En este TFG hacemos una revisión actualizada de los conocimientos sobre el microbioma de la rizosfera, abordando aquellos relacionados con la promoción directa del crecimiento vegetal y también los que están implicados en la respuesta frente a patógenos.

Palabras clave: microbioma, rizosfera, salud, holobiontes, planta, raíces, microorganismos.

Abstract

Plants should not be considered as independent entities, a holistic vision is required that contemplates the diversity of microorganisms associated with their tissues, where they're essential for their good “health”, understood as a good growth, adaptation to the physical environment and fight against pathogens. What is surprising about these holobionts is the existence of a complex network of genetic and metabolic microorganism-plant interactions, which gives plants the ability to modulate the microbiota to suit their needs. The soil microbiota is the “quarry” from which the plant configures the microbiome of the rhizosphere, which are considered as the “second plant genome” due to its great importance in such transcendental

functions as stimulating growth through the production of phytohormones, enhancing the nutrition of the plants (directly providing nutrients or facilitating their intake), resistance to abiotic stresses and the induction of a systemic immune response that facilitates its survival against the attack of pathogens.

Knowledge of the diversity and composition of microbial communities associated with the rhizosphere of plants, the mechanisms governing their selection and their activities in the rhizosphere will provide opportunities to implement yield-enhancing methodologies in plant production systems and create a more sustainable alternative to chemical fertilization (highly polluting) traditionally used to improve agricultural production and deal with plant pathogens.

In this TFG we make an updated review of the knowledge about the rhizosphere microbiome, addressing those related to the direct promotion of plant growth and also those involved in the response to pathogens.

Key words: microbiome, rhizosphere, health, holobiont, plant, roots, microorganisms.

1. Introducción

1.1 Población mundial, demanda en la productividad agrícola y fertilizantes químicos.

La dependencia del hombre de las plantas para alimentarse se remonta a más de 12.000 años (Singh et al. 2013)³⁷. Las plantas son la fuente de alimentación y nutrición más aceptada por la mayoría de los seres vivos, incluidos los vertebrados, los invertebrados, los hongos, las bacterias, incluso otras plantas tanto de forma directa como indirecta, y los seres humanos, de una forma u otra. Desde épocas muy tempranas, el ser humano, comenzó a domesticar especies de plantas útiles y su cultivo, primero mediante la propagación vegetativa y luego mediante el uso de semillas, así aseguró el continuo suministro de alimentos.

Como consecuencia de los rápidos cambios en el escenario climático mundial actual, con predicciones de reducción de las precipitaciones y aumento de los efectos de otros estreses abióticos en muchas regiones agrícolas de todo el mundo, sumado a la creciente dependencia de los alimentos de origen vegetal y el drástico aumento de la población humana, la demanda mundial de estos alimentos ha crecido exponencialmente recientemente y, como consecuencia, numerosas investigaciones han nacido con el fin de solventar estos problemas y hallar una solución sostenible para nuestros ecosistemas, ya sea en el sentido de mejorar la salud de los vegetales o aumentar la productividad como y la calidad de los cultivos.

Ante la creciente necesidad de aumentar las tasas de producción y crecimiento de los vegetales en los sistemas de producción contemporáneos, la mayoría de estos cultivos son muy

exigentes respecto a la demanda de fertilizantes. Por otro lado, cada día existen más evidencias de que la aplicación continua de fertilizantes nitrogenados puede provocar impactos negativos en los agro-ecosistemas, mediante la lixiviación de nitratos que contaminan los recursos hídricos y las emisiones de formas gaseosas de nitrógeno que se emiten a la atmósfera, todo ello causando daños irreparables al medio ambiente y con riesgo potencial para la salud humana.

1.2. Microorganismos beneficiosos: el camino hacia la agricultura más respetuosa con el medio ambiente.

Con el objetivo de mejorar la producción vegetal sin el uso de fertilizantes de origen sintético, las investigaciones se han orientado hacia el desarrollo de nuevas biotecnologías sostenibles y respetuosas con el medio ambiente. Ello ha provocado un interés creciente en el estudio de aquellos microorganismos del suelo que tienen capacidades para promover el crecimiento de las plantas y/o protegerlas frente a patógenos.

Desde hace muchas décadas, han sido reconocidas y estudiadas las dominantes actividades de los microorganismos como eslabón fundamental en los ciclos biogeoquímicos de los elementos, gracias a los cuales los suelos son fertilizados y los nutrientes reincorporados en los ecosistemas, pues la principal reserva de carbono y otros nutrientes del suelo es la materia orgánica. Sin embargo, más allá de esta importante tarea en los ciclos biogeoquímicos (Camelo et al., 2011)⁸, sólo recientemente hemos sido conscientes del papel que desempeña la microbiota del suelo en la promoción del crecimiento vegetal, así como en la inducción de la resistencia sistémica a fitopatógenos y el control biológico de enfermedades mediante la producción de antibióticos, enzimas hidrolíticas o la producción de sideróforos.

Las plantas albergan una gran diversidad de microorganismos fuera y dentro de sus tejidos. La asociación entre planta-microorganismos comienza con la colonización de la planta con los microorganismos del suelo, que actúan como fuente de bacterias rizosféricas, lo que convierte a la rizosfera en un hábitat clave para la posterior colonización endofítica. La investigación sobre los microorganismos rizosféricos y endófitos comenzó a crecer exponencialmente a finales del siglo XX, sobre todo por el interés en su papel en el estímulo del crecimiento de las plantas y su posible aplicación en la agricultura. Algunas de relaciones más beneficiosas entre plantas y microorganismos se han estudiado durante más de un siglo, como es el caso de las simbiosis de hongos micorrícicos con la gran mayoría de las plantas, la de las leguminosas con los rizobios y las de las plantas actinorrícicas con bacterias del género *Frankia*. Sin embargo, estos estudios se centraron en esas pocas interacciones, todas ellas endosimbiosis, es decir, microorganismos que penetran los tejidos y las células vegetales, estableciendo relaciones muy

íntimas y complejas. En las últimas décadas la investigación ha tenido un enfoque más amplio, reconociendo los diferentes microorganismos que coexisten en la superficie o dentro de los tejidos, sin llegar a penetrar en las células vegetales, pero aun así estableciendo interacciones igualmente beneficiosas para la planta (Bulgarelli et al., 2013)⁶.

El creciente número de rasgos beneficiosos encontrados en las interacciones planta-microorganismos, nos pone en la tesitura de plantear que un organismo vegetal sin sus microorganismos asociados difícilmente sobreviviría en condiciones naturales. Las comunidades microbianas asociadas son una pieza tan esencial de las plantas que algunos autores las consideran el segundo genoma de una planta huésped, donde la planta y el microbioma funcionan como un “metaorganismo”. Conceptos similares están ahora muy extendidos en la literatura, como "fenotipo extendido" u "holobionte", que comprende el organismo huésped con su microbioma asociado. Este cambio de perspectiva está en sincronía con la salud vegetal, donde los investigadores también reconocen al huésped y su microbioma como un sistema unificado.

1.3. Nuevas metodologías de secuenciación y caracterización de las comunidades microbianas.

Tradicionalmente los estudios para caracterizar la diversidad bacteriana en diferentes ambientes se basaban en técnicas de cultivo. Sin embargo, únicamente entre 0.1 y 10% de las bacterias presentes en el ambiente son cultivables (Torsvik et al., 2002)⁴², lo que ya se deducía en la técnica de recuentos microscópicos directos, pues excedían los recuentos de células viables en varios órdenes de magnitud. Para intentar explicar este fenómeno se ha recurrido a concluir que se desconocen los requerimientos nutricionales y las condiciones fisicoquímicas necesarias para el desarrollo de un gran número de grupos microbianos en su ambiente natural. No hay una explicación única satisfactoria para entender la baja proporción de bacterias cultivables. Esta incapacidad para el cultivo de tienen como consecuencia que comunidades bacterianas caracterizadas mediante metodología de cultivo no son representativas de la abundancia y diversidad de la comunidad microbiana real en el medio ambiente, lo que ha quedado totalmente demostrado como se comenta a continuación mediante las metodologías actuales de secuenciación masiva.

Con el gran avance de las nuevas tecnologías de secuenciación a lo largo de los últimos años, como las plataformas de secuenciación masiva o secuenciación de nueva generación (NGS), en plataformas como “*illumina*” o la pirosecuenciación, se ha propiciado el estudio de las comunidades microbianas de la rizosfera, lo que permiten obtener una caracterización más completa y real (Rodríguez, 2018)³³. Por lo tanto, el avance de los métodos de secuenciación

está permitiendo identificar las comunidades que conforman el microbioma rizosférico y determinar las relaciones establecidas entre estos microorganismos y los vegetales, así como desentrañar la amalgama de interacciones positivas y negativas que ocurre en esta asociación. Todo ello llevará a una mejor explotación biotecnológica de estas interacciones beneficiosas que, aplicadas a la agricultura, permitirán aliviar los efectos adversos de numerosos tipos de estrés a los que se pueden ver sometidas las plantas, mejorando así la productividad de los cultivos. Este debería ser uno de los enfoques clave para promover la resiliencia de nuestros ecosistemas y mejorar la producción a nivel agrícola e incrementar la oferta de alimentos a nivel mundial de una manera más sostenible y respetuosa con el medio ambiente.

2. Objetivos

Establecemos como objetivo principal de este trabajo de fin de grado exponer un panorama actual de las complejas relaciones entre los microorganismos del suelo y las plantas, centrándolo principalmente en los aspectos más beneficiosos de la microbiota bacteriana sobre el desarrollo de los vegetales.

Para la consecución del objetivo general, hemos definido unos objetivos específicos con el fin de recoger la mayor parte del conocimiento actual que se tiene sobre las interacciones microorganismos-planta y cómo se podría aplicar posteriormente en la mejora de la producción en sistemas agrícolas o ecosistemas terrestres. Estos son:

- a. Presentar el panorama general del microbioma de la raíz.
- b. Conocer las principales actividades y funciones del microbioma de la rizosfera.
- c. Determinar los aspectos prácticos del microbioma rizosférico en la agricultura.

3. Metodología

Para el desarrollo de esta memoria se ha realizado una búsqueda y análisis de la información en la bibliografía actual de diversas bases de datos bibliográficas. Partiendo de que las interacciones planta-microorganismos pueden considerarse beneficiosas, neutras o dañinas para la planta, dependiendo de los microorganismos específicos, las plantas involucradas y de las condiciones ambientales prevalecientes (Bais et al., 2006)⁴, en este TFG centramos nuestra búsqueda en la bibliografía actual sobre las actividades de los microorganismos que son ampliamente reconocidas como interacciones beneficiosas para los vegetales. Para ello, se hace una búsqueda a través de palabras claves relacionadas con un efecto directo en el desarrollo

vegetal o en la mejora en la nutrición vegetal o bien mejora indirecta derivada de mecanismos de defensa frente a patógenos.

4. Resultados y discusión

4.1. Los microorganismos de la raíz en un contexto actual.

Las comunidades microbianas de los suelos están formadas por conjunto de microorganismos muy diverso de bacterias, hongos y virus. Entre los microorganismos del suelo y las plantas existe toda una gama de interacciones ecológicas tales como parasitismo, comensalismo, mutualismo y simbiosis; en este TFG nos hemos centrado en las relaciones e interacciones beneficiosas planta-microorganismos.

El microbioma del suelo puede ser definido como una colección de genomas microbianos en su hábitat específico (Bulgarelli et al., 2013)⁶. Denominamos “fitobioma” al sistema formado por las plantas, su entorno y todos los organismos asociados, incluidos los microorganismos. La planta y su microbioma asociada (extra- y endocelular) constituyen el “holobionte”. El microbioma asociado a una planta es denominado como “segundo genoma” de la planta, y el genoma de la planta más el genoma microbiano constituyen colectivamente el “hologenoma”.

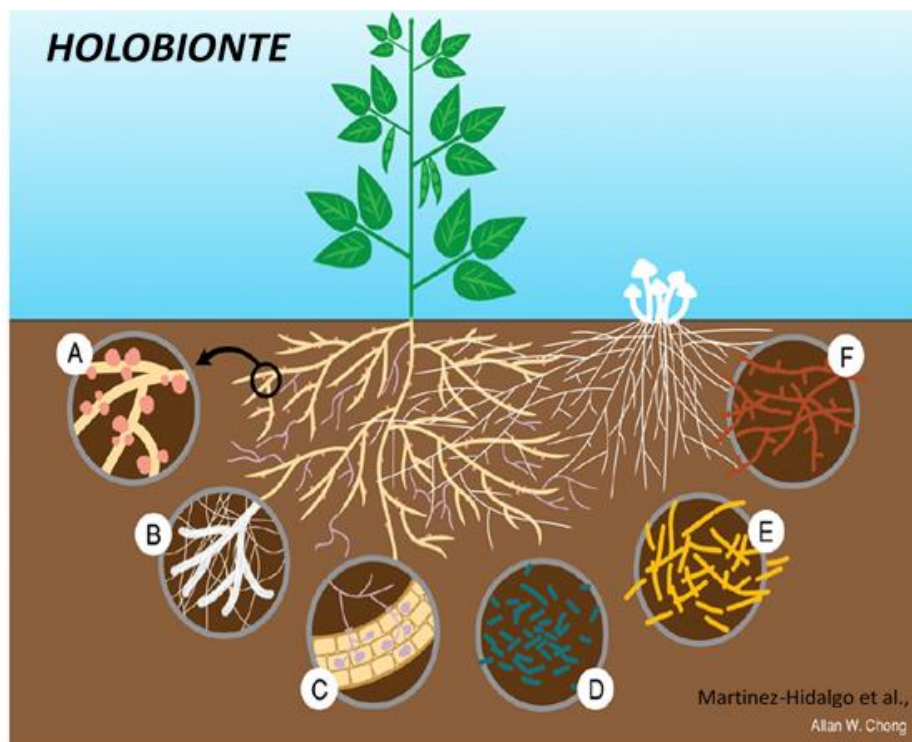


Figura 1. Interacciones de una leguminosa con microorganismos del suelo. A, rizobios en nódulos fijadores de nitrógeno. B, hongos ectomicorrízicos. C, hongos micorrízicos arbusculares. D, bacterias Gram negativas (ej. *Pseudomonas*). E, bacterias Gram-positivas (ej. *Bacillus*). F, actinomicetos (ej. *Streptomyces*).

La raíz está rodeada por una zona de alta actividad biológica, en la cual ocurren muchas interacciones entre la planta y los microorganismos que pueden producir fuertes impactos en el desarrollo del hospedador y la homeostasis del ecosistema del suelo. Al igual que el fitobioma, existe el concepto de “rizobioma”, que consiste en las raíces, el entorno que las rodea, y todos los organismos asociados que viven en ese entorno concreto (Sharma et al., 2021)³⁶. El hábitat físico de estos microorganismos es conocido como “rizosfera” o zona que rodea las raíces de las plantas en el suelo, y que esta puede extenderse, según los autores, desde un milímetro hasta los 3 centímetros aproximadamente alrededor de la superficie de la raíz. En este pequeño hábitat, se realizan actividades de una gran trascendencia para los ecosistemas terrestres, pues se desarrollan ciclos de tal importancia como la movilización de nutrientes, la captación y el almacenamiento de carbono, etc., siendo una de las interfaces más dinámicas de la Tierra, donde se pueden encontrar hasta 10^{11} células microbianas por gramo de suelo, en el cual se calcula que se encuentran representadas más de 30000 especies de microorganismos (Mendes et al., 2011)²². De esta forma, podemos intuir que este rizomicrobioma desempeña un importante papel no solo en la regulación de los ciclos biogeoquímicos de los elementos o el clima global, sino también como un eslabón fundamental en el crecimiento de las plantas de forma activa.

El avance sobre los conocimientos en los campos de ecología microbiana, taxonomía y componentes funcionales en el microbioma de la rizosfera y cómo estos se diferencian de los microorganismos que se encuentran en los suelos sin efectos directos derivados de las raíces es crucial para poder realizar un buen estudio específico y centrado en dichos microorganismos y su relación con los vegetales. Los vegetales seleccionan su microbioma a partir de la microbiota de los suelos circundantes, que actúan como un gran banco de semillas. La selección por el vegetal reduce significativamente la diversidad del microbioma rizosférico. Las diferentes especies de plantas enriquecen selectivamente sus microbiomas específicos invirtiendo en exudados secretados por las raíces con el fin de alimentar y modular la microbiota de su rizosfera. Estas depositan una proporción significativa de sus fotosintatos en la rizosfera como depósitos y desechos radiculares (Nuccio et al., 2020)²⁶. Los rizo-depósitos no solo son fuentes críticas de carbono y energía para las rizobacterias, sino también atrayentes claves para los patógenos vegetales. A veces, los cambios en la comunidad microbiana de los suelos que se generan gracias al efecto modulador que ejerce el vegetal con sus exudados, producen una retroalimentación, que puede llegar a ser tanto positiva como negativa. La interacción de forma positiva entre la microbiota y el vegetal fortalece la comunidad microbiana, mientras que la interacción negativa que pueda ocurrir conduce a un reemplazo y una recolonización de los microbios en la rizosfera.

De esta forma, podemos concluir que los compuestos secretados por las raíces pueden determinar de gran manera la composición del microbioma, ya sea activando o reprimiendo los miembros de la rizosfera. Un aspecto a tener en cuenta dentro de las interacciones que se generan en la rizosfera y los microorganismos atraídos a esta, es la propia competencia entre ellos por los nutrientes, el agua o el propio espacio, generando una competitividad al desarrollar asociaciones más íntimas con las plantas y establecer una dominancia. Este proceso puede considerarse como un proceso continuo de microevolución en ambientes donde los nutrientes son escasos, los cuales son comunes en los ecosistemas naturales. De esta manera las propias comunidades microbianas presentes en la rizosfera también pueden tener un efecto de modulación en cuanto a modificar su composición.

Se han hecho muchos intentos para comprender la rizosfera en términos de la amplia gama de mecanismos que operan dentro del sistema y las funciones que cumplen, así como poder conocer los diversos factores que influyen en la configuración de las comunidades microbianas que se asocian a los vegetales, como puede ser los cambios ambientales, el genotipo de la planta o su propio estado de desarrollo. Los resultados indican que la diversidad y la composición del microbioma de la rizosfera es una función combinada entre las propias especies de vegetales y las propiedades del suelo circundante.

Recientes avances en el campo de la secuenciación de alto rendimiento de metagenomas y marcadores moleculares filogenéticos (16S rDNA en bacterias o ITS en hongos) han facilitado grandes progresos en la aclaración sobre la composición de los microbiomas de la rizosfera. Estos avances han expandido enormemente el conocimiento del repertorio de microorganismos que viven en los suelos y muchos estudios actuales han caracterizado las comunidades microbianas asociadas a las raíces (Ling et al., 2022)²⁰. La secuenciación de alto rendimiento ha revelado también que ciertos grupos de microorganismos tienen una mayor capacidad o tendencia a crear colonizaciones más robustas, así como establecerse consistentemente y mantener a lo largo del tiempo su asociación con las plantas independientemente de los cambios en el medio ambiente o las etapas de desarrollo en las que se encuentre el huésped.

En términos de composición de la microbiota de la rizosfera, el dominio de las bacterias es el que se encuentra mayor representado, seguido por los hongos. De los filos bacterianos cabe destacar Actinobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes, Verrucomicrobia y Planctomycetes. Tras la selección por los exudados, algunos estudios observan que la rizosfera se enriquece principalmente en ciertos grupos de copiotrofos perteneciente a proteobacterias y bacteroides, además de otros grupos (Ling et al., 2022)²⁰. Estas comunidades bacterianas asociadas a las raíces forman asociaciones que son altamente modulares, pero inestables en términos de

composición a largo plazo, un claro reflejo de las interacciones y adaptaciones de los vegetales y su microbiota a unas condiciones dinámicas. También diversos estudios señalan que grupos microbianos que son extremadamente eficientes en la colonización de plantas están involucrados en funciones importantes para el crecimiento y la supervivencia de las plantas (De Souza et al., 2020)¹⁰. Dentro de estos grupos de microorganismos encontramos bacterias con acciones reconocidas por su promoción del crecimiento y desarrollo vegetal, conocida como PGPR, del inglés “*plant growth-promoting rhizobacteria*”. Estas bacterias poseen la capacidad de estimular el desarrollo de las plantas de manera directa y/o indirecta. Desarrollaremos más abajo el concepto de PGPR y sus actividades en la rizosfera.

4.2. Principales actividades y funciones del microbioma en la rizosfera.

Las interacciones planta-microorganismos pueden considerarse beneficiosas, neutras o dañinas para la planta, dependiendo de los microorganismos específicos, las plantas involucradas y de las condiciones ambientales prevalecientes (Bais et al., 2006)⁴. Los microorganismos de la rizosfera no solo juegan un papel importante en la aptitud ecológica de su planta huésped, sino que también los procesos microbianos que ocurren en este hábitat, incluyendo la protección de las plantas y la promoción directa de su crecimiento, así como la producción de antibióticos, ciclos geoquímicos de los minerales, la colonización de las plantas y la patogénesis, si se generase el caso. De estas interacciones mencionadas, nos centramos en las interacciones beneficiosas para los vegetales.

El primer paso en la actividad de una bacteria capaz de promover el crecimiento vegetal, de forma general, se inicia con mecanismos de quimiotaxis, relacionado con la presencia de flagelos, quimiorreceptores y sistemas de regulación codificados genéticamente. Estos factores poseen una gran relevancia en la colonización de la rizosfera y mantienen la comunicación entre las células de las raíces y los microorganismos presentes en los suelos. Las bacterias en un inicio son atraídas por los exudados de la raíz, estimulando el movimiento de la bacteria hacia el rizoplano de la planta y dar lugar a una relación de beneficio mutuo. Se han propuesto varios sistemas para conocer cómo se genera el movimiento bacteriano hacia las raíces de las plantas. Un sistema gnotobiótico, que permite identificar la mayoría de la microbiota presente, fue utilizado por Weert et al. (2003)⁴⁸ para probar la hipótesis del papel de la motilidad en la colonización de raíces para alcanzar metabolitos exudados por las raíces, donde se determinó que la quimiotaxis es mediada por los propios componentes genéticos de los microorganismos, los cuales resultan en quimiorreceptores localizados en la membrana plasmática con la función de monitorear la concentración de los respectivos exudados en el ambiente y dirigir el movimiento flagelar hacia los atrayentes.

Las interacciones beneficiosas para las plantas de las PGPR pueden ocurrir mediante mecanismos directos y/o indirectos y se pueden dividir en distintas categorías dependiendo del tipo de ventaja que ofrecen a los vegetales. Entre los mecanismos directos tenemos los de aquellos microorganismos que, en asociación con las plantas, aumentan el suministro de nutrientes minerales a la planta contribuyendo en su nutrición, por lo tanto, podemos considerarlos biofertilizantes. Otro grupo de interacciones involucra a aquellos microorganismos que promueven directamente el crecimiento mediante la producción de fitohormonas. Por otro lado, tenemos los microorganismos que estimulan el crecimiento de las plantas indirectamente al prevenir el crecimiento o la actividad de ciertos patógenos que podrían poner en riesgo la salud y bienestar de la planta, estos microorganismos son conocidos como agentes de control biológico y han sido bien documentados a lo largo de los años.

A lo largo del tiempo se ha acumulado una gran cantidad de literatura que describe los usos potenciales de las bacterias asociadas a las plantas como agentes que estimulan el crecimiento de estas, así como el manejo del suelo y la aptitud de las plantas. Pero, no está estudiada completamente (particularmente en la agricultura con uso intensivo de agroquímicos) debido a que en la mayoría de casos, los mecanismos que afectan positivamente al crecimiento y desarrollo de los vegetales son tratados por separado por la gran cantidad de interrelaciones entre ellos (Camelo et al., 2011)⁸, complicando su estudio. De toda esta información disponible haremos uso para desarrollar los siguientes apartados, de tal manera que lleguemos a ahondar en estas interacciones entre microorganismos-planta con el fin de lograr una comprensión mayor sobre su funcionamiento y poder desarrollar metodologías aplicadas para favorecer la salud de las plantas, su crecimiento y rendimiento en términos de productividad, con vistas a poder construir alternativas más sostenibles en los sistemas agrícolas y promover la resiliencia de nuestros ecosistemas.

4.3. Biofertilización de los suelos.

Durante los últimos años, se ha incrementado el número de publicaciones e investigaciones acerca del mecanismo de acción de microorganismos empleados como biofertilizantes. Esto puede ser atribuido tanto al evidente cambio climático, como al deterioro ambiental causado por la adición indiscriminada de fertilizantes de origen químico (entre otros compuestos empleados) y a un creciente interés social y cultural en temas de conservación y recuperación de suelos. Al parecer, esto ha incrementado la concienciación sobre el cuidado y la importancia de velar por una agricultura sostenible y amigable con el medioambiente (Restrepo-Correa et al., 2017)³².

Esta tendencia creciente en las investigaciones puede deberse a que el nitrógeno, el fósforo y otras moléculas son sustancias de gran importancia en términos de salud y productividad vegetal, ya que su difícil absorción limita el rendimiento de los cultivos. A esto debe añadirse que los suelos agrícolas actualmente sufren de un déficit de estos minerales en su forma asimilable por las plantas, producto de la sobreexplotación de los suelos en las últimas décadas, lo cual ha afectado de forma directa la productividad y el tiempo oportuno de las cosechas. El método que siguen las bacterias PGPR para realizar la biofertilización de los suelos puede variar, ya sea ayudando directamente a proveer los nutrientes a la planta hospedadora o indirectamente influenciando el crecimiento y mejora de la morfología de la raíz, además de establecer y mantener relaciones beneficiosas con otras bacterias simbióticas. En términos generales, los microorganismos que se emplean para la producción de biofertilizantes pueden agruparse dependiendo del nutriente que facilite la absorción a los vegetales. Entre estos, podemos diferenciarlos en: fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fósforo, solubilizadores de hierro o productores de sideróforos y solubilizadores de potasio.

- *Fijación de nitrógeno.*

La fijación del nitrógeno atmosférico es un proceso complejo mediante el cual algunas bacterias de la rizosfera aportan nitrógeno. El dinitrógeno atmosférico (N_2) es un gas diatómico, incoloro e inodoro. La atmósfera es la principal reserva de nitrógeno, casi el 80% del aire que respiramos es N_2 . Esta forma de nitrógeno no es utilizable directamente por las plantas, tampoco por ningún otro ser vivo, a excepción de algunos procariontes. De modo que el N_2 tiene que ser transformado en compuestos absorbibles y metabolizables en un proceso conocido como fijación biológica del nitrógeno (FBN), donde el N_2 es reducido a amoníaco. Un proceso, por lo tanto, esencial para el desarrollo de todos los organismos. Es aquí donde algunas plantas en simbiosis con procariontes tienen un papel vital para la vida, ya que este proceso es crucial para que el nitrógeno atmosférico sea incorporado nuevamente a la cadena trófica.

La FBN es únicamente realizado por un grupo de bacterias que poseen el complejo enzimático de nitrogenasa, responsable de catalizar la reducción del N_2 atmosférico en amoníaco. Las bacterias que realizan este proceso se denominan diazotrofos y se dividen en dos grandes grupos según realicen la FBN en vida libre o en simbiosis con algunas plantas. Se han realizado estudios en los que se ha encontrado que los procariontes diazotrofos de vida libre presentan tasas y rendimientos mucho más altos en la superficie de la raíz que en el resto de suelo que llegue a ocupar la rizosfera. Se sugiere que este fenómeno sea posible a la cantidad y calidad de los exudados de la raíz, como derivados carbonados o sustancias promotoras, que incrementan el crecimiento de la biomasa microbiana fijadora de nitrógeno. Estos altos

rendimientos han sido documentados en microorganismos dentro del género *Azotobacter*, como *Azotobacter chroococcum*, *A. beijerinckii* y *A. vinelandii* (Ravikumar et al. 2004)³⁰.

La simbiosis fijadora de nitrógeno con plantas más importante es aquella que tiene lugar entre las leguminosas y, un grupo amplio y diverso de bacterias Gram negativas, conocidos colectivamente como rizobios. Los rizobios infectan y penetran las raíces de las leguminosas formando nódulos radicales dentro de los cuales las bacterias reducen en N₂ a amoníaco. Esta forma de nitrógeno combinado será incorporada en la síntesis de aminoácidos y posteriormente a las proteínas de la planta hospedadora. Así, finalmente, el N₂ se incorpora a la cadena alimenticia de los seres vivos. El grupo de los rizobios son bacterias quimioorganotrofas aeróbicas de la Clase Alfa-proteobacterias, pertenecientes principalmente a los géneros *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Allorhizobium* y *Azorhizobium*. La práctica totalidad de las especies de rizobios de estos géneros nodulan y fijan nitrógeno en simbiosis con alguna leguminosa. Existen otros géneros de Alfa-proteobacterias, como *Phyllobacterium* y *Agrobacterium*, donde solo algunas especies son capaces de establecer esta simbiosis. Algunas especies de géneros de la Clase Beta-proteobacterias, como *Burkholderia* o *Cupriavidus*, nodulan también algunas leguminosas (Moulin et al., 2001)²⁴. Por otro lado, cabe mencionar también un segundo grupo de bacterias simbióticas con plantas, que nodulan las raíces de una amplia gama de árboles y arbustos. Se trata de bacterias filamentosas gram positivas del filo de las actinobacterias que fijan nitrógeno en simbiosis con las denominadas plantas actinorrícicas (es decir, angiospermas capaces de formar nódulos). Son actinobacterias pertenecientes al género *Frankia*, que nodulan plantas de los géneros *Alnus*, *Myrica*, *Casuarina*, etc. (Venieraki et al., 2011)⁴⁶.

Está claro que las plantas en simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno obtienen directamente el nitrógeno de esta asociación. La deposición de residuos vegetales de las leguminosas, este nitrógeno queda disponible en el suelo y es accesible para otras plantas no leguminosas. Este proceso debería de ser suficiente para mantener las reservas y recuperar las pérdidas de este elemento en los ecosistemas. Se estima que la biofertilización por FBN representa aproximadamente el 65% del suministro de nitrógeno en los cultivos en todo el mundo. Además, la incorporación del nitrógeno a los suelos promueve la estimulación de los microorganismos en los procesos de descomposición de materia orgánica para fertilizar los suelos con los elementos nutritivos esenciales para su desarrollo. Por último, hay que mencionar la necesidad de continuar los estudios relacionados con la capacidad promotora de crecimiento de estas bacterias fijadoras de nitrógeno debido a la gran demanda por mejorar la eficiencia del

proceso mediante la búsqueda, selección y empleo de bacterias más competitivas capaces de aumentar la ventaja que ya de por sí supone la simbiosis a otras especies vegetales de interés.

- *Solubilizadores de fósforo.*

El fósforo no solo es uno de los elementos más importantes para el desarrollo vegetal, sino que también es considerado como un nutriente que cumple un papel crítico en la producción agrícola (Beltrán et al., 2014)⁵. Después del nitrógeno, es uno de los requerimientos esenciales para el crecimiento y funcionamiento de la planta, el cual encuentra involucrado en el desarrollo de la raíz, el crecimiento y la floración, además constituye los fosfolípidos de las membranas celulares y del material genético; por último, está envuelto en funciones relacionadas con el metabolismo energético celular y en los procesos de fotosíntesis, glucólisis, respiración y síntesis de ácidos grasos. Lamentablemente este nutriente se encuentra de forma muy restringida en la corteza terrestre y su disponibilidad es cada vez más limitada, debido a la progresiva insuficiencia de sus fuentes naturales, su relativa escasez edáfica y elevada retención por parte de la matriz del suelo, sumado a la falta de reposición natural y su baja movilidad comparada con la de otros nutrientes.

En los suelos podemos encontrar diferentes fuentes de fósforo, las cuales podemos diferenciar entre fósforo inorgánico y orgánico. Su distribución depende mayoritariamente de los factores que influyen en el tipo de suelo, además del pH, tipo de vegetación de la zona, tasa de actividad microbiana y las posibles entradas de fertilizantes. Por un lado, el fósforo inorgánico lo podemos encontrar formando parte de los minerales en el suelo, como por ejemplo pueden ser en minerales de calcio, hierro o aluminio, originados gracias a las precipitaciones que facilitan la liberación del fósforo lentamente mediante la meteorización y los libera en forma de sales inorgánicas en solución, sales cristalinas o sales que son absorbidas por los coloides del suelo. El fósforo inorgánico disponible para las plantas se encuentra en el suelo en forma de ortofosfatos, que son formas inorgánicas solubles y asimilables por las raíces, como iones monobásicos ($\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$) y dibásicos (HPO_4^{-2}). En cambio, el fósforo orgánico se encuentra presente en la materia orgánica resultante tras la degradación microbiana de los restos de animales y vegetales. Este último puede llegar a representar hasta el 50% del fósforo total insoluble (Oliviera et al., 2008)²⁷, del cual se encuentra formando parte de los fosfatos de inositol en su mayoría y, en una menor cantidad, otros ésteres de fosfato como los fosfolípidos de las membranas biológicas. Las formas solubles de fósforo son a menudo un factor limitante para el crecimiento de las plantas. Ello ha llevado a incrementar el interés por buscar alternativas que puedan suplir este déficit, incrementando la concentración disponible de fósforo en la rizosfera y facilitando la absorción de este elemento a través de las raíces de las

plantas. Es aquí donde es evidente la importancia de la presencia en la rizosfera de microorganismos capaces de solubilizar formas insolubles de fósforo.

Los microorganismos solubilizadores de fosfatos asociados a las raíces pueden incrementar el crecimiento de las plantas y su productividad. Este grupo funcional de microorganismos rizosféricos incluye bacterias, hongos y actinomicetos, los cuales son capaces de solubilizar los fosfatos minerales que han sido fijados en los suelos y, por lo tanto, no se encuentran disponibles para los vegetales. Este amplio grupo de microorganismos al movilizar el fosfato inorgánico e insoluble de la matriz mineral hasta el suelo, posibilitan ahora que pueda ser absorbido por las raíces. A cambio, las plantas les suministran compuestos carbonados que fomentan el crecimiento microbiano. Si bien la solubilización natural de fosfatos es un fenotipo natural que exhiben muchos microorganismos del suelo, este grupo de microorganismos presentan una concentración mucho más alta y eficaz en la rizosfera en comparación con el resto de los suelos. De forma general, parece existir un efecto directo de la rizosfera sobre estos microorganismos, debido a que los exudados radicales y los restos vegetales circundantes proporcionan el sustrato energético para que sea posible la actividad microbiológica solubilizadora de fosfato. A partir del año 2000, el conocimiento sobre los microorganismos solubilizadores de fosfato ha aumentado significativamente, con el objetivo de poder comprender el funcionamiento crucial que estos microorganismos desarrollan en la rizosfera como incorporadores de fósforo y determinar qué microorganismos en concreto son los que realizan este trabajo (Beltrán et al., 2014)⁵. Como ya se ha mencionado, dentro de este grupo de microorganismos encontramos tanto bacterias como hongos. En el caso de las bacterias (incluidos los actinomicetos) algunos son solubilizadores de vida libre, pero otros establecen relaciones simbióticas con algunas plantas, y tras la colonización de la rizosfera, son capaces de persistir y favorecen el crecimiento de los vegetales aportando fosfato inorgánico a partir de compuestos como fosfato bicálcico, fosfato tricálcico y las rocas fosfóricas.

Las especies de bacterias que solubilizan fosfatos pertenecen principalmente a los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium* y *Erwinia* (Kumar et al. 2001)¹⁸. En el caso de los hongos, estos son importantes componentes de la biota del suelo, y los principales solubilizadores de vida libre son especies dentro de los géneros *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Gongronella* y *Fusarium* (Vera et al., 2002)⁴⁷. Algunos miembros del género *Aspergillus* son de los más eficaces solubilizadores de fosfatos, debido a la destacada actividad mostrada por sus fosfatasa, pudiendo ser especies útiles para la elaboración de biofertilizantes.

Sin embargo, algunas especies pueden desarrollar patogenicidad bajo ciertas circunstancias y sobre algunas especies de plantas de cultivo.

Cabe mencionar que, mucho antes de que el conocimiento de los microorganismos solubilizadores de fosfato se desarrollara más ampliamente, las micorrizas arbusculares eran conocidas debido a su ubicuidad entre las familias de plantas vasculares y su aparente inespecificidad para colonizarlas, dando notables resultados beneficiosos gracias a su influencia en la mejora de las relaciones hídricas y el incremento de la incorporación de nutrientes, en los que se destaca el fósforo. Esta gran cualidad de las micorrizas nace de la capacidad que poseen sus hifas al extenderse más allá de la raíz, alejándose de la zona de agotamiento para incrementar tanto el área de absorción como la exploración de un volumen mayor de suelo, en busca de recursos que no podría alcanzar normalmente la raíz por sí sola, aunque el sistema radical de las plantas pueda responder a las condiciones limitantes del suelo y muestra un incremento en la proliferación de raíces secundarias en las zonas con más volumen de nutrientes. A pesar de que es poco probable que el hongo asociado “busque” dichas zonas, la evidencia sugiere que la proliferación de hifas ocurre en micrositos con una concentración de nutrientes relativamente alta.

- *Solubilizadores de hierro y producción de sideróforos.*

El hierro (Fe) es uno de los elementos fundamentales para el desarrollo de diversas funciones celulares, como puede ser en el metabolismo celular como cofactor de numerosas enzimas (Aguado-Santacruz et al., 2012)¹. En la naturaleza, se encuentra principalmente en forma de Fe^{+3} , formando parte de sales e hidróxidos de muy baja solubilidad para los vegetales. En condiciones fisiológicas, se puede encontrar en su forma ferrosa (Fe^{+2}) o en su forma férrica (Fe^{+3}). Generalmente, las plantas obtienen hierro directamente del suelo. Cuando el hierro disponible en el suelo es limitado, los microorganismos de la rizosfera desarrollan competencias para adquirirlo y las plantas se benefician de ello. Las PGPR producen compuestos de bajo peso molecular que forman complejos de hierro denominados sideróforos, cuya presencia representa una gran ventaja para los microorganismos, pues pueden adquirir el hierro del medio que les rodea de una forma más fácil que el resto de sus competidores (Tejera-Hernández et al., 2011)³⁹ y también un beneficio para las plantas que en su rizosfera llevan asociadas a estos microorganismos, ya que pueden ahora asimilar este hierro. Algunos de los más conocidos son péptidos no ribosomales de alta afinidad por el Fe^{+3} , que actúan de forma específica como agentes quelantes para secuestrar hierro en presencia de otros metales y provocar su reducción a Fe^{+2} , que es una forma mucho más soluble y aprovechable para la nutrición (Aguado-Santacruz et al., 2012)¹, por lo que el hierro pasa a ser incorporado al metabolismo celular. La

composición química de los sideróforos es diversa. Los sideróforos se dividen en tres familias principales dependiendo del grupo funcional característico: hidroxamatos, catecolatos y carboxilatos. De estos, son conocidos más de 500 sideróforos y las estructuras químicas de 270 de ellos ya han sido determinadas (Zhao et al., 2012)⁴⁹.

Las principales especies de microorganismos que se han descrito en la literatura con capacidad de solubilizar el hierro de los suelos mediante la producción de sideróforos, pertenecen a los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Enterobacter*. En condiciones de estrés por limitación de hierro, los productores de sideróforos por un lado aportan un elemento esencial para la nutrición de los vegetales, pero además al privar este elemento del entorno consiguen generar un efecto de biocontrol para evitar el desarrollo de fitopatógenos, restringiendo su proliferación por déficit nutricional y colonización de la raíz. En cuanto a términos de rendimiento, suele destacar la pioverdina producida por *Pseudomonas*, un sideróforo complejo con tres sitios ligantes (De Vleeschauwer et al., 2006)¹¹.

Actualmente, la fertilización de hierro a nivel agrícola, se consigue mediante secuestrantes sintéticos, quelantes de hierro como el EDTA y el EDDHA (Restrepo-Correa et al., 2017)³². Sin embargo, estos suponen un gran peligro ambiental, pues al secuestrar el hierro liberan a su vez otros metales pesados que se encuentran en el suelo o el agua circundantes, representando un riesgo para la salud de los organismos vivos al magnificar los eventos como la bioacumulación de metales pesados en las cadenas tróficas o la eutrofización de las aguas, alterando y dañando gravemente los ecosistemas. Frente a ello, el uso de biofertilizantes basados en microorganismos productores de sideróforos es una alternativa compatible con el medio ambiente.

- *Solubilizadores de potasio.*

Otro de los minerales de destacada importancia en el desarrollo de las plantas es el potasio (K). En forma de catión (K^+), posee un papel de gran importancia en la nutrición vegetal, participando en diferentes procesos fisiológicos y metabólicos, entre los que se pueden destacar el crecimiento vegetal, la nodulación, la apertura del estoma y adaptación a cambios ambientales. Además, sin un suministro adecuado de K, el desarrollo de las raíces y semillas de las plantas se ve afectado, lo que tendrá un impacto posterior sumamente crucial en el rendimiento de estas. Este elemento es el séptimo elemento más abundante en la corteza terrestre, pudiendo variar su contenido total en los suelos desde el 0,04% y 3%. Sin embargo, de esta cantidad sólo se encuentra disponible entre un 1-2% para las plantas (Etesami et al., 2017)¹³. Actualmente, son diferentes los mecanismos descritos en la literatura involucrados en la solubilización del potasio por bacterias. Las estrategias de solubilización pueden deberse a

la disminución del pH, la quelación de cationes unidos al potasio, posibles reacciones de intercambio y la acidólisis del medio mediante la producción de una gama de ácidos orgánicos. La disminución del pH por liberación de ácidos por parte de las bacterias está ligada a la disolución del potasio como resultado de las liberaciones lentas gracias al potasio intercambiable o gracias a la quelación de los iones de silicio y aluminio asociados con el potasio. Entre los distintos ácidos que las bacterias solubilizadoras de potasio pueden excretar, los que liberan en mayor cantidad son el succínico, cítrico, glucónico, α -cetoglucónico y oxálico.

Una amplia gama de bacterias se relaciona con la solubilización del potasio. Entre los géneros y especies que más destacan encontramos: *Pseudomonas sp.*, *Burkholderia sp.*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Paenibacillus mucilaginosus*, *Bacillus edaphicus*, *Bacillus circulans* y *Paenibacillus sp.* (Jaiswal, 2016)¹⁵. Una correcta fertilización con potasio en los suelos mediante el uso de estas bacterias como biofertilizantes, produce cultivos con sistemas radiculares vigorosos, mucho más eficientes en la absorción de los nutrientes esenciales y mejor desarrollo de los cultivos. Estos beneficios pueden extrapolarse a nivel de los ecosistemas, pues pueden ser aplicados en terrenos que hayan sido previamente dañados y se encuentren deficientes de nutrientes, pues supondría un impulso para el desarrollo de la flora del lugar y su recuperación.

4.4. Promoción del crecimiento vegetal por PGRP productoras de fitohormonas.

Entendemos como sustancias promotoras del crecimiento vegetal a todas aquellas que posean un carácter orgánico y puedan activar una o varias respuestas en la célula vegetal, ya sea a nivel bioquímico, fisiológico o morfológico. Estas sustancias son moléculas indicadoras, que actúan como mensajeros químicos que influyen en la capacidad de las plantas en la respuesta a su entorno. Se ha determinado que los microorganismos tienen la capacidad de producir más de un tipo de sustancias promotoras de crecimiento (Molina-Romero et al., 2015)²³ y, de acuerdo a varias clasificaciones, estas se encuentran distribuidas en cinco grupos principales: las auxinas, las giberelinas, las citocinas, el etileno y el ácido abscísico. De éstas, los cuatro primeros participan en la fitoestimulación por rizobacterias, por lo que en este apartado nos centraremos en la producción de estas principalmente.

El fenómeno de la fitoestimulación depende de una compleja y balanceada red de hormonas que influyen directamente sobre el crecimiento de las plantas, contribuyendo al desarrollo y regulación de muchos parámetros fisiológicos como el crecimiento y desarrollo vegetal, además de incrementar la resistencia de las plantas a diversos factores ambientales, ya que pueden inducir o suprimir la expresión de una amplia gama de genes. Estas moléculas pueden

incrementar el volumen radicular, aumentar la tasa de respiración de la raíz de la planta hospedera y el flujo de protones en la membrana de la raíz y, en consecuencia, se favorece la absorción de elementos minerales solubles. Su síntesis por parte de los microorganismos está ligada, en algunos casos, a patogenicidad. Esto es debido a que muchos fitopatógenos poseen esta habilidad, para causar respuestas hipersensibles en sus hospedadores y así realizar una infección exitosa (Tsavkelova et al., 2006)⁴³. Este dato es especialmente crucial en el estudio de las bacterias que forman parte de la rizosfera y poseen la capacidad de producir estas fitohormonas con vistas a producir fertilizantes biológicos, pues se necesita indagar en las relaciones específicas que establecen las especies de microorganismos con los vegetales para así poder determinar si realmente están causando un beneficio o, por el contrario, están actuando como patógenos y mermando la salud de las plantas.

- *Producción de auxinas.*

Las auxinas son fitohormonas esenciales en el crecimiento y desarrollo vegetal. Dentro de este grupo, el ácido indol acético o AIA, es la auxina más comúnmente producida por las rizobacterias y la más estudiada debido a su importante papel en la formación de dominios apicales, diferenciación vascular, en el desarrollo de los diferentes órganos vegetales, desarrollo de la raíz y el incremento de la división celular. Es sintetizada a partir del triptófano presente en los exudados de las raíces a través de diversas vías metabólicas en función de la bacteria (Camelo et al., 2011)⁸. Algunos de los principales géneros bacterianos productores de AIA se pueden citar *Azotobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Azospirillum sp.*, *Rhizobium sp.*, *Pantoea agglomerans* (Caballero et al., 2007)⁷.

La síntesis de AIA en rizobacterias, se lleva a cabo principalmente a tres rutas metabólicas que tienen como precursor el triptófano. Entre las vías de biosíntesis bacterianas más comunes y conocidas está la del ácido indol-3-pirúvico (IPyA), presente por ejemplo *Azospirillum sp.*, *Rhizobium sp.* y algunas *Pseudomonas sp.* (Baca et al., 2007)³. También es una ruta descrita en varias bacterias la ruta de la indol-3-acetamida, en la que la síntesis de AIA tiene como intermediario a la indol-3-acetamida (IAM); esta ruta ha sido descrita en microorganismos fitopatógenos como *Pseudomonas syringae*, *Agrobacterium tumefaciens* y *Erwinia herbicola*, pero también ha sido estudiada en algunas bacterias simbióticas como *Rhizobium sp.* (Tsavkelova et al., 2006)⁴³. También se ha descrito en *Bradyrhizobium* una ruta que generan AIA a partir del indol-3-acetonitrilo (IAN) (Vega-Hernández et al., 2002)⁴⁵.

El efecto positivo de las PGPR ha sido estudiado por varios autores para poder determinar si este resulta significativo en cuanto a la germinación y el crecimiento temprano de las plántulas, sobre todo con especies vegetales ligadas a cierto interés agrícola. Rubio (2003)³⁵

investigó la influencia de las auxinas en semillas de trigo, para ello empleó varias cepas de *Azotobacter sp.* obtenidas de muestras de suelo recolectadas en superficies agrícolas. Los resultados corroboraron que, las cepas que previamente habían sido diferenciadas como las mayores productoras de auxinas, mostraron una diferencia significativa en la inducción del crecimiento y aumento en número de las raíces seminales del trigo. El sistema de raíces seminales posee un papel fundamental en el establecimiento de las plántulas en los primeros estados de desarrollo, su desarrollo permite soportar ciertas condiciones de estrés hídrico a la pequeña plántula, pues estas penetran en el suelo tempranamente y a mayor profundidad que las raíces adventicias, aumentando las probabilidades de obtener un mayor número de plántulas viables.

- *Producción de giberelinas.*

Las giberelinas son fitohormonas de estructura complejas (Baca et al., 2007)³ y muy diversas. Estas fitohormonas se encuentran implicadas sobre todo en la germinación de las semillas gracias a la interrupción del periodo de latencia, pero también brindan apoyo en la elongación del tallo, la floración, el desarrollo del fruto y el porte que pueda llegar a alcanzar el vegetal en cuestión (Camelo et al., 2011)⁸. La síntesis de las giberelinas es principalmente producida por los propios vegetales, posteriormente fue descrita también en hongos, y en casos más puntuales se ha registrado su síntesis en una variedad bacterias rizosféricas, como *G. diazotrophicus*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Azospirillum lipoferum*, *Azospirillum brasilense*, *Bacillus pumilus*, *B. licheniformis*, *Herbaspirillum seropedicea*, *R. phaseoli* (Babaloba, 2010)².

- *Producción de citocinas.*

Las citocinas o citoquinas son moléculas derivadas de las aminopurinas, de las que la más estudiada es la zeatina. Según la estructura, pueden ser clasificadas en dos familias: las adenin-citocinas y las difenilurea-citocinas, que parecen tener un receptor común. Estos compuestos regulan la citoquinesis de las células vegetales, favoreciendo la división celular en la raíz y la elongación de esta, la diferenciación celular y el incremento del área de la raíz mediante la formación de raíces adventicias (Ortíz et al., 2009)²⁸.

La biosíntesis de esta fitohormona en plantas parece producirse principalmente en el tejido radicular, del que posteriormente se distribuyen a los tejidos vegetales que lo requieran. Se ha observado que muchos microorganismos de la rizosfera en los medios de cultivos son capaces de producir citocinas biológicamente activas. Algunos ejemplos de rizobacterias que las producen incluyen a *Arthrobacter giacomelloi*, *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Bacillus licheniformis*, *Paenibacillus polymyxa* en cultivos de trigo; *Pseudomonas*

fluorescens en cultivos de soja y *Rhizobium leguminosarum* en plantaciones de lechuga (Vacheron et al., 2013)⁴⁴. Algunos estudios indican que la biosíntesis de citoquinas en rizobacterias está ligada a la expresión de varios genes que codifican enzimas que transforman los anillos de las aminopurinas, pero estos mismos genes han sido descubiertos en algunas bacterias patógenas, y que aparentemente están involucrados en la habilidad de inducción de tumores en los vegetales (Baca et al., 2007)³.

- *Producción de etileno.*

El etileno es una fitohormona volátil implicada en la estimulación de la floración en algunas especies, la maduración del fruto y senescencia de órganos. Altas concentraciones de auxinas, giberelinas o citocinas en los tejidos induce la síntesis de etileno y con ello sus efectos (Knoester et al., 1999)¹⁶. El etileno también puede inhibir, cuando sus concentraciones son altas, el crecimiento vegetativo y de las raíces. La producción de etileno por parte de bacterias incluye *Escherichia coli*, *Rhizobium trifoli*, *P. syringae* (bacteria fitopatógena), entre otros. Se han descrito dos rutas de biosíntesis de etileno, que son diferentes al modelo estudiado y propuesto para células vegetales. Si bien se ha identificado el gen responsable de la codificación de las enzimas responsables para la biosíntesis de etileno en estas bacterias, el crecimiento vegetal no se ve influenciado por la producción de etileno, se ha planteado la hipótesis que estos microorganismos lo empleen como un “arma” para quebrar las defensas de las plantas y causar una infección (Baca et al., 2007)³.

4.5. Defensa de las plantas: PGPR como agentes de biocontrol.

Los microorganismos patógenos que habitan en los suelos y la rizosfera causan enfermedades a los vegetales, y en muchas ocasiones provocan la pérdida completa de los cultivos (Raza et al., 2016)³¹. Gran parte de las rizobacterias poseen la capacidad de producir metabolitos secundarios que son excretados localmente o cerca de la superficie de la planta. Muchos de estos productos son compuestos con actividad antimicrobiana que pueden competir con otros microorganismos de la rizosfera, incluyendo a fitopatógenos, un proceso conocido como control biológico o biocontrol. Esta actividad antagonista permite mantener el nivel de microorganismos patógenos por debajo del umbral de infección y prevenir el desarrollo de enfermedades a los vegetales. Por otro lado, numerosas evidencias sugieren que la asociación de microorganismos a los tejidos vegetales sanos puede funcionar como “disparadores” de un sistema inmunológico de la planta, al actuar como una barrera contra patógenos.

Algunas de las actividades antagonistas de la rizosfera son: la producción de antibióticos, de sideróforos y de bacteriocinas, la síntesis de enzimas hidrolíticas, la competencia por

nutrientes, una colonización adecuada de la superficie de la raíz, y la regulación de los niveles de etileno de las plantas ante una infección. Muchas de estas rizobacteria pueden entonces son capaces de eliminar directamente a estos microorganismos o bien estimular al sistema inmune de la planta o resistencia, ya sea sistémica o inducida, de las plantas contra fitopatógenos (Kong et al., 2016)¹⁷.

- *Producción de antibióticos.*

La producción de antibióticos probablemente sea el mecanismo más conocido de biocontrol por parte de los microorganismos. Su gran importancia no solo incumbe a áreas de salud de humanos y animales sino también de los vegetales. Los principales metabolitos secundarios relacionados a actividades antibióticas sintetizados por PGPR son los poliquétidos (PQs) y los péptidos de síntesis no ribosómica (PSNRs). Estos compuestos, de forma general, no son esenciales para el crecimiento y su papel fisiológico está asociado a favorecer la supervivencia y competitividad bacteriana en un determinado nicho. El coste energético de su producción suele ser elevado y es extremadamente dependiente a unas buenas condiciones ambientales (Matilla et al., 2016)²¹. La diversidad de PQs y PSNRs es muy amplia, reflejando el amplio espectro de actividades biológicas que presentan estos. La progresión en el desarrollo de herramientas bioinformáticas y métodos analíticos ha permitido determinar el enorme potencial de síntesis de estos metabolitos que presentan múltiples bacterias comúnmente asociadas a la rizosfera. Varios estudios de PGPRs asocian la síntesis de estos metabolitos secundarios bioactivos y su gran eficiencia colonizando las raíces de las plantas con sus propiedades de biocontrol frente a fitopatógenos, demostrando que la producción de PQs y PSNRs bioactivos por rizobacterias se lleva a cabo durante la colonización radicular (Debois et al., 2014)¹². En esta categoría encontramos PGPRs pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Serratia*, además de ser consideradas como los microorganismos con mayor potencial biosintético de PQs y PSNRs. Otras bacterias que actúan como agentes de biocontrol y son aisladas para introducirlas en cantidades óptimas para controlar el desarrollo de enfermedades son *Burkholderia sp.*, *Streptomyces venezuelae* (Tenorio-Salgado et al., 2013)⁴⁰.

Es de gran importancia mencionar que estas sustancias son totalmente biodegradables y no se requieren en grandes cantidades para hacer su función correctamente, a diferencia de los agroquímicos o plaguicidas que comúnmente son empleados en la industria agrícola, los cuales son resistentes en su mayoría a la degradación y se aplican en cantidades excesivas a los cultivos con el fin de mantener la salud de las plantas.

- *Producción de compuestos volátiles.*

Una de las actividades antagonicas que también da resultados como mecanismo de biocontrol contra fitopatógenos es la producción de compuestos volátiles (Lakshmi et al., 2015)¹⁹. En contraste con los antibióticos, que su acción principal es únicamente prevenir que los patógenos generen una infección en las plantas, estos también poseen la capacidad de propagarse en largas distancias y generar un ambiente bacteriostático alrededor de las comunidades bacterianas existentes en la rizosfera que produzcan estos compuestos (Raza et al., 2016)³¹. Estos compuestos se han identificado como moléculas volátiles de bajo peso molecular (VOCs), dentro de este grupo de moléculas se han encontrado aldehídos, alcoholes, cetonas, hidrocarburos, índoles, derivados de ácidos grasos, terpenos y jasmonatos.

Entre todos los compuestos volátiles producidos por bacterias que se han datado, el más conocido de todos es el cianuro de hidrógeno (CNH). Otro de los efectos importantes a destacar del CNH con respecto a su papel como agente de control biológico, es que su incorporación en la rizosfera también reduce los parámetros de crecimiento de la maleza, cuyo efecto se ve reducido sobre las especies vegetales de interés económico, suponiendo una práctica alternativa de bajo costo y amigable para los ecosistemas en el biocontrol de las malas hierbas persistentes en los cultivos, mitigando el uso de herbicidas y compuestos sintéticos nocivos para el ambiente. El principal grupo de PGPRs utilizadas como agentes de control biológico es el género *Pseudomonas*, las cuales se consideran las productoras más comunes de cianuro, además de poseer una amplia aplicación en procesos biotecnológicos, de gran envergadura para las agroindustrias (Lakshmi et al., 2015)¹⁹. Pero, independientemente de los beneficios citados, el papel de la producción de cianuro es contradictorio, ya que este se encuentra relacionado tanto con rizobacterias patógenas, así como con bacterias benéficas, se requieren más estudios en los que se determinen la existencia de patogenicidad de las bacterias hacia las especies vegetales para poder llevar estas prácticas a un método de biocontrol mucho más rentable y seguro. Por otro lado, se ha propuesto que la biosíntesis activa de los compuestos orgánicos volátiles (VOCs) es un fenómeno cepa-específico.

- *Producción de enzimas líticas.*

En lo que respecta a la producción de enzimas líticas, una gran variedad de microorganismos son capaces de producirlas de modo antagónico frente a otros microorganismos que están presentes en su mismo hábitat, los cuales pueden presentar cierta patogenicidad hacia los vegetales (Tejera-Hernández et al., 2011)⁴¹. Gracias a esta peculiar característica, diversas cepas de bacterias promotoras del crecimiento vegetal tienen la

capacidad de degradar las paredes celulares de otros microorganismos. Este proceso se lleva a cabo gracias a la secreción de determinadas enzimas hidrolíticas como son las P-glucanasas, celulasas, exo y endo-poligalacturonasas, fosfatasas, hidrolasas, lipasas, pectinoliasas, proteasas y quitinasas. Las cuales actúan fundamentalmente contra los hongos (Noumavo et al., 2016)²⁵.

La actividad antifúngica de los microorganismos se debe a su capacidad para generar lipopéptidos y glicopéptidos, como puede ser el caso de los ramnolípidos y la surfactina producidos por *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis* respectivamente, lo cual les permite solubilizar los principales componentes de las membranas celulares de estos hongos, además de darles una gran ventaja y oportunidad de supervivencia frente a otros microorganismos competidores en hábitats con una alta demanda por los elementos nutritivos. Por otro lado, también podemos señalar que dentro de las rizobacterias productoras de dichas enzimas destacan varias especies del género *Bacillus*, como *B. altitudinis*, *B. amyloliquefaciens* o *B. cereus*, (Molina-Romero et al., 2015)²³. Los cuales emplean diversos mecanismos que pueden inhibir los patógenos fúngicos gracias a la producción de lipopéptidos antifúngicos o enzimas líticas como las quitinasas, degradando la pared celular de los hongos y evitando así la extensión de las hifas de éstos. Esta actividad antifúngica permite a estas bacterias proteger la planta contra el estrés biótico, mediante la eliminación de patógenos.

- *Producción de sideróforos.*

Los sideróforos son péptidos de bajo peso molecular con grupos funcionales que tienen alta afinidad y capacidad de coordinar iones Fe^{+3} . Como ya se ha comentado en apartados anteriores, el hierro es un nutriente fundamental en procesos biológicos vitales para las células como cofactor de gran variedad de reacciones enzimáticas, por lo que la limitación de este macronutriente a través del uso de los sideróforos es letal para el resto de microorganismos. Los microorganismos productores de sideróforos poseen grandes ventajas competitivas en la colonización de la raíz de los vegetales, pues en la competencia por el nicho ecológico pueden inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos por la baja concentración de Fe^{+3} disponible en los suelos. Algunos casos de esta relación de competitividad son conocidos, como es el caso de *Bacillus altitudinis*, el cual antagoniza eficientemente a *Thanatephorus cucumeris* (Sunar et al., 2013)³⁸. Otras bacterias conocidas productoras de sideróforos son *Burkholderia gladioly*, *R. meliloti*, *B. tropica* y *P. aeruginosa* (Tenorio-Salgado et al., 2013)⁴¹.

Por último, cabe destacar que un compuesto de gran interés dentro de los compuestos reguladores del crecimiento vegetal, el ácido salicílico, es dependiente de hierro en su biosíntesis y actúa tanto como sideróforo en condiciones limitantes y como intermediario en la

síntesis de otros sideróforos. Además, el ácido salicílico es una hormona vegetal conocida por su papel tanto en el desarrollo vegetal e interacción de las plantas con otros organismos patógenos, así como en la inducción de defensa de las plantas frente a diferentes tipos de estrés ambiental.

- *Resistencia sistémica inducida y adquirida.*

Al igual que todos los seres vivos, las plantas también poseen genes que generan diversas “armas químicas”. Se trata de pequeñas moléculas exógenas denominadas inductores y son extremadamente eficientes, pues constituyen mecanismos de defensa que las protegen frente al ataque de organismos patógenos, ya sea disminuyendo o impidiendo este ataque, un fenómeno de resistencia vegetal. La resistencia sistémica de los vegetales es un estado fisiológico que mejora la capacidad defensiva de estos, puesta en marcha debido a estímulos específicos ambientales. Este estado mejorado de resistencia es efectivo contra un amplio rango de microorganismos patógenos, plantas parásitas e insectos herbívoros (Canchignia et al., 2015)⁹. La interacción de la rizobacteria con su planta hospedadora desencadena el mecanismo de defensa, lo que finalmente puede reducir el número de enfermedades de la planta o la severidad de su sintomatología derivada de la infección generada (Poupin et al., 2013)²⁹.

El mecanismo de resistencia vegetal implica dos fenómenos: la resistencia sistémica inducida (RSI) y la adquirida (RSA). En lo que respecta a la RSI, está relacionada con la capacidad de las bacterias para promover el crecimiento bacteriano y protegerlas contra el ataque de patógenos, mientras que la RSA está asociada a las respuestas que pueden desarrollar las especies vegetales ante la presencia o el ataque de los patógenos. Aunque son distintos, fenotípicamente son semejantes. La similitud de ambas resistencias se basa en que cuando las plantas son expuestas a un agente que active alguna de las dos respuestas, se ponen en marcha mecanismos de defensa tanto en el punto de la infección como en otras regiones del vegetal, cuya diferencia la marca la naturaleza del inductor y las vías de señalización que se tomen.

Estas vías de señalización pueden ser dependientes del ácido salicílico, asociado con la acumulación de las proteínas relacionadas con la patogénesis, y del ácido jasmónico y el etileno. Ante una respuesta a un agente biológico que no esté asociado con la vía del ácido salicílico, se desarrollará una respuesta de resistencia sistémica adquirida; por otro lado, si el inductor es abiótico y sigue la vía del ácido jasmónico y el etileno, dará lugar a una resistencia sistémica inducida (Canchignia et al., 2015)⁹. Cuando los vegetales sufren una infección local, se produce una respuesta con una cascada de señalización dependiente del ácido salicílico, el cual conduce a una expresión a nivel sistémico de amplio espectro y una consecuente resistencia a la enfermedad de larga duración, principalmente si la infección es causada por hongos, bacterias

o virus fitopatógenos. En las partes del vegetal que no hayan sido afectadas por la infección, la producción de ácido salicílico de forma sistemática puede contribuir a la expresión sistémica de la RSI. Además, si la planta sobrevive a este ataque inicial de los patógenos, estas son capaces de protegerse contra ataques posteriores por patógenos homólogos, quedando inmunes gracias a la RSA desarrollada. La RSA presenta ciertas características peculiares que pueden ser un aspecto práctico muy interesante en la agricultura, pues generalmente es efectiva con un amplio espectro de organismos patógenos, es duradera a largo plazo, la respuesta inmune es dispersa a lo largo de todo el vegetal en dirección apical y hacia las yemas. Aunque el tiempo y el grado de protección de la RSA depende de la especie vegetal y el inductor, ya que algunos efectores dan lugar a la RSA en algunas especies vegetales y en otras no.

En la agricultura se puede inducir esta respuesta infectando a la planta que se desea proteger, empleando una cepa avirulenta o virulenta; o, de forma alternativa, se pueden rociar las plantas ya sea con filtrados de cultivos de bacterias o con ácido salicílico. Dado que estas sustancias son descompuestas biológicamente y que el espectro de patógenos que pueden ser repelidos es muy amplio, su aplicación en la liberación de la respuesta sistémica tiene un buen potencial en la protección de las plantas. La investigación intensa de la RSA, en particular su genética molecular, pronto mostrará que ésta puede ser aplicada exitosamente, quizá combinada con otras medidas de protección.

La RSI puede ser inducida por una gran variedad de microorganismos los cuales no requieren que se colonice la raíz de la planta de forma extensiva. Algunos ejemplos se encuentran en bacterias Gram-positivas dentro del género *Bacillus*, como *B. altitudinis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. mycoide*, *B. pasteurii*, *B. pumilus*, *B. sphaericus* (Poupin et al., 2013)²⁹; o bacterias Gram-negativas pertenecientes al género *Pseudomonas*, como *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa* y enterobacterias como *Serratia marcescens*, *S. plymuthica*, así como *Pantoea agglomerans*, a través de la generación de diversos metabolitos, entre los cuales destacan: el ácido salicílico, lipopolisacáridos (LPS), sideróforos, lipopéptidos cíclicos y compuestos volátiles (Molina-Romero et al., 2015)²³.

4.6. Aspectos prácticos del microbioma rizosférico en la agricultura.

La calidad de los cultivos es cada vez más preocupante debido a la creciente demanda de los consumidores. Actualmente, por lo menos una tercera parte de las tierras dedicadas a la agricultura se encuentran en un preocupante déficit de fertilidad y son amenazadas por la desertificación. Una gran parte es debido al cambio climático, pero otra parte es consecuencia de las prácticas agrícolas insostenibles en algunas regiones. Debido a la necesidad de poder solventar este mal pronóstico, recientemente se ha prestado una creciente atención a los cultivos

ricos en nutrientes minerales, antioxidantes u otros metabolitos, ya que representan alta calidad y reducen el riesgo de enfermedades crónicas de los vegetales. Estos cultivos de alta calidad son más rentables para los agricultores en comparación con los cultivos convencionales. Sin embargo, las prácticas agrícolas convencionales que en muchos lugares se sigue empleando, como la labranza, el uso excesivo de fertilizantes químicos, plaguicidas y fungicidas y el monocultivo, perturban el microbioma del suelo. El uso excesivo de agroquímicos es especialmente perjudicial para los ecosistemas agrícolas, amenazando la calidad del suelo y la salud humana. Por lo tanto, es urgente buscar métodos alternativos para producir cultivos de alta calidad de una manera eficiente, segura y respetuosa con el medio ambiente.

El microbioma del suelo puede ser un gran aliado como impulsor de la calidad y la salud de los cultivos, ya que el uso de bioestimulantes microbianos puede ser útil para producir cultivos de alta calidad de manera sostenible. Sin embargo, no es fácil reemplazar los agroquímicos por bioestimulantes para producir cultivos nutricionales de manera segura y brindarles una mejor capacidad de defensa a los vegetales ante posibles ataques de patógenos. Las comunidades bacterianas naturales presentes de la rizosfera son complejas y muy diversas, estas comprenden toda una red trófica. Los bioestimulantes disponibles en el mercado, sin embargo, generalmente se limitan a uno o pocos taxones microbianos. Si bien estos productos aún no se han probado a fondo, es poco probable que compensen suficientemente la reducción de la diversidad microbiana en las tierras agrícolas debido a la actividad humana (Hart et al., 2018)¹⁴.

El uso de técnicas transcriptómicas y sintéticas en condiciones experimentales suponen una herramienta importante para poder comprender la regulación de las moléculas de comunicación y la dinámica existente en los nutrientes. Por lo tanto, se hace necesario el desarrollo de una amplia variedad interdisciplinaria de investigaciones que trabajen en comprender la rizosfera y sus interacciones en el nicho que se encuentran para poder llevar a cabo técnicas innovadoras que supongan una gran ventaja para superar los desafíos a los que nos enfrentamos actualmente. En el campo de la biología sintética, la idea de establecer agrupaciones microbianas de forma sintética podría potencialmente llegar a reemplazar o modelar la estructura y función del microbioma vegetal. Estas agrupaciones consisten crear una comunidad de microorganismos diversos con múltiples funciones para promover el crecimiento y la calidad de los cultivos, contrastando con las prácticas actuales en las que la cantidad de taxones es limitada en los biofertilizantes existentes, por lo que su uso supondría una posible resolución para los inconvenientes de los biofertilizantes tradicionales. En el desarrollo de los consorcios de microorganismos en el pasado, se basaba en la combinación de los genotipos microbianos específicos que poseyeran los rasgos deseables, mientras que actualmente se incluyen bacterias

promotoras del crecimiento vegetal con la intención de mejorar tanto el contenido de metabolitos brindados a las plantas y la cantidad de nutrientes. Sin embargo, estudios previos han reportado una gama de respuestas en los vegetales y resultados contradictorios (Rosier et al., 2016)³⁴, sugiriendo que diferentes microbios pueden no tener efectos aditivos a la hora de determinar los beneficios aportados a sus hospedadores.

Es importante destacar que la compatibilidad dentro de los microbios y con el nuevo entorno es una consideración esencial a la hora de desarrollar los consorcios, por lo que está claro que dada la variabilidad entre los microbios y la heterogeneidad de los suelos no supone una tarea pequeña, pero es el camino a seguir si se quiere aprovechar al máximo esta capacidad como una forma prometedora de mejorar la calidad de los cultivos en la agricultura sostenible. Bajo el principio de la mejora de la calidad de los cultivos, el elaborar consorcios con microorganismos deseados y eficientes, debe de ser primero probados en su sinergia y posteriormente llevada a cabo una evaluación de los impactos ecológicos posibles, es esencial para mantener la sostenibilidad ambiental.

Una selección de microorganismos basada en el conjunto de datos genómicos, el uso de información genómica y perfiles de expresión génica es un gran principio para diseñar la mejor combinación de microorganismos para inocular. La colonización robusta, la prevalencia en todas las etapas de desarrollo de las plantas y funciones beneficiosas son de los múltiples rasgos deseados para que estos no sean desplazados o superados por la propia microbiota natural. A medida que las secuencias genómicas de microbiomas vegetales estén cada vez más disponibles, la genómica comparativa ayudaría a identificar marcadores genómicos específicos para estos y otros rasgos clave, que guiarán la selección de microorganismos beneficiosos (Toju et al., 2018)⁴¹. Además de los datos de perfiles microbianos, el creciente número de genomas de referencia y metagenomas en las bases de datos públicas es una base importante para identificar microbios con los rasgos deseados. Otra consideración a tener en cuenta sobre el uso de las rizobacterias en la agricultura, es la posibilidad de que las cepas microbianas sean modificadas genéticamente mediante ingeniería genética con el fin de mejorar los efectos positivos que estos brindan a las plantas, incluso pudiendo llegar a sobreexpresión una o más características a elección. En este caso, se presenta como una buena alternativa al uso de bactericidas o fungicidas, ya que gracias al potencial de algunas bacterias conocidas se puede promover la protección de las semillas y las plántulas contra agentes infecciosos como bacterias y hongos fitopatógenos.

5. Conclusiones

1. Muchas de las bacterias presentes en los suelos colonizan las raíces de las plantas y mejoran su crecimiento, comportándose, por lo tanto, como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal o PGPR (siglas en inglés). Los beneficios para la planta del microbioma rizosférico son tan importantes que a estos microorganismos se les ha denominado “el segundo genoma de las plantas”, denotando las actividades microbianas que influyen en el crecimiento vegetal.
2. Estos microorganismos producen un beneficio en la planta bien por actividades microbianas que promueven directamente el crecimiento y la productividad o bien a través de la producción de compuestos con capacidad de ejercer control sobre los fitopatógenos y/o inducir el sistema inmune de la planta. Pueden establecerse dos grandes categorías de PGPR: agentes biofertilizantes y agentes de biocontrol.
3. Dado al aumento exponencial de la población mundial, existe una gran demanda de establecer sistemas agrícolas de alto rendimiento en materia de producción. Debido a la mala praxis de los sistemas agrícolas convencionales y el uso de fertilizantes sintéticos, hoy en día es visible el daño que han causado a los ecosistemas. Se requiere el desarrollo de nuevos métodos de cultivo más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente, donde se mejore la fertilidad de los suelos y el volumen de cosechas a la par de mantener nuestros ecosistemas saludables y no poner en riesgo la salud humana debido a las consecuencias. En este contexto, el uso de PGPR es una excelente alternativa a tener en consideración gracias a los beneficios que aporta.
4. El desarrollo de formulaciones microbianas diseñadas para incrementar la producción vegetal es un punto muy importante para poder lograr las interacciones beneficiosas entre planta-microorganismos que buscamos. En la actualidad, se han llevado a cabo nuevos enfoques moleculares que permiten aumentar el conocimiento de las comunidades de microorganismos beneficiosos del suelo y sus actividades, logrando así una vía nueva para poder comprender sus interacciones y hacer uso de estos a nuestro favor.

6. Conclusions

1. Many of the bacteria present in soils colonize the roots of plants and improve their growth, therefore behaving as rhizobacteria “promoting plant growth” or PGPR. The plant benefits of the rhizospheric microbiome are so important that these microorganisms have been called “the second genome of plants”, denoting that microbial activities influence plant growth.
2. These microorganisms produce a benefit in the plant either by microbial activities that directly promote growth and productivity or through the production of compounds with the

ability to exert control over plant pathogens and/or induce the immune system plant. Two broad categories of PGPR can be established: biofertilizer agents and biocontrol agents.

3. Given the exponential increase in the world's population, there is a high demand for high-yield agricultural production systems. Due to the malpractice of conventional agricultural systems and the use of synthetic fertilizers, the damage they have caused to ecosystems is now visible. The development of new, more sustainable and environmentally friendly farming methods is required, where soil fertility and crop volume are improved while maintaining our ecosystems healthy and not putting human health at risk because of the consequences. In this context, the use of PGPR is an excellent alternative to consider thanks to the benefits it brings.
4. The development of microbial formulations designed to increase plant production is a very important point to achieve beneficial interactions between plant-microorganisms that we seek. At present, new molecular approaches have been developed to increase knowledge of beneficial soil microorganism communities and their activities, thus achieving a new way to understand their interactions and make use of them in our favor.

7. Bibliografía

1. **Aguado-Santacruz G., Moreno-Gómez B., Jiménez-Francisco B., García-Moya E., Preciado-Ortiz R.** 2012. Impacto de los sideróforos microbianos y fotosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Rev Fitotec Mex.* 35(1):9-21.
2. **Babaloba.** (2010). Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol. Lett.* 32: 1559-70.
3. **Baca B. E., Elmerich C.** 2007. Microbial production of plant hormones. En: Elmerich C, Newton WE, editores. *Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations.* Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers. pp. 113-143.
4. **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. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57, 233-266.
5. **Beltrán Pineda M. E.** (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(1), 101-113.
6. **Bulgarelli D., Schlaeppi K., Spaepen S., van Themaat E. V. L., Schulze-Lefert P.** (2013). Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology* 64:807–838.
7. **Caballero T., Camelo M., Bonilla R., Martínez M.** 2007. Determinación de actividad fosfato solubilizadora por bacterias aisladas a partir de suelos aldoneros en los departamentos del Cesar y Meta. *Suelos Ecuat* 37:94-100.
8. **Camelo M., Vera S. P., Bonilla R.** (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Rev. Corpoica-Ciencia y Tecnol. Agropecuaria* 12:159-66.
9. **Canchignia M. H., Cruz R. N., Barrera Á. A., Morante C. J., Canchignia M. G., et al.** (2015). Aplicación de Rizobacterias que promueven el crecimiento en plantas (PGPR) del género *Pseudomonas spp.* como controladores biológicos de insectos y nemátodos-plagas. *Ciencias Agrarias*, 8(1), 25-35.
10. **De Souza R. S. C., Armanhi J. S. L., Arruda P.** (2020). From microbiome to traits: designing synthetic microbial communities for improved crop resiliency. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1179.
11. **De Vleeschauwer D., Cornelis P., Höfte M.** 2006. Redox active pyocyanin secreted by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 triggers systemic resistance to *Magnaporthe grisea* but enhances *Rhizoctonia solani* susceptibility in rice. *Mol Plant Microbe Interact* 19(12):1406-1419.
12. **Debois D., Jourdan E., Smargiasso N., Thonart P., De Pauw E., et al.** (2014). Spatiotemporal monitoring of the antibiome secreted by *Bacillus biofilms* on plant roots using MALDI mass spectrometry imaging. *Analytical chemistry*, 86(9), 4431-4438.

13. **Etesami H., Emami S., Alikhani H. A.** (2017). Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects - A review. *Journal of soil science and plant nutrition*, 17(4), 897-911.
14. **Hart M., Antunes P., Chaudhary V. B., Abbott L.** (2018). Fungal inoculants in the field: is the reward greater than the risk? *Funct. Ecol.* 32, 126–135.
15. **Jaiswal D. K., Verma J. P., Prakash S., Meena V. S., Meena R. S.** (2016). Potassium as an important plant nutrient in sustainable agriculture: a state of the art. *Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture*, 21-29.
16. **Knoester M., Pieterse C. M. J., Bol F. J., Van Loon C. L.** 1999. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by rhizobacteria requires ethylene-dependent signaling at the site of application. *Mol Plant Microbe Interact* 12(8):720-727.
17. **Kong H. G., Kim N. H., Lee S. Y., Lee S. W.** (2016). Impact of a Recombinant Biocontrol Bacterium, *Pseudomonas fluorescens* pc78, on Microbial Community in Tomato Rhizosphere. *Plant Pathol J*, 32(2), 136 -144.
18. **Kumar V., Rishi Kumar R. B., Narula N.** 2001. Establishment of phosphate-solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* in the rhizosphere and their effect on wheat cultivars under greenhouse conditions. *Microbiol. Res.* 156:87-93.
19. **Lakshmi V., Kumari S., Singh A., Prabha C.** (2015). Isolation and characterization of deleterious *Pseudomonas aeruginosa* KC1 from rhizospheric soils and its interaction with weed seedlings. *Journal of King Saud University - Science*, 2015 (27), 113-119.
20. **Ling N., Wang T., Kuzyakov Y.** (2022). Rhizosphere bacteriome structure and functions. *Nature communications*, 13(1), 836.
21. **Matilla M. A., Nogelova V., Morel B., Krell T., Salmond G. P.** (2016). Biosynthesis of the Acetyl-CoA carboxylase-inhibiting antibiotic, andrimid in *Serratia* is regulated by Hfq and the LysR-type transcriptional regulator, AdmX. *Environmental microbiology*, 18(11), 3635-3650.
22. **Mendes R., Kruijt M., De Bruijn I., Dekkers E., Van Der Voort M., et al.** (2011). Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science*, 332(6033), 1097-1100.
23. **Molina-Romero D., Bustillos-Cristales M. R., Rodríguez-Andrade O., Elizabeth Y.** (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Revista de La DES Ciencias Biológico Agropecuarias*, 17(2), 24-34.
24. **Moulin L., Munive A., Dreyfus B., Boivin-Masson C.** Nodulation of legumes by members of the beta-subclass of Proteobacteria. *Nature*. 2001 Jun 21;411(6840):948-50.
25. **Noumavo P. A., Agbodjato N. A., Baba-Moussa F., Adjanohoun A., Baba-Moussa L.** (2016). Plant growth promoting rhizobacteria: Beneficial effects for healthy and sustainable agriculture. *African Journal of Biotechnology*, 15(27), 1452- 1463.
26. **Nuccio E. E., Starr E., Karaoz U., Brodie E. L., Zhou J., et al.** (2020). Niche differentiation is spatially and temporally regulated in the rhizosphere. *The ISME journal*, 14(4), 999-1014.
27. **Oliviera C., Alves V., Marriel I., Gómez E., Scotti M., et al.** 2008. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. *Soil. Biol. Biochem.* 41: 1782-1787.
28. **Ortiz-Castro R., Contreras-Cornejo H. A., Macías-Rodríguez L., López-Bucio J.** (2009). The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant Signal Behav.* 4: 701-12.
29. **Poupin M. J., Timmermann T., Vega A., Zuñiga A., González B.** (2013). Effects of the plant growth-promoting bacterium *Burkholderia phytofirmans* PsJN throughout the life cycle of *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One* 8: 69435.
30. **Ravikumar S., Kathiresan K., Ignatiammal S. T. M., Selvam M. B., Shanthi, S.** (2004). Nitrogen-fixing azotobacters from mangrove habitat and their utility as marine biofertilizers. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 312(1), 5-17.
31. **Raza W., Wang J., Wu Y., Ling N., Wei Z., et al.** (2016). Effects of volatile organic compounds produced by *Bacillus amyloliquefaciens* on the growth and virulence traits of tomato bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 100(17), 1-12.
32. **Restrepo-Correa S. P., Pineda-Meneses E. C., Ríos-Osorio L. A.** (2017). Mecanismos de acción de hongos y bacterias empleados como biofertilizantes en suelos agrícolas: una revisión sistemática. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(2), 335-351.
33. **Rodríguez G.** (2018). Rhizosphere microbiota during invasion processes by exotic plants in semiarid ecosystems (Doctoral dissertation, Universidad de Murcia).
34. **Rosier A., Bishnoi U., Lakshmanan V., Sherrier D. J., Bais H. P.** (2016). A perspective on inter-kingdom signaling in plant-beneficial microbe interactions. *Plant Mol. Biol.* 90, 537–548. doi: 10.1007/s11103-016-0433-3.

35. **Rubio E. J.** (2003). Caracterización molecular y funcional de bacterias del género *Azotobacter* aisladas de suelos de la República Argentina. El rol de las auxinas en la respuesta a la inoculación de trigo (Doctoral dissertation, Universidad de Buenos Aires).
36. **Sharma S. K., Singh U. B., Sahu P. K., Singh H. V., Sharma P. K. (Eds.)**. (2021). Rhizosphere Microbes: Soil and Plant Functions (Vol. 23). Springer Nature.
37. **Singh U. B., Sahu A., Sahu N., Singh B. P., Singh R. K., et al.** (2013). Can endophytic *Arthrobotrys oligospora* modulate accumulation of defence related biomolecules and induced systemic resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum* mill.) against root knot disease caused by *Meloidogyne incognita*? *Appl Soil Ecol* 63:45–56.
38. **Sunar K., Dey P., Chkraborty U., Chakreorty B.** (2013). Biocontrol efficacy and plant growth promoting activity of *Bacillus altitudinis* isolated from Darjeeling hills. *J. Basic Microbiol.* 10: 1002-1014.
39. **Tejera-Hernández B., Rojas-Badía M. M. y Heydrich Pérez M.** (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 42(3), 131-138.
40. **Tenorio-Salgado S., Tinoco R., Vazquez-Duhalt R., Caballero Mellado J., Pérez-Rueda E.** (2013). Identification of volatile compounds produced by the bacterium *Burkholderia tropica* that inhibit the growth of fungal pathogens. *Bioengineered* 4: 236-43.
41. **Toju H., Peay K. G., Yamamichi M., Narisawa K., Hiruma K., et al.** (2018). Core microbiomes for sustainable agroecosystems. *Nat. Plants* 4, 247–257.
42. **Torsvik V., L. Øvreås, T. F. Thingstad** (2002). Prokaryotic diversity- Magnitude, dynamics, and controlling factors. *Science* 296: 1064-1066.
43. **Tsavkelova E. A., Klimova S. Y., Cherdyntseva T. A., Netrusov A.I.** 2006. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Appl Biochem Microbiol* 42(2):117-126.
44. **Vacheron J., Desbrosses G., Bouffaud M. L., Touraine B., Moenne Loccozy Y., et al** (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front Plant Sci* 4: 356.
45. **Vega-Hernández M. C., León-Barrios M., Pérez-Galdona R.** 2002. Indole-3-acetic acid production from indole-3-acetonitrile in *Bradyrhizobium*. *Soil Biol. Biochem.* 34:665–668.
46. **Venieraki A., Dimou M., Pergalis P., Kefalogianni I., Chatzipavlidis I., Katinakis, P.** (2011). The genetic diversity of culturable nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere of wheat. *Microb Ecol*, 61 (2), 277-285.
47. **Vera D. F., Pérez H., Valencia H.** (2002). Aislamiento de hongos solubilizadores de fosfatos de la rizosfera de arazá (*Eugenia stipitata*, Myrtaceae). *Acta Biológica Colombiana*, 7(1), 33-40.
48. **Weert S., Kuiper I., Lagendijk E. L., Gerda E., Lamers M., Ben J., Lugtenberg J.** 2003. Role of chemotaxis toward fusaric acid in colonization of hyphae of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* by *Pseudomonas fluorescens* WCS365. *Mol Plant Microbe Interact* 17(11):1185-1191.
49. **Zhao L., Teng S., Liu Y.** 2012. Characterization of a versatile rhizospheric organism from cucumber identified as *Ochrobactrum haematophilum*. *J Basic Microbiol.* 52(2):232-244.

Agradecimientos

Para dar cierre a esta memoria, no podía acabarla de otra manera que agradeciendo a todas esas personas que han estado ahí para mí en todo este proceso y me han impulsado, ya no solo a terminar mi último trabajo para poder llamarme a mí misma “bióloga”, si no a encauzar mis sueños, descubrir y luchar por lo que realmente amo hacer.

Principalmente, a mi tutora Milagros por toda su paciencia y ayuda para poder llevar a término esta memoria después de tanto tiempo, muchísimas gracias por haberlo hecho posible. Por otro lado, a toda mi familia, especialmente a mi madre y a mi abuela, los dos grandes pilares de mi vida, que logran avivar la llama de mi afán de superación día tras día pese a todas las malas circunstancias que lamentablemente hemos tenido que vivir. A mis mejores amigos, a la familia que he podido elegir y se han quedado a mi lado incondicionalmente: Jesús, Lara y Adriana; gracias por vuestra compañía y cariño todo este tiempo, esas llamadas interminables, horas de charlas de desahogo emocional, consejos y ánimos, también han sido el combustible que tanta falta me hacía para llegar hasta aquí, espero seguir muchísimos años más junto a vosotros. Por último, a esos pequeños seres de luz a los que llamo casualmente “mascotas”, pero para mí son una parte más de mi familia y les aprecio de igual forma, aunque algunos de ustedes ya no estés junto a mí, no puedo estar más agradecida por ser la chispa de mi vida constantemente, esa que muchos días me hacía ver que los pequeños momentos son los que realmente se quedan marcados en el corazón, aprender a ser fuerte y que la finalidad de la vida no es otra que vivirla y disfrutarla cada segundo.

Muchas gracias a todos, sin vuestro apoyo y ayuda no podría estar escribiendo estas palabras a día de hoy. Espero poder contar con todo el tiempo posible para poder seguir recorriendo mi camino a vuestro lado, que seáis partícipes de mis futuros planes y pueda estar orgullosa de mostraros todo lo que tengo que ofrecer, tanto profesionalmente como a nivel personal. Sois el tesoro más grande que tengo.
