

# Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico

Dalia Molina-Romero<sup>1</sup>, María del Rocío Bustillos-Cristales<sup>1</sup>, Osvaldo Rodríguez-Andrade<sup>1</sup>, Yolanda Elizabeth Morales-García<sup>1</sup>, Yair Santiago-Saenz<sup>1</sup>, Miguel Castañeda-Lucio<sup>2</sup>, Jesús Muñoz-Rojas<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup> Grupo Ecología y Supervivencia de Microorganismos, Laboratorio Ecología Molecular Microbiana, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas (CICM), Instituto de Ciencias BUAP, Edificio 103-E, Ciudad Universitaria, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). San Manuel, C.P. 72570. Puebla, Puebla México.

<sup>2</sup> Genética Molecular Microbiana, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas (CICM), Instituto de Ciencias BUAP, Edificio 103-E, Ciudad Universitaria, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). San Manuel, C.P. 72570. Puebla, Puebla México.

## Resumen

Varias bacterias rizosféricas con potencial para estimular el crecimiento de las plantas se han aislado de diferentes lugares y regiones del mundo. Los mecanismos por los cuales estas bacterias tienen la capacidad de estimular el crecimiento de plantas incluyen la producción de fitohormonas, compuestos volátiles, compuestos antimicrobianos (producción de enzimas líticas, sideróforos), fijación biológica de nitrógeno, la solubilización de fosfato y otros. Sin embargo, estos mecanismos dependen de la adherencia correcta de las bacterias a las raíces de las plantas y la colonización eficaz de la rizósfera. En diferentes lugares del continente americano se han reportado varios aislamientos bacterianos con potencial para estimular el crecimiento de las plantas y algunos de ellos han sido utilizados como formulaciones de inoculantes para incrementar el rendimiento de los cultivos. El objetivo de esta revisión fue mostrar una visión global de los mecanismos de promoción de crecimiento de plantas y el potencial agrobiotecnológico de algunas rizobacterias aisladas en América.

**Palabras clave:** bacterias tipo PGPR, inoculantes bacterianos, agrobiotecnología.

## Mechanisms of plant growth stimulation by rhizobacteria, isolations from America and biotechnological potential

### Abstract

Several rhizospheric bacteria with potential to stimulate the plant growth have been isolated from different places and regions of the world. The mechanisms by which rhizospheric bacteria have the ability to stimulate plant growth include phytohormone production, volatile compounds, antimicrobial compounds (lytic enzymes production, siderophores), biological nitrogen fixation, phosphate solubilization and others. However, these mechanisms depend on the right adhesion to plant roots and effective colonization from rhizosphere. On different places of American continent have been reported several bacterial isolations with potential to stimulate the growth of plants and some of them have been used as inoculant formulations to increment the culture yield. The objective of this revision was shown a global view of the mechanisms of plant growth promotion and the agrobiotechnological potential of some rhizobacteria isolated from Americas.

**Key words:** Plant growth promotion rhizobacteria, bacterial inoculants, Agrobiotechnology.

## Introducción

Las bacterias rizosféricas desempeñan una función importante al establecer asociaciones con las plantas. En base al efecto que ejercen estos microorganismos sobre el crecimiento de las plantas, éstas pueden clasificarse en tres grupos: benéficas, neutras y patógenas (Beneduzi *et al.*, 2012). Kloeppler & Schroth (1978) introdujeron el término de rizobacterias en sus experimentos con rábanos, definiéndolo como la comunidad bacteriana que coloniza competitivamente las raíces de la planta, que estimulan su crecimiento y reducen la incidencia de las enfermedades. Posteriormente Kloeppler & Schroth (1981) designaron a este grupo bacteriano como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR por sus siglas en inglés: Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (Jha *et al.*, 2012). Las PGPR mejoran el crecimiento, la producción y la salud de las plantas, empleando una amplia variedad de mecanismos moleculares (Malik & Sindhu, 2011). Las sustancias

que promueven el crecimiento vegetal son producidas por las bacterias rizosféricas y pueden influir directa o indirectamente sobre el metabolismo y fisiología de la planta (Saleem *et al.*, 2007; Bhattacharyya, 2012).

Las PGPR son bacterias que habitan la rizósfera, región del suelo que fue descrita por Hiltner en 1904 como el área del suelo influenciada por los exudados de la raíz, la rizósfera incluye el área del suelo unida a la raíz que se extiende a pocos milímetros de la superficie del sistema radicular, ésta se caracteriza por albergar una gran variedad de microorganismos en comparación con el resto del suelo (Do Carmo *et al.*, 2011). Los exudados rizosféricos incluyen aminoácidos, ácidos grasos, nucleótidos, ácidos orgánicos, fenoles, reguladores de crecimiento, esteroides, azúcares y vitaminas (Albareda *et al.*, 2006). Las rizobacterias compiten por estos metabolitos y por el sitio que ocupan sobre la raíz de la planta; siendo las uniones entre las células epidérmicas y el área donde emerge la raíz los sitios más poblados (Lugtenberg & Kamilova, 2009).

Los procesos de colonización y estimulación del crecimiento por parte de las rizobacterias podrían estar sujetos a mecanismos estrictos de reconocimiento del hospedero y procesos de señalización molecular entre la bacteria y la planta hospedera (Kamilova *et al.*, 2006). Las

✉ Jesús Muñoz Rojas, joymerre@yahoo.com.mx

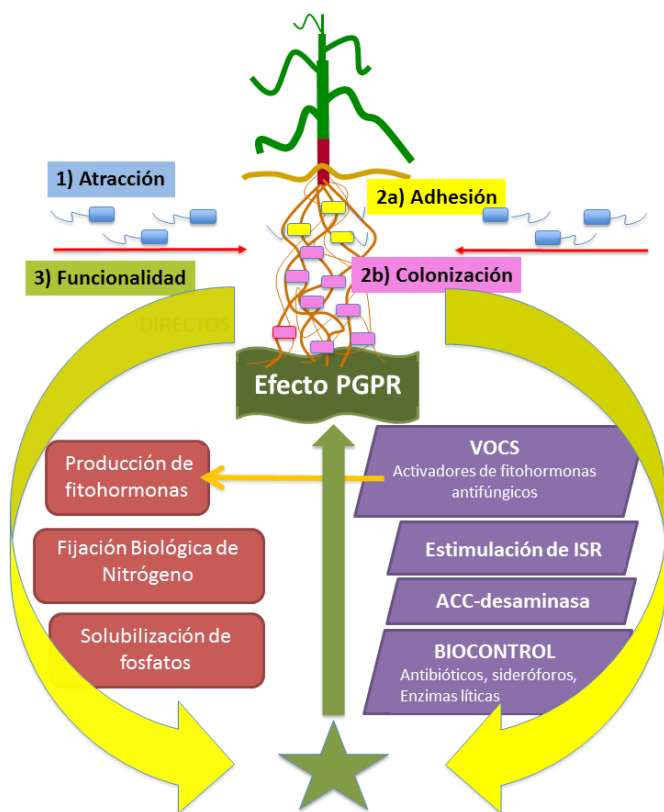
Grupo Ecología y Supervivencia de Microorganismos, Laboratorio Ecología Molecular Microbiana, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias BUAP, Edificio 103-E, Ciudad Universitaria, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). San Manuel, C.P. 72570. Puebla, Puebla México. Teléfono: (222) 2295500 Ext. 7050

bacterias de tipo PGPR se han clasificado en grupos de acuerdo al efecto benéfico que ejercen sobre la planta (Fibach-Paldi *et al.*, 2012); el cual puede ser directo o indirecto (Ortiz-Castro *et al.*, 2009). Entre las PGPR que realizan un efecto directo se ubican las rizobacterias fitoestimuladoras (Malik & Sindhu, 2011), las que proporcionan nutrientes esenciales como las rizobacterias fijadoras de nitrógeno y las solubilizadoras de fosfatos (Saleem *et al.*, 2007). Las PGPR que ejercen un efecto indirecto afectan el crecimiento de fitopatógenos, lo que permite un mejor desarrollo de las plantas hospederas (Van Loon, 2007). Las PGPR pueden eliminar a los fitopatógenos a través de la producción de sustancias inhibitorias como enzimas líticas, antibióticos, sideróforos o bacteriocinas, en un mecanismo conocido como biocontrol (Do Carmo, 2011). Las bacterias tipo PGPR también contrarrestan a los patógenos a través del incremento de la respuesta de defensa de las plantas, en un mecanismo conocido como la estimulación de la resistencia sistémica inducida por rizobacterias (ISR por sus siglas en inglés: Induced Systemic Resistance produced by rhizobacteria) (Van Loon, 2007).

Aún cuando las PGPR se han clasificado en función de su mecanismo para promover el crecimiento de plantas, en realidad éstas ejercen su efecto benéfico empleando una combinación de mecanismos que permiten estimular el crecimiento y el mantenimiento de su salud (Babaloba, 2010). Para el buen desempeño de los mecanismos de estimu-

lación del crecimiento vegetal, la mayoría de las rizobacterias establecen tres pasos indispensables (**Figura 1**):

1. Atracción de la bacteria hacia la rizósfera de su hospedero, mediado por la quimiotaxis-específica bacteriana hacia exudados vegetales particulares, estos compuestos pueden servir como fuente de carbono y funcionar como moléculas de señalización (Albareda *et al.*, 2006).
2. Adhesión y colonización a la superficie de la raíz. Las bacterias deben tener la capacidad de adherirse a las semillas o raíces de plantas, para la posterior colonización; un proceso competitivo que es afectado por características genotípicas de la rizobacteria y la variedad de planta hospedera (Muñoz-Rojas *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2009). Además, se ha observado que la adhesión de algunas cepas bacterianas es sitio específica a la raíz, presentando un patrón de colonización particular en diferentes plantas (Bloemberg & Lugtenberg, 2001).
3. Funcionalidad de la simbiosis asociativa: implica un establecimiento efectivo de la relación microorganismo-planta, lo que podría favorecer: **I**) la modulación del balance hormonal de la planta mediante la producción de fitohormonas, compuestos orgánicos volátiles o por precursores del catabolismo de la planta. **II**) El mejoramiento en la nutrición de la planta mediante fijación biológica de nitrógeno y la solubilización de fosfatos (Jha *et al.*, 2012) y **III**) el mantenimiento de la salud de la planta (Van Loon, 2007; Bordiec *et al.*, 2011).



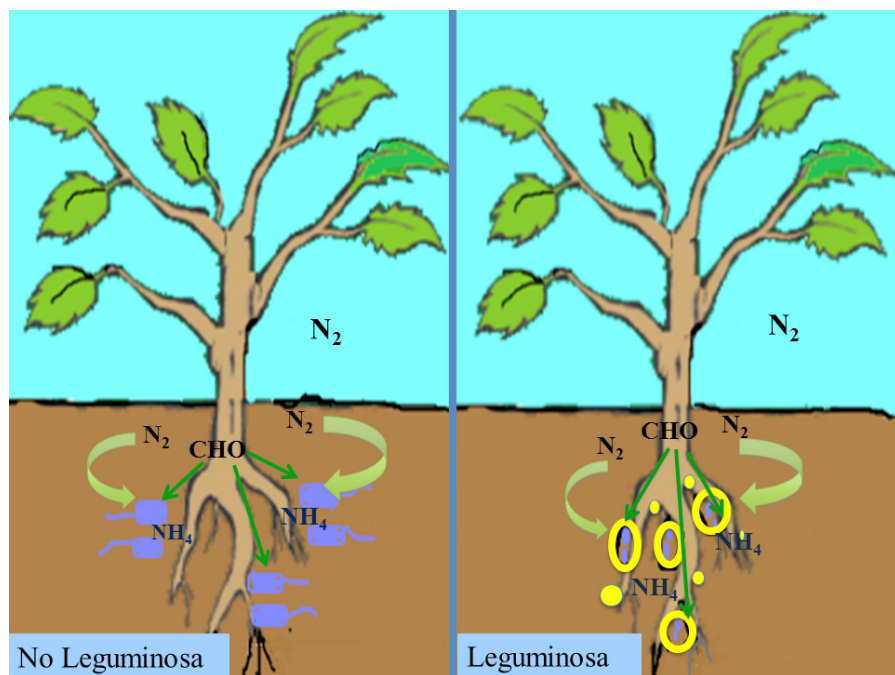
**Figura 1.** Atracción, adhesión y colonización bacteriana como determinantes para ejercer los mecanismos de estimulación de crecimiento vegetal.

## Mecanismos directos de promoción del crecimiento vegetal

### Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN)

La FBN se define como la conversión de nitrógeno atmosférico ( $N_2$ ) a amonio ( $NH_4$ ), compuesto químico del nitrógeno que puede ser utilizado por la planta, la transformación de  $N_2$  a nitrógeno biodisponible se consigue mediante la enzima denominada nitrogenasa (Annan *et al.*, 2012). La FBN se lleva a cabo en bacterias asociadas a plantas y en bacterias de vida libre (**figura 2**). Las bacterias fijadoras de nitrógeno como *Allorhizobium* sp., *Azorhizobium* sp., *Bradyrhizobium* sp., *Mesorhizobium* sp. y *Rhizobium* sp. (Fernández-Aunión *et al.*, 2010) forman nódulos en las raíces de plantas leguminosas como: soya, chícharo, cacahuate y alfalfa. El amonio generado por estas bacterias puede ser usado por las plantas hospederas como fuente de nitrógeno, dando a cambio la fuente de carbono requerida por las bacterias (Fernández-Aunión *et al.*, 2010). Los miembros del género *Frankia* también realizan la FBN en interacción simbiótica con plantas actinorrícas (Santi *et al.*, 2013). Otros ejemplos de rizobacterias endófitas capaces de convertir nitrógeno atmosférico a la forma disponible para las plantas son: *Herbaspirillum* spp. *Azospirillum amazonense* y *Burkholderia tropica* (Suman *et al.*, 2008); sin embargo el aporte de estas bacterias vía FBN hacia la planta es mínimo (Muñoz-Rojas & Caballero-Mellado, 2003; Saravanan *et al.*, 2008).

Las bacterias de vida libre también son capaces de fijar



**Figura 2. Esquema de la FBN en plantas no-leguminosas donde interaccionan bacterias de vida libre y plantas leguminosas donde interaccionan bacterias mutualistas.** En el primer caso las bacterias solo se asocian a las raíces de las plantas y en el segundo caso las bacterias realizan una asociación íntima dentro de estructuras denominadas nódulos; donde las bacterias son protegidas del oxígeno y la nitrogenasa puede realizar su actividad con mayor eficiencia. En ambos casos las bacterias reciben fuente de carbono de las plantas (CHO) y a cambio ellas les proveen de nitrógeno combinado ( $\text{NH}_4^+$ ) obtenido del proceso de la FBN.

nitrógeno atmosférico y algunos ejemplos incluyen a *Burkholderia unamae* (Caballero-Mellado et al., 2004; Caballero-Mellado et al., 2007), *Pseudomonas fluorescens* y algunas bacterias pertenecientes a *Beijerinckia* sp., *Bacillus* sp., *Azoarcus* sp., *Azotobacter* sp. (Guzmán et al., 2012), *Herbaspirillum* sp. y *Azospirillum* sp. (Fibach-Paldi et al., 2012), sin embargo; asociadas a plantas no parecen otorgar aportes significativos de nitrógeno y los mecanismos principales de crecimiento son independientes a esta vía. Por ejemplo *A. brasilense*, posee como mecanismo principal de promoción del crecimiento vegetal la producción de fitohormonas que estimulan el incremento del desarrollo de la raíz, impactando en el aumento de la toma de agua y minerales (Castro-Sowinski et al., 2007).

### Biosolubilización de fosfatos

Otro nutriente importante que interviene en el crecimiento de la planta es el fósforo; que a pesar de encontrarse en grandes cantidades en el suelo, sólo es soluble en las formas monobásica:  $\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$  y dibásica:  $\text{HPO}_4^{-2}$ , compuestos

disponibles para las plantas, aunque en campo comúnmente se mantienen en bajas concentraciones (Castagno et al., 2011). Algunas bacterias de tipo PGPR presentan la capacidad de solubilizar fosfatos a partir de compuestos inorgánicos u orgánicos, utilizando enzimas como: las fosfatasas no específicas, fitasas, fosfonatasas y C-P liasas (Lugtemberg & Kamilova, 2009). Un mecanismo alternativo para la obtención de este nutriente es la liberación de ácidos orgánicos, capaces de quelar el fósforo biodisponible en el suelo utilizando sus radicales hidroxilo y carboxilo (Vyas & Gulati 2009).

Las enzimas C-P liasas solubilizan fósforo a partir de componentes orgánicos del suelo, éstas cortan el enlace carbonofósforo de los compuestos organofosforados. La liberación de las formas solubles a partir del fósforo mineral, se realiza con la producción de ácidos orgánicos como el ácido glucónico o 2-cetoglucónico, la bioproducción de estos ácidos depende de la fuente de carbono disponible en la rizósfera (Ahemand et al., 2012). Ejemplos de bacterias de tipo PGPR con capacidad de solubilizar fosfa-

tos están dentro de los géneros *Achromobacter* sp., *Acinetobacter* sp., *Azospirillum* sp., *Burkholderia* sp., *Flavobacterium* sp., *Micrococcus* sp., *Microbacterium* sp., *Serratia*, *Beijerinckia* sp., así como las especies: *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus circulans*, *Cladosporium harbarum*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Enterobacter agglomerans*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Rhizobium leguminosarum* (Rodríguez & Fraga 2006).

### Producción de fitohormonas

La fitoestimulación es considerada el mecanismo más estudiado de las PGPR (Lugtemberg & Kamilova 2009); siendo las fitohormonas y algunos compuestos volátiles los responsables de este mecanismo promotor de crecimiento. Algunos de los microorganismos del suelo tienen la capacidad de producir fitohormonas que son responsables de incrementar el sistema radicular de la planta y el follaje (Bal et al., 2012). Las fitohormonas son moléculas orgánicas que regulan la expresión de genes implicados en el crecimiento y desarrollo vegetal, estos compuestos son sintetizados en diferentes estructuras de la planta y su acción varía en función de los cambios ambientales que modifican la expresión génica del organismo (Aguilar-Piedras et al., 2008). Recientemente se ha establecido que las fitohormonas también están implicadas en las vías de represión catabólica y regulación de la formación de biopelículas (Bhattacharyya 2012).

Las PGPR producen más de un tipo de fitohormonas como por ejemplo: las auxinas, citocininas, etileno, giberelinas y ácido abscísico (ABA) (Vilchez & Manzanera 2011). Estas moléculas exhiben diferentes efectos específicos sobre la fisiología vegetal, como 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; en consecuencia se aumenta la absorción de nutrientes y minerales solubles (Fibach-Paldi et al., 2012).

El ácido-indol-3-acético (IAA) es la auxina más estudiada, producida por las rizobacterias, esta fitohormona está implicada en el desarrollo de la raíz e incrementa la división celular

(Ortíz-Castro *et al.*, 2009); es sintetizada por diversas vías metabólicas en función de la bacteria implicada a partir del triptófano también presente en los exudados de las raíces (Camelo *et al.*, 2011). Entre las vías de biosíntesis bacterianas más conocidas están la del ácido indol-3-pirúvico (IPyA), la indol 3-acetonitrilo (IAN), la triptamina (TAM) y la del indol-3-acetamida (IAM). Para vegetales existe una vía independiente de triptófano que aún no se ha descrito en bacterias (Aguilar-Piedras *et al.*, 2008). Entre las PGPR reportadas con capacidad de producir AIA se ubican a *G. diazotrophicus* (Fuentes-Ramírez *et al.*, 1993), *Aeromonas veronii*, *Alcaligenes piechaudii*, *A. brasilense*, *Comamonas acidovorans*; *Enterobacter cloacae*, *Rhizobium leguminosarum* y *Bradyrhizobium* sp. (Malik & Sindhu, 2011).

Las citocininas producidas por las PGPR favorecen la división celular en la raíz, la elongación, diferenciación celular y el incremento del área de la raíz mediante la formación de raíces adventicias, además la formación de hojas (Ortíz-Castro *et al.*, 2009). Ejemplos de estas rizobacterias incluyen a *Arthrobacter giacomelloi*, *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Bacillus licheniformis*; *Paenibacillus polymyxa* en trigo; *Pseudomonas fluorescens* en soya y *Rhizobium leguminosarum* en lechuga (Vacheron *et al.*, 2013).

Las giberelinas son moléculas complejas con grupos di-terpenos tetracarboxílicos. Se han caracterizado 136 giberelinas distintas, entre las que están las AG1, AG3 y AG4 (Kang *et al.*, 2014). Estas fitohormonas influyen sobre la germinación mediante la interrupción del periodo de latencia de las semillas, la elongación del tallo, la floración, el desarrollo del fruto y la altura de la planta (Camelo *et al.*, 2011). *G. diazotrophicus*, *A. lipoferum*, *A. brasilense*, *Bacillus pumilus*, *B. licheniformis*, *Herbaspirillum seropedicea* y *R. phaseoli* son especies bacterianas capaces de producir estos compuestos (Babaloba 2010).

## Mecanismos indirectos de promoción del crecimiento vegetal

### Mecanismos de biocontrol (Antagonismo)

Se han empleado microorganismos para control biológico de enfermedades en plantas, algunas PGPR (agentes de biocontrol) eliminan de forma natural a los fitopatógenos (bacterias, hongos, maleza e insectos); mediante la producción de algunos metabolitos secundarios que son excretados localmente o cerca de la superficie de la planta (Bloemberg & Lugtenberg, 2001); es importante mencionar que estas moléculas son biodegradables y no se necesitan en cantidades elevadas, a diferencia de los agroquímicos que son resistentes a la degradación por microorganismos y se aplican en grandes cantidades a los cultivos agrícolas para mantener la salud de las plantas. Se han caracterizado varias clases de moléculas producidas por bacterias antagónicas Gram negativas capaces de ejercer actividad de biocontrol en contra de patógenos causantes de enfermedades de la raíz; dentro de éstas se encuentran: el ácido cianídrico (compuesto volátil), el ácido fenazina-1-carboxílico, la pioluteorina, la pirrolnitrina, los lipopéptidos cíclicos y el

diacetilfloroglucinol (DAPG) (Couillerot *et al.*, 2013), este antibiótico causa daño a la membrana celular de patógenos fúngicos como *Fusarium oxysporum* y *Phytium* sp. (Vilchez & Manzanera 2011).

Los tipos de sustancias inhibitorias producidas por las PGPR que más se han reportado se mencionan a continuación:

### Antibióticos

Este mecanismo se basa en la secreción de moléculas de amplio espectro capaces de eliminar o disminuir el crecimiento de algunos patógenos de plantas (Bal *et al.*, 2012). Los mecanismos de acción de estos metabolitos incluyen: la inhibición de síntesis de pared celular, la desestabilización estructural de la membrana celular y la inhibición de la formación del complejo de iniciación de la traducción de los fitopatógenos (Beneduzi *et al.*, 2012). Ejemplos de rizobacterias productoras de antibióticos corresponden a los géneros *Burkholderia* sp. (Tenorio-Salgado *et al.*, 2013), *Streptomyces venezuelae* (Morales-García *et al.*, 2007; Kannan & Prakash *et al.*, 2011).

### Sideróforos

Estos compuestos son péptidos de bajo peso molecular con grupos funcionales que tienen alta afinidad y capacidad de coordinar iones  $Fe^{3+}$  (Stearns *et al.*, 2012). Está ampliamente documentada la participación del hierro en diferentes procesos biológicos vitales para las células como cofactor de una gran variedad de reacciones enzimáticas (Tenorio *et al.*, 2012) por lo que la limitación de este macronutriente es letal para los microorganismos. Los sideróforos se han clasificado en: carboxilatos, hidroxamatos, fenol catecoles y pioverdinas, esta clasificación se basa en las características estructurales, específicamente en los grupos funciones que coordinan el hierro y los tipos de receptores (Rajkumar *et al.*, 2012). El mecanismo de acción de los sideróforos inicia con la formación de un complejo sideróforo- $Fe^{3+}$ , unido posteriormente a receptores de membrana dependientes de la limitación por hierro (Vacheron *et al.*, 2013), posteriormente el hierro es interiorizado y reducido en el citoplasma bacteriano al ión activo  $Fe^{2+}$  (Beneduzi *et al.*, 2012).

Las PGPR con capacidad de producir sideróforos adquieren ventajas competitivas en la colonización de la raíz, competencia por el nicho ecológico e inhibición del crecimiento de hongos fitopatógenos por la baja concentración de  $Fe^{3+}$  disponible en suelos como ocurre con *B. altitudinis* que antagoniza eficientemente a *Thanatephorus cucumeris* (Sunar *et al.*, 2013). Otras bacterias productoras de sideróforos son *Burkholderia gladioly* (Marin-Cevada *et al.*, 2012), *R. meliloti*, *B. tropica* (Tenorio-Salgado *et al.*, 2013) y *P. aeruginosa* (Vyas & Gulati, 2009).

### Enzimas líticas

Estas enzimas son capaces de destruir la pared celular del hongo, entre las que se identificaron quitinasas (Zhu, 2007), celulasas, beta-1,3 glucanasas, proteasas y lipasas (Lugtenberg & Kamilova, 2009). Algunas rizobacterias

productoras de estas enzimas son *Bacillus altitudinis*, *B. amyloliquefaciens* (Sunar *et al.*, 2013).

### Metabolitos antifúngicos

La mayoría de las PGPR producen: fenazinas, pyrrolnitrina, 2,4-diacetilfloroglucinol, pyoluteorina, visconinamida y tensinas; además de enzimas como peroxidasa, oxidasa polifenol y la fenilalanina amonio-liasa cuya función de estos compuestos en la defensa contra los fitopatógenos fúngicos (Babaloba 2010). Entre los géneros con capacidad de biocontrol contra hongos se han identificado: *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp., *Bacillus* sp., *Enterobacter* sp., *Paenibacillus* sp., *Pseudomonas* sp. y *Streptomyces* sp.; estas rizobacterias tienen la capacidad de suprimir patógenos como el virus del mote del tomate, el virus necrosante del tabaco, *Rhizoctonia bataticola*, *Myzus persicae*, *Fusarium avenaceum* entre otros fitopatógenos (Babaloba 2010).

### Controladores de estrés, regulación de los niveles de etileno en la planta.

Las rizobacterias con capacidad de producir la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa, facilitan y ayudan sustancialmente al crecimiento y desarrollo de la planta bajo condiciones de estrés mediante la disminución de los niveles de etileno (hormona) (Shen 2012; Caballero-Mellado 2007). Cuando la planta se enfrenta a altas concentraciones de etileno, esta sufre desfoliación, inhibición de la elongación de las células, senescencia y otros procesos celulares que podría mermar el desarrollo de la planta (Stearns *et al.*, 2012; Vacheron *et al.*, 2013). Estas bacterias utilizan el 1-aminociclopropano-1-carboxilato (precursor del etileno) y lo metabolizan en alfa-cetobutirato y amoniaco. Entre los géneros donde se ha evidenciado la producción de esta enzima encontramos a *Achromobacter* sp., *Alcaligenes* sp., *Azospirillum* sp., *Bacillus* sp., *Burkholderia* sp. (Onofre-Lemus *et al.*, 2009), *Rhizobium*, *Rhodococcus*; así como *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Methylobacterium fujisawaense*, *Pseudomonas putida* y *Sinorhizobium meliloti* (Jorquera *et al.*, 2012). Esta reacción metabólica disminuye el estrés en la planta generado por altas concentraciones de esta hormona, afectando a algunas bacterias fitopatógenas; además proporciona resistencia a hidrocarburos poliaromáticos, desecación, salinidad y metales pesados como níquel y calcio (Bal *et al.*, 2012).

### Resistencia sistémica inducida (ISR)

La interacción de algunas PGPR con su planta hospedera puede reducir el número de enfermedades de la planta o la severidad de la sintomatología de la infección generada por algunas bacterias, hongos, virus, nemátodos y algunos insectos patógenos (Poupin *et al.*, 2013). Esto ocurre porque algunas de las rizobacterias desencadenan en las plantas un proceso de capacidad defensiva por periodos prolongados ("inmunidad"), conocido como resistencia sistémica inducida (ISR, por sus siglas en Inglés) (Lucas *et al.*, 2013). La respuesta ISR comparte muchas propiedades con la respuesta inmune innata, este proceso depende de

la señalización del ácido jasmónico y etileno en la planta. La acumulación de estas moléculas coordinan a nivel sistémico la activación y el mejoramiento de la capacidad de defensa (Bordiec *et al.*, 2011); mediante mecanismos como: el reforzamiento de la pared celular, la producción de fitoalexinas anti-microbianas, peroxidasa, quitinasa,  $\beta$ 1-3 glucanasa, fenilalanina amonio liasa, proteínas relacionadas con la patogénesis y producción de biosurfactantes (Sunar *et al.*, 2013).

Algunos organelos y moléculas bacterianas inducen la respuesta ISR, tales como: lipopolisacáridos (LPS), flagelo, ácido salicílico, sideróforos, lipopéptidos cíclicos, el factor antifúngico PhI, molécula (AHLs) y los degradadores de compuestos volátiles producidos por *Bacillus subtilis* rompen la acetoina y 2,3-butaneidol. A diferencia con otros mecanismos de biocontrol, para desencadenar el mecanismo ISR no se requiere que la cepa colonice la raíz de la planta de forma extensiva, como ha sido reportado para *Bacillus altitudinis*, *B. cereus*, *B. subtilis* (Poupin *et al.*, 2013). Otros ejemplos de rizobacterias capaces de promover el ISR en plantas son: *B. amyloliquefaciens*, *B. pasteurii*, *B. pumila*, *B. mycoide*, *B. sphaericus*, *Burkholderia phytofirmans*, *Rhizobium leguminosarum*; *P. putida* 89B-27 y *Serratia marcescens* (Bhattacharyya 2012).

### Compuestos orgánicos volátiles (VOCs)

Estos compuestos se han identificado como moléculas volátiles de bajo peso molecular (VOCs) menor o igual a 300g/mol; dentro de este grupo de moléculas se han encontrado aldehídos, alcoholes, cetonas, hidrocarburos, índoles, derivados de ácidos grasos, terpenos y jasmonatos (Van Loon 2007). Aunque algunos VOCs actúan de forma directa como fitohormonas, la mayoría estimula de forma indirecta a la promoción del crecimiento vegetal. Los VOCs más representativos son la acetoina y el 2,3-butanodiol producidos por *Enterobacter cloacae* JM22 (Farag *et al.*, 2013). Se ha propuesto que la biosíntesis activa de los compuestos orgánicos volátiles (VOCs) es un fenómeno cepa-específico (Park *et al.*, 2013).

*B. subtilis* GB03 produce VOCs que pueden activar las vías de producción de fitohormonas como auxinas, giberelinas, citocininas, ácido salicílico y brasinosteroides, promoviendo el desarrollo de *Arabidopsis* sp. mediante la acumulación de auxinas en los sitios primordiales de la raíz; además de modificar la pared celular que permite el alargamiento de las células radiculares (Zhang, 2007).

Los VOCs producidos por las rizobacterias pueden actuar como moléculas señal que median la interacción microorganismo-planta; cuando son producidos en suficiente concentración aumentan la respuesta inmunitaria, estimulando específicamente la resistencia sistémica inducida (ISR); regulan el crecimiento, morfogénesis de la planta, antibiosis y biocontrol de fitopatógenos (Farag *et al.*, 2013). En 2009 Ortíz-Castro reportó que los VOCs amonio, butirrolactonas, HCN y ácido fenazina-1-carboxílico, presentan actividad *in vivo* en diferentes especies de hongos, inhiben el crecimiento del micelio y promueven la reducción de la esporulación. *B. subtilis* GB03 y *B. amyloliquefaciens*

IN937a, producen acetoina y 2,3-butanediol, esta última PGPR estimula la resistencia sistémica inducida en contra del patógeno *Erwinia carotovora* mediante señalización independiente de etileno; a diferencia de *B. subtilis* que estimula el ISR vía señalización dependiente de etileno en *Arabidopsis* sp. (Ryu *et al.*, 2004). En 2013 Park evidenció la capacidad de *P. polymyxa* E681 de producir hexadecano (VOCs de cadena larga) que estimula fuertemente la ISR de *Arabidopsis* sp. en contra de *Pseudomonas syringae* a comparación de la estimulación generada por *B. subtilis* en contra de este mismo fitopatógeno. Zhang en 2009 reportó que la producción de VOC de *B. subtilis* GB03 mejora la asimilación de hierro y la fotosíntesis de *Arabidopsis* sp.; estimulando la síntesis del factor transcripcional inducido por deficiencia de Fe (*ftl-2*), incrementando la producción de la enzima reductasa férrica y del transportador de Fe IRT1; además de acidificar el medio, lo que incrementa la disponibilidad de este macronutriente. Estos efectos fueron observados en la planta silvestre y en la mutante *ftl-2* complementada.

Otra función recientemente propuesta para los VOCs (producidos por las PGPR) es aumentar la resistencia al estrés abiótico de las plantas bajo condiciones de salinidad, sequía y metales pesados (Frag *et al.*, 2013).

## Aislamientos de bacterias benéficas en América

En las **tablas 1a** y **1b** se organizan las cepas PGPR aisladas en América, en la mayoría de estos trabajos se ha sugerido el mecanismo probable de acción que las rizobacterias ejercen sobre su planta hospedera, así como los países donde fueron localizadas estas PGPR. Esta tabla ofrece un panorama global del conocimiento generado en América, además muestra varios trabajos que han contribuido a fortalecer y elucidar el conocimiento de los diversos

mecanismos de promoción del crecimiento vegetal que emplean estas rizobacterias.

*Azospirillum* sp. y *Pseudomonas* sp. han sido aisladas de una gran variedad de cultivos en diversos países americanos, obteniendo resultados similares a los reportados por otras investigaciones desarrolladas en el resto del mundo, en referencia a la capacidad de promover el crecimiento de plantas. Diversas cepas del género *Azospirillum* sp. aisladas en América potencian el crecimiento de maíz, soja, lechuga, la gramínea Eulalia, algodón, pimentón, arbustos de manglares y mangle rojo. En naciones como Colombia, *Azospirillum* sp. Lag10 aumentó el crecimiento de algodón, sugiriendo que el mecanismo empleado por esta PGPR es la producción de AIA (Guzmán *et al.*, 2012); en Río de Janeiro, Brasil, este género fue aislado del mangle rojo así como de Eulalia (Do Carmo *et al.*, 2011). En Tachira, Venezuela se aislaron varias cepas del género *Azospirillum* sp. cepa 23 a partir de pimentón y maíz, estas incrementaron el crecimiento de estos vegetales probablemente mediante la producción de fitohormonas y sideróforos. (Reyes *et al.*, 2008). En Plata, Argentina *Azospirillum brasilense* Sp245 promovió el crecimiento de lechugas en comparación a lechugas no inoculadas, sugiriendo mecanismos como: producción de auxinas, giberelinas, solubilización de fosfatos y de sideróforos (Fasciglione *et al.*, 2012).

*Pseudomonas fluorescens* ABE66285 y *Pseudomonas* sp. HM011621 fueron aisladas de un arbusto conocido como Gobernadora en Chile, en este estudio se sugiere la producción de ACC desaminasa y solubilización de fosfatos en ambas rizobacterias (Jorquera *et al.*, 2012). *P. fluorescens* M25 se aisló de raíces de una leguminosa forrajera en Río Salado, Argentina, esta rizobacteria es capaz de solubilizar fosfatos (Castagno *et al.*, 2011). En Río de Janeiro, Brasil fué aislada *Pseudomonas* sp. Avi 5 del mangle rojo y mangle preto (Do Carmo *et al.*, 2011), mostrando la versatilidad de

**Tabla 1a. Ejemplos de bacterias tipo PGPR aisladas en Norteamérica.** SGAC: sitio de geográfico de aislamiento de la cepa. PS: producción de sideróforos, SF: solubilización de fosfatos, AIA: producción de ácido indol acético, B: Biocontrol, DAPG: 2,4 diacetylpholoroglucinol, ACC: enzima 1-aminoacilpropano-1-carboxylato desaminasa, ISR: respuesta sistémica inducida por rizobacterias, AN: antimicrobianos, FBN: fijación biológica de nitrógeno.

PGPR aislada	Mecanismo	Planta	SGAC	Referencia
<i>P. aeruginosa</i> A11	PS, HCN y SF	Escoba amarga	NY-EUA	Kumar <i>et al.</i> , 2013
<i>A. brasilense</i> UAP-154 y CFN-535	AIA	Maíz	México	Dobbelaere <i>et al.</i> , 2001
<i>B. subtilis</i> DN, MZ y BH	ACCd	Guayaba	Gto-México	Gómez Luna <i>et al.</i> , 2012
<i>B. tropica</i> MTo 293	VOC, FBN, PS y SF	Maíz	Oax-México	Tenorio <i>et al.</i> , 2012
<i>Enterobacter</i> sp. UAPSO3001	Desconocido	Maíz	Tlax-México	Morales-García <i>et al.</i> , 2011
<i>B. unamae</i> MTI-641 <sup>T</sup>	FBN, AACd	Tomate	Mor-México	Caballero-Mellado <i>et al.</i> , 2004
<i>B. tropica</i> MCu-831	FBN	Maíz	Mor-México	Reis <i>et al.</i> , 2004
<i>G. diazotrophicus</i> UAP-Cf05	FBN, AIA	Cafeto	Pue-México	Jiménez-Salgado <i>et al.</i> , 1997
<i>G. johanna</i> CFN-Cf55 <sup>T</sup>	Desconocido	Cafeto	Chis-México	Fuentes-Ramírez <i>et al.</i> , 2001
<i>B. subtilis</i>	B	Papa	Gto-México	Jiménez-Delgadillo <i>et al.</i> , 2001
<i>B. vietnamiensis</i> MMI-324	FBN	Maíz	Mor-México	Estrada-de los Santos <i>et al.</i> , 2001

**Tabla 1b. Ejemplos de bacterias tipo PGPR aisladas en Sudamérica.** SGAC: sitio de geográfico de aislamiento de la cepa. PS: producción de sideróforos, SF: solubilización de fosfatos, AIA: producción de ácido indol acético, B: Biocontrol, DAPG: 2,4 diacetylphloroglucinol, ACC: enzima 1-aminoacilciclopropano-1-carboxylato desaminasa, ISR: respuesta sistémica inducida por rizobacterias, AN: antimicrobianos, FBN: fijación biológica de nitrógeno.

PGPR aislada	Mecanismo	Planta	SGAC	Referencia
<i>Azospirillum</i> sp. SRGM2	SF	Pasto de Guinea	Colombia	Cárdenas-Caro <i>et al.</i> , 2014
<i>B. diazoefficiens</i> CPAC	FBN, AIA	Soja, Maíz	Londrina- Brasil	Marks <i>et al.</i> , 2013
<i>Azotobacter</i> sp. MFb1 y MF5.	FBN y SF	Maíz	Táchira-Venezuela	Valery & Reyes <i>et al.</i> , 2013
<i>Azotobacter</i> sp. NAT 13	FBN	Algodón	Tolima-Colombia	Guzmán <i>et al.</i> , 2012
<i>P. fluorescens</i> ABE66285	ACC d y SF	Gobernadora	Chile	Jorquera <i>et al.</i> , 2012
<i>Bacillus</i> sp. LMA5	AIA, SF	Cactus	Brasil	Kavamura <i>et al.</i> , 2013
<i>Pseudomonas</i> sp. Avi 5	FBN, SF y AIA	mangle rojo y preto	RJ-Brasil	Do Carmo. <i>et al.</i> , 2011
<i>Pantoea eucalypti</i> M91	SF	Gramínea forrajera	Río Sal.- Argentina	Castagno <i>et al.</i> , 2011
<i>B. amyloliquefaciens</i> Bac3M6	AIA, SF	Papa	M. andinas- Perú	Calvo. <i>et al.</i> , 2010
<i>Azospirillum</i> sp. Cepa 23	PS, FBN	Frijol	Tachira-Venezuela	Reyes <i>et al.</i> , 2008
<i>B. silvatlantica</i> PPCR-7	Desconocida	Caña de azúcar	RJ- Brasil	Perin <i>et al.</i> , 2005
<i>A. doebereineriae</i> GSF71 <sup>T</sup>	FBN	pasto tropical	Brasil	Eckert <i>et al.</i> , 2001

cepas del género *Pseudomonas* para interactuar con una gran variedad de vegetales, haciendo a estas candidatas para ser usadas en agrobiotecnología, debido a su adaptación efectiva.

El género *Burkholderia* ha sido aislado de una gran diversidad de plantas de importancia agrícola como el caso de *Burkholderia silvatlantica* SRMrh-20<sup>T</sup> aislada de caña de azúcar y maíz en Río de Janeiro Brasil (Perin *et al.*, 2005). En Morelos, México se aisló a *Burkholderia unamae* MTL-641<sup>T</sup> de plantas de tomate, en este estudio se evidenció su capacidad de producir ACC desaminasa y fijación biológica de nitrógeno (Caballero-Mellado *et al.*, 2004). *Burkholderia tropica* Ppe8<sup>T</sup> fue aislada de caña de azúcar en Brasil y en México del teosinte, esta rizobacteria es capaz de realizar fijación biológica de nitrógeno (Reis *et al.*, 2004). *B. vietnamiensis* TVV75<sup>T</sup> fué aislada de las raíces de maíz y café, donde se observó su capacidad de fijar nitrógeno, los aislamientos se realizaron en algunos estados de México como Morelos, Chiapas y Oaxaca (Estrada-de los Santos *et al.*, 2001).

## Potencialidades de bacterias benéficas como inoculantes para la agricultura

Por sus características metabólicas versátiles, las rizobacterias poseen un potencial biotecnológico para la formulación de inoculantes; entre los que destacamos a los biofertilizantes (bacterias fijadoras de nitrógeno) (Saravanan *et al.*, 2008), fitoestimulantes (bacterias productoras de hormonas), agentes de biocontrol (bacterias que eliminan patógenos) (Marín-Cevada 2012; Ortiz-Castro *et al.*, 2009), entre otras. Ejemplo de lo anterior es el modelo bacteriano de *Azospirillum* sp. y *Pseudomonas* sp.; cuyos mecanismos de acción han sido ampliamente estudiados (Castro-Sowinski *et al.*, 2007). Con los resultados generados a partir de estos

estudios, se han formulado y comercializado inoculantes (tipo biofertilizantes) con *A. brasilense* ó *A. lipoferum*; estos inoculantes se han aplicado en cientos de miles de hectáreas principalmente en Latinoamérica (Caballero-Mellado 2006; Fuentes-Ramírez & Caballero-Mellado 2005, Atieno *et al.*, 2012; Fasciglioni *et al.*, 2012). El empleo a gran escala de los biofertilizantes resulta atractivo a la práctica agrícola por el incremento en la producción de cultivos; además de ser una opción para cubrir la gran demanda actual de alimentos, así como por la reducción del uso de fertilizantes químicos y agroquímicos, impactando de forma directa en la reducción de la contaminación de los suelos agrícolas y mantos acuíferos (Rumjanek *et al.*, 1993; Guzmán *et al.*, 2012).

En México se han generado empresas dedicadas a producir y comercializar biofertilizantes, entre las que ubicamos a Biofábrica Siglo XXI que ha desarrollado productos como Azofer, inoculante formulado a base de *A. brasilense*; Rhizofer, formulado con *Rhizobium etli*, la producción de los inoculantes a nivel industrial surgió a partir de un licenciamiento tecnológico celebrado con el Centro de Ciencias Genómicas UNAM (<http://www.biofabrica.com.mx/about.html>). Biosustenta es otra empresa mexicana dedicada al desarrollo y producción de insumos biológicos como el inoculante Ferbiliq, formulado a base de *A. brasilense* y *Glomus intraradices*; Endomaz, biofertilizante hecho a base de *A. brasilense* (<http://cosustenta.com/catalogo.html>). Fertilizantes Mexicanos es otra empresa que comercializa biofertilizantes formulados con bacterias fijadoras de nitrógeno (Azoton AA Plus); Biomtrics es formulado con bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfatos, otros de sus productos son Bioespiril y Raizinn Bio (<http://biofertilizantes.mx/index.html>). También Bio Orgánica Mexicana comercializa biofertilizantes como: Ultralite AZO (<http://www.bio-organica.com.mx>). Todas las empresas

antes mencionadas ofrecen al agricultor una alternativa ecológica para incrementar la producción de sus cultivos, además de un impacto favorable a su economía, por los costos menores de estos productos en comparación con los fertilizantes químicos.

Argentina es otro de los países que ha desarrollado agrobiotecnología desde hace 50 años, empleando a las PGPR aisladas de este país para la formulación de inoculantes bacterianos, estas formulaciones se desarrollaron para mejorar el crecimiento y aumentar la productividad de plantas leguminosas y cereales de importancia agrícola de esta región, dentro de las leguminosas encontramos a soja, alfalfa, tréboles blanco y rojo, haba, cacahuate, chícharo, lentejas, frijol, garbanzos y cereales como maíz y trigo. Dentro de las empresas con más trayectoria en esta área biotecnológica ubicamos a NITRASOIL ARGENTINA S. A. que ha desarrollado un inoculante que contiene bacterias del género *Azospirillum* sp. cepa AZ39, recomendada por el INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) por ser considerada la mejor entre las disponibles hasta el momento (<http://www.nitrasoil.com.ar>). La Empresa Rizobacter Argentina S.A. Microbiología agrícola (<http://www.viarural.com.ar>) cuenta con una variedad de productos cuya formulación está dirigida a soja, maíz y trigo. Las bacterias que emplean para el desarrollo de estos inoculantes son *Pseudomonas fluorescens*, *Bradyrhizobium* sp., *Mesorhizobium cicerii*, *Sinorhizobium meliloti*, *Rhizobium leguminosarum* biovar trifoli y *Bradyrhizobium japonicum*. La firma Nitrasoil S. A. se dedica a la formulación y comercialización de fertilizantes e inoculantes biológicos para el sector agrícola, también FPC Argentina S.A. (<http://www.fpcinoculantes.com.ar>); (<http://geadecolon.com.ar>) GEA: Graneros y Elevadores Argentinos de Colon Soc. Coop. Ltda y bionet (<http://www.bionetsrl.com/inoculantes-bionet-soja-premium.php>). Estas empresas son las más representativas de América que han aplicado las características metabólicas versátiles de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal aisladas de este continente para la formulación de inoculantes bacterianos.

## Conclusiones

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal poseen mecanismos moleculares que impactan de forma favorable al crecimiento, la producción y la salud de las plantas con las que interactúan. Las PGPR promueven el crecimiento vegetal de forma directa e indirecta. El efecto es considerado como directo, cuando el microorganismo aporta nutrientes esenciales a la planta o fitohormonas. El efecto indirecto se establece cuando las rizobacterias que protegen a la planta de patógenos mediante la activación de la ISR o cuando efectúan el biocontrol. La gran mayoría de las PGPR cuentan con más de un mecanismo de promoción del crecimiento vegetal ejerciendo el efecto benéfico tanto de forma directa como indirecta sobre la planta. Ejemplo de lo anterior son algunas de las rizobacterias aisladas en América. La versatilidad metabólica de las PGPR aisladas de diversas regiones del mundo tienen potencial agrobiotecnológico para la

producción de Biofertilizantes, ejemplo fehaciente son las empresas mexicanas y argentinas dedicadas a la producción y comercialización de esta aplicación biotecnológica. Los inoculantes son una alternativa en favor de la agricultura sustentable, que incrementan el rendimiento, disminuyen la contaminación y los costos de producción en la práctica agrícola. Sin embargo, aún falta conocimiento relacionado con la interacción microorganismo-planta y elucidar como ocurren varios de los mecanismos de interacción las bacterias asociadas a las plantas, en especial es de particular interés conocer cuáles son los mecanismos de promoción de crecimiento que las bacterias expresan asociados a plantas y bajo qué condiciones ambientales lo llevan a cabo. Los esfuerzos de la aplicación de las bacterias PGPR para explotar sus beneficios potenciales son aún muy pocos en el mundo. En América a pesar de que existen empresas que fabrican inoculantes con bacterias benéficas, aún no existe una cultura de aplicación de los microorganismos PGPR y las formulaciones comerciales tendrán que ser más eficientes para convencer a los agricultores de que su uso es imprescindible para potenciar el crecimiento de plantas.

## Agradecimientos

A CONACYT (000000000156576), DITCo2015, VIEP15-I y PRODEP por el soporte para el desarrollo de esta investigación. Dalia Molina-Romero y Osvaldo Rodríguez-Andrade son becarios CONACYT por lo que adicionalmente agradecemos a esta institución.

## Referencias

- Aguilar-Piedras J, Xique-Vásquez M, García S, Baca BE** (2008) Producción del ácido indol-3-acético en *Azospirillum*. *Rev. Latinoam. Microbiol.* 50: 29-37.
- Ahemand M, Khan M** (2012) Alleviation of fungicide-induced phytotoxicity in greengram [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] using fungicide-tolerant and plant growth promoting *Pseudomonas* strain. *Saudi J. Biol. Sci.* 19: 451-59.
- Albareda M, Dardanelli MS, Sousa C, Megías M, Temprano F, Rodríguez-Navarro D** (2006) Factors affecting the attachment of rhizospheric bacteria to bean and soybean roots. *FEMS Microbiol. Lett.* 259: 67-73.
- Annan H, Golding A, Zhao Y, Dong Z** (2012) Choice of hydrogen uptake (Hup) status in legume-rhizobia symbioses. *Ecol. Evol.* 2: 2285-90.
- Atieno M, Herrmann L, Okalebo R, Lesueur D** (2012) Efficiency of different formulations of *Bradyrhizobium japonicum* and effect of co-inoculation of *Bacillus subtilis* with two different strains of *Bradyrhizobium japonicum*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28: 2541-50.
- Babaloba OO** (2010) Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol. Lett.* 32: 1559-70.
- Bal HB, Das S, Dangar TK, Adhya TK** (2012) ACC deaminase and IAA producing growth promoting bacteria from the rhizosphere soil of tropical rice plants. *J. Basic. Microbiol.* 53: 972-84.



- Beneduzi A, Ambrosini A, Passaglia LMP** (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genet. Mol. Biol.* 35: 1044-51.
- Bhattacharyya PN, Jha DK** (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28: 1327-50.
- Bloemberg GV, Lugtenberg BJ** (2001) Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4: 343-50.
- Bordiec S, Paquis S, Lacroix H, Dhondt S, Ait Barka E, Kauffmann S, Jeandet P, Mazeyrat-Gourbeyre F, Clement C, Baillieul F, Dorey S** (2011) Comparative analysis of defence responses induced by the endophytic plant growth-promoting rhizobacterium *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN and the non-host bacterium *Pseudomonas syringae* pv. pisi in grapevine cell suspensions. *J Exp Bot* 62: 595-603
- Caballero-Mellado J** (2006) Microbiología agrícola e interacciones microbianas con plantas. *Rev. Latinoam. Microbiol.* 48: 154-61.
- Caballero-Mellado J, Onofre-Lemus J, Estrada-de los Santos P, Martínez-Aguilar L** (2007) The tomato rhizosphere, an environment rich in nitrogen-fixing *Burkholderia* species with capabilities of interest for agriculture and bioremediation. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 5308-19.
- Caballero-Mellado J, Martínez-Aguilar L, Paredes-Valdez G, Estrada-de los Santos P** (2004) *Burkholderia unamae* sp. nov., an  $N_2$ -fixing rhizospheric and endophytic species. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54: 1165-72.
- Calvo P, Ormeño-Orillo E, Martínez-Romero E, Zuñiga D** (2010) Characterization of *Bacillus* isolates of potato rhizosphere from Andean soils of Peru and their potential PGPR characteristics. *Braz. J. Microbiol.* 41: 899-906.
- Camelo M, Vera SP, Bonilla R** (2011) Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Rev. Corpoica-Ciencia y Tecnol. Agropecuaria* 12: 159-66.
- Cárdenas-Caro DM, Garrido-Rubiano MF; Roncallo-Fandiño BA, Bonilla-Buitrago RR** (2014) Inoculation with *Azospirillum* spp and *Enterobacter agglomerans* in Guinea grass (*Panicum maximum* Jacq.) in the Cesar Department (Colombia). *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 67: 7271-80.
- Castagno LN, Estrella MJ, Sannazzaro AI, Grassano A, Ruiz OA** (2011) Phosphate-solubilization mechanism and *in vitro* plant growth promotion activity mediated by *Pantoea eucalypti* isolated from *Lotus tenuis* rhizosphere in the Salado River Basin (Argentina). *J Appl. Microbiol.* 110: 1151-65.
- Castro-Sowinski S, Herschkovitz Y, Okon Y, Jurkevitch E** (2007) Effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on resident rhizosphere microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* 276: 1-11.
- Couillerot O, Ramírez-Trujillo A, Walker V, von Felten A, Jansa J, et al.** (2013) Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum-Pseudomonas-Glomus* consortia for promotion of maize growth. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97: 4639-49.
- Do Carmo FL, dos Santos HF, Martins EF, Van Elsas JD, Rosado AS, Peixoto RS** (2011) Bacterial structure and characterization of plant growth promoting and oil degrading bacteria from the rhizospheres of mangrove plants. *J. Microbiol.* 49: 535-43.
- Drogue B, Doré H, Borland S, Wisniewski-Dyé F, Prigent-Combaret C** (2012) Which specificity in cooperation between phyto-stimulating rhizobacteria and plants?. *Res. Microbiol.* 163: 500-10.
- Eckert B, Weber OB, Kirchhof G, Halbritter A, Stoffels M, Hartmann A** (2001) *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the  $C_4$ -grass *Miscanthus*. *Int J Syst Evol Microbiol* 51: 17-26.
- Estrada-De los Santos P, Bustillos-Cristales R, Caballero-Mellado J** (2001) *Burkholderia*, a genus rich in plant-associated nitrogen fixers with wide environmental and geographic distribution. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 2790-98.
- Farag MA, Zhang H, Ryu CM** (2013) Dynamic chemical communication between plants and bacteria through airborne signals: induced resistance by bacterial volatiles. *J. Chem. Ecol.* 39: 1007-18.
- Fasciglione G, Casanovas EM, Yommi A, Sueldo R, Barassi CA** (2012) *Azospirillum* improves lettuce growth and transplant under saline conditions. *J. Sci. Food Agric.* 92: 2518-23.
- Fernandez-Aunion C, Hamouda TB, Iglesias-Guerra F, Argandona M, Reina-Bueno M, Nieto JJ, Aouani ME, Vargas C** (2010) Biosynthesis of compatible solutes in rhizobial strains isolated from *Phaseolus vulgaris* nodules in Tunisian fields. *BMC Microbiol* 10: 192
- Fibach-Paldi S, Burdman S, Okon Y** (2012) Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. *FEMS Microbiol. Lett.* 326: 99-108.
- Fuentes-Ramírez LE, Jiménez-Salgado T, Abarca-Ocampo IR, Caballero-Mellado J** (1993) *Acetobacter diazotrophicus*, an indol acetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of Mexico. *Plant Soil* 154: 145-50.
- Fuentes-Ramírez LE, Caballero-Mellado J** (2005) Bacterial Biofertilizers. In ZA Siddiqui (ed), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Springer Science, The Netherlands, pp 143-172.
- Fuentes-Ramírez LE, Bustillos-Cristales R, Tapia-Hernandez A, Jimenez-Salgado T, Wang ET, Martínez-Romero E, Caballero-Mellado J** (2001) Novel nitrogen-fixing acetic acid bacteria, *Gluconacetobacter johanna* sp. nov. and *Gluconacetobacter azotocaptans* sp. nov., associated with coffee plants. *Int J Syst Evol Microbiol* 51: 1305-1314.
- Gómez-Luna BE, Hernández-Morales A, Herrera-Méndez CH, Arroyo-Figueroa G, Vargas-Rodríguez L, Olalde-Portugal V** (2012) Isolation of plant growth promoting rhizobacteria of guava plants (*Psidium guajava*). *Ra Ximhai* 8: 97-102.
- Guzmán A, Obando M, Rivera D, Bonilla R** (2012) Selección y caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) asociadas al cultivo de algodón (*Gossypium hirsutum*). *Rev. Colomb. Biotechnol.* 14: 182-90.
- Jha CK, Patel B, Saraf M** (2012) Stimulation of growth of *Jatropha curcas* by the plant growth promoting bacterium *Enterobacter cancerogenus* MSA2. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28: 891-99.
- Jiménez-Delgado R, Virgen-Calleros G, Tabares-Franco S, Olalde-Portugal V** (2001) Bacterias promotoras del crecimiento de plantas: agro-biotecnología. *Avance y Perspectiva* 20: 395-400.

- Jimenez-Salgado T, Fuentes-Ramirez LE, Tapia-Hernandez A, Mascarua-Esparza MA, Martinez-Romero E, Caballero-Mellado J** (1997) *Coffea arabica* L., a new host plant for *Acetobacter diazotrophicus*, and isolation of other nitrogen-fixing acetobacteria. *Appl Environ Microbiol* 63: 3676-3683
- Jorquera MA, Shaharoon B, Nadeem SM, de la Luz Mora M, Crowley DE** (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria associated with ancient clones of *Creosote Bush* (*Larrea tridentata*). *Microb. Ecol.* 64: 1008-17.
- Kamilova F, Kravchenko LV, Shaposhnikov AI, Azarova T, Makarova N, Lugtenberg B** (2006) Organic acids, sugars, and L-tryptophane in exudates of vegetables growing on stonewool and their effects on activities of rhizosphere bacteria. *Mol Plant Microbe Interact* 19: 250-256.
- Kannan RR, Prakash VS** (2011) Molecular characterization of antagonistic *Streptomyces* isolates from a mangrove swamp. *Asian J. Biotechnol.* 3: 237-45.
- Kang SM, Khan AL, You YH, Kim JG, Kamran M, Lee IJ** (2014) Gibberellin production by newly isolated strain *Leifsonia soli* SE134 and its potential to promote plant growth. *J Microbiol Biotechnol* 24: 106-112.
- Kavamura VN, Santos SN, Silva JL, Parma MM, Avila LA, Visconti A, Zucchi TD, Taketani RG, Andreote FD, Melo IS** (2013) Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. *Microbiol Res* 168: 183-191
- Kloepper JW, Schroth MN** (1978) Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In Angers (ed), *Proc. 4th Int. Conf. Plant Path. Bact.* vol. 2. INRA, Gibert-Clarey, Tours, France. pp. 879-82.
- Lucas JA, García-Villaraco A, García-Cristobal J, Algar E, Gutierrez-Mañero J** (2013) Structural and functional study in the rhizosphere of *Oryza sativa* L. plants growing under biotic and abiotic stress. *J. Appl. Microbiol.* 115: 218-35.
- Lugtenberg B, Kamilova F** (2009) Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63: 541-56.
- Malik DK, Sindhu SS** (2011) Production of indole acetic acid by *Pseudomonas* sp: effect of coinoculation with *Mesorhizobium* sp. Cicer on nodulation and plant growth of chickpea (*Cicer arietinum*). *Physiol. Mol. Biol. Plants* 17: 25-32.
- Marín-Cevada V, Muñoz-Rojas J, Caballero-Mellado J, Mascarúa-Esparza MA, Castañeda-Lucio M, Carreño-López R, Estrada-de los Santos P, Fuentes-Ramírez LE** (2012) Antagonistic interactions among bacteria inhabiting pineapple. *Applied Soil Ecology* 61: 230-235.
- Marks BB, Megias M, Nogueira MA, Hungria M** (2013) Biotechnological potential of rhizobial metabolites to enhance the performance of Bradyrhizobium spp. and *Azospirillum brasilense* inoculants with soybean and maize. *AMB Express* 3: 21.
- Morales-García YE, Herrera MC, Muñoz-Rojas J** (2007) Cloranfenicol, un antibiótico clásico como alternativa en el presente. *Rev. Mex. Cienc. Farm.* 38: 58-69.
- Morales-García YE, Juárez-Hernandez D, Aragon-Hernandez C, Mascarua-Esparza MA, Bustillos-Cristales MR, Fuentes-Ramirez LE, Martinez-Contreras RD, Munoz-Rojas J** (2011) Growth response of maize plantlets inoculated with *Enterobacter* spp., as a model for alternative agriculture. *Rev Argent Microbiol* 43: 287-293.
- Muñoz-Rojas J, Caballero-Mellado J** (2003) Population dynamics of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in sugarcane cultivars and its effect on plant growth. *Microb. Ecol.* 46: 454-64.
- Muñoz-Rojas J, Fuentes-Ramírez LE, Caballero-Mellado J** (2005) Antagonism among *Gluconacetobacter diazotrophicus* strains in culture media and in endophytic association. *FEMS Microbiol. Ecol.* 54: 57-66.
- Oliveira ALM, Stoffels M, Schmid M, Reis VM, Baldani JJ, Hartmann A** (2009) Colonization of sugarcane plantlets by mixed inoculations with diazotrophic bacteria. *European Journal of Soil Biology* 45: 106-113
- Onofre-Lemus J, Hernández-Lucas I, Girard L, Caballero-Mellado J** (2009) ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) deaminase activity, a widespread trait in *Burkholderia* species, and its growth-promoting effect on tomato plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 6581-90.
- Ortiz-Castro R, Contreras-Cornejo HA, Macías-Rodríguez L, López-Bucio J** (2009) The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant Signal Behav.* 4: 701-12.
- Park HB, Lee B, Kloepper JW, Ryu CM** (2013) One shot-two pathogens blocked: exposure of *Arabidopsis* to hexadecane, a long chain volatile organic compound, confers induced resistance against both *Pectobacterium carotovorum* and *Pseudomonas syringae*. *Plant Signal Behav.* 8: e24619.
- Perin L, Martinez-Aguilar L, Castro-Gonzalez R, Estrada-de Los Santos P, Cabellos-Avelar T, Guedes HV, Reis VM, Caballero-Mellado J** (2006) Diazotrophic burkholderia species associated with field-grown maize and sugarcane. *Appl Environ Microbiol* 72: 3103-3110.
- Perin L, Martinez-Aguilar L, Paredes-Valdez G, Baldani JJ, Estrada-de Los Santos P, Reis VM, Caballero-Mellado J** (2006) *Burkholderia silvatlantica* sp. nov., a diazotrophic bacterium associated with sugar cane and maize. *Int J Syst Evol Microbiol* 56: 1931-1937.
- Poupin MJ, 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.
- Rajkumar M, Sandhya S, Prasas MN, Freitas H** (2012) Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnol. Adv.* 30: 1562-74.
- Reis VM, Estrada-de los Santos P, Tenorio-Salgado S, Vogel J, Stoffels M, Guyon S, Mavingui P, Baldani VL, Schmid M, Baldani JJ, Balandreau J, Hartmann A, Caballero-Mellado J** (2004) *Burkholderia tropica* sp. nov., a novel nitrogen-fixing, plant-associated bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* 54: 2155-2162.
- Reyes I, Alvarez L, El-Ayoubi H, Valery A** (2008) Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimentón y maíz. *Bioagro* 20: 37-48.
- Robles C, Barea JM** (2004) Respuesta de la planta y del suelo a inoculación con *Glomus intraradices* y rizobacterias en maíz en cultivo intensivo. *TERRA Latinoam.* 22: 59-69.
- Rodríguez H, Fraga R, González T, Bashan Y** (2006) Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant Soil* 287: 15-21.

- Rumjanek NG, Dobert RC, van Berkum P, Triplett EW** (1993) Common soybean inoculant strains in Brazil are members of *Bradyrhizobium elkanii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 4371-73.
- Ryu CM, Farag MA, Hu CH, Reddy MS, Kloepper JW, Pare PW** (2004) Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 134: 1017-1026.
- Saleem M, Arshad M, Hussain S, Bhatti AS** (2007) Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 34: 635-48.
- Santi C, Bogusz D, Franche C** (2013) Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Ann Bot.* 111: 743-67.
- Saravanan VS, Madhaiyan M, Osborne J, Thangaraju M, Sa TM** (2008) Ecological occurrence of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and nitrogen-fixing *Acetobacteraceae* members: their possible role in plant growth promotion. *Microb. Ecol.* 55: 130-40.
- Shen M, Jun-Kang Y, Li-Wang H, Sheng-Zhang X, Xin-Zhao Q** (2012) Effect of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPRs) on plant growth, yield, and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under simulated seawater irrigation. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 58: 253-62.
- Stearns JC, Woody OZ, McConkey BJ, Glick BR** (2012) Effects of bacterial ACC deaminase on *Brassica napus* gene expression. *Mol. Plant Microbe Interact.* 25: 668-76.
- Suman A, Shrivastava AK, Gaur A, Singh P, Singh J, et al.** (2008) Nitrogen use efficiency of sugarcane in relation to its BNF potential and population of endophytic diazotrophs at different N levels. *Plant Growth Regul.* 54: 1-11.
- Sunar K, Dey P, Chkraborty U, Chakreborty B** (2013) Biocontrol efficacy and plant growth promoting activity of *Bacillus altitudinis* isolated from Darjeeling hills. *J. Basic Microbiol.* 10: 1002-1014.
- 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.
- Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud ML, Touraine B, Moenne-Loccoz Y, Muller D, Legendre L, Wisniewski-Dye F, Prigent-Combaret C** (2013) Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front Plant Sci* 4: 356
- Van Loon LC** (2007) Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119: 243-54.
- Vilchez S, Manzanera M** (2011) Biotechnological uses of desiccation-tolerant microorganisms for the rhizoremediation of soils subjected to seasonal drought. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 91: 1297-304.
- Valery A, Reyes I** (2013) Evaluation of growth promoting rhizobacteria under different fertilization schemes in maize variety HIMECA-95. *Rev. Colomb. Biotechnol.* 2: 80-88.
- Vyas P, Gulati A** (2009) Organic acid production *in vitro* and plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing fluorescent *Pseudomonas*. *BMC Microbiol.* 9: 174-89.
- Zhang H, Kim MS, Krishnamachari V, Payton P, Sun Y, Grimson M, Farag MA, Ryu CM, Allen R, Melo IS, Pare PW** (2007) Rhizobacterial volatile emissions regulate auxin homeostasis and cell expansion in *Arabidopsis*. *Planta* 226: 839-851.
- Zhang H, Sun Y, Xie X, Kim MS, Dowd SE, Pare PW** (2009) A soil bacterium regulates plant acquisition of iron via deficiency-inducible mechanisms. *Plant J* 58: 568-577
- Zhu XF, Zhou Y, Feng JL** (2007) Analysis of both chitinase and chitosanase produced by *Sphingomonas* sp. CJ-5. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 8: 831-38.