

# Efecto del perfil de compuestos volátiles de distintas rizobacterias en el crecimiento de *Arabidopsis thaliana*

Perla García-Juárez, Josué Altamirano-Hernández, José López-Bucio, Eduardo Valencia-Cantero, Lourdes Macías-Rodríguez

Instituto Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Edificio B3, Ciudad Universitaria. C.P. 58030 Morelia, Michoacán, México.

## Resumen

A las bacterias que se encuentran en la rizósfera y que influyen positivamente en el crecimiento vegetal se les denomina PGPR. Los mecanismos mediante los cuales actúan las PGPR son muy diversos. Recientemente se ha propuesto que el 2,3-butanediol y la acetoina que son producidos por algunas rizobacterias pueden inducir la producción de biomasa en la planta. El estudio de los compuestos volátiles bacterianos como inductores del crecimiento vegetal apenas está iniciando y se desconoce si este efecto es ubicuo entre las PGPR o si existen otro tipo de moléculas que pudieran modificar el desarrollo de las plantas. En este trabajo se caracterizó el perfil de compuestos volátiles durante la interacción de *Arabidopsis thaliana* con cuatro rizobacterias distintas y se determinó su efecto en el crecimiento de la planta. Los resultados indicaron que de las rizobacterias estudiadas, las que mostraron un claro efecto en la producción de biomasa fueron *Bacillus megaterium* UMCV1 y *Arthrobacter agilis* UMCV2. El análisis de los compuestos volátiles que se realizó por cromatografía de gases-espectrometría de masas durante la interacción planta-rizobacteria indicó la presencia de compuestos que se sintetizaron de novo y que pudieran estar relacionados biológicamente con el efecto observado en las plantas; estos compuestos fueron el ácido 2-metil propanoico y el 3- metil butanol. La conclusión del presente trabajo fue que además de la acetoina, existen otros compuestos rizobacterianos que pueden ser reguladores del desarrollo y que el efecto observado en las plantas es específico de cada microorganismo.

**Palabras clave:** *Arabidopsis thaliana*, PGPR, compuestos volátiles

## Abstract

Those bacteria inhabiting the rhizosphere that positively influence plant growth have been defined as PGPR. Their contribution in plant stimulation can be exerted through different mechanisms. Recently it has been proposed that 2, 3-butanediol and acetoin, which are produced by some rhizobacteria, can induce the production of biomass in the plant. The study of bacterial volatile compounds as plant growth inducers is just starting, and it is unknown if this effect is ubiquitous among the PGPR or if there are other kind of molecules that could modify the plant development. This work characterized the profile of volatile compounds during the interaction of *Arabidopsis thaliana* with four different rhizobacteria and determined its effect on plant growth. The results indicated that the rhizobacteria, which showed a clear effect on the production of plant biomass were *Bacillus megaterium* UMCV1 and *Arthrobacter agilis* UMCV2. Analysis of volatile compounds made by gas chromatography-mass spectrometry during the plant-rhizobacteria interaction indicated the presence of compounds which were synthesized de novo and that could be biologically related with the effects observed in plants; these compounds were 2-methyl propionic acid and 3-methyl butanol. This study concluded that besides acetoin, there are other rhizobacterial volatile compounds that can act as plant development regulators and that the effect observed in plants is specific to each microorganism.

**Key words:** *Arabidopsis thaliana*, PGPR, volatile compounds

## Introducción

Las raíces de las plantas se desarrollan en el suelo donde viven en asociación estrecha con una gran cantidad de especies bacterianas y fúngicas. Algunas bacterias de la rizósfera pueden tener efectos importantes en la fertilidad del suelo, mejorando la disponibilidad de nutrientes o influenciando el crecimiento y desarrollo de las raíces y el follaje; a estas bacterias se les denomina bacterias promotoras del crecimiento vegetal o PGPR por sus siglas en inglés *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (Persello-Cartieux y col., 2003). Las PGPR reportadas hasta el momento han sido aisladas de las raíces de una amplia gama de especies, tales como la cebada, el arroz, la col, el maíz y el frijol.

Los mecanismos por los cuales las PGPR afectan el crecimiento vegetal pueden ser directos o indirectos. Un ejemplo de un

mecanismo directo es la secreción de fitorreguladores por parte de la bacteria como son las auxinas y las citocininas, mismos que influyen la arquitectura del sistema radicular y el desarrollo del follaje (Persello-Cartieux y col., 2001, Arkhipova y col., 2005). Ejemplos de mecanismos indirectos son la producción de antibióticos y cianuro, los cuales promueven el crecimiento vegetal al inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos para la planta (Bowen y Rovira, 1999).

Recientemente se ha reconocido que la interacción de las plantas con muchas de las PGPR está basada en un intercambio de información mucho más intenso y preciso de lo que se sospechaba hace apenas unos años (Lugtenberg y col., 2002; Persello-Cartieux y col., 2003). Ryu y col. (2003) demostraron que las bacterias son capaces de emitir compuestos volátiles,

**Autor de correspondencia:** Lourdes Macías, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Edificio B3, Ciudad Universitaria. C.P. 58030 Morelia, Michoacán, México; Tel. y Fax :(443)3265788. e-mail: lmacias@umich.mx

los cuales pudieran estar implicados en procesos de promoción del crecimiento, tal es el caso de *Bacillus subtilis* GB03 y *B. amyloliquefaciens* IN937a las cuales estimulan el crecimiento de *Arabidopsis thaliana*. Un análisis de los compuestos volátiles de ambas cepas en medio Murashige and Skoog mostró que el 2,3-butanediol y la 3-hidroxi-2-butanona (acetoina) se encontraban presentes en forma abundante y por lo tanto los autores los consideraron como los responsables del efecto promotor observado en las plantas.

Debido a lo anterior resulta interesante determinar si el efecto observado en la planta por la exposición del perfil de compuestos volátiles es ubicuo entre las PGPR y si la emisión de compuestos por parte de la rizobacteria varía en presencia de la planta.

En este trabajo se demuestra que *A. thaliana* responde de manera diferencial ante la emisión de los compuestos volátiles de *B. megaterium* UMCV1, *Arthrobacter agilis* UMCV2 y *Stenotrophomonas maltophilia* UMCV3 y UMCV4 y que la síntesis de compuestos *de novo* durante la interacción planta-rizobacteria sugiere la participación de nuevos tipos de moléculas con efecto promotor del crecimiento vegetal.

## Materiales y métodos

### Material vegetal y sus condiciones de crecimiento

Para este estudio se emplearon plantas de *A. thaliana* del ecotipo Col-0 que por sus características biológicas le han permitido ser utilizada ampliamente como modelo de investigación. Las semillas fueron desinfectadas y vernalizadas por un periodo de 4 días a 4°C. Posteriormente, para su germinación las semillas fueron colocadas en cajas de Petri con medio Murashige y Skoog (MS) 0.2x a una distancia de 8 mm entre una semilla y otra. Las cajas fueron colocadas al azar en un ángulo de 65° en una cámara de crecimiento (Percival AR95) con una temperatura controlada de 24°C y un foto periodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad por espacio de 4 días antes de ser inoculadas.

### Bacterias

Las rizobacterias utilizadas en este estudio fueron *B. megaterium* UMCV1, *Arthrobacter agilis* UMCV2 y *Stenotrophomonas maltophilia* UMCV3 y UMCV4. Estas cepas fueron proporcionadas por el laboratorio de Ecología Microbiana del Instituto de Investigación Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y las condiciones de aislamiento y caracterización molecular se encuentran reportadas por Hernández-Calderón y col. (2007). En este estudio se utilizó a la bacteria *Escherichia coli* DH5a como control negativo.

### Efecto de las rizobacterias en el desarrollo de *A. thaliana*

Las plantas fueron inoculadas en cajas Petri a 5 cm a partir de la línea de colocación de las semillas y con una estría de 5 cm de longitud utilizando un asa calibrada de platino (iridio 2 mm d) con una cantidad bacteriana aproximada de  $2.5 \times 10^8$  UFC. A los siete días post-inoculación se midieron la longitud de la raíz primaria y el número y longitud de raíces laterales utilizando una regla de escala milimétrica. Además se determinó la biomasa de la planta en el último día del ensayo empleando una balanza analítica (Sartorius TE64).

### Efecto de los compuestos volátiles de las rizobacterias en la producción de biomasa de *A. thaliana*

Para determinar el efecto promotor de crecimiento de los compuestos volátiles rizobacterianos, se utilizó un sistema de cajas Petri divididas con medio MS en ambos lados de la caja; en uno de los lados se colocaron 30 semillas y en el otro se inoculó con la rizobacteria y se determinó la biomasa de la misma manera que se mencionó anteriormente.

### Análisis de compuestos volátiles

El análisis de compuestos volátiles del medio de cultivo, de la planta, de las rizobacterias y de la interacción planta-rizobacteria se realizó mediante la técnica de microextracción de fase sólida (SPME), utilizando una fibra azul (Polidimetilsiloxano/Divinilbenceno). Posteriormente los compuestos fueron desorbidos a 180° por 30 s en el puerto de inyección de un cromatógrafo de gases (Agilent 6850 Series II) equipado con un detector de espectrometría de masas (Agilent 5973) y una columna HP-FFAP (30 m x 0.250 mm D.I, grosor de película de 0.25µm). Se utilizó helio como gas acarreador a un flujo de 1 mL/min y la temperatura del detector fue de 250°. La temperatura inicial del horno fue de 40 °C por 5 min con un incremento de 3 °C min hasta llegar a 180 °C en donde se mantuvo por otros 5 min. La identificación de los compuestos volátiles se realizó al comparar el espectro de masas obtenido de cada uno de ellos con la biblioteca NIST/EPA/NIH 2002.

### Análisis estadístico

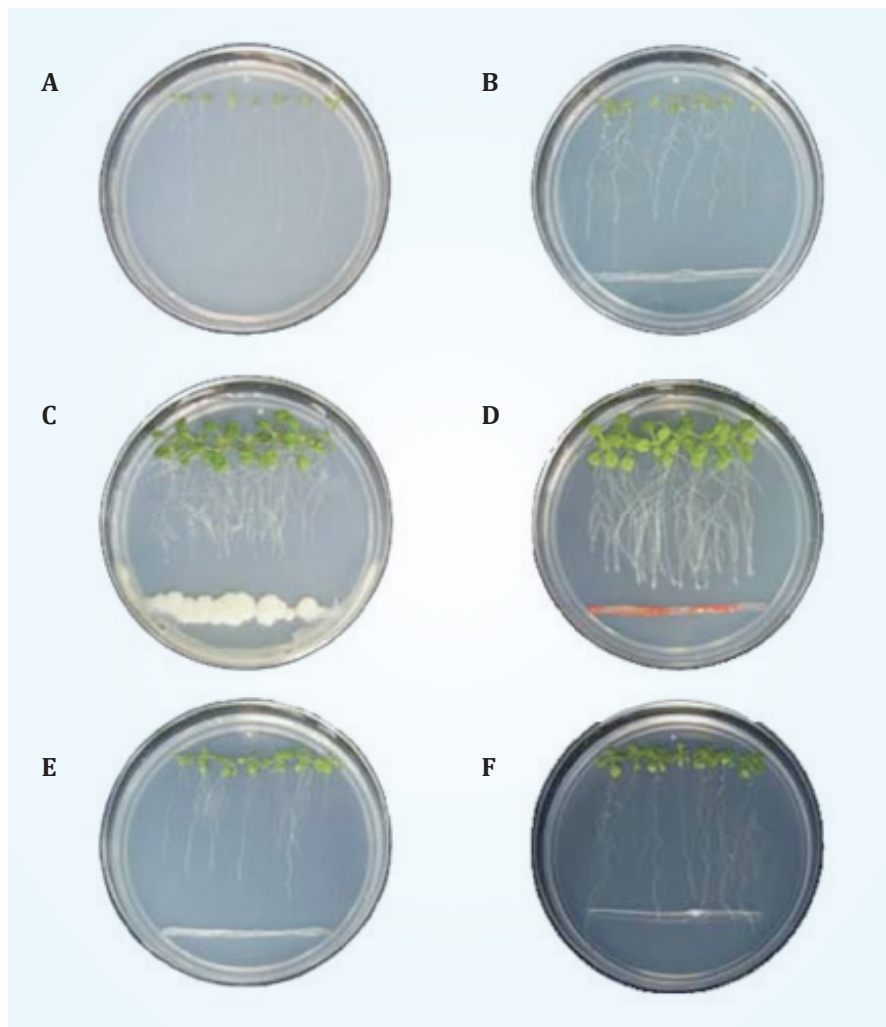
El análisis estadístico para todos los experimentos se realizó utilizando el programa Origin pro 8, en el cual se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias mediante la prueba de diferencia mínima significativa (LSD).

## Resultados

### Efecto de las rizobacterias en el desarrollo de *A. thaliana*

En este estudio se evaluó el efecto promotor del desarrollo vegetal de las rizobacterias *B. megaterium* UMCV1, *A. agilis* UMCV2 y *S. maltophilia* UMCV3 y UMCV4, en plantas de *A. thaliana*. En la **Figura 1A-F**, se puede observar que existe un efecto marcado y diferencial en el desarrollo de biomasa foliar y radicular de las plantas a los 7 días post-inoculación con las rizobacterias en relación a sus controles no inoculados e inoculados con *E. coli* DH5a.

La cuantificación de biomasa indicó que *A. agilis* UMCV2 fue la que mostró un mayor efecto en el desarrollo de las plantas, seguida de *S. maltophilia* UMCV4 (**Figura 2A**). Los resultados de longitud de raíz primaria mostraron que las rizobacterias *B. megaterium* UMCV1, *A. agilis* UMCV2 y *S. maltophilia* UMCV3 inhibieron el crecimiento de la raíz primaria en comparación con los controles (**Figura 2B**). Interesantemente, solo *B. megaterium* UMCV1 y *A. agilis* UMCV2 promovieron la formación de raíces laterales y estimularon su crecimiento (**Figura 2C y D**). En cuanto a la cepa *S. maltophilia* UMCV4, ésta no presentó un efecto significativo en la morfología de la raíz en relación a los controles (**Figura 2A-D**).



**Figura 1.** Fotografías representativas del efecto de distintas rizobacterias en el crecimiento y desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. (A) Control sin inóculo, (B) Control con *Escherichia coli* DH5- $\alpha$ , (C) *Bacillus megaterium* UMCV1, (D) *Arthrobacter agilis* UMCV2, (E) y (F) *Stenotrophomonas maltophilia* UMCV 3 y UMCV 4, respectivamente.

**Efecto de los compuestos volátiles de las rizobacterias en el desarrollo de *A. thaliana***

Una vez demostrado que existe una respuesta diferencial por parte de la planta ante la presencia de cada una de las rizobacterias, a continuación se investigó si la emisión de compuestos volátiles por parte de las rizobacterias puede alterar la producción de biomasa en la planta; por lo que se utilizó un sistema con cajas Petri divididas (Figura 3). Los resultados indicaron que los compuestos de *B. megaterium* UMCV1, *A. agilis* UMCV2 y *S. maltophilia* UMCV4 si presentaron un efecto significativo en la biomasa de las plantas (Figura 4).

**Análisis cromatográfico del perfil de compuestos orgánicos volátiles**

Con la finalidad de conocer el tipo de compuestos que emiten las rizobacterias, se realizó una caracterización de estos compuestos mediante un análisis por cromatografía de gases – espectrometría de masas y se encontró que existen diferencias en cuanto al tipo y cantidad de compuestos que produce cada rizobacteria (Tabla 1).

El análisis de compuestos volátiles en la rizobacterias crecidas en medio MS mostró que el 2-etil 1-hexanol fue el único compuesto afín a todas las rizobacterias. El ácido

butanoico y el ácido 2- metil propanoico se encontraron en el perfil de compuestos de *B. megaterium* UMCV1, mientras que el etilacetato, camfeno, heptadecano y N-formilmorfolina, en *A. agilis* UMCV2. Aún entre las dos cepas de *S. maltophilia* se observaron compuestos diferentes ya que la UMCV3 produjo, heptanol, 1-octanol y *p*-menten-8-ol, mientras que la UMCV4 se caracterizó por la presencia de 2-heptenal, hexadecanal y el ciclohexen 1-metanol.

El análisis de los cromatogramas de la interacción planta – rizobacteria indicó la presencia de compuestos nuevos para la interacción de *A. thaliana* con *B. megaterium* UMCV1, *A. agilis* UMCV2 y *S. maltophilia* UMCV 4. La Tabla 2 muestra los compuestos volátiles que fueron identificados en la planta y aquellos que fueron sintetizados *de novo* durante la interacción de la planta con cada una de las rizobacterias. Para el caso de la interacción de la planta con *B. megaterium* UMCV1, se encontró al compuesto ácido 2-metil propanoico, mientras que para la interacción con *A. agilis* UMCV2 se identificó la presencia de 2-hidroxi 3-butanona (acetoína) y además se incrementó en un 54% el contenido de acetofenona. La interacción planta - *S. maltophilia* UMCV4 se caracterizó por la presencia de trimetilpentano, 3-metil butanal y el 2-etil 1-hexanol (Tabla 2).

**Tabla 1. Identificación de los compuestos volátiles producidos por las rizobacterias en medio MS empleando la técnica de SPME-GC-MS.**

COMPUESTO	T. R. (min)	ABUNDANCIA RELATIVA (%)* RIZOBACTERIAS			
		<i>Bacillus megaterium</i> UMCV1	<i>Arthrobacter agilis</i> UMCV2	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> UMCV3	UMCV4
Etilacetato	1.85	nd	1.39	nd	nd
Camfeno	4.68	nd	0.08	nd	nd
Ácido butanoico	5.10	0.21	nd	nd	nd
Hexanal	5.56	nd b	0.09 b	nd b	0.08 b
Undecano	5.98	nd a	nd a	0.09 b	0.07 c
2-Heptenal	15.83	nd	nd	nd	0.08
Hexanol	17.36	nd	nd	0.64	nd
Heptanol	21.99	nd	nd	0.25	nd
2-Etil hexanol	23.27	1.84 a	1.81 a	1.07 a	1.60 a
1-Octanol	26.23	nd	nd	0.52	nd
Ácido 2- metil propanoico	26.71	0.28	nd	nd	nd
Acetofenona	29.52	0.26 b	0.10 c	0.24 b	nd a
Heptadecano	31.39	nd	0.13	nd	nd
p- Ment-en 8-ol	31.41	nd	nd	1.47	nd
n- Formilmorfolina	39.42	nd	0.09	nd	nd
Fenol	42.50	nd a	0.09 b	0.11 c	nd a
Hexadecanal	44.43	nd	nd	nd	0.15
Ciclohexen 1-metanol	31.38	nd	nd	nd	1.71

\*Concentración normalizada de compuestos volátiles = (Área bajo la curva del compuesto) / (Área total de los compuestos).  
 †No detectado.  
 Letras distintas indican diferencia significativa (LSD,  $\alpha \geq 0.5$ , n=28).

## Discusión

Las raíces de las plantas juegan un papel muy importante durante el desarrollo de las plantas ya que además de proporcionar anclaje en el suelo, provee a la planta de agua y nutrientes que son indispensables para su crecimiento. Diversos estudios han demostrado que existen factores externos a la planta que pueden alterar su crecimiento y desarrollo, tal es el caso de la temperatura, pH del suelo y la presencia de microorganismos, entre otros (Ortiz-Castro y col., 2009). En este trabajo se demostró que las rizobacterias pueden modular el desarrollo vegetal. Cuando las planta de *A. thaliana* fueron inoculadas con *B. megaterium* UMCV1, *A. agilis* UMCV2 y *S. maltophilia* UMCV3 y UMCV4 (Figura 1), se observó que todas las rizobacterias incrementaban la biomasa en comparación al control sin inocular, pero además produjeron cambios morfogenéticos en la raíz de manera diferencial (Figuras 1, 2). De acuerdo a nuestros resultados la bacteria *E. coli* DH5a incrementó la producción de biomasa en la planta aunque no indujo cambios en la arquitectura de la raíz de la planta. En estudios recientes realizados por Farag y col. (2006) y Shi y col. (2010), encontraron que esta cepa es capaz de inducir el crecimiento de las plantas, ya que la cantidad de biomasa en la planta se incrementó en presencia de la bacteria, por lo que se

comienza a cuestionar su papel como control negativo, debido a que es capaz de producir auxinas y compuestos volátiles como el 2,3-butanediol y la acetoína.

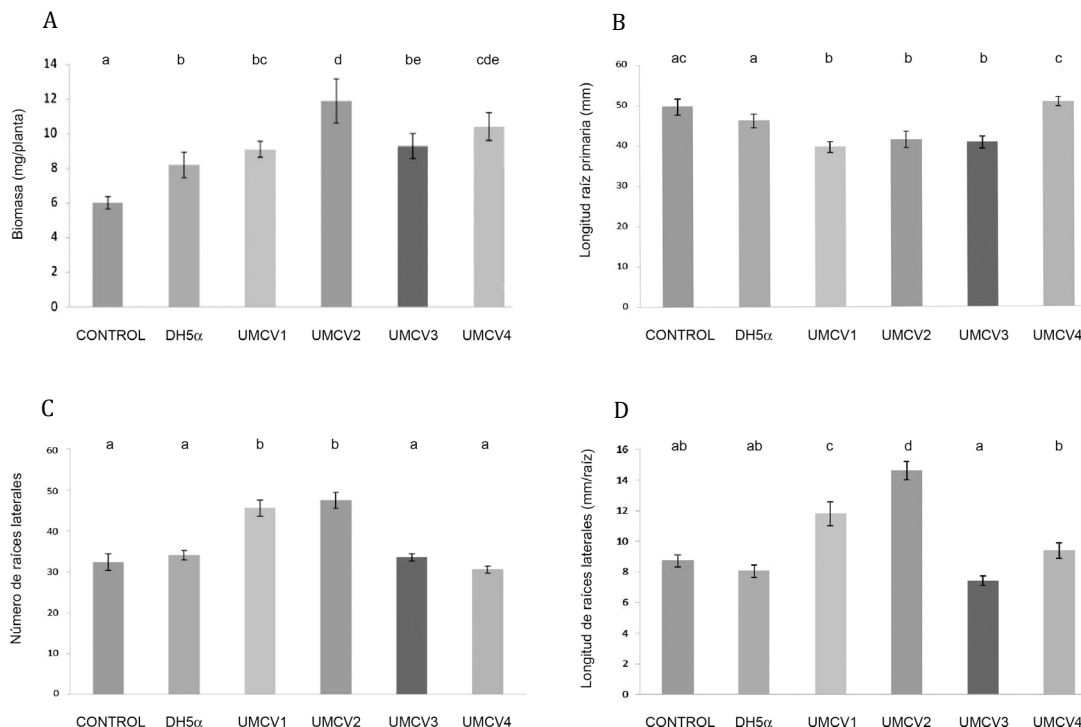
De todas las rizobacterias en estudio, *A. agilis* UMCV2 fue la que favoreció mayormente la producción de biomasa en la planta y al igual que *B. megaterium* UMCV1 provocó una disminución en la longitud de la raíz principal y un incremento en el número y longitud de raíces laterales (Figura 2). Esta respuesta de la planta sugiere un mecanismo de señalización mediado por auxinas ya que como se ha descrito en la literatura las auxinas pueden causar una reducción de proliferación celular y limitar la elongación de células del meristemo de la raíz primaria, lo que a su vez puede provocar que las raíces laterales se diferencien prematuramente y se observe una formación extensiva de éstas, de modo que la atenuación de la actividad meristemática de la raíz primaria puede ser suficiente para inducir respuestas fisiológicas que provoquen alteraciones mayores en la arquitectura del sistema radicular incluyendo un mayor crecimiento de las raíces laterales. Sin embargo se requiere de más evidencia para establecer el mecanismo de señalización que se está activando en la planta en respuesta a las rizobacterias.

Interesantemente en el caso de las cepas *S. maltophilia* UMCV3

**Tabla 2. Identificación de los compuestos volátiles producidos por *Arabidopsis thaliana* y durante la interacción planta-rizobacteria empleando la técnica de SPME-GC-MS.**

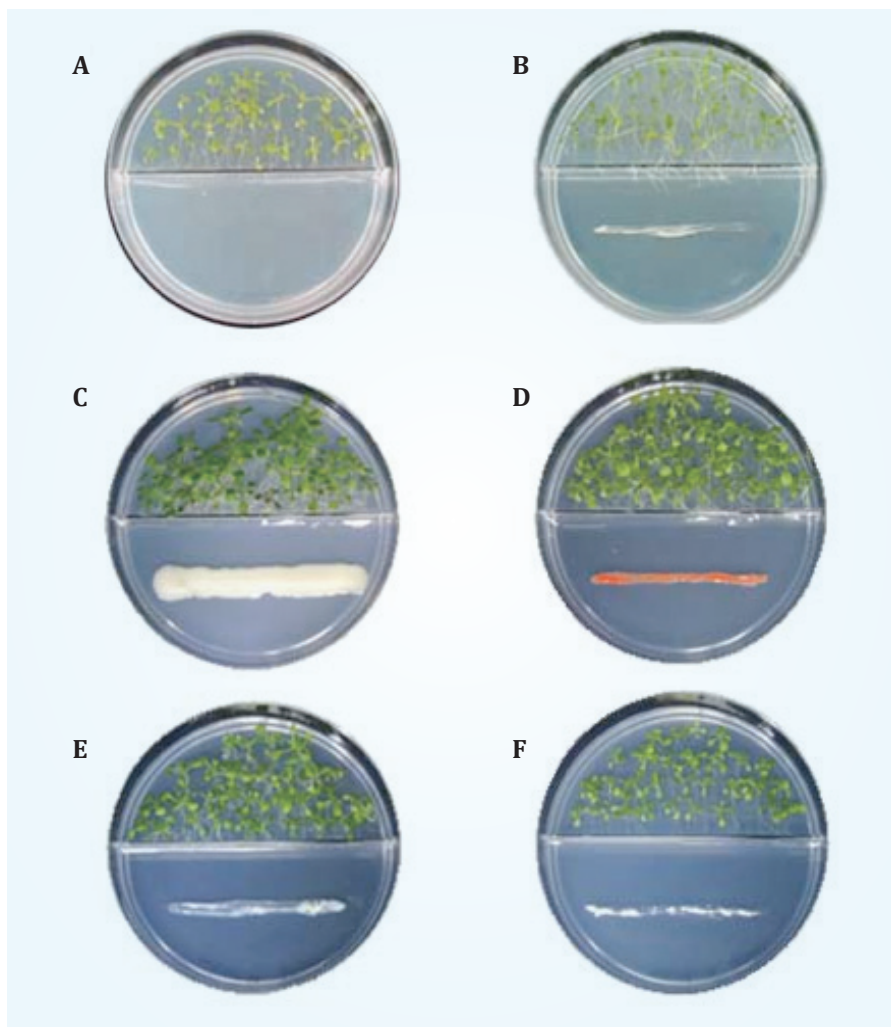
COMPUESTO	T.R. (min)	ABUNDANCIA RELATIVA (%)*				
		<i>Arabidopsis thaliana</i>	INTERACCIÓN DE LA PLANTA CON:			
			<i>Bacillus megaterium</i> UMCV1	<i>Arthrobacter agilis</i> UMCV 2	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> UMCV3	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> UMCV 4
Metilciclopentano	1.00	nd <sup>†</sup>	nd	nd	nd	5.42
Trimetil pentano	1.14	nd	nd	nd	nd	5.27
Ciclohexano	1.90	nd	nd	nd	nd	2.85
3-Metil butanal	3.00	nd	nd	nd	nd	0.92
Hexanal	5.56	nd	nd	nd	nd	1.16
Undecano	5.74	0.06	nd	nd	nd	nd
Pentanol	13.16	nd	nd	nd	nd	0.24
2-Octanona	14.10	nd	nd	nd	nd	0.42
2-Hidroxi 3- butanona (Acetoína)	14.53	nd	nd	0.14	nd	nd
Tribromometano	21.43	nd	nd	nd	nd	0.24
2-Etil hexanol	23.27	nd	nd	nd	nd	1.43
Furanil etanona	24.04	0.13	nd	nd	nd	nd
Ácido 2-metil propanoico	26.71	nd	0.33	nd	nd	nd
Ácido etil ester piperidin carboxílico	28.39	nd	nd	nd	nd	0.17
Acetofenona	29.52	0.14 a	0.11 b	0.18 c	nd	nd a

\*Concentración normalizada de compuestos volátiles = (Área bajo la curva del compuesto) / (Área total de los compuestos).  
<sup>†</sup>No detectado.  
 Letras distintas indican diferencia significativa (LSD,  $\alpha \geq 0.5$ , n=28).



**Figura 2. Efecto de la inoculación de *Bacillus megaterium* UMCV1, *Arthrobacter agilis* UMCV2, *Stenotrophomonas maltophilia* UMCV3 y UMCV4, en la biomasa y en la morfogénesis de la raíz de *Arabidopsis thaliana* comparado con los controles sin inocular y con *Escherichia coli* DH5a. (A) Determinación de biomasa, (B) Longitud de la raíz primaria, (C) Número de raíces laterales, (D) Longitud de raíces laterales. Letras distintas indican diferencia significativa (LSD,  $\alpha \geq 0.5$ , n=28).**





**Figura 3.** Fotografías representativas del efecto de la emisión de compuestos volátiles por distintas rizobacterias en el crecimiento de *Arabidopsis thaliana*. (A) Control sin inocular, (B) Control con *Escherichia coli* DH5, (C) *Bacillus megaterium* UMCV1, (D) *Arthrobacter agilis* UMCV2, (E) y (F) *Stenotrophomonas maltophilia* UMCV3 y UMCV4, respectivamente.

y UMCV4 que pertenecen a la misma especie mostraron tener efectos diferentes en la planta ya que la UMCV4 no produjo cambios significativos en la longitud de la raíz primaria por lo tanto la densidad de raíces que es el número de raíces laterales por mm de la raíz primaria (datos no mostrados), fue menor que la obtenida con la inoculación con la UMCV3 puesto que ésta disminuyó la longitud de la raíz principal comparada con el control no inoculado. Este resultado sugiere que el efecto que tienen las rizobacterias en la planta no puede ser generalizado sino que existe un reconocimiento específico y que la planta es capaz de responder y alterar sus procesos morfogénicos diferencialmente. De aquí que los compuestos volátiles pueden jugar un papel muy importante en el reconocimiento planta-rizobacteria ya que debido a las propiedades de volatilidad de este tipo de compuestos es factible que actúen como moléculas señalizadoras entre ambos organismos debido a que seguramente son percibidas rápida y eficientemente (Ortíz-Castro y col., 2009).

En estudios recientes se ha sugerido que los compuestos volátiles emitidos por las rizobacterias juegan un papel muy importante durante la comunicación planta-microorganismo lo que impacta en el desarrollo de las plantas, aunque no existe una

evidencia clara del o los mecanismos por los cuales se afecta el crecimiento vegetal. Los antecedentes revelan que para el caso del perfil de compuestos de *B. subtilis* GB03, éstos promueven el crecimiento vegetal en *A. thaliana* mediante una modulación de la homeostasis de auxinas (Zhang y col., 2007).

Este es el primer estudio donde se identifican los compuestos volátiles que se encuentran presentes durante la interacción planta – rizobacteria. Esto pudo ser posible gracias a la técnica de extracción que se empleó que fue la de SPME, la cual es muy sensible, rápida y eficiente en la captura de compuestos. Los resultados del efecto promotor de las rizobacterias en cajas divididas indicó que *B. megaterium* UMCV1, *A. agilis* UMCV2 y *S. maltophilia* UMCV4 promueven significativamente la producción de biomasa mediante la emisión de compuestos volátiles comparada con el control no inoculado. En el caso específico de *S. maltophilia* UMCV3 no se detectó una diferencia significativa en el valor de biomasa lo que indica que el efecto observado en el bioensayo en cajas Petri sin división (Figura 2A), se debe a la producción de compuestos que son difusibles en el medio, muy probablemente fitohormonas, mientras que para el resto de las rizobacterias, se sugiere que además de compuestos difusibles pudieran estar implicados también los compuestos

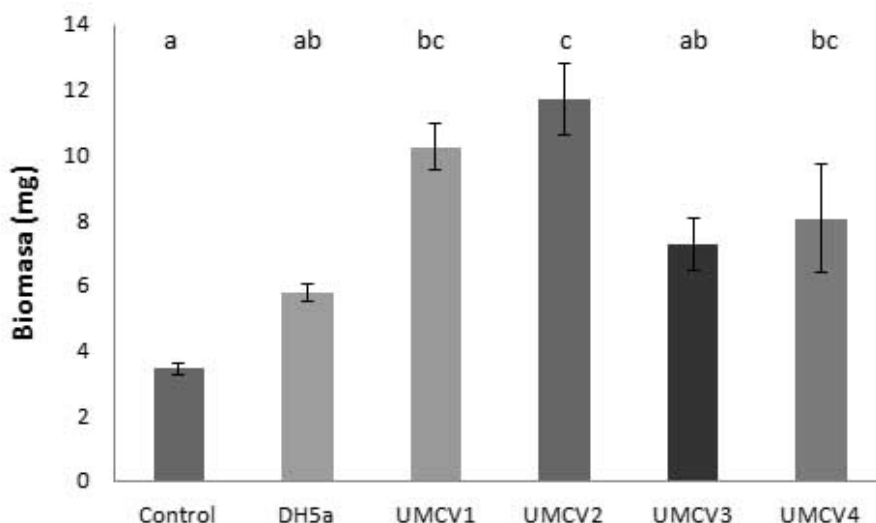


Figura 4. Efecto de la emisión de compuestos volátiles de *Bacillus megaterium* UMCV1, *Arthrobacter agilis* UMCV2, *Stenotrophomonas maltophilia* UMCV3 y UMCV4, en la biomasa de *Arabidopsis thaliana* comparado con los controles sin inocular y con *Escherichia coli* DH5a. Letras distintas indican diferencia significativa (LSD,  $\alpha \geq 0.5$ ,  $n=28$ ).

volátiles o bien que los compuestos volátiles son los responsables directos del crecimiento vegetal.

En este trabajo se identificaron alrededor de 25 compuestos volátiles diferentes y las funciones biológicas de la mayoría de éstos no han sido reportadas. Dentro de los volátiles bacterianos encontrados tanto en las rizobacterias como en la interacción figuran los ácidos carboxílicos, alcoholes y cetonas, a éstos grupos funcionales de manera general se les confieren propiedades como antimicrobianos, saborizantes artificiales, disolventes, antioxidantes, antiinflamatorios y antirreumáticos, aunque ninguno ha tenido hasta la fecha una relación directa de su efecto sobre el desarrollo de las plantas, a excepción de la acetoina.

El ácido 2-metil propanoico ha sido reportado como un compuesto inhibidor de crecimiento bacterias (Mitchell y col., 2010). El 3-metil butanol es una sustancia biodegradable ampliamente usada en la industria cosmética, y ha sido reportado como un agente tóxico para algunos microorganismos como la *Pseudomonas putida* (Ahlers, 2000).

Debido a que la acetoina únicamente se encontró en la interacción de *A. thaliana* con *A. agilis* UMCV2, se sugiere que con base a los antecedentes, este compuesto pudiera ser el responsable del efecto observado en la planta, sin embargo debido a que la acetoina no fue identificado durante la interacción de la planta con *B. megaterium* UMCV1 y *S. maltophilia* UMCV4, y estas rizobacterias también promovieron el crecimiento de la planta, abre la posibilidad de que otros compuestos de naturaleza química diferente puedan participar también como moléculas señalizadoras que induzcan el crecimiento de la planta.

Los datos presentes en este estudio aunados a la evidencia existente en la literatura sugiere la participación de nuevas moléculas reguladoras del crecimiento vegetal cuyos mecanismos de acción aún no están descritos. Actualmente, nosotros estamos estudiando el efecto de los compuestos puros identificados durante la interacción planta-rizobacteria en el desarrollo de

procesos morfológicos en la planta y estamos también tratando de elucidar los mecanismos y vías de señalización que están involucrados en la planta en respuesta a estos compuestos.

### Agradecimientos

Se agradece al fondo SEP-Conacyt (60999) y al CIC-UMSNH (2.24) por el apoyo económico para la realización de este trabajo.

### Referencias

Ahlers J. 2000. SIDS Initial assessment report for SIAM 10. *OECD SIDS*, UNEP Publications 1-58.

Arkhipova TN, Veselov SU, Melentiev AI, Martynenko EV, Kudoyarova GR. 2005. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant Soil*, 272: 201-209.

Bowen GD, Rovira AD. 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. *Advances in Agronomy*, 66: 1-102.

Farag M, Ryu C, Summer L, Paré P. 2006. GC-MS SPME profiling of rhizobacterial volatiles reveals prospective inducers of growth promotion and induced systemic resistance in plants. *Phytochemistry*, 67: 2262-2268.

Hernández-Calderón E, Velásquez-Becerra C, Mejía-Navarro J, Macías-Rodríguez L, López-Bucio J, López-Meza J, Valencia-Cantero E. 2007. Bacterias ferrirreductoras fermentativas aisladas de la rizósfera de maíz incrementan el suministro de hierro en plantas de frijol. *Ciencia Nicolaita*, 46: 57-68.

Lugtenberg B, Chin-A-Woeng T, Bloemberg G. 2002. Microbe-plant interactions: principles and mechanisms. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81: 373-383.

Mitchell AM, Strobel GA, Moore E, Robinson R, Sears J. 2010. Volatile antimicrobials from *Muscodor crispans*, a novel endophytic fungus. *Microbiology*, 156: 270-277.

Ortiz-Castro R, Contreras-Cornejo H, Macías-Rodríguez L, López-Bucio J. 2009. The Role of microbial signals in plant growth and

development. *Plant Signaling and Behavior*, 4: 701-712.

- Persello-Cartieaux F, Cavid P, Sarrobert C, Thibaud MC, Achouak W, Robaglia C, Nassaume L.** 2001. Utilization of mutants to analyse the action between *Arabidopsis thaliana* and its naturally root-associated *Pseudomonas*. *Planta*, 212: 190-198.
- Persello-Cartieaux F, Nussaume L, Robaglia C.** 2003. Tales from the underground: molecular plant-rhizobacteria interactions. *Plant Cell Environ*, 26: 189-199.
- Ryu CM, Farag MA, Hu CH, Reddy MS, Wei HX, Pare PW, Kloepper JW.** 2003. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100: 4927-4932.
- Shi C, Park H, Lee J, Ryu S, Ryu C.** 2010. Inhibition of primary roots and stimulation of lateral root development in *Arabidopsis thaliana* by the Rhizobacterium *Serratia marcescens* 90-166 is through both auxin-dependent and -independent signaling pathways. *Molecules and Cells*, 29: 254-258.
- 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.