

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Mechanisms of action of plant growth promoting rhizobacteria

Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal

Mauricio Camelo R.¹, Sulma Paola Vera M.²,
Ruth Rebeca Bonilla B.^{1,3}

ABSTRACT

The population dynamics of the human race has led to the exploitation of natural resources in search of a way to meet the nutritional needs of the billions of people inhabiting the planet. This need has led to the use of high-efficiency materials in agriculture, plant varieties with shorter production cycles that are also resistant to pests and diseases, and chemicals that provide protection against biotic factors (pests and disease), additionally the nutrients required to grow plants. However, the strategies used in modern agriculture have led to negative environmental impacts that we have yet to fully understand. Groundwater contamination, eutrophication, increased greenhouse gases, and the accumulation of toxic substances in the food chain are some of the serious problems that have arisen worldwide due to the indiscriminate use of agrochemicals. As an alternative to the use of these substances, the use of rhizospheric bacteria has been proposed owing to its known action as plant growth-promoting bacteria (PGPB). These bacteria are able to stimulate plant growth directly and indirectly and have several complex mechanisms that interact with each other to establish beneficial relationships, especially with the roots of target plants. The study and understanding of PGPR have been the subjects of great importance in many studies at a global level. This review, therefore, aims to better understand the mechanisms of plant growth-promoting rhizobacteria on plant development and their role in nutrient cycling.

Keywords: nitrogen, siderophores, root colonization, microbiology of soil.

RESUMEN

La dinámica poblacional de la especie humana ha llevado a que la explotación de los recursos naturales, en búsqueda de suplir las necesidades alimenticias de los miles de millones de personas que habitan el planeta. Esta necesidad ha llevado a la utilización de materiales de alta eficiencia en la agricultura, variedades vegetales resistentes a plagas y enfermedades con ciclos de producción más cortos, agroquímicos que surten las necesidades nutricionales y proveen protección frente factores bióticos adversos (plagas y enfermedades). Sin embargo, estas estrategias utilizadas en la agricultura moderna han generado impactos ambientales negativos que aún no comprendemos. La contaminación de aguas freáticas, eutrofización, aumento de gases de invernadero y acumulación de sustancias tóxicas en la cadena trófica, son algunos de los graves problemas que se presentan por el uso indiscriminado de agroquímicos. Como alternativa a la utilización de estas sustancias, se ha propuesto el uso de bacterias rizosféricas que tienen reconocida acción sobre el crecimiento y desarrollo vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés). Estas bacterias son capaces de estimular el desarrollo de las plantas de manera directa e indirecta y poseen una serie de mecanismos complejos que interactúan entre sí para establecer relaciones benéficas, especialmente con las raíces de las plantas objetivo. El estudio y entendimiento de las PGPR han sido temas de gran importancia en muchas investigaciones a nivel mundial, por esta razón esta revisión tiene por objetivo hacer una revisión parcial para dar a conocer los mecanismos que poseen las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en el desarrollo de las plantas, así como el papel que desempeñan en el ciclaje de nutrientes.

Palabras clave: nitrógeno, sideróforos, colonización de raíz, microbiología de suelo.

Fecha de recepción: 29/06/2011
Fecha de aceptación: 19/07/2011

INTRODUCCIÓN

Las bacterias asociadas con la rizósfera de las plantas son capaces de generar varios mecanismos por los cuales afectan positivamente su crecimiento y desarrollo de esta capacidad no está estudiada completamente,

¹ Centro de Biotecnología y Bioindustria – CBB, Centro de Investigación Tibaitatá, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica. Mosquera (Colombia).

² Facultad de Ciencias, Universidad Manuela Beltrán. Bogotá (Colombia).

³ Autor para correspondencia: rbonilla@corpoica.org.co

particularmente en la agricultura con uso intensivo de agroquímicos. De acuerdo con varios autores (Ahmad *et al.*, 2006) se conocen mecanismos directos e indirectos para la promoción del crecimiento vegetal. Los mecanismos directos se relacionan con la producción de fitohormonas de tipo auxinas y giberelinas o la regulación de la producción de hormonas por parte de la planta. Así mismo pueden afectar la disponibilidad de nutrientes por la intervención directa en los ciclos biogeoquímicos. Es el caso de la fijación biológica de nitrógeno y la solubilización de nutrientes tan importantes como el fósforo. Indirectamente las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR sigla en inglés) pueden contribuir mediante la inducción de la resistencia sistémica a fitopatógenos, el control biológico de enfermedades, la producción de antibióticos y de sideróforos (Voinnet, 2005; Rao *et al.*, 2000). Esta clasificación no está completamente diferenciada debido a la gran cantidad de interrelaciones entre los dos mecanismos, lo cual se desarrolla parcialmente en esta revisión aunque generalmente sean tratados por separado.

FISIOLOGÍA DE LA PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO

La actividad de los microorganismos promotores de crecimiento vegetal en general se inicia con mecanismos de quimiotaxis que están relacionados con la presencia de flagelos, quimiorreceptores y sistemas de regulación codificados genéticamente. Estos factores tienen gran importancia sobre la habilidad de colonizar la rizósfera y mantener la comunicación entre las células de la raíz con los microorganismos presentes en el suelo (Landa *et al.*, 2002; Mavrodi *et al.*, 2006). Las bacterias capaces de interactuar con las raíces de las plantas son atraídas por sustancias excretadas por la raíz, que ocasionan el movimiento de la bacteria hacia el rizoplano de la planta y de esta forma dar inicio a una relación de beneficio mutuo. Las metodologías usadas para determinar la respuesta quimiotáctica de los microorganismos han evolucionado y actualmente hay algunas herramientas claves que dan claridad sobre este fenómeno (Ahmad *et al.*, 2006).

Se ha propuesto varios sistemas para conocer como se genera el movimiento bacteriano hacia las raíces de las plantas (Simons *et al.*, 1996; Shoresh *et al.*, 2005), este es un sistema gnotobiótico, que permite identificar la mayoría de la microbiota presente. Este sistema fue utilizado por Weert *et al.* (2003) para probar la hipótesis del papel de la motilidad en la colonización de raíces para alcanzar metabolitos exudados por las raíces. Estos autores evaluaron si la cepa *P. fluorescens* WCS365, la cual había mostrado la mayor capacidad colonizadora de raíces de tomate, mostraba quimiotaxis hacia exudados de raíz de tomate y hacia los componentes del mismo. Observaron

que en concentrado del exudado de raíz de tomate, varios de los ácidos orgánicos como el ácido succínico y málico iniciaron respuesta quimiotáctica de la cepa evaluada. Los ácidos L-aspártico, L-glutámico, L-isoleucina, L-leucina y L-lisina indujeron la respuesta a una concentración de 100 mM. Los azúcares y los otros componentes de los exudados no indujeron respuesta. En el estudio de quimiotaxis fue identificado el ácido málico como el único que podía ser reconocido por la cepa silvestre a una concentración mínima de 4 mM. Los autores sugieren que el ácido málico es uno de los más importantes quimioatrayentes de la rizósfera de tomate.

La cuantificación del efecto quimiotático permite identificar los quimioefectores, determinar los parámetros de transporte bacteriano y generar modelos predictivos de quimiotaxis. Sin embargo, los métodos de cuantificación usados tradicionalmente, usan concentraciones de bacterias muy altas las cuales consumen rápidamente el quimioefector. Por esta razón, Law y Aitken (2005), desarrollaron un método con bajas concentraciones de células ($\sim 10^5$ ufc/mL), de modo que el metabolismo del quimioefector se minimice y es una modificación del método de flujo capilar continuo desarrollado por Adler (1966). Se ha demostrado que en especies de *Azospirillum*, *Rhodospirillum* y *Vibrio*, la existencia de un mecanismo dual de motilidad permitió concluir que el movimiento es independiente del tamaño de las células. El control de distancias recorridas es obtenido gracias a "carreras prolongadas" hacia los quimioatrayentes, e interrupciones prolongadas ocasionadas por los repelentes (Maki *et al.*, 2000; McCarter *et al.*, 2004; Benizri *et al.*, 2001).

De acuerdo con Weert *et al.* (2003), la quimiotaxis es mediada por un sistema regulador de dos componentes, un sensor quimiorreceptor, CheA, y un regulador de respuesta, CheY. Las proteínas quimiorreceptoras aceptoras de metilo (MCP sigla en inglés) son transductores transmembranales de señales de membrana, localizados en la membrana citoplasmática. Su función es monitorear la concentración de los respectivos químicos en el ambiente. Una señal externa es transducida por metilación de la MCP. Esto ocurre con la autofosforilación de CheA, la cual dona fosfato a CheY y que a su vez actúa con el motor flagelar. Cuando la señal es menor al umbral de sensibilidad, CheY es fosforilado y ocurre una rotación en el sentido de las manecillas del reloj de la bacteria. Este movimiento es necesario para el cambio de dirección (Aizawa *et al.*, 2000). Si la señal es mayor que el umbral, CheY es defosforilado, la rotación es en el sentido contrario y el resultado es una "carrera" de la bacteria.

El sistema regulador de motilidad y quimiotaxis es codificado por una región del cromosoma en *Pseudomonas*

putida PRS2000 y *Pseudomonas aeruginosa* PAOI. Dos genes putativos de motilidad, *motA* y *motB*, están presentes corriente abajo de *cheB*. El orden esperado en este estudio de los genes en esta región altamente conservada del DNA de *P. fluorescens* es *cheA-cheB-motA-motB*. El gen *cheA* dirige el movimiento flagelar hacia los quimioatrayentes. Usando el método de análisis de video microscópico, los mutantes *cheA* son móviles pero debido a la baja frecuencia de las vueltas tienen capacidad de quimiotaxis. La ausencia de proteína fosforilante CheA, impide la fosforilación de CheY y causa un movimiento de nado suave en mutantes *cheA* de *P. putida* y *P. aeruginosa* (Weert *et al.*, 2003).

Aunque los mutantes *cheA* tiene capacidad de colonización de raíces de tomate, tienen deteriorada su capacidad para competir tanto en sistemas gnotobióticos como en el suelo, en caso de que haya altas poblaciones de microorganismos en el suelo ($> 10^8$ ufc/g). Los primeros 2 a 3 d de crecimiento de las raíces, los mutantes pierden la competencia. Sólo después de 7 d de crecimiento, las raíces comienzan a ser colonizadas por los mutantes, que están en bajo número, en la parte media y superior de las raíces, mostrando su menor habilidad para proliferar, sobrevivir y por lo tanto de colonizar (Weert *et al.*, 2003).

Papel de los polisacáridos extracelulares sobre la capacidad adhesividad de PGPR a la raíz

Estudios realizados con *Azospirillum brasilense* en tomate mostraron que las raíces no son colonizadas en toda su superficie, ni en estructuras internas, sino que la colonización es discontinua. La bacteria tiende a concentrarse en sitios laterales de emergencia de la cápsula de la raíz, pelos radiculares y punta de la raíz. Este último es el lugar preferido para la colonización. La morfología de las células es similar a la de los bacteroides de rizobios, con una pared celular gruesa, con gránulos de hidroxibutirato y de glicógeno (Caiola *et al.*, 2004).

Bianciotto *et al.* (2001) evaluaron la interacción de dos mutantes mucoides, CHA211 y CHA213, provenientes de una cepa biocontroladora CHA0 de *P. fluorescens*, naturalmente no mucoides con raíces de zanahoria micorrizadas y no micorrizadas. Los mutantes fueron obtenidos por inactivación del gen *muca*, regulador negativo de la producción de alginato, estudiado en *P. aeruginosa*. La presencia de los mutantes adheridos fue 14 veces mayor en la superficie de la raíz y 30 veces mayor en la superficie del hongo en comparación con la cepa no mucoides tipo salvaje CHA0. Estos resultados mostraron que un exopolisacárido (EPS) similar al alginato está relacionado con la asociación *in vitro* de bacterias con sustratos sólidos como la raíz y la superficie de un hongo de tipo micorriza arbuscular (Bianciotto *et al.*, 1996). Por microscopía electrónica de transmisión,

las cepas mutantes se encontraban en contacto directo con la pared de las células de la epidermis o indirectamente asociadas con la raíz como agregados bacterianos, observándose una capa densa similar a fibrillas y una matriz amorfa que sugería heterogeneidad estructural. Ninguno de estos materiales fue observado alrededor de las células no mucoides de la cepa silvestre.

Mecanismos promoción del crecimiento vegetal

Los mecanismos directos de promoción vegetal encierran varios procesos en los cuales, las bacterias alteran el desarrollo vegetal (Ahmad *et al.*, 2006; Leisinger y Margraff, 1979; Matheron, 2001; Wildermuth *et al.*, 2002). Estos mecanismos, empleados por bacterias, son muy diversos y en algunos casos poco estudiados, sin embargo, se pueden diferenciar claramente dos procesos esenciales: el primero consiste en la producción de sustancias orgánicas, producto del metabolismo secundario de las bacterias, que son capaces de promover respuestas fisiológicas específicas en las células vegetales. El segundo mecanismo se puede encontrar en la intervención directa de los microorganismos en los ciclos biogeoquímicos, en los cuales pueden hacer disponibles compuestos orgánicos e inorgánicos que son aprovechados por las plantas (Ahn *et al.*, 2007).

Producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal

Las sustancias promotoras del crecimiento vegetal, son de carácter orgánico que activan varias repuestas en la célula vegetal, a nivel bioquímico, fisiológico y morfológico. De acuerdo a varias clasificaciones se encuentran distribuidas en cinco grupos principales: auxinas, giberelinas, etileno, ácido abscísico y citoquinas. Son capaces de contribuir al desarrollo y regulación de muchos parámetros fisiológicos, además incrementan la resistencia de las plantas a diversos factores ambientales, ya que pueden inducir o suprimir la expresión de una amplia gama de genes (Tsavkelova *et al.*, 2006). Su síntesis por parte de microorganismos, especialmente bacterias de la rizósfera, está ligada, en algunos casos, a patogenicidad debido a que muchos fitopatógenos poseen esta habilidad, para causar respuestas hipersensibles en sus hospederos y así realizar una infección exitosa (Tsavkelova *et al.*, 2006).

Auxinas

Las auxinas son reguladores esenciales del crecimiento y desarrollo vegetal. El ácido indol acético (AIA) es la auxina más estudiada debido a su clara acción en la formación

de dominios apicales, diferenciación vascular y en el desarrollo de órganos (Blakeslee *et al.*, 2005; Tsavkelova *et al.*, 2006). Varios géneros bacterianos han sido reportados como productores de AIA, entre los cuales se pueden citar *Azotobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. (Ahmad *et al.*, 2006), *Azospirillum* sp. (Lugtenberg *et al.*, 2002), *Pantoea agglomerans* (Caballero *et al.*, 2007; Fuentes-Ramírez y Caballero-Mellado, 2005).

La síntesis de AIA en rizobacterias, está ligada principalmente a tres rutas metabólicas ampliamente conocidas por tener como precursor al triptófano. La primera ruta es la del ácido indol-3-piruvico (IPyA), presente en plantas y en varios microorganismos como en el caso de *Azospirillum* sp. y *Pseudomonas* sp. (Baca y Elmerich, 2007; El Sorra *et al.*, 2007). En la segunda ruta la formación de la triptamina a partir del triptófano se presenta como una vía alternativa para la producción de AIA. La producción de AIA en algunas cepas fitopatógenas, como *Pseudomonas syringae*, *Agrobacterium tumefaciens* y *Erwinia herbicola*, presenta en común la síntesis de AIA vía indol-3-acetamida (IAM). Sin embargo, esta ruta metabólica también ha sido estudiada en bacterias simbióticas como *Rhizobium* spp. (Tsavkelova *et al.*, 2006). Baca y Elmerich (2007) sugieren una cuarta ruta metabólica dependiente de triptófano, esta ruta es la del indol-3-acetonitrilo (IAN), que ha sido caracterizada en plantas y bacterias, en la cual participan activamente enzimas como las nitrilasas encargadas de generar el AIA a partir del indol-3-acetonitrilo.

Entre las enzimas involucradas en la ruta del ácido indol-3-pirúvico se encuentran aminotransferasas aromáticas encargadas de convertir al L-Trp en IPyA, estas enzimas están reguladas por los genes AAT1 y AAT2, los cuales presentan su mayor expresión en presencia de altas concentraciones de triptófano (Tsavkelova *et al.*, 2006; Baca y Elmerich, 2007), así mismo, la indolpiruvato descarboxilasa (homotetramero) presenta una importante acción para la obtención del AIA. Esta enzima esta regulada por la expresión del gen funcional IDPC, el cual esta estrechamente ligado con la presencia del ácido indol-3-pirúvico. En la ruta del IAM la acción secuencial de dos enzimas es evidente, la triptófano 2-monooxigenasa y la indol-3-acetamida hidrolasa, encargadas de catalizar el triptófano hasta ácido-3-indol acético. Varios autores reportan la presencia de los genes reguladores de las enzimas involucradas en la ruta metabólica, en el plásmido pTi, el cual al integrarse al núcleo de las células vegetales causa una sobreexpresión de las enzimas aumentando la producción de la auxina (Inzé *et al.*, 1984; Thomashow *et al.*, 1984; Schröder *et al.*, 1984; Baca y Elmerich, 2007).

Bacterias de los géneros *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Derxia*, *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Gluconacetobacter* y *Burkholderia* fueron aisladas de la rizósfera de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) y probadas en su capacidad para la producción de compuestos indólicos como promotores del crecimiento vegetal. Se presentaron diferencias estadísticas ($P \leq 0,05$) en las cantidades de AIA producido por parte de la cepa C27 (*Azotobacter vinelandii*) con $49,57 \mu\text{g mL}^{-1}$ de AIA, respecto a las cepas de referencia Sp7 *Azospirillum brasilense* ($40,17 \mu\text{g mL}^{-1}$ de AIA) y AC1 *Azotobacter chroococcum* ($38,26 \mu\text{g mL}^{-1}$ de AIA) (Obando *et al.*, 2010).

Giberelinas

Esta hormona es producida por plantas y en caso muy puntuales, por bacterias como *A. brasilense* y *Azospirillum lipoferum*. Esta fitohormona es capaz de incrementar el crecimiento de los tallos, interrumpir el periodo de latencia de las semillas para germinar. Además es capaz de inducir la brotación de yemas, así como, promover el desarrollo de los frutos (floración). Las giberelinas son moléculas complejas de di-terpenos tetracarboxílicos (Baca y Elmerich, 2007). Se han caracterizado 136 especies químicas de giberelinas (Bottini *et al.*, 2004). Varias especies químicas de giberelinas como las AG₁, AG₃ y AG₄ son codificadas por un solo gen, que fue mutado para determinar el efecto en la promoción de la elongación de las raíces en varios cultivos de interés (Bottini *et al.*, 2004).

Este tipo de hormonas producidas por microorganismos, se describieron inicialmente en hongos, sin embargo, varios géneros bacterianos, entre los que se pueden incluir *A. lipoferum* y *A. brasilense*, se han caracterizado por producir giberelinas en un rango de 20 a 400 pg mL⁻¹, producidos por concentraciones celulares de 10⁸ ufc/mL. Otros géneros bacterianos que han sido reportados como productores de giberelinas son *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae* y *Bacillus* sp. (Bottini *et al.*, 2004).

Las bacterias anteriormente nombradas producen una gran variedad de giberelinas. Un ejemplo es el propuesto por Gil-Jae *et al.* (2004) quienes evaluaron varias especies de *Bacillus* sp., sobre semillas de pimentón rojo, obteniendo resultados evidentes en cuanto a la producción de especies químicas de giberelinas nunca antes reportadas para bacterias, convirtiéndose en el primer reporte documentado. La biosíntesis de giberelinas está catalizada por tres clases de enzimas entre las que se puede encontrar terpeno ciclasas, la citocromo P450 monooxigenasa y las diooxigenasas, que están involucradas en la síntesis de AG₁ y AG₁₂, las cuales son las principales responsables en la elongación de los tejidos.

Citocinas

Estos compuestos químicos son capaces de regular la citoquinesis de las células vegetales. Las citocinas o citoquinas son derivadas de las amino purinas, siendo la zeatina la más estudiada hasta el momento, sin embargo, las diferentes especies químicas encontradas poseen diferencias en sus radicales manteniendo una estructura general.

Las citocinas pueden ser estructuralmente clasificadas en dos familias, las adenin citocinas y las difenilurea citocinas. Ambos tipos tienen una estructura molecular similar, así como, una actividad biológica parecida, lo que sugiere que las dos familias poseen un receptor común (García de Salmone *et al.*, 2005). La biosíntesis de esta fitohormona en plantas ha sido difícil de identificar, sin embargo, se cree que el principal sitio de producción es el tejido radicular, moviéndose desde éste a los tejidos vegetales que lo requieran. Se considera que muchos microorganismos de la rizósfera de los cultivos son capaces de producir citocinas biológicamente activas, entre los géneros bacterianos más conocidos por producir citocinas se reporta a *Bacillus*, capaz de producir 10 pg de la fitohormona en forma purificada (García de Salmone *et al.*, 2005).

La biosíntesis de citocinas está ligada a la expresión de varios genes que codifican, para enzimas que transforman los anillos de amino purinas, entre los cuales hay que destacar el *ipt* que ha sido descubierto en *A. tumefaciens* y de igual forma el gen *ptz*, encontrado en *P. syringae* pv. *savoastanoi*. Estos genes aparentemente están involucrados en la habilidad para la inducción de tumores en las plantas (Baca y Elmerich, 2007).

Etileno

El etileno inhibe el crecimiento vegetativo y de las raíces; induce la maduración y senescencia de órganos, induce la caída de órganos de la planta, estimula la formación de flores en algunas especies (piña, mango, entre otros), parece participar en la dormancia; la presencia de altas concentraciones de auxinas, giberelinas o citocininas en los tejidos (por aplicaciones hormonales) induce la síntesis de etileno y con ello sus efectos (Knoester *et al.*, 1999).

La producción de etileno por parte de bacterias incluye *Escherichia coli*, *Rhizobium trifoli*, *P. syringae* (bacteria fitopatogena), entre otros. Se han descrito dos rutas de biosíntesis de etileno, que son diferentes al modelo estudiado y propuesto para células vegetales (Baca y Elmerich, 2007). En la primera ruta metabólica descrita, una metionina amino transferasa convierte a la metionina

en ácido 2-oxo-4 metiltiobutírico, el cual se oxida hasta etileno por acción de la NADH:Fe(III) óxido reductasa (Fukuda *et al.*, 1993).

El mecanismo de la segunda ruta involucra a la enzima dioxigenasa dependiente del 2-oxo-glutarato, esta enzima es capaz de oxidar al 2-oxo-glutarato en presencia de arginina (Fukuda *et al.*, 1993). Se ha identificado el gen *efe* responsable en la codificación de la enzima, localizado en plásmido crípticos endógenos, los cuales han sido descritos en *P. syringae*. Sin embargo, se cree que el crecimiento vegetal no se ve influenciado por la producción de etileno microbiano pero no se sabe con certeza que los microorganismos utilizan la producción de etileno como "arma" para quebrar las defensas de la planta y así, causar enfermedad (Baca y Elmerich, 2007).

Producción de sideróforos

El hierro es un elemento esencial para el crecimiento de los organismos, las plantas lo obtienen del suelo y cuando la disposición del nutriente es limitada los habitantes de la rizósfera entran en competencia por adquirirlo (De Weger, 1998). Las PGPR producen compuestos de bajo peso molecular llamados sideróforos para obtener competentemente este mineral del suelo (Whipps, 2001). Los sideróforos son compuestos que desempeñan la función de solubilizar específicamente el hierro e incorporarlo al metabolismo celular, químicamente, se consideran compuestos ligantes a hierro que funcionan de forma general uniéndose covalentemente a hierro sin generar cambios en el estado de oxidación.

Existen en la naturaleza sideróforos que son mejores solubilizadores de hierro gracias a que tienen sitios de ligación múltiple, un ejemplo importante es la pioverdina, sintetizada por *Pseudomonas*, es un aminocompuesto polihidroxilado complejo que tienen tres sitios ligantes (Brisbane *et al.*, 1987; De Vleeschauwer *et al.*, 2006).

El mecanismo bioquímico de los sideróforos, que implica el transporte y la liberación del hierro dentro de la célula, involucra una serie de reacciones de óxido-reducción mediadas por la diferencia en el potencial electroquímico de la membrana externa y el citoplasma. El ingreso a través de la membrana externa sucede con la ayuda de proteínas receptoras, en el periplasma el sideróforo ligado a hierro es transportado libremente y el ingreso al citoplasma del hierro es mediado por proteínas esterasas con gasto de ATP, mientras que el sideróforo es excretado al medio (Canavarró y Machado, 2002).

La síntesis de los sideróforos y sus receptores es inducida por las limitaciones de hierro en el medio y regulada por

proteínas dependientes de hierro, pH y trazas de carbono, nitrógeno y fósforo. (De Weger, 1988). Un compuesto de gran interés dentro de los reguladores del crecimiento vegetal es el ácido salicílico, su síntesis es dependiente de hierro, actúa como sideróforo en condiciones limitantes del metal y es precursor o intermediario en la síntesis de otros sideróforos (Mercado-Blanco 2001).

Biofertilizantes

El estudio de las bacterias promotoras de crecimiento se ha realizado desde hace muchos años, producto de estas investigaciones se ha sugerido que las bacterias fijadoras de nitrógeno son el grupo de microorganismos, más importantes presentes en la rizósfera del suelo, debido a que esta clase de bacterias pueden establecer relaciones muy específicas con las plantas y de esta manera evitar la competencia con toda la microflora presente en el suelo (Döbereiner, 1992; Lennon *et al.*, 1997; Mani y Traux, 1998).

Las bacterias promotoras del crecimiento poseen varios mecanismos, varios de ellos enunciados en el desarrollo de este artículo, entre los cuales se debe destacar la fijación biológica de nitrógeno (FBN), síntesis de fitohormonas, sinergismo con otros microorganismos benéficos para las plantas, inhibición de la producción de etileno por parte de las plantas y la solubilización de elementos como el fósforo, el cual es de vital importancia en el desarrollo de las células vegetales (Fuentes-Ramírez y Caballero-Mellado, 2005, Boddey *et al.*, 2001). Teniendo en cuenta las características de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, se han realizado varios esfuerzos formular y utilizar a estos microorganismos como biofertilizantes, los cuales pueden ser definidos según Fuentes-Ramírez y Caballero-Mellado (2005), como productos que contienen microorganismos vivos, los cuales ejercen un efecto benéfico en las plantas, utilizando diferentes mecanismos.

Sin embargo se sabe que varios géneros bacterianos, aproximadamente el 5% de la procariotas, pueden tener los genes encargados de la fijación de nitrógeno (*nif*), estos genes pueden encontrarse ubicados en plásmidos, en algunas especies, pero en la mayoría de los procariotas poseen genes *nif* cromosomales (Chen *et al.*, 2001; Compant *et al.*, 2005). Estas evidencias demuestran que existe un potencial relativamente grande para la exploración de nuevos microorganismos con potencial biofertilizante que podrían superar en eficiencia a las bacterias que actualmente son utilizadas en los procesos de producción de fertilizantes biológicos en el mundo.

Ejemplos claros de cómo las bacterias pueden intervenir en los ciclos biogeoquímicos pueden observarse en las bacterias fijadoras de nitrógeno y las bacterias

solubilizadoras de fosfato, ampliamente utilizadas como principios activos de biofertilizantes empleados en la agricultura moderna. Bacterias de los géneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Burkholderia*, *Gluconacetobacter*, *Derrxia*, *Beijerinckia* y *Azotobacter*, fueron aisladas de cultivos de pasto dedicados a la alimentación bovina. Además, fueron caracterizadas, como diazotróficas con un alto potencial biofertilizante (Garrido *et al.*, 2010).

Según Cárdenas *et al.* (2010) quienes evaluaron el efecto de los factores ambientales y el manejo agronómico del pasto Guinea (*Panicum maximum*), sobre la población bacteriana del género perteneciente al género *Azospirillum*, pudieron observar que esta bacteria puede mantener su población en condiciones de estrés por diferentes mecanismos fisiológicos. A partir de las muestras de pasto, se obtuvieron 16 aislamientos pertenecientes al género *Azospirillum*, a los cuales se les evaluó su actividad de reducción de acetileno como indicador de la fijación biológica de nitrógeno y su capacidad en la producción de compuestos indólicos como promotores del crecimiento vegetal. Se seleccionaron las cepas SRGM2, SRGM3 y SRGM4. Estos aislamientos se caracterizaron molecularmente por el gen 16S rRNA y según el análisis BLAST en la base de datos del GenBank, se presentaron 93% de similitud con *A. lipoferum* (SRGM2 y SRGM3) y 94% con *A. brasilense* (SRGM4).

La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica) ha realizado desarrollos importantes en productos registrados, utilizados como biofertilizantes para suplir las necesidades de nutrientes como el nitrógeno en cultivos de interés comercial en el país. El desarrollo de formulaciones sólidas ha sido el principal avance que se ha realizado hasta el momento, en este apartado. Se desarrolló un biofertilizante (Monibac®) con base en *A. chroococcum*, como principio activo, el cual fue probado en cultivos de pastos (*Panicum maximum*) tomate (*Solanum lycopersicum*), ají (*Capsicum annuum*), lechuga (*Lactuca sativa*) y algodón (*Gossypium hirsutum*). Este producto pudo reducir la aplicación de fertilizantes de síntesis química (nitrógeno en forma de urea) hasta en un 50%, disminuyendo los costos y en la mayoría de los casos aumentando los rendimientos de producción hasta en un 15% (Bonilla y Morales, 2005).

Otro ejemplo de desarrollos en productos de biofertilización, con principios activos con base en bacterias rizosfericas, es Rhizobiol®, el cual posee bacterias pertenecientes al género *Rhizobium*, que son capaces de establecer simbiosis directas con plantas leguminosas. Este producto es capaz de reducir un 100% de fertilización nitrogenada en plantas leguminosas como frijol (*Phaseolus vulgaris*), arveja (*Pisum sativum*), kudzu (*Pueraria phaseoloides*), trébol (*Trifolium*

pratense), entre otros. Estos bioproductos representan una alternativa importante para la producción agrícola a nivel mundial, para la disminución de costos y como complemento a un sistema de nutrición vegetal enfocado en la producción agrícola mundial.

CONCLUSIÓN

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal poseen varios mecanismos que estimulan el desarrollo de las plantas, mecanismos que involucran la producción

de sustancias que actúan directamente sobre las células vegetales y provocan un aumento en el desarrollo de las mismas. También estas bacterias tienen influencia y gran participación en el ciclaje de nutrientes como nitrógeno y fósforo, son capaces de tomar formas no disponibles para la planta y transformarlas, hasta la obtención de formas asimilativas para las células vegetales. Estas características han llevado a la utilización de estas bacterias como biofertilizantes en diferentes cultivos, con el ánimo de reducir los costos y mantener o superar los rendimientos de la producción agrícola.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adler JA. 1973. Method for measuring chemotaxis and use of the method to determine optimum conditions for chemotaxis by *Escherichia coli*. J. Gen Microbiol 74:77-91.
- Ahmad F, Ahmad I, Khan MS. 2006. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiol Res 36:1-9.
- Ahn IP, Lee SW, Suh SC. 2007. Rhizobacteria-Induced Priming in *Arabidopsis* Is Dependent on Ethylene, Jasmonic Acid, and NPR1. Mol Plant Microbe Interact 20(7):759-768.
- Aizawa S, Aizawa C, Harwood S, Kadner RJ. 2000. Signaling Components in Bacterial Locomotion and Sensory Reception. Minireview. J. Bacteriol 182(6):1459-1471.
- Baca BE, 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.
- Benizri E, Baudoin E, Guckert A. 2001. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. Biocontrol Sci Technol 11:557-574.
- Bianciotto V, Andreotti S, Bonfante P, Parotto S. 2001. Mucoid mutants of the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* CHA0 show increased ability in biofilm formation on mycorrhizal and nonmycorrhizal carrot roots. Mol Plant Microbe Interact 14(2):255-260.
- Bianciotto V, Minerdi D, Perotto S, Bonfante P. 1996. Cellular interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and rhizosphere bacteria. Protoplasma 193:123-131.
- Blakeslee JJ, Ann Peer W, Murphy AS. 2005. MDR/PGP Auxin transport proteins and endocytic cycling. Plant Cell Monogr 1:159-176.
- Boddey RM, Urquiaga S, Reis V, Dobereiner J. 1991. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane. Plant Soil 137(1):111-117.
- Bonilla R, Morales G. 2005. Monibac: Un biofertilizante con base en cepas nativas de *Azotobacter* sp., para incrementar la productividad y sostenibilidad del algodón. Innovación y Cambio Tecnológico Corpoica 4:30-34.
- Bottini R, Cassan F, Piccoli P. 2004. Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. Appl Microbiol Biotechnol 65:497-503.
- Brisbane PG, Janik L, Tate M, Warren R. 1987. Revised structure for the phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* 2-79 (NRRL B-1 5132). Antimicrobial Agents Chemotherapy 31:1967-1971.
- Caballero T, Camelo M, Bonilla R, Martínez M. 2007. Determinación de actividad fosfato solubilizadora por bacterias aisladas a partir de suelos algodoneros en los departamentos del Cesar y Meta. Suelos Ecuat 37:94-100.
- Caiola MG, Al-Botta A, Del Gallo M. 2004. Localization of *Azospirillum brasiliense* Cd in inoculated tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) roots. Ann Microbiol 54:365-380.
- Canavarro AM, Machado S. 2002. Sideróforos: resposta uma dos microorganismos. Quim Nova 25(6b): 1155-1164.
- Cárdenas DM, Garrido MF, Bonilla R, Baldani VL. 2010. Aislamiento e identificación de cepas de *Azospirillum* sp. en pasto Guinea (*Panicum maximum* Jacq.) del Valle del Cesar [en línea]. Pastos y Forrajes 33(4): <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v33n3/pyf05310.pdf>; consulta: junio de 2011.
- Chen WM, Laevens S, Lee TM, Coenye T, De Vos P, Mergeay M, Vandamme P. 2001. *Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Mimosa* species and sputum of a cystic fibrosis patient. Int J Syst Evol Microbiol 51:1729-1735.
- Compant S, Duffy B, Nowak J, Clement C, Barka EA. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. Appl Environ Microbiol 17(9):4951-4959.
- 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.
- De Weert S, Vermeiren HI, Kulper I, Hendrickx I, Bloemberg G, Vanderleyden J, De Mot, Lugtenberg J. 2002. Flagella-driven chemotaxis towards exudates components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. Mol Plant Microbe Interact 15(11):1173-1180.
- De Weger LA, Van Arendonk J, Recourt K, Van Der Hofstad G, Weissbeek P, Lugtenberg B. 1998. Siderophore-mediated uptake of Fe³⁺ by the plant growth-stimulating *Pseudomonas putida* Strain WCS358 and by other rhizosphere microorganisms. J. Bacteriol 170(10):4693-4698.
- Döbereiner J. 1992. History and new perspectives of diazotrophs in association with nonleguminous plants. Symbiosis 13:1-13.
- El Sorra E, Idris Domingo J, Iglesias MT, Rainer B. 2007. Tryptophan-dependent production of indole-3-acetic acid (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. Mol Plant Microbe Interact 20(6):619-626.
- Fuentes-Ramírez LE, Caballero-Mellado J. 2005. Bacterial fertilizers. En: Siddiqui ZA, editor. PGPR: biocontrol and biofertilization. Dordrecht, Springer. pp. 143-172.

- Fukuda H, Ogawa T, Tanase S. 1993. Ethylene production by microorganisms. *Adv Microbial Physiol* 35:275-306.
- García de Salamone I, Hynes R, Nelson L. 2005. Role of cytokinins in plant growth promotion by rhizosphere bacteria. En: Siddiqui ZA, editor. *PGPR: biocontrol and biofertilization*. Dordrecht, Springer. pp 173-195.
- Garrido MF, Cárdenas DM, Bonilla R, Baldani VL. 2010. Efecto de los factores edafoclimáticos y la especie de pasto en la diversidad de bacterias diazotroficas. *Pastos y Forrajes* 33(4):1-12.
- Gil-Jae J, Young-Mog K, In-Jung L, Kyung-Sik S, In-Koo R. 2004. Growth promotion of red pepper plug seedlings and the production of gibberellins by *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides* and *Bacillus pumilus*. *Biotechnol Lett* 26:487-491.
- Inzé D, Follin A, Van Lijsebettens M, Simoens C, Genetello C, Van Montagu M, Schell J. 1984. Genetic analysis of the individual T-DNA of *Agrobacterium tumefaciens*, further evidence that two genes are involved in indole-3-acetic acid synthesis. *Mol Gen Genet* 194:265-274.
- Knoester M, Pieterse CMJ, Bol FJ, Van Loon CL. 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.
- Landa B, Mavrodi O, Raaijmakers M, McSpadden B, Thomashow L, Weller D. 2002. Differential ability of genotypes of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* strains to colonize the roots of pea plants. *Appl Environ Microbiol* 68(7):3226-3237.
- Law A, Aitken M. 2005. Continuous-flow capillary assay for measuring bacterial chemotaxis. *Appl Environ Microbiol* 71(6):3137-3143.
- Leisinger T, Margraff R. 1979. Secondary metabolites of the fluorescent pseudomonads. *Microbiol Rev* 43(3):422-442.
- Lennon A, Neuenschwander U, Ribas-Carbo M, Giles L, Ryals J, Siedow J. 1997. The effects of salicylic acid and Tobacco mosaic virus infection on the alternative oxidase of tobacco. *Plant Physiol* 115:783-791.
- Lugtenberg BJJ, Chin-A-Woeng TFC, Bloemberg-Guido V. 2002. Microbe-plant interactions: principles and mechanisms. *Antonie Leeuwenhoek* 81:373-383.
- Maki N, Gestwicki J, Lake E, Kiessling L, Adler J. 2000. Motility and chemotaxis of filamentous cells of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 182(15):4337-4342.
- Mani BM, Traux JPM. 1998. Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. *Ann Bot* 82:535-540.
- Matheron M. 2001. Modes of action for plant disease management chemistrie. En: The University of Arizona, <http://ag.arizona.edu/crops/diseases/papers/dischemistry.html>; consulta: Julio de 2011.
- Mavrodi OV, Mavrodi D, Park A, Weller D, Thomashow L. 2006. The role of *dsbA* in colonization of the wheat rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens* Q8r1-96. *Microbiol* 152:863-872.
- McCarter L. 2004. Dual Flagellar systems enable motility under different circumstances. *J Mol Microbiol Biotechnol* 7:18-29.
- Mercado J, Koem M, Van Der Drift M, Olsson P, Thomas J, Van Loon L, Bakker P. 2001. Analysis of the *pmsCEAB* gene cluster involved in biosynthesis of salicylic acid and the siderophore pseudomonine in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS374. *J Bacteriol* 183(6):1909-1920.
- Obando DM, Burgos L, Rivera D, Garrido MF, Baldani VL, Bonilla R. 2010. Caracterización de bacterias diazotróficas asimbióticas asociadas al eucalipto (*Eukalyptus* sp.) en Codazzi, Cesar (Colombia). *Acta Biol Colomb* 15(3):107-120.
- Rao M, Lee H, Creelman R, Mullet J, Davirs K. 2000. Jasmonic acid signaling modulates ozone-induced hypersensitive cell death. *Plant Cell* 12:1633-1646.
- Schröder G, Waffenschmidt S, Weiler EW, Schröder J. 1984. The T-region of Ti plasmids codes for an enzyme synthesizing indole-3-acetic acid. *Eur J Biochem* 138:387-391.
- Shoebitz M, Ribaudo CM, Pardo M, Cantorec M, Ciampi LJA, Curá B. 2008. Plant growth promoting properties of a strain of *Enterobacter ludwigii* isolated from *Lolium perenne* rhizosphere. *Soil Biol Biochem* 12(13):1-7.
- Shoresh M, Yedidia I, Chet I. 2005. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T20. *Phytopathol* 95(1):66-77.
- Simons M, Van Der Bij A, Brand J, De Weger L, Wijffelman C, Lugtenberg B. 1996. Gnotobiotic system for studying rhizosphere colonization by plant growth-promoting *Pseudomonas* bacteria. *Mol Plant Microbe Interact* 9:600-607.
- Thomashow LS, Reeves S, Thomashow MF. 1984. Crown gall oncogenesis, evidence that a T-DNA gene from the *Agrobacterium* Ti plasmid pTiA6 encodes an enzyme that catalyzes synthesis of indoleacetic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:5071-5075.
- Tsavkelova EA, Klimova SY, Cherdyntseva TA, Netrusov AI. 2006. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Appl Biochem Microbiol* 42(2):117-126.
- Voinnet O. 2005. RNA silencing compared with innate immunity. *Nature Rev Gen* 6:206-220.
- Weert S, Kuiper I, Lagendijk EL, Gerda E, Lamers M, Ben J, Lugtenberg J. 2003. Role of chemotaxis toward fusaric acid in colonization of hyphae of *Fusarium oxysporum* f. sp. radicles-lycopersici by *Pseudomonas fluorescens* WCS365. *Mol Plant Microbe Interact* 17(11):1185-1191.
- Whippis J. 2001. Microbial interactions ADN biocontrol in the rizosphere. *J Exp Bot* 52:487-511.
- Wildermuth M, Dewdney J, Wu G, Ausubel F. 2002. Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. *Nature* 414:562-565.