
Pseudomonas fluorescens: Mecanismos y aplicaciones en la agricultura sustentable.

José-Alonso Álvarez-García¹, Gustavo Santoyo², Ma. del Carmen Rocha-Granados^{1*}

¹Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez"

²Instituto de Investigaciones Químico Biológicas

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). Paseo Lázaro Cárdenas s/n Esq. Berlín, Col. Viveros. CP. 60190, Uruapan, Michoacán, México

Artículo recibido 7 de febrero de 2020 y aceptado el 28 de febrero de 2020

Pseudomonas fluorescens: Mechanisms and applications in sustainable agriculture.

Abstract

Biological control or biocontrol using microorganisms has become an alternative in the treatment of plant pathogens, it is considered as one of the most efficient and ecological practices in the development of a sustainable agriculture. For this reason, some bacterial species are considered excellent candidates, such as *Pseudomonas fluorescens*. This bacterial species inhabits the rhizosphere, promotes plant growth and exhibits a great adaptation and colonization capacity to different types of soils, reason for why it is associated with a wide variety of plant species. *P. fluorescens* strains exhibit direct and indirect effects on the interaction with plants, among direct effects are the synthesis of phytohormones, production of siderophores, mineral solubilizers, and are involved in the synthesis of multiple volatile compounds. Indirect effects include the inhibition of phytopathogenic fungi that are interacting with the same rhizospheric environment. The purpose of this review is to evaluate the effect of *Pseudomonas* on the growth and development of plants, as well as to address the pioneering work on the contributions to sustainable agriculture; and to know the mechanisms and advantages that it presents for the biocontrol of phytopathogenic organisms in plants with commercial interest.

Key words: *Pseudomonas fluorescens*, phytohormones, volatile compounds, biocontrol, phytopathogens.

Resumen

El control biológico o biocontrol utilizando microorganismos se ha convertido en una alternativa en el tratamiento de patógenos de plantas, siendo considerado como una de las prácticas más eficientes y ecológicas en el desarrollo de una agricultura sostenible. Por tal motivo, algunas especies bacterianas son consideradas excelentes candidatos, tal como *Pseudomonas fluorescens*. Esta especie bacteriana habita la rizósfera, promueve el crecimiento vegetal y exhibe una gran capacidad de adaptación y colonización a diferentes tipos de suelos, por lo que se asocia a una gran variedad de especies vegetales. *P. fluorescens* ofrece efectos directos e indirectos en la interacción con plantas, entre los efectos directos se encuentran la síntesis de fitohormonas, producción de sideróforos, solubilizadoras de minerales y síntesis de una gran cantidad de compuestos volátiles. Los efectos indirectos incluyen la inhibición de hongos fitopatógenos que estén interactuando en el mismo ambiente rizosférico. El propósito de esta revisión es evaluar el efecto de *Pseudomonas* sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, así como abordar los trabajos pioneros sobre los aportes a la agricultura de este género; y conocer los mecanismos y ventajas que presenta para el biocontrol de organismos fitopatógenos en plantas de interés comercial.

*Autor de correspondencia

Email: carmen.rocha@umich.mx

ISSN 2594-0384 (Electrónica)

Palabras claves: *Pseudomonas fluorescens*, fitohormonas, compuestos volátiles, biocontrol, fitopatógenos.

Introducción

Pseudomonas spp. es un género de bacterias Gram negativas en forma de bastoncillos que no desarrollan esporas (Compant *et al.*, 2005), y que por sus características genéticas y amplias capacidades metabólicas pueden adaptarse y colonizar diferentes tipos de suelos. Una característica importante es que juegan un papel fundamental en los suelos como supresores de enfermedades (Weller *et al.*, 2002); de hecho, en un trabajo reciente, la abundancia de diversas especies de *Pseudomonas* son las responsables de suprimir enfermedades en plantas de betabel (Mendes *et al.*, 2011). Lo anterior es un efecto indirecto al promover el desarrollo y crecimiento de la planta (Glick, 2012; Santoyo *et al.*, 2016). Así mismo, la síntesis de compuestos antibacterianos y fungicidas, la competencia por nutrientes, la producción de sideróforos y la inducción de resistencia sistémica, se consideran también efectos indirectos que benefician a la planta (Siddiqui y Shaikat, 2003; Alves *et al.*, 2004). Adicionalmente, estas cepas fluorescentes pueden ejercer un efecto directo en las plantas a través de la síntesis de fitohormonas, vitaminas, estimulación de la germinación de semillas y emergencia de plántulas, inhibición de la síntesis de etileno y solubilización de fósforo inorgánico (Santoyo *et al.*, 2012).

En virtud de su capacidad de adaptación fisiológica y versatilidad metabólica, las rizobacterias son un agente clave del cambio de suelo en los agroecosistemas, con efectos positivos, en cuanto a tolerancia a altos contenidos de sales, aumento en los rendimientos de cultivos y mejoras en la calidad del suelo (Brown, 2010). El propósito de esta revisión es dar un panorama general del beneficio que aportan a la agricultura los microorganismos, en especial *Pseudomonas fluorescens*, que pueden ayudar en la reducción del uso de agroquímicos, manteniendo un manejo integral del cultivo. Por tal motivo, proponemos ampliar las investigaciones y el uso de estos agentes bacterianos con cepas endémicas y adaptadas a las condiciones climáticas de la agricultura en México, que permitan resultados óptimos en la protección y producción agrícola.

Características generales de Pseudomonas

fluorescens

Pseudomonas fluorescens es una especie bacteriana, Gram-negativa, con forma de bacilo, ubicada e incapaz de formar esporas, tiene dimensiones que están entre 0.5-1.0 x 1.5-5 µm, presentan movilidad debido a que poseen varios flagelos polares, tienen un metabolismo energético estrictamente aerobio y una nutrición quimiorganótrofa que no requiere factores de crecimiento. Sintetizan gránulos de polihidroxialcanatos que sirven de reserva de material celular. Una de las características de esta especie es la producción de compuestos fluorescentes, de ahí el origen de su nombre. Por ejemplo, producen pioverdina, que es un pigmento soluble en agua, presenta fluorescencia bajo luz ultravioleta y su producción es estimulada cuando el hierro es limitante en el medio. Por lo general, las condiciones para su crecimiento óptimo son temperaturas entre 25 y 30°C a un pH neutro (Palleroni, 2005).

Colonización de la rizósfera y endósfera

La colonización en la rizósfera está influenciada por los exudados radicales, como son iones, oxígeno libre, agua, enzimas, aminoácidos, mucílago, compuestos fenólicos, entre otros. Por lo tanto, aquí encaja la definición de rizósfera; la parte del suelo donde los exudados radicales llegan a tener influencia. El término y la definición anterior de rizósfera fue introducido por Hiltner hace más de un siglo (Santoyo *et al.*, 2012). Esta interacción conocida como quimiotaxis permite a las bacterias adherirse a la superficie radical, formar microcolonias o biofilms discontinuos (biopelículas o biocapas bacterianas) entre las células de la epidermis. En un trabajo pionero publicado por Schippers y colaboradores (1987), se propuso la importancia de colonizar espacios en dicho microambiente para permitir un control efectivo de enfermedades vegetales.

P. fluorescens se adapta fácilmente al suelo para sobrevivir y colonizar el sistema radicular de las plantas (Santoyo *et al.*, 2016). Este mecanismo inicial es atribuido al movimiento flagelar, a mayor motilidad habrá mejor colonización y el grado de infección dependerá de la especie vegetal y de las condiciones de crecimiento (Bowers y Parkea, 1993). Aunque la rizósfera es un microambiente

hostil para los organismos que la habitan, las especies de *Pseudomonas* del grupo fluorescente, contienen un arsenal de compuestos para combatir y luchar por ocupar los mejores nichos, aquellos donde se encuentran los nutrientes. Y no sólo eso, los factores ambientales también significan un estrés para las bacterias, tales como la salinidad, condiciones de microaerobiosis, inundaciones, contaminación por metales pesados, entre otros (Raaijmakers et al., 2002). Un ejemplo es la síntesis de exopolisacáridos, lo cual es un factor importante para colonizar espacios y sobrevivir en la rizósfera. En particular el antígeno-O de *P. fluorescens* cepa WCS417Rr, es indispensable para colonizar la raíz y penetrar los tejidos de plantas de tomate, es decir, como endófita (Duijff et al., 1997; Glick, 2012).

El término endófita significa "dentro de la planta", y las bacterias endófitas se definen como aquellas que pueden colonizar y sobrevivir dentro de los tejidos vegetales sin causar un daño aparente (Rojas-Solís et al., 2016). Se ha propuesto que las bacterias endófitas pueden tener una comunicación más íntima y estrecha con la planta, es decir, sus metabolitos aún a concentraciones mínimas, pueden ejercer un efecto en la planta (Ali et al., 2012; Coutinho et al., 2015).

Las bacterias rizosféricas pueden colonizar los tejidos internos de la planta a través de mecanismos pasivos o activos (Rojas-Solís et al., 2016). Colonizar dichos espacios les permite desplazarse entre los espacios intercelulares de células epidérmicas y de la corteza, es decir, pueden llegar desde la raíz hasta el tallo, hojas, flores y heredarse a través de las semillas a las siguientes generaciones (Bais et al., 2006; Couillerot et al., 2009). Esta zona es conocida como la endorizósfera, la parte interna de los tejidos de la raíz. Las bacterias pueden tener diversos beneficios, así como la planta también se ve beneficiada. Es un tipo de simbiosis planta-bacteria, donde las condiciones de microaerobiosis son las mejores para que organismos fijadores de nitrógeno puedan ejercer un efecto promotor del crecimiento vegetal a través de este mecanismo. En este ambiente endófito existe, hasta donde se sabe, una menor competencia por nutrientes, en un ambiente de temperatura estable y protegido de condiciones de estrés abiótico (salino o abiótico, por ejemplo) (Santoyo et al., 2016). Aunque se sabe poco sobre los determinantes genéticos involucrados en la colonización de la endósfera, se

ha propuesto que las actividades celulolíticas, las glucanasas, producción de biofilm, entre otras, son importantes (Glick, 2012). En general, la mayoría de los mecanismos directos e indirectos de bacterias rizosféricas, tales como la síntesis de antibióticos o compuestos quelantes de hierro (sideróforos) les permite a *Pseudomonas* colonizar la rizósfera, un paso anterior para llegar a los tejidos internos de la planta. Por lo tanto, cepas con gran potencial para colonizar la rizósfera, serían candidatos ideales para establecerse y sobrevivir en un ambiente endófito.

Actividades indirectas: inhibición de fitopatógenos

Desde los años 50's se propuso el uso de agentes bacterianos como biocontroladores de enfermedades vegetales (Wood y Tveit, 1955). En el caso de géneros como *Pseudomonas* los estudios claros sobre mecanismos directos e indirectos de promoción del crecimiento se propusieron a finales de los 70's y principio de los 80's. De hecho, Kloepper y Schroth (1978), propusieron el término Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal o Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR), por sus siglas en inglés. Un trabajo pionero fue publicado por los mismos autores donde propusieron por primera vez que cepas de *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas putida* podían quelar el hierro del medio a través de la síntesis de sideróforos y, por lo tanto, limitarlo para los demás microorganismos, incluyendo potenciales patógenos (Kloepper et al., 1980). En la tabla 1 se resumen diversos trabajos sobre actividades antagónicas y de biocontrol de fitopatógenos (mecanismos indirectos de promoción del crecimiento vegetal), por cepas de *Pseudomonas fluorescens*.

En otro trabajo Durkhead et al. (1995), reportan que las bacterias que pertenecen al grupo de las fluorescentes como *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas putida*, pueden colonizar diferentes cultivos y se les considera antagonistas de varios hongos fitopatógenos que se encuentran en el suelo, como *Fusarium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium*. Las enfermedades de trasplantes de plántulas, comúnmente llamadas "damping-off", son causadas por un complejo de hongos patógenos del suelo, donde predominan especies del género *Pythium* y en menor grado los de los géneros *Rhizoctonia* y *Fusarium*, que atacan al vegetal en etapas de pre y post-emergencia, causando graves

Tabla 1. Reportes relevantes sobre actividades antagónicas y de biocontrol de fitopatógenos (mecanismos indirectos de promoción del crecimiento vegetal), por cepas de *Pseudomonas fluorescens*.

Cepa (s) de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Patógeno (s)	Modo de acción antagónica	Referencia
B10	<i>Fusarium</i>	Producción de sideróforos	Kloepper et al., 1980
ZUM80	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>C. lindemuthianum</i> <i>C. gloesporioides</i> <i>P. cinnamomi</i>	Producción de sideróforos y otros compuestos desconocidos	Santoyo et al., 2010
UM270	<i>Botrytis cinerea</i>	Compuestos difusibles (DAPG, sideróforos, proteasas) y volátiles (HCN, compuestos azufrados)	Hernández-León et al., 2015
PPC	<i>Fusarium oxysporum</i>	Antibióticos y enzimas líticas	Guerra et al., 2011
WCS 374 y WCS 417	<i>Fusarium</i> spp.	Lipopolisacáridos	De Meyer y Hofte, 1997
4-92	<i>Macrophomina phaseolina</i>	Inducción de Resistencia Sistémica (ISR)	Srivastava et al., 2001
Pf1 y Pf7	<i>Rhizoctonia solani</i>	ISR y DAPG	Nandakumar et al., 2001; Uribe et al., 2000
IBUN-Pfl-060, 033 y 029	<i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i>	2,4-diacetylphloroglucinol	Weller et al., 2007
Q8r1-96	Virus del mosaico del tabaco	Ácido salicílico e ISR	Maurhofer et al., 1998
CHAO	<i>Phytophthora ultimum</i>	Compuestos difusibles (DAPG, sideróforos, proteasas) y volátiles (HCN, compuestos azufrados)	Beyeler et al., 1999
UM16 y UM270	<i>Phytophthora cinnamomi</i> <i>Fusarium</i> spp.		Datos aun sin publicar (Álvarez-García y colaboradores)

pérdidas económicas (Altier y Thies, 1995). Mediante evaluaciones *in vitro* con *Pseudomonas* spp. la más agresiva de entre *P. chlororaphis*, *P. vranovenssis*, *P. borealis*, *P. syringae*, *P. marginalis*, *P. poae*, *P. putida*, *P. mandelii*, es la especie *P. fluorescens* cepas 1B1, 14B2, 29G9 y Wayne1R, la cual inhibe en un mayor porcentaje a *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora ultimum*, en aislados de trigo, mostrando una alta eficiencia en su control (Mavrodi et al., 2012). *Rhizoctonia solani* también es inhibido *in vitro* por las cepas IBUN-Pfl-060, 033 y 029 de *P. fluorescens* en un 80, 79 y 77% respectivamente, dichos aislados son de cultivos de papa, por lo que son una alternativa viable para el control de dicho patógeno en solanáceas (Uribe et al., 2000). *Phytophthora ultimum* causante de la pudrición de raíz en plantas de pepino, es inhibido por la cepa CHAO de *P. fluorescens*, incrementado la sobrevivencia de plántulas, el peso fresco de raíz y brotes (Beyeler et al., 1999). Las cepas MPf3 y J-143 de *P. fluorescens* inhiben en su totalidad el crecimiento *in vitro* de *Fusarium* sp. y *Curvularia* sp. Al interactuar las rizobacterias con *Fusarium oxysporum* y *Alternaria alternata* inhiben un 97% su crecimiento, dichos patógenos fueron aislados de arroz y maíz. En patógenos de aguacate como *Colletotrichum gloesporioides* y

Phytophthora cinnamomi se ha logrado inhibir su crecimiento en un 72 y 70% por parte de la cepa ZUM80 de *P. fluorescens*. En este sentido, la misma cepa ZUM80 logró restringir el crecimiento de *Colletotrichum lindemuthianum* en un 76%, un patógeno ampliamente encontrado en cultivos de frijol (Santoyo et al., 2010). Las cepas UM16, UM240, UM256 y UM270 de *P. fluorescens* inhiben el crecimiento *in vitro* de *Botrytis cinerea* hasta en un 86 % (Hernández-León et al., 2015). *B. cinerea* es un patógeno que causa el moho gris en frutos y hojas de diversas especies vegetales, en fresa es una de las principales enfermedades, puede causar pérdidas en el rendimiento de hasta un 50% para las fresas no tratadas. *P. fluorescens* colocada en glicerol y asperjada en fresa establecida a campo abierto, logra inhibir al patógeno tanto en frutos como en hojas, disminuyendo el daño por en un 70% (Haggag and El Soud, 2012). En trabajos más recientemente realizados con arándano o blueberry, variedad Biloxi, se encontró que plantas sometidas a inoculaciones previas con *P. fluorescens* cepas UM270 y UM16, son más tolerantes a la infección de los hongos *Fusarium* spp. y *Phytophthora cinnamomi* (Álvarez-García et al., Datos no publicados).

Metabolitos secundarios

Autores han señalado que las cepas de *Pseudomonas* spp. suprimen el desarrollo de patógenos y muestran altos porcentajes de inhibición por su capacidad de producir metabolitos de naturaleza antibiótica, tales como pyoluteorina, pirrolnitrina, ácido 1-fenacina carboxílico y 2,4 diacetilfloroglucinol (Bangera y Thomashow, 1998; Picard et al., 2000; Trujillo et al., 2007). La emisión de compuestos volátiles es otro mecanismo que propicia que las cepas de *Pseudomonas fluorescens* tengan diferentes grados de antagonismo contra hongos fitopatógenos (Hernández-León et al., 2015). Otro mecanismo muy eficiente de las plantas para el control de fitopatógenos, es la generación de resistencia sistémica inducida, donde *P. fluorescens* cepa CHAO, suprime diversas enfermedades de cultivos, generando en hojas de tabaco resistencia sistémica inducida a la infección por el virus de la necrosis del tabaco (TNV), y se extiende a toda la planta inmunizándola. Con estos resultados se demuestra que la cepa CHAO reduce la necrosis de hojas de *Nicotiana tabacum* por TNV e induce cambios fisiológicos en la planta (Maurhofer et al., 1994).

Se han identificado en *Pseudomonas fluorescens* cepa Pf-5, nueve genes involucrados en la producción de metabolitos secundarios, dos genes que contienen la ruta biosintética para los sideróforos pioverdina, éstos genes son conservados en otras especies de *Pseudomonas*. Un gen codifica para la producción de cianuro de hidrógeno (*hcn*), es conservado en diversas cepas de *Pseudomonas fluorescentes*. *P. fluorescens* Pf-5, produce cuatro metabolitos que son tóxicos a hongos y oomicetos, que son importantes en el biocontrol: dos policétidos pyoluteorina y 2,4-diacetilfloroglucinol, el triptófano clorado derivado de pirrolnitrina, y cianuro de hidrógeno, que son formados por oxidación de glicina. Los metabolitos secundarios producidos por *P. fluorescens* tienen la capacidad de suprimir enfermedades en plantas y pueden servir como señales que influyen en la expresión génica mediante la inhibición de las células en la rizósfera (Paulsen et al., 2005).

Producción de sideróforos

Anteriormente hemos hablado un poco sobre los sideróforos producidos por *Pseudomonas*. A continuación, extenderemos la discusión sobre éstos compuestos tan importantes para colonizar,

competir y restringir el crecimiento de fitopatógenos.

Casi todos los organismos requieren hierro para satisfacer sus necesidades vitales, este metal participa en procesos biológicos como transporte de oxígeno, síntesis de ADN, fijación de nitrógeno, fotosíntesis y respiración. Las especies del género *Pseudomonas* producen sideróforos del tipo hidroxamato entre los que se encuentran el ferrabactín y el pseudobactín, mientras que especies de *P. fluorescens* producen formas denominadas pioverdina del tipo catecol. Estos compuestos desempeñan un papel rector en el control de hongos fitopatógenos que provocan enfermedades en diferentes cultivos. Las bacterias sintetizan los sideróforos principalmente en la fase de crecimiento exponencial, que es la etapa en la que requieren mayor cantidad de nutrientes para la división y los excretan al medio. El hierro es secuestrado por los sideróforos, el complejo es reconocido por receptores de membrana específicos, atravesando la misma por un sistema de transportadores activos. En el interior celular, el metal es depositado en un sitio específico por un proceso que involucra un intercambio de ligandos que puede estar precedido o no por la reducción del hierro III o por la hidrólisis del sideróforo. Cuando el sideróforo se acopla al hierro, éste último se hace inaccesible para los microorganismos patógenos que no posean los receptores proteicos para reconocer al complejo y que además no tengan mecanismos efectivos para la adquisición del hierro (Ardon et al., 1998; O'Sullivan y O'Gara, 1992).

Los sideróforos producidos por la bacteria *Pseudomonas fluorescens* ZUM80, participan en la inhibición del crecimiento de fitopatógenos, tales como, *Colletotrichum lindemuthianum*, *C. gloesporioides* y *Phytophthora cinnamomi*, lo que nos indica que los sideróforos juegan un papel importante en la inhibición de patógenos, ya que la misma cepa ZUM80 mutada para que no sintetiza sideróforos, no logró inhibir significativamente el crecimiento de los patógenos antes mencionados (Santoyo et al., 2010).

Actividades directas: promoción del crecimiento vegetal

Pseudomonas fluorescens tiene efectos directos de promoción del crecimiento vegetal a través de la síntesis y excreción de fitohormonas. Por ejemplo, se ha reportado que las cepas UM16, UM240,

UM256 y UM270 incrementan el peso de brotes y raíz, así como la concentración de clorofila en plantas de *M. truncatula*. Las cepas UM16 y UM270, producen elevadas concentraciones de ácido indol-3-acético (AIA), con 22 y 10.6 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, ayudando en el crecimiento de raíz y desarrollo de la planta (Hernández-León *et al.*, 2015).

La cepa CHAO de *P. fluorescens* fue modificada y se le insertó un plásmido recombinante pME3468, que expresa la ruta del triptófano monooxigenasa, resultando en una elevada concentración *in vitro* de AIA, especialmente durante la adición de L-triptófano. Al inocular dicha cepa modificada en plantas de pepino, se incrementó el peso fresco de raíz en un 17-35%, comparado con los efectos de la cepa CHAO sin modificar (Beyeler *et al.*, 1999).

Otro de los efectos promotores de crecimiento de *P. fluorescens* es la capacidad de incrementar el número de plantas germinadas y una mayor producción de materia seca, dichos resultados se logran al inocular las cepas UP61 y UP143 en semillas de *Lotus corniculatus*, indicando un efecto promotor de crecimiento (Pérez *et al.*, 2000). Estos efectos promotores de crecimiento vegetal de las cepas de *Pseudomonas fluorescens* indican el gran potencial que tiene la bacteria para su uso en la agricultura, incrementando los rendimientos de los cultivos, y así mismo, reducir el uso de aplicaciones exógenas de promotores de crecimiento vegetal. La tabla 2 resume diversos trabajos analizados en esta revisión sobre los mecanismos directos de promoción del crecimiento vegetal por cepas de *Pseudomonas fluorescens*.

Impacto de Pseudomonas fluorescens en la agricultura

Los cultivos agrícolas son severamente afectados por la presencia de patógenos, los cuales pueden causar daños significativos en la producción y pérdidas económicas para los agricultores. El uso de microorganismos permite disminuir la aplicación de agroquímicos cuyo efecto puede tener impactos nocivos en el medio ambiente. Desde hace tiempo se ha reportado que su uso de PGPRs, y en particular especies de *Pseudomonas fluorescens*, (Adesemoye *et al.*, 2009). La incorporación de microorganismos favorece la exploración del suelo, mejora la accesibilidad de agua, se reducen procesos de pérdida de nutrientes, mejora el estrés hídrico, inhiben el ataque de fitopatógenos y se

logra mantener tasas de crecimiento activo del cultivo mejorando su capacidad fotosintética (Kah y Brown, 2006; Díaz-Zorita y Fernández, 2008).

Ejemplos claros del beneficio de inocular *Pseudomonas* en cultivos agrícolas son los reportados por Ghasempour y Aminpanah (2015), quienes observan que *P. fluorescens* cepa 168, tiene efectos importantes sobre el desarrollo y producción de haba, en presencia de fósforo ($25 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), ya que mostró un aumento en el rendimiento del grano de 42 y 65%, en comparación a las plantas no inoculadas. La inoculación con *P. fluorescens* en combinación con fertilizantes, en los suelos juegan un papel en la estimulación del crecimiento del garbanzo (Rokhzadi *et al.*, 2008), un incremento considerable de peso fresco y seco de caña (Mehnaz *et al.*, 2009), mayor rendimiento de legumbres (Johri, 2001). Rápidamente colonizan las raíces de plantas como la papa, caña de azúcar, betabel y rábano, reportándose un incremento en el rendimiento del 144 % en pruebas de campo (Klopper *et al.*, 1980; Burr *et al.*, 1978).

En cultivos de papa se han aislados de la rizósfera y el rizoplasma diferentes especies de microorganismos, entre ellos, *Pseudomonas putida*, *P. oxidasa*, *P. aureofas* y *P. fluorescens*, donde esta última ocupa un 80% de la población, y las demás un porcentaje menor al 10%, indicando su capacidad de colonizar la rizósfera de cultivos comerciales (Uribe *et al.*, 2000). De igual manera, se ha reportado que cepas de *P. fluorescens* son excelentes colonizadoras y competentes en la rizósfera plantas. Dichas capacidades estuvieron asociadas con la promoción del crecimiento y producción de tomate verde y jitomate (Rojas-Solis *et al.*, 2016; Hernández-Léon *et al.*, 2015).

La inoculación de cepas de *Pseudomonas*, en conjunto con otras de *Bacillus*, se ha reportado que incrementaron significativamente la producción de granos de arroz en experimentos en campo. Las plantas inoculadas mostraron mayores cantidades de nitrógeno, fósforo y potasio en sus tejidos, comparadas con las no inoculadas. En otro experimento en campo, cepas tolerantes a bajas temperaturas de *P. fluorescens*, cepas Pf-102, Pf-103, Pf-110 y Pf-173, mostraron que, al ser inoculadas en cultivos de chícharo, incrementan el porcentaje de germinación significativamente, así como la longitud de la raíz, y disminuyen la mortalidad de plantas debido a la protección contra los fitopatógenos *F. solani* y *F. pisi* en la región de

Tabla 2. Reportes relevantes sobre las actividades promotoras del crecimiento vegetal (mecanismos directos) por cepas de *Pseudomonas fluorescens*.

Cepa de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Planta inoculada	Respuesta a la inoculación	Modo de acción	Referencia
Pf-102, Pf-103, Pf-110, Pf-173	Chícharo	Incrementó el porcentaje de germinación y longitud de la raíz	Solubilización de fósforo, producción de sideróforos	Negi et al., 2005
UM16, UM240, UM256, UM270	<i>M. truncatula</i> , <i>Physalis ixocarpa</i>	Promoción de la parte aérea, producción de clorofila y sistema radical. Mayor longitud de hipocotilo y raíz	Compuestos difusibles (DAPG, sideróforos, biofilm, AIA) y volátiles (HCN, compuestos azufrados)	Hernández-León et al., 2015 Rojas-Solis et al., 2016
ACC9	Lechuga	Protege contra efectos inhibitorios del cadmio	Producción de sideróforos, Ácido Indol-3-acético (AIA)	Dell'Amico et al., 2008
CHAO	Pepino	Sobrevivencia de plántulas, mayor peso fresco de raíz y brotes	Sideróforos y AIA	Beyeler et al., 1999
UP61, UP143	<i>Lotus corniculatus</i>	Mayor germinación y producción de materia seca	AIA y solubilización de fósforo	Pérez et al., 2000
168	Haba	Incremento en el rendimiento de vainas y grano en presencia de fosforo	Solubilización de fosforo y producción de sideróforos	Ghasempour y Aminpanah, 2015
CHAO/pME3468	Pepino	Incremento de peso fresco de raíz	AIA	Beleyer, 1999
S2PS	Lechuga	Mayor peso seco de área foliar y raíz, mayor contenido de nitrógeno	AIA, sideróforos y solubilización de fósforo	Díaz et al., 2001
UM16, UM270	Arándano cv. Biloxi	Incremento de la altura de la planta, número de brotes, longitud de raíz y concentración de clorofila	AIA, producción de sideróforos y compuestos volátiles	Datos aun sin publicar (Álvarez-García y colaboradores)

los Himalayas (Negi et al., 2005).

Conclusiones y perspectivas

El uso de *Pseudomonas fluorescens* como agente de biocontrol está asumiendo un papel importante en el campo de la agricultura del futuro, una agricultura sustentable con un reducido uso de agroquímicos, permitiendo obtener rendimientos satisfactorios sin perjudicar al entorno. Tomando en cuenta que actualmente se ha conseguido degradar los suelos, disminuyendo el contenido de materia orgánica en las tierras bajo cultivo intensivo, incrementado la

compactación y erosión de los suelos, sumado a esto existe un alto grado de salinización, alcalinización y contaminación de mantos freáticos. El futuro de la alimentación implica generar mayores producciones en nuestra misma superficie y poder alimentar a la población, para esto los microorganismos forman un papel fundamental al mejorar la estructura del suelo, incrementar el contenido de materia orgánica y el rendimiento de los cultivos. Por tal motivo, se requiere de más investigaciones sobre bacterias PGPR y su aplicación en campo. Es en este ecosistema donde las cepas con mejores capacidades de adaptación pueden brindar los

resultados más consistentes en la producción final. Es claro que las diferentes regiones del mundo contienen condiciones climatológicas diferentes y que los aislamientos de cepas endémicas son necesarias. Sin duda que conforme se vaya ampliando el uso de bacterias como *Pseudomonas fluorescens*, se logrará limitar la problemática de la contaminación y empobrecimiento de suelos agrícolas, para generar una agricultura más eco-amigable, productiva y sustentable a largo plazo.

Agradecimientos

Al CONACyT por la beca de maestría otorgada al primer autor. Al CIC de la UMSNH, por el apoyo económico otorgado para la realización del proyecto: Bacterias promotoras del crecimiento vegetal y su efecto sobre el crecimiento y desarrollo de arándano cv. Biloxi.

Referencias

- Adesemoye, A.O., H.A. Torbert, J.W. Kloepper. 2009. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology* 58:921-929.
- Ali, S., T.C. Charles, B. R. Glick. 2012. Delay of Carnation flower senescence by bacterial endophytes expressing ACC deaminase. *Journal Applied Microbiology*. 113:1139-1144.
- Altier, N.A., J.A. Thies. 1995. Identification of resistance to pythium seedling diseases in alfalfa using a culture plate method. *Plant Dis*. 79:341-346.
- Alves, S.H., R. Da Silva, D. Macagnan, H.V. De Almeida, P. Baracat, A. Mounterd. 2004. Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: Non-specific protection and increase in enzyme activities. *Biological Control*. 29:288-295.
- Ardon, O., H. Weizman, J. Libman, A. Shanzer, I. Chen, Y. Hadar. 1998. Iron uptake in *Ustilago maydis*: tracking the iron path. *Journal of Bacteriology* 180:2021-2026.
- Bais, H., T. Weir, L. Perry, S. Gilroy, J. Vivanco. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *The Annual Review of Plant Biology*. 57:233-266.
- Bangera, M.G., L.S. Thomashow. 1998. Characterization of a genomic locus required for synthesis of the antibiotic 2,4-diacetylfloroglucinol by the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* Q2-87. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 9:83-90.
- Beyeler, M., C. Keel, P. Michaux, D. Haas. 1999. Enhanced production of indole-3-acetic acid by a genetically modified strain of *Pseudomonas fluorescens* CHAO affects root growth of cucumber, but does not improve protection of the plant against *Pythium* root rot. *FEMS Microbiology Ecology* 28:225-233.
- Bowers, J.H., J.L. Parkea. 1993. Colonization of pea (*Pisum sativum* L.) taproots by *Pseudomonas fluorescens*: effect of soil temperature and bacterial motility. *Soil Biology and Biochemistry* 25:1693-701.
- Brown, D. 2010. A mathematical model of the Gac/Rsm quorum sensing network in *Pseudomonas fluorescens*. *Biosystems*. 101:200-212.
- Burr, T.J., M.N. Schroth, T.V. Suslow. 1978. Increased potato yields by treatment of seed pieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*. *Phytopathology* 68:1377-1383.
- Burr, T.J., M.N. Schroth, T. Suslow. 1978. Increased potato yields by treatment of seed pieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*. *Journal of phytopathology*. 68:1377-1383.
- Compant, S., B. Duffy, J. Nowak, C. Clement, E.A. Barka. 2005. 'Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects', *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 49514959. Cornelis, P. (2010), 'Iron Uptake and Metabolism in Pseudomonads', *Applied Microbiology and Biotechnology*. 86:1637-1645.
- Couillerot, O., C. Prigent-Combaret, J. Caballero-Mellado, Y. Menne-Loccoz. 2009. *Pseudomonas fluorescens* and closely-related fluorescent pseudomonads as biocontrol agents of soil-borne phytopathogens. *Lett. Appl. Microbiol*. 48:505-512.
- Coutinho, E.S., G.W. Fernandes, R.L.L. Berbara, H.M. Valerio, H.M. Goto. 2015. Variation of arbuscular mycorrhizal fungal communities along an altitudinal gradient in rupestrian grasslands in Brazil. *Mycorrhiza*. 25:627-638.
- De Meyer, G., M. Hofte. 1997. Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytis cinerea* on bean. *Phytopathology* 87:588-593.
- Dell'Amico, E., E. Cavalca, V. Andreoni. 2008. Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium resistant rhizobacteria. *Soil Biol Biochem* 40:74-84.
- Díaz, V.P., R. Ferrera, J.J. Almaraz, G.G. Alcantar. 2001. Inoculation of plant growth-promoting bacteria in lettuce. *Terra*. 19:327-335.
- Díaz-Zorita, M., C.V. Fernández. 2008. Análisis de la producción de cereales inoculados con *Azospirillum brasilense* en la República Argentina. en: Cassán F, García de Salamone IE (eds.). *Azospirillum* sp. cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de microbiología. Buenos Aires. 155-166.
- Duijff, B.J., V. Gianinazzi, P. Lemanceau. 1997. Involvement of the outer membrane lipopolysaccharides in the endophytic colonization of tomato roots by biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain WCS417r. *New Phytologist*. 135:325-334.
- Durkhead, P., A. David, P. Slininger. 1995. Bioatogarfy shows antibiotic production by soil *Biology and Biochemistry*. 27:129. 1611-1616.
- Ghasempour, N.S., H. Aminpanah. 2015. Effects of phosphorus fertilization and *Pseudomonas fluorescens* strain on the growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.). *IDESIA*. 33:15-21.
- Glick, B.R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica* 2012:963401.
- Guerra, G.A., C.A. Betancourth, C.E. Salazar. 2011. Antagonismo de *Pseudomonas fluorescens* Migula frente a *Fusarium oxysporum* fsp. Pisi Shtdl en arveja *Pisum sativum* L. *Rev. UDCA Acta & Cient*. 14(2):33-42.
- Haggag, W.M., M.A. El Soud. 2012. Production and Optimization of *Pseudomonas fluorescens* Biomass and Metabolites for Biocontrol of Strawberry Grey Mould. *American Journal of Plant Sciences*. 3:836-845.

- Hernández-León, R., D. Rojas-Solis, M. Contreras-Pérez, Ma del C. Orozco-Mosqueda, L.I. Macías-Rodríguez, H. Reyes-de la Cruz, E. Valencia-Cantero, G. Santoyo. 2015. Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biological control* 81:83-92.
- Johri, B.N. 2001. Technology development and demonstration of a new bacterial rhizosphere competent. *Environmental microbiology*. 1:9-13.
- Kah, M., C.D. Brown. 2006. Adsorption of ionizable pesticides in soils. *Rev. Environ Contam. Toxicol.* 188:149-217.
- Kloepper, J.W., d M.N. Schroth. 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: *Proceedings of the 4 International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*. Ed. Station de Pathologic Vegetal et Phytobacteriologic. Vol. 2. Angers, France. Pp:879-882.
- Kloepper, J.W., M.N. Schroth, T.D. Miller. 1980. Effect of rhizosphere colonization by plant growth promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Journal of Phytopathology*. 70:1078-1082.
- Maurhofer, M., C. Hase, P. Meuwly, J.P. Métraux, G. Défago. 1994. Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO: Influence of the *gacA* gene and of pyoverdine production. *Phytopathology* 84:139-146.
- Maurhofer, M., C. Reimann, P. Schmidli-Sacherer, S. Heeb, D. Haas, G. Défago. 1998. Salicylic acid biosynthetic genes expressed in *Pseudomonas fluorescens* strain P3 improve the induction of resistance in tobacco against tobacco necrosis virus. *Phytopathology* 88:678-684.
- Mavrodi, O.V., N. Walter, S. Elateek, C.G. Taylor, P.A. Okubara. 2012. Suppression of *Rhizoctonia* and *Pythium* root rot of wheat by new strains of *Pseudomonas*. *Biol. Control*. 62:93-102.
- Mehnaz, S., D.N. Baig, F. Jamil, B. Weselowski, G. Lazarovits. 2009. Characterization of a phenazine and hexanoyl homoserine lactone producing *Pseudomonas aurantiaca* strain PB-S12, isolated from sugarcane stem. *J. Microbiol Biotechnol.* 19(2):1688-1694.
- Mendes, R., M. Kruijt, I. de Bruijn, E. Dekkers, M. van der Voort, J.H.M. Schneider, Y.M. Piceno, T.Z. DeSantis, G.L. Andersen, P.A.H.M. Bakker, J.M. Raaijmakers. 2011. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease suppressive bacteria. *Science* 332:1097-1100.
- Nandakumar, R., S. Babu, R. Viswanathan, T. Raguchander, R. Samiyappa. 2001. Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biology and Biochemistry*. 33:603-612.
- Negi, Y. K., S.K. Gang, J. Kumar. 2005. Cold tolerant fluorescent *Pseudomonas* isolates from Garhwal Himalayas as potential plant growth promoting and biocontrol agents pea. *Curr Sci.* 89:2151-2156.
- O'Sullivan, D.J., F. O'Gara. 1992. Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. Involved in suppression of plant root pathogens', *Microbiology Reviews*, 56: 662-676.
- Palleroni, N.J. 2005. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol 2, Part B. New York: Springer, 323-370.
- Paulsen, I.T., C.M. Press, J. Ravel, D.Y. Kobayashi, G.S.A. Myers, D.V. Mavrodi, R.T. DeBoy, R. Seshadri, Q. Ren, R. Madupu, R.J. Dodson, A.S. Durkin, L.M. Brinkac, S.C. Daugherty, S.A. Sullivan, M.J. Rosovitz, M.L. Gwinn, L. Zhou, D.J. Schneider, S.W. Cartinhour, W.C. Nelson, J. Weidman, K. Watkin, K. Tran, H. Khouri, E.A. Pierson, L.S. Pierson, L.S. Thomashow, J.E. Loper. 2005. Complete genome sequence of the plant comensal *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Nature biotechnology* 23:873-878.
- Pérez, C., L. De la Fuente, A. Arias, N. Altier. 2000. Uso de *Pseudomonas fluorescens* nativas para el control de enfermedades de implantaciones en *Lotus corniculatus* L. *Agrociencia* 1:41-47.
- Picard, C., F. Di Cello, M. Ventura, R. Fani, A. Guckert. 2000. Frequency and biodiversity of 2,4-Diacetylphloroglucinol-producing bacteria isolated from the maize rhizosphere at different stages of plant growth. *Applied and Environmental Microbiology* 66:948-955.
- Raaijmakers, J.M., Vlami, M, de Souza, J. T. 2002. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 81: 537-547.
- Rojas-Solis, D., E. Hernández-Pacheco, G. Santoyo. 2016. Evaluation of *Bacillus* and *Pseudomonas* to colonize the rhizosphere and their effect on growth promotion in tomato (*Phytalis ixocarpa* Brot. Ex Horm.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*. Vol. XXII. 1:45-57.
- Rokhzadi, A., A. Asgharzadeh, F. Darvish, G. Nour-Mohammadi, E. Majidi. 2008. Influence of plant growth promoting rhizobacteria on dry matter accumulation of chickpea (*Cicer arietinum*) under field condition. *JAES*. 3:253-257.
- Santoyo, G., E. Valencia-Cantero, Ma. del Carmen Orozco-Mosqueda, J.J. Peña-Cabriales, R. Farías-Rodríguez. 2010. Papel de los sideróforos en la actividad antagónica de *Pseudomonas fluorescens* ZUM80 hacia hongos fitopatógenos. *Terra Latinoamericana* 28:53-60.
- Santoyo, G., M.C. Orozco-Mosqueda, M. Govindappa. 2012. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. *Biocontrol Science and Technology*. 22(8): 855-872.
- Santoyo, G., G. Moreno, M.C. Orozco, B.R. Glick. 2016. Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*. 183: 92-99.
- Schippers, B., A.W. Bakker, P.A.H.M. Baker. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annual Review of Phytopathology* 25: 339-358.
- Siddiqui, I.A., S.S. Shaukat. 2003. Suppression of root-knot disease by *Pseudomonas fluorescens* CHAO in tomato: Importance of bacterial secondary metabolite, 2,4-diacetylphloroglucinol. *Soil Biology & Biochemistry*. 35:1615-1623.
- Srivastava, A.K., T. Singh, T.K. Jana, D.K. Arora. 2001. Induced resistance and control of charcoal rot in *Cicer arietinum* (chickpea) by *Pseudomonas fluorescens*. *Canadian Journal of Botany* 79:787-795.
- Trujillo, I., A. Díaz, A. Hernández, M. Heydrich. 2007. Antagonismo de cepas de *Pseudomonas fluorescens* y *Burkholderia cepacia* contra hongos fitopatógenos del arroz y el maíz. *Rev. Protección vegetal* 22:41-46.
- Uribe, D., E. Ortiz, M. Portillo, G. Bautista, J. Cerón. 2000. Diversidad de *Pseudomonas fluorescens* en cultivos de papa de la región Cundiboyacense y su actividad antagonica *in vitro* sobre *Rhizoctonia solani*. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 50-58.
- Uribe, D., Ortiz, E., Portillo, M., Bautista, J. Cerón. 2000. Diversidad de *Pseudomonas fluorescens* en cultivos de papa de la región Cundiboyacense y su actividad antagonista *in vitro* sobre *Rhizoctonia solani*. *Revista colombiana de*

- biotecnología, 50-58.
- Weller, D.M., J.M. Raaijmakers, B.B. McSpadden Gardener, L.S. Thomashow. 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to Plant Pathogens. Annual Review of Phytopathology, 40:309-348.
- Weller, D.M., B.B. Landa, O.V. Mavrodi, K.L. Schroeder, L.B. De La Fuente, S. Bankhead, R. Allende-Molar, R.F. Bonsall, D.V. Mavrodi, L.S. Thomashow. 2007. Role of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in defense of plant roots. Plant Biology 9, 4-20.
- Wood, R.K.S., M. Tveit. 1955. Control of plant diseases by use of antagonistic organisms. Botanical Review. 21:441-492.