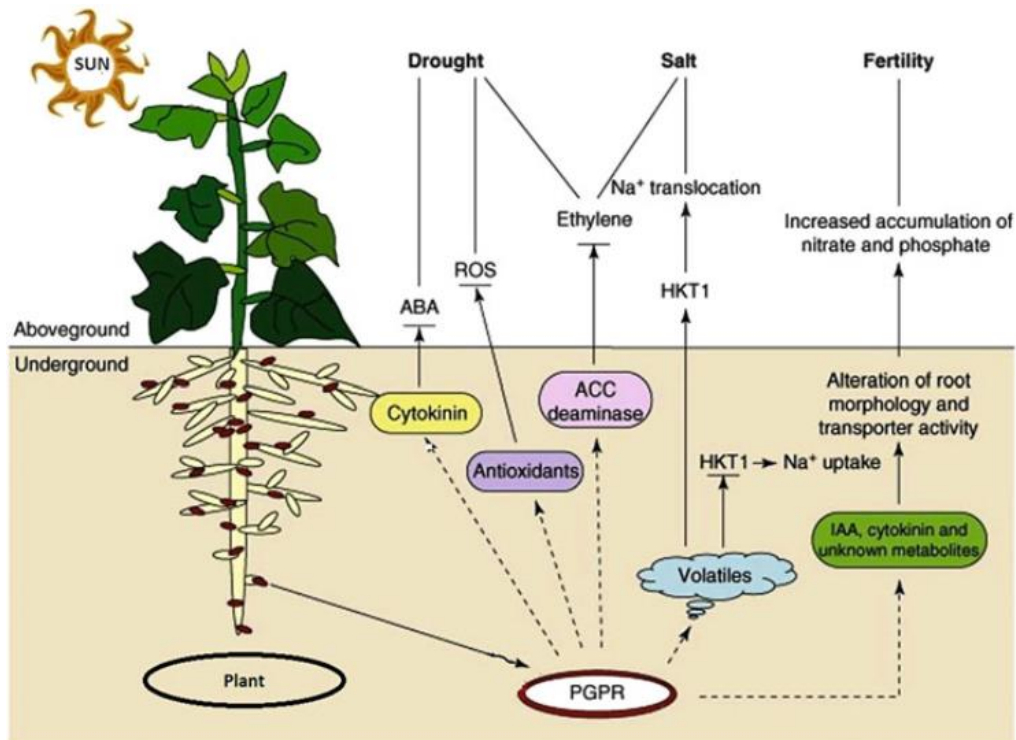


Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Mecanismos y aplicaciones



Universidad de Sevilla

Facultad de Farmacia

Daniel Benjumedá Muñoz

Julio 2017



Trabajo de Fin de Grado

Grado en Farmacia

Bacterias Promotoras Del Crecimiento Vegetal:

Mecanismos y Aplicaciones

(Revisión Bibliográfica)

Autor:

Daniel Benjumedá Muñoz

Tutora:

Dra. Eloísa Pajuelo Domínguez

Departamento de Microbiología y Parasitología

Facultad de Farmacia

Universidad de Sevilla

Fecha de presentación: 04 de Julio de 2017

Índice.....	Página
RESUMEN.....	3
1. Introducción.....	5
2. Objetivos del trabajo	6
3. Metodología	7
4. Rizosfera e interacciones planta-microorganismos.....	7
5. Mecanismos de acción.....	8
5.1 Mecanismos de acción directos.....	8
5.1.1 Fijación de nitrógeno.....	8
5.1.2 Solubilización de fosfato.....	10
5.1.3 Producción de fitohormonas.....	11
5.2 Mecanismos de acción indirectos.....	16
5.2.1 Producción de sideróforos.....	16
5.2.2 Producción de quitinasa y glucanasa.....	17
5.2.3 Producción de antibióticos.....	18
5.2.4 Producción de cianuro de hidrógeno y amoníaco.....	18
6. Aplicaciones de los PGPR en el medioambiente.....	19
6.1 Fitorremediación.....	19
6.2 Rizoremediación.....	21
6.3 Aplicación de PGPR como bicontrol y biofertilizadores.....	22
6.4 Rizorremediación de contaminantes orgánicos por los PGPR.....	24
6.4.1 Bifenilos policlorados (PCB).....	24
6.5 Rizorremediación de metales por PGPR.....	25
6.6 Utilización de PGPR para revegetación y reforestación.....	27
7. Comercialización de PGPR.....	29
7.1 Bioformulaciones para PGPR.....	29
7.2 Diseño de formulaciones	30
8. Futuras estrategias de investigación y desarrollo para PGPR.....	31
9. Conclusiones	33
10. Bibliografía.....	34

Resumen

Se denomina como PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) a un conjunto de bacterias que habitan en la rizosfera de las plantas y que producen en ellas todo tipo de beneficios. Potencian su crecimiento, mejorando la disponibilidad o la absorción de minerales y otro tipo de compuestos (nitratos, fosfatos, etc.), ayudan a la producción de hormonas necesarias en el desarrollo de los vegetales (fitohormonas, giberelinas...). Además protegen a plantas y cultivos contra posibles agentes patógenos y combaten la contaminación de los suelos, ya sea por contaminantes de tipo orgánico o inorgánico. Estas características hacen de las PGPR bacterias muy estudiadas a día de hoy por su potencial, no solo para la mejora en el crecimiento de cultivos o el ejercicio como agentes de biocontrol, sino también en la variedad de posibilidades tanto de descontaminación de suelos como de reforestación y recuperación de ecosistemas. Hoy en día también se están investigando cepas bacterianas modificadas genéticamente que mejoran e incluso potencian la acción e interacción con las plantas, cuando anteriormente las condiciones eran desfavorables, ya fuese debido a los cultivos, a los suelos o a los propios microorganismos.

Palabras clave

PGPR, Producción, Rizosfera, Rizoremediación, Bioremediación

1. Introducción

Aunque no se sabía de la existencia de las bacterias hasta el descubrimiento de determinados "animales microscópicos" por Anton von Leeuwenhoek (1683), su utilización para estimular el crecimiento de las plantas ha sido explotado desde la antigüedad. Teofrasto (372-287aC) sugirió la mezcla de suelos para remediar defectos y agregar corazón a éste (Tisdale y Nelson; 1975). Kloepper y Schroth (1981) introdujeron el término "rizobacterias" refiriéndose a las comunidades bacterianas del suelo, que, competitivamente colonizaban las raíces de las plantas y estimulaban su crecimiento, reduciendo de este modo la incidencia de enfermedades en ellas. Denominaron estas rizobacterias beneficiosas como PGPR (Plant growth-promoting rhizobacteria) (Cook; 2002). Son bacterias libres del suelo que pueden directa o indirectamente facilitar el enraizamiento (Mayak y cols; 1999) y crecimiento de las plantas (Glick; 1995). Géneros bacterianos como *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* y *Serratia* pertenecen a PGPR (Gray y Smith; 2005). Algunos ejemplos de rizobacterias y su efecto promotor de crecimiento vegetal se muestran en la Tabla 1.

Dado el interés creciente en la reducción del uso de productos agroquímicos y también por la agricultura ecológica, las bacterias promotoras del crecimiento vegetal constituyen una alternativa al uso de fertilizantes y agroquímicos, y además pueden ampliar el espectro de suelos que se pueden utilizar para el cultivo, ya que como se verá en el presente trabajo, disminuyen el estrés y aumentan la producción de las plantas cultivadas en suelos pobres, degradados o incluso contaminados (Ahemad y Kibret, 2014; de-Bashan y cols; 2012). Por ello, en este trabajo se ha considerado de gran actualidad y relevancia el abordaje de una revisión bibliográfica sobre el uso de estas bacterias PGPR como alternativa ecológica para promover el crecimiento de las plantas, particularmente en suelos sometidos a condiciones de estrés, o suelos degradados o contaminados.

Tabla 1. Ejemplos de PGPR probados en distintos tipos de cultivos (Prathap y Ranjitha, 2015).

PGPR	Plantas	Condiciones	Resultados de adición de bacterias a las plantas	Referencias
<i>Pseudomonas</i> sp. PS1	Greengram (<i>Vigna radiata</i> (L.) Willczek	Macetas	Aumento significativo del peso seco de la planta, número de nódulos, contenido total de clorofila, lag, hemoglobina, raltz N, brote N, raltz P, brote P, rendimiento de semilla y proteína de semilla	Ahemad y Kibret, 2010; 2012a
<i>Bradyrhizobium</i> MRM6	Greengram (<i>Vigna radiata</i> (L.) Willczek	Macetas	Cuando se utilizó la cepa MRP1 de <i>Rhizobium</i> tolerante a herbicidas con herbicida, aumentó los parámetros de crecimiento en todas las concentraciones ensayadas de herbicidas (quizalafop-p-etil y clodinafop)	Ahemad y Kibret, 2011; 2012b
<i>Pseudomonas</i> sp. Paenibacillus polymyxa	Pepper Zea mays L. (maize)	Campos en condiciones gnotobioticas	Aumenta significativamente la actividad de las enzimas del suelo, productividad total y admisión de los nutrientes. Aumentó significativamente la biomasa de las plantas y provocó resistencia sistémica inducida contra patógenos. <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>Vesicatoria</i> plantas no tratadas .	Sharma SK, Jhri BN, Ramesh A, Joshi OP, Prasad SVS (2011). Phu, Guyet-Tien, Yu-Mi P, Keyung-Jo S, Choong-Min R, et al. (2010).
<i>Enterobacter sakazaki</i> BMR5		Macetas	La inoculación incrementó los parámetros de crecimiento	Babalola OO, Oelr EO, Sanli A, Odhainbo GD, Sulimo WD (2003)

2. Objetivos del trabajo

El objetivo es la realización de una revisión bibliográfica sobre la utilización de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) como medio de incrementar la productividad de las plantas o aliviar sus síntomas de estrés cuando crecen bajo condiciones desfavorables. Se ha elegido este tema ya que es de gran actualidad en el contexto de la agricultura ecológica, de la preocupación por el uso continuado e incrementado de fertilizantes, de la disminución y agotamiento del suelo cultivable y del cambio climático. En este proyecto se abordarán los siguientes objetivos:

- Revisar el concepto de rizosfera, así como las interacciones suelo-planta-bacterias que se dan en esta porción de suelo íntimamente asociada a las raíces.
- Describir las propiedades promotoras del crecimiento vegetal de los microorganismos rizosféricos y comprender los mecanismos que las sustentan.
- Explorar las aplicaciones de las bacterias PGPR para mejorar el crecimiento de los cultivos en suelos pobres, degradados o contaminados.
- Revisar las formulaciones que se utilizan actualmente para la aplicación de bioinoculantes en campo.

- Conocer las posibles aplicaciones de los microorganismos modificados genéticamente como alternativa para ampliar las capacidades de los PGPR.

3. Metodología

Para la realización de este trabajo de revisión bibliográfica se han consultado las siguientes bases de datos: CAB Abstracts, Medline y PubMed PubMed. Las búsquedas de artículos en internet se han realizado desde lugares como google académico, Springer o Sciencedirect. Se han utilizado como palabras claves: PGPR, rizosfera, rizoremediación, bioremediación, estrés, producción, formulaciones (tanto en español como en inglés).

4. Rizosfera e interacciones planta-microorganismos

Las interacciones planta-microorganismos suelen ocurrir principalmente en tres lugares de la planta: filosfera, endosfera y rizosfera. La filosfera se relaciona con las partes aéreas (tallos, hojas y flores o frutos) y la endosfera con el sistema de transporte. La rizosfera, donde se centra nuestro trabajo, puede definirse como cualquier volumen de suelo influenciado por las raíces o en asociación con ellas y el material producido por la planta (Hinsinger y cols; 2005). Suele extenderse a pocos milímetros de la superficie de las raíces, aunque su geometría no es exacta, sino que depende de las condiciones ambientales y de los exudados radiculares secretados por la planta (Hinsinger y cols; 2005, 2008). Esta región de suelo es más rica en bacterias que todo el resto (Hinsinger y cols; 2005, Dzantor; 2007). Las poblaciones microbianas alrededor de las raíces incluyen bacterias, hongos, levaduras y protozoos. Las concentraciones de bacterias en los sustratos superiores pueden contener hasta 10^9 células por gramo de suelo (Torsvik y Ovreas; 2002). Es un área de intensa actividad biológica y química influenciada por los compuestos exudados por la raíz, que incluyen ácidos orgánicos, azúcares, aminoácidos y pequeños péptidos, metabolitos secundarios, etc. (Hinsinger y cols; 2005; Suckla y cols; 2011). Las interacciones entre los microorganismos y la rizosfera pueden ser beneficiosas, perjudiciales o neutras para las plantas, y el efecto puede variar como consecuencia de las condiciones del suelo (Singh y Varaprasad; 2008). En cualquiera de los casos, se ha comprobado que las comunidades bacterianas que se incluyen como

PGPR en esta sección de la planta están íntimamente asociadas con nutrientes como el carbono, fósforo, nitrógeno y azufre, así como con la eliminación de toxinas y producción de fitohormonas o antibióticos, etc. (Cardoso y Freitas; 1992).

5. Mecanismos de acción

Los mecanismos de acción de los PGPR en el crecimiento de las plantas son variados y se pueden clasificar, de manera general, en extracelulares (ePGPR) que ocurren en el exterior de la rizosfera; en los espacios entre células del córtex de la raíz, o intracelulares (iPGPR). Según su acción se dividen principalmente en dos tipos: Directos e indirectos (Fig. 1). La diferencia principal es que los mecanismos indirectos ocurren fuera de la planta, mientras que los directos ocurren dentro de ella y afectan directamente a su metabolismo a través de la modificación de la expresión de genes (Birch y Kamoun, 2000).

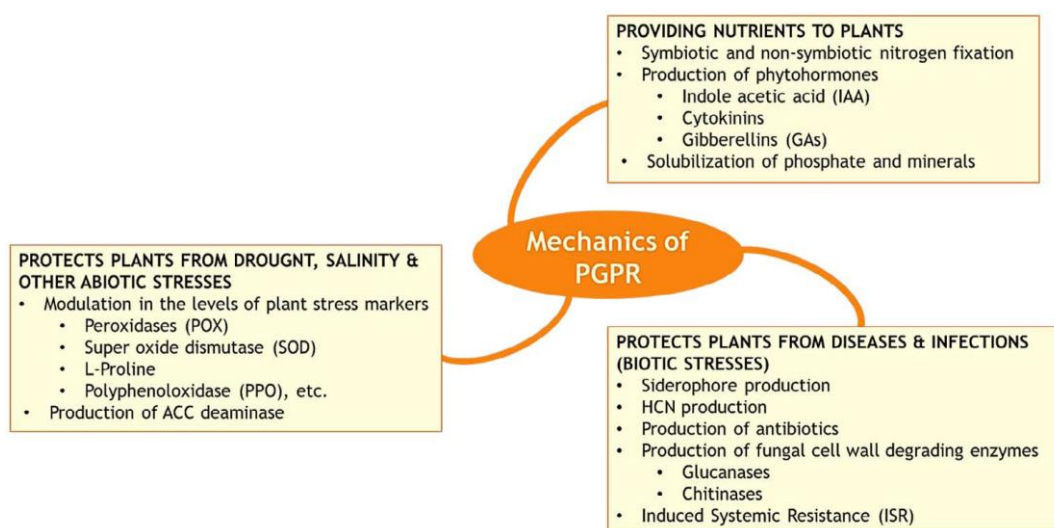


Figura 1. Mecanismos de acción de las PGPR. Extraída de: Portraying mechanics of plants growth promoting rhizobacteria: A review. (Goswami y cols; 2016).

5.1 Mecanismos de acción directos

5.1.1 Fijación de nitrógeno

El nitrógeno es uno de los principales nutrientes de las plantas, siendo un factor limitante en el crecimiento de éstas y, como consecuencia, en los ecosistemas de

explotación de la agricultura. Según los estudios realizados (Oberson y cols; 2013), podemos clasificar las cepas bacterianas en dos categorías de diazótrofos principales:

En primer lugar encontramos bacterias simbióticas asociadas a las leguminosas, que infectan la raíz, produciendo nódulos (Fig. 2). Un ejemplo representativo de este primer tipo se observa en los rizobios.



Figura 2. Izda. Plantas de *Trifolium repens*. Dcha. Nódulos formados por *Rhizobium leguminosarum*. (Canals; 2016).

El segundo grupo bacteriano es conocido como fijadores de nitrógeno de vida libre. En él se incluyen especies de los géneros *Azospirillum* o *Azoarcus* (Tabla 2). Este grupo de bacterias se encuentra cerca de los tejidos de la raíz, aunque no la invaden. Se caracterizan por realizar la fijación del nitrógeno atmosférico (Merrick; 2004; Santi y cols; 2013), y además de su utilización (gracias a las enzimas nitrogenasas que poseen), proveen también a las plantas, que se aprovechan de los productos de su metabolismo (absorción en forma de nitratos) (Steenhoudt y Anderleyden; 2000; Park y cols; 2005).

Tabla 2. Ejemplos de especies PGPR y su habilidad para fijar nitrógeno atmosférico en determinados cultivos. Tomado de Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture (Bhattacharyya y Jha 2011).

PGPR	Relationship to host	Host crops	Sample references
<i>Azospirillum</i> sp.	Rhizospheric	Maize Rice Wheat	García de Salamone et al. (1996) Malik et al. (1997) Boddey et al. (1986)
<i>Azoarcus</i> sp.	Endophytic	Kallar grass Sorghum	Hurek et al. (2002) Stein et al. (1997)
<i>Azotobacter</i> sp.	Rhizospheric	Maize Wheat	Pandey et al. (1998) Mrkovacki and Milic (2001)
<i>Bacillus polymyxa</i>	Rhizospheric	Wheat	Omar et al. (1996)
<i>Burkholderia</i> sp.	Endophytic	Rice	Baldani et al. (2000)
<i>Gluconacetobacter</i> sp.	Endophytic	Sorghum Sugarcane	Isopi et al. (1995) Boddey et al. (2001)
<i>Herbaspirillum</i> sp.	Endophytic	Rice Sorghum	James et al. (2002) James et al. (1997)

Independientemente de que el modo de fijación del nitrógeno sea simbiótico o no, se ha demostrado mediante varios estudios que al añadir PGPR a los cultivos vegetales, se aumentan notablemente la cantidad de nitrógeno disponible, así como los rendimientos de las plantas.

5.1.2 Solubilización de fosfato

Después del nitrógeno, es el fósforo el mayor nutriente limitante en las plantas. Irónicamente, los suelos pueden contener grandes reservas de fósforo total, pero la cantidad disponible para las plantas suele ser una pequeña proporción de éste. Esto se debe a que la vasta mayoría del fósforo se encuentra en formas insolubles (Glass; 1989), además de hallarse unido o adsorbido a materia orgánica del suelo (Fig. 3). Las plantas solo pueden absorber este mineral en dos formas iónicas solubles, la monobásica (H_2PO_4^-) y la dibásica (HPO_4^{2-}) (Jha y Saraf; 2015). Sin embargo las bacterias PGPR son capaces de solubilizar el fosfato poniéndolo a disposición de la planta y dándole ventaja frente a todas las plantas que carecen de microbiota capaz de solubilizar este elemento (Oteino y cols; 2015; De Souza y cols; 2015).

Las bacterias que solubilizan el fosfato utilizan diferentes mecanismos para convertir las formas insolubles de fósforo en formas solubles. El primero de ellos está basado en la secreción de ácidos producidos en el metabolismo de los azúcares. Los microorganismos utilizan los azúcares que toman de los exudados de las raíces de las plantas, lo metabolizan y liberan ácidos orgánicos como el ácido butírico, oxálico, succínico, málico, glucónico, acético, láctico, cítrico, entre otros, que actúan como buenos quelantes de los cationes de calcio (Ca^{2+} principalmente, aunque también hierro (Fe) aluminio (Al) y magnesio (Mg)) que acompañan a la liberación de fosfatos a partir de compuestos fosfáticos insolubles (Goswami y cols; 2014).

Otro método de obtención de fosfatos, especialmente en suelos que tienen déficits de éste, es mediante unas enzimas producidas por determinados tipos de bacterias, conocidas como fosfatasa. Estas enzimas son capaces de solubilizar mediante hidrólisis el fósforo orgánico procedente de materia orgánica. De todas las fosfatasa cabe destacar las fitasas, capaces de hidrolizar el hexafosfato de inositol o fitato, que constituye alrededor de un 80% del total de formas en que podemos encontrar el fósforo orgánico (Alexander; 1977). Géneros bacterianos como *Azospirillum*, *Azotobacter*,

Bacillus, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Serratia* se reportan como las bacterias solubilizadoras de fósforo más significativas (Mehnaz y Lazarovits; 2006).

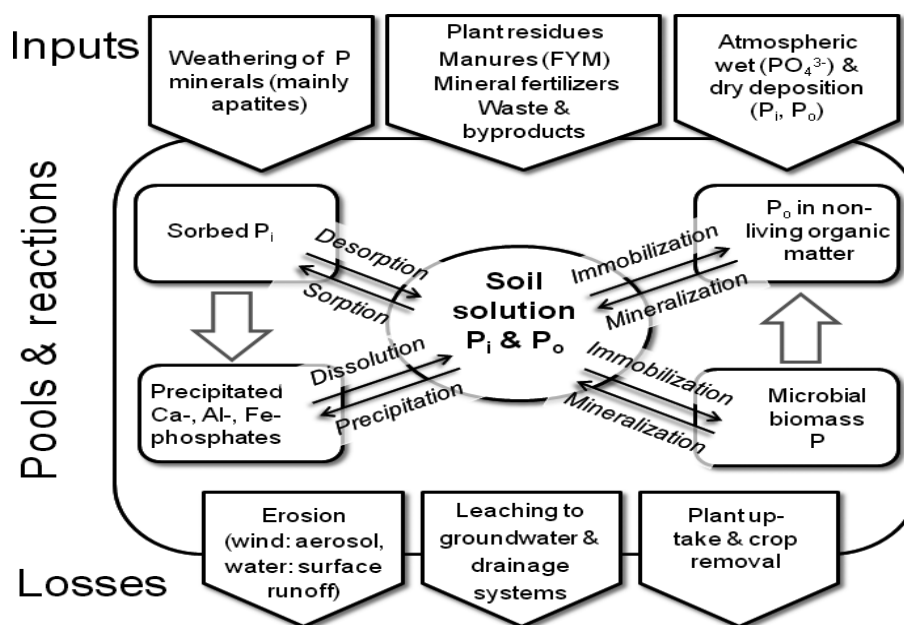


Figura 3. Representación esquemática del ciclo del fósforo en el suelo. Formas químicas del fósforo y mecanismos de intercambio entre ellas (Kruse et al; 2014).

5.1.3 Producción de fitohormonas

Se trata de hormonas vegetales que regulan parámetros como el crecimiento, la división celular o extensión de la raíz (Glick; 2014). Éste es uno de los aspectos donde más importancia tienen los PGPR, ya que suscitan un gran interés desde un punto de vista agrícola. Las principales fitohormonas son auxinas, giberelinas y citoquininas.

- **Auxinas**

Diversas especies bacterianas producen auxinas como producto de su metabolismo, incluyendo indol-3-ácido acético (IAA), indol-3-ácido butírico (IAB) o sus precursores, cuyas rutas de síntesis se muestran en la Fig. 4. Estas

moléculas han sido ampliamente estudiadas, y tienen una gran influencia en el crecimiento de los vegetales, especialmente de la raíz. Se sabe que el IAA estimula tanto las respuestas rápidas (por ejemplo, aumento de la elongación celular) como las de largo plazo (por ejemplo, la división celular y la diferenciación). Plantas bajo el tratamiento a largo plazo de IAA tienen raíces altamente desarrolladas. También controlan el desarrollo de raíces laterales (Lavenus y cols; 2013), así como el número y la longitud de pelos absorbentes (Salazar-Henao y cols; 2016), que a su vez le permiten absorber mejor los nutrientes, ayudando a su crecimiento general (Aeron y cols; 2011). Las auxinas también están implicadas en la regulación de la dormancia y la germinación de las semillas (Liu y cols; 2013; Shu y cols; 2016).

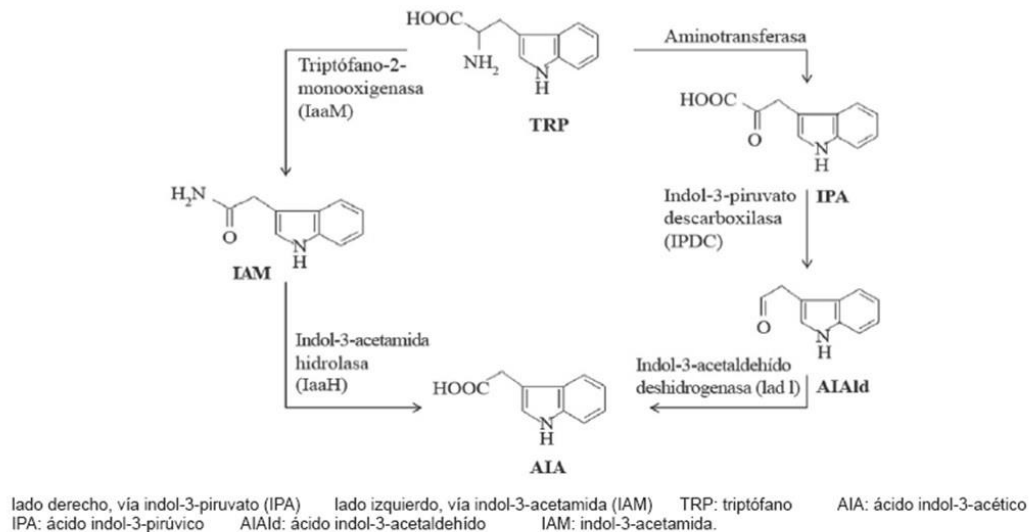


Figura 4. Vías de biosíntesis del ácido indol-3-acético en bacterias (Vega-Celedón y cols; 2012).

- **Giberelinas**

Son un amplio grupo de hormonas (más de 120 moléculas diferentes aprox.), de las cuales 4 tipos son sintetizadas por bacterias, GA₁, GA₂, GA₃ y GA₂₀. Estas hormonas son transportadas desde las raíces a las partes aéreas de la planta, donde los efectos que ejercen son notables y más aún cuando las bacterias también producen auxinas que estimulan el sistema radicular mejorando el suministro de nutrientes para facilitar el crecimiento en la parte aérea (Wong y

cols; 2015). Como ejemplo, la Fig. 5 muestra la promoción del crecimiento del entrenudo de arroz al añadir giberelinas exógenas.

Aunque son también de gran interés, la producción de giberelinas por los PGPR es rara, habiendo solo dos especies documentadas que las han producido como son *Bacillus pumilus* y *Bacillus licheniformis* (Gutiérrez-Mañero y cols; 2001).

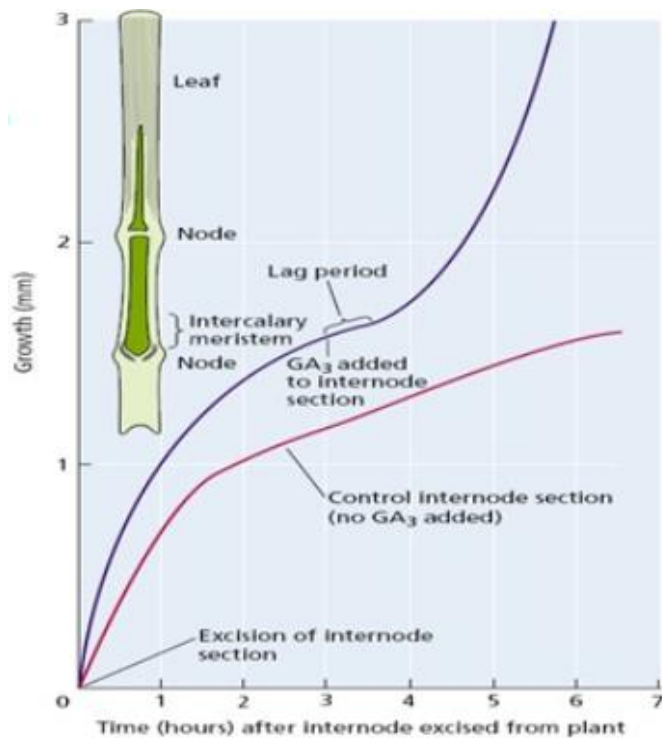


Figura 5. Monitoreo del crecimiento del entrenudo de arroz en presencia o ausencia de GA₃ (Kende y cols; 1992).

- **Citoquininas**

También llamadas citocininas, son derivados de purinas que promueven y mantienen la división celular de las plantas y están involucradas en varios procesos de diferenciación incluyendo la formación de los brotes o el crecimiento primario de la raíz (Fig. 6). Las plantas usan continuamente citoquininas para mantener los grupos de células madre totipotentes en sus lóbulos y meristemas de raíz (Leibfried y cols; 2005).

Los principales microorganismos que se han estudiado que producen estas aminopurinas N6-sustituidas son de géneros como *Pseudomonas*, *Azospirillum* y *Bacillus*, que fueron aislados en plantas tales como guisantes, cebada o canola (Persello-Cartieaux y cols; 2001). Aunque recientemente también se ha comprobado que géneros como *Proteus*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Pseudomonas* y *Xanthomonas* tienen también la habilidad de producir citoquinas (Maheshwari y cols; 2015).

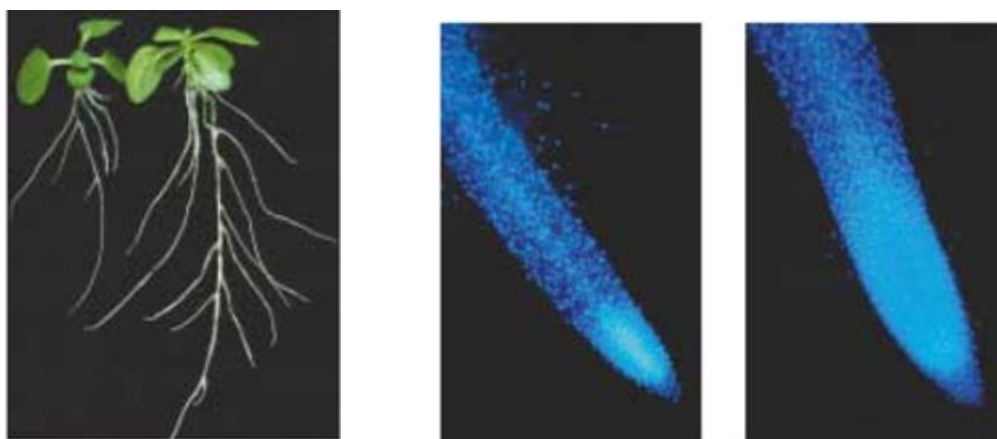


Figura 6. Las citoquininas promueven el desarrollo de la raíz (Werner y cols; 2001).

- **Etileno**

El etileno (ET) es una hormona vegetal difusible que tiene un rol preponderante como mediador y coordinador de las señales internas y externas que modulan la dinámica del crecimiento y los programas de desarrollo en las plantas (Santner y Estelle; 2009). El ET está involucrado en procesos muy diversos en el desarrollo de las plantas tales como germinación de las semillas, desarrollo de pelos radiculares, nodulación, maduración de los frutos, abscisión y senescencia (Vandenbussche y van der Straeten; 2012). También es un importante mediador en la respuesta a distintos tipos de estrés tanto bióticos (por ejemplo ataque por patógenos) como abióticos (como daño, hipoxia, frío, sequía, salinidad) (Wang y cols; 2013; Tao y cols; 2015). A nivel génico, en respuesta a los estímulos mencionados, el ET induce la transcripción de un gran número de genes (Tao y cols; 2015). En las plantas superiores el ET es sintetizado a partir de metionina

vía los intermediarios S-adenosil-L-metionina (SAM), y ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC). Las enzimas involucradas secuencialmente en el proceso son SAM sintetasa, ACC sintasa (ACS) y ACC oxidasa (Jonson y Ecker; 1998) (Fig. 7).

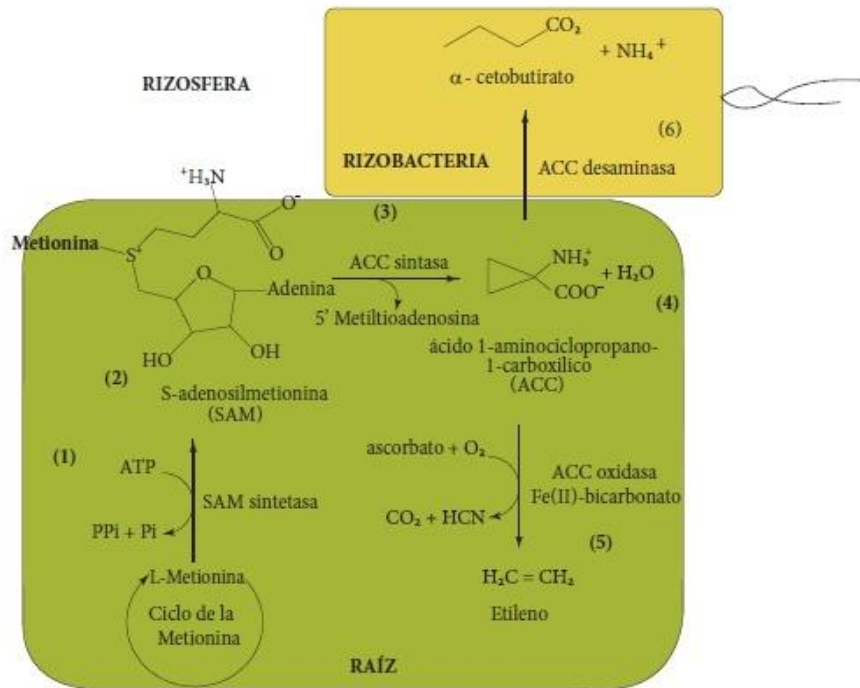


Figura 7. Reacciones precursoras de la síntesis de etileno en plantas, así como la descomposición del precursor del ET, el ácido aminociclopropano carboxílico por parte de las bacterias PGPR productoras de la enzima ACC-desaminasa (Glick y cols; 1999).

El etileno se une a receptores de tipo proteico que reconocen moléculas pequeñas de doble ligadura. Debe ser una metaloproteína que contenga cobre o zinc. Los receptores son principalmente dos: uno formado por un elemento sensor y un elemento de respuesta (ETR), y el segundo, formado sólo por un elemento sensor (ERS). Actúan en la traducción y amplificación de la señal hormonal, observándose un aumento en la síntesis enzimática (Dey y Vlot, 2015; Stepanova y Alonso, 2009). Los efectos fisiológicos que destacan son maduración más rápida de los frutos, epinastia y senescencia floral, lo que se conoce como la triple respuesta del etileno (Guzmán y Ecker; 1990; Vandenbussche y cols; 2012).

El ET es la hormona del estrés por excelencia en plantas. Se ha demostrado ampliamente que determinadas bacterias PGPR productoras de la enzima ACC-desaminasa son capaces de llevar a cabo la descomposición del precursor del ET, el ACC, aliviando o atenuando el estrés de las plantas en situaciones ambientales adversas (sal, sequía, calor, frío, presencia de metales pesados, etc.) (Glick, 2010; 2014).

5.2 Mecanismos de acción indirectos

5.2.1 Producción de sideróforos

El hierro es un nutriente esencial para las plantas (Morrissey y Guerinot; 2009). Actúa como cofactor en una serie de procesos importantes como respiración, fotosíntesis y la fijación de nitrógeno (Rout y Sahoo; 2015). Es muy abundante por lo general en suelos, pero su especie química predominante es ión Fe^{+3} , forma que reacciona para dar óxidos e hidróxidos que son insolubles y por tanto inaccesibles para las plantas y los microorganismos (Colombo y cols; 2014). Frente a este problema las plantas han desarrollado dos tipos de estrategias para la absorción eficiente de hierro:

La primera consiste en liberar compuestos orgánicos capaces de quelar el hierro, reduciéndolo y haciéndolo soluble para que sea absorbido por medio de un sistema enzimático presente en la membrana celular de la planta a través de transportadores de hierro como FRO y IRT (Morrissey y Guerinot; 2009; Conte y Walter; 2011). La segunda estrategia consiste en absorber el complejo formado por un determinado compuesto orgánico y el hierro en forma Fe^{+3} para ser reducido dentro de la planta y absorbido fácilmente (Ahmed y Holmström; 2014), (Fig. 8).

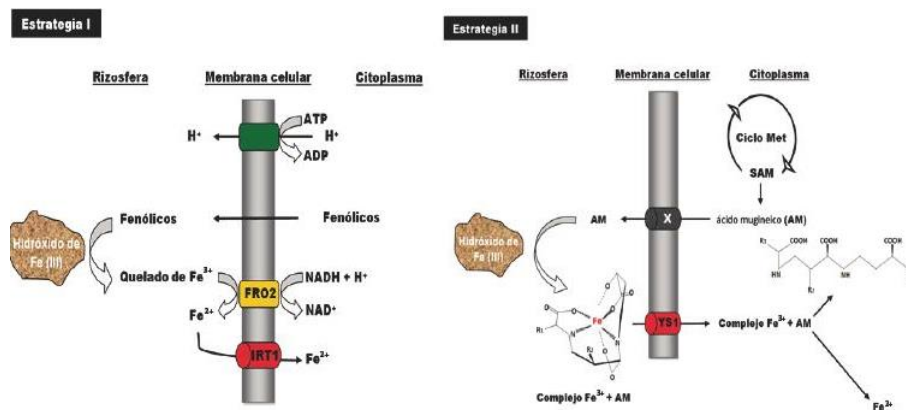


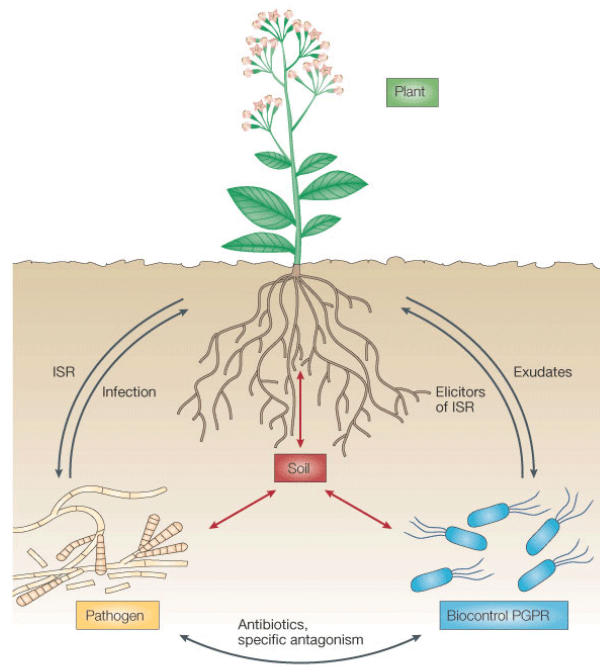
Figura 8. Estrategias de adquisición de hierro por las plantas (Ma; 2005).

Algunas bacterias son capaces de liberar sustancias quelantes que atraen el hierro hacia la rizosfera donde puede ser absorbido por la planta (Radzki y cols; 2013; Ahmed y Holmström; 2014). Los sideróforos son compuestos de bajo peso molecular sintetizados por determinados tipos de bacterias, principalmente de género *Pseudomonas* (*P. fluorescens* y *P. aeruginosa*), que contienen grupos capaces de unir el hierro de manera reversible (Haas y Defago; 2005). Los grupos funcionales más frecuentes son hidroxamatos y catecoles.

Además de para mejorar la absorción de hierro, estos sideróforos son secretados por las bacterias de manera que afecte a la competitividad, ya que inhiben el crecimiento de otros microorganismos debido a que poseen acción antibiótica, e impiden el crecimiento de patógenos limitando el hierro disponible para ellos (Shen y cols; 2013), constituyendo pues un mecanismo de defensa frente al estrés biótico.

5.2.2 Producción de quitinasa y glucanasa

Uno de los mayores mecanismos de biocontrol que poseen las bacterias PGPR se basa en la producción de estas enzimas líticas, encargadas de degradar la pared celular de organismos patógenos fúngicos (Kobayashi et al; 2002), (Fig. 9). Enzimas secretadas como la β -1,3-glucanasa, quitinasa, proteasa y celulasa, ejercen un efecto inhibitorio directo sobre el crecimiento de las hifas de hongos patógenos. Bacterias pertenecientes a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* son capaces de producir este tipo de sustancias.



Nature Reviews | Microbiology

Figura 9. Interacciones entre PGPR biocontrol, las plantas, los patógenos y el suelo (Haas y Defago 2005).

6.2.3 Producción de antibióticos

Además de la producción de enzimas degradativas, los PGPR también excretan como metabolitos secundarios sustancias antibióticas. *Pseudomonas* y *Bacillus* presentan una agresiva colonización de la rizosfera, desplazando así a otras bacterias y hongos perjudiciales para las plantas (Lugtenberg y Kamilova; 2009).

6.2.4 Producción de cianuro de hidrógeno y amoníaco

El HCN se forma durante la fase estacionaria de crecimiento. No participa en el crecimiento, almacenamiento de energía o metabolismo primario bacteriano, pero se considera un metabolito secundario que tiene un papel ecológico y confiere una ventaja selectiva a las cepas productoras (Vinning; 1990). El cianuro es un agente fitotóxico capaz de inhibir las enzimas involucradas en los principales procesos metabólicos, y su utilización en áreas de métodos de biocontrol está aumentando (Devi y cols; 2007), debido a que es biológicamente compatible con el medio ambiente y controlan las malas

hierbas, además de minimizar los efectos deletéreos sobre el crecimiento de las plantas deseadas (Kremer y Souissi; 2001).

El amoníaco está asociado con la fijación de nitrógeno y se produce principalmente por microorganismos capaces de fijar el N_2 atmosférico y transformarlo en NH_3 . Estas bacterias de entre las que destaca el género *Azospirillum* (Kenedy y cols; 2004) son diazotrofos de vida libre y como resultado de este aporte de N observamos un incremento importante del crecimiento vegetal.

6. Aplicaciones de los PGPR en el medioambiente

6.1 Fitorremediación

La fitorremediación es un proceso de biodegradación *in situ* que utiliza las plantas verdes y los microorganismos asociados con ellas para extraer, secuestrar o desintoxicar contaminantes. Las plantas tienen la capacidad de absorber, acumular, degradar o eliminar metales, pesticidas, disolventes, petróleo crudo y muchos contaminantes industriales. La fitorremediación es una tecnología limpia, rentable y respetuosa con el medio ambiente, especialmente para el tratamiento de áreas grandes y difusas que están contaminadas. Hay muchos ejemplos exitosos en los que se ha empleado la fitorremediación y donde se ha documentado que funcionan bien para remediar ambientes industriales contaminados (Macek y cols; 2000; Suresh y Ravishankar; 2004; Vangronsveld y cols; 2009).

La fitorremediación puede clasificarse de acuerdo al método y/o naturaleza del contaminante, con lo que puede utilizar una de varias técnicas (Glick; 2003; Newman y Reynolds 2004) como son:

a) Fitoextracción: También conocida como fitoacumulación, elimina metales tomando ventaja de la inusual capacidad de algunas plantas para (hiper-) absorber y acumular o translocar metales o / metaloides, concentrándolos dentro de la biomasa. El propósito de este tipo de remediación es reducir la concentración de metales en suelos contaminados para que puedan ser utilizados de manera rentable para la agricultura, horticultura, pastoreo, etc. La biomasa cargada de metal se debe cosechar y procesar como residuo

contaminado, con la posibilidad de recuperar el metal si se juzgara económicamente rentable (Ghosh y Singh, 2005; Krämer, 2010).

b) Fitoestabilización: También conocida como fitoinmovilización, utiliza plantas, a menudo en combinación con aditivos del suelo para ayudar a estabilizar mecánicamente los sitios para reducir la transferencia de contaminantes a otros compartimentos del ecosistema y a la cadena alimentaria (Méndez y Maier, 2008). El compuesto orgánico o inorgánico puede ser incorporado a la lignina o al humus del suelo.

c) Fitoestimulación: Las raíces de las plantas promueven el desarrollo de microorganismos de rizosfera que son capaces de degradar el contaminante, y los microbios utilizan exudados de raíces de plantas como fuente de carbono.

d) Fitovolatilización/ Rizovolatilización: emplea las capacidades metabólicas de las plantas y los microorganismos rizosféricos asociados para transformar los contaminantes en compuestos volátiles que se liberan en la atmósfera. Algunos iones (de los elementos de los subgrupos II, V y VI de la tabla periódica como mercurio, selenio y arsénico) son absorbidos por las raíces, se convierten en formas menos tóxicas y volátiles, y luego se liberan mediante evapotranspiración a través de las hojas.

e) Fitodegradación: los contaminantes orgánicos son degradados o mineralizados por enzimas específicas.

f) Rizofiltración: utilizar las plantas terrestres para absorber, concentrar, y/o precipitar contaminantes en el sistema acuoso. La rizofiltración también se utiliza para tratar la escorrentía industrial y agrícola.

Es interesante aplicar a las plantas combinaciones de microorganismos para aumentar la eficiencia en la extracción de contaminantes. Esta técnica se conoce como rizorremediación (Jing y cols; 2007), (Fig. 10).

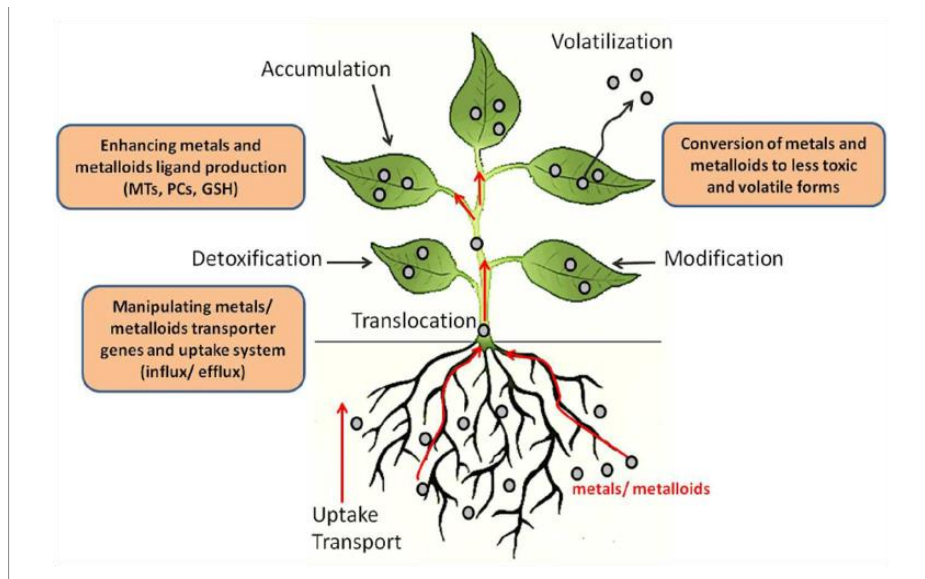


Figura 10. Estrategias biotecnológicas potenciales para la fitorremediación (Mosa y cols; 2016).

6.2 Rizoremediación

Las plantas están expuestas a una amplia gama de agentes que provocan estrés ambiental como la alta temperatura, el frío, la sequía, la salinidad, la alcalinidad, la radiación UV, los compuestos tóxicos y la infección por patógenos (Fig. 11). El estrés abiótico es la principal causa de pérdida de cultivos en todo el mundo en más del 30%. Entre estos agentes, la salinidad se considera uno de los mayores estrés abióticos que limitan el rendimiento de los cultivos debido a la reducción de la fotosíntesis, la respiración y la síntesis de proteínas (Ahmad y Prasad; 2011). La salinidad provoca trastornos nutricionales en las plantas que conducen a deficiencias de varios nutrientes y un aumento drástico de los niveles de Na^+ (Zahedi y cols; 2012), además de la producción de especies reactivas de oxígeno que provocan estrés oxidativo y procesos dañinos para los vegetales (Abbasi y cols; 2012).

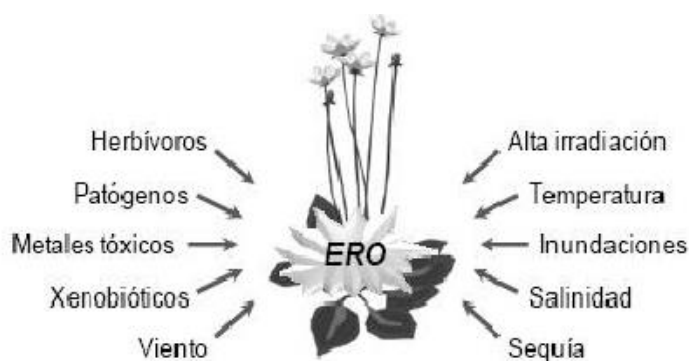


Figura 11. Factores de estrés bióticos y abióticos que incrementan la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) en plantas. (Meyer; 2008).

La rizoremediación es el proceso que implica la eliminación de agentes contaminantes de sitios contaminados por interacción mutua de raíces de plantas y poblaciones microbianas adecuadas que ocurren en la rizosfera, y es considerada como el proceso de biorremediación más evolucionado (Kuiper y cols; 2004; Glick; 2010; Ahemad y Kibret; 2014). Las rizobacterias pueden ayudar directamente a la rizoremediación mediante la producción de IAA, fijación biológica del nitrógeno, solubilización de P y secreción de sideróforos (Bashan y cols; 2014). Además, las investigaciones sobre la aplicación de cepas de PGPR en la disminución de la biodisponibilidad de la toxicidad que resulta en un mejor crecimiento y desarrollo en suelos contaminados con metales pesados a través del reciclaje de nutrientes, el mantenimiento de la estructura del suelo, la desintoxicación de los productos químicos y el control de las plagas también han sido bien estudiados (Denton; 2007).

6.3 Aplicación de PGPR como bicontrol y biofertilizadores

La capacidad de los sideróforos y antibióticos bacterianos para suprimir los fitopatógenos podría ser de gran importancia para la agricultura (Fig. 12). Ambos mecanismos tienen funciones esenciales en el antagonismo microbiano, pero también conducen a producir resistencia inducida, lo que se conoce como IRS. La inducción de la resistencia sistémica y las rizobacterias antagónicas pueden ser útiles en la formulación de nuevos inoculantes, ofreciendo una alternativa atractiva de control

biológico respetuoso con el medio ambiente de las enfermedades de las plantas y mejorando los sistemas de cultivo en los que se pueden aplicar de manera más rentable (Beneduzi y cols; 2012). Algunas cepas de *Pseudomonas* y *Trichoderma* son conocidos por producir antibióticos antifúngicos, inducir la resistencia sistémica en la planta huésped o interferir específicamente con factores de patogenicidad fúngica (Haas y Defago; 2005).

La capacidad promotora del crecimiento de bacterias del género *Pseudomonas* resulta del efecto sinérgico de más de un modo de acción. En cuanto a los beneficios secundarios de *Trichoderma* spp. sobre el crecimiento de las plantas, se han revelado dos mecanismos principales de acción en la última década: 1) Aumento de la nutrición de las plantas mediante la solubilización y /o la captación mejorada de macro y micronutrientes del suelo, y 2) Aumento de los factores de crecimiento de las plantas. Estos mecanismos son responsables del llamado "efecto biofertilizante" de *Trichoderma*. *Pseudomonas* por su parte emplean generalmente una serie de mecanismos como la producción de antibióticos, HCN, quitinasa, sideróforos, amoníaco, pigmentos fluorescentes y antifúngicos volátiles para antagonizar los patógenos (Pal y cols; 2001). Varias cepas bacterianas de PGPR están comercialmente disponibles en forma de productos formulados que se usan como biofertilizantes y agentes de control biológico (Jha y Saraf; 2015).

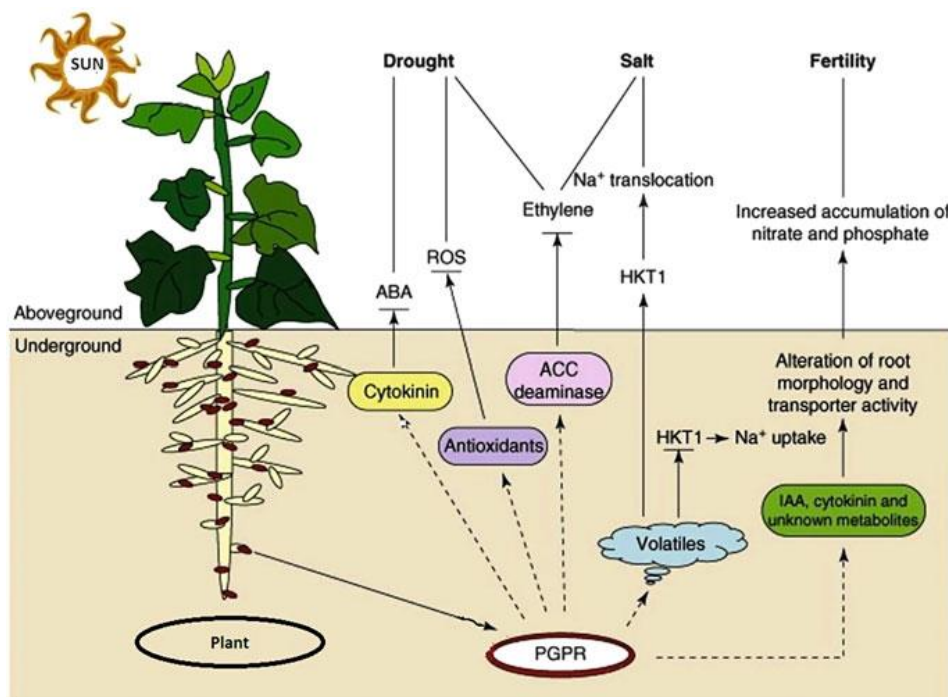


Figura 12. Papel de los PGPR en la fertilidad de los suelos y la salud de la planta (Prasad y cols; 2015).

6.4 Risorremediación de contaminantes orgánicos por PGPR

Aunque los PGPR se usaron en un principio para promover el crecimiento y biocontrol de las enfermedades de las plantas, recientemente se ha puesto mucha atención a la biorremediación con ellos (Huang y cols; 2005). Los contaminantes prevalentes incluyen hidrocarburos alifáticos y policíclicos aromáticos del petróleo, compuestos halogenados, pesticidas, disolventes y metales. En contraste con los compuestos inorgánicos, los microorganismos pueden degradar, e incluso mineralizar los compuestos orgánicos en asociación con las plantas (Saleh y cols; 2004). Un ejemplo característico de estos contaminantes son los bifenilos policlorados.

6.4.1 Bifenilos policlorados (PCB)

Los bifenilos policlorados (PCB), en particular, figuran entre las doce familias de compuestos orgánicos clorados enumerados inicialmente como contaminantes orgánicos persistentes (COP) en el Convenio de Estocolmo (Convenio de Estocolmo sobre COP; 2015). Los PCB, debido a sus propiedades químicas y alta estabilidad, han sido ampliamente utilizados por las industrias en el siglo XX como fluidos dieléctricos y refrigerantes (Qi y cols; 2014). A pesar de que su producción ha sido prohibida entre los años 1970 y 1980, estas sustancias contaminan los suelos y sitios de fabricación y también afectan los ecosistemas en todo el mundo.

Las bacterias capaces de degradar ciertos tipos de contaminantes orgánicos, como los bifenilos policlorados (PCB), se han aislado de una serie de sitios y las vías y los genes que codifican también han sido bien estudiados (Brazil y cols; 1995). Las bacterias y los hongos representan los principales agentes de degradación del PCB en el medio ambiente, a través de dos vías diferentes (Fig. 13): La descloración anaeróbica reductora y la degradación oxidativa aeróbica del anillo de bifenilo (Furukawa; 2000; Field y Sierra-Álvarez; 2008). La descloración reductora es realizada por bacterias anaerobias que utilizan compuestos clorados como aceptores de electrones para su metabolismo energético, reemplazando así a los cloro por átomos de hidrógeno (Smidt y cols; 2000). La reducción del número de cloro hace que los PCB sean menos tóxicos y genere productos de cloración (es decir, PCB con menos de cinco átomos de cloro) que son más fácilmente degradables por microorganismos aerobios capaces de atacar el anillo de

bifenilo (Demirtepe y cols; 2015; Chen y cols; 2014). Por su parte, la biodegradación oxidativa de PCBs por bacterias aeróbicas se debe a la acción de diferentes enzimas catabólicas expresadas por los grupos de genes *bph*. Estos genes, que codifican diferentes dioxigenasas, se propagan entre las bacterias Gram negativas y Gram positivas, incluyendo los miembros de los géneros *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Cupriavidus*, *Pandorea*, *Acidovorax*, *Sphingobium*, *Dyella*, *Achromobacter*, *Corynebacterium*, *Rhodococcus* y *Bacillus* y se han detectado en cromosomas, plásmidos y transposones (Hu y cols; 2015; Field y Sierra-Álvarez, 2008; Furukawa y Fujihara, 2008).

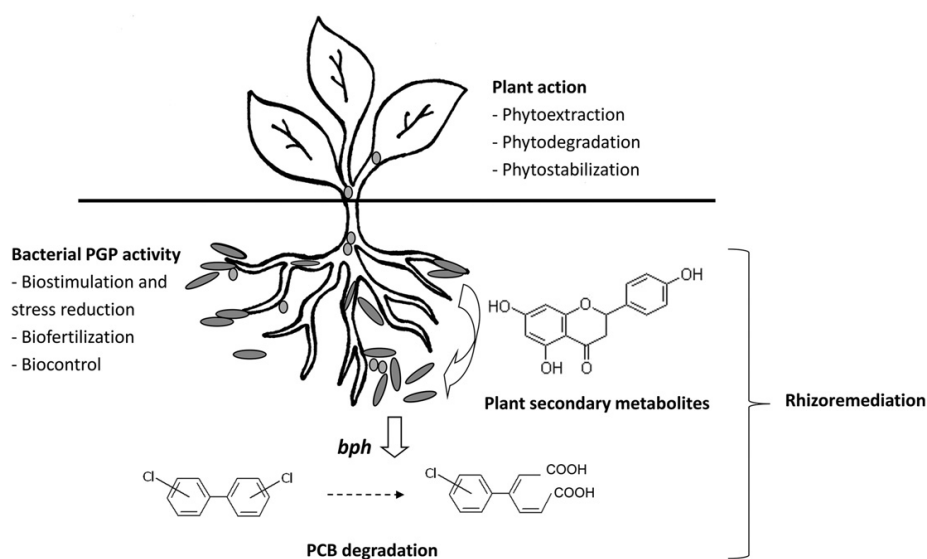


Figura 13. Interacciones plantas-bacterias en suelos contaminados con PCB. Las bacterias que promueven el crecimiento de las plantas (PGP) juegan un papel importante ayudando a la planta a prosperar en suelos contaminados. Al mismo tiempo, los exudados de las raíces sostienen el crecimiento de las bacterias y los metabolitos secundarios de la planta (PSM) inducen la expresión del operón *bph*, debido a la similitud de la estructura del PCB, aumentando así la biodegradación en la rizosfera. (Vergani y cols; 2016).

6.5. Rizorremediación de metales por PGPR

De los compuestos inorgánicos contaminantes, los metales son sin duda los compuestos más estudiados, debido a su toxicidad y capacidad de contaminación de los suelos. La rápida industrialización y modernización en todo el mundo han producido la desafortunada consecuencia de la liberación de desechos tóxicos al medio ambiente. Los contaminantes metálicos se derivan principalmente de actividades industriales y

agrícolas. Tales liberaciones han afectado adversamente la salud humana y han producido efectos tóxicos en las plantas y en los microorganismos del suelo asociados con ellos (Tak y cols; 2013). Los principales metales contaminantes son plomo, cromo, cadmio, mercurio, uranio, selenio, zinc, arsénico, oro, plata, cobre y níquel.

El uso de bacterias PGPR como adjuntos en la fitorremediación de los metales puede facilitar significativamente el crecimiento de las plantas en presencia de altos niveles (y de otro modo inhibitorio) de los metales (Glick; 2010). Las bacterias asociadas a las plantas pueden usarse potencialmente para mejorar las actividades de fitoextracción alterando la solubilidad, disponibilidad y transporte de metales pesados y nutrientes, reduciendo el pH del suelo y liberando quelantes (Ma y cols; 2011). Entre los metabolitos producidos por PGPR, los sideróforos desempeñan un papel significativo en la movilización y acumulación de metales (Rajkumar y Freitas; 2008).

Las bacterias han desarrollado varios mecanismos para su supervivencia bajo condiciones de estrés metálico, por las cuales pueden inmovilizar, movilizar o transformar metales, haciéndolos inactivos para tolerar la absorción de sus iones (Nies; 1999). Estos mecanismos incluyen la exclusión (los iones metálicos se mantienen alejados de los sitios diana), la extrusión (los metales son empujados fuera de la célula a través de eventos mediados por cromosoma/plásmido), alojamiento (los metales forman complejos con las proteínas de unión a metal, por ejemplo, metalotioneínas, (proteínas de bajo peso molecular) (Kao y cols; 2006; Umrانيا; 2006), biotransformación (el metal tóxico se reduce a formas menos tóxicas) y metilación-desmetilación. Estos mecanismos permiten que los microorganismos funcionen metabólicamente en un ambiente contaminado con metales y podrían ser de tipo constitutivo o inducible (Choudhary y cols; 2017).

La Tabla 3 muestra algunos ejemplos de bacterias utilizadas en remediación de metales pesados, concretamente en la técnica conocida como bioadsorción, consistente en la adsorción química y pasiva de metales pesados a grupos cargados negativamente en la superficie de las paredes celulares de las bacterias (Choudhary y cols; 2017).

Tabla 3. Especies bacterianas empleadas en Biorremediación de metales pesados (Choudhary y cols; 2017).

Bacteria	Metal	Capacidad de adsorción (mg/g)	Referencias
<i>Acinetobacter sp.</i>	Zn	36	Tabaraki y cols. (2013)
<i>Bacillus sp.</i>	Pb	92.3	Tunali y cols. (2006)
<i>Bacillus firmus</i>	Pb	467	Salehizadeh y Shojaosadati (2003)
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Pb	567.7	Choi y Yun (2004)
<i>Desulfovibrio Desulfuricans</i>	Cd, Ni, Cr	99.9, 98.3, 74.2 %	Ock Joo y cols. (2015)
<i>Enterobacter cloacae</i>	Pb, Cd, Ni	171.8, 114.2, 32.2	Banerjee y cols. (2015)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pb	46.1	Ahmady-Asbchin y cols. (2015)
<i>Pseudomonas putida</i>	Pb	270.4	Uslu y Tanyol (2006)
<i>Streptomyces rimosus</i>	Zn	30	Mameri y cols. (1999)
<i>Aphanothece halophytica</i>	Zn	133.0	Incharoensakdi y Kitjahnarn (2002)
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Zn	172.4	Liu y cols. (2004)
<i>Bacillus subtilis</i>	Cu	20.8	Nakajima y cols. (2001)
<i>Micrococcus luteus</i>	Cu	33.5	Nakajima y cols. (2001)
<i>Enterobacter sp.</i>	Cu	275	Bestawy y cols. (2010)
<i>Pseudomonas cepacia</i>	Cu	65.3	Savvaidis y cols. (2003)
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Cu	22.9	Nakajima y cols. (2001)
<i>Sphaerotilus natans</i>	Cu	60	Beolchini y cols. (2006)
<i>Kocuria flava</i>	Cu	90 %	Achal y cols. (2011)
<i>Zoogloea ramigera</i>	Cr	2	Nourbakhsh y cols. (1994)
<i>Stenotrophomonas sp.</i>	Cd	320	Bestawy y cols. (2010)

6.6 Utilización de PGPR para revegetación y reforestación

Los suelos en áreas subhúmedas, semiáridas y áridas son degradados por las actividades humanas (Wang y cols; 2004) en un proceso llamado desertificación. La desertificación es un problema cada vez mayor que reduce las tierras cultivables, aumenta la erosión del suelo y las inundaciones, reduce la producción agrícola y forestal, reduce las poblaciones rurales y aumenta el daño a la salud respiratoria debido a la contaminación por polvo (McTainsh; 1986).

Una de las teorías fundamentales sobre el fracaso recurrente de la revegetación natural en las áreas erosionadas del desierto y las dificultades para establecer siembra de plantas nativas es que la capa superficial del suelo ha perdido sus microorganismos beneficiosos asociados a las plantas y, por consiguiente, parte de su fertilidad y potencial de crecimiento. Incluso durante años ocasionales de lluvias abundantes, cuando el establecimiento de plantas desérticas es más probable (Drezner; 2006), el agua sola no sustituye a la pérdida de fertilidad del suelo y comunidades microbianas. Al menos algunos microorganismos promotores del crecimiento de las plantas deben ser reintroducidos artificialmente (Fig. 14).

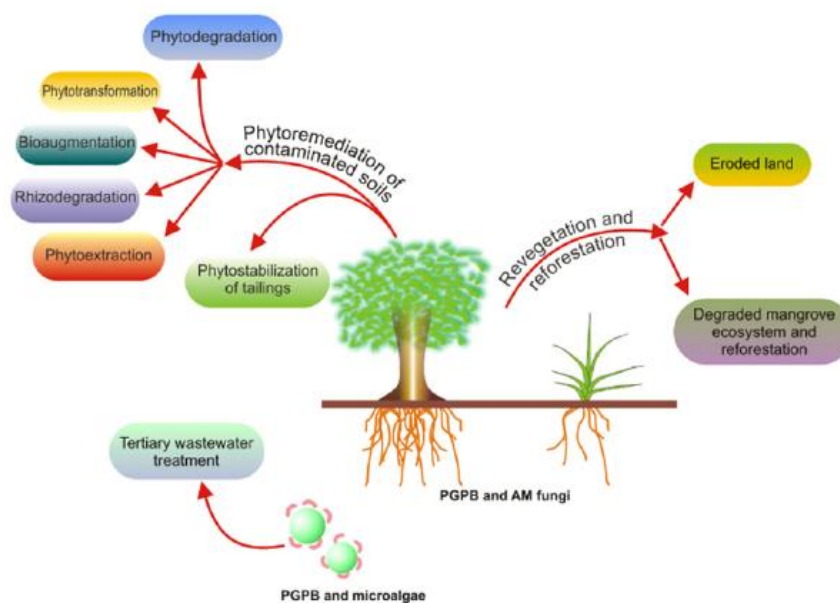


Figura 14. Representación esquemática de los usos de PGPR en los procesos de biorremediación (de-Bashan y cols; 2012).

El uso de PGPB para la revegetación tiene varios beneficios: 1) Reduce los costos de biorremediación disminuyendo la cantidad de fertilizante y compost; 2) permite el establecimiento de plantas en zonas erosionadas donde previamente habían crecido; 3) mejora la salud de las plantas y el crecimiento en las zonas erosionadas y aumenta su tolerancia a la sequía y la salinidad. Se utilizan dos estrategias en la búsqueda de PGPB compatibles con zonas erosionadas. Uno de ellos es aislar PGPB nativo del suelo o de plantas que ya crecen allí, propagar el PGPB y utilizar el PGPB como inoculantes. Este es un procedimiento intensivo en mano de obra que se ha probado y explicado con éxito a continuación para remediar los relaves mineros. El otro enfoque examina los

aislamientos del gran número de cepas PGPB disponibles y probadas, utilizadas principalmente en la agricultura y las utilizan como inoculantes en los esfuerzos de revegetación (Bacilio y cols; 2006).

7. Comercialización de PGPR

El éxito y la comercialización de las cepas de rizobacterias que promueven el crecimiento de las plantas dependen de los vínculos entre las organizaciones científicas y las industrias. Numerosos trabajos realizados mostraron diferentes etapas en el proceso de comercialización incluyendo aislamiento de cepas antagonistas, tamizado, métodos de fermentación, producción en masa, viabilidad de la formulación, toxicología, enlaces industriales, control de calidad y eficacia en el campo (Parada y cols; 2006). Además, el éxito comercial de las cepas PGPR requiere una demanda económica y viable del mercado, una acción coherente y de amplio espectro, seguridad y estabilidad, mayor vida útil, bajos costos de capital y fácil disponibilidad de materiales de soporte.

7.1. Bioformulaciones para PGPR

Las bioformulaciones se definen mejor como productos biológicamente activos que contienen una o más cepas microbianas beneficiosas en un material portador fácil de usar y económico. La mayoría de las bioformulaciones están destinadas a la aplicación sobre el terreno, es esencial que se utilicen materiales portadores adecuados para mantener la viabilidad celular bajo condiciones ambientales adversas (Bashan y cols 2014). Una formulación de buena calidad promueve la supervivencia de las bacterias manteniendo la población disponible el tiempo suficiente para provocar los efectos promotores del crecimiento en las plantas (Singh y cols; 2014). La bioformulación de rizobacterias que promueve el crecimiento de las plantas se refiere a preparaciones de microorganismos que pueden ser un sustituto parcial o completo de la fertilización química, los pesticidas (Fig. 15), ofrecen un enfoque ambientalmente sostenible para aumentar la producción de cultivos y la salud.

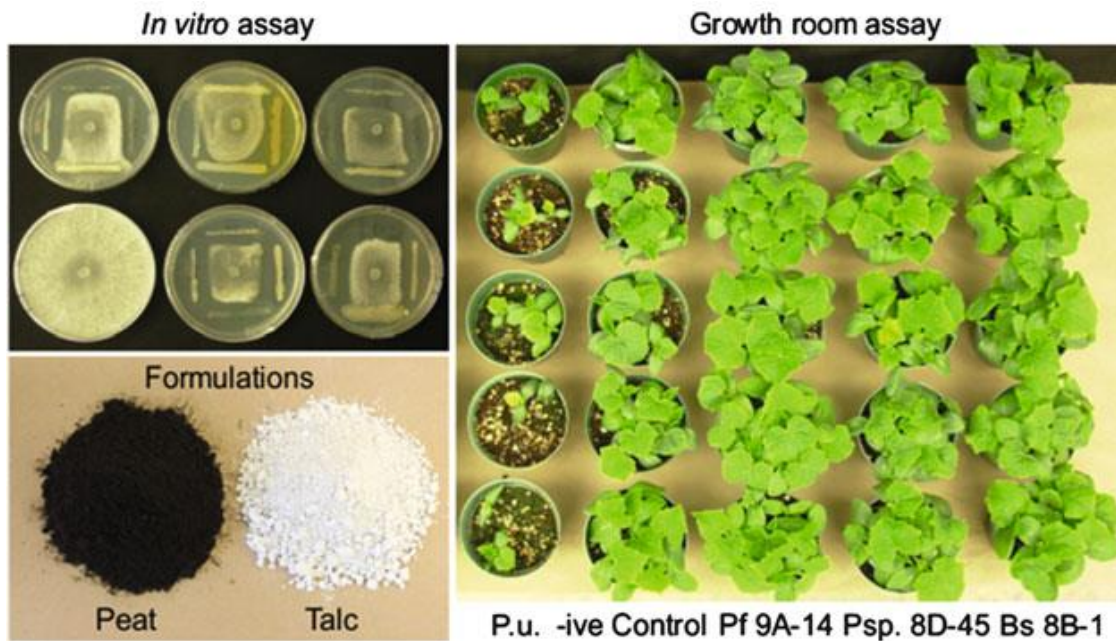


Figura 15. Screening de antagonistas bacterianos como biofungicidas potenciales, que se han preparado en sustrato de plantas o en talco como soportes para su inoculación en plantas (Abbasi y cols; 2016).

7.2 Diseño de formulaciones

La formulación es la cuestión crucial para inoculantes que contienen una cepa bacteriana eficaz y puede determinar el éxito o fracaso de un agente biológico. El uso de formulaciones inoculantes que implican materiales portadores para el suministro de células microbianas al suelo o a la rizósfera es una opción atractiva. Los materiales portadores están destinados generalmente a proporcionar un nicho protector a inoculantes microbianos en el suelo (Bashan y cols; 2014), ya sea físicamente, a través de la provisión de una superficie protectora o espacio de poros o nutricionalmente, a través de la provisión de un sustrato específico. La bioformulación de las rizobacterias que promueven el crecimiento de las plantas debe estar compuesta de un material portador superior, como una alta capacidad de retención de agua, una producción de calor por humectación, casi estéril, químicamente uniforme, físicamente uniforme, no tóxico por naturaleza, fácilmente biodegradable, no contaminante, pH alrededor de la neutralidad (o pH fácilmente ajustable), y que facilite el crecimiento bacteriano y la supervivencia (Bashan y cols; 2014). Se han evaluado muchos materiales sintéticos e inertes, tales como vermiculita, fosfato de roca triturada, sulfato de calcio, geles de poliacrilamida y alginato (Singh y cols; 2014).

El secado es parte de muchos procedimientos para el desarrollo de la formulación de inoculantes microbianos. Se observó un porcentaje notablemente bajo de formadores de endosporas que sobrevivieron después del secado (Nadeem y cols; 2013). Un factor que puede tener un efecto perjudicial sobre los microorganismos secos a largo plazo es la humedad en el medio ambiente; el aumento del contenido de humedad de la muestra seca compromete la viabilidad. El almacenamiento bajo vacío o en una atmósfera inerte puede prevenir esto, pero es costoso y difícil de manejar. El uso de cada tipo de inoculante depende de la disponibilidad del mercado, la elección de los agricultores, el costo y la necesidad de un cultivo en particular bajo condiciones ambientales específicas (Domenech y cols; 2006).

8. Futuras estrategias de investigación y desarrollo para PGPR

La necesidad del mundo de hoy es conseguir un rendimiento alto y una producción realizada de la cosecha, así como incrementar la fertilidad de los suelos, y conseguirlo de manera respetuosa con el medio ambiente. Por lo tanto, la investigación debe centrarse en el nuevo concepto de "Rizoingeniería"(Arora y cols; 2010; Pajuelo y cols; 2014), basado en adoptar muchas estrategias posibles incluyendo ajustes de nutrientes, regulaciones de flavonoides y facilitando la degradación por inoculación de cepas transgénicas (Fu et al; 2012). Esto crea un escenario único para la interacción entre las plantas y los microbios. Las futuras investigaciones en biología de la rizósfera se basarán en el desarrollo de enfoques moleculares y biotecnológicos para aumentar nuestro conocimiento de la biología de la rizósfera y para lograr un manejo integrado de las poblaciones microbianas del suelo (Nadeem y cols; 2013). En concreto, a día de hoy ya existen numerosas investigaciones de bacterias PGPR modificadas genéticamente y que potencian la ayuda en la degradación de metales pesados, tricloroetileno, PCB y otras sustancias tóxicas (Tabla 4).

Tabla 4. Cepas bacterianas modificadas genéticamente para biorremediación (Pajuelo y cols; 2014).

Microorganismo utilizado	Gen introducido	Planta	Efectos conseguidos	Referencia
<i>Ralstonia eutropha</i>	Metalotioneína de ratón	Planta de tabaco	Protección contra efectos tóxicos del cadmio	(Valls y cols;2000)
<i>Mesorhizobium huakuii</i>	Metalotioneína bajo el control de un promotor <i>pnifH</i>	<i>Astragalus</i>	Acumulación de cadmio en los nódulos y protección de la planta	(Sriprang y cols; 2002)
<i>Pseudomonas putida 06909</i>	Péptido de unión a metal (EC20)	Girasol	Mejora la unión al cadmio, mayor alivio de toxicidad	(Wu y cols; 2006)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Operón <i>bph</i> de <i>Burkholderia xenovorans</i> LB400	Tomate, guisante, alfalfa y sauce	Degradación mejorada del PCB	(Brazil y cols; 1995). (Villacieros y cols; 2005). (Powers y cols; 2011).
<i>Pseudomonas Pb2-1. Rhizobium 10320D.</i>	Péptido de unión a metal (EC20)	Álamo	Reducción acumulación de cadmio y degradación TCE	(Lee y cols; 2006).

La utilidad de las PGPR es muy variada y son numerosos los estudios que demuestran que la interacción de estos microorganismos con las plantas potencia su crecimiento y desarrollo. Esto puede aplicarse en beneficio humano, pudiendo crear campos con cultivos que puedan crecer más rápido para abastecer a la población, limitando así el uso de otros productos, como pesticidas o abonos químicos, que acaban desgastando el sustrato del suelo. Este método alternativo de cultivo se presenta como una alternativa natural en el desarrollo agrícola.

Además de en la alimentación, las PGPR pueden resultar muy útiles como hemos visto en el marco medioambiental. Estos microorganismos son capaces de reparar y biorremediar suelos que han sido contaminados, ya sea con metales pesados u otro tipo de contaminantes, y también ayudar a la regeneración de suelos que se habían perdido debido a los efectos de deforestación y desertificación provocados en su gran mayoría por el hombre. Con lo que se abre una alternativa natural muy a tener en cuenta a la hora de trabajar por recuperar zonas del planeta que antes daban por perdidas.

En cuanto a las perspectivas de futuro hay datos muy alentadores, ya que se está trabajando genéticamente con determinadas cepas de PGPR para potenciar efectos deseados en ellas que antes no se daban u ocurrían en menor medida. Podemos ver ya muchos estudios con cepas genéticamente modificadas de estas bacterias que son capaces de retener en mayor cantidad metales pesados, producir más cantidad de enzimas para degradar compuestos tóxicos, o potenciar aspectos de tipo hormonal o de

abastecimiento de nutrientes, que sean de un modo u otro útiles en el desarrollo de las plantas. En este sentido, los métodos de secuenciación masiva (NGS, New Generation Sequencing) permiten conocer los genes de las poblaciones microbianas sin el aislamiento ni cultivo previo de los microorganismos. Estos genes pueden constituir una fuente adicional de información y la posibilidad de su manipulación genética y expresión en otros microorganismos fáciles de cultivar.

Por último también se está investigando en la forma de hacer que estas bacterias puedan administrarse a los suelos como lo hacemos con el abono químico hoy en día. hay muchas propuestas, aunque la liofilización parece el método más eficaz no solo a la hora de hacer que los microorganismos estén vivos en el momento de su uso, sino también poder realizar preparados de administración en polvos o encapsulados biodegradables, para que sea así más sencilla su administración.

9. Conclusiones

1. La rizosfera es la porción de suelo íntimamente asociada a las raíces, la cual sustenta una diversa y abundante población microbiana en base a los exudados radiculares, así como las interacciones suelo-planta-bacterias que se dan en ella.
2. Las bacterias PGPR promueven el crecimiento vegetal mediante diferentes mecanismos, tanto directos como indirectos, al tiempo que inducen la resistencia sistémica de las plantas tanto a estreses bióticos (ataques de patógenos) como abióticos (sal, sequía, salinidad, temperatura, contaminantes, etc.).
3. Las bacterias PGPR son una alternativa ecológica para mejorar el crecimiento de los cultivos en suelos pobres, degradados o contaminados.
4. Se están desarrollando nuevas formulaciones para la aplicación de bioinoculantes en campo, lo que además constituye un marco de i+D y colaboración entre los grupos de investigación y las empresas a nivel local.
5. La ingeniería genética, apoyada en las actuales técnicas de secuenciación masiva, permite obtener microorganismos modificados genéticamente con posibles nuevas aplicaciones para ampliar las capacidades de los PGPR.

10. Bibliografía

- Abbasi P A, Khabbaz S E, Zhang L.** Bioformulations of Novel Indigenous Rhizobacterial Strains for Managing Soilborne Pathogens. En *Bioformulations: for Sustainable Agriculture*, Arora N K; Mehnaz S, Balestrini R, Eds., Springer India. (2016) pp. 147-161.
- Achal V, Pan X, Zhang D.** Remediation of copper-contaminated soil by *Kocuria flava* CR1, based of microbially induced calcite precipitation. *Ecol. Engin.* (2011) 37(10): 1601–1605.
- Aeron A, Kumar S, Pandey P, Maheshwari, D K.** Emerging role of plant growth promoting rhizobacteria in agrobiolgy. En Maheshwari D. K. (Ed.), *Bacteria in agrobiolgy: Crop ecosystems* Springer Berlin Heidelberg (2011) pp. 1–36.
- Ahemad M, Khan M S.** Phosphate-solubilizing and plant-growthpromoting *Pseudomonas aeruginosa* PS1 improves green-gram performance in quizalafop-p-ethyl and clodinafop amended soil. *Arch. Environ. Contamin. Toxicol.* (2010) 58: 361-372.
- Ahemad M, Khan M S.** Insecticide-tolerant and plant growth promoting *Bradyrhizobium* sp. (vigna) improves the growth and yield of greengram [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] in insecticide-stressed soils. *Symbiosis* (2011) 54: 17-27.
- Ahemad M, Khan M S.** Alleviation of fungicide-induced phytotoxicity in greengram [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] using fungicide-tolerant and plant growth promoting *Pseudomonas* strain. *Saud. J. Biol. Sci.* (2012a) 19: 451-459.
- Ahemad M, Khan M S.** Productivity of greengram in tebuconazol estressed soil, by using a tolerant and plant growth promoting *Bradyrhizobium* sp. MRM6 strain. *Acta Physiol. Plant.* (2012b) 4: 245-254.
- Ahemad M, Kibret M.** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *J. King Saud Univ. Sci.* (2014) 26(1):1–20.
- Ahmed E, Holmstrom S J M.** Siderophores in environmental research: Roles and applications. *Microb. Biotechnol.* (2014) 7: 196-208.
- Ahmady-Asbchin S, Safari M, Tabaraki R.** Biosorption of Zn (II) by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a site contaminated with petroleum. *Desal. Wat. Treat.* (2015) 54(12): 3372–3379.
- Alexander M.** *Introduction to soil microbiology* (2nd ed.). New York, NY: Wiley. (1977)
- Arora N K, Khare E, Maheshwari D K.** Plant growth promoting rhizobacteria: constraints in bioformulation, commercialization, and future strategies. In: Maheshwari DK (ed.) *Plant growth and health promoting bacteria.* Springer (2010) 18: 97-116.
- Babalola O O, Osir E O, Sanni A, Odhaimbo G D, Bulimo W D.** Amplification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic (ACC) deaminase from plant growth promoting rhizobacteria in *Striga* -infested soils. *Afr. J. Biotechnol.* (2003) 2: 157-160.
- Bacilio M, Hernandez J P, Bashan Y.** Restoration of giant cardon cacti in barren desert soil amended with common compost and inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Biol. Fertil. Soils* (2006) 43: 112–119.
- Baldani V L D, Baldani J I, Dobereiner J.** Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. *Biol. Fert. Soils* (2000) 30: 485–491.
- Banerjee G, Pandey S, Ray A K, Kumar R.** Bioremediation of heavy metals by a novel bacterial strain *Enterobacter cloacae* and its antioxidant enzyme activity, flocculant production, and protein expression in presence of lead, cadmium, and nickel. *Water, Air, Soil Pollut.* (2015) 226(4): 1–9.
- Bashan Y, De-Bashan L E, Prabhu S R, Hernandez JP.** Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology-formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant Soil* (2014) 378: 1-33.
- Beneduzi A, Ambrosini A, Luciane Passaglia M P.** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Gen. Mol. Biol.* (2012) 35: 1044-1051.
- Beolchini F, Pagnanelli F, Toro L, Veglio F.** Ionic strength effect on copper biosorption by *Sphaerotilus natans*: Equilibrium study and dynamic modeling in membrane reactor. *Water Res.* (2006) 40(1): 144–152.
- Bestawy E E, Helmy S, Hussien H, Fahmy M, Amer, R.** Bioremediation of heavy metal-contaminated effluent using optimized activated sludge bacteria. *Appl. Water Sci.* (2013) 3(1): 181–192.
- Birch, P R J, Kamoun S.** Studying interaction transcriptomes: coordinated analyses of gene expression during plant-microorganism interactions. En Wood R. (ed.) *New technologies for life sciences: a trends guide.* Elsevier Science, New York, N.Y. (2000) p. 77-82.

- Boddey R M, Baldani V L D, Baldani J I, Dobereiner J.** Effect of inoculation of *Azospirillum* spp. on nitrogen accumulation by field grown wheat. *Plant Soil* (1986) 95(1): 109–121.
- Boddey R M, Polidoro J C, Resende A S, Alves B J R, Urquiaga S.** Use of the ¹⁵N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N₂ fixation to sugar cane and other grasses. *Aust. J. Plant Physiol.* (2001) 28:889–895.
- Brazil G M, Kenefick L, Callanan M, Haro A, de Lorenzo V, Dowling D N.** Construction of a rhizosphere pseudomonad with potential to degrade polychlorinated biphenyls and detection of *bph* gene expression in the rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* (1995) 61: 1946–1952.
- Canals R M.** Familia Leguminosae, *Trifolium repens* L.: trébol blanco. Universidad pública de Navarra. http://www.unavarra.es/herbario/pratenses/htm/Trif_repe_p.htm . (consultado en junio 2017)
- Cardoso E J B N, Freitas SS.** A rizosfera. In: Cardoso EJBN, Tsai SM, Neves PCP (eds) *Microbiologia do solo*. Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo, Campinas. (1992) pp 41–57.
- Chen C, Yu C N, Shen C F, Tang X J, Qin Z H, Yang K, et al.** Paddy field - a natural sequential anaerobic-aerobic bioreactor for polychlorinated biphenyls transformation. *Environ. Pollut.* (2014) 190: 43–50.
- Choi S B, Yun Y S.** Lead biosorption by waste biomass of *Corynebacterium glutamicum* generated from lysine fermentation process. *Biotechnol. Let.* (2004) 26(4): 331–336.
- Choudhary M, Kumar R, Datta A, Nehra V, Garg N.** Bioremediation of heavy metals by microbes. Eds. Arora S, Atul K, Singh Y P. Springer International Publishing. *Bioremediation of Salt Affected Soils: An Indian Perspective.* (2017) pp.233-255.
- Colombo C, Palumbo G, He J, Pinton R, Cesco S.** Review on iron availability in soil: interaction of Fe minerals, plants, and microbes. *J. Soils Sed.* (2014) 14: 538–548.
- Conte S S, Walker E L.** Transporters Contributing to Iron Trafficking in Plants. *Mol. Plant* (2011) 4: 464–476.
- Convención de Estocolmo.** (2015). <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/TheInitialPOPs/tabid/296/Default.aspx>.
- Cook R J.** Advances in plant health management in the twentieth century. *Ann. Rev. Phytopathol.* (2002) 38: 95–116.
- de-Bashan L E, Hernandez. J P, Bashan Y.** The potential contribution of plant growth-promoting bacteria to reduce environmental degradation – A comprehensive evaluation. *Appl. Soil Ecol.* (2012) 61: 171-189.
- de Souza R, Ambrosini A, Passaglia L M P.** Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Gen. Mol. Biol.* (2015) 38: 401-409.
- Demirtepe H, Kjellerup B, Sowers K R, Imamoglu I.** Evaluation of PCB dechlorination pathways in anaerobic sediment microcosms using an anaerobic dechlorination model. *Journal of Hazardous Materials* (2015) 296: 120–127.
- Denton B.** Advances in phytoremediation of heavy metals using plant growth promoting bacteria and fungi. *MMG 445 Basic Biotechnol.* (2007) 3: 1–5.
- Devi K, Nidhi S, Shalini K, David K.** Hydrogen cyanide producing rhizobacteria kill subterranean termite *Odontotermes obesus* (Rambur) by cyanide poisoning under in vitro conditions. *Cur. Microbiol.* (2007) 54: 74–78.
- Dey S, Vlot A C.** Ethylene responsive factors in the orchestration of stress responses in monocotyledonous. *Front. Plant Sci.* (2015) 6:640.
- Domenech J, Reddy MS, Kloepper J W, Ramos B, Gutierrez-Mañero J.** Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne diseases in pepper and tomato. *Biol. Cont.* (2006) 51: 245-258.
- Drezner T D.** The regeneration of a protected Sonoran Desert cactus since 1800 A.D. over 50,000 km² of its range. *Plant Ecol.* (2006) 183: 171–176.
- Dzantor E K.** Phytoremediation: the state of rhizosphere engineering for accelerated rhizodegradation. of xenobiotic contaminants. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* (2007) 82: 228-232.
- Field J A, Sierra-Alvarez R.** Microbial transformation and degradation of polychlorinated biphenyls. *Environmental Pollution.* (2008) 155: 1–12.
- Fu D, Teng Y, Luo Y, Tu C, Li S, Li Z, et al.** Effects of alfalfa and organic fertilizer on benzo[a]pyrene dissipation in an aged contaminated soil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* (2012) 19: 1605 –1611.

- Furukawa K.** Biochemical and genetic bases of microbial degradation of polychlorinated biphenyls (PCBs). *J. Gen. Appl. Microbiol.* (2000) 46: 283–296.
- Furukawa K, Fujihara H.** (2008). Microbial degradation of polychlorinated biphenyls: biochemical and molecular features. *J. Biosci. Bioengin.* (2008) 105: 443–449.
- Garcia de Salamone I E, Dobereiner J, Urquiaga S, Boddey R M.** Biological nitrogen fixation in *Azospirillum* strain maize genotype associations as evaluated by the ¹⁵N isotope dilution technique. *Biol. Fertil. Soils* (1996) 23:249–256.
- Ghosh M, Singh S P.** A Review on Phytoremediation of Heavy Metals and Utilization of Its By-products. (2005) 3(1): 1-18.
- Glass A D M.** Plant nutrition: an introduction to current concepts. Jones and Bartlett Publishers, Boston, (1989) p 234.
- Glick B R, Patten C L, Holguin G, Penrose D M.** Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting. Londres. Imperial College Press. (1999)
- Glick B R.** Enhancement of plant growth by free living bacteria. *Can. J. Microbiol.* (1995) 41: 109-117.
- Glick B R.** Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnol. Adv.* (2010) 28: 367–374.
- Glick B R.** Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol. Res.* (2014) 169: 30–39.
- Glick B R.** Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnol. Adv.* (2003) 21: 383–393.
- Goswami D, Dhandhukia P, Patel P, Thakker J N.** Screening of PGPR from saline desert of Kutch: Growth promotion in *Arachis hypogea* by *Bacillus licheniformis* A2. *Microbiol. Res.* (2014) 169: 66–75.
- Goswami D, Thakker J N, Dhandhukia P.** Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food & Agriculture.* (2016) 2(1): 1127500.
- Gray E J, Smith D L.** Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signalling processes. *Soil Biol. Biochem.* (2005) 37: 395–412.
- Gutierrez-Mañero F J, Ramos-Solano B, Probanza A, Mehouchi J, Tadeo F R, Talon M.** The plant-growth promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiol Plant.* (2001) 111:206–211.
- Guzmán P, Ecker J R.** Exploiting the triple response of *Arabidopsis* to identify ethylene-related mutants. *Plant Cell* (1990) 2(6): 513-523.
- Haas D, Défago G.** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Rev. Microbiol.* (2005) 3: 307–319.
- Hinsinger P, Gobran G R, Gregory P J, Wenzel W W.** Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. *New Phytol.* (2005) 168: 293-303.
- Hinsinger P, Bravin M N, Devau N, Gerard F, Le Cadre E, Jaillard B.** Soil-Root-Microbe Interactions in the Rhizosphere - A Key to Understanding and Predicting Nutrient Bio availability to Plants. *J. Soil Science. Plant Nut.* (2008) 8: 39-47.
- Hu J, Qian M, Zhang Q, Cui J, Chunna Yu C, Su X, et al.** *Sphingobium fuliginis* HC3: a novel and robust isolated byphenil and polychlorinated biphenyls-degrading bacterium without dead-end intermediates accumulation. *Plos One* (2015) 4:1-17.
- Huang X D, El-Alawi Y, Penrose D M, Glick B R, Greenberg B M.** A multiprocess phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. *Environ. Pollut.* (2004) 130: 465–76.
- Hurek T, Handley L L, Reinhold-Hurek B, Piche Y.** *Azoarcus* grass endophytes contribute fixed nitrogen to the plant in an unculturable state. *Mol. Plant Microb. Interact.* (2002) 15: 233–242.
- Incharoensakdi A, Kitjahn P.** Zinc biosorption from aqueous solution by a halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica*. *Curr. Microbiol.* (2002) 45(4): 261–264.
- Isopi R, Fabbri P, Del-Gallo M, Puppi G.** Dual inoculation of *Sorghum bicolor* (L.) Moench ssp. *bicolor* with vesicular arbuscular mycorrhizas and *Acetobacter diazotrophicus*. *Symbiosis* (1995) 18:43–55.
- James E K, Olivares F L, Baldani J I, Dobereiner J.** *Herbaspirillum*, an endophytic diazotroph colonizing vascular tissue in leaves of *Sorghum bicolor* L. Moench. *J. Exp. Bot.* (1997) 48: 785–797.
- James E K, Gyaneshwar P, Mathan N, Barraquio W L, Reddy P M, Iannetta P P, et al.** Infection and colonization of rice seedlings by the plant growth-promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae* Z67. *Mol. Plant Microb. Interact.* (2002) 15: 894–906.

- Jha C K, Saraf M.** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *E3 Journal of Agricultural Res. Develop.* (2015) 5: 108–119.
- Jing Y, He Z, Yang X.** Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Journal of Zhejiang University Science B.* (2007) 8:192–207.
- Johnson P R, Ecker J R.** The ethylene gas signal transduction pathway: a molecular perspective. *Ann. Rev. Genet.* (1998) 32: 227–254.
- Kao P H, Huang C C, Hseu Z Y.** Response of microbial activities to heavy metals in a neutral loamy soil treated with biosolid. *Chemosphere* (2006) 64:63–70.
- Kende H, van der Knaap E, Cho H T.** Deepwater Rice: A Model Plant to Study Stem Elongation. *Plant Physiol.* (1992) 4: 1105–1110.
- Kennedy I R, Choudhury A I M A, KecSkcs M L.** Non-Symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? *Soil Biol. Biochem.* (2004) (8): 1229–1244.
- Kloepper J W, Schroth M N.** Relationship of in vitro antibiosis of plant growth promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phytopathol.* (1981) 71:1020–1024.
- Kobayashi D Y, Reedy R M, Bick J, Oudemans P V.** Characterization of a chitinase gene from *Stenotrophomonas maltophilia* strain 34S1 and its involvement in biological control. *Appl. Environ. Microbiol.* (2002) 68: 1047–1054.
- Kremer R J, Souissi T.** Cyanide production by rhizobacteria and potential for suppression of weed seedling growth. *Curr Microbiol.* (2001) 43: 182–186.
- Kruse J, Abraham M, Amelung W, Baum C, Bol R, Kuhn O, et al.** Innovative methods in soil phosphorus research: A review. *J. Plant Nutr. Soil. Sci.* (2014) 178: 43–88.
- Kuiper I, Legendijk E L, Bloemberg G V, Lugtenberg B J.** Rhizoremediation: a beneficial plant-microbe interaction. *Mol. Plant Microb. Interact.* (2004) 17: 6–15.
- Lavenus J, Goh T, Roberts I, Guyomarc'h S, Lucas M, De Smet I, Fukaki H, et al.** Lateral root development in *Arabidopsis*: fifty shades of auxin. *Trends Plant Sci.* (2013) 18:450–458.
- Lee W, Wood T K, Chen W.** Engineering TCE-degrading rhizobacteria for heavy metal accumulation and enhanced. TCE degradation. *Biotechnol. Bioengin.* (2006) 95: 399–403.
- Leibfried A, To J P C, Busch W, Stehling S, Kehle A, Demar M et al.** weschel controls meristem function by direct-regulation of cytokinin-inducible response regulators. *Nature* (2005) 438:1172–5.
- Liu H L, Chen B Y, Lan Y W, Cheng Y C.** Biosorption of Zn(II) and Cu(II) by the indigenous *Thiobacillus thiooxidans*. *Chem. Engineer. J.* (2004) 97: 195–201.
- Liu X, Zhang H, Zhao Y, Feng Z, Li Q, Yang H Q, et al.** Auxin controls seed dormancy through stimulation of abscisic acid signaling by inducing ARF-mediated ABI3activation in *Arabidopsis*. *PNAS USA* (2013) 110: 15485–15490.
- Lugtenberg B, Kamilova F.** Plant growth-promoting rhizobacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* (2009) 63: 541–556.
- Ma J F.** Plant root responses to three abundant soil minerals: silicon, aluminum and iron. *Crit. Rev. Plant Sci.* (2005) 24: 267–281.
- Ma Y, Prasad M N V, Rajkumar M, Freitas H.** Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnol. Adv.* (2011) 29: 248–258.
- Macek T, Mackova M, Kas J.** Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. *Biotechnol. Adv.* (2000) 18: 23–34.
- Malik K A, Bilal R, Mehnaz S, Rasul G, Mirza M S, Ali S.** Association of nitrogen-fixing, plant promoting rhizobacteria (PGPR) with kallar grass and rice. *Plant Soil* (1997) 194:37–44.
- Maheshwari D K, Dheeman S, Agarwal M.** Phytohormone-producing PGPR for sustainable agriculture. En Maheshwari D K. (Ed.) Springer international Publishing (2015) (pp. 159–182).
- Mameri N, Boudries N, Addour L, Belhocine D, Lounici H, Grib H, et al.** Batch zinc biosorption by a bacterial nonliving *Streptomyces rimosus* biomass. *Water Res.* (1999) 33(6): 1347–1354.
- Mayak S, Tirosh T, Glick B R.** Effect of wild-type and mutant plant growth promoting rhizobacteria on the rooting of mung bean cuttings. *J. Plant Growth Regul.* (1999) 18:49–53.
- McTainsh G H.** A dust monitoring programme for desertification control in West Africa. *Environ. Conserv.* (1986) 13: 17–25.
- Mehnaz S, Lazarovits G.** Inoculation effects of *Pseudomonas putida*, *Gluconacetobacter azotocaptans*, and *Azospirillum lipoferum* on corn plant growth under

- greenhouse conditions. *Microbiol Ecol.* (2006) 51(3): 326–335.
- Mendez M O, Maier R M.** Phytostabilization of Mine Tailings in Arid and Semiarid Environments—An Emerging Remediation Technology. *Environl Health Perspect.* (2008) 116(3): 278–283.
- Merrick M J.** Regulation of Nitrogen Fixation in Free-Living Diazotrophs. En “Genetics and Regulation of Nitrogen Fixation in Free-Living Bacteria” .Klipp, W.; Masepohl, B.; Gallon, J.R. y Newton, W.E., (eds.), Volume 2 of the series Nitrogen Fixation: Origins, Applications, and Research Progress. (2004) pp 197-223.
- Meyer A J.** The integration of glutathione homeostasis and redox signaling. *J. Plant Physiol.* (2008) 165: 1390-1403.
- Morrissey J, Guerinot M L.** Iron uptake and transport in plants: the good, the bad, and the ionome. *Chem. Rev.* (2009) 109: 4553–4567.
- Mosa K A, Saadoun I, Kumar K, Helmy M, Dhankher O P.** Potential Biotechnological Strategies for the Cleanup of Heavy Metals and Metalloids. *Front. Plant Sci.* (2016) 7: 303.
- Mrkovacki N, Milic V.** Use of *Azotobacter chroococcum* as potentially useful in agricultural application. *Ann. Microbiol.* (2001) 51: 145–158.
- Nadeem S M, Naveed M, Zahir Z A, Asghar H N.** Plant-Microbe Interactions for Sustainable Agriculture: Fundamentals and Recent Advances. In: Arora NK (ed.) *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances.* Springer, India. (2013) pp. 51-103.
- Nakajima H, Iwasaki T, Kitamoto K.** Metalloidsorption by *Saccharomyces cerevisiae* cells expressing invertase-metallothionein (Suc2-Cup1) fusion protein localized to the cell surface. *J. Gen. Appl. Microbiol.* (2001) 47(1): 47-51.
- Newman L A, Reynolds C M.** Bacteria and phytoremediation: new uses for endophytic bacteria in plants. *Trends Biotechnol.* (2005) 23: 6–8.
- Nies D H.** Microbial heavy metal resistance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (1999) 51: 730–750.
- Nourbakhsh M, Sag Y, Özer D, Aksu Z, Kutsal T, Caglar A.** A comparative study of various biosorbents for removal of chromium (VI) ions from industrial waste waters. *Process Biochem.* (1994) 29(1): 1–5.
- Oberson A, Frossard E, Bühlmann C, Mayer J, Mäder P, Lüscher A.** Nitrogen fixation and transfer in grassclover leys under organic and conventional cropping systems. *Plant Soil* (2013) 371: 237–255.
- Ock Joo J, Choi J H, Kim I H, Kim Y K, Oh B K.** Effective bioremediation of cadmium (II), nickel (II), and chromium (VI) in a marine environment by using *Desulfovibrio desulfuricans*. *Biotechnol. Bioprocess Engineer.* (2015) 20(5): 937–941.
- Omar M N A, Mahrous N M, Hamouda A M.** Evaluating the efficiency of inoculating some diazotrophs on yield and protein content of 3 wheat cultivars under graded levels of nitrogen fertilization. *Ann. Agric. Sci.* (1996) 41:579–590.
- Oteino N, Lally R D, Dowling D N.** Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Front. Microbiol.* (2015) 6: 745.
- Pajuelo E, Rodríguez-Llorente I, Lafuente A, Pérez-Palacios P, Doukkali B, Caviedes M A.** Engineering the rhizosphere for the purpose of bioremediation: an overview. *CAB Reviews* (2014) pp 1-17.
- Pal K K, Tila K V B R, Saxena A K, Dey R, Singh C S.** Suppression of maize root diseases caused by *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminearum* by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiol. Res.* (2001) 156: 209-223.
- Pandey A, Sharma E, Palni L M S.** Influence of bacterial inoculation on maize in upland farming systems of the Sikkim Himalaya. *Soil Biol. Biochem.* (1998) 30: 379–384.
- Parada M, Vinardell J, Ollero F, Hidalgo A, Gutiérrez R, et al.** *Sinorhizobium fredii* HH103 mutants affected in capsular polysaccharide (KPS) are impaired for nodulation with soybean and *Cajanus cajan*. *Mol. Plant Microb. Interact.* (2006) 19: 43-52.
- Park M, Kim C, Yang J, Lee H, Shin W, Sa S K.** Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiol. Res.* (2005) 160: 127–133.
- Persello-Cartieaux, F, David P, Sarrobert C, Thibaud M C, Achouak W, Robaglia, C, et al.** Utilization of mutants to analyze the interaction between *Arabidopsis thaliana* and its naturally root-associated *Pseudomonas*. *Planta.* (2001) 212: 190–198.
- Phi, Quyet.-Tien, Yu-Mi P, Keyung-Jo S, Choong-Min R, y cols.** Assessment of root-associated *Paenibacillus polymyxa* groups on growth promotion and induced systemic resistance in pepper. *J. Microbiol. Biotechnol.* (2010) 20: 1605-1613.
- Power B, Liu X, Germaine K J, Ryan D, Brazil D, Dowling D N.** Alginate beads as a storage, delivery and

- containment system for genetically modified PCB degrader and PCB biosensor derivatives of *Pseudomonas fluorescens* F113. *J. Appl. Microbiol.* (2011) 110: 1351–1358.
- Prasad R, Kumar M, Varma A.** Role of PGPR in Soil Fertility and Plant Health. En *Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants*. Ed Springer international. India. (2015) pp. 247-260.
- Prathap M, Ranjitha B D.** A Critical Review on Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *J. Plant Pathol. Microbiol.* (2015) 6: 266.
- Qi, Z F, Buekens A, Liu J, Chen T, Lu S Y, Li X D, Cen K F.** Some technical issues in managing PCBs. *Environ. Sci. Pollut. Res.* (2014) 21: 6448–6462.
- Rajkumar M, Freitas H.** Influence of metal-resistant plant growth promoting bacteria on the growth of *Ricinus communis* in soil contaminated with heavy metals. *Chemosphere* (2008) 71: 834–842.
- Radzki W, Gutierrez Manero F J, Algar E, Lucas Garcia J A, Garcia-Villaraco A, Ramos Solano B.** Bacterial siderophores efficiently provide iron to iron-starved tomato plants in hydroponics culture. *Antonie Van Leeuwenhoek Int. J. Gen. Mol. Microbiol.* (2013) 104: 321–330.
- Rout G R, Sahoo S.** Role of iron in plant growth and metabolism. *Rev. Agric. Sci.* (2015) 3: 1-24.
- Salazar-Henao J E, I Vélez-Bermúdez I C, Schmidt W.** The regulation and plasticity of root hair patterning and morphogenesis. *Develop.* (2016) 143: 1848-1858.
- Saleh S, Huang X D, Greenberg B M, Glick B R.** Phytoremediation of persistent organic contaminants in the environment. In: Singh A, Ward O, Eds.: *Applied Bioremediation and Phytoremediation, Soil Biology*, Vol. 1. Springer-Verlag Berlin. (2004) pp. 115–134.
- Salehizadeh H, Shojaosadati S A.** Removal of metal ions from aqueous solution by polysaccharide produced from *Bacillus firmus*. *Water Res.* (2003) 37(17): 4231–4239.
- Santi C, Bogusz D, Franche C.** Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Ann. Bot.* (2013) 111: 743-767.
- Santner A, Estelle M.** Recent advances and emerging trends in plant hormone signaling. *Nature* (2009) 459: 1071–1078.
- Savvaidis I, Hughes M N, Poole R K.** Copper biosorption by *Pseudomonas cepacia* and other strains. *World J. Microbiol. Biotechnol.* (2003) 19(2): 117–121.
- Sharma S K, Johri B N, Ramesh A, Joshi OP, Prasad S V S.** Selection of plant growth-promoting *Pseudomonas* spp. that enhanced productivity of soybean-wheat cropping system in central India. *J. Microbiol. Biotechnol.* (2011) 21: 1127-1142.
- Shen X, Hu H, Peng H, Wang W, Zhang X.** Comparative genomic analysis of four representative plant growth-promoting rhizobacteria in *Pseudomonas*. *BMC Genomics.* (2013) 14: 271.
- Shu K, Liu X D, Xie Q, He Z H.** Two Faces of One Seed: Hormonal Regulation of Dormancy and Germination. *Mol. Plant.* (2016) 9: 34-45.
- Shukla K P, Sharma S, Singh N K, Singh V, Tiwari K, Singh S.** Nature and role of root exudates: efficacy in bioremediation. *Afr. J. Biotechnol.* (2011) 10: 9717–9724.
- Singh A K, Varaprasad K S.** Criteria for identification and assessment of agro-biodiversity heritage sites: Evolving sustainable agriculture. *Curr. Sci.* (2008) 94: 1131-1138.
- Singh S, Gupta G, Khare E, Behal K K, Arora N K.** Effect of enrichment material on the shelf life and field efficiency of bioformulation of *Rhizobium* sp. and P-solubilizing *Pseudomonas fluorescens*. *Sci. Res. Report.* (2014) 4: 44-50.
- Smidt H, Akkermans, A D L, van der Oost J, de Vos W M.** Halorespiring bacteria: molecular characterization and detection. *Enzymol. Microb. Technol.* (2000) 27: 812–820.
- Sriprang R, Hayashi M, Yamashita M, Ono H, Saeki K, Murooka Y.** A novel bioremediation system for heavy metals using the symbiosis between leguminous plant and genetically engineered rhizobia. *J. Biotechnol.* (2002) 99: 279–293.
- Steenhoudt O, Vanderleyden J.** *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol. Rev.* (2000) 24: 487-506.
- Stein T, Hayen-Schneg N, Fendrik I.** Contribution of BNF by *Azoarcus* sp. BH72 in *Sorghum vulgare*. *Soil Biol. Biochem.* (1997) 29: 969–971.
- Stepanova A N, Alonso J M.** Ethylene signaling and response: where different regulatory modules meet. *Curr. Opin. Plant Biol.* (2009) 12: 548–555.
- Suresh B, Ravishankar G A.** Phytoremediation – a novel and promising approach for environmental clean-up. *Crit. Rev. Biotechnol.* (2004) 24: 97–124.
- Tabaraki R, Ahmady-Asbchin S, Abdi O.** Biosorption of Zn (II) from aqueous solutions by *Acinetobacter* sp.

- isolated from petroleum spilled soil. *J. Environ. Chem. Engineer.* (2013) 1(3): 604–608.
- Tak H I , Ahmad F, Babalola O O.** Advances in the Application of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Phytoremediation of Heavy Metals. En *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Whitacre D M. (Ed.) (2013) 223: pp 33-52.
- Tao J J, Chen H W, Ma B, Zhang W K, Chen S Y, Zhang J S.** The Role of Ethylene in Plants Under Salinity Stress. *Front. Plant Sci.* (2015) 6: 1059.
- Tisdale S L, Nelson W L.** Soil fertility and fertilizers, 3rd edn. Macmillan Publishing, New York. (1975) p 694.
- Torsvik V, Ovreas L.** Microbial diversity and function in soils: from genes to ecosystems. *Curr. Opin. Microbiol.* (2002) 5: 240–245.
- Tunali S, Cabuk A, Akar T.** Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil. *Chem. Engineer. J.* (2006) 115(3): 203–211.
- Umraniya V V.** Bioremediation of toxic heavy metals using acidothermophilic autotrophes. *Biores. Technol.* (2006) 97:1237–1242.
- Uslu G, Tanyol M.** Equilibrium and thermodynamic parameters of single and binary mixture biosorption of lead (II) and copper (II) ions onto *Pseudomonas putida*: Effect of temperature. *J. Hazard. Mat.* (2006) 135(1): 87–89.
- Valls M, Atrian S, De Lorenzo V, Fernandez L A.** Engineering a mouse metallothionein on the cell surface of *Ralstonia eutropha* CH34 for immobilization of heavy metals in soil. *Nature Biotechnol.* (2002) 2000: 18: 661–665.
- Vandenbussche F, Vaseva I, Vissenberg K, Van Der Straeten D.** Ethylene in vegetative development: a tale with a riddle. *New Phytol.* (2012) 4: 895-909.
- Vandenbussche F, Van der Straeten D.** The Role of Ethylene in Plant Growth and Development. En “Annual Plant Reviews Volume 44: The Plant Hormone Ethylene”. McManus MT (Ed.), Wiley-Blackwell, Oxford, UK. (2012)
- Vandenbussche F, Vaseva I, Vissenberg K, Van Der Straeten D.** Ethylene in vegetative development: a tale with a riddle. *New Phytol.* (2012) 194: 895–909.
- Vangronsveld J, Herzig R, Weyens N, Boulet J, Adriaensen K, Ruttens A, et al.** Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environ. Sci. Pollut. Res.* (2009) 16: 765–794.
- Vega-Celedón P, Canchignia H, González M, Seeger M.** Metabolism of indole-3-acetic acid in *Burkholderia xenovorans* LB400 and its effect on *Vitis vinifera* growth. (2012) 37: 33-39.
- Vergani L, Mapelli F, Zanardini E, Terzaghi E , Di Guardo A, Morosini C, et al.** Phyto-rhizoremediation of polychlorinated biphenyl contaminated soils: An outlook on plant-microbe beneficial interactions. *Sci. Total Environ.* (2016) 575: 1395-1406.
- Villacieros M, Whelan C, Mackova M, Molgaard J, Sanchez-Contreras M, Lloret J, et al.** Polychlorinated biphenyl rhizoremediation by *Pseudomonas fluorescens* F113 derivatives, using a *Sinorhizobium meliloti* nod system to drive *bph* gene expression. *Appl. Environ. Microbiol.* (2005) 71: 2687–2694.
- Vining L C.** Functions of secondary metabolites. *Ann. Rev. Microbiol.* (1990) 44: 395-427.
- Wang F, Cui X, Sun Y, Dong C H.** Ethylene signaling and regulation in plant growth and stress responses. *Plant Cell Rep.* (2013) 32: 1099-1109.
- Wang X, Dong Z, Zhang J, Liu L.** Modern dust storms in China: an overview. *J. Arid Environ.* (2004) 58: 559–574.
- Werner T, Motyka V, Strnad M, and Schmülling T.** Regulation of plant growth by cytokinin. *PNAS USA.* (2001) 98: 10487–10492.
- Wong W S, Tan S N, Ge L, Chen X, Yong J W H.** The importance of phytohormones and microbes in biofertilizers. In D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem*. Springer International (2015) pp. 105–158.
- Wu C H, Wood T K, Mulchandani A, Chen W.** Engineering plant-microbe symbiosis for rhizoremediation of heavy metals. *Appl. Environ. Microbiol.* (2006) 72: 1129–1134.
- Zahedi S M, Ansari N A, Azizi M.** The study of the effect of salinity stress on the germination and initial growth of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *J. Agric. Technol.* (2012) 8(7): 2353-2372.