



# Enfermedades de plantas: control biológico

ELKIN BUSTAMANTE ROJAS. Ph. D. Consultor en Manejo Integrado de Plagas, San José-Costa Rica.

ELKIN ESCOBAR-CHAVES. Micr. ind. Corporación para Investigaciones Biológicas C.I.B. Medellín, Colombia.

HERLEY CASANOVA. Ph. D. Instituto de Química, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

JOHN BISSETT. Ph. D. Agriculture and Agri-Food Canadá, EasternCereal and Oilseed Research Centre. Ottawa, Canadá.

JOSEPH W. KLOEPPER. Ph. D. Departamento de Entomología y Patología Vegetal, Auburn University, Alabama, Estados Unidos.

JUAN DAVID CASTILLO. M. Sc. Departamento de entomología y patología vegetal, Universidad de Auburn. Alabama, Estados Unidos.

LAURA FERNANDA VILLAMIZAR. Ph. D. Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria (CBB) Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. CORPOICA, Bogotá, Colombia.

LELIA LAVALETT.M. Sc. Corporación para Investigaciones Biológicas C.I.B. Medellín, Colombia.

LUIS FERNANDO PATIÑO HOYOS. M. Sc. Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid. Medellín, Colombia.

LUZ ESTELLA VÁSQUEZ DAVID. M. Sc. Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid. Medellín, Colombia.

MARCELA ORDOÑEZ CASTAÑEDA. M. Sc. Microbiología. Universidad Nacional de Colombia.

MARTHA ISABEL GÓMEZ. Ph. D. Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria (CBB) Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA, Bogotá, Colombia.

SERGIO ORDUZ. Ph. D. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Medellín, Colombia.

VALESKA VILLEGAS. M. Sc. Universidad EAFIT. Medellín, Colombia.

La obra ENFERMEDADES DE PLANTAS: CONTROL BIOLOGICO es un texto escrito para estudiantes, profesionales, agricultores y aquellas personas que trabajan para la sanidad vegetal; es una compilación en lengua castellana de experiencias de investigación y productivas, abarcando conceptos, métodos y aplicaciones del manejo biológico de agentes causales de enfermedades de plantas, con el objeto de ser base y guía para la implementación de este tipo de manejo.

Este texto cubre capítulos en conceptos generales (mecanismos y modo de acción) y amplía aspectos biológicos sobre diversos grupos de agentes de control biológico: rizobacterias, *Trichoderma*, organismos antagonistas a nematodos en general, hongos nematofagos en particular y micorrizas, explorando temas como diversidad, mecanismos de acción, prospectiva y recomendaciones de uso. También se tratan aspectos determinados de control bacteriano como el quórum sensing y tecnologías de formulación y nanoformulación de productos biológicos como paso fundamental antes de aplicar estos agentes en campo; Y por último se presentan casos aplicados a cultivos mediante conocimiento de oferta ambiental en caucho, y manejo de complejos microbianos en filósfera para enfermedades en banano, que ilustran la realidad productiva cuando se usan conceptos y tecnologías de control biológico.

**Área:** Ciencias Naturales

**Colección:** Ecología y medio ambiente

ECOE  
EDICIONES

ISBN 978-958-648-651-4



9 789586 486514

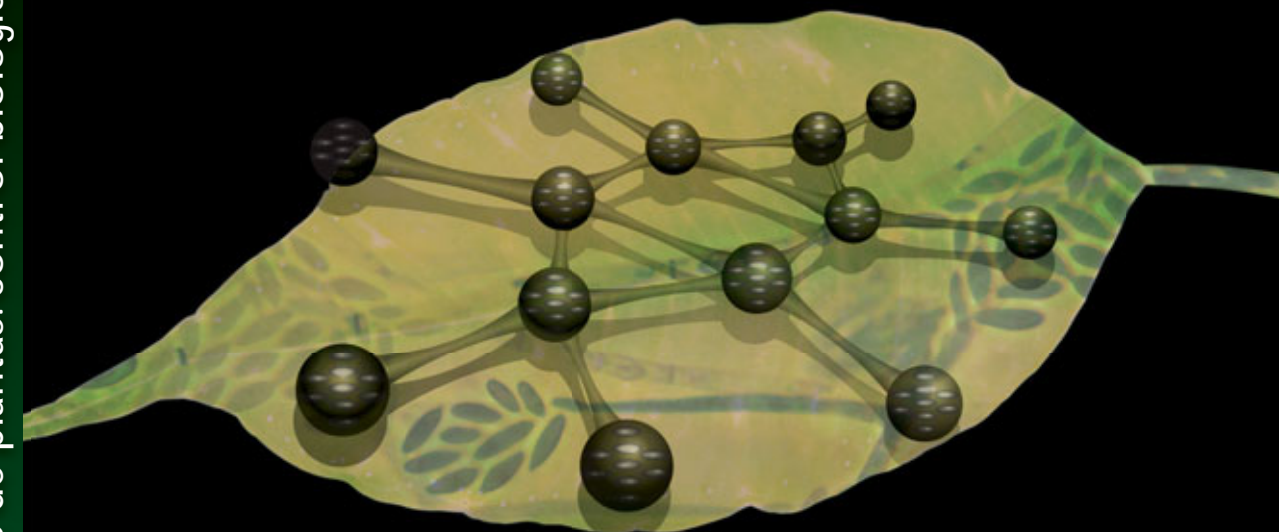


Lilliana M. Hoyos Carvajal

Enfermedades de plantas: control biológico



# Enfermedades de plantas: control biológico



Lilliana M. Hoyos Carvajal  
Editora



ECOE EDICIONES



**LILLIANA HOYOS CARVAJAL**

Ingeniera Agrónoma de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín (Colombia). Magister en ciencias en fitopatología de la Universidad de Caldas (Colombia). Doctora en Biología de la Universidad de Antioquia (Colombia).

Docente de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá en el área de Protección Vegetal en la Facultad de Agronomía en pre y posgrado. Especialista en hongos fitopatógenos y bioreguladores usados en agricultura.

**Coautores:**

ALBA MARINA COTES. Ph. D. Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria (CBB) Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA, Bogotá, Colombia.

ALIA RODRÍGUEZ VILLATE. Ph. D. Profesora Asociada. Facultad Agronomía. Universidad Nacional de Colombia

ANDRÉS DÍAZ. Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria (CBB) Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA, Bogotá, Colombia.

ANÍBAL L. TAPIERO. Ph. D. CI la Libertad. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA. Villavicencio, Colombia.

CAMILO RAMIREZ. Ph. D. Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

CARLOS ANDRÉS MORENO. M. Sc. Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria (CBB) Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA, Bogotá, Colombia.

CHARLES VOLCY. Ph. D. Facultad de ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Medellín, Colombia.

*Catalogación en la publicación – Biblioteca Nacional de Colombia*

Enfermedades de plantas : control biológico / Lilliana M. Hoyos Carvajal, editora. -- Bogotá : Ecoe Ediciones : Universidad Nacional de Colombia, 2011

228 p. (Ciencias naturales. Agropecuaria)

ISBN 978-958-648-651-4

1. Patología vegetal 2. Plagas agrícolas 3. Control biológico de plagas I. Hoyos Carvajal, Lilliana, ed. II. Título III. Serie

CDD: 632.96 ed. 20

CO-BoBN– a802239

Colección: Ciencias Naturales

Área: Agropecuaria

Primera edición: Bogotá, D.C., 2012

ISBN: 978-958-648-651-4

© María Lilliana Hoyos Carvajal (editora)

E-mail: limhoyosca@unal.edu.co

© Ecoe Ediciones

E-mail: correo@ecoeediciones.com

www.ecoeediciones.com

Carrera 19 No. 63C-32, Pbx. 2481449, fax. 3461741

Coordinación editorial: Alexander Acosta Quintero

Diseño y diagramación: Emilse Londoño Díaz

Diseño de carátula: Edwin Penagos Palacios

Impresión: Imagen editorial impresores

imagenimvega@yahoo.com

*Impreso y hecho en Colombia.*

# 6. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal

Camilo A. Ramírez<sup>1</sup>

Joseph W. Klopper<sup>2</sup>

## Contenido

Definiciones y términos .....	97
Clasificación taxonómica de las PGPRs .	99
Efectos de las PGPRs en las plantas .....	102
Mecanismos de acción .....	106
1. Directos .....	108
2. Indirectos .....	112
Aplicaciones prácticas y futuro del uso de PGPR bajo condiciones tropicales ....	115
Referencias bibliográficas .....	117

## Definiciones y términos

*Rizobacterias* es el término que se utiliza para designar las bacterias capaces de colonizar las raíces de las plantas. Este término fue acuñado por Klopper y Schroth (1978) con el fin de diferenciar este grupo bacteriano de las llamadas Bacterias rizosféricas, las cuales no son colonizadoras activas de las raíces o lo hacen muy deficientemente, por lo tanto, aunque pueden ser aisladas desde el mismo nicho, son solamente transitorias. Se piensa que las rizobacterias han coevolucionado con las plantas, desarrollándose interacciones que pueden ser positivas, negativas o neutras para el crecimiento vegetal (Klopper, 1993; Schroth y Hancock, 1981).

Más específicamente, aquellas rizobacterias que producen efectos benéficos en el desarrollo de las plantas son llamadas *Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal*.

1 Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

2 Departamento de Entomología y Patología Vegetal, Auburn University. Alabama, Estados Unidos.

Como una forma más corta de designarlas se usa la sigla *PGPR*, la cual corresponde a la expresión en inglés *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* (Banerjee *et al.*, 2006; Kloepper, 1993; Kloepper y Schroth, 1978). No obstante, son varios los términos relacionados que pueden encontrarse en la literatura, y que conviene que sean entendidos correctamente, ya que generalmente encierran ciertas diferencias conceptuales. Uno de estos términos es *bacterias promotoras del crecimiento vegetal* (*PGPB*, de acuerdo con la sigla para la expresión en inglés *Plant Growth-Promoting Bacteria*), el cual tiene un carácter más amplio y es usado por ciertos grupos de investigación en la actualidad (Bashan y Holguin, 1998). Este término hace referencia a todas aquellas bacterias, que, al ser aplicadas a una planta, ya sea como tratamiento a las semillas, a las raíces o foliar, generan efectos benéficos. Esta denominación no se restringe, por lo tanto, a las bacterias colonizadoras de raíces, sino que abarca también bacterias rizosféricas y del filoplano.

Por otro lado, algunos de los primeros reportes sobre beneficios obtenidos por la inoculación de plantas con bacterias, usaban el acrónimo *YIB*, correspondiente a la expresión inglesa *Yield-Increasing Bacteria*; en español, *bacterias que aumentan la productividad* (Bowen y Rovira, 1999). Esta denominación no es usada en la literatura actual y fue empleada básicamente por investigadores de la República Popular China en sus primeros trabajos durante la década del 60. Conceptualmente, el término *YIB* es cercano a *PGPB*, pero obviamente hace referencia concreta a un beneficio en productividad, sin tener en cuenta beneficios sobre otros parámetros del crecimiento vegetal. Igualmente, otras denominaciones, tales como *Rizobacterias promotoras de nodulación* (*NPR*, por la sigla en inglés para *Nodulation-Promoting Rhizobacteria*) y *Rizobacterias promotoras de emergencia* (*EPR*, por la sigla en inglés para *Emergence-Promoting Rhizobacteria*), han sido usadas para hacer referencia específica a las rizobacterias que estimulan la formación de nódulos por bacterias fijadoras simbióticas de nitrógeno y la emergencia de plántulas, respectivamente (Schroth y Becker, 1990). Sin embargo, estas son expresiones muy poco comunes y que fueron usadas por un tiempo limitado en la historia de las *PGPRs*. Por último, es conveniente hacer claridad en que, si bien la mayoría de las rizobacterias se mantienen confinadas a la superficie de las raíces (rizoplano), algunas colonizan el interior de ellas, caso en el cual también se usa la expresión *Bacterias endófitas* (Ryan *et al.*, 2008).

Es importante mencionar que también existen denominaciones específicas para las rizobacterias que causan efectos detrimentales en el desarrollo vegetal. Dicho grupo es reconocido en la literatura como *Rizobacterias deletéreas*, usando el acrónimo *DRB*, por la expresión en inglés *Deleterious Rhizobacteria* (Kremer, 2006). No hay un consenso general con respecto a las características precisas de este grupo de bacterias; sin embargo, las *DRB* son comunmente referidas como bacterias saprófitas que no parasitan las plantas ni penetran los tejidos vasculares, lo cual sí sucede con los verdaderos patógenos (Kremer, 2006). Por consiguiente, el efecto negativo de este subgrupo de rizobacterias se manifiesta en un retraso del crecimiento aéreo y radical de las plantas, como fruto de la producción y secreción de metabolitos fitotóxicos (Schippers *et al.*, 1987). De forma similar, la expresión *Bacterias alelopáticas* es también usada en la literatura para hacer referencia a bacterias saprófitas con efectos negativos sobre el desarrollo vegetal (Barazani y Friedman, 1999). Sin embargo, en términos conceptuales, la diferencia fundamental radica en

que esta denominación no hace referencia específica a las bacterias colonizadoras de raíces, como sí lo hace el término *DRB*.

## Clasificación taxonómica de las PGPRs

Un aspecto fundamental para el adecuado entendimiento de este grupo de bacterias es que el término PGPR hace referencia a un aspecto *funcional*, y no a un aspecto *taxonómico*. Si bien se espera que la taxonomía guarde relación con el fenotipo del organismo, en el caso de las bacterias esto posee una flexibilidad particular, dado el carácter arbitrario de la definición de especie dentro de ellas. De acuerdo con el reporte del *Comité ad hoc para la reconciliación de aproximaciones en sistemática bacteriana*, "la definición filogenética de una especie generalmente incluiría cepas<sup>3</sup> con aproximadamente 70% o más de relación ADN-ADN y con 5°C o menos de  $\Delta T_m$ " en experimentos de reasociación de ADN (Wayne *et al.*, 1987). Como puede apreciarse, esta definición de especie, aunque está basada directamente en el genoma bacteriano, es de carácter arbitrario y no siempre logra reflejar diferencias fenotípicas. Esta definición particular responde al hecho de que el concepto biológico tradicional de especie<sup>4</sup> no ajusta en el caso de las bacterias, las cuales no presentan restricción particular para el intercambio genético, una característica fundamental de dicho concepto (Cohan, 2002).

Debido a que los experimentos de reasociación de ADN (también conocidos como experimentos de hibridación) son procedimientos con altos requerimientos técnicos, la determinación taxonómica de especies bacterianas se hace rutinariamente por métodos alternativos más simples. La gran mayoría de estos métodos se basan en características fenotípicas, tales como el uso de diferentes fuentes de carbono y la detección de productos metabólicos, ejemplo API 20E (Shayegani *et al.*, 1978), BIOLOG (Garland y Mills, 1991), o sistemas similares. Este tipo de pruebas han mostrado ser particularmente útiles en bacteriología clínica, pero poco informativas a nivel de bacteriología agrícola o ambiental. En el caso de las bacterias habitantes del suelo, existen factores particulares que propician un alto intercambio de ADN entre cepas y especies, lo que provoca cambios genéticos con mayor frecuencia y eleva la complejidad en su clasificación. Igualmente, la caracterización del perfil de ácidos grasos (FAMES, por la sigla en inglés para *Fatty Acid Methyl Ester*) ha sido un método ampliamente utilizado por poseer un mayor nivel de precisión con aislamientos ambientales (Welch, 1991). Sin embargo, esta es aún una aproximación fenotípica con un nivel considerable de ambigüedad, por lo que algunos grupos bacterianos no logran ser satisfactoriamente discriminados e identificados.

3 Aunque pueden establecerse ciertas diferencias entre los términos aislamiento y cepa, estos son tratados como sinónimos en este capítulo.

4 La definición clásica dada por Ernst Mayr en 1942 dice que "las especies son grupos de poblaciones naturales que pueden cruzarse entre sí, las cuales están aisladas reproductivamente de otros grupos afines" (Beurton, 2002).

Actualmente, el análisis de la secuencia del ARN ribosomal 16S es el método de rutina más utilizado para la determinación taxonómica y análisis filogenético de cepas bacterianas. En la práctica, este análisis se hace sobre la región del ADN que codifica para dicha molécula, por lo cual se le denomina ADNr 16S. Su amplia utilización se debe a que es un método mucho más preciso que aquellos basados en características fenotípicas, a la vez que es técnicamente más simple que los experimentos de reasociación de ADN. En este caso, el estándar propuesto originalmente para la determinación de especie por esta técnica fue un porcentaje de similaridad igual o mayor al 97 % (Stackebrandt y Goebel, 1994). Más recientemente este valor de referencia ha sido elevado, considerando que dos cepas pertenecen a especies diferentes si poseen una similaridad menor al 98.7-99 % en dicho gen (Stackebrandt y Ebers, 2006). Los resultados obtenidos mediante el análisis del ADNr 16S han mostrado una alta correspondencia con las especies definidas por experimentos de reasociación de ADN, los cuales no dejan de ser el estándar oficial para la taxonomía bacteriana.

Esta particular complejidad en la clasificación de bacterias deja abierta la posibilidad de una diversidad considerable a nivel fenotípico entre cepas pertenecientes a una misma especie. Teniendo en cuenta esta situación, puede entenderse que dentro de una misma especie bacteriana se encuentren algunas cepas capaces de promover crecimiento vegetal (cepas PGPR), mientras otras *no* muestran efecto benéfico en absoluto o incluso son perjudiciales (cepas DRB). Por esta razón, puede afirmarse que la denominación *PGPR* es una cuestión de cepa y no de especie; que responde a un criterio funcional y no taxonómico. Por consiguiente, la capacidad para promover crecimiento vegetal es algo que debe ser evaluado para cada aislamiento bacteriano y que no puede ser concluido simplemente por su clasificación taxonómica. De allí que, desde el punto de vista práctico, ha sido importante considerar que cada aislamiento es una cepa diferente y usar una denominación particular para cada una de estas cepas (este es el código colocado después del nombre de la especie, ver ejemplos en cualquiera de las tablas de este capítulo). Este código, que es asignado de manera arbitraria por el investigador y es una práctica común en bacteriología, permite mantener un nombre constante a la cepa, al margen de los cambios en la taxonomía bacteriana.

Debido a esta dependencia de la cepa, la mayoría de la investigación básica y aplicada con PGPRs se ha desarrollado con un grupo de cepas reconocidas (algunos ejemplos están consignados en la Tabla 1). Es sobresaliente el hecho de que la gran mayoría de estas cepas pertenecen a los géneros *Azospirillum*, *Bacillus* y *Pseudomonas*, sin ser claro a qué se debe la mayor concentración de reportes en ellos. Sin embargo, para el caso de los pseudomonados fluorescentes<sup>5</sup>, y podría ser aplicable para los otros dos géneros, se piensa que su fácil manipulación, más que una mayor actividad, podría ser la causa de su

5 Las expresiones *Pseudomonas* spp. fluorescentes o pseudomonados fluorescentes, hacen referencia a un grupo de bacterias pertenecientes al género *Pseudomonas* con la habilidad de producir, en medio de cultivo, pigmentos fluorescentes bajo luz ultravioleta. Hay varias especies dentro de este grupo, siendo las más notables: *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens* y *P. syringae* (Haas y Défago, 2005).

mayor uso (Schroth y Becker, 1990). De todas formas, existen reportes de cepas PGPR en una gran diversidad de grupos bacterianos, tanto Gram positivos como negativos, dentro de los cuales se encuentran géneros tales como *Lysobacter* (Sullivan *et al.*, 2003), *Paenibacillus* (Haggag y Timmusk, 2008), *Azotobacter* (Harper y Lynch, 1979), *Burkholderia*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Kluyvera*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces*, *Variovorax*, y *Xanthobacter* (revisado por Lucy *et al.*, 2004)<sup>6</sup>.

▼ Tabla 1. Ejemplos de cepas reconocidas e importantes p d d ara el desarrollo de la en PGPRs.

Cepa	Registro comercial	Efecto benéfico	Referencias selectas
<i>Azospirillum brasilense</i> Cd	Zea-Nit™ (Italia, Alemania, Bélgica)	Biocontrol Biofertilización	Bashan <i>et al.</i> (1989) Holguín y Bashan (1996) Bashan y de-Bashan (2002)
<i>Azospirillum brasilense</i> Sp245	No comercializada	Biofertilización	Assmus <i>et al.</i> (1995) Dobbelaere <i>et al.</i> (1999)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB24	RhizoPlus® (Alemania) FZB24® (USA, Canadá)	Biocontrol Biofertilización	Kilian <i>et al.</i> (2000) Yao <i>et al.</i> (2006)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42	RhizoVital®42 (Alemania)	Biocontrol Biofertilización	Krebs <i>et al.</i> (1998) Koumoutsi <i>et al.</i> (2004b) Chen <i>et al.</i> (2007)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB45	No comercializada	Biofertilización	Krebs <i>et al.</i> (1998) Idriss <i>et al.</i> (2002)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> IN937a (también denominada GB99)	BioYield® (USA)	Biocontrol Biofertilización	Raupach y Kloepper (2000) Ryu <i>et al.</i> (2003) Ryu <i>et al.</i> (2004)
<i>Bacillus pumilus</i> INR-7 (también denominada GB34)	YieldShield® (USA)	Biocontrol Biofertilización	Wei <i>et al.</i> (1996) Zehnder <i>et al.</i> (2001)
<i>Bacillus subtilis</i> RB14	No comercializada	Biocontrol	Asaka y Shoda (1996) Mizumoto <i>et al.</i> (2007)
<i>Bacillus subtilis</i> GB03 (también denominada GB122)	BioYield® (USA)	Biocontrol Biofertilización	Raupach y Kloepper (2000) Ryu <i>et al.</i> (2003) Ryu <i>et al.</i> (2004)
<i>Bacillus subtilis</i> MBI600	Subtilex® (USA, Canadá, Argentina)	Biocontrol Incremento en nodulación	Knox <i>et al.</i> (2000) Estevez de Jensen <i>et al.</i> (2002)
<i>Bacillus subtilis</i> UA321	En proceso (Colombia)	Biocontrol Promoción de crecimiento	Ramírez (2008) Villegas <i>et al.</i> (2009)
<i>Paenibacillus polymyxa</i> B2	No comercializada	Biocontrol Biofertilización	Timmusk y Wagner (1999) Timmusk (2003)

<sup>6</sup> En este capítulo, las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno (ejemplo *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*) no son consideradas dentro del grupo de las PGPR. Existe controversia con respecto a si estas bacterias son verdaderas colonizadoras de raíces (requisito para ser una rizobacteria), ya que su nicho real son los nódulos y no las raíces en general.

<i>Pseudomonas fluorescens</i> CHA0	No comercializada	Biocontrol	Keel <i>et al.</i> (1992) Siddiqui y Shahid Shaukat (2003)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 2-79	No comercializada	Biocontrol	Weller y Cook (1983) Thomashow y Weller (1988) Mazzola <i>et al.</i> (1995)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> Pf-5	No comercializada	Biocontrol	Howell y Stipanovic (1979) Paulsen <i>et al.</i> (2005)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS365	No comercializada	Biocontrol	Chin-A-Woeng <i>et al.</i> (1997) Dekkers <i>et al.</i> (2000)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS417	No comercializada	Biocontrol	Leeman <i>et al.</i> (1995) Duijff <i>et al.</i> (Duijff <i>et al.</i> , 1998)
<i>Pseudomonas putida</i> WCS358	No comercializada	Biocontrol	de Weger <i>et al.</i> (1988) Lemanceau <i>et al.</i> (1992)
<i>Pseudomonas putida</i> 89B-27	No comercializada	Biocontrol	Liu <i>et al.</i> (1995a) Liu <i>et al.</i> (1995b)
<i>Pseudomonas putida</i> GR12-2	No comercializada	Biofertilización	Glick <i>et al.</i> (1994) Xie <i>et al.</i> (1996) Glick <i>et al.</i> (1997)
<i>Serratia marcescens</i> 90-166	No comercializada	Biocontrol	Liu <i>et al.</i> (1995b) Liu <i>et al.</i> (1995a)
<i>Serratia plymuthica</i> 2-67	No comercializada	Biocontrol	Wei <i>et al.</i> (1991)

## Efectos de las PGPRs en las plantas

Dentro de los efectos benéficos que las PGPRs pueden tener sobre las plantas hay dos grandes posibilidades: promoción del crecimiento (biofertilización) y reducción en el daño causado por enfermedades (biocontrol). Con respecto a la promoción del crecimiento vegetal, los beneficios reportados incluyen incrementos en las tasas de germinación, peso, altura, desarrollo radical, productividad, área foliar, contenido de clorofila, contenido de magnesio, contenido de nitrógeno, contenido de proteína, actividad hidráulica, tolerancia a la sequía y retraso en la senescencia foliar (revisado por Lucy *et al.*, 2004). La magnitud de estos incrementos es variable, oscilando desde un mínimo porcentaje hasta más de 400% en algunos casos (Lucy *et al.*, 2004; Zahir *et al.*, 2004). El origen de estas diferencias no es completamente entendido aún; sin embargo, se sabe que el resultado de la inoculación depende tanto de la planta y la cepa PGPR involucradas, como de las condiciones en las que es cultivado el vegetal.

Existen reportes de respuestas positivas a la inoculación con PGPRs en casi todo tipo de plantas, mono y dicotiledóneas, incluyendo plantas cultivadas, ornamentales y forestales (para un listado detallado ver revisiones hechas por Lucy *et al.*, 2004 y Zahir *et al.*, 2004).

Este listado de plantas aumenta constantemente con el avance de la investigación en PGPRs, sumando especies tanto de interés agrícola como ambiental. Mientras a nivel



agrícola se ha evaluado el uso de PGPR sobre todo tipo de cultivos, especialmente de ciclo corto (Zahir *et al.*, 2004), a nivel ambiental se ha hecho sobre plantas con potencial para la revegetalización de suelos degradados (Bacilio *et al.*, 2006; Bashan *et al.*, 1999) y para fitoremediación (Gerhardt *et al.*, 2009; Zhuang *et al.*, 2007). Son precisamente el tipo de planta y su finalidad las que determinan la variable a mejorar con la aplicación de la cepa PGPR. Por ejemplo, a nivel agrícola, el interés está normalmente concentrado en la promoción de algún parámetro vegetativo, floración o productividad, dependiendo del cultivo involucrado. Por su parte, a nivel ambiental, el interés generalmente se enfoca en el incremento de biomasa y el logro de un mejor establecimiento de plántulas bajo condiciones adversas, por ejemplo, salinidad, sequía, fertilidad baja, entre otros.

En cuanto a biocontrol, el uso de PGPRs puede reducir el desarrollo de enfermedades ocasionadas por hongos, Oomycetes, bacterias y nematodos, y en menor medida, por virus. Como en el caso de la promoción del crecimiento vegetal, la lista de patógenos antagonizados y enfermedades reducidas por PGPRs es larga, y sigue incrementando con el avance de las investigaciones (algunos ejemplos relevantes son presentados en la Tabla 2). Como es lógico, la mayoría de los reportes corresponde a patógenos del suelo, nicho colonizado por las rizobacterias; sin embargo, algunas cepas PGPR tienen la capacidad de inducir resistencia sistémica, y de esta manera, reducir el impacto de ciertas enfermedades foliares (Bakker *et al.*, 2007; Kloepper *et al.*, 2004).

▼ Tabla 2. Ejemplos de patógenos y enfermedades antagonizados por cepas PGPR reportados en revistas científicas indexadas.

Patógeno	Enfermedad / Planta hospedera	Cepa PGPR	Referencias selectas
Hongos			
<i>Gaeumannomyces graminis</i>	Putridión radical del trigo	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 2-79	Weller y Cook (1983) Bull <i>et al.</i> (1991) Hamdan <i>et al.</i> (1991)
		<i>Pseudomonas fluorescens</i> CHA0	Keel <i>et al.</i> (1992)
<i>Rhizoctonia solani</i>	Mal del talluelo / Algodón	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Pf-5	Howell y Stipanovic (1979)
		<i>Bacillus subtilis</i> GB03	Kloepper (1991)
	Mal del talluelo / Tomate	<i>Bacillus subtilis</i> RB14	Asaka y Shoda (1996)
		<i>Bacillus subtilis</i> GB03	Brewer y Larkin (2005)
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>raphani</i>	Marchitez / <i>Arabidopsis</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS417r	Van Wees <i>et al.</i> (1997) Pieterse <i>et al.</i> (1998)
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cucumerinum</i>	Marchitez / Pepino	<i>Pseudomonas putida</i> 89B-27 <i>Serratia marcescens</i> 90-166	Liu <i>et al.</i> (1995b)
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>dianthi</i>	Marchitez / Clavel	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS417r	van Peer <i>et al.</i> (1991)

<i>Colletotrichum orbiculare</i>	Antracnosis / Pepino	<i>Pseudomonas fluorescens</i> G8-4 <i>Pseudomonas aureofaciens</i> 25-23 <i>Pseudomonas aureofaciens</i> 36-5 <i>Pseudomonas putida</i> 34-13	Wei et al. (1991)
<i>Alternaria brassicicola</i>	Tizon / <i>Arabidopsis</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS417r	Ton et al. (2002)
<i>Verticillium dahliae</i>	Marchitez / Fresa	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB24	Tahmatsidou et al. (2006)
<b>Oomycetes</b>			
<i>Pythium aphanidermatum</i>	Pudrición de raíz / Pepino	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 63-49	McCullagh et al. (1996)
		<i>Pseudomonas aureofaciens</i> 63-28	Chen et al. (1998)
<i>Peronospora parasitica</i>	Mildeo / <i>Arabidopsis</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> CHA0	Iavicoli et al. (2003)
<i>Pythium ultimum</i>	Mal del talluelo / Tomate	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 5.014	Hultberg et al. (2000)
	Mal del talluelo / Algodón	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Pf-5	Howell y Stipanovic (1980)
	Mal del talluelo / Remolacha	<i>Pseudomonas fluorescens</i> B5	Schmidt et al. (2004)
		<i>Pseudomonas fluorescens</i> F113	Fenton et al. (1992)
<i>Phytophthora medicaginis</i>	Mal del talluelo / Alfalfa	<i>Bacillus cereus</i> UW85	Silo-Suh et al. (1994)
<b>Bacterias</b>			
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> ( <i>Pectobacterium carotovorum</i> )	Marchitez / Papa	<i>Pseudomonas fluorescens</i> TL-3	Burr et al. (1978) Kloepper (1983)
	Marchitez / <i>Arabidopsis</i>	<i>Bacillus subtilis</i> GB03 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> IN937a	Ryu et al. (2004)
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	Mancha angular / Pepino	<i>Pseudomonas putida</i> 89B-27 <i>Serratia marcescens</i> 90-166	Liu et al. (1995c)
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomate</i>	Mancha foliar / Tomate	<i>Azospirillum brasilense</i> Cd	Bashan y de-Bashan (2002)
	Mancha foliar / <i>Arabidopsis</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS417r	Pieterse et al. (1998)
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>armoraciae</i>	Mancha foliar / <i>Arabidopsis</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS417r	Ton et al. (2002)

<b>Nematodos</b>			
<i>Meloidogyne javanica</i>	Nemátodo del nudo radical / Tomate	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IE-6S+ <i>Pseudomonas fluorescens</i> CHA0	Siddiqui y Shaukat (2002)
<i>Meloidogyne incognita</i>	Nemátodo del nudo radical / Tomate	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42 <i>Bacillus subtilis</i> GB03 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> IN937a	Burkett-Cadena <i>et al.</i> (2008)
<i>Radopholus similis</i>	Nemátodo barrenador / Banano	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 95.3	Aalten <i>et al.</i> (1998)
<i>Globodera rostochiensis</i>	Nemátodo quiste / Papa	<i>Pseudomonas fluorescens</i> F113	Cronin <i>et al.</i> (1997)
<b>Virus</b>			
Virus del Mosaico del pepino (CMV)	Mosaico / Pepino	<i>Pseudomonas putida</i> 89B-27 <i>Serratia marcescens</i> 90-166	Raupach <i>et al.</i> (1996)
	Mosaico / Tomate	<i>Pseudomonas putida</i> 89B-27 <i>Serratia marcescens</i> 90-166	Raupach <i>et al.</i> (1996)
		<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> IN937a <i>Bacillus pumilus</i> SE34	Zehnder <i>et al.</i> (2000)
	Mosaico / Tabaco	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> O6	Ryu <i>et al.</i> (2007)
Virus de la Necrosis del tabaco (TNV)	Virosis / Tabaco	<i>Pseudomonas fluorescens</i> CHA0	Maurhofer <i>et al.</i> (1994)

Dentro de los trabajos más detallados con respecto al uso de PGPRs para biocontrol, sobresalen los desarrollados en torno al papel de los pseudomonados fluorescentes en el control de la Pudrición radical o Pietín del trigo, causada por el hongo *Gaeumannomyces graminis*. Las primeras investigaciones se enfocaron en el estudio de suelos supresivos<sup>7</sup> a la enfermedad, los cuales se desarrollaban a partir de cultivos sucesivos de trigo en el mismo terreno, y la correlación de estos suelos con mayores poblaciones de *Pseudomonas* spp. fluorescentes (Cook y Rovira, 1976). Los resultados iniciales evidenciaron que dichos suelos perdían su supresividad cuando eran sometidos a 60°C, temperatura que

7 De acuerdo con la definición clásica de Baker y Cook (1974), "suelo supresivo es el nombre dado a aquellos suelos en los cuales un patógeno no puede establecerse; o si se establece, fracasa en producir enfermedad; o donde se establece y causa enfermedad en un principio, pero ésta disminuye en la medida en que se continúa el cultivo de la misma planta".

podía eliminar bacterias no formadoras de endosporas (Cook y Rovira, 1976), o cuando eran fumigados con bromuro de metilo (Smiley, 1979). Dichas observaciones indicaban que la supresividad de esos suelos a *G. graminis* era debida a un factor biótico, y que el microorganismo (o micoorganismos) involucrado no era termotolerante. Al mismo tiempo, se encontró que estos suelos supresivos poseían un número mayor de colonias de pseudomonados fluorescentes capaces de inhibir el crecimiento del patógeno bajo condiciones *in vitro* (Cook y Rovira, 1976; Smiley, 1979). Cuando colonias selectas de estas bacterias eran reintroducidas en suelos esterilizados, el suelo recobraba sus características supresivas (Cook y Rovira, 1976; Smiley, 1978).

Estos resultados sugerían fuertemente un papel de los pseudomonados fluorescentes como agentes de biocontrol y, por consiguiente, llevaron a evaluar su aplicación como tratamiento a la semilla (Weller y Cook, 1983). Con dichas evaluaciones se comprobó que la inoculación de semillas de trigo con la cepa *Pseudomonas fluorescens* 2-79, la cual había sido aislada de suelos supresivos, reducía significativamente la enfermedad. Adicionalmente, esta reducción en el nivel de enfermedad significaba incrementos de hasta un 147 % en la productividad cuando se sembraba en suelos infestados con el patógeno. Observaciones paralelas evidenciaron que *P. fluorescens* 2-79 colonizaba activamente las raíces de trigo, y que podía ser detectada en poblaciones considerables, aún 3 semanas después de la siembra. Estudios posteriores permitieron conocer detalles sobre la biología y ecología de esta cepa (Bull *et al.*, 1991; Hamdan *et al.*, 1991; Ownley *et al.*, 1992) y establecer que la producción de un antibiótico era el mecanismo principal por el cual reducía la enfermedad (Mazzola *et al.*, 1995; Thomashow y Weller, 1988). Todos estos hallazgos fueron también confirmados por el estudio de otras cepas reconocidas, tales como *P. fluorescens* CHA0 (Keel *et al.*, 1992) y de las poblaciones bacterianas presentes en otros suelos supresivos a la misma enfermedad (Raaijmakers y Weller, 1998; Raaijmakers *et al.*, 1999). Dichos trabajos aportaron evidencia adicional de la eficacia de los pseudomonados fluorescentes productores de antibióticos en el control de *G. graminis*.

## Mecanismos de acción

Existe una amplia cantidad de literatura sobre los mecanismos por los cuales las rizobacterias pueden promover el crecimiento de las plantas. Este es un tema de máximo interés, tanto por razones prácticas como por curiosidad biológica. Se considera que el entendimiento de dichos mecanismos puede ayudar a una selección más eficiente de nuevas y mejores cepas PGPR, así como a mejorar el desempeño de las que hoy están disponibles. Sin embargo, los mecanismos de acción de las PGPRs siguen siendo poco entendidos y con evidencia contradictoria.

Varios posibles mecanismos de acción han sido propuestos. Para cada uno de ellos, la evidencia varía en naturaleza y cantidad, siendo contundente en algunos casos y aún insuficiente en la mayoría. Esta última situación responde a que una gran parte de la evidencia es de carácter indirecta y muchos de los experimentos son realizados bajo condiciones artificiales de crecimiento vegetal. Por ejemplo, el hallazgo de que una cepa PGPR es capaz de producir un determinado metabolito benéfico *in vitro*, por ejemplo, una

fitohormona o un sideróforo, algunas veces es considerado evidencia de que la producción de dicho compuesto es el mecanismo responsable de la promoción del crecimiento por la cepa (Asghar *et al.*, 2002; Cattelan *et al.*, 1999). Si bien este hallazgo es un indicio valioso, no constituye prueba alguna de que dicho metabolito será producido bajo condiciones naturales ni que alcanzará los niveles necesarios para impactar el desarrollo de la planta. Así mismo, la promoción del crecimiento vegetal bajo condiciones gnotobióticas, es decir en experimentos carentes de suelo y que solo involucran la planta y la bacteria introducida (sin microorganismos nativos), no es necesariamente un reflejo de lo que ocurre cuando la inoculación se hace bajo condiciones naturales. Evidencia parcial de esto se ha obtenido, por ejemplo, comparando inoculaciones con *B. amyloliquefaciens* FZB45 sobre repollo chino cultivado en bolsas de crecimiento radicular (un sistema gnotobiótico) y en suelo (Ramírez y Kloepper, 2009). Cuando las plántulas fueron crecidas en el sistema carente de suelo, la inoculación con FZB45 promovió el crecimiento vegetal de manera consistente; sin embargo, cuando fueron cultivadas en suelo, la promoción del crecimiento se expresó únicamente bajo ciertas condiciones.

Hoy en día se considera que el análisis de mutantes es la aproximación experimental que aporta la evidencia más contundente sobre los mecanismos de acción de las PGPRs (Thomashow *et al.*, 2002). Esta estrategia puede incluir la generación, mediante técnicas de ADN recombinante, y análisis de dos tipos de mutantes: sobreproductores de un determinado compuesto o molécula o deficientes en su producción. El uso de mutantes sobreproductores, o la introducción de un gen foráneo que dé la posibilidad de producción a una cepa originalmente no productora, es visto como una alternativa útil para determinar el potencial de un cierto metabolito. Sin embargo, esta aproximación no permite dilucidar el papel de la producción de dicho compuesto en una cepa PGPR tipo silvestre ni su relevancia bajo condiciones naturales, razón por la cual su uso es menos promovido. En contraste, el uso de mutantes deficientes es la estrategia de mayor aceptación. Estos mutantes son generados mediante la interrupción de una función específica en la cepa tipo silvestre y se analizan comparándolos con respecto a su cepa parental, que conserva dicha función. Teóricamente, la única diferencia entre la cepa tipo silvestre y su mutante sería la función interrumpida (en ausencia de efectos polares de la mutación), por lo cual cualquier diferencia en el fenotipo, es decir en su efecto sobre la planta, sería atribuida a la función perdida. De esta manera, la comparación entre el mutante y su cepa parental silvestre permite evaluar un rasgo bacteriano específico, ya que todas las demás funciones de la bacteria son mantenidas intactas. Adicionalmente, si esta comparación es llevada a cabo bajo las condiciones de evaluación apropiadas, también es posible hacer inferencias sobre la relevancia biológica y agronómica de dicho mecanismo.

A pesar de las grandes ventajas que implica el uso de mutantes deficientes, aún no se cuenta con evidencia de esta naturaleza para todos los mecanismos propuestos ni en todas las cepas de interés. Esto se debe, principalmente, a dificultades técnicas para la generación de los mutantes, pues se requiere contar con métodos apropiados de transformación y selección de transformantes, lo cual puede ser bastante problemático en el caso de ciertas cepas y mecanismos de acción. En consecuencia, para aquellos casos donde no es posible aún desarrollar análisis de mutantes es necesario hacer investigaciones con métodos indirectos, tales como la detección *in vitro* de compuestos, la adición

de filtrados de cultivo, o la detección de cambios específicos en los tejidos vegetales, entre otros.

Los mecanismos de acción de las PGPRs han sido tradicionalmente divididos en dos grandes grupos: directos e indirectos (Podile y Kishore, 2007). Esta división hace referencia a las dos formas en las cuales las PGPRs pueden beneficiar a la planta inoculada: biofertilización (mecanismos directos) y biocontrol (mecanismos indirectos), ambas mencionadas en el numeral anterior. A continuación se describen estos dos grupos de mecanismos.

## 1. Mecanismos directos

En cuanto a los mecanismos directos, hay dos grandes posibilidades: que la promoción del crecimiento de la planta sea una respuesta a un metabolito tipo fitohormona producido por la bacteria o a un incremento en la disponibilidad de nutrientes en el suelo. En la Tabla 3 se presenta un listado de los mecanismos directos propuestos hasta el momento, así como algunas de las publicaciones relevantes que soportan su participación. Para cada caso se señalan la cepa PGPR y la planta usada en el respectivo estudio, lo cual debe tenerse siempre en cuenta debido a que la respuesta de promoción de crecimiento puede ser altamente dependiente de ambos actores. Igualmente, se mencionan la aproximación experimental y las condiciones de evaluación usadas, las cuales pueden dar idea de qué tan concluyente es la evidencia y de su relevancia biológica y agronómica, respectivamente.

▼ Tabla 3. Mecanismos directos de promoción de crecimiento (biofertilización) propuestos en PGPRs y ejemplos de publicaciones que los soportan.

Mecanismo	Cepa	Planta	Aproximación experimental	Condición de evaluación	Referencias selectas
Fijación de nitrógeno	<i>Azospirillum brasilense</i> Wa5	Trigo	-Mutante sobreproductor	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Christiansen-Weniger y Van Veen (1991)
Solubilización de fósforo					
Inorgánico	<i>Enterobacter</i> sp. <sup>CND</sup> <i>Bacillus subtilis</i> <sup>CND</sup>	Cebolla	-Contenido de P en plantas inoculadas	Invernadero / Suelo	Toro <i>et al.</i> (1997)
Orgánico	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB45	Maíz	-Mutante deficiente	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Idriss <i>et al.</i> (2002)
Solubilización de potasio	<i>Bacillus edaphicus</i> NBT	Trigo	-Prueba <i>in vitro</i> -Mutantes deficiente y sobreproductor	Invernadero / Suelo	Sheng y He (2006)

Producción de AIA	<i>Azospirillum brasilense</i> Sp245	Trigo	-Mutante deficiente	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Dobbelaere <i>et al.</i> (1999)
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42	<i>Lemna minor</i> (acuática)	-Mutante deficiente	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Idris <i>et al.</i> (2007)
	<i>Pseudomonas putida</i> GR12-2	Canola	-Mutante deficiente	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Patten y Glick (2002)
Producción de giberelinas	<i>Bacillus cereus</i> MJ-1	Pimentón	-Contenido de giberelinas en tejido vegetal	Cámara de crecimiento / Suelo	Joo <i>et al.</i> (2005)
	<i>Bacillus pumilus</i> CECT 5105 <i>B. licheniformis</i> CECT 5106	Aliso común (árbol)	-Adición de filtrados de cultivo	Cámara de crecimiento / Medio axénico	Gutiérrez-Mañero <i>et al.</i> (2001)
Producción de citoquininas	<i>Paenibacillus polymyxa</i> B2	<i>Arabidopsis</i>	-Detección <i>in vitro</i>	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Timmusk <i>et al.</i> (1999) Timmusk (2003)
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> G20-18	Trigo Rábano	-Mutantes deficientes	No especificado	García de Salamone <i>et al.</i> (2001) y (2006)
Producción de ACC deaminasa	<i>Pseudomonas putida</i> GR12-2	Canola	-Mutantes deficientes	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Glick <i>et al.</i> (1994)
	<i>Enterobacter cloacae</i> UW4	Canola	-Mutante deficiente	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Li <i>et al.</i> (2000)
Producción de compuestos volátiles	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> IN937a <i>B. subtilis</i> GB03 <i>B. subtilis</i> 168	<i>Arabidopsis</i>	-Detección <i>in vitro</i> -Mutante deficiente de 168	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Ryu <i>et al.</i> (2003)

CND Cepa no determinada en el artículo.

El papel real de la fijación de N como un mecanismo de acción en PGPRs ha sido controversial. Mientras algunas investigaciones asocian la presencia de bacterias de vida libre fijadoras de N con aumentos en los contenidos de N en plantas, otras señalan que estos aumentos no se correlacionan con promoción del crecimiento vegetal (mirar revisiones hechas por Bowen y Rovira, 1999; y Zahir *et al.*, 2004). Para varios investigadores, el hecho de que poblaciones de este grupo de bacterias sean comúnmente encontradas en asocio con plantas sugiere que, bajo condiciones naturales, las plantas pueden beneficiarse del N fijado bacteriamente; sin embargo, se considera poco probable que las

cantidades de N aportado sean suficientes para soportar el crecimiento de las plantas en sistemas agrícolas, donde la demanda del elemento es alta (Glick *et al.*, 1999). En el caso de *Azospirillum* spp., por ejemplo, investigación conducida por alrededor de 20 años ha sugerido que puede haber un aporte de la fijación de nitrógeno, pero que regularmente esta contribución es inferior al 5% del incremento total en el crecimiento de la planta (Bashan y Holguin, 1997). Contrario a lo que se podría haber esperado, análisis de mutantes ha revelado que la fijación de N no es un mecanismo con participación significativa en la promoción del crecimiento vegetal ejercida por las cepas *A. brasilense* Cd (Bashan *et al.*, 1989) y *P. putida* GR12-2 (Lifshitz *et al.*, 1987). En ambos casos, la comparación de mutantes incapaces de fijar N, con respecto a su cepa parental tipo silvestre capaz de fijar el elemento, arrojó efectos positivos similares, descartando la relevancia de este mecanismo para el beneficio observado con la inoculación. Es importante tener en cuenta que estas observaciones no deben ser generalizadas y pueden ser dependientes de la cepa en cuestión; no obstante, cuestionan fuertemente la importancia de este mecanismo en cepas PGPR y soportan la idea de que la presencia de un rasgo fisiológico positivo no es garantía de su relevancia biológica para la promoción del crecimiento vegetal.

La solubilización de nutrientes en el suelo es otro de los mecanismos altamente reconocidos. Aunque en la literatura se menciona la solubilización de varios elementos, en realidad los estudios disponibles se concentran en la solubilización de P y, de manera marginal, de K. La transformación de P por rizobacterias hacia formas más disponibles para las plantas ha sido de sumo interés para los investigadores, llevando a que sea revisada con detalle en varias ocasiones (Richardson, 2001; Rodríguez y Fraga, 1999; Rodríguez *et al.*, 2006). La mayoría de los estudios han estado enfocados en la solubilización de formas inorgánicas de P, especialmente fosfatos de Ca y roca fosfórica. En menor proporción, y con mayor énfasis durante años recientes, se ha venido estudiando la posibilidad de solubilización de formas orgánicas de este elemento, la cual involucraría procesos enzimáticos. En general, hay suficiente información que demuestra que ciertas cepas PGPR son capaces de solubilizar P; sin embargo, es aún controversial si el crecimiento promovido por estas cepas es causado por dicha capacidad. Generalmente, estas mismas cepas PGPR solubilizadoras de P presentan otros rasgos con potencial benéfico, tales como la producción de fitohormonas, lo cual hace difícil evaluar el aporte de cada uno de los posibles mecanismos de acción de manera separada (de Freitas *et al.*, 1997). Adicionalmente, también existe la posibilidad de que estos mecanismos interactúen, lo cual haría que la expresión de uno de ellos afecte el aporte del otro mecanismo y que la respuesta de la planta sea aún más compleja (Ramírez y Kloepper, 2009).

La producción y modulación de la concentración de hormonas vegetales es, sin duda alguna, el mecanismo directo de promoción de crecimiento más estudiado. Dentro de las hormonas producidas por PGPRs, la mayor parte de la atención ha sido puesta en el ácido indol-acético (AIA). Existen diversos estudios y revisiones en torno a la producción de esta hormona por rizobacterias y su relación con la promoción del crecimiento vegetal (Glick *et al.*, 1999). Incluso, aspectos básicos sobre su síntesis en bacterias han sido dilucidados y revisados en detalle (Patten y Glick, 1996). La evidencia con respecto



a la importancia del AIA como un mecanismo de promoción directa del crecimiento por rizobacterias es abundante y sólida (ver ejemplos claves en la Tabla 3). No obstante, todavía existen preguntas bastante relevantes, tanto a nivel básico como aplicado, que requieren ser abordadas. Un ejemplo de ello es que aún no se tiene claro el papel de la producción de esta hormona bajo condiciones naturales ni la relevancia agronómica que ello pueda tener. Aunque estudios basados en el análisis de mutantes han permitido dilucidar claramente que la producción de AIA por rizobacterias es de relevancia biológica, la evaluación de dichos mutantes se ha llevado a cabo usando sistemas gnotobióticos carentes de suelo (ver referencias citadas en Tabla 3). Por esta razón, no es claro todavía el papel que juega la producción de esta hormona cuando las PGPRs son inoculadas en presencia de suelo, situación dada bajo condiciones agrícolas. Es lógico pensar que las condiciones del ambiente del suelo y la rizosfera tendrán una influencia importante en la producción de AIA, como es sugerido por las variaciones en su producción cuando diferentes condiciones de pH, concentración de oxígeno y triptófano, y disponibilidad de C y N son dadas *in vitro* (revisado por Glick *et al.*, 1999).

Existen otros factores que pueden tener una gran influencia en el papel jugado por la producción de AIA por rizobacterias que permanecen poco explorados. Por ejemplo, la capacidad de producir AIA por parte de algunas PGPRs parece no tener un efecto independiente, sino que puede interactuar con otros mecanismos de acción presentes en la cepa (Ramírez y Kloeppe, 2009). Así mismo, la inoculación con rizobacterias productoras de esta hormona puede afectar la respuesta de la planta a otros microorganismos benéficos, tales como las bacterias simbióticas fijadoras de N (Malik y Sindhu, 2008). Factores como la especie vegetal en cuestión (Dubeikovsky *et al.*, 1993; Pilet y Saugy, 1987) y la concentración de inóculo (Dobbelaere *et al.*, 1999) han mostrado que son importantes cuando la interacción entre planta y bacteria está mediada por este mecanismo de acción. Igualmente, debe tenerse en cuenta que la acumulación de altos niveles de AIA en la rizosfera puede incluso tener efectos deletéreos en el desarrollo de la planta, como es sugerido por estudios que involucran inoculaciones (Loper y Schroth, 1986; Markus *et al.*, 1999) o altas poblaciones naturales de bacterias productoras de la hormona (Kloeppe *et al.*, 2006; Suárez *et al.*, 2008).

En cuanto a la modulación de la concentración de hormonas, la producción de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminasa es el caso mejor caracterizado. Este mecanismo, encontrado mayoritariamente en pseudomonados, está estrechamente relacionado con la producción de AIA por la rizobacteria y la respuesta de la planta al etileno (Glick *et al.*, 2007a). La relación se encuentra en que una de las respuestas de la planta a altas concentraciones de AIA es la síntesis de ACC, quien es el precursor inmediato del etileno. El etileno, además de sus funciones sobre la senescencia, afecta ciertos factores de respuesta a auxinas, actuando como inhibidor de la elongación de raíces (Glick *et al.*, 2007b). Cuando una bacteria productora de ACC deaminasa se encuentra en asocio con las raíces de la planta, una porción del ACC es drenado desde la planta y la bacteria lo consume como fuente de N. Como resultado de esta interacción, los niveles internos de ACC, y por lo tanto de etileno, se reducen en el vegetal, con la consecuencia de que los efectos de senescencia e inhibición de la elongación radical, producidos por el etileno, también son reducidos (Glick *et al.*, 1998). Generalmente, la misma cepa PGPR, además

de producir ACC deaminasa, también produce AIA, lo cual permite un efecto más marcado de la hormona sobre la promoción del crecimiento. Esto se debe a que el incremento en la síntesis de ACC en la planta, dado como respuesta al AIA producido por la bacteria, es contrarrestado por el drenaje e hidrólisis de ACC hecho por la misma bacteria (Glick *et al.*, 2007a).

Como puede apreciarse, la producción de ACC deaminasa es un mecanismo que ha sido dilucidado con bastante nivel de detalle y está soportado por fuerte evidencia. Sin embargo, como en el caso del AIA, su relevancia agrónoma está aún por determinarse, toda vez que los estudios bajo condiciones agrícolas son todavía escasos. La evaluación de mutantes se ha hecho en un número reducido de plantas de importancia económica y en sistemas gnotobióticos, de manera que la expresión de este mecanismo y la respuesta de la planta bajo condiciones naturales aún requieren mayor caracterización. En el caso de otras hormonas, como las giberelinas y citoquininas, la evidencia de que su producción sea un mecanismo de acción con relevancia biológica para la promoción del crecimiento vegetal por PGPRs es más escasa (Tabla 3). Basado en principios de fisiología vegetal, se considera altamente probable que la producción bacteriana de este tipo de hormonas tenga un papel relevante (García de Salamone *et al.*, 2006); no obstante, el soporte experimental para dicha hipótesis es todavía poco.

Un caso interesante lo constituye la producción de compuestos orgánicos volátiles (COVs). Inoculaciones en sistemas gnotobióticos han mostrado que COVs tales como 2,3-butanediol y acetoína, los cuales son producidos por algunas cepas PGPR, pueden disparar procesos de transducción de señales en la planta que llevan a la promoción de crecimiento (Ryu *et al.*, 2003) y protección a enfermedades (Ryu *et al.*, 2004), simultáneamente. Estudios detallados revelaron que plantas de *Arabidopsis* responden a estos compuestos con aumentos en la capacidad fotosintética (Zhang *et al.*, 2008) y la toma de hierro (Zhang *et al.*, 2009). Este tipo de respuestas en la planta, aunque todavía no cuentan con evidencia experimental de relevancia agrónoma, pueden tener un impacto importante para la agricultura. Esto ha llevado a que recientemente se introduzca el concepto de *Tolerancia Sistémica Inducida* (IST, por la sigla en inglés para *Induced Systemic Tolerance*), para hacer referencia a la tolerancia que varios grupos de PGPRs pueden inducir hacia factores de estrés comunes en agricultura, tales como salinidad y sequía (Yang *et al.*, 2009).

## 2. Mecanismos indirectos

Como fue mencionado antes, algunas cepas PGPR actúan como agentes de biocontrol de enfermedades. Los mecanismos involucrados en esta categoría, denominados también indirectos, son diversos (Tabla 4). Sin lugar a dudas, la gran mayoría de la investigación a este respecto se ha concentrado en la producción de antibióticos, representados en una gran diversidad de moléculas y organismos blanco. La mayor parte de estos estudios se han llevado a cabo en pseudomonados (revisado por Raaijmakers *et al.*, 2002) y *Bacillus* spp. (revisado por Stein, 2005), y aunque son muchos los antibióticos

detectados en cepas PGPR, solo para algunos pocos existe evidencia concluyente de su participación en biocontrol bajo condiciones naturales. Algunos de los casos mejor caracterizados han sido los de la producción de 2,4-diacetil-floroglucinol (2,4-DAPG) y fenazina en pseudomonados, y de iturina A y surfactina en *Bacillus* spp. (Tabla 4). La evaluación de mutantes deficientes en la producción de estos antibióticos, la cual se ha llevado a cabo bajo condiciones experimentales relevantes para agricultura, ha evidenciado la importancia de estos antibióticos en biocontrol. Así mismo, estudios complementarios han demostrado que la producción de algunos de estos antibióticos es un mecanismo funcional bajo condiciones naturales (Raaijmakers y Weller, 1998) y que poblaciones bacterianas productoras de ellos están estrechamente asociadas con las plantas (De La Fuente *et al.*, 2006).

Por su parte, a la gran mayoría de antibióticos reportados se les ha atribuido un papel en el control de fitopatógenos a partir de evidencia indirecta como el uso de filtrados de cultivo (Ongena *et al.*, 2005), la detección y aplicación del compuesto puro (Wang *et al.*, 2007), o las pruebas *in vitro* (Koumoutsis *et al.*, 2004a). Estas aproximaciones han permitido vislumbrar la amplia gama de posibilidades que tiene la producción de antibióticos, como un mecanismo de biocontrol por PGPR; no obstante, se requieren pruebas in planta con mutantes y condiciones experimentales apropiadas que permitan confirmar si las observaciones hechas hasta el momento tienen relevancia agronómica, lo cual no siempre es el caso (Mazzola *et al.*, 2007).

▼ Tabla 4. Mecanismos indirectos de promoción de crecimiento (dd biocontrol) propuestos en PGPRs y ejemplos de publicaciones que los soportan.

Mecanismo	Cepa	Planta (patógeno)	Aproximación experimental	Condición de evaluación	Referencias selectas
Producción de antibióticos <sup>1</sup>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> CHA0	Tabaco ( <i>Thielaviopsis basicola</i> ) Trigo ( <i>Gaeumannomyces graminis</i> )	-Mutante deficiente	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Keel <i>et al.</i> (1992)
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 2-79	Trigo ( <i>Gaeumannomyces graminis</i> )	-Mutantes deficientes	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Thomashow y Weller (1988)
	<i>Bacillus subtilis</i> RB14	Tomate ( <i>Rhizoctonia solani</i> )	-Mutante deficiente	Cámara de crecimiento / Suelo	Asaka y Shoda (1996)
Producción de glucanasas	<i>Burkholderia cepacia</i> <sup>CND</sup> (antes <i>Pseudomonas cepacia</i> )	Algodón ( <i>Rhizoctonia solani</i> ) Frijol ( <i>Sclerotium rolfsii</i> ) Pepino ( <i>Pythium ultimum</i> )	-Detección <i>in vitro</i>	-Invernadero / Suelo - Estudio <i>In vitro</i>	Fridlender <i>et al.</i> (1993)
	<i>Paenibacillus</i> sp. 300 <i>Streptomyces</i> sp. 385	Pepino ( <i>Fusarium oxysporum</i> )	-Detección <i>in vitro</i>	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Singh <i>et al.</i> (1999)

Producción de quitinasas	<i>Serratia marcescens</i> <sup>CND</sup>	Frijol ( <i>Sclerotium rolfsii</i> )	-Detección <i>in vitro</i>	Invernadero / Suelo	Ordentlich <i>et al.</i> (1988)
	<i>Enterobacter agglomerans</i> IC1270	Algodón ( <i>Rhizoctonia solani</i> )	-Detección <i>in vitro</i> -Mutantes deficientes	Invernadero / Suelo	Chernin <i>et al.</i> (1995)
	<i>Paenibacillus</i> sp. 300 <i>Streptomyces</i> sp. 385	Pepino ( <i>Fusarium oxysporum</i> )	-Detección <i>in vitro</i>	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Singh <i>et al.</i> (1999)
Producción de sideróforos	<i>Pseudomonas putida</i> B10	Papa ( <i>Erwinia carotovora</i> )	-Detección <i>in vitro</i>	-Invernadero / Suelo - Estudio <i>In vitro</i>	Kloepper <i>et al.</i> (1980)
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> CHA0	Tabaco ( <i>Thielaviopsis basicola</i> )	-Mutante deficiente	Cámara de crecimiento / Suelo	Keel <i>et al.</i> (1989)
Inducción de resistencia sistémica (ISR)	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS417	Clavel ( <i>Fusarium oxysporum</i> )	-Separación entre bacteria y patógeno	Invernadero / Sistema gnotobiótico	van Peer <i>et al.</i> (1991)
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> G8-4 <i>P. putida</i> 34-13 (otras)	Pepino ( <i>Colletotrichum orbiculare</i> )	-Separación entre bacteria y patógeno	Invernadero / Sustrato para pote	Wei <i>et al.</i> (1991)
	<i>Bacillus subtilis</i> GB03 B. <i>amyloliquefaciens</i> IN937a <i>B. subtilis</i> 168 <sup>2</sup>	<i>Arabidopsis</i> ( <i>Erwinia carotovora</i> )	-Separación entre bacteria y patógeno -Detección <i>in vitro</i> -Mutante deficiente	Cámara de crecimiento / Sistema gnotobiótico	Ryu <i>et al.</i> (2004)
Quorum quenching <sup>3</sup>	<i>Bacillus</i> sp. 240B1	Papa, repollo, otros ( <i>Erwinia carotovora</i> )	-Uso de patógeno transformado	Laboratorio	Dong <i>et al.</i> (2000)

CND Cepa no determinada en el artículo.

- 1 Un gran número de antibióticos han sido reportados en cepas *PGPR*; sin embargo, tan solo para unos pocos existe evidencia de participación significativa en biocontrol.
- 2 Estas tres cepas inducen ISR por medio de la producción de compuestos volátiles.
- 3 Degradación de moléculas de comunicación intercelular de patógenos (N-acil-homoserina lactonas, AHLs).

Otros dos mecanismos indirectos ampliamente reconocidos y con fuerte soporte experimental son la producción de sideróforos y la inducción de resistencia sistémica (ISR, por la sigla en inglés para *Induced Systemic Resistance*). El papel jugado por los sideróforos -moléculas orgánicas de bajo peso molecular con una alta capacidad para quelatar ("capturar") hierro-, fue sugerido desde el comienzo mismo de los estudios sistemáticos con *PGPRs* (Kloepper *et al.*, 1980). La hipótesis general ha planteado que la capacidad de sintetizar estas moléculas estaría confiriendo una ventaja competitiva a la bacteria que los produce, la cual sería más eficiente en la obtención de hierro en ambientes donde este elemento sea escaso (Leong, 1986; Neilands y Leong, 1986). No obstante, se ha observado que este mecanismo no es relevante en todos los patosistemas y es altamente

dependiente de las condiciones del medio en que actúa la bacteria (Keel *et al.*, 1989). Esto ha llevado a considerar que la producción de sideróforos puede contribuir a la supresión de enfermedades en algunas situaciones, pero no como único mecanismo de acción (Haas y Dégago, 2005). La ISR, por su parte, ha sido descrita en diversos patosistemas y haciendo uso de diferentes cepas PGPR (revisado por van Loon *et al.*, 1998). Aunque la gran mayoría de los estudios han sido realizados a nivel de laboratorio e invernadero, contrasta con la producción de sideróforos al haber mostrado su efectividad, incluso bajo condiciones de campo (Wei *et al.*, 1996). Con respecto a este mecanismo, se han descrito aspectos básicos interesantes que van desde las rutas de señalización celular en la planta hasta los determinantes bacterianos que disparan la respuesta en el vegetal (Bakker *et al.*, 2007; Kloepper *et al.*, 2004; van Loon y Bakker, 2003). Este constituye, en la actualidad, un campo de investigación intenso que trata de responder a una gran cantidad de preguntas que aún persisten frente a este fenómeno.

La investigación en torno a los mecanismos de acción en PGPRs es un área sumamente dinámica. Constantemente se buscan nuevos mecanismos y tratan de evaluarse aquellos ya considerados. Rasgos como la producción de quitinasas y  $\beta$ -glucanasas (ambas enzimas capaces de degradar la pared celular de los hongos) han sido propuestos como mecanismos de acción por largo tiempo (Compant *et al.*, 2005); sin embargo, la evidencia experimental directa es todavía escasa e incluso inconsistente (De Boer *et al.*, 1998). Por otro lado, procesos tales como la producción de proteasas para el control de nematodos (Lian *et al.*, 2007), detoxificación y degradación de factores de virulencia producidos por fitopatógenos (Zhang y Birch, 1996), o la degradación de moléculas de comunicación intercelular de fitopatógenos (N-acil-homoserina lactonas, AHLs; Dong *et al.*, 2000) están dentro de los mecanismos propuestos más recientemente. El papel que pueda jugar este tipo de procesos resulta innovador y atractivo, pero aún se requiere evidencia experimental más concluyente que involucre interacciones directas patógeno-plantas.

## Aplicaciones prácticas y futuro del uso de PGPR bajo condiciones tropicales

Sin duda, las PGPRs tendrán en el futuro mayores usos bajo condiciones tropicales que en zonas templadas, debido a diferencias agrícolas, climáticas y sociales. Cada una de estas diferencias crea oportunidades particulares para el uso de PGPR, las cuales son adicionalmente potenciadas por la infraestructura para investigación que ya existe en muchos países tropicales. En Colombia, por ejemplo, en la actualidad se cuenta con trabajos sistemáticos en PGPRs liderados en diferentes niveles: gubernamental, universitario, gremial y privado, mostrando el potencial encontrado en el uso de esta tecnología.

La agricultura tropical tiene la fortaleza de estar caracterizada para una gran diversidad de plantas cultivadas, que comprende desde cultivos tropicales, como banano, café y palma de aceite, hasta cultivos propios de zonas templadas como papa, trigo, y soya.

Para empezar hallar PGPRs que mejoren los cultivos en el trópico, es necesario hacer investigaciones básicas sobre la microbiología de cada cultivo y hacer colecciones de rizobacterias nativas. Estas colecciones serán recursos esenciales para el futuro agrícola de cada país.

En la mayoría de los países tropicales también se encuentran importantes diferencias en altitud dentro de las zonas agrícolas, lo cual crea una interesante diversidad de climas. En este contexto, el desarrollo de una tecnología con PGPRs para un cultivo que crece en varias altitudes, puede usar dos enfoques. Se pueden seleccionar cepas para cada zona altitudinal o se puede diseñar una mezcla de cepas a partir de colecciones nacionales que permita mejorar el cultivo en todas ellas. Estas mezclas de cepas PGPR también pueden responder a diferencias de suelo, regímenes de lluvia, cultivares, entre otros. Por consiguiente, los países tropicales pueden ser líderes en investigaciones sobre mezclas de PGPRs.

Los factores sociales en los países tropicales también crean oportunidades para usar PGPRs de manera única. En los países templados, como Estados Unidos y Canadá, el uso de PGPRs es, en última instancia, para los agricultores, pero llegando hasta ellos a través de compañías de negocios agrícolas. Una particularidad de estas compañías, en la actualidad, es su fuerte tendencia a integrar servicios diferentes en un mismo producto. Por ejemplo, la mayoría de las PGPRs son comercializadas en la actualidad junto con fungicidas químicos como tratamiento a las semillas. Por tal razón, las PGPRs que vayan a ser integradas bajo este esquema comercial necesitan sobrevivir por lo menos un año como una formulación seca, exigencia que prácticamente elimina la posibilidad de uso de *Pseudomonas* spp., *Azospirillum* spp. y otras especies que no producen esporas. Es probable que esquemas como el tratamiento a la semilla sean usados en países tropicales o que las condiciones del mercado local exijan formulaciones con larga vida útil, situaciones en las que cepas PGPR capaces de formar esporas serán una excelente alternativa. Sin embargo, factores sociales propios de países tropicales crean otras oportunidades tales como la producción local de PGPRs para su aplicación en plantaciones propias o de la zona. Este tipo de esquemas ha mostrado ya su efectividad en el uso de hongos benéficos como *Trichoderma* o *Beauveria*, y aunque la producción de bacterias tiene requerimientos técnicos mayores que la de hongos, es una oportunidad que vale la pena que sea explorada.

Finalmente, en los países tropicales existen sistemas de agricultura de subsistencia, en los cuales una familia cultiva una parcela pequeña para cubrir sus propias necesidades, frecuentemente sin el uso de fertilizantes que contengan un nivel de nutrientes suficiente. La adopción de PGPRs en estas situaciones es prometedora, ya que podría aumentar el rendimiento de los cultivos y mejorar la vida de los campesinos; sin embargo, no existen todavía sistemas de producción y entrega de PGPRs con este propósito.

## Referencias bibliográficas

- Aalten, P.M., D. Vitour, D. Blanvillain, S.R. Gowen y L. Sutra. 1998. Effect of rhizosphere fluorescent *Pseudomonas* strains on plant-parasitic nematodes *Radopholus similis* and *Meloidogyne* spp. Letters in Applied Microbiology 27: 357-361.
- Asaka, O. y M. Shoda. 1996. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-Off of tomato with *Bacillus subtilis* RB14. Appl. Environ. Microbiol. 62: 4081-4085.
- Asghar, H. Asghar, Zahir, Z. Zahir, Arshad, M. Arshad, Khaliq y A. Khaliq. 2002. Relationship between *in vitro* production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. Biology and Fertility of Soils 35: 231-237.
- Assmus, B., P. Hutzler, G. Kirchhof, R. Amann, J.R. Lawrence y A. Hartmann. 1995. *In situ* localization of *Azospirillum brasilense* in the rhizosphere of wheat with fluorescently labeled, rRNA-targeted oligonucleotide probes and scanning confocal laser microscopy. Applied and Environmental Microbiology 61: 1013-1019.
- Bacilio, M., J.P. Hernandez y Y. Bashan. 2006. Restoration of giant cardon cacti in barren desert soil amended with common compost and inoculated with *Azospirillum brasilense*. Biology and Fertility of Soils 43: 112-119.
- Baker, K. y R.J. Cook. 1974. Biological control of plant pathogens W.H. Freeman and Company. San Francisco. 433 p.
- Bakker, P.A.H.M., C.M.J. Pieterse y L.C. van Loon. 2007. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. Phytopathology 97: 239-243.
- Banerjee, M.R., L. Yesmin y J.K. Vessey. 2006. Plant growth- promoting rhizobacteria as biofertilizers and biopesticides. p. 137-181. En: Rai M. K. (ed.). Handbook of Microbial Biofertilizers. Food Products Press. Ney York.
- Barazani, O. y J. Friedman. 1999. Allelopathic bacteria and their impact on higher plants. Critical Reviews in Plant Sciences 18: 741-755.
- Bashan, Y. y G. Holguin. 1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). Canadian Journal of Microbiology 43: 103-121.
- Bashan, Y. y G. Holguin. 1998. Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (plant-growth-promoting bacteria) and PGPB. Soil Biology and Biochemistry 30: 1225-1228.
- Bashan, Y. y L.E. de-Bashan. 2002. Protection of tomato seedlings against infection by *Pseudomonas syringae* pv. tomato by using the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. Applied and Environmental Microbiology 68: 2637-2643.
- Bashan, Y., M. Singh y H. Levanony. 1989. Contribution of *Azospirillum brasilense* Cd to growth of tomato seedlings is not through nitrogen fixation. Canadian Journal of Botany 67: 2429-2434.
- Bashan, Y., A. Rojas y M.E. Puente. 1999. Improved establishment and development of three cactus species inoculated with *Azospirillum brasilense* transplanted into disturbed urban desert soil. Canadian Journal of Microbiology 45: 441-451.
- Beurton, P. 2002. Ernst Mayr through time on the biological species concept — a conceptual analysis. Theory in Biosciences 121: 81-98.
- Bowen, G.D. y A.D. Rovira. 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. Advances in Agronomy 66: 1-102.
- Brewer, M.T. y R.P. Larkin. 2005. Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. Crop Protection 24: 939-950.
- Bull, C.T., D.M. Weller y L.S. Thomashow. 1991. Relationship between root colonization and suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. tritici by *Pseudomonas fluorescens* strain 2-79. Phytopathology 81: 954-959.

- Burkett-Cadena, M., N. Kokalis-Burelle, K.S. Lawrence, E. van Santen y J.W. Kloepper. 2008. Suppressiveness of root-knot nematodes mediated by rhizobacteria. *Biological Control* 47: 55-59.
- Burr, T.J., M.N. Schroth y T. Suslow. 1978. Increased potato yields by treatment of seedpieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*. *Phytopathology* 68: 1377-1383.
- Cattelan, A.J., P.G. Hartel y J.J. Fuhrmann. 1999. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Science Society of America Journal* 63: 1670-1680.
- Chen, C., R.R. Bélanger, N. Benhamou y T.C. Paulitz. 1998. Induced systemic resistance (ISR) by *Pseudomonas* spp. impairs pre- and post-infection development of *Pythium aphanidermatum* on cucumber roots. *European Journal of Plant Pathology* 104: 877-886.
- Chen, X.H., A. Koumoutsis, R. Scholz, A. Eisenreich, K. Schneider, I. Heinemeyer, B. Morgenstern, B. Voss, W.R. Hess, O. Reva, H. Junge, B. Voigt, P.R. Jungblut, J. Vater, R. Sussmuth, H. Liesegang, A. Strittmatter, G. Gottschalk y R. Borriss. 2007. Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Nature Biotechnology* 25: 1007-1014.
- Chernin, L., Z. Ismailov, S. Haran y I. Chet. 1995. Chitinolytic *Enterobacter agglomerans* antagonistic to fungal plant pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 1720-1726.
- Chin-A-Woeng, T.F.C., W. de Priester, A.J. van der Bij y B.J.J. Lugtenberg. 1997. Description of the colonization of a gnotobiotic tomato rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strain WCS365, using scanning electron microscopy. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 10: 79-86.
- Christiansen-Weniger, C. y J.A. Van Veen. 1991. NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-excreting *Azospirillum brasilense* mutants enhance the nitrogen supply of a wheat host. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 3006-3012.
- Cohan, F.M. 2002. What are bacterial species? *Annual Review of Microbiology* 56: 457-487.
- Compant, S., B. Duffy, J. Nowak, C. Clément y 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: 4951-4959.
- Cook, R.J. y A.D. Rovira. 1976. The role of bacteria in the biological control of *Gaeumannomyces graminis* by suppressive soils. *Soil Biology and Biochemistry* 8: 269-273.
- Cronin, D., Y. Moenne-Loccoz, A. Fenton, C. Dunne, D.N. Dowling y F. O'Gara. 1997. Role of 2,4-diacetylphloroglucinol in the interactions of the biocontrol pseudomonad strain F113 with the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 1357-1361.
- De Boer, W., P.J.A. Klein Gunnewiek, P. Lafeber, J.D. Janse, B.E. Spit y J.W. Woldendorp. 1998. Antifungal properties of chitinolytic dune soil bacteria. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 193-203.
- de Freitas, J.R., M.R. Banerjee y J.J. Germida. 1997. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). *Biology and Fertility of Soils* 24: 358-364.
- De La Fuente, L., B.B. Landa y D.M. Weller. 2006. Host crop affects rhizosphere colonization and competitiveness of 2, 4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 96: 751-762.
- de Weger, L.A., J.J. van Arendonk, K. Recourt, G.A. van der Hofstad, P.J. Weisbeek y B. Lugtenberg. 1988. Siderophore-mediated uptake of Fe<sup>3+</sup> by the plant growth-stimulating *Pseudomonas putida* strain WCS358 and by other rhizosphere microorganisms. *Journal of Bacteriology* 170: 4693-4698.
- Dekkers, L.C., I.H.M. Mulders, C.C. Phoelich, T.F.C. Chin-A-Woeng, A.H.M. Wijffjes y B.J.J. Lugtenberg. 2000. The sss colonization gene of the tomato-*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS365 can improve root colonization of other wild-type *Pseudomonas* spp. bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13: 1177-1183.



- Dobbelaere, S., A. Croonenborghs, A. Thys, A. Vande Broek y J. Vanderleyden. 1999. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant and Soil* 212: 155-164.
- Dong, Y.-H., J.-L. Xu, X.-Z. Li y L.-H. Zhang. 2000. AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97: 3526-3531.
- Dubeikovsky, A.N., E.A. Mordukhova, V.V. Kochetkov, F.Y. Polikarpova y A.M. Boronin. 1993. Growth promotion of blackcurrant softwood cuttings by recombinant strain *Pseudomonas fluorescens* BSP53a synthesizing an increased amount of indole-3-acetic acid. *Soil Biology and Biochemistry* 25: 1277-1281.
- Duijff, B.J., D. Pouhair, C. Olivain, C. Alabouvette y P. Lemanceau. 1998. Implication of systemic induced resistance in the suppression of fusarium wilt of tomato by *Pseudomonas fluorescens* WC-S417r and by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. *European Journal of Plant Pathology* 104: 903-910.
- Estevez de Jensen, C., J.A. Percich y P.H. Graham. 2002. Integrated management strategies of bean root rot with *Bacillus subtilis* and *Rhizobium* in Minnesota. *Field Crops Research* 74: 107-115.
- Fenton, A.M., P.M. Stephens, J. Crowley, M. O'Callaghan y F. O'Gara. 1992. Exploitation of gene(s) involved in 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthesis to confer a new biocontrol capability to a *Pseudomonas* strain. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 3873-3878.
- Fridlender, M., J. Inbar y I. Chet. 1993. Biological control of soilborne plant pathogens by a  $\beta$ -1,3 glucanase-producing *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biology and Biochemistry* 25: 1211-1221.
- García de Salamone, I., R. Hynes y L. Nelson. 2006. Role of cytokinins in plant growth promotion by rhizosphere bacteria. p. 173-195. En: Siddiqui Z. A. (ed.). *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Springer. The Netherlands.
- García de Salamone, I.E., R.K. Hynes y L.M. Nelson. 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Canadian Journal of Microbiology* 47: 404-411.
- Garland, J.L. y A.L. Mills. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 2351-2359.
- Gerhardt, K.E., X.-D. Huang, B.R. Glick y B.M. Greenberg. 2009. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. *Plant Science* 176: 20-30.
- Glick, B., Z. Cheng, J. Czarny y J. Duan. 2007a. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *European Journal of Plant Pathology* 119: 329-339.
- Glick, B.R., D.M. Penrose y J. Li. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology* 190: 63-68.
- Glick, B.R., C.B. Jacobson, M.M.K. Schwarze y J.J. Pasternak. 1994. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 do not stimulate canola root elongation. *Canadian Journal of Microbiology* 40: 911-915.
- Glick, B.R., C. Liu, S. Ghosh y E.B. Dumbroff. 1997. Early development of canola seedlings in the presence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Soil Biology and Biochemistry* 29: 1233-1239.
- Glick, B.R., C.L. Patten, G. Holguin y D.M. Penrose. 1999. *Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria* Imperial College Press. London. 267 p.
- Glick, B.R., B. Todorovic, J. Czarny, Z. Cheng, J. Duan y B. McConkey. 2007b. Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences* 26: 227-242.
- Gutiérrez-Mañero, F.J., B. Ramos-Solano, A. Probanza, J. Mehouchi, F.R. Tadeo y M. Talon. 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia Plantarum* 111: 206-211.

- Haas, D. y G. Défago. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology* 3: 307-319.
- Haggag, W.M. y S. Timmusk. 2008. Colonization of peanut roots by biofilm-forming *Paenibacillus polymyxa* initiates biocontrol against crown rot disease. *Journal of Applied Microbiology* 104: 961-969.
- Hamdan, H., D.M. Weller y L.S. Thomashow. 1991. Relative importance of fluorescent siderophores and other factors in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. tritici by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 and M4-80R. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 3270-3277.
- Harper, S.H.T. y J.M. Lynch. 1979. Effects of *Azotobacter chroococcum* on barley seed germination and seedling development. *Journal of General Microbiology* 112: 45-51.
- Holguin, G. y Y. Bashan. 1996. Nitrogen-fixation by *Azospirillum brasilense* Cd is promoted when co-cultured with a mangrove rhizosphere bacterium (*Staphylococcus* sp.). *Soil Biology and Biochemistry* 28: 1651-1660.
- Howell, C.R. y R.D. Stipanovic. 1979. Control of *Rhizoctonia solani* in cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathology* 69: 480-482.
- Howell, C.R. y R.D. Stipanovic. 1980. Suppression of *Pythium ultimum*-induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. *Phytopathology* 70: 712-715.
- Hultberg, M., B. Alsaniy y P. Sundin. 2000. In vivo and in vitro interactions between *Pseudomonas fluorescens* and *Pythium ultimum* in the suppression of damping-off in tomato seedlings. *Biological Control* 19: 1-8.
- Iavicoli, A., E. Boutet, A. Buchala y J.-P. Métraux. 2003. Induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* in response to root inoculation with *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 16: 851-858.
- Idris, E.E., D.J. Iglesias, M. Talon y R. Borriss. 2007. Tryptophan-dependent production of indole-3-acetic acid (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 20: 619-626.
- Idris, E.E., O. Makarewicz, A. Farouk, K. Rosner, R. Greiner, H. Bochow, T. Richter y R. Borriss. 2002. Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growthpromoting effect. *Microbiology* 148: 2097-2109.
- Joo, G.-J., Y.-M. Kim, J.-T. Kim, I.-K. Rhee, J.-H. Kim y I.-J. Lee. 2005. Gibberellins-producing rhizobacteria increase endogenous gibberellins content and promote growth of red peppers. *Journal of Microbiology* 43: 510-515.
- Keel, C., C. Voisard, Berling, C.H., G. Kahr y G. Défago. 1989. Iron sufficiency, a prerequisite for the suppression of tobacco black root rot by *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 under gnotobiotic conditions. *Phytopathology* 79: 584-589.
- Keel, C., U. Schnider, M. Maurhofer, C. Voisard, J. Laville, U. Burger, P. Wirthner, D. Haas y G. Défago. 1992. Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: Importance of the bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 5: 4-13.
- Kilian, M., U. Steiner, B. Krebs, H. Junge, G. Schmiedeknecht y R. Hain. 2000. FZB24® *Bacillus subtilis* – mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 1: 72-93.
- Kloepper, J.W. 1983. Effect of seed piece inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on populations of *Erwinia carotovora* on potato roots and in daughter tubers. *Phytopathology* 73: 217-219.
- Kloepper, J.W. 1991. Development of in vivo assays for prescreening antagonists of *Rhizoctonia solani* on cotton. *Phytopathology* 81: 1006-1013.

- Kloepper, J.W. 1993. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. p. 255-274. En: Metting F. B. J. (ed.). *Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker Inc. New York.
- Kloepper, J.W. y M.N. Schroth. 1978. Plant-growth promoting rhizobacteria on radishes, pp. 879-882. In Angers D. A., (ed.) *Proceedings of the Fourth International Conference in Plant Pathogenic Bacteria*, Vol. 2. Station de Pathologie Vegetale et Phytobacteriologie, INRA, Paris.
- Kloepper, J.W., C.-M. Ryu y S. Zhang. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94: 1259-1266.
- Kloepper, J.W., J. Leong, M. Teintze y M.N. Schroth. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286: 885-886.
- Kloepper, J.W., C. Ramírez, J.A. Mcinroy y M.R. Liles. 2006. Fluorescent pseudomonads associated with deformities of leatherleaf fern and applications of the systemic fungicide benlate as determined by culturing and DGGE analyses. 7th International Workshop on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, Noordwijkerhout, The Netherlands. Mayo 28 - Junio 2, 2006. p. 56.
- Knox, O.G.G., K. Killham y C. Leifert. 2000. Effects of increased nitrate availability on the control of plant pathogenic fungi by the soil bacterium *Bacillus subtilis*. *Applied Soil Ecology* 15: 227-231.
- Koumoutsis, A., X.-H. Chen, A. Henne, H. Liesegang, G. Hitzeroth, P. Franke, J. Vater y R. Borriss. 2004a. Structural and functional characterization of gene clusters directing nonribosomal synthesis of bioactive cyclic lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42. *J. Bacteriol.* 186: 1084-1096.
- Koumoutsis, A., X.-H. Chen, A. Henne, H. Liesegang, G. Hitzeroth, P. Franke, J. Vater y R. Borriss. 2004b. Structural and functional characterization of gene clusters directing nonribosomal synthesis of bioactive cyclic lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42. *Journal of Bacteriology* 186: 1084-1096.
- Krebs, B., B. Höding, S. Kübart, M.A. Workie, H. Junge, G. Schmiedeknecht, R. Grosch, H. Bochow y M. Hevesi. 1998. Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. I. Activities and characterization of *Bacillus subtilis* strains. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz (Journal of Plant Diseases and Protection)* 105: 181-197.
- Kremer, R. 2006. *Deleterious Rhizobacteria*. p. 335-357. En: Gnanamanickam S. S. (ed.). *Plant-Associated Bacteria*. Springer. The Netherlands.
- Leeman, M., J.A. van Pelt, F.M. den Ouden, M. Heinsbroek, P.A.H.M. Bakker y B. Schippers. 1995. Induction of systemic resistance by *Pseudomonas fluorescens* in radish cultivars differing in susceptibility to fusarium wilt, using a novel bioassay. *European Journal of Plant Pathology* 101: 655-664.
- Lemanceau, P., P.A. Bakker, W.J. De Kogel, C. Alabouvette y B. Schippers. 1992. Effect of pseudobactin 358 production by *Pseudomonas putida* WCS358 on suppression of fusarium wilt of carnations by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 2978-2982.
- Leong, J. 1986. Siderophores: Their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 24: 187-209.
- Li, J., D.H. Ovakim, T.C. Charles y B.R. Glick. 2000. An ACC deaminase minus mutant of *Enterobacter cloacae* UW4 no longer Promotes root elongation. *Current Microbiology* 41: 101-105.
- Lian, L.H., B.Y. Tian, R. Xiong, M.Z. Zhu, J. Xu y K.Q. Zhang. 2007. Proteases from *Bacillus*: a new insight into the mechanism of action for rhizobacterial suppression of nematode populations. *Letters in Applied Microbiology* 45: 262-269.
- Lifshitz, R., J.W. Kloepper, M. Kozlowski, C. Simonson, J. Carlson, E.M. Tipping y I. Zaleska. 1987. Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. *Canadian Journal of Microbiology* 33: 390-395.

- Liu, L., J.W. Kloepper y S. Tuzun. 1995a. Induction of systemic resistance in cucumber by plant growth-promoting rhizobacteria: Duration of protection and effect of host resistance on protection and root colonization. *Phytopathology* 85: 1064-1068.
- Liu, L., J.W. Kloepper y S. Tuzun. 1995b. Induction of systemic resistance in cucumber against fusarium wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85: 695-698.
- Liu, L., J.W. Kloepper y S. Tuzun. 1995c. Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial angular leaf spot by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85: 843-847.
- Loper, J.E. y M.N. Schroth. 1986. Influence of bacterial sources of indole-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. *Phytopathology* 76: 386-389.
- Lucy, M., E. Reed y B.R. Glick. 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 86: 1-25.
- Malik, D. y S. Sindhu. 2008. Transposon-derived mutants of *Pseudomonas* strains altered in indole acetic acid production: Effect on nodulation and plant growth in green gram (*Vigna radiata* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants* 14: 315-320.
- Markus, B., K. Christoph, M. Patrick y H. Dieter. 1999. Enhanced production of indole-3-acetic acid by a genetically modified strain of *Pseudomonas fluorescens* CHA0 affects root growth of cucumber, but does not improve protection of the plant against *Pythium* root rot. *FEMS Microbiology Ecology* 28: 225-233.
- Maurhofer, M., C. Hase, P. Meuwly, J.-P. Métraux y G. Défago. 1994. Induction of systemic resistance of tobacco to Tobacco Necrosis Virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0: Influence of the *gacA* gene and pyoverdine production. *Phytopathology* 84: 139-146.
- Mazzola, M., D.K. Fujimoto, L.S. Thomashow y R.J. Cook. 1995. Variation in Sensitivity of *Gaeumannomyces graminis* to antibiotics produced by fluorescent *Pseudomonas* spp. and effect on biological control of take-all of wheat. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 2554-2559.
- Mazzola, M., X. Zhao, M.F. Cohen y J.M. Raaijmakers. 2007. Cyclic lipopeptide surfactant production by *Pseudomonas fluorescens* SS101 is not required for suppression of complex *Pythium* spp. populations. *Phytopathology* 97: 1348-1355.
- McCullagh, M., R. Utkhede, J.G. Menzies, Z.K. Punja y T.C. Paulitz. 1996. Evaluation of plant growth-promoting rhizobacteria for biological control of pythium root rot of cucumbers grown in rockwool and effects on yield. *European Journal of Plant Pathology* 102: 747-755.
- Mizumoto, S., M. Hirai y M. Shoda. 2007. Enhanced iturin A production by *Bacillus subtilis* and its effect on suppression of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 75: 1267-1274.
- Neilands, J.B. y S.A. Leong. 1986. Siderophores in relation to plant growth and disease. *Annual Review of Plant Physiology* 37: 187-208.
- Ongena, M., P. Jacques, Y. Touré, J. Destain, A. Jabrane y P. Thonart. 2005. Involvement of fengycintype lipopeptides in the multifaceted biocontrol potential of *Bacillus subtilis*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 69: 29-38.
- Ordentlich, A., Y. Elad y I. Chet. 1988. The role of chitinase of *Serratia marcescens* in biocontrol of *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 78: 84-88.
- Ownley, B.H., D.M. Weller y L.S. Thomashow. 1992. Influence of *in situ* and *in vitro* pH on suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* 2-79. *Phytopathology* 82: 178-184.
- Patten, C.L. y B.R. Glick. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology* 42: 207-220.
- Patten, C.L. y B.R. Glick. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 3795-3801.
- 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. Ro-

- sovitz, M.L. Gwinn, L. Zhou, D.J. Schneider, S.W. Cartinhour, W.C. Nelson, J. Weidman, K. Watkins, K. Tran, H. Khouri, E.A. Pierson, L.S. Pierson, L.S. Thomashow y J.E. Loper. 2005. Complete genome sequence of the plant commensal *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Nature Biotechnology* 23: 873-878.
- Pieterse, C.M.J., S.C.M. van Wees, J.A. van Pelt, M. Knoester, R. Laan, H. Gerrits, P.J. Weisbeek y L.C. van Loon. 1998. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 10: 1571-1580.
- Pilet, P.-E. y M. Saugy. 1987. Effect on root growth of endogenous and applied IAA and ABA: A critical reexamination. *Plant Physiology* 83: 33-38.
- Podile, A.R. y G.K. Kishore. 2007. Plant growth-promoting rhizobacteria. p. 195-230. En: Gnanamanickam S. S. (ed.). *Plant-Associated Bacteria*. Springer. The Netherlands.
- Raaijmakers, J., M. Vlami y J. de Souza. 2002. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek* 81: 537-547.
- Raaijmakers, J.M. y D.M. Weller. 1998. Natural plant protection by 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas* spp. in Take-all decline soils. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 11: 144-152.
- Raaijmakers, J.M., R.F. Bonsall y D.M. Weller. 1999. Effect of population density of *Pseudomonas fluorescens* on production of 2,4-diacetylphloroglucinol in the rhizosphere of wheat. *Phytopathology* 89: 470-475.
- Ramírez, C. y J.W. Kloepper. 2009. Plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 depends on inoculum concentration and P-related soil properties. 8th International *PGPR* Workshop, Portland, OR. Mayo 17 - Mayo 22, 2009. p. 49.
- Ramírez, M. 2008. *Rizobacterias asociadas a crisantemo (Dendratherema grandiflora Tevelev) con potencial para promover crecimiento vegetal*. Trabajo de grado para optar al título de Biólogo, Universidad de Antioquia, Medellín. 45 p.
- Raupach, G.S. y J.W. Kloepper. 2000. Biocontrol of cucumber diseases in the field by plant growthpromoting rhizobacteria with and without methyl bromide fumigation. *Plant Disease* 84: 1073-1075.
- Raupach, G.S., L. Liu, J. Murphy, S. Tuzun y J.W. Kloepper. 1996. Induced systemic resistance in cucumber an tomato against Cucumber Mosaic Cucumovirus using plant growth-promoting rhizobacteria (*PGPR*). *Plant Disease* 80: 891-894.
- Richardson, A.E. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 897-906.
- Rodríguez, H. y R. Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17: 319-339.
- Rodríguez, H., R. Fraga, T. Gonzalez, y Y. Bashan. 2006. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil* 287: 15-21.
- Ryan, R.P., K. Germaine, A. Franks, D.J. Ryan y D.N. Dowling. 2008. Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiology Letters* 278: 1-9.
- Ryu, C.-M., M.A. Farag, C.-H. Hu, M.S. Reddy, J.W. Kloepper y P.W. Pare. 2004. Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 134: 1017-1026.
- Ryu, C.-M., M.A. Farag, C.-H. Hu, M.S. Reddy, H.-X. Wei, P.W. Pare y J.W. Kloepper. 2003. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100: 4927-4932.
- Ryu, C.-M., B. Kang, S. Han, S. Cho, J. Kloepper, A. Anderson y Y. Kim. 2007. Tobacco cultivars vary in induction of systemic resistance against Cucumber mosaic virus and growth promotion by *Pseudomonas chlororaphis* O6 and its *gacS* mutant. *European Journal of Plant Pathology* 119: 383-390.

- Schippers, B., A.W. Bakker y P.A.H.M. Bakker. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annual Review of Phytopathology* 25: 339-358.
- Schmidt, C.S., F. Agostini, C. Leifert, K. Killham y C.E. Mullins. 2004. Influence of soil temperature and matric potential on sugar beet seedling colonization and suppression of *Pythium* damping-off by the antagonistic bacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. *Phytopathology* 94: 351-363.
- Schroth, M.N. y J.G. Hancock. 1981. Selected topics in biological control. *Annual Review of Microbiology* 35: 453-476.
- Schroth, M.N. y J.O. Becker. 1990. Concepts of ecological and physiological activities of rhizobacteria related to biological control and plant growth promotion. p. 389-414. En: Hornby D. (ed.). *Biological control of soil-borne plant pathogens*. C.A.B. International. UK.
- Shayegani, M., P.S. Maupin y D.M. McGlynn. 1978. Evaluation of the API 20E system for identification of nonfermentative Gram-negative bacteria. *Journal of Clinical Microbiology* 7: 539-545.
- Sheng, X.F. y L.Y. He. 2006. Solubilization of potassium-bearing minerals by a wild-type strain of *Bacillus edaphicus* and its mutants and increased potassium uptake by wheat. *Canadian Journal of Microbiology* 52: 66-72.
- Siddiqui, I.A. y S.S. Shaukat. 2002. Rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance (ISR) in tomato against *Meloidogyne javanica*. *Journal of Phytopathology* 150: 469-473.
- Siddiqui, I.A. y S. Shahid Shaukat. 2003. Suppression of root-knot disease by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in tomato: importance of bacterial secondary metabolite, 2,4-diacetylphloroglucinol. *Soil Biology and Biochemistry* 35: 1615-1623.
- Silo-Suh, L.A., B.J. Lethbridge, S.J. Raffel, H. He, J. Clardy y J. Handelsman. 1994. Biological activities of two fungistatic antibiotics produced by *Bacillus cereus* UW85. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 2023-2030.
- Singh, P.P., Y.C. Shin, C.S. Park y Y.R. Chung. 1999. Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber by chitinolytic bacteria. *Phytopathology* 89: 92-99.
- Smiley, R.W. 1978. Colonization of wheat roots by *Gaeumannomyces graminis* inhibited by specific soils, microorganisms and ammonium-nitrogen. *Soil Biology and Biochemistry* 10: 175-179.
- Smiley, R.W. 1979. Wheat-rhizoplane pseudomonads as antagonists of *Gaeumannomyces graminis*. *Soil Biology and Biochemistry* 11: 371-376.
- Stackebrandt, E. y B.M. Goebel. 1994. Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic Bacteriology* 44: 846-849.
- Stackebrandt, E. y J. Ebers. 2006. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiology Today* 33: 152-155.
- Stein, T. 2005. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Molecular Microbiology* 56: 845-857.
- Suárez, A.M., M. Ramírez, J.E. Pérez, N.L. Cardona, J. Calle y C.A. Ramírez. 2008. Poblaciones de bacterias totales y potencialmente deletéreas asociadas a la rizosfera de crisantemo cultivado en suelo tratado con vapor de agua. *Revista de la Asociación Colombiana de Exportadores de Flores - ASOCOLFLORES* 72: 40-45.
- Sullivan, R.F., M.A. Holtman, G.J. Zylstra, J.F. White Jr. y D.Y. Kobayashi. 2003. Taxonomic positioning of two biological control agents for plant diseases as *Lysobacter enzymogenes* based on phylogenetic analysis of 16S rDNA, fatty acid composition and phenotypic characteristics. *Journal of Applied Microbiology* 94: 1079-1086.
- Tahmatsidou, V., J. O'Sullivan, A.C. Cassells, D. Voyiatzis y G. Paroussi. 2006. Comparison of AMF and *PGPR* inoculants for the suppression of *Verticillium* wilt of strawberry (*Fragaria × ananassa* cv. Selva). *Applied Soil Ecology* 32: 316-324.

- Thomashow, L.S. y D.M. Weller. 1988. Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Journal of Bacteriology* 170: 3499-3508.
- Thomashow, L.S., R.F. Bonsall y D.M. Weller. 2002. Antibiotic production by soil and rhizosphere microbes *in situ*. p. 638-647. En: Hurst C. J., Crawford R. L., McInerney M. J., Knudsen G. R. y Stetzenbach L. D. (eds). *Manual of Environmental Microbiology*. Second ed. ASM Press. Washington.
- Timmusk, S. 2003. Mechanism of Action of the plant growth promoting bacterium *Paenibacillus polymyxa*, Acta Universitatis Upsaliensis, Uppsala. 40 p.
- Timmusk, S. y E.G.H. Wagner. 1999. The plant-growth-promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* induces changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression: A possible connection between biotic and abiotic stress responses. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 12: 951-959.
- Timmusk, S., B. Nicander, U. Granhall y E. Tillberg. 1999. Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 1847-1852.
- Ton, J., J.A. Van Pelt, L.C. Van Loon y C.M.J. Pieterse. 2002. Differential effectiveness of salicylate-dependent and jasmonate/ethylene-dependent induced resistance in *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 15: 27-34.
- Toro, M., R. Azcon y J. Barea. 1997. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability ( $^{32}\text{P}$ ) and nutrient cycling. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 4408-4412.
- van Loon, L.C. y P.A.H.M. Bakker. 2003. Signalling in rhizobacteria-plant interactions. Pp. 297-330. En: De Kroon J. y Visser E. J. W. (eds). *Root Ecology*, Vol. 168. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg.
- van Loon, L.C., P.A.H.M. Bakker y C.M.J. Pieterse. 1998. Systemic induced resistance by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 36: 453-483.
- van Peer, R., G.J. Niemann y B. Schippers. 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology* 81: 728-734.
- van Wees, S.C.M., C.M.J. Pieterse, A. Trijssenaar, Y.A.M. van 't Westende, F. Hartog y L.C. van Loon. 1997. Differential induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 10: 716-724.
- Villegas, V., L.S. Zapata, R.N. Moncada, S. Mosquera, M. Ramírez y J.J. Mira. 2009. Production of antimicrobial compounds by *Bacillus subtilis* UA321 against *Mycosphaerella fijiensis*. 8th International *PGPR* Workshop, Portland, OR. Mayo 17 - Mayo 22, 2009. P. 74.
- Wang, J., J. Liu, H. Chen y J. Yao. 2007. Characterization of *Fusarium graminearum* inhibitory lipopeptide from *Bacillus subtilis* IB. *Applied Microbiology and Biotechnology* 76: 889-894.
- Wayne, L.G., D.J. Brenner, R.R. Colwell, P.A.D. Grimont, O. Kandler, M.I. Krichevsky, L.H. Moore, W.E.C. Moore, R.G.E. Murray, E. Stackebrandt, M.P. Starr y H.G. Truper. 1987. Report of the Ad Hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International Journal of Systematic Bacteriology* 37: 463-464.
- Wei, G., J.W. Kloepper y S. Tuzun. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 81: 1508-1512.
- Wei, G., J.W. Kloepper y S. Tuzun. 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology* 86: 221-224.
- Welch, D.F. 1991. Applications of cellular fatty acid analysis. *Clinical Microbiology Reviews* 4: 422-438.
- Weller, D.M. y R.J. Cook. 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. *Phytopathology* 73: 463-469.

- Xie, H., J.J. Pasternak y B.R. Glick. 1996. Isolation and characterization of mutants of the plant growthpromoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indoleacetic acid. *Current Microbiology* 32: 67-71.
- Yang, J., J.W. Kloepper y C.-M. Ryu. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science* 14: 1-4.
- Yao, A.V., H. Bochow, S. Karimov, U. Boturov, S. Sanginboy y A.K. Shapirov. 2006. Effect of FZB 24® *Bacillus subtilis* as a biofertilizer on cotton yields in field tests. *Archives of Phytopathology & Plant Protection* 39: 323-328.
- Zahir, Z., M. Arshad y J.T. Frankenberger. 2004. Plant growth-promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy* 81: 97-168.
- Zehnder, G., C. Yao, J. Murphy, E. Sikora y J. Kloepper. 2000. Induction of resistance in tomato against cucumber mosaic cucumovirus by plant growth-promoting rhizobacteria. *BioControl* 45: 127-137.
- Zehnder, G.W., J.F. Murphy, E.J. Sikora y J.W. Kloepper. 2001. Application of rhizobacteria for induced resistance. *European Journal of Plant Pathology* 107: 39-50.
- Zhang, H., X. Xie, M.-S. Kim, D.A. Korniyev, S. Holaday y P.W. Paré. 2008. Soil bacteria augment *Arabidopsis* photosynthesis by decreasing glucose sensing and abscisic acid levels *in planta*. *The Plant Journal* 56: 264-273.
- Zhang, H., Y. Sun, X. Xie, M.-S. Kim, S.E. Dowd y P.W. Paré. 2009. A soil bacterium regulates plant acquisition of iron via deficiency-inducible mechanisms. *The Plant Journal* 58: 568-577.
- Zhang, L. y R.G. Birch. 1996. Biocontrol of sugar cane leaf scald disease by an isolate of *Pantoea dispersa* which detoxifies albicidin phytotoxins. *Letters in Applied Microbiology* 22: 132-136.
- Zhuang, X., J. Chen, H. Shim y Z. Bai. 2007. New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation. *Environment International* 33: 406-413.