



**La rizosfera: un "criptoecosistema" vital.
Aspectos básicos y aplicados**

Autor: Agustín Probanza Lobo

Institución: Universidad CEU San Pablo

Resumen

La rizosfera un tipo de ecosistema oculto (podríamos decir que un criptoecosistema), poco visible y bastante desconocido fuera del ámbito científico de la ecología microbiana edáfica, pero tremendamente importante para el funcionamiento de los ecosistemas terrestres y para la homeostasis de la biosfera en su conjunto. El término rizosfera fue por primera vez utilizado a finales del siglo XIX por Hiltner, agrónomo alemán que acuñó el término para hacer referencia al efecto de las raíces de leguminosas sobre el suelo circundante, en términos de mayor actividad microbiana por la liberación de materia orgánica (exudados radicales) desde las raíces. Hasta el último decenio del pasado siglo XX, ese efecto, no pasó a considerarse como un ecosistema stricto sensu. Desde entonces, se ha profundizado en el conocimiento básico (ecología de la rizosfera) y aplicado (mejora de la producción vegetal) de este ecosistema, fundamentalmente por el advenimiento de herramientas analíticas adecuadas. La información acumulada, nos permite señalar a la rizosfera como uno de los ecosistemas terrestres más importantes en términos energéticos y de extensión, y consecuentemente de vital importancia en el funcionamiento global de la biosfera.

En la presente, se revisan los aspectos más importantes (conceptuales, básicos y aplicados) de este criptoecosistema.

Palabras claves: Rizosfera, raíces, microorganismos, producción primaria ecosistemas terrestres, agronomía.

Aspectos básicos: la rizosfera como ecosistema.

El término rizosfera fue por primera vez utilizado a finales del siglo XIX por Hiltner, agrónomo alemán que empleó esta palabra para hacer referencia al *efecto* de las raíces de leguminosas sobre el suelo próximo respecto a una mayor actividad microbiana causada por la liberación de materia orgánica desde las raíces. Hasta las últimas décadas del pasado siglo ese *efecto*, no pasó a considerarse como un ecosistema, si bien es cierto, poco conocido fuera de los círculos científicos especializados en este. En ese sentido, se ha considerado a la rizosfera como ***the hidden half, of the hidden half*** (Bowen y Rovira, 1991), es decir, la *mitad oculta*, de la raíz, que es a su vez, la *mitad oculta* de las plantas. Parece claro que tildar de *criptoecosistema* a la rizosfera está plenamente justificado.

Sin embargo, el hecho de que la rizosfera sea un ecosistema *críptico*, poco conspicuo fisiognómicamente contrasta con su realidad en términos energéticos y de extensión. Para poder dimensionar correctamente el impacto que tiene este ecosistema en el funcionamiento global de la biosfera, pasamos a hacer algunas consideraciones respecto a su extensión y flujo energético.

En primer lugar su extensión. La rizosfera, es, sin ningún género de dudas el **ecosistema terrestre más grande**. Consideremos un pastizal, y en éste, un metro cuadrado de productores primarios (la hierba). Ese metro cuadrado, se corresponde con una superficie de (al menos) tres órdenes de magnitud mayor de rizosfera, ubicada bajo el nivel del suelo. Si generalizamos esta consideración a todas las porciones de tierra vegetada, llegaremos a la conclusión de que la rizosfera es el ecosistema terrestre más extenso.

Por otra parte el flujo energético que se produce en este sistema es muy sustancial. Según autores, **las plantas liberan por sus raíces entre un 10 y un 70 % de los fotosintatos**. Esta ventana de variación estriba en el tipo de planta considerada, siendo mayor la exudación en leñosas que en herbáceas. Esto es bastante más de lo que fluye por las cadenas tróficas basadas en los herbívoros. Si pensamos que el ecosistema por el que fluye esa enorme cantidad de materia orgánica es, adicionalmente, el ecosistema más extenso y abundante en ecosistemas terrestres, no cabe duda acerca de la afirmación hecha más arriba: su importancia e impacto son vitales en el funcionamiento global de la biosfera.

Pasamos a continuación a desgranar algunos de los aspectos más relevantes de la estructura y funcionamiento de este *criptoecosistema*.

Exudados radicales: Efecto de los exudados radicales sobre la biodiversidad microbiana de la rizosfera.

Los compuestos orgánicos liberados por las raíces de las plantas reciben el nombre de *rizodeposiciones*, y según la naturaleza y forma de liberación, éstos pueden clasificarse en los siguientes grupos:

- **Exudados radicales**, compuestos solubles en agua de bajo peso molecular y que se liberan de forma pasiva.
- **Secreciones**, compuestos de alto de peso molecular que se liberan al medio de forma activa, con gasto de ATP.
- **Lisados**, compuestos liberados por las células después de procesos de lisis.
- **Gases**, como etileno, dióxido de carbono y ácido cianhídrico.
- **Mucílagos**, que forman una cobertura alrededor de algunas partes de la raíz (principalmente la cofia) y que están formados fundamentalmente por polisacáridos. Estos polisacáridos proceden tanto de la planta como de los microorganismos y son capaces de retener gran cantidad de agua formando mucigeles.

La **naturaleza química de los exudados** radicales es muy diversa: se pueden encontrar azúcares sencillos, polisacáridos, aminoácidos, ácidos orgánicos, ácidos grasos, esteroides, factores de crecimiento, enzimas, flavonoides, vitaminas, etc. Se sabe que **no todas las plantas liberan ni la misma cantidad ni la misma tipología química de exudados radicales**, y que una misma especie de planta libera compuestos diferentes dependiendo de un gran número de factores. Entre otros, se pueden destacar los siguientes: la especie estudiada, la edad de la planta y su estado de desarrollo, las características nutricionales del suelo sobre el que se desarrolla, la disponibilidad de agua, el pH del soporte, la temperatura, la intensidad de luz que reciba su aparato fotosintético, la concentración atmosférica de CO₂ y el tipo de microorganismos presentes en la rizosfera, entre otros. Por todo ello, la estructura cenótica de las rizosferas de las plantas difiere de unas a otras como se ha podido comprobar en numerosos estudios (p.e. Söderberg et al, 2004).

Los exudados radicales son los **principales moduladores de las dinámicas poblacionales en la rizosfera**. Así por ejemplo se sabe que las variaciones estacionales de pautas de exudación de plantas caducifolias como el aliso europeo (*Alnus glutinosa*) se relacionan con cambios en la composición cenótica, diversidad biológica y diversidad metabólica de las rizobacterias (Ruiz Palomino et al., 2005).

Las bacterias y hongos del suelo son los principales motores de la mayoría de los ciclos biogeoquímicos a través de los cuales nuestra biosfera recicla la materia y por los que fluye gran parte de la energía que mueve a los ecosistemas. Esto proporciona una idea de la enorme importancia que tiene para el buen funcionamiento general de la biosfera el aporte de los compuestos orgánicos procedentes de las raíces de las plantas y que son utilizados por los microorganismos edáficos como fuente de energía en sus procesos vitales.

Uno de los aspectos que más ha interesado es la función que estas rizodeposiciones tienen en el ecosistema edáfico. Tenemos que destacar que los estudios sobre la cantidad y calidad de los exudados radicales resultan muy complejos, ya que los métodos para la obtención de los resultados difieren mucho de las condiciones reales en las que se desarrolla la planta. Habida cuenta de que son muchos los factores que afectan al proceso, es fácil concluir que los resultados obtenidos hay que tomarlos siempre con cierta precaución. Sin embargo, la enorme importancia que tiene el proceso de liberación de exudados ha hecho que muchos investigadores hayan puesto mucho esfuerzo en su estudio, habiéndose alcanzado, a pesar de las dificultades, unos grados de conocimiento muy altos. Una detallada revisión del papel de los exudados en las interacciones rizosféricas se hace en Bais et al. (2006). Entre las funciones que tienen los exudados radicales podemos destacar:

- Protección contra patógenos, mediante algunos compuestos, como las fitoalexinas..
- Protección contra elementos tóxicos
- Reducción de la competencia: algunos compuestos exudados por las plantas modifican el suelo rizosférico con sustancias fitoactivas (los denominados aleloquímicos) que impiden la germinación y proliferación de las semillas de otras plantas.
- Adquisición de nutrientes, como por ejemplo, los sideróforos de los que se hablará más adelante.
- Adquisición de agua: esta función esta a cargo de los mucigeles, que modifican la estructura del suelo rizosférico facilitando la retención de agua.
- Establecimiento de relaciones simbióticas: existen compuestos en los exudados que provocan reacciones de acercamiento (quimiotaxis) en algunas bacterias.
- Selección de microorganismos, el tipo de exudación es responsable del tipo de microorganismos que habitan en la rizosfera, seleccionando aquellos que pueden serles útiles.

Quorum sensing: dialogo molecular entre bacterias de la rizosfera y su efecto sobre la fisiología de la planta.

Muchas bacterias son capaces de disparar respuestas fisiológicas mediante **la activación específica de genes** cuyo control se basa en la densidad de población. Esto implica que los distintos miembros de la población deben conocer cuál es su densidad, y en función de eso, transcribir genes en momentos concretos. Este tipo de comunicación célula a célula diseñado con el objeto de que los individuos de la población sean capaces de medir su densidad se conoce como *quorum sensing*.

Esto implica que las bacterias son capaces de exhibir comportamientos mucho más complejos que lo que se esperaba de un organismo unicelular, mostrando formas de actuar que se puede asemejar al de un organismo pluricelular. No cabe duda que esto va a obligar a modificar radicalmente algunos planteamientos clásicos utilizados en el estudio de los microorganismos.

El *quorum sensing* proporciona enormes ventajas competitivas. Mejora la capacidad de supervivencia, ya que pueden explotar nichos más complejos, y su capacidad de infección para producir enfermedades aumenta considerablemente. De hecho, hoy se sabe que la mayoría de las bacterias causantes de enfermedades en plantas (como *Xanthomonas campestris*) lo hacen usando el *quorum sensing* como mecanismo de comunicación. La comunicación por *quorum sensing* se basa en que los individuos de la población producen y liberan al medio moléculas señal cuya concentración es directamente proporcional al número de individuos que haya en la población. Cuando las bacterias detectan que la concentración de las moléculas señal ha llegado a un determinado nivel, se activan (o en algunos casos se reprimen) una serie de genes específicos que están regulados por este sistema. Se han descubierto ya muchos procesos microbianos regulados de esta forma, entre ellos podemos destacar procesos transferencia de ADN mediante conjugación, producción de antibióticos, producción de sideróforos, producción de bioluminiscencia, formación de biofilms y capacidad para moverse mediante lo que se conoce como *swarming* entre otros.

Se sabe que los **mecanismos de comunicación** mediante *quorum sensing* son diferentes en los distintos grupos bacterianos, estableciéndose claramente una diferencia entre las gram positivas y las gram negativas. El mecanismo utilizado por estas últimas es el más conocido y está mediado por la actividad de los genes de la familia *Lux I* que intervienen en la formación de las moléculas señal: las N-acil homoserín lactonas (AHLs). Todas las AHLs tienen la misma estructura, poseen un grupo lactónico que lleva un grupo acilo que varía entre 4 y 14 átomos de carbono, saturado o insaturado, y con o sin un sustituyente en posición tres (el sustituyente puede ser un grupo hidroxilo o un grupo oxo).

Para que los genes controlados por *quorum sensing* se transcriban, las AHLs tienen que unirse al gen regulador del operón correspondiente, pero para ello las AHLs tienen que ser activadas previamente. La activación se produce cuando la molécula señal (AHL) se une a una proteína específica. Los genes mejor conocidos que están implicados en la codificación de estas proteínas son los genes *Lux R* que al transcribirse y traducirse forman una proteína denominada "proteína R"; la unión de las AHLs a esta proteína forma un complejo que es capaz de activar los genes regulados por *quorum sensing*.

La **coevolución entre plantas y bacterias** ha determinado que muchas de ellas sean capaces de exudar por las raíces compuestos capaces de mimetizar la acción de las AHLs e incluso se han detectado algunas plantas capaces de exudar enzimas que degradan AHLs. De alguna manera, las plantas han aprendido el lenguaje de las bacterias y lo aprovechan en su beneficio.

Parece evidente que este comportamiento está encaminado a intentar defenderse con más eficacia del ataque de bacterias patógenas, ya que si son capaces de alterar o bloquear el sistema de comunicación entre las bacterias, la eficacia de estas en la infección se reduce drásticamente.

Por todo lo dicho hasta el momento, el estudio de los mecanismos de *quorum sensing* y su posterior manipulación puede ser una herramienta muy eficaz en un sector como el agrícola que gasta muchos recursos en intentar evitar el ataque de patógenos y en intentar mejorar la capacidad nutritiva de los suelos, habiendo alcanzado por ello, la nada orgullosa primera posición de la actividad humana más contaminante y más perjudicial para el medio. Ya existen plantas transgénicas que producen altos niveles de AHLs o que

pueden degradar las AHLs producidas por las bacterias y han alterado dramáticamente la susceptibilidad de la planta para ser infectada por bacterias patógenas, lo que sin duda conducirá a una disminución en el uso de bactericidas químicos altamente contaminantes.

Ng y Bassler (2009) hacen una completa revisión de los mecanismos moleculares de los sistemas de *quorum sensing*. Por su parte West et al. (2007) hicieron con su revisión *The social lives of microbes* una notabilísima aportación a este asunto desde el punto de vista evolutivo, como *frontera* para el estudio de muchos paradigmas de ecología y biología evolutiva... como los que a continuación planteamos.

Nuevos horizontes en la ecología rizosférica.

La concepción de la rizosfera como **ecosistema** implica un equilibrio (simetría) entre los elementos interactuantes (plantas y microorganismos). Sin embargo, por lo expuesto hasta este punto podemos pensar que más bien exista una asimetría planta – microorganismos, favorable a la primera (controladora) frente a los segundos (controlados). En este supuesto, la rizosfera sería una **interfase asimétrica**. Así lo consideran Hartman y colaboradores (2009).

Así pues, procede hacer un ejercicio discusivo a este respecto. Son varios los elementos que nos permiten pensar que la planta es el organismo que controla a la bacteria:

- I. Por su complejidad estructural, metabólica y evolutiva, la planta tiene **capacidad predictiva** (noche/día; estacionalidad) de la que carece la bacteria.
- II. La **capacidad organizativa especial** de la planta, le aporta la posibilidad en transporte de recursos (agua, nutrientes), aprovechando la plasticidad modular del crecimiento vegetal.
- III. La **persistencia** de la planta es siempre superior a la de la bacteria, la planta tiene un ciclo vital de mucha mayor duración.
- IV. En relación con lo anterior, la posibilidad de **feed-back positivo** a efectos de *aprendizaje* por parte de la planta es proporcional (más exponencial que aritméticamente) a la diferencia de persistencia frente a las bacterias.
- V. Por último, la **información acumulada** en forma de miles (millones) de pares de bases en el ADN de la planta, es enormemente mayor que en el caso de la bacteria.

Discutamos seguidamente el caso inverso, es decir que la asimetría de nuestra hipotética *interfase asimétrica* fuese favorable a la bacteria.

Para ello es preciso imponer una premisa de partida; consideramos la bacteria, no ya como tal (en singular), ni como población ni (más allá) como conjunto complejo de poblaciones (comunidad): consideramos a las bacterias como un poli-organismo modular. Conviene en este punto recordar la reiterada (y muchas veces retórica pregunta) sobre la realidad del concepto de especie en las bacterias. En este sentido, es preciso recordar que también las plantas son organismos modulares, pero al relativizar la interacción en este supuesto, y considerar la continuidad física de las células de las

plantas, la planta sería asumible como un organismo unitario. A este respecto sugerimos a los lectores la revisión de Grosberg y Starthmann (2007) *The evolution of multicellularity: a minor major transition?* que si bien desborda lo que aquí tratamos aporta interesantes ideas, relacionadas con lo que sugerimos.

Revisemos la situación considerada anteriormente que implicaban predominio de la planta, con el supuesto considerado, de cara a las bacterias:

a. Los mecanismos de comunicación (*quorum sensing*), la actuación coordinada de poblaciones, una **capacidad organizativa, tanto temporal como espacial**. Esta última es más evidente, por cuanto, las bacterias constituyen un continuo en las raíces (esto es, que adicionalmente, aprovechan las bacterias la capacidad organizativa espacial de las plantas) y un discontinuo en el suelo libre.

b. **La persistencia** de los monómeros de nuestro poli-organismo modular (las individualidades bacterianas) es bajísima (respecto a las plantas), pero va unida a una tasa de mutaciones altísima y a procesos de recombinación (**transferencias genéticas horizontales**) o auto-recombinatorias (**variaciones de fase**), que dan unos posicionamientos clarísimos en cuanto al **feed-back positivo** (en términos de *aprendizaje* Neodarwiniano) de los microorganismos respecto a la planta.

c. La **información acumulada**, con las asunciones hechas (las bacterias, como un poli-organismo modular) varía sustancialmente al alza, al hacer una comparativa con las plantas.

En este punto, con las consideraciones hechas y con la asunción de las bacterias como un *poli-organismo modular*, llegamos a un empate planta-microorganismos, y así, la hipótesis de considerar la rizosfera como una interfase asimétrica, no se sostiene, y podemos concluir que realmente la rizosfera es un **Ecosistema**.

Con las consideraciones hechas hasta este punto, parece razonable el abordar el estudio de este Ecosistema para saber si (sobre las bases discutidas) sustenta o diverge de la Teoría Ecológica.

Cabe dejar abiertas interrogantes diversas, que son tan atractivas y sugerentes intelectual como científicamente.

i) ¿la interacción en el sistema se debate en el continuo entre la simbiosis y el parasitismo?, ¿por qué no todas las bacterias rizosféricas son beneficiosas para la planta?

ii) ¿La coevolución planta-microorganismo ha permitido el desarrollo de un lenguaje molecular (metabolismo secundario) compartido?

iii) ¿Nos da idea este ecosistema, la rizosfera, a la vez abundante y primigenio, de por qué un grupo filogenético tan ancestral como el de las bacterias, persiste y además lo hace (tal vez) como un poli-organismo modular?

Aspectos aplicados: bacterias promotoras del crecimiento vegetal (Plant Growth-promoting rhizobacteria- PGPRs)

Se consideran bacterias promotoras del crecimiento vegetal aquellas **bacterias que se desarrollan en el ecosistema rizosférico y que pueden estimular el crecimiento de las plantas**. Este término lo introduce por primera vez Kloepper et al., en 1980, aunque ya en 1978 el mismo autor maneja este término y concepto en los Proceedings del 4º Congreso Internacional de Bacterias Patógenas de Plantas celebrado en Francia. Actualmente, el número de trabajos que anualmente se publican en torno al tema se ha multiplicado por 10 y se ha generado un cuerpo de disciplina sobre la base de unos conocimientos que han modificado conceptos fundamentales de la fisiología vegetal y la ecología. Una excelente revisión sobre PGPRs es la de Lugtemberg y Kamilova publicada en los Annual Review of Microbiology de 2009.

Anteriormente se ha descrito la importante relación trófica que se establece entre los microorganismos y las plantas. Desde este punto de vista las rutas metabólicas que participan más directamente se incluyen en el metabolismo primario en ambos organismos. El aprovechamiento desde un punto de vista energético de los exudados radicales se produce a través de las rutas metabólicas anabólicas y catabólicas de los microorganismos rizosféricos y de las rutas fundamentalmente anabólicas de la planta, ya que la exudación radical cuantitativamente más importante se produce básicamente con los productos de síntesis que por las características intrínsecas anatómicas, histológicas y fisiológicas de la planta se liberan en cantidades importantes. En este sentido el desarrollo del simplasto, y la importancia que tiene en el reino vegetal es esencial.

La **degradación de los compuestos orgánicos** liberados por las plantas a través de las raíces ya es en sí mismo un mecanismo por el cual las bacterias rizosféricas **promueven el crecimiento de las plantas**. El resultado de la degradación de compuestos orgánicos como proteínas y aminoácidos es la liberación de nitrógeno mineral (NH_3) que o bien es directamente asimilado por las plantas, o es transformado por las bacterias nitrificantes en formas oxidadas (NO_3) que son también asimiladas por la planta. Sin duda este mecanismo de acción es bastante inespecífico y además no está restringido a bacterias estrictamente rizosféricas. Todos los microorganismos que habitan en el suelo son de una forma u otra mineralizadores de la materia orgánica presente en el sustrato, materia orgánica que emplean como fuente de energía y que, de forma colateral, permite la liberación de compuestos inorgánicos que son nutrientes para las plantas. Destacamos aquí que en la rizosfera la actividad metabólica de todas las poblaciones microbianas está muy estimulada debido a la disponibilidad de fuentes de materia orgánica que no aparecen o que aparecen en mucha menor concentración en el suelo libre. Esta estimulación se traduce de forma sinérgica en un aumento de la capacidad de degradación de sustratos orgánicos que hasta ese momento eran metabólicamente inabordables. Precisamente este concepto es el que se utiliza en la técnica de fitorremediación. La capacidad de las bacterias para degradar moléculas recalcitrantes aumenta considerablemente en el sistema rizosférico por existir un soporte de materia orgánica fácilmente degradable, procedente de los exudados.

Asumiendo este mecanismo de acción como bastante inespecífico y no exclusivo de bacterias rizosféricas, lo separaremos del resto de los mecanismos de acción de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, más específicos y asociados con bacterias presentes en la rizosfera e incluso seleccionadas por la planta.

El conocimiento de los **mecanismos de acción de las PGPRs** es fundamental para poder optimizar sistema rizosférico respecto a los procesos que se producen en este sistema y que tienen una gran incidencia en la productividad vegetal. Los mecanismos de acción de las PGPRs se pueden clasificar en dos grupos: mecanismos de acción directos y mecanismos de acción indirectos. La diferenciación entre ambos es en ocasiones difícil de establecer, pero en términos generales se consideran mecanismos indirectos aquellos que se basan en procesos que ocurren fuera de la planta, mientras que los mecanismos de acción directos son aquellos que se basan en procesos que ocurren en el interior de la planta. Es decir, un mecanismo de acción directo requiere la participación de procesos metabólicos de la planta que de alguna manera traducen la señal enviada por las bacterias en su beneficio.

De esta forma podemos incluir entre los **mecanismos indirectos**: aquellos que resulten de una actividad bacteriana que ponga más nutrientes a disposición de la planta; la inhibición de microorganismos que alteren negativamente el crecimiento de la planta (exclusión de nicho); la fijación biológica del nitrógeno en el sistema rizosférico, o fijación libre, que pone a disposición de la planta nitrógeno asimilable. Entre los **mecanismos directos** podemos incluir: los que alteran los niveles hormonales de la planta, los que facilitan el establecimiento de endosimbiosis (nódulos diazotrofos, micorrizas) y los que transcurren con una inducción del metabolismo de la planta que suponga una mejora de su capacidad adaptativa (inducción de resistencia sistémica frente a patógenos o la inducción de resistencia a la salinidad)

Mecanismos indirectos. Bacterias fijadoras libres de nitrógeno, como PGPRs

Podemos afirmar que éstas fueron las primeras PGPRs sobre las que se trabajó con el objeto de mejorar la productividad vegetal. Nos referimos en este caso a bacterias fijadoras de nitrógeno que no establecen una relación simbiótica con la planta. En este caso nos referimos a **bacterias que fijan nitrógeno en el sistema rizosférico**, en proximidad a la planta pero sin llegar a penetrar en sus tejidos. Estas bacterias realizan su función muy cerca de la superficie radical, tanto que el nitrógeno fijado por las bacterias y que no es aprovechado por estas queda a disposición de la planta, constituyendo una fuente de nitrógeno suplementaria para su nutrición. Aunque no se establezca una relación simbiótica como la que forman los rizobios, sí se habla de una asociación rizosférica, relación que podríamos describir como una simbiosis laxa e inespecífica. Existen gran cantidad de bacterias incluidas en un amplio rango de taxones capaces de fijar nitrógeno. Entre los géneros bacterianos más importantes podemos citar *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum* y *Bacillus*. Sin duda hay más géneros con bacterias capaces de fijar nitrógeno pero estos son los más importantes.

Como el proceso de fijación del nitrógeno es un proceso muy costoso en términos energéticos, todas las bacterias fijadoras libres de nitrógeno tienen mecanismos para aprovechar al máximo el nitrógeno fijado. Por lo tanto la cantidad de nitrógeno resultante de la fijación que escapa de las bacterias es pequeña y en consecuencia el beneficio que puede obtener la planta es escaso. Por ello durante muchos años se ha pensado que las bacterias fijadoras de nitrógeno libre eran capaces de promover el crecimiento vegetal gracias a su capacidad para fijar nitrógeno, pero actualmente y gracias al empleo de nitrógeno marcado se ha demostrado que la capacidad de estas bacterias para promover

el crecimiento se debe en escaso grado a la fijación de nitrógeno y en gran medida, a la producción de reguladores de crecimiento vegetal, mecanismo que se tratará mas adelante.

Se planteó hace tiempo estrategia en torno a estas bacterias es el empleo de bacterias poco eficaces para retener el nitrógeno fijado. La idea es obtener cepas bacterianas mutación del ADN que codifica para el enzima encargado de incorporar el nitrógeno fijado a moléculas orgánicas. De este modo las bacterias se hacen “donantes” de nitrógeno al no incorporarlo con eficacia y permitir su difusión al exterior, donde queda a disposición de la planta. Lógicamente, estas bacterias son menos eficientes metabólicamente y tienen el problema de su escasa competitividad respecto a las otras bacterias presentes en la rizosfera. Con el objeto de sortear este problema para la aplicación biotecnológica, se tratan las plantas con fitohormonas sintéticas que inducen tumores en las raíces laterales, denominados (por paralelismo con las tumores radicales de leguminosas) paranódulos. En estas proliferaciones celulares se forman espacios intercelulares donde las bacterias fijadoras encuentran un lugar apropiado para sobrevivir sin tener que competir con el resto de las bacterias rizosféricas. Este procedimiento sería una forma de alcanzar los soñados nódulos fijadores de nitrógeno en no-leguminosas como los cereales.

Producción de sideróforos

El déficit de hierro causa notables alteraciones metabólicas en las plantas debido a su importante papel como cofactor de numerosos enzimas. Además de ser imprescindible para la planta normalmente su absorción suele ser problemática, ya que en el suelo suelen predominar las formas oxidadas (Fe_3^+), que forman fácilmente hidróxidos y óxidos insolubles quedando fuera del alcance de la planta. Las plantas, en este contexto han desarrollado dos estrategias para absorber eficazmente el hierro. La estrategia primera consiste en liberar compuestos orgánicos capaces de quelar el hierro y solubilizarlo. Cuando el hierro quelado alcanza por difusión la superficie de la planta, ésta mediante un sistema enzimático presente en la membrana plasmática, lo reduce e inmediatamente lo absorbe. La segunda estrategia consiste en absorber el complejo formado por el compuesto orgánico y el hierro, y ya en el interior, reducir el hierro a su forma asimilable (Fe_2^+).

Como las plantas, **algunas bacterias rizosféricas producen moléculas capaces de formar complejos solubles con Fe_3^+** , o sea, son capaces de mimetizar a las moléculas liberadas por la planta, conforme hemos descrito en la primera estrategia. Estos compuestos (denominados sideróforos) los producen principalmente estirpes pertenecientes al género *Pseudomonas*, fundamentalmente *Pseudomonas fluorescens*, productoras de pyochelina y pioverdina. Estos compuestos son producidos por la bacteria para mejorar su capacidad competitiva en el medio, ya que se trata de compuestos con actividad antibiótica. De forma colateral, **mejoran la nutrición de la planta**, mejorando la absorción de hierro. Pero el beneficio de las bacterias productoras de sideróforos no es solo por mejorar la nutrición de la planta, sino también por **dificultar el crecimiento de algunos microorganismos fitopatógenos (hongos)** que no tienen mecanismos adecuados para capturar el hierro acomplejado con los sideróforos: Así, sufren un desplazamiento de nicho, mermando su capacidad para producir enfermedades en las plantas.

Solubilización de fosfatos

Nitrógeno y fósforo son los nutrientes más limitantes de la producción primaria en ecosistemas terrestres, es decir que más limita el crecimiento de las plantas. Como el nitrógeno, el fósforo es muy abundante en el planeta. Pese a ello, las formas en las que se acumula, no suelen ser disponibles para las plantas. Estas solo pueden absorber las dos formas solubles, el fosfato monobásico y dibásico. Además de la fuente inorgánica de fósforo en el suelo, es fundamental el fósforo asociado a la materia orgánica. Las formas orgánicas del fósforo constituyen entre el 30-50% del fósforo total en la mayoría de los suelos. Esta reserva de fósforo debe ser mineralizada por los microorganismos para que puedan ser captados por las plantas en forma de fosfatos solubles.

Existen **bacterias capaces de solubilizar los fosfatos minerales**, y su actividad como PGPRs es harto interesante. En contra de lo que pudiese pensarse, hay una gran variedad de microorganismos capaces de solubilizar fosfatos, en géneros tan dispares como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium*, *Chryseobacterium* y *Erwinia*. Son dos los mecanismos mediante los cuales las bacterias solubilizan fosfatos: i) bien mediante la liberación de ácidos orgánicos que interaccionan iónicamente con los cationes de las sales fosfatadas, o ii) mediante la liberación de fosfatasas. La mayoría de estos microorganismos son capaces de solubilizar los complejos Ca-P, aunque existen otros que actúan sobre los complejos Fe-P, Mn-P y Al-P. Generalmente, estos sistemas de solubilización de fosfatos son más eficaces en suelos calizos y básicos que en suelos ácidos y ricos en Mn, Al y Fe. En cuanto a las fosfatasas, son las encargadas de liberar grupos fosfato ligados a la materia orgánica, que como ya se ha comentado anteriormente constituye también una fuerte reserva de fósforo en el suelo.

En el aspecto práctico de las **PGPRs solubilizadoras de fosfatos** que aquí nos ocupa, hay que indicar que la **eficacia ha sido hasta el momento bastante heterogénea**, probablemente debido a la composición del suelo, ya que se deben aplicar sobre suelos donde el fosfato sea limitante y movilizable. La inoculación de microorganismos solubilizadores de fosfatos en ocasiones resulta muy eficaz, desde el punto de vista de la promoción del crecimiento, y en ocasiones resulta absolutamente inocua. Sin duda el conocimiento en profundidad de los mecanismos de acción y de la ecología de estos microorganismos en la rizosfera permitirán en un futuro el empleo de estos microorganismos en manejos de agricultura sostenible.

Mecanismos directos. Modificación de los niveles endógenos de fitohormonas

Se conoce y se ha descrito en la literatura científica de **la producción de reguladores del crecimiento (RC) vegetal por bacterias** desde hace más de 30 años. Actualmente sabemos gracias a las resolutivas técnicas analíticas disponibles que algunos de los RCs, como las auxinas y el etileno son de producción frecuente entre los microorganismos edáficos, singularmente los rizosféricos. Otros RCs como las citoquininas son producidas mucho menos frecuentemente y las giberelinas sólo se ha detectado su producción en dos cepas del género *Bacillus* aisladas de la rizosfera de *Alnus glutinosa* en cantidades mil veces superiores a las sintetizadas por algunas cepas de *Rhizobium* en la formación de nódulos (Gutierrez mañero et al. 2001). Este

mecanismo de acción es importante no sólo por actuar a través del principal mecanismo de regulación del crecimiento y diferenciación celular en plantas (lo que hace de él un mecanismo especialmente eficaz), sino porque se basa en el desarrollo de rutas metabólicas comunes planta-bacteria, lo que implica consideraciones coevolutivas de gran interés en la ecología básica de la rizosfera.

La producción y liberación de RCs por bacterias provoca una alteración de los niveles endógenos, en la planta, del regulador de crecimiento producido por la bacteria. Este hecho es más o menos acusado en función múltiples factores, entre los que cabe destacar: la cantidad producida, la distancia de producción a la superficie radical, la capacidad de difusión del RC entre las partículas del suelo, pared celular y plasmalema de la célula vegetal, y finalmente, la competitividad de la bacteria en el medio para ocupar las zonas de la raíz de mayor exudación y su capacidad para aprovechar los sustratos carbonados. Este último factor depende grandemente de la estructura de la comunidad microbiana que habita en el sustrato compartido por planta y bacterias.

Los **mecanismos de acción** de cada uno de los tipos de RC considerados varían, y procede aquí revisarlos sumariamente, caso a caso. Las **auxinas** tienen uno de los mecanismos de acción mejor conocidos. Actúan promoviendo la formación de nuevas raíces. El aumento de la superficie de contacto entre la raíz y el suelo permite una mayor capacidad de la planta para absorber nutrientes. Si éstos están disponibles en el suelo, el efecto de promoción del crecimiento es acusado. Respecto a **giberelinas y citoquininas** tienen un mecanismo de acción que implica efectos más amplios en toda la planta, básicamente porque estos RCs encuentran sistemas de transporte que pueden trasladarlos a las partes aéreas. Los efectos de las giberelinas a nivel aéreo pueden ser muy acusados, sobre todo si se combinan microorganismos capaces de mejorar la función del sistema radical para abastecer de nutrientes los sumideros aéreos que generan las giberelinas.

En este ámbito de los RCs y PGPRs merecen mención discriminada los microorganismos capaces de degradar aminociclopropanocarboxílico (ACC), precursor directo de un RC: **el etileno**. Obviamente las cepas degradadoras de ACC, provocan una fuerte alteración en los niveles de este RC: al degradar este compuesto, origina un fuerte gradiente de concentración entre el interior y el exterior de la planta, favoreciendo su exudación y por lo tanto una disminución de los niveles de etileno endógenos, lo que revierte en un crecimiento en longitud de la raíz, que de haber etileno no ocurriría. El etileno es un RC implicado en numerosos procesos pero sobre todo se considera un RC implicado en respuestas de estrés. Así las PGPRs que actúan por este mecanismo, son eficaces para mejorar procesos que implican un estrés en la planta, por ejemplo la formación de nódulos por rizobios en leguminosas o la formación de asociaciones micorrízicas. En estos procesos una disminución temporal de la capacidad de la planta para formar etileno en las primeras etapas de la simbiosis es muy beneficioso.

Facilitación del proceso de establecimiento de endosimbiosis

El estudio y conocimiento de la rizosfera, tanto desde un punto de vista ecológico como agronómico tiene sus precedentes más veteranos en los sistemas endosimbióticos planta-microorganismo mejor conocidos: la simbiosis rizobio-leguminosa y las micorrizas. Más allá del interés básico (ecológico) que puede tener el conocimiento de procesos poblacionales (competencia, cooperación) en la colonización de la raíz por el simbiote, podemos pensar en la optimización y mejora del proceso utilizando PGPRs.

Este planteamiento ha tenido tres derivaciones en términos de líneas de investigación: i) la posible utilización de bacterias (PGPRs) como ayudantes (*helpers*) del proceso infectivo, tanto para rizobios como para micorrizas, ii) la elaboración de *consortiums* (consorcios) de bacterias (o de bacterias y micorrizas) para mejorar la infección y consecuentemente la salud y productividad de las plantas y iii) el estudio del impacto ecológico de los inoculantes en las comunidades autóctonas rizosféricas (Probanza et al., 2001). Como se puede observar, en los tres casos los aspectos básicos y aplicados se imbrican de forma difícilmente desligable. Los estudios realizados en esos ámbitos son abundantes, y en muchos casos han conducido a productos comerciales explotados en agronomía o en silvicultura, para la producción de planta en vivero (Probanza et al., 2002) o para su posterior introducción en condiciones de campo, con fines de reforestación o recuperación de suelos (Rincon et al., 2006).

Los mecanismos de acción que encontramos en este tipo de procesos se han indicado en otros puntos de esta comunicación: desde la producción de RCs que aumenten la superficie radical (mejorando el ataque del simbiote) a la exclusión de otros posibles simbioses, bien por producción de antibióticos o sideróforos o por desplazamiento al ocupar los microhábitas.

Inducción de de resistencia sistémica (ISR) en plantas

A finales del pasado siglo, Van Loon y colaboradores (1998), hicieron un descubrimiento de vital importancia para el conocimiento de los mecanismos de defensa en plantas. Determinadas bacterias no patógenas de plantas, eran capaces de prevenir eficazmente el ataque de microorganismos patógenos. Las bacterias capaces de esto se consideran PGPRs al disparar en la planta una respuesta que la hace resistente al ataque ulterior de algún patógeno. Se trata de una respuesta sistémica, es decir se produce en toda la planta, aunque la bacteria inductora hubiese interactuado en una sola región de la planta. Así, el patógeno no puede infectar aunque penetre por un lugar diferente al que empleó la bacteria para disparar la respuesta en la planta. Además se requiere un tiempo entre el contacto con la PGPR y el ataque del patógeno para que se puedan inducir los genes implicados en la respuesta sistémica (ver p.e. Domenech et al., 2007). A este mecanismo de protección se le denomina respuesta sistémica inducida (ISR), para diferenciarlo de la respuesta sistémica adquirida (SAR) en la que participa un patógeno que interactúa virulentamente con la planta, sin llegar a producir daños letales, induciendo también una resistencia sistémica que previene del ataque posterior de un patógeno. La importancia del descubrimiento es vital, porque propone una respuesta de carácter "inmunitario", es decir podemos hablar de "vacunar" a la planta, utilizando

términos de procedencia animal pero que encajan en el modelo. La capacidad de inducir resistencia sistémica de una determinada bacteria depende del sistema planta-bacteria beneficiosa-patógeno del que se trate, es una respuesta altamente específica.

Actualmente (véase Van Loon et al., 2006) sabemos que la respuesta ISR esta mediada por moléculas diferentes de la que intervienen en la respuesta SAR. Desde que se describió la ISR, se han identificado dos mediadores químicos implicados en el disparo de la respuesta sistémica, el ácido salicílico, que también es utilizado en la respuesta SAR, y el tándem etileno-jasmónico. Además, también se sabe que las proteínas de resistencia (PRs) que se inducen en cada respuesta son diferentes y que no todas las plantas son capaces de generar esta respuesta. Más allá, los datos actuales exceden la mera fisiología de la planta y nos permiten constatar la íntima interacción de exudados radicales, bacterias y señalización de defensa en la planta (Doornbos et al., 2011), lo que a su vez evidencia la cohesión de este *criptoecosistema* llamado rizosfera.

Referencias y bibliografía¹

Arshad M y Frankenberger, WT (1998) Plant Growth-regulating substances in the rhizosphere: microbial production and functions. *Advances in Agronomy* 66:45-151

Bais, HP, Weir, TL, Perry, LG, Golroy, S y Vivanco JM. (2006) The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 57:233-266.

Barriuso, J, Ramos, B, Lucas, JA, Probanza, A, Garcia-Villaracio, A y Gutierrez, FJ (2008) Ecology, Genetic diversity and screening strategies of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), *in: Plant-Bacteria Interactions.* 1-17. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Alemania. ISBN 978-3-527-31901-5

Bloemberg GV y Lugtenberg BJJ, (2001) Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Current Opinion in Plant Biology* 4:343-350

Bowen GD, Rovira AD (1991) The rhizosphere, the hidden half of the hidden half. In: *Plant Roots-The Hidden Half*, (Y. Waisel, A. Eshel y U. Kafafi, eds.). Marcel-Dekker, New York. 641-649 pp.

Brimecombe, MJ, De Leij, FA, Lynch, JM. (2001) The effect of root exudates on rhizosphere microbial populations. In: *The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface* (R. Pinto, Z. Varanini, P. Nannipieri, eds.), Marcel Dekker, USA. pp. 95-140.

¹ Se indican subrayadas aquellas fuentes no citadas explícitamente en el texto

Caldwell, DE, Wolfaardt, GM, Korber, DR y Lawrence, JR. (1997) Do bacterial communities transcend Darwinism? *Advances in Microbial Ecology* 15: 105-191.

Doménech J, Ramos Solano, B., A. Probanza, J.A. Lucas García, F.J. Gutiérrez Mañero (2007). Elicitation of Systemic resistance and growth promotion of *Arabidopsis thaliana* by PGPRs from *Nicotiana glauca*. A study of the putative induction pathway. *Plant and Soil*. 290:43-50

Doornbos, RF, Van Loon, LC y Bakker, PAHM (2011). Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agronomy Sust. Developm.* DOI: 10.1007/s13593-011-0028-y

Fray, RG. (2002) Altering plant-microbe interaction through artificially manipulating bacterial *quorum sensing*. *Annals of Botany* 89: 245-253.

Grayston, SJ, Vaughan, D, Jones, D. (1996). Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Applied Soil Ecology* 5: 29-56.

Grosberg, RK y Stathmann, RR (2007), The evolution of multicelularity: a minor major transition?. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 38: 621-654.

Gutiérrez Mañero, FJ, Ramos, B, Mehouchi, J, Tadeo, FR, Probanza, A, Talón, M. (2001). The plant-growth -promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia Plantarum*. 111; 206-2111

Gutiérrez Mañero, FJ., Lucas, JA., Probanza, A y Ramos, B. (2006). Interacción Planta-Microorganismo en un ecosistema denominado rizosfera in: Fijación de Nitrógeno: fundamentos y aplicaciones. 244-254. SEFIN, Granada. 84-611-1198-5.

Hartmann, A, Schimid, M, Von Tuinen, D y Berg, G (2009) Plant-driven selection of microbes. *Plant and Soil*. 321: 235-257.

Neumann, G, Römheld, V. (2001). The release of root exudates as affected by the plant's physiological status. In: *The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface* (R. Pinto, Z. Varanini, P. Nannipieri, eds.), Marcel Dekker, USA. pp. 41-94.

Newton, J.A., Fray, R.G. 2004. Integration of environmental and host-derived signals with quorum sensing during plant-microbe interactions. *Cellular Microbiology* 6: 213-224.

Ng, W-L y Bassler, BL (2009) Bacterial quorum sensing network architectures. *Annu. Rev. Genet.* 43:197-222.

Probanza, A., Lucas García, J. A., Ruiz Palomino, Ramos, B., Gutiérrez Mañero, F.J (2002). *Pinus pinea* L. Seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR *Bacillus* (B. *Licheniformis* 2002 CECT 5106 and B. *Pumilus* CECT 5105). *Applied Soil Ecology*. 20: 75-84.

Probanza, A., Mateos, J.L., Lucas, J.A., Ramos, B., de Felipe, M.R. and Gutierrez mañero, F.J. (2001). Effects of inoculation with PGPR *Bacillus* and *Pisolithus tinctorius* on *Pinus pinea* L. growth, bacterial rhizosphere colonization and mycorrhizal infection. *Microbial Ecology*. 41; 140-148.

Rincón, A., Ruiz-Diez, B., Fernández-Pascual, M., Probanza, A., Pozuelo, JM; y de Felipe, MR. (2006). Afforestation of degraded soils with *Pinus halepensis* Mill.: Effects of inoculation with selected microorganisms and soil amendment on plant growth, rhizospheric microbial activity and ectomycorrhizal formation. *Applied Soil Ecology*. 34:42-51

Ruiz Palomino M, Lucas García JA, Ramos B, Gutierrez Mañero FJ, y Probanza A (2005), Seasonal diversity changes in alder (*alnus glutinosa*) culturable rhizobacterial communities throughout a phenological cycle. *Applied Soil Ecology*. 29: 215-224

Söderberg, K.H.. Probanza, A., Jumpponen, A. y Baath, E. (2004). The microbial community in the rhizosphere determined by the community-level physiology profiles (CLPP) and direct soil-and cfu -PLFA techniques. *Applied Soil Ecology*. 25:135-145.

Van Loon LC, Bakker PAHM and Pieterse CMJ (1998) Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu Rev Phytopathol* 36:453-483

Van Loon LC, Rep, M y Pieterse, CMJ (2006). Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu. Rev. Phytopathol*. 44:135-162.

West SA, Diggle, SP, Buckling, A, Gardner, A y Griffin, AS (2007) The social lives of microbes. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst*. 38:53-77.