



UNIVERSIDAD
DE ALMERÍA

Biofertilizantes microbianos en la agricultura

Trabajo Fin de Máster

Autor: Ana María Estévez Navarro

Directora: María del Carmen Vargas García

Máster en Biotecnología Industrial y Agroalimentaria

Departamento de Biología y Geología

Facultad de Ciencias Experimentales

Universidad de Almería

Julio 2022

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	4
2. MICROORGANISMOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO EN LAS PLANTAS (PGPMS).....	8
2.1 DESCRIPCIÓN	8
2.2 CLASIFICACIÓN.....	11
2.3 LEGISLACIÓN Y MARCO NORMATIVO	13
3. RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL (PGPR)	15
3.1 ANTECEDENTES Y ACTUALIDAD	15
3.2 ESPECIES CONSIDERADAS COMO PGPR: CARACTERÍSTICAS	18
3.3 MECANISMOS DE ACCIÓN DE LAS PGPR.....	20
3.3.1 <i>Mecanismos de acción directos</i>	21
3.3.2 <i>Mecanismos de acción indirectos</i>	32
3.4 IDENTIFICACIÓN, DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN	41
4. USO DE LAS PGPR COMO BIOFERTILIZANTES	44
4.1 FORMULACIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE LOS BIOFERTILIZANTES	44
4.2 PAPEL DE LOS BIOFERTILIZANTES PGPR EN EL CRECIMIENTO DE LOS CULTIVOS	48
5. LIMITACIONES Y FUTURAS TENDENCIAS EN LA UTILIZACIÓN DE PGPR EN AGRICULTURA	50
6. CONCLUSIONES.....	53
7. BIBLIOGRAFIA	55

Resumen

El constante crecimiento de la población y los cambios en la dieta han incrementado la demanda mundial de alimentos. Esto implica la necesidad de aumentar la producción agrícola y, además, hacerlo de forma que fomente la seguridad alimentaria. Principalmente, se busca reducir el uso de fertilizantes químicos, que tantos problemas ocasionan.

Entre las principales estrategias agrícolas naturales que persiguen disminuir el uso de agroquímicos, se encuentra la aplicación de los denominados microorganismos promotores de crecimiento vegetal, conocidos como PGPM (Plant Growth-Promoting Microorganisms). Sobre todo, nos centramos en el uso de las bacterias que proliferan en la rizosfera conocidas genéricamente como Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR). Las PGPR son multifuncionales, pudiendo desarrollar diversas actividades que ejercen efectos positivos sobre el crecimiento vegetal. Los mecanismos de acción utilizados pueden actuar directamente, estimulando el crecimiento de la planta, o indirectamente, actuando como Agentes de Control Biológico (BCA) y protegiendo a la planta de fitopatógenos.

Actualmente, existe un aumento global en la demanda de biofertilizantes, lo que propicia que el mercado de biofertilizantes microbianos esté creciendo cada año. Esto ha favorecido la investigación y el desarrollo en campos como los de la biotecnología, la nanotecnología y la rizoingeniería, que abren futuras vías para la producción de biofertilizantes ecológicos y eficaces. Así pues, en los próximos años se perfila un futuro prometedor en el campo de la agricultura y las ciencias de la vida.

Palabras clave: Rizobacterias; Biofertilizantes; Agentes de Control Biológico; Fertilizantes Químicos; Microorganismos Promotores de Crecimiento Vegetal.

Abstract

Steady population growth and changes in diet have increased global demand for food. This implies the need to increase agricultural production and, moreover, to do so in a way that promotes food security. Mainly, try to reduce the use of chemical fertilizers, which cause so many problems.

Among the main natural agricultural strategies that seek to reduce the use of agrochemicals, there is the application of the so-called Plant Growth-Promoting Microorganism, known as PGPM. Above all, we focus on the use of bacteria that proliferate in the rhizosphere known generically as Rhizobacteria Promoters of Plant Growth (PGPR). PGPRs are multifunctional, being able to develop various activities that have positive effects on plant growth. The mechanisms of action used can act directly, stimulating the growth of plants, or indirectly, acting as Biological Control Agents and protecting the plant from phytopathogens.

Currently, there is a global increase in demand for biofertilizers, which means that the market for microbial biofertilizers grows every year. This has facilitated research and development in areas such as biotechnology, nanotechnology and rhizo-engineering, which open up future avenues for the production of ecofriendly and efficient biofertilizers. So, in the coming years a promising future in agriculture and life sciences is outlined.

Keywords: Rhizobacteria; Biofertilizers; Biological Control Agents; Chemical Fertilizers; Plant Growth-Promoting Microorganism.

1. Introducción

La demanda mundial de alimentos está aumentando debido al crecimiento de la población y los cambios en la dieta (Alberton *et al.*, 2020). Para el 2050 se estima que la población mundial alcanzará 9.000 millones, por lo que es necesario aumentar la producción agrícola, de manera que se pueda cubrir esa mayor demanda y, además, hacerlo de forma que fomente la seguridad alimentaria. Sin embargo, conseguir tal objetivo no resulta sencillo, especialmente si se tienen en consideración los cambios climáticos y, en concreto, la influencia de las sequías. Para la fecha mencionada, se espera que más de un 50% de las tierras cultivables se vean afectadas por este problema lo que acarrearía una grave disminución de la producción agrícola (Thakur *et al.*, 2021).

La Revolución verde del siglo XX trajo consigo la utilización de ingentes cantidades de fertilizantes químicos, herbicidas y plaguicidas. Esta fue una de las principales estrategias utilizadas para incrementar los beneficios derivados de la producción mundial de alimentos (Backer *et al.*, 2018). En la actualidad el sistema agrícola se sigue basando en la aplicación de grandes cantidades de fertilizantes químicos que aportan alrededor del 50% de los nutrientes necesarios para el desarrollo de las plantas (Jiménez-Gómez *et al.*, 2021).

Sin embargo, la intensificación de la aplicación de este tipo de fertilizantes ha tenido efectos adversos, dando lugar a una amplia gama de problemas tales como la degradación de los suelos, ya que la incorporación de este tipo de productos ocasiona alteraciones en sus propiedades fisicoquímicas y biológicas, como consecuencia de su potencial tóxico. Así, se han descrito modificaciones de las comunidades microbianas, contaminación del entorno edáfico, y de las aguas superficiales y subterráneas, aumento de las emisiones de gases de efecto invernadero, mayor susceptibilidad de los cultivos a plagas y enfermedades, y pérdida de biodiversidad, entre otras (Xu *et al.*, 2018; Guo *et al.*, 2019). Incluso, se han reportado diversos efectos tóxicos en la salud humana (Pelosi *et al.*, 2014). Por lo tanto, la aplicación de fertilizantes más ecológicos

que sustituyan a los fertilizantes químicos ha sido considerado uno de los principales retos agrícolas de los últimos años.

La necesidad de nuevos mecanismos que eleven la productividad del campo ha impulsado la búsqueda de métodos alternativos a los compuestos de origen químico para, entre otros efectos, potenciar el crecimiento de raíces, fortalecer mecanismos naturales de respuesta a enfermedades e insectos y aumentar la producción. Entre las estrategias agrícolas naturales que persiguen disminuir la aplicación de agroquímicos, se encuentran la reducción de las prácticas de labranza del suelo y arado, el uso de mantillos con residuos vegetales, la rotación de cultivos, y la realización de cultivos intercalados (Gu *et al.*, 2017). Otra de las grandes alternativas propuestas se relaciona con la incorporación de organismos seleccionados por sus funciones en relación con diversos procesos biológicos, lo que implica un menor riesgo ambiental y sanitario, tanto para las plantas como para los seres humanos (Avis *et al.*, 2008). Dentro del mundo microbiano, y en relación con el sector agrícola, destacan por su gran potencial positivo los denominados microorganismos promotores de crecimiento vegetal, conocidos como PGPM (Plant Growth-Promoting Microorganisms) (Bashan *et al.*, 2014). Los microorganismos son ubicuos en la naturaleza, forman parte de la cadena trófica y desempeñan un papel principal en el ciclo del nitrógeno y del carbono, así como de prácticamente todos los elementos nutricionales, incluidos los micronutrientes, e influyen en nuestra vida cotidiana tanto de forma perjudicial como beneficiosa (Blake *et al.*, 2020). En particular, la población bacteriana del suelo tiene la capacidad de crecer rápidamente y utilizar una amplia gama de sustancias diferentes como fuente de nutrientes. Adicionalmente, presenta un elevado potencial de dispersión dentro del suelo, así como de adhesión a las partículas del suelo, o de interacción con las raíces de las plantas y su zona de influencia la conocida como rizosfera.

Se define la rizosfera como el volumen del suelo que rodea las raíces de las plantas formando un nicho ecológico bien definido, caracterizado por un elevado contenido de nutrientes (Dhayalan y Karuppasamy, 2021). Esta zona se caracteriza por poseer una mayor población microbiana, entre 100 y 1000 veces mayor que el resto de suelo, dando lugar a una interacción única y dinámica entre las raíces de las plantas y los microorganismos presentes (Lambers *et al.*,

2009). Numerosos estudios revelan que algunas especies bacterianas son capaces de mejorar el rendimiento de cultivos importantes como la soja, el maíz, el trigo y el arroz, y reducir la gravedad de las enfermedades que puedan afectar a estos cultivos (Ji *et al.*, 2020, Ngalmat *et al.*, 2021, Silva *et al.*, 2021). En general, la rizosfera alberga una comunidad microbiana compleja que incluye microorganismos saprófitos, epífitos, endófitos, patógenos y beneficiosos. Además de bacterias, esa comunidad microbiana se encuentra compuesta por hongos, algas, y protozoos, si bien las bacterias son las más abundante (Mendes *et al.*, 2013).

Las bacterias que proliferan en la rizosfera, colonizan las raíces y ayudan a las plantas de diversas maneras y, en la línea mencionada con anterioridad, se conocen genéricamente como Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR).

El 15% de la superficie de la raíz está cubierta por poblaciones microbianas, pertenecientes a varias especies de bacterias. La mayoría de las PGPR pertenece a los géneros *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Arthobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Frankia*, *Serratia*, *Thiobacillus*, *Pseudomonas*, y *Bacillus* (Goswami *et al.*, 2016).

Estos microorganismos poseen versatilidad metabólica para adaptarse al entorno rizosférico y utilizar los exudados allí presentes. Las plantas secretan a través de las raíces cierta cantidad de productos fotosintéticos en forma de diferentes azúcares, los cuales son utilizados por las poblaciones microbianas (Fig. 1) (Glick *et al.*, 2014). Actividades metabólicas posteriores por parte de estas bacterias favorecerán la biodisponibilidad de nutrientes minerales, quedando de esta manera accesibles a las plantas, que los absorben por las raíces. Entre los mecanismos desarrollados por la microbiota rizosférica para actuar sobre la biodisponibilidad de los nutrientes destacan la solubilización o las reacciones de carácter redox. Otras acciones de carácter positivo que pueden llevar a cabo son, entre otras, la producción de fitohormonas, como por ejemplo el ácido indolacético, o la reducción de enfermedades a través de la producción de antibióticos y sideróforos. (Gouda *et al.*, 2018).

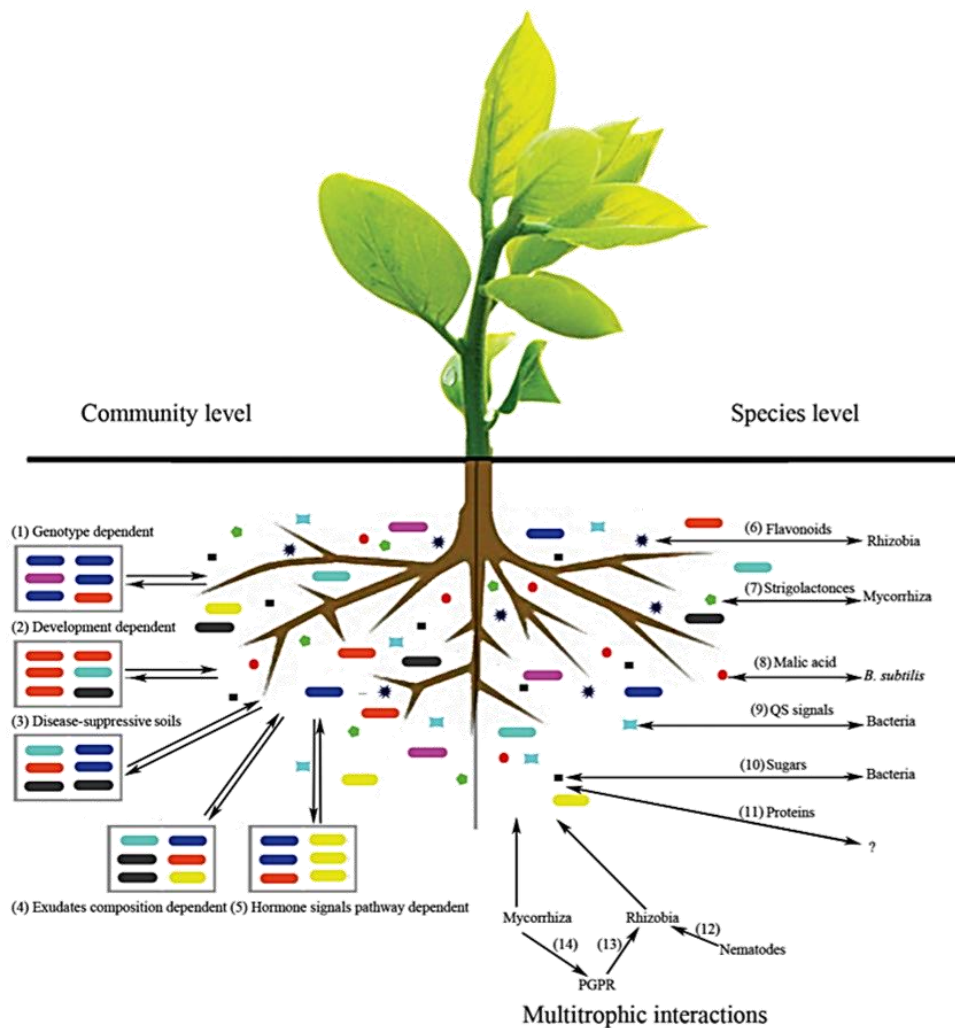


Fig. 1 Influencia de los exudados radiculares sobre los eventos que tienen lugar en la rizosfera y sobre las poblaciones microbianas en ella existentes. En la mitad derecha se muestran las interacciones a nivel de especie, mientras que en la mitad izquierda aparecen las interacciones a nivel comunitario. Las formas bacilares representan distintas especies microbianas, mientras que las restantes formas geométricas se identifican con distintos exudados radiculares (Huang *et al.*,2014).

Aunque muchos estudios se centran en el potencial de las PGPR, no se puede dejar de lado la influencia que ejercen otros microorganismos, como son los hongos. Numerosos autores describen el papel fundamental que juegan estos microorganismos en el ecosistema y cómo pueden mejorar el crecimiento de las plantas y su tolerancia a diferentes estreses (Jogaiah *et al.*,2013; Begum *et al.*, 2019). Estos microorganismos son conocidos como Hongos Promotores del Crecimiento Vegetal (PGPF). Muchos de ellos establecen simbiosis mutualistas

con las plantas. El hongo suministra a la planta nutrientes inorgánicos esenciales que esta necesita para su nutrición y la planta aporta al hongo heterótrofo los compuestos orgánicos. El establecimiento de estas asociaciones implica la creación de fuertes interdependencias, tanto es así que el hongo pasa a ser una parte más del sistema radical quedando perfectamente integrado en el mismo. El desarrollo del hongo sin el concurso de la planta hospedadora se vería muy dificultado o incluso imposibilitado, y esta también presenta un rango de dependencia del hongo que va desde absoluto hasta relativo en mayor o menor grado (Requena *et al.*, 1997). Por tanto, los PGPF colonizan los tejidos vegetales contribuyendo a la protección de la planta hospedadora del ataque de patógenos microbianos y mejoran la disponibilidad de nutrientes del suelo, facilitando su intercambio, favorecen la actividad enzimática y promueven la producción de hormonas (Hassan *et al.*, 2017). Tanto bacterias como hongos pueden promover la solubilización del fosfato y proporcionar nitrógeno a sus plantas hospedadoras (Abdel-Motaal *et al.*, 2020).

El objetivo del presente Trabajo Final de Máster es proporcionar el conocimiento adecuado sobre las características, funcionalidad y mecanismos de los PGPR y sus aplicaciones como agentes de biocontrol, agentes estimuladores del crecimiento vegetal y rizorremediadores del suelo. Para ello se realizará una extensa revisión bibliográfica que permita recopilar el conocimiento actualmente existente en torno al tema y pueda contribuir a lograr una agricultura más sostenible.

2. Microorganismos promotores del crecimiento en las plantas (PGPMs)

2.1 Descripción

Los microorganismos promotores del crecimiento vegetal desempeñan un papel importante en relación con distintas funcionalidades de interés en sistemas agrícolas, que incluyen la fijación de nitrógeno atmosférico, la absorción de agua, o la solubilización y el transporte de diversos minerales desde el suelo a la planta. Son utilizados para mejorar el crecimiento y la productividad de las plantas

contribuyendo de esta manera a la sostenibilidad agrícola y a la seguridad alimentaria (Delgado-Ramírez *et al.*, 2021).

Existen dos grupos principales de PGPMs: los hongos promotores del crecimiento vegetal (PGPF) y las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) (Soumare *et al.*, 2021).

En relación con los PGPF, las plantas establecen una amplia variedad de interacciones con los hongos del suelo. En 1885, el biólogo alemán Albert Bernhard Frank describió por primera vez el término micorriza como una serie de estructuras formadas por las asociaciones que se establecen entre varios géneros de hongos de suelo y las raíces de la mayoría de las plantas vasculares, e incluso se han descrito sobre plantas no vasculares (Frank, 1885). Entre las plantas vasculares colonizadas por micorrizas se encuentran todas las especies leñosas de interés forestal (Fagáceas, Betuláceas, Pináceas, etc.), todas las especies de interés hortícola (Solanáceas, Gramíneas, etc.) y muchas familias de importancia ornamental (Orquidiáceas, Rosáceas, etc.). Esto da una clara idea de la importancia ecológica y económica de las micorrizas. Se han descrito tres tipos de micorrizas (Fig.2), distribuidas en diversos taxones (Harley y Smith, 1983).

- Ectomicorrizas: se producen principalmente sobre especies forestales y leñosas. Los hongos que las forman, Basidiomicetos y Ascomicetos, desarrollan una capa de micelio sobre la zona cortical de las raíces nutricias de la planta. Están asociados con el 10% de las familias de plantas y son dominantes en bosques templados y boreales (Soumare *et al.*, 2021).
- Endomicorrizas: los hongos que las producen colonizan intracelularmente el córtex radical. Existen tres tipos característicos dentro de este grupo:
 - Orquideomicorrizas, asociadas a Orquidiáceas.
 - Ericomicorrizas, ligadas a la Familia Ericaceae y con muchas similitudes estructurales con las ectendomicorrizas.
 - Micorrizas arbusculares, caracterizadas por formar arbusculos intracelulares y, sin duda, las de mayor difusión e importancia

económica y ecológica, ya que establecen simbiosis con más del 90 % de todas las especies de plantas (Begum *et al.*, 2019).

- Ectendomicorrizas: los hongos que las producen colonizan de forma dual las raíces. Por un lado, forman un manto cortical externo y, por otro, penetran intracelularmente en el córtex.

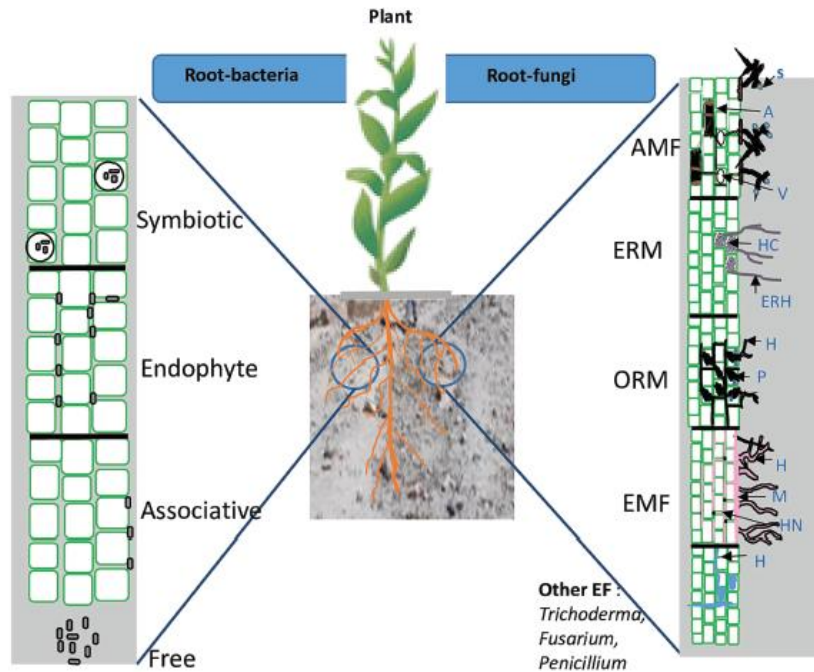


Fig. 2 Representación esquemática de la raíz y la colonización de la rizosfera por parte de microorganismos beneficiosos. AMF, hongos micorrícicos arbusculares; ERM, hongos micorrícicos ericoides; ORM, hongos micorrícicos orquidales; EMF, hongos ectomicorrícicos; EF, hongos endófitos; A, arbusculos; ERH, hifas extraradicales; V, vesículas; S, esporas; HC, bobinas de hifas; P, pelotón; HN, red de Hartig y M, manto (Soumare *et al.*, 2021).

En una primera instancia, se produce una identificación mutua planta-hongo en la rizosfera, en regiones próximas a las raíces nutricias, reconocimiento que parece mediado por sustancias exudadas por la raíz que sirven de mensajeros moleculares y, a su vez, provocan el crecimiento del micelio y un biotropismo positivo del mismo hacia estas. Luego se produce el contacto intercelular, al modificarse las hifas del hongo para producir la infección de la célula hospedadora. En tercer lugar, se producen cambios morfológicos y estructurales, tanto en los tejidos colonizados por el hongo, como en la organización de la

pared celular del mismo. Posteriormente, se produce la integración fisiológica de ambos simbioses, y en último lugar la alteración de las actividades enzimáticas (Barceló y López, 1999). Los PGPF infectan las plantas sin causar síntomas y pueden expresar diferentes estilos de vida mutualista, saprófito latente o patógeno latente según sea el genotipo, la fisiología y la edad del hospedador. Sin embargo, solo un pequeño porcentaje de hongos son patógenos latentes (Yuan *et al.*, 2010).

En el caso de las especies procariontas, el grupo de las PGPB representa del 2 al 5 % de las bacterias totales que conforman la rizosfera. Se han descrito tanto bacterias de vida libre como asociativas, bacterias endofíticas y bacterias simbióticas formadoras de nódulos. Entre los géneros más estudiados de PGPB destacan *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Frankia*, *Burkholderia*, *Thiobacillus*, *Serratia*, y *Streptomyces* (Jiao *et al.*, 2021).

Las PGPB desempeñan múltiples papeles beneficiosos en los ecosistemas. Entre los principales, cabe resaltar su intervención en el ciclo de los nutrientes y la absorción de estos, la estimulación de la inmunidad innata de las plantas, la inhibición del crecimiento potencial de fitopatógenos y la mejora directa del crecimiento de las plantas mediante la producción de fitohormonas u otros metabolitos. Además, otra de las funciones destacables es su capacidad de limpieza ambiental llevando a cabo procesos de biorremediación del suelo, ya que poseen una alta adaptabilidad en diversos ambientes edáficos, debido a una gran plasticidad bioquímica que les permite metabolizar una serie de compuestos xenobióticos (Khatoon *et al.*, 2020).

2.2 Clasificación

Los PGPMs rizosféricos, tal y como hemos visto anteriormente, tienen su hábitat natural en el suelo, viviendo en la superficie de las raíces o bien colonizando los tejidos internos de las plantas donde llevan a cabo diferentes funciones. Existen varios microorganismos del suelo pertenecientes a taxones muy diferentes cuya eficacia como PGPMs ha sido demostrada.

Una de las clasificaciones realizadas por algunos autores es la de agrupar los PGPMs en dos grupos principales ya vistos en el apartado anterior: PGPF y PGPB. También pueden ser clasificados en tres grupos dependiendo del mecanismo promotor del crecimiento que utilicen (Fig. 3). Por lo tanto, según su actividad encontraríamos (Soumare *et al.*, 2021):

-Biofertilizantes, que muestran carácter ecológico, lo que ayuda a las prácticas agrícola. Se mantienen los microorganismos vivos aumentando la disponibilidad de nutrientes y su utilización por parte de las plantas, lo que trae un mejor resultado en términos de productividad a largo plazo (Santhosh *et al.*, 2018).

-Bioestimulantes o fitoestimulantes, que producen sustancias beneficiosas no relacionadas con funcionalidades nutricionales. Un claro ejemplo sería la síntesis de sustancias reguladoras del crecimiento de las plantas (PGRs), también llamados fitorreguladores. Son aquellas sustancias que, en muy pequeña cantidad afectan al desarrollo de las plantas. Los principales PGRs son las fitohormonas u hormonas vegetales (Alcántara- Cortés *et al.*, 2019).

- Biopesticidas o agentes de biocontrol, encargados de controlar el desarrollo de patógenos en las plantas mediante la producción de metabolitos, como el cianuro de hidrógeno, mecanismo de antagonismo, que incluyen, por ejemplo, la producción de sideróforos, bacteriocinas o antibióticos (Dhayalan y Sudalaimuthu, 2021). Considerando sus efectos y mecanismos de acción, no es sorprendente que la aplicación combinada de tratamientos con PGPR sea más eficiente que la aplicación de un solo tratamiento contra la inhibición de patógenos (Khatoon *et al.*, 2020).

Algunos autores hacen mención a la categoría de rizoremediadores que comprende aquellos PGPMs encargados de degradar los contaminantes orgánicos del entorno de la rizosfera (Somers *et al.*, 2004).

En numerosas ocasiones los PGPMs rizosféricos son multifuncionales, pudiendo exhibir dos o tres mecanismos promotores del crecimiento vegetal. Además, sus efectos pueden darse en diversas etapas del desarrollo de la planta, o frente a distintos entornos, incluyendo la germinación de la semilla, la nutrición, el crecimiento y la respuesta a estreses bióticos y/o abióticos.

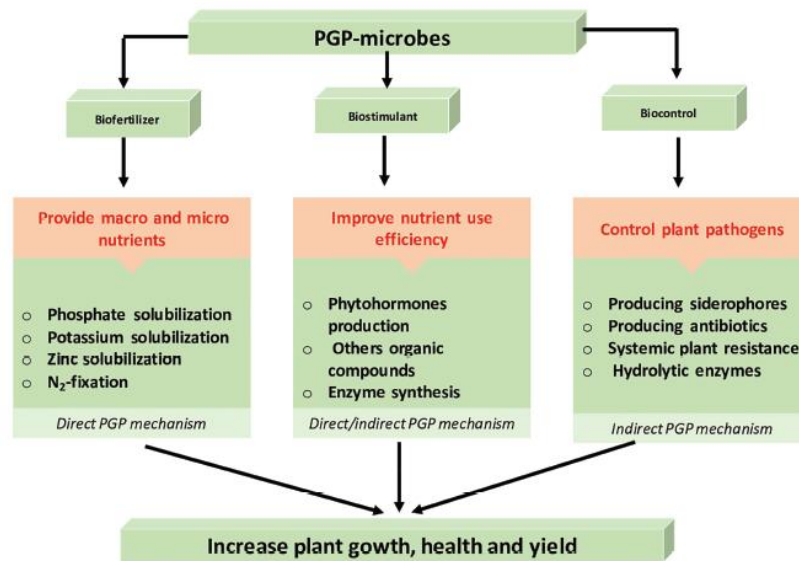


Fig. 3 Papel y mecanismos de los microorganismos rizosféricos promotores del crecimiento vegetal (Soumare et al., 2021).

Bahan y Holguin (1998), propusieron el establecimiento de dos categorías de PGPB, en función de que, además de la capacidad de promover el crecimiento vegetal, muestren actividades relacionadas con la protección vegetal. Así, junto a las PGPB habituales, se incluirían las Biocontrol-PGPB, con mayor versatilidad en las funcionalidades que pueden exhibir con respecto a las plantas. Estos microorganismos poseen mecanismos de acción indirectos, que ayudan a las plantas a crecer de manera saludable bajo diferentes estreses abióticos, y la protegen de parásitos, infecciones y depredadores. En oposición, las PGPB no pertenecientes a este grupo actúan únicamente mediante mecanismos directos basados en la aportación de nutrientes o moléculas reguladoras del crecimiento vegetal (Goswami *et al.*, 2016).

2.3 Legislación y marco normativo

Actualmente, la normativa en vigor respecto a los biofertilizantes es el Reglamento (UE) 2019/1009 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 5 de junio de 2019, por el que se establecen disposiciones relativas a la puesta a

disposición en el mercado de los productos fertilizantes UE, y se modifican los Reglamentos (CE) n.o 1069/2009 y (CE) n.o 1107/2009, y se deroga el Reglamento (CE) n.o 2003/2003. Fue publicado el 25 de junio del 2019 y entró en vigor a los veinte días de su publicación en el Diario Oficial de la Unión Europea. A partir de este Reglamento se establecen disposiciones y requisitos para los productos fertilizantes a comercializar en la UE.

Este Reglamento cubre una amplia gama de materiales potencialmente aceptados como constituyentes de fertilizantes, y se espera ampliar su alcance, con el fin de incluir materiales reciclados y orgánicos de diferentes orígenes, contribuyendo así a desarrollar la economía circular dentro de la Unión Europea. De hecho, uno de los principales objetivos subyacentes en este reglamento, enmarcado en las actuales políticas dirigidas al fomento de actividades que permitan modelos de desarrollo más naturales y respetuosos con el entorno, es incentivar en la UE la producción de fertilizantes a partir de materias primas orgánicas o secundarias no importadas para favorecer el autoabastecimiento europeo, en el escenario de una agricultura sostenible.

El presente Reglamento define un producto fertilizante como “una sustancia, mezcla, microorganismo o cualquier otro material aplicado o que se destina a ser aplicado en los vegetales o en su rizosfera, en los hongos o en su micosfera, o destinado a constituir la rizosfera o la micosfera, por sí mismo o mezclado con otros materiales, con el fin de proporcionar nutrientes a los vegetales o a los hongos o mejorar su eficiencia nutricional”. Como novedad, además de la recapitulación de definiciones y términos fundamentales, se incorporan conceptos tales como el de los bioestimulantes de las plantas, ya que los microorganismos no estaban sujetos a registro con arreglo al Reglamento (CE) nº 1907/2006, o a cualquier otra legislación horizontal de la Unión. Así, se contemplan determinadas sustancias, mezclas y microorganismos, bajo el término genérico de bioestimulantes de las plantas, que no son aportes de nutrientes propiamente dichos, aunque estimulen los procesos naturales de nutrición. Tales productos son, por naturaleza, más similares a los productos fertilizantes que a los productos fitosanitarios, puesto que mejoran la eficiencia en el uso de nutrientes de los vegetales, la tolerancia al estrés abiótico, e incrementan la disponibilidad de nutrientes inmovilizados en el suelo o la

rizosfera. Adicionalmente, se recogen los requisitos aplicables a cumplir por los productos fertilizantes, las obligaciones de fabricantes, importadores y distribuidores, y se exponen las diferentes Categorías de Materiales Componentes (CMC).

Este Reglamento abarca todas las categorías de fertilizantes y divide los productos fertilizantes UE en diferentes categorías funcionales (CFP), a cada una de las cuales se le asocian requisitos específicos de seguridad y calidad. De forma concreta, la CFP 6 hace referencia a los bioestimulantes de plantas de naturaleza microbiana. Se considera que un bioestimulante de planta microbiano estará constituido por un microorganismo o un grupo de microorganismos mencionados en la CMC 7, relativa a los microorganismos. Se declararán todos los microorganismos añadidos de forma intencional y, en caso de que existan diversas cepas del microorganismo en cuestión, se indicarán las cepas añadidas. La o las densidades poblacionales reales de microorganismos no podrán diferir en más de un 15 % del valor o valores declarados, y será expresada como número de unidades activas por volumen o peso, o de cualquier otra manera que sea pertinente para el microorganismo de que se trate, por ejemplo, unidades formadoras de colonias por gramo (ufc/g).

3. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR)

3.1 Antecedentes y actualidad

La existencia de bacterias que pueden aumentar el crecimiento y la productividad se conoce desde hace más de un siglo. El término rizobacteria se introduce de la mano de Kloepper y Schroth en 1978, durante el Cuarto Congreso Internacional de Bacterias Patógenas de las Plantas realizado en Francia. Pero no fue hasta 1980 cuando estos mismos autores acuñaron el concepto de PGPR (Goswami *et al.*, 2016). Ya en 1998, Bashan y Holguin propusieron una revisión de la definición original del término PGPR, ya que existen algunas bacterias que

poseen efectos beneficiosos sobre las plantas, aunque se encuentren fuera del medioambiente de la rizosfera (Bashan y Holguin, 1998).

El uso de productos agrícolas basados en microorganismos tiene una larga historia, comenzando por la utilización a principios del siglo XX de rizobios en leguminosas. Los rizobios son bacterias de origen edáfico, caracterizadas por fijar nitrógeno después de haberse establecido endosimbióticamente en el interior de los nódulos radiculares de las leguminosas (Desbrosses y Stougaard, 2011).

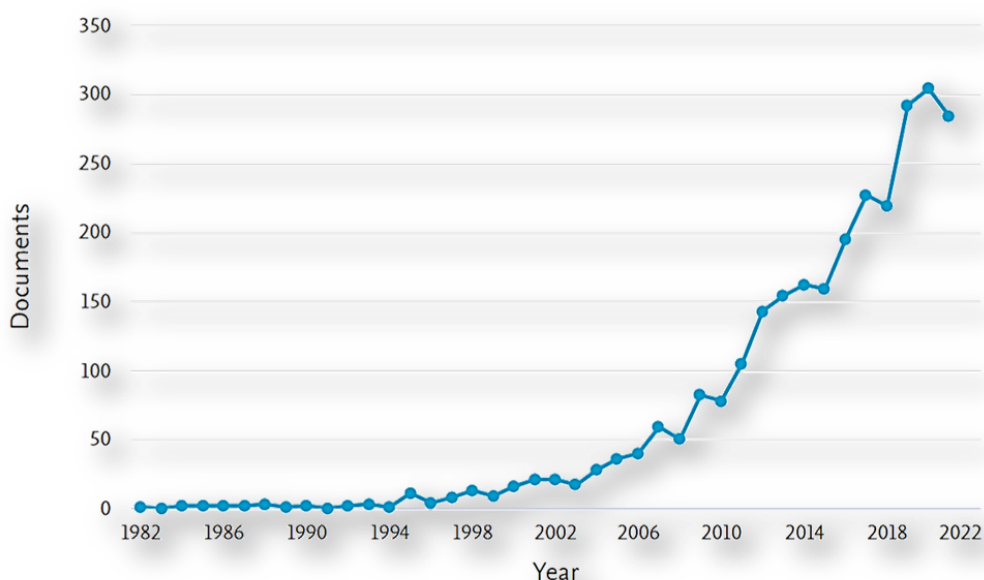


Fig. 4 Número de publicaciones relacionadas con biofertilizantes por año recogidas en la base bibliográfica Scopus.

En la actualidad, el número de trabajos publicados por año sobre este tema alcanza cifras significativas (Fig. 4), creando una disciplina que ha cambiado los conceptos tradicionales básicos de la fisiología vegetal y la ecología microbiana. La mayoría de los artículos intentan demostrar la eficacia de estas PGPR en el crecimiento, rendimiento y parámetros de calidad de diferentes cultivos como la berza (Helay *et al.*, 2020), el tomate (Yagmur *et al.*, 2021), la escarola (Jiménez

et al., 2021), las legumbres de grano (Swarnalakshmi *et al.*, 2020), etc. Otros autores prefieren centrarse en el papel que ejercen estos microorganismos como agentes de biocontrol, disminuyendo y/o suprimiendo los efectos de los patógenos en los vegetales (Jiao *et al.*, 2021; Delgado-Ramírez *et al.*, 2021), o bien exponen la mejora que presentan los cultivos en la tolerancia a diferentes estreses abióticos, como son la sequía (Thakur *et al.*, 2021) y la salinidad (Kumar *et al.*, 2020; Gupta *et al.*, 2021).

Algunos estudios intentan comprender el impacto de los biofertilizantes y tratan de averiguar en qué medida estos podrían reemplazar a los fertilizantes convencionales. En la investigación llevada a cabo por Sharma *et al.* (2021) se plantea el potencial de reemplazo que podría tener un biofertilizante, basado en un consorcio bacteriano integrado por *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium* y *Pseudomonas fluorescens* (ABP), en relación con un fertilizante químico tradicional. Los resultados, fundamentados en parámetros tales como nitrógeno del suelo, comunidad bacteriana residente, parámetros de la planta, etc., mostraron que el fertilizante químico podría ser reemplazado por el consorcio mixto ABP sin comprometer el rendimiento de la planta ensayada (*Cajanus cajan*). Adicionalmente, la aplicación combinada de ambos productos produjo una mejora en la fertilidad del suelo y modificó positivamente la rizosfera. En relación con este último aspecto, un reciente estudio realizado por Sinong *et al.* (2021) sobre una plantación de arroz, puso de manifiesto que el tipo de práctica agrícola utilizada marcaba un claro efecto en la estructura de la comunidad microbiana rizosférica. En concreto, la comparativa entre prácticas de fertilización agrícola convencional y la implementación de protocolos carentes de fertilizantes químicos y pesticidas reveló que en el primer caso se redujo la abundancia de los filos dominantes (Proteobacterias, Firmicutes, Chloroflexi y Spirochaetes) y la diversidad global, presentando la parcela “natural” un mayor número de taxones diferenciales.

Las tendencias más recientes, que centrarán el interés de los investigadores en los próximos años, se relacionan con perspectivas más innovadoras, sustentadas en la utilización de herramientas tecnológicas de última generación, como la metaproteómica, la nanotecnología y la rizoingeniería, que abren futuras

vías para la producción de biofertilizantes ecológicos y eficaces (Hakim *et al.*, 2021).

3.2 Especies consideradas como PGPR: Características

Una supuesta rizobacteria es calificada como PGPR cuando es capaz de producir un efecto positivo en la planta tras la inoculación, demostrando así buenas habilidades competitivas sobre las comunidades rizosféricas existentes (Goswami *et al.*, 2016).

Algunos de los grupos PGPR representativos y más estudiados incluyen géneros como *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Allorhizobium*, *Arthrobacter*, *Azorhizobium*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Brevibacterium*, *Chromobacterium*, *Burkholderia*, *Hyphomicrobium*, *Caulobacter*, *Flavobacterium*, *Erwinia*, *Gluconobacter*, *Mesorhizobium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia*, *Sinorhizobium*, *Sphingomonas*, y *Streptomyces* (Vijayabharathi *et al.*, 2016).

Uno de los mayores grupos de bacterias estudiados son las pertenecientes al grupo de rizobios, que comprende los géneros *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* y *Rhizobium*, siendo este último el más estudiado. Son, generalmente, bacterias simbióticas asociadas a leguminosas, principalmente conocidas por su papel en la formación de nódulos fijadores de nitrógeno relacionados con la mejora del crecimiento vegetal (Antoun y Prévost, 2005). Estas bacterias pueden producir reguladores del crecimiento vegetal y solubilizar fosfatos orgánicos e inorgánicos (Antoun *et al.*, 1998). Además de su efecto promotor del crecimiento vegetal, *Rhizobium* spp, ha mostrado efectos supresores de enfermedades causadas por hongos, bacterias, virus, nematodos y/o plantas parásitas (Siddiqui *et al.*, 2007). Podemos encontrar casos de inhibición directa del desarrollo del patógeno a través de fenómenos de competencia o antibiosis, y otros casos en los que la inhibición es indirecta a través de la activación de los mecanismos de defensa de las plantas. El potencial de *Rhizobium* spp. para producir compuestos extracelulares específicos, como la trifolitoxina, que poseen actividad antimicrobiana directa es conocido desde hace décadas (Breil *et al.*, 1996). Otra característica que podría estar relacionada

con el biocontrol es su capacidad para producir sideróforos quelantes de hierro. Estos compuestos reducen o eliminan el hierro disponible para otros microorganismos en el mismo lecho ecológico, y de esta manera producen su actividad antagónica mediante la competencia. Sin embargo, el rasgo involucrado en el biocontrol de enfermedades más estudiado en profundidad en *Rhizobium* spp. es el relacionado con la resistencia inducida (RI). La presencia de *Rhizobium* spp. estimula indirectamente a la planta para que active sus mecanismos de defensa frente a un patógeno, como por ejemplo la producción de determinadas moléculas de defensa (compuestos fenólicos, flavonoides u otras fitoalexinas). En 1998 Rabie demostró que los compuestos fenólicos totales y libres aumentaron significativamente en habas infectadas con *Botrytis fabae* cuando la planta era preinoculada con *Rhizobium leguminosarum* bv, *viceae*. En el caso particular de *Rhizobium etli*, el lipopolisacárido (LPS) es el implicado en la activación de la resistencia sistémica inducida (ISR), tal y como demostraron Reitz *et al.* (2000). Se demostró que el LPS purificado inducía resistencia sistémica, mientras que los mutantes de *R. etli* que carecían de parte del LPS eran deficientes en la capacidad de inducir resistencia sistemática.

Entre los PGPR más utilizados se encuentra *Pseudomonas fluorescens*, que estimula el crecimiento de la planta mediante producción de antibióticos, lo que evita enfermedades causadas por otras bacterias y hongos patógenos. *Pseudomonas* spp. han sido ampliamente estudiadas por su capacidad para reducir el desarrollo de varios patógenos de plantas transmitidos por el suelo (Carisse *et al.*, 2003). Las vías de acción detectadas para este grupo incluyen la producción de diferentes compuestos antimicrobianos (Thrane *et al.*, 2000), competencia (Paulitz *et al.*, 1992), e inducción de los mecanismos de defensa de las plantas (Benhamou *et al.*, 1996). También se demostró que poseen un efecto promotor del crecimiento vegetal en ausencia de patógenos, ya que estimulan y aceleran la germinación de las semillas y el crecimiento de las plantas, gracias a la síntesis de hormonas, como auxinas, giberelinas y citoquininas, y otras sustancias, como aminoácidos y promotores específicos del crecimiento (Uribe *et al.*, 1999).

Son bastantes las bacterias capaces de ejercer ambas funciones, tanto las de biocontrol como las de promover el crecimiento vegetal. Este es el caso de

Pseudomonas putida, que demostró reducir el daño causado por *Pythium ultimum* en tomate y así mejorar el crecimiento de las plantas infectadas, y a su vez estimular el crecimiento de plantas sanas en un entorno libre de enfermedades (Gravel *et al.*, 2007). En la mayoría de los casos, el efecto promotor directo del crecimiento vegetal por parte de *Pseudomonas* spp. en ambientes libres de patógenos, a menudo se asocia con los mecanismos de solubilización de fuentes de fósforo insolubles y / o regulación de la concentración de reguladores del crecimiento de las plantas, ya sea a través de su producción o su degradación (Vessey, 2003). El nivel de reguladores del crecimiento de las plantas en las proximidades y dentro del sistema radicular juega un papel importante. Leveau y Lindow (2005) demostraron que la degradación de IAA por parte de *P. putida* afectaba al desarrollo de la planta. Otra actividad de biodegradación llevada a cabo por las PGPR es la acción de la actividad ACC desaminasa, que hidroliza ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), liberando amoníaco y α -cetobutirato, lo que previene la síntesis en las plantas de niveles inhibidores de etileno en las raíces (Penrose *et al.*, 2001). La reducción del nivel de ACC en la rizosfera, causada por la actividad de ACC desaminasa, aumenta la exudación de ACC por la planta para mantener el equilibrio, reduciendo la síntesis potencial de etileno en las raíces y proporcionando un aumento de la raíz.

Algunas bacterias son versátiles y pueden presentar varios mecanismos; es el caso de *Bacillus subtilis*, que produce auxinas que promueven el crecimiento de tomate e inducen resistencia sistémica contra *Fusarium oxysporum*, especie que provoca marchitez y pudrición de las raíces (Gupta *et al.*, 2015).

3.3 Mecanismos de acción de las PGPR

Las PGPR desarrollan diversas actividades que ejercen efectos positivos sobre el crecimiento vegetal. Comprender la mecánica de actuación de estos microorganismos es clave para manipular la rizosfera con el fin de maximizar los procesos que enriquecen la productividad de las plantas. Tradicionalmente, algunos autores optan por clasificar los mecanismos de acción en dos grandes grupos basados en sus efectos primarios. Por un lado, encontraríamos

mecanismos directos mediante los que las PGPR actúan estimulando el crecimiento de la planta de manera directa y, por el otro lado los mecanismos indirectos llevados a cabo por rizobacterias que actúan como agentes de control biológico (BCA), ayudando a mejorar la productividad de la planta a través del control de patógenos vegetales (Avis *et al.*, 2008). Pese a que la diferencia entre los dos mecanismos no es siempre evidente, los mecanismos indirectos, por regla general, son aquellos que suceden fuera de la planta, mientras que los mecanismos directos son los que ocurren dentro de la planta y afectan directamente al metabolismo (Vessey, 2003).

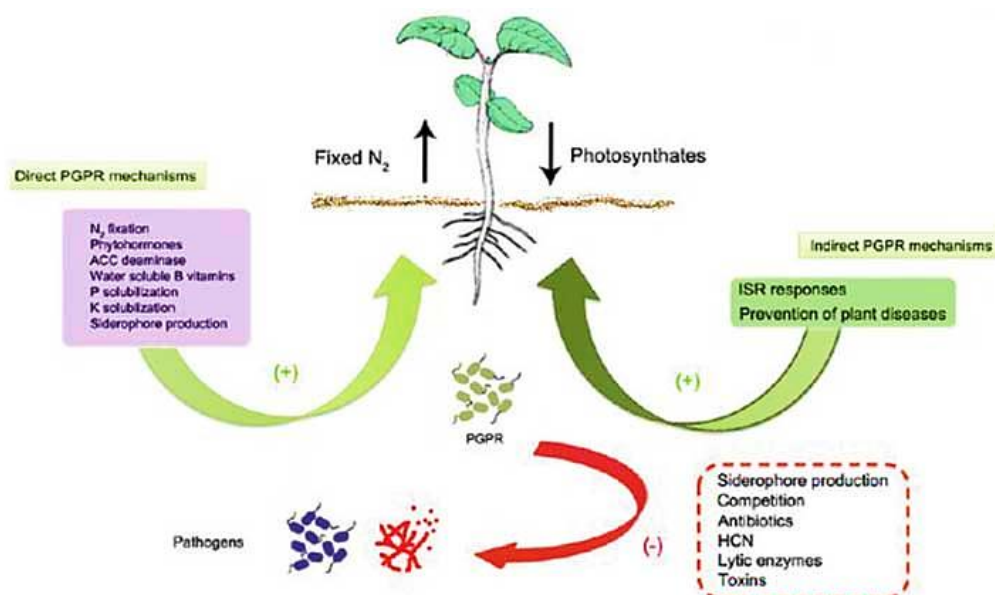


Fig. 5 Modos de acción de las PGPR (<https://thebiologynotes.com/plant-growth-promoting-rhizobacteria-pgpr/>).

3.3.1 Mecanismos de acción directos

Los mecanismos directos engloban procesos para mejorar la disponibilidad de nutrientes en el suelo. Las bacterias producen un metabolito o actividad capaz por sí misma de estimular el crecimiento vegetal tales como la solubilización de nutrientes como fósforo, potasio, hierro y zinc, fijación de nitrógeno (Basu *et al.*, 2021) y la producción de fitohormonas, como ácido indol-acético, giberelinas y citoquinas entre otras (Goswami *et al.*, 2016; Vijayabharathi *et al.*, 2016; Swarnalakshmi *et al.*, 2020; Khan *et al.*, 2020).

3.3.1 a) Fijación biológica del nitrógeno

El nitrógeno es un nutriente limitante importante para el crecimiento de la planta. Las plantas pueden acceder al nitrógeno de la atmósfera gracias a la ayuda de ciertos microorganismos. Este proceso se conoce como fijación del nitrógeno atmosférico.

La fijación biológica de nitrógeno (BNF) es el proceso de conversión del nitrógeno elemental en formas utilizables por los seres vivos. Una parte importante del nitrógeno elemental que entra en el suelo en condiciones naturales proviene del proceso de fijación asociado a microorganismos beneficiosos del suelo, como son las PGPR (Masson-Boivin y Sachs, 2018).

Las cepas bacterianas que poseen la capacidad de fijación de nitrógeno se clasifican en dos grupos. Por un lado, encontramos un grupo formado por bacterias simbióticas asociadas a las raíces de leguminosas, que poseen especificidad y la característica de infectar las raíces de las plantas produciendo nódulos. Este grupo incluye a los miembros de la Familia Rhizobiaceae. Por otro lado, existe otro grupo de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre que no poseen especificidad por la planta y realizan una fijación de nitrógeno no simbiótica (Oberson *et al.*, 2013). Estas bacterias no penetran en los tejidos de las plantas, pero establecen una relación muy estrecha con las raíces de estas, de tal manera que el nitrógeno atmosférico fijado por las bacterias que no sea utilizado para su propio beneficio es absorbido por la planta, permitiendo una mayor disponibilidad de este elemento. Algunos ejemplos de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre son *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum*, *Bacillus*, *Clostridium* y *Pseudomonas* (Goswami, *et al.*, 2016).

Los rizobios y las bacterias fijadoras de nitrógeno comparten genes *nod* y *nif* que codifican para la nodulación y fijación de nitrógeno, respectivamente. La fijación de nitrógeno es realizada por el complejo enzimático de la nitrogenasa (Fig. 6) (Zehr y Turner, 2001). Especies pertenecientes a los géneros *Azotobacter* y *Azospirillum* son las más utilizados en ensayos agrícolas. La aplicación de *Azotobacter chroococcum* y *Azospirillum brasilense* en agricultura, especialmente en cereales, ha dado lugar a aumentos notables en el rendimiento de los cultivos (Oberson *et al.*, 2013). Estudios recientes han demostrado que

los integrantes del género *Azospirillum* pueden proporcionar una cantidad suficiente de nitrógeno al girasol y mejorar su rendimiento y productividad (Fukami *et al.*, 2018). A lo largo del tiempo, otras cepas con presencia del clúster de genes *nif*, como *Bacillus* y *Paenibacillus*, han ido ganando importancia. Por otra parte, también se ha comprobado la existencia de interacciones entre distintos fijadores de nitrógeno, como en el caso de *Pseudomonas* con *Rhizobium*, lo que podría sugerir un proceso sinérgico para formar nódulos y tener mejor capacidad de fijación de nitrógeno (Tilak *et al.*, 2006). Estas bacterias pueden llegar a fijar nitrógeno hasta niveles próximos a 15 kg / ha / año. En 1992, Harold, Evans y Burris informaron que la cantidad de nitrógeno fijado oscila entre 20 y 30 kg por hectárea y año.

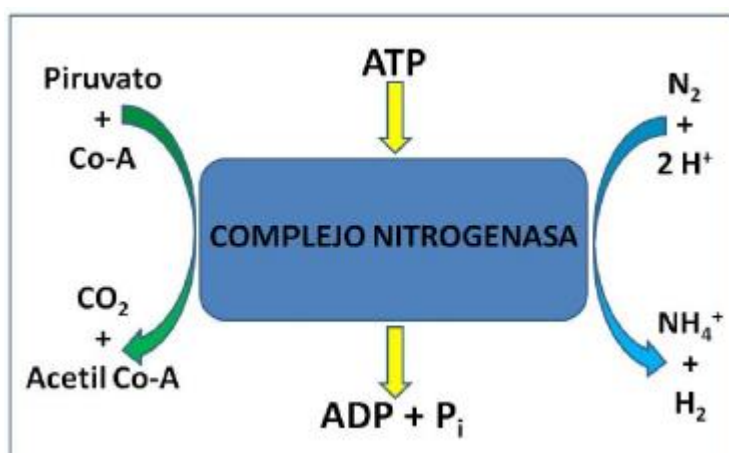


Fig. 6 Fijación de nitrógeno atmosférico mediada por la acción del complejo enzimático de la nitrogenasa (<https://www.redalyc.org/jatsRepo/920/92043276015/html/index.html>).

Varias de estas cepas también son capaces de producir hormonas de crecimiento vegetal, como ácido indolacético (IAA), lo que ayuda a las plantas en la absorción de nutrientes, y a mejorar el crecimiento, favoreciendo así su desarrollo (Aulakh *et al.*, 2001).

De lo expuesto en el presente epígrafe se desprende que, la fijación de nitrógeno se considera un rasgo importante de los PGPR, ya que proporciona nitrógeno a la planta mejorando el crecimiento y rendimiento del cultivo (Wang *et al.*, 2021). Además, contribuye en gran medida a la producción de fertilizantes orgánicos (Kuypers *et al.*, 2018). Durante más de 20 años, cepas fijadoras de nitrógeno se

han comercializado como biofertilizantes, y se consideran importantes para la agricultura (Goswami *et al.*, 2016), por promover la disponibilidad de nutrientes y reducir la aplicación de fertilizantes químicos.

3.3.1 b) Solubilización del fosfato

Después del nitrógeno, el fósforo es el nutriente más limitante para las plantas. Está involucrado en casi todas las principales vías metabólicas que desarrollan las plantas, incluyendo fotosíntesis, respiración, cadena de transporte de electrones, biosíntesis de macromoléculas y transducción de señales (Khan *et al.*, 2010). Además, también juega un papel en la mejora del crecimiento de las raíces, desarrollo de las semillas y madurez normal del cultivo (Heydari *et al.*, 2008).

A pesar de las abundantes reservas de fósforo existentes, no está disponible en una forma adecuada para la absorción de las plantas, ya que se encuentra presente de forma ligada con moléculas orgánicas o inorgánicas. Por lo tanto, las plantas son capaces de absorber bajas cantidades de fertilizantes fosfatados debido a su fijación en el suelo en forma de complejos insolubles (Alori *et al.*, 2017).

Desde una perspectiva nutricional, el P disponible para las plantas es el fosfato inorgánico (Pi). Las plantas solo pueden absorber fosfato mono y dibásico, que son las formas solubles de fosfato (Jha y Saraf, 2015).

En general, los microorganismos del suelo dinamizan el ciclo del P a través de procesos de mineralización, inmovilización y solubilización (Fig. 7), los cuales están relacionados con su metabolismo nutricional. Las bacterias que actúan sobre el fosfato utilizan diferentes mecanismos para liberar las formas insolubles del fosfato. La participación de microorganismos en la solubilización de fosfatos inorgánicos se conoce desde 1903 (Kucey *et al.*, 1989).

Los principales mecanismos aceptados como responsables de la solubilización microbiana del P mineral son la producción de ácidos orgánicos, la producción de protones, y la producción de ácidos inorgánicos y CO₂.

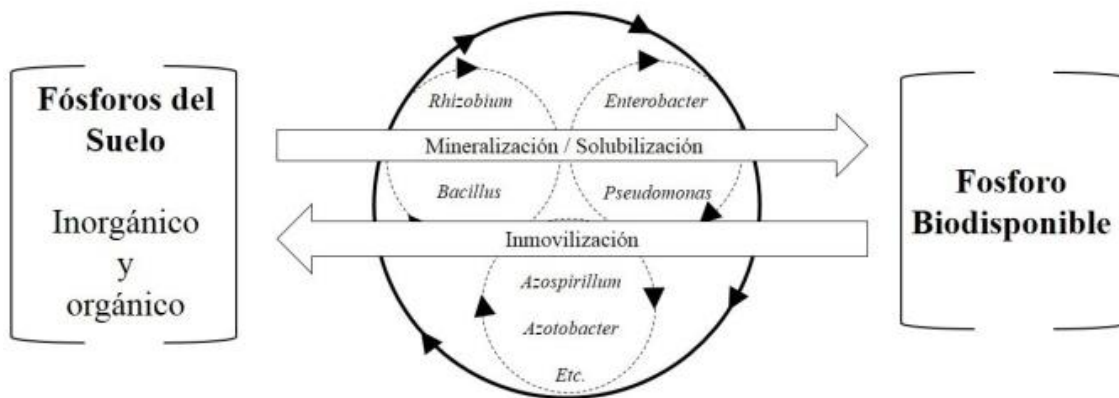


Fig. 7 Procesos de movilización e inmovilización del fósforo en el suelo (Khan *et al.* 2009)

Uno de los procesos más estudiados y estrechamente relacionado con la capacidad de solubilización del Pi es la producción de ácidos orgánicos. Las plantas exudan a través de la raíz gran cantidad de fuentes de C, entre las que destacan fructosa y glucosa y, en menor proporción, sucrosa. Las PGPR tienen la capacidad de utilizar estos azúcares y producir ácidos orgánicos resultantes de la respiración oxidativa o de procesos fermentativos microbianos. Por ejemplo, el ácido glucónico es un factor importante que contribuye a la liberación de fósforo que se encuentra de forma ligada (Rodríguez *et al.* 2006).

Muchas de las PGPR solubilizadoras de fosfato reducen el pH del medio debido a la secreción de ácidos orgánicos como acético, oxálico, málico, succínico, tartárico, 2-cetoglucónico, láctico y cítrico (Tsegaye *et al.*, 2019). El fosfato tiende a reaccionar con calcio (Ca), hierro (Fe) o aluminio (Al), lo que conduce a su precipitación y hace que no esté disponible para la absorción por la planta. Los ácidos liberados por parte de las PGPR actúan como quelantes de estos cationes divalentes, lo que impide que puedan asociarse con los compuestos fosforados y propiciar su precipitación.

También se ha demostrado que algunas PGPR pueden solubilizar fosfatos insolubles sin producir ácidos orgánicos. En estos casos, el mecanismo principal responsable de la solubilización es la producción de protones durante la asimilación del NH_4^+ , o resultantes de las actividades respiratorias (Mullen, 2005), pues la reducción concomitante del pH de la solución del suelo favorece

la solubilización de los fosfatos precipitados. En la solución del suelo, las formas iónicas del P_i son dependientes del pH.

Otro mecanismo responsable de la solubilización de P es la mineralización, que abarca la descomposición de compuestos orgánicos complejos de P en formas utilizables absorbidas por las plantas (Prasad *et al.*, 2019).

El fosfato orgánico constituye una gran fracción del fosfato soluble, que es aproximadamente el 50% en aquellos suelos con alto contenido de materia orgánica. El hexafosfato de inositol, también conocido como fitato, es la principal forma del fosfato en forma orgánica (Alexander, 1977). Para que tenga lugar el proceso de mineralización mencionado previamente, es necesaria la presencia de ciertas enzimas que catalicen el proceso. Estas enzimas son las fosfatasas y fitasas secretadas por los microorganismos del suelo. Las fosfatasas son enzimas que se liberan extracelularmente y utilizan formas orgánicas de P como sustrato para transformarlos en formas inorgánicas, mientras que las fitasas son las encargadas de la liberación del P del ácido fítico (Puppala *et al.*, 2019). En algunas ocasiones, el fitato tiende a formar complejos insolubles con Fe, Al y Ca, y se acumula en el suelo (Jha y Saraf., 2012).

Otros de los mecanismos propuestos para la solubilización de fosfatos insolubles es la producción de ácidos inorgánicos, como es el caso del ácido nítrico y el ácido sulfúrico. Ambos compuestos son generados, respectivamente, por las bacterias nitrificantes y *Thiobacillus* sp. durante la oxidación de compuestos nitrogenados o del azufre inorgánico, los cuales reaccionan con los fosfatos insolubles, transformándolos en biodisponibles (Yi *et al.*, 2008).

Una vez las formas orgánicas e inorgánicas de P se transforman en formas más simples, pueden ser absorbidas fácilmente por las plantas (Fig. 8).

Entre la comunidad bacteriana del suelo, las cepas ectorizosféricas de *Pseudomonas* y *Bacillus* y las endosimbióticas de *Rhizobium* han sido las especies descritas como las mayores solubilizadoras de fosfato (Goswami *et al.*, 2014). Los miembros integrados en estos géneros que se pueden considerar como más relevantes en lo que respecta a esta actividad son *Bacillus megaterium*, *B. circulans*, *B. coagulans*, *B. subtilis*, *B. polymyxa*, *B. sircalmous*,

y *Pseudomonas striata* (Govindasamy *et al.*, 2011; Goswami *et al.*, 2013). Otras bacterias como *Pseudomonas fluorescens*, *Erwinia herbicola*, *Pseudomonas cepacia* y *Burkholderia cepacia* han sido reconocidas como eficientes productoras de ácido glucónico, mientras que *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium meliloti* y *Bacillus firmus* producen ácido 2-cetoglucónico. Ambos ácidos orgánicos juegan un papel clave en la solubilización de fosfatos, tal y como se ha visto (Rodríguez y Fraga, 1999). Algunas especies como *Bacillus licheniformis* y *B. amyloliquefaciens* producen mezclas de ácido láctico, ácido isovalérico, ácido isobutírico y ácido acético.

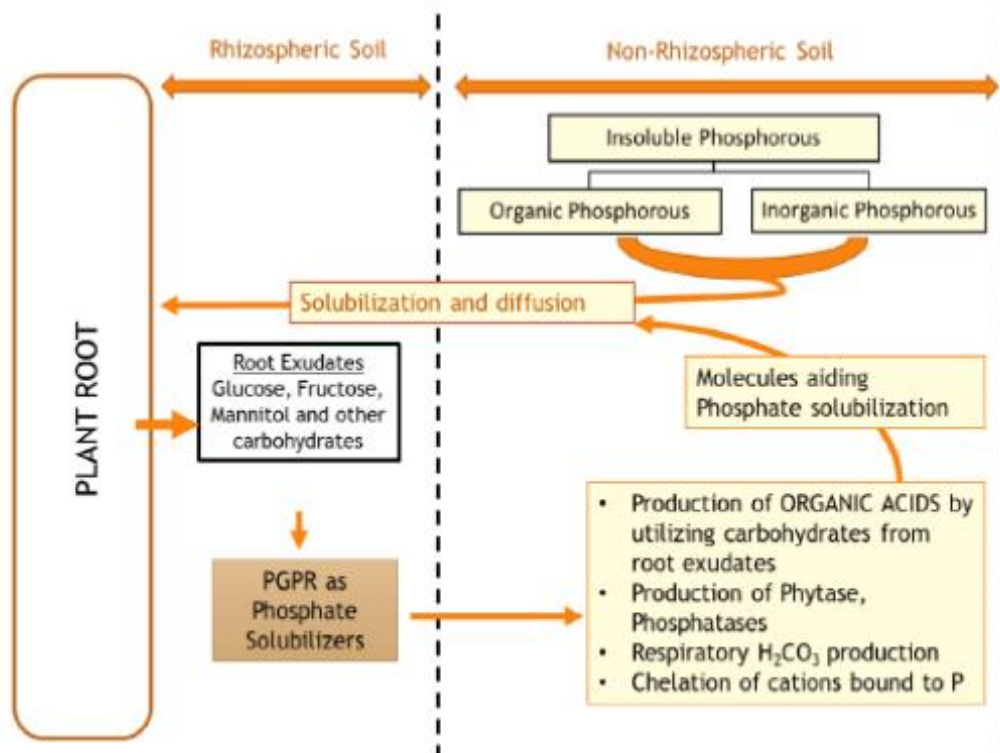


Fig. 8 Resumen esquemático del mecanismo de solubilización de fosfato empleado por PGPR (Goswami *et al.*, 2016).

3.3.1 c) Producción de fitohormonas

Las fitohormonas son un grupo de pequeñas moléculas de señalización, que desempeñan un papel crucial en la regulación del crecimiento y desarrollo de las plantas. Por tanto, influyen en los procesos fisiológicos a bajas concentraciones. Según numerosos estudios fisiológicos y genéticos, cada clase de fitohormonas

funciona en diferentes procesos de desarrollo y crecimiento (Davies, 2010). Las propias PGPR pueden liberar reguladores del crecimiento que son integrados en el interior de las plantas y también pueden actuar de sumideros de las hormonas liberadas por las plantas, lo que modifica el metabolismo de esta, conduciendo a una mejora en su capacidad adaptativa (Glick, 2014).

La planta responde a cualquier fitohormona en la rizosfera que sea suplementada externamente o bien producida por microorganismos que residen en esta. Las fitohormonas pueden mediar procesos, incluyendo el crecimiento vegetal, y división y extensión celular en raíces (Glick, 2014). Además, contribuyen a aliviar las condiciones de estrés biótico y abiótico.

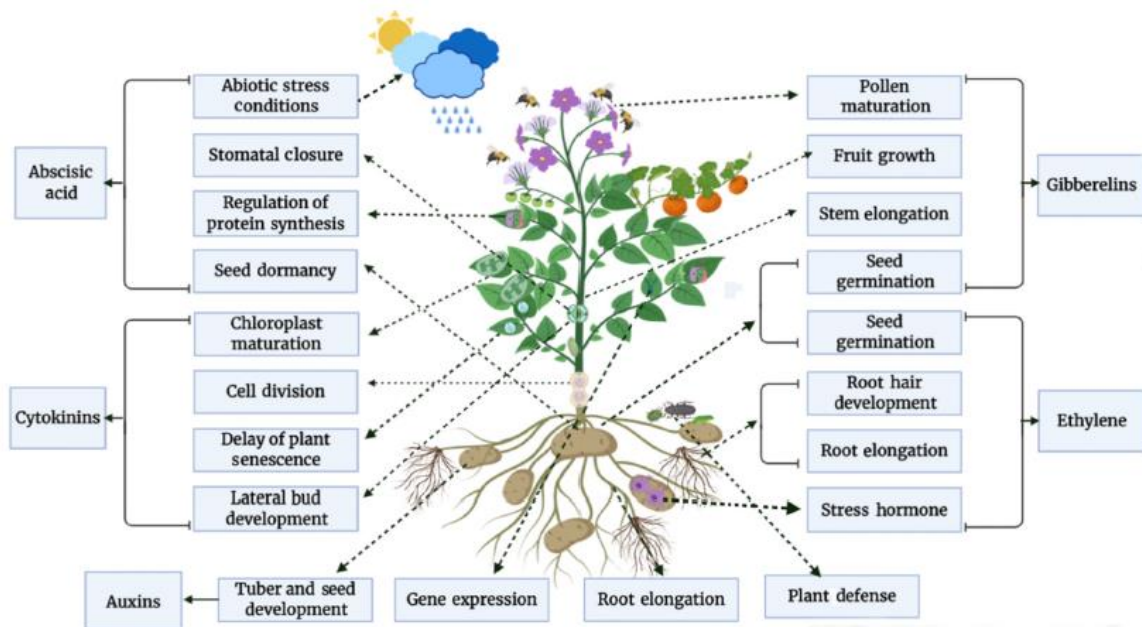


Fig. 9 Efectos variables de las moléculas de señalización (fitohormonas) producidas por PGPR para provocar cambios en el desarrollo de las plantas.

Las fitohormonas se clasifican en cinco grupos principales, según la base de su composición estructural y los procesos fisiológicos que tienen lugar en las plantas. Así, se diferencian: auxinas, giberelinas, citoquininas, etileno y ácido abscísico (Khatoon *et al.*, 2020) (Fig. 9). A continuación, se detalla el papel de

algunas de las principales fitohormonas producidas por bacterias y su influencia en la regulación del desarrollo vegetal.

La auxina es una fitohormona crucial y componente fundamental que modula varias etapas del crecimiento y desarrollo de la planta, como el alargamiento celular, la división celular, diferenciación tisular y ayuda a la dominancia apical. (Halliday *et al.* 2009; Grossmann, 2010). Diferentes auxinas como el ácido indol-3-acético (IAA), el ácido indol-3-butírico (IBA), el ácido indol-3-pirúvico (IPA), el triptofol (TOL) y el ácido indoláctico (ILA) son producidas por PGPR. El IAA es una auxina esencial producida por PGPR como *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Rhizobium* y *Enterobacter* (Khan *et al.*,2016; Swarnalakshmi *et al.*, 2020).

La biosíntesis de las auxinas producidas por varias cepas de PGPR y su mecanismo fundamental de acción en las plantas han sido objeto de numerosas investigaciones. Varios estudios han demostrado que la aplicación de dichos microorganismos en el campo mejora los niveles endógenos de IAA de la planta y, por lo tanto, tiene un efecto notable sobre el crecimiento de la planta en comparación especímenes no tratados (Vessey, 2003; Amara *et al.*, 2015).

Aproximadamente el 80% de las cepas bacterianas presentes en la rizosfera producen IAA. Entre las bacterias productoras de auxina mejor estudiadas se encuentran *Rhizobium*, *Pantoea*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, y especies de *Bacillus* (Tabassum *et al.*, 2017).

El IAA liberado por las rizobacterias afecta principalmente al sistema radicular, aumentando su tamaño y peso, número de ramificaciones y superficie en contacto con el suelo, formándose unas raíces más desarrolladas. Todos estos cambios permiten que la planta absorba mejores nutrientes que, en última instancia, ayudan a su crecimiento general (Ramos-Solano *et al.*, 2008). El IAA también impulsa la diferenciación de raíces adventicias del tallo, ya que induce la diferenciación de los tejidos del tallo hasta tejido radicular (Goswamy *et al.*,2016).

La producción de IAA por *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas* y *Erwinia* aumenta la longitud de las raíces de las plántulas, los pelos radicales, la

ramificación de las raíces, y la superficie de estas (Bashan *et al.*, 2004). Por otra parte, las plantas tratadas con cepas de *Rhizobium* han mostrado un mejor desarrollo de las raíces laterales y un aumento de la nodulación (Pii *et al.*, 2007).

Muchos experimentos han demostrado la existencia de interacciones complejas entre auxinas y citoquinas involucradas en la modulación de la arquitectura de la raíz y el tallo. Las auxinas y citoquinas interactúan en el control de muchos procesos de desarrollo importantes en las plantas, particularmente en la dominancia apical y en el desarrollo de raíces y tallos (Jha y Saraf., 2015).

Las citoquinas son un tipo de fitohormonas específicas derivadas de la adenina involucradas en procesos de desarrollo tales como la germinación de la semilla, formación de la vasculatura embrionaria, crecimiento de la raíz, expansión foliar, producción de clorofila, ramificación, señalización nutricional y retraso de la senescencia foliar, entre otras funcionalidades (Wong *et al.*, 2015).

De manera similar a lo visto con las auxinas, las respuestas de las plantas a las aplicaciones exógenas de citoquinas dan como resultado una mejora en la división celular, aumento en la formación de pelos radiculares y del desarrollo de la raíz, inhibición de la elongación de las raíces e iniciación del brote entre otras respuestas fisiológicas permitiendo jugar un rol importante en el aumento y generación de la producción de brotes a nivel vegetal (Yong *et al.*, 2009).

La producción de citoquinas está asociada a microorganismos de diversos géneros tales como *Pseudomonas*, *Azospirillum* y *Bacillus*, asociados a una gran variedad de especies de plantas como cebada y frijol (Persello-Cartieaux *et al.*, 2003). Otros géneros como *Proteus*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, y *Xanthomonas* también ha sido identificados por su habilidad para producir citoquinas (Maheshwari *et al.*, 2015).

Las giberelinas son el grupo más grande de fitohormonas que se conoce. Están involucradas a nivel vegetal en muchos procesos del desarrollo de tejidos cuyo crecimiento es constante, como lo pueden ser la elongación de las raíces y del tallo y otros procesos vegetales como la floración, cuajado y germinación de las semillas (Gupta y Chakrabarty, 2013).

Una baja cantidad de giberelinas puede ser responsable de la esterilidad y bajo desarrollo de los aparatos reproductores vegetales. Cabe destacar que esta fitohormona tiene la capacidad de inducir la germinación de las semillas y estimular el crecimiento embrionario, por lo que es sumamente importante en el desarrollo temprano de los embriones vegetales (Edwin *et al.*, 2007).

Existe poca información sobre los microorganismos que producen giberelinas, aunque se sabe que las bacterias simbióticas existentes en el interior de los nódulos en las plantas leguminosas para fijar nitrógeno, los comúnmente llamados rizobios son capaces de producir giberelinas, auxinas y citoquininas en concentraciones muy bajas cuando la planta está formando el nódulo y hay una alta tasa de duplicación celular (Jha y Saraf., 2015). Esta fitohormona también puede ser producida por microorganismos tales como *Pseudomonas* spp, *Bacillus* spp, *Lactobacillus* spp, *Penicillium* spp, *Trichoderma* spp, *Acetobacter diazotrophicus* y *Herbaspirillum seropedicae* cuando ocurren ciertas interacciones simbióticas o parasitarias (Bisht *et al.*, 2018).

El ácido abscísico, también conocido como ABA, es una de las fitohormonas que tiene la capacidad de inhibir y controlar algunos procesos vegetales que normalmente ocurren de manera natural. Puede ser generado de manera indirecta por las plantas, y de manera directa por algunos organismos fúngicos de tipo fitopatógeno (Alcántara *et al.*, 2019).

Esta fitohormona normalmente es considerada como inhibidor del crecimiento puesto que puede prevenir o retrasar el proceso de germinación de las semillas y retardar el desarrollo de una gran variedad de tejidos y órganos vegetales, incluidos hojas, tallos y raíces (Bish *et al.*, 2018). El ABA parece ser un factor interno que induce la latencia en los brotes, la abscisión de las hojas de una amplia variedad de plantas y frutos de algunas especies vegetales, y promueve la senescencia a través de la abscisión de las hojas, la degeneración de las hojas cortadas y la aceleración de la descomposición de la clorofila (Pita *et al.*, 2013).

En último lugar hablaremos del etileno, hormona involucrada en varios procesos metabólicos a nivel vegetal. Como regulador vegetal, esta sustancia se ha visto relacionada en procesos sinérgicos y antagónicos, al combinarse

con otras fitohormonas (Alcántara *et al.*, 2019). Numerosos estudios han demostrado su utilidad para regular diferentes procesos relacionados con la maduración y senescencia vegetal cumpliendo un papel importante en la maduración de órganos como las hojas, el inicio de la floración, y aparición de frutos y de más órganos vegetales interviniendo también de manera adicional en la regulación de la senescencia de cada uno de estos órganos (Kim *et al.*, 2015).

Como sustancia orgánica vegetal, es sumamente importante cuando se habla de la senescencia y maduración, ya que interviene en numerosos procesos degradativos como la ruptura de pigmentos en las hojas, degradación de lípidos y proteínas, disminución de la membrana celular y en actividades relacionadas con la maduración, ya que se encarga de controlar el color, la textura y el aroma característicos de los frutos durante todo el ciclo de vida.

3.3.2 Mecanismos de acción indirectos

Los efectos indirectos se deben a la modificación del ambiente rizosférico y su ecología. Se originan cuando las PGPR liberan algún metabolito que no afecta de manera directa al crecimiento vegetal, pero si a otros factores rizosféricos provocando una mejora o estimulación en el crecimiento de la planta. Requieren la participación de procesos metabólicos defensivos de las plantas que responden a la señal enviada por las bacterias. De esta manera, actúan como agentes de biocontrol reduciendo las enfermedades, protegiendo a las plantas mediante la degradación de compuestos xenobióticos en suelos contaminados y simulando otras simbiosis. Las PGPR actúan como agentes de biocontrol de fitopatógenos mediante la síntesis y secreción de sideróforos, enzimas hidrolíticas, antibióticos y compuestos orgánicos volátiles, entre otros compuestos (Fig 10) (Angulo *et al.*, 2014). Además, en este grupo se incluyen dos mecanismos importantes: la inducción de resistencia sistémica (ISR) a patógenos vegetales (estrés biótico) y protección contra condiciones ambientales insalubres (estrés abiótico) (Sehrawat *et al.*, 2019).

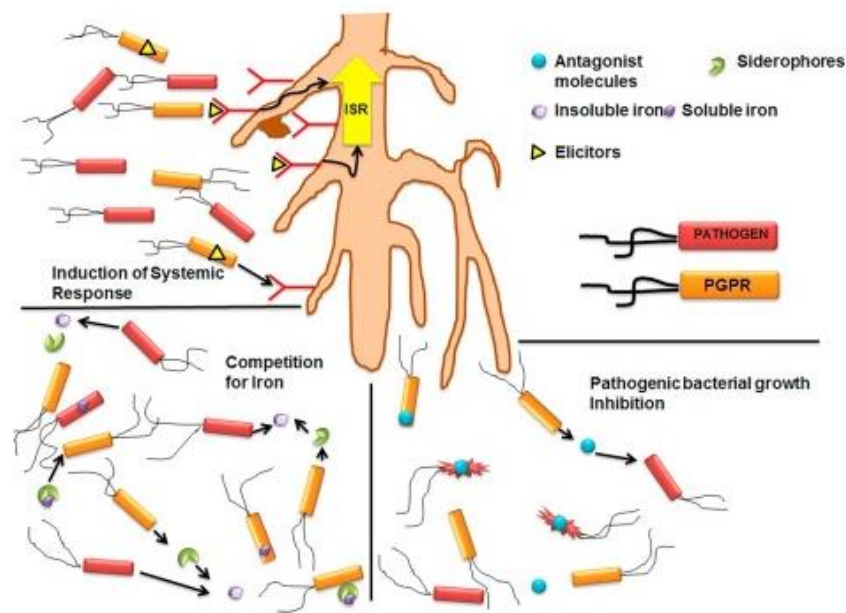


Fig. 10 Diferentes formas de actuación de las PGPB. ISR: Inducción de la Respuesta Sistémica.

(Gouda *et al.*, 2018)

3.3.2 a) Producción de sideróforos

El hierro es un micronutriente importante utilizado por las bacterias y esencial para su metabolismo. En la naturaleza la forma que predomina es el hierro férrico (Fe^{3+}), formando parte de sales e hidróxidos de muy baja solubilidad, formas químicas que imposibilitan su uso por algunos seres vivos. Con el fin de solucionar este problema, muchos organismos entre ellos incluidos las PGPB, tienen la capacidad de producir compuestos de bajo peso molecular que poseen una alta afinidad por el hierro, los llamados sideróforos (Schalk *et al.*, 2011).

Los sideróforos contienen grupos capaces de unir el hierro de forma reversible, actúan de manera específica como agentes quelantes para secuestrar el hierro en presencia de otros metales y reducirlo a Fe^{2+} , una forma mucho más soluble y aprovechable para su nutrición (Fig. 11) (Ratledge *et al.*, 2000).

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal poseen la capacidad de producir sideróforos que secuestran el hierro al formar un complejo Fe^{3+} -sideróforo en el ambiente exterior. Mediante un receptor específico localizado en la membrana bacteriana, los complejos formados son transportados al interior de

la célula y una vez dentro de esta el hierro se libera quedando disponible para apoyar el crecimiento microbiano (Jha y Saraf., 2015).

Adicionalmente, esto ocasiona que este metal no se encuentre disponible para otros microorganismos que carezcan del sistema de asimilación específico para reconocer dicho complejo, generalmente los hongos, y por lo tanto se limita de esta manera el crecimiento de microorganismos fitopatógenos. Así, la deficiencia de hierro causa inhibición del crecimiento, disminución de los ácidos nucleicos, inhibición de la síntesis de la esporulación, y cambios en la morfología celular (Kloepper *et al.*, 1980; Shen *et al.*, 2013).

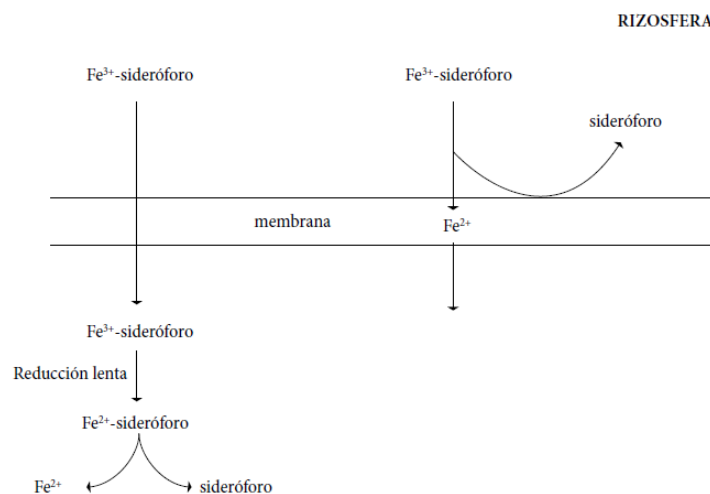


Fig. 11 Mecanismos de los sideróforos microbianos para la captura y solubilización de hierro (Aguado *et al.*, 2012).

Las bacterias productoras de sideróforos suelen pertenecer a los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus*, siendo las especies más estudiadas *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas aeruginosa* (Haas *et al.*, 2005) y *Bacillus subtilis* (Ghazy *et al.*, 2021).

Recientemente se ha estudiado que la bacteria *Azospirillum brasilense*, conocida por su capacidad para fijar nitrógeno y producir ácido indolacético (AIA), también es capaz de controlar al hongo fitopatógeno *Colletotrichum acutatum* en cultivos de fresa mediante la producción de sideróforos y se ha demostrado que los sideróforos pueden, por sí mismos, actuar como activadores eficientes de los sistemas de resistencia sistémica inducida en las plantas.

Además, también mejoran la capacidad de captación de hierro de la planta, puesto que estas PGPB atraen este elemento hacia la rizosfera, donde puede ser absorbido por la planta, siendo capaces algunas de ellas de utilizar los complejos Fe^{3+} -sideróforo bacterianos (Aguado *et al.*, 2012). Por este motivo algunos autores consideran la producción de sideróforos un mecanismo directo (Gouda *et al.*, 2018).

3.3.2 b) Producción de enzimas

Las enzimas extracelulares secretadas por bacterias, arqueas y hongos en el suelo provocan la despolimerización y mineralización de biomoléculas estructuralmente complejas en el suelo (Kumar *et al.*, 2021

).

En condiciones de estrés abiótico, algunas PGPB regulan la síntesis de enzimas antioxidantes como la catalasa, la superóxido dismutasa, la ascorbato peroxidasa y la glutatión reductasa, así como la de antioxidantes no enzimáticos como el ascorbato, el glutatión, el α -tocoferol, los flavonoides y los compuestos fenólicos que ayudan a disminuir el estrés causado. Estas enzimas evitan la acumulación de las especies reactivas del oxígeno (ROS) que son las responsables de causar el daño oxidativo en los componentes celulares (Nivetha *et al.*, 2021). Por lo tanto, las PGPR mejoran el crecimiento de los cultivos en ambientes extremos al prevenir o reducir el daño oxidativo en las plantas a través de la activación del sistema de defensa antioxidante.

La tolerancia al estrés por salinidad se mejoró en el trigo mediante la inoculación de PGPR debido a la reducción de la concentración y la actividad de numerosas enzimas antioxidantes, incluidas la superóxido dismutasa, la peroxidasa, la catalasa, la glutatión reductasa y la ascorbato peroxidasa (Bharti *et al.*, 2016). Además, se descubrió que la producción de enzimas líticas, por ejemplo, quitinasas, lipasas, proteasas, celulasas y β -1,3 glucanasas por parte de microorganismos beneficiosos, inhibe el crecimiento de hongos patógenos, incluidos *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Phytophthora*, *Pythium* y *Fusarium*

(Hayat *et al.*, 2010). El poder de estas enzimas reside en su capacidad para degradar los componentes de la pared celular fúngica.

La quitinasa es considerada una importante enzima protectora de plantas contra patógenos (Maksimov *et al.*, 2011), pudiendo ser sintetizada por *Trichoderma*, *Pseudomonas* y *Bacillus* (Babu *et al.*, 2015). Estas enzimas degradan quitina un polímero insoluble lineal de β -1, 4-N-acetil-glucosamina que es el componente mayoritario de la pared celular fúngica (Goswami *et al.*, 2016). Microorganismos como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Xanthomonas* y *Agrobacterium* sp. destacan por producir proteasas y lipasas (Ghodsalavi *et al.*, 2013).

Se descubrió que la inoculación de PGPR previene enfermedades como la podredumbre del rizoma, tizón foliar de la cúrcuma, podredumbre del cuello en el cacahuete y tizón temprano en tomate (Kumar *et al.*, 2021).

3.3.2 c) Producción de antibióticos

La estrategia de supervivencia más popular adoptada por los microorganismos durante la competencia de nichos es la producción de antibióticos, convirtiéndose en uno de los mecanismos de biocontrol más efectivos y estudiados en las últimas dos décadas (Jiao *et al.*, 2021).

Los antibióticos son compuestos heterogéneos de bajo peso molecular, que pueden ser volátiles o no volátiles y poseen actividades antimicrobianas, antivirales, antioxidantes, antitumorales, antihelmínticas, fitotóxicas y/o citotóxicas, y también pueden actuar como compuestos promotores del crecimiento de las plantas a baja concentración. Actúan inhibiendo el crecimiento de organismos perjudiciales ocasionando la distorsión de la membrana celular, la detención en la etapa de formación del ARN ribosómico, o la inhibición de la traducción y de la síntesis de la pared celular (Gouda *et al.*, 2018).

Se ha descubierto que las cepas de PGPR producen varios tipos de antibióticos, como 2,4-diacetil floroglucinol (DAPG), fenazina-1-ácido carboxílico (PCA), fenazina-1-carboxamida, piroluteorina, pirrolnitrina, oomicina A, viscosinamida, butiroaminectona, cianoaminectona, zimicrolactona, zimicrolactona A,

ramnolípidos, cepaciamida A, ecomicinas, ácido pseudomónico, azomicina y cepafunginas (Ulloa-Ogaz *et al.*, 2015).

PGPR como *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp, juegan un papel importante en la inhibición de microorganismos patógenos mediante la producción de antibióticos.

Las bacterias pertenecientes al género *Bacillus* producen una amplia variedad de antibióticos antibacterianos y antifúngicos. Algunos de estos compuestos, incluidos la subtilina, la subtilosina A, y la sublancina de origen ribosómico, son bien conocidos, pero otros, como clorotetaína, bacilisina, micobacilina, rizotocinas, difficidina y bacillaeno, etc son de origen no ribosómico. Además, *Bacillus* spp. también produce una amplia variedad de antibióticos lipopeptídicos, como surfactina, iturinas y bacilomicina (Wang *et al.*, 2015).

La mayoría de las especies de *Pseudomonas* produce una amplia variedad de antibióticos antifúngicos, antibióticos bacterianos, antibióticos antitumorales y antibióticos antivirales. Las especies más estudiadas son *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas aeruginosa* (Ramadan *et al.*, 2016).

Distintos antibióticos, tales como surfactinas, fengycina, fenazina y DAPG fenazina, que se han mostrado eficaces frente a hongos fitopatógenos como *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* y *Collectotrichum falcatum* (Kumar *et al.*, 2021), han sido detectados en la rizósfera de trigo, maíz, papa y arroz.

3.3.2 d) Producción de ACC desaminasa

Las PGPB que sintetizan la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa facilitan el crecimiento y el desarrollo de las plantas al asegurar que los niveles de etileno dentro de los tejidos de la planta no se vuelvan elevados (Glick *et al.*, 2014).

La enzima regula la producción de etileno al metabolizar ACC que es un precursor intermedio de la biosíntesis de etileno en plantas. Esta enzima evita que el ACC sea transformado en etileno, y en su lugar se libera amonio, y α -

cetobutirato; ambos compuestos pueden ser metabolizados por la planta o por las propias bacterias (Saraf *et al.*, 2010).

De esta forma, las PGPR obtienen una fuente de nitrógeno y, por otro lado, se abre un sumidero para el ACC, provocando que los niveles de ACC dentro de la planta disminuyan, y por tanto la cantidad de etileno que podría llegar a formarse también se reduzca; finalmente, las plantas aumentan su resistencia a los efectos inhibitorios del etileno producido como consecuencia directa del estrés biótico y abiótico. A su vez, la disminución de los niveles de etileno permite que la planta sea más resistente a una amplia variedad de estreses ambientales incluyendo infección por fitopatógenos, exposición a extremos de temperatura, alta salinidad, inundación, sequía, exposición a metales y contaminantes orgánicos, y depredación de insectos (Jha y Saraf., 2015).

La actividad promotora del crecimiento de la ACC desaminasa fue demostrada en cepas de *Pseudomonas fluorescens* en plántulas de cacahuete. Varias cepas de bacterias endófitas entre las cuales se encuentran *Sphingomonas* sp y *Bacillus subtilis* mejoraron el crecimiento en cultivo de tomate gracias a la actividad de esta enzima (Khan *et al.*, 2016).

3.3.2 e) Producción de compuestos orgánicos volátiles

Los compuestos orgánicos volátiles microbianos (COVM) son un tipo de compuestos orgánicos volátiles (COV) producidos por todos los microorganismos como parte de su metabolismo normal. Aquellos COV producidos por cepas de control biológico promueven el crecimiento al inhibir patógenos bacterianos y fúngicos y nematodos, e inducir resistencia sistémica en plantas contra fitopatógenos (Raza *et al.*, 2016).

Especies bacterianas de diferentes géneros que incluyen *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Stenotrophomonas* y *Serratia* producen COV que afectan al crecimiento de las plantas. Entre los más efectivos COV destacan el 2, 3-butanodiol y la acetoína, producidos por *Bacillus* spp (Santoro *et al.*, 2016).

Los COV de las cepas PGPR están involucrados directa o indirectamente en el incremento de la resistencia a las enfermedades, la tolerancia a los diferentes estreses y el aumento de la biomasa vegetal. Se ha informado que los COV bacterianos son determinantes para provocar la ISR (Sharifi *et al.*, 2016).

Las emisiones de COV son una característica común de una amplia variedad de microorganismos del suelo e incluyen ciclohexano, 2-(benciloxi)etanamina, benceno, metilo, decano, 1-(N-fenilcarbamil)- 2- morfolinociclohexeno, dodecano, benceno(1-metilnonadecil), 1-clorooctadecano, tetradecano, 2,6,10-trimetilo, dotriacontano y 11-decildocosano, aunque la cantidad e identidad de los COV emitidos varían entre especies (Kanchiswamy *et al.*, 2015).

3.3.2 f) Producción de HCN y amonio

Otro rasgo característico destacable de las PGPR es la producción de cianuro de hidrógeno (HCN) y amoníaco. Algunas de las cepas de rizobacterias son bien conocidas por la síntesis simultánea de estos dos metabolitos, lo que produce un efecto sinérgico en el crecimiento de las plantas (Kumar *et al.*, 2016).

Entre las principales funciones del HCN destacan su capacidad para quelar iones metálicos, facilitar la disponibilidad de fósforo en el suelo y también contribuir como metabolito altamente tóxico contra el crecimiento de fitopatógenos. Estudios *in vitro* demostraron que el HCN desempeñó un papel importante en la inhibición del crecimiento del micelio. Por lo tanto, la producción de este metabolito asegura el uso de cepas de PGPR como agente de control biológico en la agricultura (Sehrawat *et al.*, 2022). Por ejemplo, *Pseudomonas fluorescens* aumenta la tasa de germinación, la longitud de la raíz y los brotes en cultivos de cebada, centeno y trigo (Heydari *et al.*, 2008).

Aparte del HCN, la producción de amoníaco por parte de las rizobacterias está relacionada con la fijación de nitrógeno proporcionando nitrógeno a la planta, promoviendo así la formación de biomasa y la elongación de raíces y brotes (Marques *et al.*, 2010). Una variedad de rizobacterias promotoras del crecimiento

vegetal participa en la interacción con plantas C3 y C4 en cultivos de arroz, trigo y maíz, consiguiendo aumentar significativamente su crecimiento y rendimiento de grano (Kennedy *et al.* 2004).

3.3.2 g) Inducción de la resistencia sistémica

La planta responde a cualquier ataque patógeno o estrés ambiental con un mecanismo de defensa, que incluye resistencia sistémica inducida (ISR) y resistencia sistémica adquirida (SAR) dependiendo del tipo de agente inductor involucrado en el proceso y las vías hormonales que lo regulan (Kamal *et al.*, 2014). SAR es inducida por la exposición previa de la planta con un microorganismo virulento, avirulento o no patógeno. Se requiere un periodo de tiempo determinado para establecimiento de SAR, en el que se acumulan proteínas relacionadas con la patogenicidad y se produce ácido salicílico. Por otro lado, en la ISR la resistencia es inducida por agentes abióticos o bióticos no patogénicos como por ejemplo las PGPR. A diferencia de SAR, ISR no implica la acumulación de proteínas relacionadas con la patogenicidad o ácido salicílico, sino que se basa en vías reguladas por el etileno y del ácido jasmónico (Choudhary *et al.*, 2007).

La resistencia sistémica inducida (ISR) se define como un estado fisiológico de mejora de la capacidad defensiva evocada en respuesta a un estímulo ambiental particular. En respuesta a diferentes estreses ambientales, las PGPR tienen la capacidad de inducir resistencia sistémica en muchas plantas (Prathap *et al.*, 2015). La ISR no es específica, sino que ayuda a la planta a controlar numerosas enfermedades (Kamal *et al.*, 2014).

La presencia de una gran variedad de componentes bacterianos individuales induce la ISR, como son los lipopolisacáridos, lipopéptidos cíclicos, sideróforos, 2,4-diacetilfloroglucinol, homoserina lactonas y COV (Berendsen *et al.*, 2015).

Los agentes de biocontrol adoptan diferentes rutas para garantizar la ISR en las plantas, que incluyen la activación transcripcional de genes relacionados con la defensa, producción de un gran número de enzimas de defensa, secreción de fitohormonas, PAMP (patrones moleculares asociados a patógenos), MAMP

(patrones moleculares asociados a microbios) y la producción de moléculas elicitoras, que podrían ser compuestos orgánicos volátiles, sideróforos, fitasas y miRNAs (Kumar *et al.*, 2022).

Varios microorganismos asociados a las raíces son conocidos como potenciales elicitores de ISR y exhiben una reducción significativa en la incidencia o gravedad de varias enfermedades. Destacan diversas cepas de *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia* y *Rhizobium* que pueden proporcionar resistencia a una amplia variedad de huéspedes (Choudhary *et al.*, 2007).

Por ejemplo, tras la inoculación con *Bacillus amyloliquefaciens* se observó una reducción del 80% en la incidencia del virus del bronceado de tomate (Beris *et al.*, 2018). La aplicación de *Bacillus endophyticus* y *Pseudomonas aeruginosa* produjo la secreción de compuestos como ácido abscísico, ácido salicílico, fenoles e IAA que garantizaron la resistencia contra el insecto *Spodoptera litura* en un cultivo de tomate (Kousar *et al.*, 2020). Distintas cepas de *Serratia marcescens* fueron caracterizadas por la producción de sideróforos, que indujeron la resistencia en cultivos de pepino a patógenos como *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum orbiculare* (Press *et al.*, 2001).

En un estudio realizado para establecer el papel de los microorganismos beneficiosos en el fortalecimiento del sistema inmunológico de las plantas a través de ISR, fueron aplicadas en un cultivo de arroz dos cepas de *Streptomyces* y se pudo observar cómo los tratamientos inhibieron la enfermedad de la raya bacteriana de la hoja causada por la infección de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (Xoc). Los tratamientos en los que se aplicaron estas cepas aumentaron la acumulación de peroxidasa, polifenol oxidasa, fenilalanina amoníaco liasa y β ,1–3 glucanasa en comparación con las plantas no tratadas (Hata *et al.*, 2021).

Aunque la gran mayoría de los PGPR inducen ISR en las plantas, y su uso podría revolucionar la agricultura, hasta la fecha ha faltado investigación básica sobre el uso de PGPR y la utilización de herramientas y técnicas modernas para ayudar a las plantas desde el laboratorio hasta el campo.

3.4 Identificación, detención y cuantificación

Los efectos nocivos ocasionados por el uso intensivo de fertilizantes químicos y pesticidas en la agricultura han propiciado el desarrollo de importantes líneas de investigación que permitan encontrar alternativas a estos agroquímicos.

Actualmente, numerosos estudios tratan de identificar las bacterias involucradas en el crecimiento vegetal (Shrivastava ,2013; Agbodjato *et al.*, 2015). La mayoría de estudios se basan en la caracterización integral de aislados para la selección de cepas potencialmente eficientes en la agricultura sostenible. Se trata de evaluar la capacidad que poseen estos microorganismos para promover el crecimiento de las plantas, directa o indirectamente, mediante una serie de tests (Akinrinlola *et al.*, 2018).

Los protocolos desarrollados por diferentes autores para caracterizar integralmente aislados de bacterias potencialmente válidos como PGPB suelen compartir etapas y ensayos a realizar (Amaresan *et al.*, 2020). De forma mayoritaria, se han aplicado diseños experimentales basados en la siembra en medios generales de muestras convenientemente diluidas, e incubados en el rango mesófilo de temperatura. En un principio, la identificación de las colonias aisladas se realiza en base a las características de la colonia, la reacción de Gram, la tinción de esporas y la prueba de catalasa. Posteriormente, se suele realizar un escrutinio de los aislados seleccionados en relación con la presencia de capacidades asociadas a la promoción del crecimiento vegetal, como son la síntesis de IAA, actividad de solubilización de fosfato, producción de HCN o de amonio (Pathak *et al.*, 2021).

De forma inicial, las capacidades relacionadas con el carácter PGPB se establecen de forma cualitativa, de manera que se reduzca el número de las especies a analizar en una posterior fase, en la que se intenta determinar la intensidad con la que se desarrolla cada una de las actividades. Las características de los ensayos cualitativos más habituales asociados a cada una de las actividades se detallan en la Tabla 1.

En otros estudios se realizan tests para detectar la actividad de otras enzimas hidrolíticas como son la amilasa, la celulasa y la lipasa, ensayos frente a determinados patógenos para examinar la actividad antagonista *in vitro* de las cepas objeto de estudio (Amaresan *et al.*,2020), pruebas para determinar la

capacidad de formar biopelículas, y la fijación de nitrógeno (Rojas *et al.*, 2016).

Actividad PGPR	Características del ensayo
<i>Producción de IAA</i>	Medio con L-triptófano y reactivo de Salkowski. Aparición de color rosa.
<i>Solubilización de fosfato</i>	Medio de agar National Botanical Research Institute's (NBRIP) o agar de Pikovskaya. Aparición de zonas claras alrededor de las colonias.
<i>Estimación de ácido cianhídrico (HCN)</i>	Métodos descritos por Lorck (Lorck., 1948)
<i>Producción de amoníaco (NH₃)</i>	Medio peptonado y reactivo de Nessler. Desarrolla intensa coloración amarilla-naranja.
<i>Producción de proteasas</i>	Placas de agar con leche descremada. Aparición de zona halo alrededor de las colonias.
<i>Producción de sideróforos</i>	Ensayo químico universal CAS (Chrome azurol S).

Tabla. 1 Características de los ensayos cualitativos más habituales asociados a cada una de las actividades de carácter PGPR.

Una vez seleccionadas las cepas con mejores características, es aconsejable determinar su identidad, tarea que, en la actualidad, se suele realizar mediante técnicas de carácter molecular, mayoritariamente basadas en la secuenciación del gen que codifica la subunidad menor del ARN ribosomal. En el caso de cepas de naturaleza fúngica, es también habitual tomar como referencia las regiones ITS (región espaciadora interna transcrita). Finalmente, se realizan bioensayos experimentales de inoculación en cultivos *in vivo* para probar el efecto de las cepas seleccionadas en el crecimiento de las plantas en condiciones semicontroladas.

Gran parte de las cepas identificadas como PGPB se encuentran taxonómicamente asignadas al género *Bacillus*. Todas ellas exhiben un importante potencial de aplicación como posibles PGPB, postulándose, así como alternativa de interés a los fertilizantes y pesticidas químicos para la promoción del crecimiento y la producción de plantas. Estudios más profundos sobre estas cepas podrían facilitar su desarrollo comercial como productos de base biológica de bajo costo para promover el crecimiento de las plantas en el sector agrícola (Pathak *et al.*, 2021).

4. Uso de las PGPR como biofertilizantes

4.1 Formulación y comercialización de los biofertilizantes

Los biofertilizantes están emergiendo como una panacea para la agricultura orgánica y sostenible. Científicamente, se puede observar la creciente tendencia en el uso de microorganismos beneficiosos con el fin de mejorar la salud del suelo y la productividad de los cultivos. Desde un punto de vista más práctico, los biofertilizantes se definen como preparados que contienen microorganismos vivos o latentes, y una formulación del inoculante que permite un fácil manejo, almacenamiento a largo plazo y eficacia de los mismos. En la actualidad se están utilizando en la agricultura especies reconocidas como fijadores de N, solubilizadores de P, movilizadores de P, agentes de biocontrol, PGPR, etc. (Sahu *et al.*, 2016).

Una correcta comercialización de este tipo de productos implica la identificación de los microorganismos beneficiosos, y el establecimiento del sistema de formulación más adecuado. La identificación de los microorganismos se realiza en base al genotipo y fenotipo. En el primer caso, como ya se ha referenciado con anterioridad, se establece la identidad del microorganismo preferentemente a través de protocolos moleculares basados en la secuenciación de fragmentos génicos altamente conservados y asociados a funciones esenciales, mientras que en el segundo caso se caracterizan aspectos morfológicos, como fisiología colonial, morfología celular, tinción de Gram y características metabólicas y de

crecimiento. Desde un punto de vista tecnológico, también resulta interesante establecer las propiedades de cultivo a escala industrial (Dhayalan *et al.*, 2020).

Para su aplicación y correcto funcionamiento, estos bioinoculantes deben colocarse en un medio adecuado, ya sea en base líquida o sólida, que actúa como vehículo de transferencia de los microorganismos desde el fermentador industrial a la rizosfera, posibilitando que estos actúen en las mejores condiciones una vez han sido incorporados al suelo. Para que esto sea así, la bioformulación se complementa con osmoprotectores, agentes adherentes, nutrientes, etc. Por lo tanto, las bioformulaciones pueden diferir no solo según el bioinoculante, sino también en función del tipo de suelo, especie vegetal, naturaleza de la aplicación, disponibilidad de recursos, etc. Estas formulaciones están preparadas para fortalecer el rendimiento de los cultivos y la salud del suelo (Verma *et al.*, 2019). Entre las características básicas que ha de mostrar una buena formulación para biofertilizantes se encuentran ser metabólicamente viables, poseer buen nivel de humedad, carecer de efectos tóxicos en la naturaleza, ser biodegradables y mostrar capacidad de amortiguación del pH (Kour *et al.*, 2021).

El sistema de bioformulación utilizado resulta fundamental a la hora de desarrollar un biofertilizante exitoso, ya que afecta a la abundancia y rendimiento de los bioinoculantes. En este sentido, está demostrado que la calidad de los inoculantes microbianos depende principalmente del número de células viables presentes en los inóculos (Lupwayi *et al.*, 2000) y, por tanto, de la capacidad de la formulación para preservar dichas células en las mejores condiciones posibles.

El formato físico de los biofertilizantes depende únicamente de los portadores utilizados, que pueden ser de tipo sólido, los cuales a su vez pueden presentarse como formulaciones en polvo, en gránulos o cuentas, o de tipo líquido. La formulación sólida es una preparación en la que el inóculo se mezcla con un portador en el estado físico citado en la proporción adecuada. Algunos autores han dividido los portadores sólidos en cuatro categorías básicas: suelos, como pueden ser turbas y arcillas; materiales de desecho vegetal, como compost, estiércol de granja y salvado de trigo; materiales inertes como vermiculita y

perlita; y cultivos microbianos simples liofilizados o bacterias secadas en aceite. Por otro lado, las formulaciones líquidas son productos de base acuosa o aceitosa, así como productos de origen polimérico. Este tipo de formulaciones líquidas no solo contiene los microorganismos deseados y sus nutrientes, sino también algún tipo de protector celular y aditivos que promueven la supervivencia celular en el almacenamiento y después de la aplicación (Brahmaprakash y Sahu., 2012).

Los biofertilizantes líquidos han demostrado, de forma general, una mayor conveniencia en el manejo, en comparación con los portadores convencionales de base sólida. Algunas de las ventajas que poseen sobre las formulaciones sólidas tienen que ver con la demanda de una menor cantidad del inoculante, la conservación en buenas condiciones de una mayor cantidad de células durante más tiempo, la posibilidad de transportar grandes volúmenes de forma relativamente sencilla, y la mayor facilidad de aplicación mediante fertirriego (Herrmann y Lesueur., 2013).

En la actualidad la combinación de medios de cultivo, inoculadores y buenos portadores está ayudando a formular novedosos e importantes biofertilizantes PGPR. A pesar de la existencia actual de productos biológicos que han mostrado beneficios en los rendimientos de producción, es necesario realizar estudios dirigidos hacia el desarrollo de nuevas formulaciones que permitan incrementar la estabilidad de los productos durante su almacenamiento, y mantengan los niveles de actividad al ser aplicados en campo (Echeverri y Castilla., 2008).

En los últimos años, la creciente preocupación a nivel mundial por el medio ambiente, está promoviendo que los gobiernos de muchos países actúen implementando medidas que protejan el entorno. Además, la demanda de productos ecológicos se está expandiendo, especialmente en países desarrollados. Todo esto está provocando un aumento global de la demanda de biofertilizantes y, por lo tanto, el mercado de biofertilizantes microbianos está creciendo cada año (García-Fraile *et al.* 2015).

Aprovechando la oportunidad de expansión actual y futura de los biofertilizantes en el mercado, varias empresas multinacionales ya están distribuyendo y vendiendo biofertilizantes en todo el mundo. Por ejemplo, la empresa

Novozymes produce diferentes biofertilizantes bacterianos capaces de fijar nitrógeno y solubilizar fosfato, que se venden en los Estados Unidos, Brasil, Canadá y Asia, Europa, y Australia. Entre sus productos más populares, caben destacar Nitragin Gold® o Cell-Tech® y TagTeam®. Rizobacter es una importante empresa involucrada en la experimentación de biofertilizantes bacterianos. Fundada en Argentina en 1977, comercializa biofertilizantes a base de formulaciones de rizobacterias para semillas de leguminosas, no solo en su propio país, sino también en otros países latinoamericanos, Estados Unidos, África y Europa. Alrededor de 24 países se han comprometido comercialmente en la producción de biofertilizantes PGPR, tanto en grandes como en pequeñas escalas (Bharti *et al.*, 2017).

El mercado global de biofertilizantes está centrado mayoritariamente en bacterias pertenecientes al grupo de los rizobios, copando el 78 % de los productos comercializados, mientras que el 15 % y 7 % se relacionan con bacterias solubilizadoras de fósforo y otros bioinoculantes, respectivamente (Owen *et al.*, 2015). Los biofertilizantes PGPR no pertenecientes al género *Rhizobium* alcanzan solo el 5 % del mercado global, siendo aquellos que contienen *Azospirillum* los más utilizados comercialmente (Wellesley, 2014). Los biofertilizantes que poseen microorganismos encargados de incrementar el zinc y potasio fueron los productos comerciales emergentes utilizados para tratar las deficiencias de nutrientes del suelo (Shaikh *et al.*, 2017).

En Europa, el sector de los biofertilizantes se encuentra bastante avanzado en relación con otras zonas del planeta, y la mayoría de los gobiernos de la UE han desarrollado políticas para reforzar su extensión. Entre las principales empresas de biofertilizantes que se encuentra en expansión destacan Symborg, que comercializa VitaSoil®, una mezcla de microorganismos específicos para cultivos de cereales, plantas hortícolas y florales, cítricos y otros frutales, viña, y plantaciones de tabaco. En España, la firma Biosym Technology S.L. manufactura y comercializa varios productos fertilizantes de base microbiana. La empresa aísla cepas microbianas de muchos ecosistemas y las examina para la investigar su bioeficacia, seleccionando las más satisfactorias. Los microorganismos candidatos seleccionados tienen que ser GRAS (generalmente considerados como seguros) y no patógenos para animales, plantas y seres

humanos. El producto es testado en ese sentido de forma previa a su comercialización. En caso de biofertilizantes basados en consorcios, cada bacteria se produce por separado, y las esporas/lcélulas se mezclan en una única matriz para formar el consorcio. Los productos finales son encapsulados en biopolímeros de origen natural.

4.2 Papel de los biofertilizantes PGPR en el crecimiento de los cultivos

Más del 90 % del crecimiento de las plantas depende puramente de la fotosíntesis, ya que la biomasa vegetal se deriva de la asimilación de dióxido de carbono. Diversos estudios parecen confirmar la hipótesis al respecto de que los biofertilizantes PGPR influyen positivamente sobre la actividad fotosintética, especialmente en condiciones de estrés. La tasa de proceso fotosintético aumenta cuando el arroz se inocula con varias cepas de rizobios (Mia y Shamsuddin, 2010). *Bacillus lentus*, *Pseudomonas sp.* y *Azospirillum brasilens* aumenta la actividad antioxidante y fotosintética del pigmento que conduce a un aumento en el contenido de clorofila en la planta (Heidari y Golpayegani, 2012). *Bacilo sp.*, cuando se inocula en patata también produce un crecimiento positivo en desempeño fotosintético (Gururani *et al.*, 2013).

Los aminoácidos juegan un papel importante en el crecimiento de las plantas al facilitar a las raíces la toma de agua y nutrientes del suelo. La síntesis activa de los aminoácidos depende en gran medida de las especies de plantas y sus microorganismos asociados. Así, los biofertilizantes aumentan la síntesis de aminoácidos para el desempeño activo del sistema radicular que nutre el crecimiento de la planta (Kang *et al.*, 2010).

Una de las principales barreras para el crecimiento de las plantas es la contaminación del suelo. Diversos factores pueden contribuir a la contaminación del suelo, como la acumulación de metales pesados, el vertido de plásticos, el uso excesivo de fertilizantes químicos, etc. La presencia de metales pesados es principalmente debida a la excesiva industrialización y al desarrollo desproporcionado de la población (Shinwari *et al.*, 2015) Los metales pesados no son fácilmente biodegradables en la naturaleza, por lo que cualquier

estrategia que potencia tales procesos, o permita su transformación hasta formas menos tóxicas, como los procesos de bio y fitorremediación, son de gran importancia. En este sentido, cepas bacterianas PGPR como *Azotobacter*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Kluyvera*, *Mesorhizobium*, o *Pseudomonas* son ampliamente utilizadas para el propósito de biodegradación de metales pesados (Shinwari *et al.*, 2015). Cepas PGPR como *Azospirillum* sp., *Bacillus* sp., *Acinetobacter* sp *Burkholderia* sp., *Klebsiella* sp., capaces de sintetizar ACC desaminasa, fundamental en la reducción de la concentración de etileno en plantas, como se ha visto previamente, sufren estrés debido a los metales pesados (Gontia *et al.*, 2017).

También en relación con sustancias contaminantes, algunas de las cepas bacterianas mencionadas poseen capacidad para degradar pesticidas, reduciendo así los efectos nocivos que estos ocasionan en el crecimiento de las plantas. De forma general, llevan a cabo este proceso mediante la síntesis y actividad de enzimas como esterases, hidrolasas y glutatión oxidasas (Dhayalan *et al.*, 2020).

Además, cabe destacar el papel fundamental que ejercen mejorando la producción y el rendimiento de los cultivos gracias a las diferentes funciones de biocontrol que desarrollan sobre los patógenos vegetales (Reddy, 2014).

En el caso de los residuos plásticos, también de alta capacidad contaminante, se ha comprobado que diversos compuestos de naturaleza hormonal, como IAA y GA ayudan a resistir los efectos causados por los residuos plásticos. Así, los biofertilizantes PGPR capaces de sintetizarlos contribuyen a resistir más eficazmente los efectos del plástico y reducen la contaminación del suelo (Ikhwan y Nurcholis, 2020).

La deficiencia de Zn constituye una de las principales barreras para el crecimiento de la planta, especialmente en los cultivos de cereales. Las cepas bacterianas PGPR apropiadas aumentan el contenido en el suelo de este elemento, así como el de hierro, lo cual es beneficioso para el crecimiento sostenible de las plantas (Yadav *et al.*, 2017). Otros nutrientes que pueden aumentar su disponibilidad como consecuencia de la acción de los biofertilizantes son nitrógeno y fósforo, tal y como muestran los estudios (Koul *et*

al., 2015; Xiurong *et al.*, 2011), en los que se estudió la actividad de *A. brasilense* y hongos AM, respectivamente.

Otro aspecto observado es el carácter sinérgico de los biofertilizantes compuestos, de manera que se ve potenciado el crecimiento en comparación con los biofertilizantes constituidos por una única especie (Martínez *et al.*, 2010). En general, se revela que las PGPR inoculadas tiene un papel multidisciplinario en la mejora el crecimiento sostenible de las plantas.

5. Limitaciones y futuras tendencias en la utilización de PGPR en agricultura

Actualmente la utilización de biofertilizantes PGPR se ha convertido en una parte integral de las prácticas de agricultura sostenible en los principales países desarrollados. Sin embargo, en los países en vía de desarrollo hay un impacto mínimo de estos, debido en gran medida a la mala calidad en los bioinoculantes (Berninger *et al.*, 2018).

Los biofertilizantes tardan en mostrar los efectos que desencadenan en la productividad agraria, lo que dificulta el trabajo de investigadores y científicos en lo concerniente a la concienciación de los agricultores respecto a la acción positiva de este tipo de productos (Mahanty *et al.*, 2017). Además, su comercialización a gran escala requiere la realización de ensayos a gran escala para comprender las características de los microorganismos y sus actividades, lo cual repercute en el coste final del producto y puede dificultar su adquisición por parte de los agricultores (Qiu *et al.*, 2019). En este sentido, la investigación de los biofertilizantes debe enfocarse hacia estudios más económicos, con efectos y beneficios más rápidos, y mayor productividad sostenible bajo diversas condiciones ambientales (Ijaz *et al.*, 2019). Estos estudios sirven, además de para promover el uso de biofertilizantes, para potenciar la confianza entre los agricultores, en función de su utilización y rendimiento.

Siguiendo con los obstáculos actualmente existentes para el uso generalizado de los biofertilizantes, otra de las limitaciones reside en la amplia variabilidad en

el desempeño de las funciones de las PGPR, debido a la dependencia que muestran respecto a diferentes factores ambientales y que pueden afectar a su respuesta y, por tanto, a los efectos que pueden ejercer sobre la planta. Los factores ambientales incluyen el clima, las condiciones meteorológicas, las características del suelo o la composición y actividad de la comunidad microbiana autóctona del suelo (Gupta *et al.*, 2015). También existen otros factores bióticos y abióticos, tales como presencia de malas hierbas, patógenos, herbicidas, etc., que limitan los efectos de las PGPR en los cultivos, lo que resulta en una productividad deficiente.

En los últimos años, el desarrollo en los campos de la biotecnología y la nanotecnología, ha favorecido la introducción y aplicación de herramientas y técnicas en el sector agrícola que han generado importantes avances. Es el caso de la biotecnología y de la nanotecnología, las cuales están propiciando la transformación de las prácticas agrícolas tradicionales (Subramanian y Tarafdar, 2011). Con la aparición de la nanotecnología, la expansión de nuevos nano dispositivos, como biosensores y encapsulación de enzimas y novedosos nanomateriales, perfila un futuro prometedor en el campo de la agricultura y las ciencias de la vida (Dixshit *et al.*, 2013). Sus propiedades únicas, que dependen del tamaño, hacen que estos materiales sean superiores e indispensables en muchas áreas del desarrollo de la agricultura sostenible. Por ejemplo, las nanopartículas en patología vegetal se enfocan en problemas agrícolas específicos en las interacciones planta-patógeno y brindan nuevas formas para la protección de cultivos. Esto incluye la detección temprana de estrés biótico y su manejo, mejorando la eficiencia del uso de insumos y la vida útil de los productos perecederos.

Según la literatura, las estrategias futuras de los biofertilizantes podrían centrarse en las interacciones entre los microorganismos y las nanopartículas, planteándose como objetivo principal el aporte de micronutrientes. Se ha informado que determinadas especies PGPR (*Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus elgii* y *Pseudomonas putida*) tratadas con nanopartículas recubiertas de oro, aluminio y plata, no solo aumentan significativamente el crecimiento de las plantas, sino que también inhiben el crecimiento de parásitos fúngicos dañinos dentro de la rizosfera y mejoran la

adhesión de las bacterias beneficiosas a las raíces actuando, por lo tanto, como potenciales nanobiofertilizantes. Los nanofertilizantes son portadores de nutrientes que se están desarrollando utilizando nanopartículas con dimensiones de 1 a 100 nm. Las nanopartículas tienen un área de superficie extensa y son capaces de contener una gran cantidad de nutrientes que liberan de manera lenta y constante, lo que facilita la absorción de nutrientes, coincidiendo con los requisitos del cultivo. La eficiencia de los nano fertilizantes ha sido probada como una buena alternativa a los métodos tradicionales por sus características de reducción de la pérdida de nitrógeno, lixiviación, efectos tóxicos, y sostenibilidad a largo plazo de los microbios en el suelo (Suman *et al.*, 2010). También se ha documentado que la tasa de germinación de semillas en diferentes monocotiledóneas y dicotiledóneas mejora. Por tanto, los nanobiofertilizantes pueden encapsularse mediante microencapsulación y usarse para controlar la liberación del fertilizante en la célula objetivo sin pérdidas no deseadas.

La nanoencapsulación y la microencapsulación de insecticidas, fungicidas o nematicidas son útiles para producir una formulación que ofrece un control eficaz de las plagas y evita los residuos en el suelo. Por lo tanto, la tecnología de la nanoencapsulación será una herramienta versátil para proteger las PGPR de varios cambios ambientales y para que estas mantengan todas sus características beneficiosas, favoreciendo la productividad sostenible de cultivos y mejorando la fertilidad del suelo.

Otra de las vías de desarrollo en el sector es la denominada agricultura de precisión, cuyos objetivos se centran en la reducción de insumos y la maximización de la productividad a través de la monitorización controlada de las variables ambientales y la aplicación de acciones específicas destinadas a lograr dicho control. En este sentido, el desarrollo de biosensores inteligentes para la detección de nutrientes y contaminantes tiene un gran impacto en este tipo de agricultura, que se fundamenta en el uso de las tecnologías informáticas, sistemas de posicionamiento global (GPS), y dispositivos de detección remota para medir condiciones ambientales con un alto nivel de precisión, utilizando recursos con la máxima eficiencia e identificando la naturaleza y localización de problemas.

La biorremediación también se ha convertido en una herramienta potencial para limpiar el medio ambiente contaminado por metales y xenobióticos. Reducir la biodisponibilidad de estos contaminantes en la rizosfera, así como mejorar el establecimiento, el crecimiento y la salud de las plantas, podría acelerar significativamente el crecimiento de las plantas y, de hecho, su productividad (Ma *et al.*, 2011).

La práctica agrícola sostenible tiende a crecer a través de la caracterización genómica de las especies PGPR. Lo cual requiere de la identificación y exploración de genes útiles asociados con vías complejas de colonización rizosférica, producción de metabolitos secundarios y promotores específicos que se expresan en un entorno rizosférico particular. Así, el desarrollo de cepas PGPR mejoradas en sus prestaciones puede ser posible mediante manipulaciones genéticas. Estas PGPR biotecnológicas se muestran como una alternativa sostenible y respetuosa con el medio ambiente (Dhayalan *et al.*, 2020).

En el futuro, la investigación para dilucidar el papel de los genes implicados en la interacción microbio-planta ayudará a desarrollar nuevas herramientas para mejorar la salud de las plantas y los suelos.

6. Conclusiones

- La rizosfera determina la salud de la planta y ayuda a inducir la tolerancia contra el estrés ambiental al mejorar la absorción de nutrientes, la disponibilidad de agua y la capacidad de amortiguación. El conocimiento de las interacciones de los microorganismos con el suelo y la planta puede ayudar a desarrollar nuevos sistemas sostenibles, ecológicos y económicos para la agricultura. La amplia diversidad de microorganismos, su heterogeneidad y multifuncionalidad, desencadenan una amplia gama de interacciones que dificulta su estudio.
- La mayor parte de las investigaciones realizadas hasta la fecha se limitan a nivel laboratorio e invernadero, en los cuales las condiciones están más controladas. Es necesario, por tanto, su aplicación en campo para

entender el papel de las PGPR en el medio natural. Por otra parte, resulta básico comprender las características determinantes de los inoculantes PGPR efectivos antes de aplicarlos a las prácticas agrícolas intensivas.

- La literatura defiende que la inoculación de PGPR conduce a una producción de cultivos sostenible y eficiente para alimentar a una población en continuo crecimiento, en un tiempo en el cual la agricultura se enfrenta a diferentes limitaciones ambientales. En este sentido, los biofertilizantes se presentan como sustitutos aceptados y válidos de los fertilizantes químicos.
- El objetivo principal de la agricultura en el futuro debería ser la agricultura de precisión, que tiene como objetivo reducir los insumos y aumentar la producción mediante la implementación de acciones específicas y el seguimiento de las variables ambientales. Para ello, se pueden desarrollar cepas PGPR novedosas o superiores modificando sus rasgos específicos mediante ingeniería genética y utilizando tecnologías recientes y avanzadas, como la metaproteómica, la nanotecnología, o la rizoingeniería. Estas PGPR novedosas pueden ayudar a controlar el estrés de las plantas e incrementar su productividad dando lugar a inoculantes más efectivos.

7. Bibliografía

- Abdel-Motaal, F., Kamel, N., El-Zayat, S., y Abou-Ellail, M. (2020). Early blight suppression and plant growth promotion potential of the endophyte *Aspergillus flavus* in tomato plant. *Annals of Agricultural Science*, 65(2), 117–123.
- Agbodjato, N.A., Noumavo, P.A., Baba-Moussa, F., Salami, H.A., Sina, H., Sèzan, A., Bankolé, H., Adjanohoun, A., y Baba-Moussa, L. (2015) Characterization of potential plant growth promoting rhizobacteria isolated from Maize (*Zea mays L.*) in central and Northern Benin (West Africa). *Applied and Environmental Soil Science*, 1-9.
- Aguado-Santacruz, G.A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E., y Preciado-Ortiz, R.E. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 9–21.
- Akinrinlola, R.J., Yuen, G.Y., Drijber, R.A., y Adesemoye, A.O. (2018). Evaluation of *Bacillus* strains for plant growth promotion and predictability of efficacy by In Vitro physiological traits. *International Journal of Microbiology*, 1-11.
- Alberton, D., Valdameri, G., Moure, V.R., Monteiro, R.A., Pedrosa, F. de O., Müller-Santos, M., y de Souza, E.M. (2020). What did we learn from plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR)-grass associations studies through proteomic and metabolomic approaches? *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4.
- Alcantara-Cortes, J.S., Acero Godoy, J., Alcántara Cortés, J.D., y Sánchez Mora, R.M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32), 109–129.
- Alexander, M. (1977). *Introduction to Soil Microbiology*. 2nd ed. John Wiley and Sons, Nueva York, NY, EE.UU.
- Alori, E.T., Glick, B.R., y Babalola, O.O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 8, 971.
- Amara, U., Khalid, R., y Hayat, R. (2015). Soil bacteria and phytohormones for sustainable crop production. En: Ramawal, K.G., Ed. *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*. Springer International Publishing, Cham, Suiza, pp. 87–103.
- Amaresan, N., Jayakumar, V., Kumar, K., y Thajuddin, N. (2021). Plant growth-promoting effects of *Proteus mirabilis* isolated from tomato (*Lycopersicon esculentum Mill*) plants. *National Academy Science Letters*, 44(5), 453–455.
- Angulo, V.C., Sanfuentes, E.A., Rodríguez, F., y Sossa, K.E. (2014). Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(4), 338–347.
- Antoun, H., y Prevost, D. (2006). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. En: Siddiqui, Z.A., Ed. *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*, Springer, Dordrecht, Países Bajos, pp. 1-38.
- Antoun, H., Beauchamp, C.J., Goussard, N., Chabot, R., y Lalande, R. (1998). Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: Effect on radishes (*Raphanus sativus L.*). *Plant and Soil*, 204, 57–67.

- Aulakh, M.S., Wassmann, R., Bueno, C., Kreuzwieser, J., y Rennenberg, H. (2001). Characterization of root exudates at different growth stages of ten rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Plant Biology*, 3,139–148.
- Avis, T.J., Gravel, V., Antoun, H., y Tweddell, R.J. (2008). Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(7), 1733–1740.
- Backer, R., Rokem, J.S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S., y Smith, D.L. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria: Context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1473.
- Bashan, Y., y Holguin, G. (1998). A proposal for the division of "plant growth-promoting rhizobacteria" into two classifications: biocontrol-plant growth-promoting bacteria and plant growth-promoting bacteria. *Soil Biology and Biochemistry*, 30, 1225-1228.
- Bashan, Y., de-Bashan, L.E., Prabhu, S.R., y Hernández, J.P. (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998- 2013). *Plant Soil*, 378, 1-33.
- Basu, A., Prasad, P., Das, S.N., Kalam, S., Sayyed, R.Z., Reddy, M.S., y El Enshasy, H. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: Recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability*, 13(3), 1140.
- Begum, N., Qin, C., Ahanger, M.A., Raza, S., Khan, M. I., y Ashraf, M. (2019). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1068.
- Begum, N., Qin, C., Ahanger, M.A., Raza, S., Khan, M.I., Ashraf, M., Ahmed, N., y Zhang, L. (2019). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: Implications in abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1068.
- Benhamou, N., Kloepper, J.W., Quadt-Hallman, A., y Tuzun, S. (1996). Induction of defense-related ultrastructural modifications in pea root tissues inoculated with endophytic bacteria. *Plant Physiology*, 112(3), 919–929.
- Berendsen, R.L., Verk, M.C.V., Stringlis, I.A., Zamioudis, C., Tommassen, J., Pieterse, C.M.J., y Bakker P.A.H.M. (2015). Unearthing the genomes of plant-beneficial *Pseudomonas* model strains WCS358, WCS374 and WCS417. *BMC Genomics*, 16, 539.
- Beris, D., Theologidis, I., y Skandalis, N. (2018). *Bacillus amyloliquefaciens* strain MBI600 induces salicylic acid dependent resistance in tomato plants against tomato spotted wilt virus and potato virus Y. *Scientific Reports.*, 8, 10320.
- Berninger, T., González, L.O., Bejarano, A., Preininger, C., y Sessitsch, A. (2018). Maintenance and assessment of cell viability in formulation of non-sporulating bacterial inoculants. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11, 277–301.
- Bharti, N., Sharma, S.K., Saini, S., Verma, A., Nimonkar, V., y Prakash, O. (2017). Microbial plant probiotics: problems in application and formulation. En: Kumar, V., Kumar, M., Sharma, S., y Prasad, R., eds. *Probiotics and Plant Health*, Springer, Singapur, Singapur, pp. 317–335.
- Bharti, N., Yadav, D., Barnawal, D., Maji, D., y Kalra, A. (2013). *Exiguobacterium oxidotolerans*, a halotolerant plant growth promoting rhizobacteria, improves yield and content of secondary metabolites in *Bacopa monnieri* (L.) Pennell under primary and secondary salt stress. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(2), 379–387.

- Bisht, T.S., Rawat, L., Chakraborty, B., y Yadav, V. (2018). Recent advances in use of plant growth regulators (pgrs) in fruit crops - A review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(5), 1307–36.
- Blake, C., Christensen, M N., y Kovács, Á.T. (2021). Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 34(1), 15–25.
- Brahma Prakash, G.P., y Sahu, P.K. (2012). Biofertilizers for sustainability. *Journal of the Indian Institute of Science*, 92(1), 37–62.
- Breil, B., Borneman, J., y Triplett, E.W. (1996). A newly discovered gene, *tfuA*, involved in the production of the ribosomally synthesized peptide antibiotic trifolitoxin. *Journal of Bacteriology*, 178(14), 4150–4156.
- Carisse, O., Bernier, J., y Benhamou, N. (2003). Selection of biological agents from composts for control of damping-off of cucumber caused by *Pythium ultimum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 25(3), 258–267.
- Choudhary, D.K., Prakash, A., y Johri, B.N. (2007). Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. *Indian Journal of Microbiology*, 47, 289–297.
- Davies, P.J. (2010). The plant hormone: Their nature, occurrence and function. En: Davies, P.J., ed. *Plant Hormones. Biosynthesis, Signal Transduction, Action!*. Springer, Nueva York, NY, EE.UU, pp. 1-15.
- Delgado-Ramírez, C.S., Hernández-Martínez, R., y Sepúlveda, E. (2021). Rhizobacteria associated with a native Solanaceae promote plant growth and decrease the effects of *Fusarium oxysporum* in tomato. *Agronomy*, 11(3), 579.
- Desbrosses, G.J., y Stougaard, J. (2011). Root nodulation: a paradigm for how plant-microbe symbiosis influences host developmental pathways. *Cell Host and Microbe*, 10(4), 348–358.
- Dhayalan, V., y Sudalaimuthu, K. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria in promoting sustainable agriculture. *Global Journal of Environmental Science and Management*, 7(3), 401–418.
- Dixshit, A., Shukla, S.K., y Mishra, R.K. (2013). *Nanomaterials with PGPR in current agriculture scenario PGPR with special reference to nanomaterials*. Lab Lambert Academic Publication, Alemania.
- Echeverri, R., y Castilla, A. (2008). Biofertilizantes como mejoradores del proceso de nutrición del arroz. *Revista Arroz*, 56 (474), 12-27.
- Frank, A.B. (1885). Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 3, 128-145.
- Fukami, J., Cerezini, P., y Hungria, M. (2018). *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *AMB Express*, 8(1).
- García-Fraile, P., Menéndez, E., y Rivas, R. (2015). Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. *AIMS Bioengineering*, 2(3), 183–205.
- Ghazy, N., y El-Nahrawy, S. (2021). Siderophore production by *Bacillus subtilis* MF497446 and *Pseudomonas koreensis* MG209738 and their efficacy in controlling *Cephalosporium maydis* in maize plant. *Archives of Microbiology*, 203(3), 1195–1209.
- Ghodsavali, B., Soleimani, M., Brokanloui Madloo, P., y Taghizad-Farid, R. (2013). Isolation and characterization of rhizobacteria and their effects on root extracts of *Valeriana officinalis*. *Australian Journal of Crop Science*, 7(3), 338-344.
- Glick, B.R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169, 30–39.

- Gontia, I., Sapre, S., Kachare, S., y Tiwari, S. (2017). Molecular diversity of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase producing PGPR from wheat (*Triticum aestivum* L.) rhizosphere. *Plant Soil*, 414, 213–227.
- Goswami, D., Thakker, J.N., y Dhandhukia, P.C. (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food and Agriculture*, 2, 1–19.
- Goswami, D., Vaghela, H., Parmar, S., Dhandhukia, P., y Thakker, J.N. (2013). Plant growth promoting potentials of *Pseudomonas* spp. strain OG isolated from marine water. *Journal of Plant Interactions*, 8, 281–290.
- Gouda, S., Kerry, R.G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.S., y Patra, J.K. (2018). Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research*, 206, 131–140.
- Govindasamy, V., Senthilkumar, M., Bose, P., Kumar, L.V., Ramadoss, D., y Annapurna, K. (2011). ACC deaminase containing PGPR for potential exploitation in agriculture. En: Maheshwari, D.K., ed. *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Nutrient Management*, Springer, Berlin, Alemania, pp. 183–208.
- Gravel, V., Antoun, H., y Tweddell, R.J. (2007). Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry*, 39(8), 1968–1977.
- Grossmann, K. (2010). Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action: Auxin herbicides. *Pest Management Science*, 66(2), 113–120.
- Gu, Y., Wang, Y., Lu, S., Xiang, Q., Yu, X., Zhao, K., Zou, L., Chen, Q., Tu, S., y Zhang, X. (2017). Long-term fertilization structures bacterial and archaeal communities along soil depth gradient in a paddy soil. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1516.
- Guo, Z., Han, J., Li, J., Xu, Y., y Wang, X. (2019). Effects of long-term fertilization on soil organic carbon mineralization and microbial community structure. *Plos One*, 14(1).
- Gupta, A., Bano, A., Rai, S., Kumar, M., Ali, J., Sharma, S., y Pathak, N. (2021). ACC deaminase producing plant growth promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in *Pisum sativum*. *3 Biotech*, 11(12), 514.
- Gupta, R., y Chakrabarty S.K. (2013). Gibberellic acid in plant: Still a mystery unresolved. *Plant Signaling and Behavior*, 8(9).
- Gupta, R., y Vakhlu, J. (2015). Native *Bacillus amyloliquefaciens* W2 as a potential biocontrol for *Fusarium oxysporum* R1 causing corm rot of *Crocus sativus*. *European Journal of Plant Pathology*, 143(1), 123–131.
- Gururani, M.A., Upadhyaya, C.P., Baskar, V., Venkatesh, J., Nookaraju, A., y Park, S.W. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria enhance abiotic stress tolerance in *solanum tuberosum* through inducing changes in the expression of ROS-scavenging enzymes and improved photosynthetic performance. *Journal Plant Growth Regulation*, 32, 245–258.
- Haas, D., y Défago, G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 307–319.
- Hakim, S., Naqqash, T., Nawaz, M.S., Laraib, I., Siddique, M.J., Zia, R., Mirza, M.S., e Imran, A. (2021). Rhizosphere engineering with plant growth-promoting microorganisms for agriculture and ecological sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 617517.
- Halliday, K.J., Martínez-García, J.F., y Josse, E.M. (2009). Integration of light and auxin signaling. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1(6), a001586.
- Harley, J.L., y Smith, S.E. (1983). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, Nueva York, NY, EE.UU.

- Hassan, S.E.D. (2017). Plant growth-promoting activities for bacterial and fungal endophytes isolated from medicinal plant of *Teucrium polium* L. *Journal of Advanced Research*, 8(6), 687–695.
- Hata, E.M., Yusof, M.T., y Zulperi, D. (2021). Induction of systemic resistance against bacterial leaf streak disease and growth promotion in rice plant by *Streptomyces shenzhenensis* TKSC3 and *Streptomyces* sp. SS8. *The Plant Pathology Journal*, 37(2), 173-181.
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., y Ahmed, I. (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*, 60(4), 579–598.
- Heidari, M., y Golpayegani, A. (2012). Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11, 57–61.
- Helaly, A.A., Hassan, S.M., Craker, L.E., y Mady, E. (2020). Effects of growth-promoting bacteria on growth, yield and nutritional value of collard plants. *Annals of Agricultural Science*, 65(1), 77–82.
- Herrmann, L., y Lesueur, D. (2013). Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, 8859–8873.
- Heydari S., Moghadam P.R., y Kennedy Arab, S.M. (2008). Hydrogen cyanide production ability by *Pseudomonas fluorescens* bacteria and their inhibition potential on weed germination. En: Tielkes, E., ed. *Proceedings of "Competition for Resources in a Changing World: New Drive for Rural Development"*, Cuvillier Verlag, Gotinga, Alemania.
- Ijaz, M., Ali, Q., Ashraf, S., Kamran, M., y Rehman, A. (2019). Development of future bioformulations for sustainable agriculture. *Microbiome in Plant Health and Disease*, 421–446.
- Ikhwan, A., y Nurcholis, M. (2020). Bacteria analysis as plastic biodegradation agent and biofertilizers. *Earth and Environmental Science*, 458, 1-8.
- Jha, C.K., y Saraf, M. (2012). Evaluation of multispecies plant-growth-promoting consortia for the growth promotion of *Jatropha curcas* L. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31(4), 588–598.
- Jha, C K., y Saraf, M. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *E3 Journal of Agricultural Research and Development*, 5, 108–119.
- Ji, J., Yuan, D., Jin, C., Wang, G., Li, X., y Guan, C. (2020). Enhancement of growth and salt tolerance of rice seedlings (*Oryza sativa* L.) by regulating ethylene production with a novel halotolerant PGPR strain *Glutamicibacter* sp. YD01 containing ACC deaminase activity. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42(4), 1-17.
- Jiao, X., Takishita, Y., Zhou, G., yd Smith, D.L. (2021). Plant associated rhizobacteria for biocontrol and plant growth enhancement. *Frontiers in Plant Science*, 12, 634796.
- Jiménez-Gómez, A., García-Estévez, I., Escribano-Bailón, M.T., García-Fraile, P., y Rivas, R. (2021). Bacterial fertilizers based on *Rhizobium laguerreae* and *Bacillus halotolerans* enhance *Cichorium endivia* L. phenolic compound and mineral contents and plant development. *Foods*, 10(2), 424.
- Jogaiyah, S., Govind, S. R., y Tran, L.S.P. (2013). Systems biology-based approaches toward understanding drought tolerance in food crops. *Critical Reviews in Biotechnology*, 33(1), 23–39.
- Kamal, R., Singh, Y., y Kumar, V. (2014). Interaction and symbiosis of AM fungi, actinomycetes and plant growth promoting rhizobacteria with plants: Strategies for the improvement of plants health and defense system. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(7), 564-585.
- Kanchiswamy, C.N., Malnoy, M., y Maffei, M.E. (2015). Chemical diversity of microbial volatiles and their potential for plant growth and productivity. *Frontiers in Plant Science*, 6, 151.

- Kang, B.G., Kim, W.T., Yun, H.S., y Chang, S.C. (2010). Use of plant growth-promoting rhizobacteria to control stress responses of plant roots. *Plant Biotechnology*, 4,179–183.
- Kennedy, I. (2004). Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? *Soil Biology and Biochemistry*, 36(8), 1229–1244.
- Khan, A.L., Halo, B.A., Elyassi, A., Ali, S., Al-Hosni, K., Hussain, J., Al-Harrasi, A., y Lee, I.J. (2016). Indole acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solanum lycopersicum*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 21, 58–64.
- Khatoon, Z., Huang, S., Rafique, M., Fakhar, A., Kamran, M. A., y Santoyo, G. (2020). Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria on soil health and the sustainability of agricultural systems. *Journal of Environmental Management*, 273.
- Kim, J., Chang, C., y Tucker, M.L. (2015). To grow old: regulatory role of ethylene and jasmonic acid in senescence. *Frontiers in Plant Science*, 6, 20.
- Kloepper, J.M., y Schroth, M.N. (1980). Plant growth-promoting rhizobacteria and plan growth under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*, 71, 642-644.
- Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M., y Schroth, M.N. (1980). Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, 286, 885–886.
- Koul, V., Srivastava, D., Singh, P.P., y Kochar, M. (2020). Genome-wide identification of *Azospirillum brasilense* Sp245 small RNAs responsive to nitrogen starvation and likely involvement in plant-microbe interactions. *BMC Genomics*, 21(1), 821.
- Kour, D., Rana, K.L., Kaur, T., Yadav, N., Yadav, A.N., Kumar, M., Kumar, V., Dhaliwal, H.S., y Saxena, A.K. (2021). Biodiversity, current developments and potential biotechnological applications of phosphorus-solubilizing and -mobilizing microbes: A review. *Pedosphere*, 31(1), 43–75.
- Kousar, B., Bano, A., y Khan, N. (2020). PGPR modulation of secondary metabolites in tomato infested with *Spodoptera litura*. *Agronomy*, 10(6), 778.
- Kucey, R.M.N., Janzen, H.H., y Leggett, M.E. (1989). Microbially mediated increases in plant-available phosphorus. *Advances in Agronomy*, 42, 199–228.
- Kumar, A., Singh, S., Gaurav, A K., Srivastava, S., y Verma, J.P. (2020). Plant growth-promoting bacteria: Biological tools for the mitigation of salinity stress in plants. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1216.
- Kumar, A., Vandana, Singh, M., Singh, P.P., Singh, S.K., Singh, P.K., and Pandey, K.D. (2016). Isolation of plant growth promoting rhizobacteria and their impact on growth and curcumin content in *Curcuma longa* L. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 8, 1–7.
- Kumar, S., Sindhu, S.S., y Kumar, R. (2021). Biofertilizers: An ecofriendly technology for nutrient recycling and environmental sustainability. *Current Research in Microbial Sciences*, 100094.
- Kuypers, M.M.M., Marchant, H.K., y Kartal, B. (2018). The microbial nitrogen-cycling network. *Nature Reviews. Microbiology*, 16(5), 263–276.
- Lambers, H., Mougél, C., Jaillard, B., y Hinsinger, P. (2009). Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: an evolutionary perspective. *Plant and Soil*, 321, 83–115.
- Leveau, J.H.J., y Lindow, S.E. (2005). Utilization of the plant hormone indole-3-acetic acid for growth by *Pseudomonas putida* strain 1290. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(5), 2365–2371.
- Lupwayi, N.Z., Olsen, P.E., Sande, E.S., Keyser, H.H., Collins, M.M., Singleton, P.W., y Rice, W.A. (2000). Inoculant quality and its evaluation. *Field Crops Research*, 65(3), 259–270.

- Ma, Y., Prasad, M.N.V., Rajkuma, M., y Freitas, H. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology Advances*, 29, 248-258.
- Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M., Bhattacharyya, P.N., Das, B., Gosh, A., y Tribedi, P. (2017). Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 3315–3335.
- Maheshwari, D.K., Dheeman, S., y Agarwal, M. (2015). Phytohormone producing PGPR for sustainable agriculture. En: Maheswari, D.K., ed. *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*,. Springer, Cham, Suiza, pp. 159–182.
- Maksimov, I.V., Abizgil'dina, R.R., y Pusenkova, L.I. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens. *Applied Biochemistry of Microbiology*, 47(4), 333-345.
- Martínez, G.V., Bautista, C.A., Martínez, L., y Soledad, P. (2018). First report of phosphate-solubilizing bacteria associated with *Agave angustifolia*. *International Journal of Agriculture And Biology*, 20, 1298–1302.
- Masson-Boivin, C., y Sachs, J.L. (2018). Symbiotic nitrogen fixation by rhizobia — the roots of a success story. *Current Opinion in Plant Biology*, 44, 7–15.
- Mendes, R., Garbeva, P., y Raaijmakers, J.M. (2013). The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 634–663.
- Mia, M.B., y Shamsuddin, Z. (2010). Nitrogen fixation and transportation by rhizobacteria: a scenario of rice and banana. *International Journal of Botany*, 6, 235–242.
- Mullen, M.D. (2005). Phosphorus in Soils: Biological Interactions. *Encyclopedia of Soils in the Environment*, 3, 210-215.
- Narendra Babu, A., Jogaiah, S., Ito, S.I., Kestur Nagaraj, A., y Tran, L.S. P. (2015). Improvement of growth, fruit weight and early blight disease protection of tomato plants by rhizosphere bacteria is correlated with their beneficial traits and induced biosynthesis of antioxidant peroxidase and polyphenol oxidase. *Plant Science: An International Journal of Experimental Plant Biology*, 231, 62–73.
- Ngalamat, M.S., Mohd Hata, E., Zulperi, D., Ismail, S.I., Ismail, M.R., Mohd Zainudin, N.A.I., Saidi, N.B., y Yusof, M.T. (2021). Plant growth-promoting bacteria as an emerging tool to manage bacterial rice pathogens. *Microorganisms*, 9(4), 682.
- Nivetha, N., Lavanya, A.K., Vikram, K.V., Asha, A.D., Sruthi, K.S., Bandeppa, S., Annapurna, K., y Paul, S. (2021). PGPR-mediated regulation of antioxidants: Prospects for abiotic stress management in plants. En: Singh, H.B., Vaishnav, A., y Sayyed, R.Z., eds. *Antioxidants in Plant-Microbe Interaction*. Springer Nature, Singapur, Singapur, pp. 471-497.
- Oberson, A., Frossard, E., Bühlmann, C., Mayer, J., Mäder, P., y Lüscher, A. (2013). Nitrogen fixation and transfer in grass-clover leys under organic and conventional cropping systems. *Plant and Soil*, 371, 237–255.
- Pathak, E., Saniyal, A., Regmi, C.R., Paudel, S., y Shrestha, A. (2021). Screening of potential plant growth promoting properties of *Bacillus* species isolated from different regions of Nepal. *Nepal Journal of Biotechnology*, 9 (1), 79-84.

- Paulitz, T. C., y Matta, A. (1999). The role of the host in biological control of diseases. En: Albajes, R., Lodovica-Gullino, M., Van lenteren, J.C. y Elad, Y., eds. *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*. Springer, Dordrecht, Países Bajos, pp. 394–410.
- Pelosi, C., Barot, S., Capowiez, Y., Hedde, M., y Vandenbulcke, F. (2014). Pesticides and earthworms. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(1), 199–228.
- Penrose, D.M., Moffatt, B.A., y Glick, B.R. (2001). Determination of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) to assess the effects of ACC deaminase-containing bacteria on roots of canola seedlings. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(1), 77–80.
- Persello-Cartieaux, F., Nussaume, L., y Robaglia, C. (2003). Tales from the underground: molecular plant rhizobacteria interactions. *Plant, Cell and Environment*, 26, 189–199.
- Pii, Y., Crimi, M., Cremonese, G., Spena, A., y Pandolfini, T. (2007). Auxin and nitric oxide control indeterminate nodule formation. *BMC Plant Biology*, 7(1), 21.
- Pita Villamil, J.M., y Pérez García, F. (2013). Germinación de semillas. *Hojas Divulgadoras, Núm. 2090 HD*. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid, España.
- Prasad, R., Jain, V.K., and Varma, A. (2010). Role of nanomaterials in symbiotic fungus growth enhancement. *Current Science*, 99, 1189–1191.
- Prasad, K., Warke, R.V., y Khadke, K. (2019). Management of soilborne pathogens to improve productivity of pulses using organic technologies for sustainable agriculture. *International Journal of Research and Analytical Reviews*, 6 (2), 82-101.
- Prathap, M., y Ranjitha, K.B.D. (2015). A Critical review on plant growth promoting rhizobacteria. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 6(4), 1-4.
- Press, C.M., Loper, J.E., y Kleopfer, J.W. (2001). Role of iron in rhizobacteria-mediated induced systemic resistance of cucumber. *Phytopathology*, 91, 593-598.
- Puppala, K.R., Bhavsar, K., Sonalkar, V., Khire, J.M., y Dharne, M.S. (2019). Characterization of novel acidic and thermostable phytase secreting *Streptomyces* sp. (NCIM 5533) for plant growth promoting characteristics. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18, 101020.
- Qiu, Z., Egidi, E., Liu, H., Kaur, S., y Singh, B.K. (2019). New frontiers in agriculture productivity: Optimised microbial inoculants and in situ microbiome engineering. *Biotechnology*, 37, 1-11.
- Rabie, G.H. (1998). Induction of fungal disease resistance in *Vicia faba* by dual inoculation with *Rhizobium leguminosarum* and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi *Mycopathologia*, 141(3), 159–166.
- Ramadan, E.M., Abdel Hafez, A.A., Hassan, E.A., y Saber, F.M. (2016). Plant growth promoting rhizobacteria and their potential for biocontrol of phytopathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 10, 486-504.
- Ramos Solano, B., Barriuso Maicas, J., Pereyra de la Iglesia, M.T., Domenech, J., y Gutiérrez Mañero, F. J. (2008). Systemic disease protection elicited by plant growth promoting rhizobacteria strains: relationship between metabolic responses, systemic disease protection, and biotic elicitors. *Phytopathology*, 98(4), 451–457.
- Ratledge, C., y Dover, L.G. (2000). Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 54, 881-941.
- Raza, W., Ling, N., Yang, L, Huang, Q., y Shen, Q. (2016). Response of tomato wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* to the volatile organic compounds produced by a biocontrol strain *Bacillus amyloliquefaciens* SQR-9. *Scientific Reports*, 6, 1-13.

- Reddy, P.P. (2014). *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Horticultural Crop Protection*. Springer India, Nueva Delhi, India.
- Reglamento (UE) 2019/1009. Reglamento (UE) 2019/1009 del Parlamento Europeo y del Consejo de 5 de junio de 2019, por el que se establecen disposiciones relativas a la puesta a disposición en el mercado de los productos fertilizantes UE y se modifican los Reglamentos (CE) n.o 1069/2009 y (CE) n.o 1107/2009 y se deroga el Reglamento (CE) n.º 2003/2003. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L 170/1.
- Reitz, M., Rudolph, K., Schröder, I., Hoffmann-Hergarten, S., Hallmann, J., y Sikora, R.A. (2000). Lipopolysaccharides of *Rhizobium etli* strain G12 act in potato roots as an inducing agent of systemic resistance to infection by the cyst nematode *Globodera pallida*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(8), 3515–3518.
- Requena, N., Jimenez, I., Toro, M., y Barea, J.M. (1997). Interactions between plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR), arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation in Mediterranean semi-arid ecosystems. *The New Phytologist*, 136(4), 667–677.
- Rodríguez, H., y Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, 17, 319-339.
- Rodríguez, H., Fraga, R., Gonzalez, T., y Bashan, Y. (2006). Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil*, 287(2), 15–21.
- Rojas, M.M., Tejera, B., Bosch, D.M., Ríos, Y., Rodríguez, J., y Heydrich M. (2016). Potencialidades de cepas de *Bacillus* para la promoción del crecimiento en el cultivo del *Zea mays* L. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 50(3), 485-96.
- Sahu, P.K., y Brahma Prakash, G.P. (2016). Formulations of biofertilizers – approaches and advances. En: Singh, D.P., Singh, H.B., y Prabha, R., eds. *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity*. Springer India, Nueva Delhi, India, pp. 179-198.
- Santhosh Kumar, M., Chandramohan Reddy, G., Phogat, M., Korav, S., y Reddy, C. (2018) Role of bio-fertilizers towards sustainable agricultural development: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(6), 1915-1921.
- Santoro, M.V., Bogino, P.C., Nocelli, N., Cappellari, L.R., Giordano, W.F., y Banchio, E. (2016). Analysis of plant growth promoting effects of *Pseudomonas fluorescent* strains isolated from *Mentha piperita* rhizosphere and effects of their volatile organic compounds on essential oil composition *Frontiers of Microbiology*, 7, 1-17.
- Saraf, M., Jha, C.K., y Patel, D. (2010). The role of ACC deaminase producing PGPR in sustainable agriculture. En: Steinbüchel, A., ed. *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*. Springer, Berlín, Alemania, pp.365-385.
- Schalk, I.J., Hannauer, M., y Braud, A. (2011). New roles for bacterial siderophores in metal transport and tolerance. *Environmental Microbiology*, 13 (11), 2844–2854.
- Sehwat, A., y Sindhu S.S. (2019). Potential of biocontrol agents in plants disease control for improving food safety. *Defence Life Science Journal*, 4(4), 220-225.
- Sehwat, A., Sindhu, S.S., y Glick, B.R. (2022). Hydrogen cyanide production by soil bacteria: Biological control of pests and promotion of plant growth in sustainable agriculture. *Pedosphere*, 32(1), 15-38.

- Shaikh, S., y Saraf, M. (2017). Zinc biofortification: Strategy to conquer zinc malnutrition through zinc solubilizing PGPR's. *Biomedical Journal of Scientific and Technical Research*, 1, 224–226.
- Sharifi, R., y Ryu, C.M. (2016). Are bacterial volatile compounds poisonous odors to a fungal pathogen *Botrytis cinerea*, Alarm signals to *Arabidopsis* seedlings for eliciting induced resistance, or both? *Frontiers of Microbiology*, 7, 1-10.
- Sharma, R., Shrivastava, V.L., y Sharma, S. (2021). Effect of substitution of chemical fertilizer by bioinoculants on plant performance and rhizospheric bacterial community: case study with *Cajanus cajan*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(1), 373–386.
- Shen, X., Hu, H., Peng, H., Wang, W., y Zhang, X. (2013). Comparative genomic analysis of four representative plant growth-promoting rhizobacteria in *Pseudomonas*. *BMC Genomics*, 14, 271.
- Shinwari, K.I., Shah, A.U., Afridi, M.I., Zeeshan, M., Hussain, H., Hussain, J., y Ahmad, O. (2015). Application of plant growth promoting rhizobacteria in bioremediation of heavy metal polluted soil. *Asian Journal of Multidisciplinary Studies*, 3, 179–185.
- Shrivastava, U.P. (2013). Isolation and initial characterization of diazotrophic plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) from rice rhizosphere of Parsa and Bara district of Nepal, 4(3), 2481–2488.
- Siddiqui, Z.A., Baghel, G., y Akhtar, M.S. (2007). Biocontrol of *Meloidogyne javanica* by *Rhizobium* and plant growth-promoting rhizobacteria on lentil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(3), 435–441.
- Silva, R.S., Antunes, J.E.L., Aquino, J.P.A. de, Sousa, R.S. de, Melo, W.J. de, y Araujo, A.S.F. (2021). Plant growth-promoting rhizobacteria effect on maize growth and microbial biomass in a chromium-contaminated soil. *Bragantia: Boletim Tecnico do Instituto Agronomico Do Estado de Sao Paulo*, 80.
- Sinong, G.F., Yasuda, M., Nara, Y., Lee, C.G., Dastogeer, K.M.G., Tabuchi, H., Nakai, H., Djedidi, S., y Okazaki, S. (2021). Distinct root microbial communities in nature farming rice harbor bacterial strains with plant growth-promoting traits. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4.
- Somers, E., Vanderleyden, J., y Srinivasan, M. (2004). Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Critical Reviews in Microbiology*, 30(4), 205–240.
- Soumare, A., Diédhiou, A.G., Arora, N.K., Tawfeeq Al-Ani, L.K., Ngom, M., Fall, S., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Kouisni, L., y Sy, M.O. (2021). Potential role and utilization of plant growth promoting microbes in plant tissue culture. *Frontiers in Microbiology*, 12, 649878.
- Stacey, G., Burris, R.H., y Evans, H.J. (1992). *Biological Nitrogen Fixation*. Chapman and hall, Nueva York, NY, EE.UU.
- Subramanian, K.S., y Tarafdar, J.C. (2011). Prospects of nanotechnology in Indian farming. *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, 81, 887-893.
- Swarnalakshmi, K., Yadav, V., Tyagi, D., Dhar, D.W., Kannepalli, A., y Kumar, S. (2020). Significance of plant growth promoting rhizobacteria in grain legumes: Growth promotion and crop production. *Plants*, 9(11), 1596.
- Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M.S., Shahid, N., y Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Applied Soil Ecology*, 121, 102–117.
- Thakur, M., Mittal, D., Khosla, K., Saini, V., Saini, R. V., and Saini, A. K. (2021). Rhizobacteria associated with *Spilanthes acmella* Murr. confer drought-tolerance and plant growth promotion. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(5), 13155–13170.

- Thrane, C., Harder Nielsen, T., Neiendam Nielsen, M., Sarensen, J., y Olsson, S. (2000). Viscosinamide-producing *Pseudomonas fluorescens* DR54 exerts a biocontrol effect on *Pythium ultimum* in sugar beet rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 33(2), 139–14.
- Tilak, K.V.B.R., Ranganayaki, N., y Manoharachari, C. (2006). Synergistic effects of plant-growth promoting rhizobacteria and *Rhizobium* on nodulation and nitrogen fixation by pigeonpea (*Cajanus cajan*). *European Journal of Soil Science*, 57(1), 67–71.
- Tsegaye, Z., Gizaw, B., Tefera, G., Feleke, A., Chanilayew, S., Alemu, T. y Assefa, F. (2019). Isolation and biochemical characterization of Plant Growth Promoting (PGP) bacteria colonizing the rhizosphere of Tef crop during the seedling stage. *Journal of Plant Science and Phytopathology*, 3, 013-027.
- Ulloa-Ogaz, A.L., Muñoz-Castellanos, L.N., y Nevárez-Moorillón, G.V. (2015). Biocontrol of phytopathogens: Antibiotic production as mechanism of control. En: Méndez-Vilas, A., ed. *The Battle against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*. Formatex Research Center, Badajoz, España, pp. 305-309.
- Uribe D., Ortiz, E., Portillo, M., Bautista, G., y Cerón, J. (1999). Diversidad de *Pseudomonas fluorescentes* en cultivos de papa de la región cundiboyacense y su actividad antagonista *in vitro* sobre *Rhizoctonia solani*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 2 (1), 50-58.
- Verma, M., Mishra, J., y Arora, N.K. (2019). Plant growth-promoting rhizobacteria: Diversity and applications. En: Sobti, R.C., Arora, N.K., y Kothari, R., eds. *Environmental Biotechnology: For Sustainable Future*. Springer, Singapur, Singapur, pp. 129–173.
- Vessey, J.K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, 255(2), 571–586.
- Vijayabharathi, R., Sathya, A., y Gopalakrishnan, S. (2016). A renaissance in plant growth-promoting and biocontrol agents by endophytes. En: Singh, D.P., Singh, B.B., y Prabha, R., eds. *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity*. Springer India, Nueva Delhi, India, pp. 37-60.
- Wang, X., Mavrodi, D V., Ke, L., Mavrodi, O.V., Yang, M., Thomashow, L.S., Zheng, N., Weller, D.M., y Zhang, J. (2015). Biocontrol and plant growth-promoting activity of rhizobacteria from Chinese fields with contaminated soils: Growth-promoting rhizobacteria in polluted soils. *Microbial Biotechnology*, 8(3), 404–418.
- Wellesley, M.A. (2014). BCC research global market for biopesticides. *Market Research Reports*, 2014, 1-137.
- Wong, W.S., Tan, S.N., Ge, L., Chen, X., y Yong, J.W.H. (2015). The importance of phytohormones and microbes in biofertilizers. En: Ramawat, K.G., ed. *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*. Springer, Cham, Suiza, pp. 105–158.
- Xiurong, W., Qiang, P., Fengxian, C., Xiaolong, Y., y Hong, L. (2011). Effects of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia on soybean growth as related to root architecture and availability of N and P. *Mycorrhiza*, 21,173–181.
- Xu, Y., Tang, H., Xiao, X., Li, W., Li, C., Sun, G., and Cheng, K. (2018). Effects of long-term fertilization management practices on soil microbial carbon and microbial biomass in paddy soil at various stages of rice growth. *Revista Brasileira de Ciencia Do Solo*, 42.
- Yadav, A.N., Kumar, R., Kumar, S., Kumar, V., Sugitha, T., Singh, B., Chauhan, V.S., Dhaliwal, H.S., y Saxena, A.K. (2017). Beneficial microbiomes: biodiversity and potential biotechnological

applications for sustainable agriculture and human health. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 5, 1–13.

- Yagmur, B., y Gunes, A. (2021). Evaluation of the effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and quality parameters of tomato plants in organic agriculture by principal component analysis (PCA). *Gesunde Pflanzen*, 73(2), 219–228.
- Yi, Y.M., Huang, W.Y., y Ge, Y. (2008) Exopolysaccharide: a novel important factor in the microbial dissolution of tricalcium phosphate. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24,1059–1065.
- Yong, J.W.H., Ge, L., Ng, Y.F., y Tan, S.N. (2009). The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. *Molecules*, 14(12), 5144–5164.
- Yuan, H., Ge, T., Zhou, P., Liu, S., Roberts, P., Zhu, H., Zou, Z., Tong, C., y Wu, J. (2013). Soil microbial biomass and bacterial and fungal community structures responses to long-term fertilization in paddy soils. *Journal of Soils and Sediments*, 13(5), 877–886.
- Zehr, J.P., y Turner, P.J. (2001). Nitrogen fixation: Nitrogenase genes and gene expression. *Methods in Microbiology*, 30, 271–286.