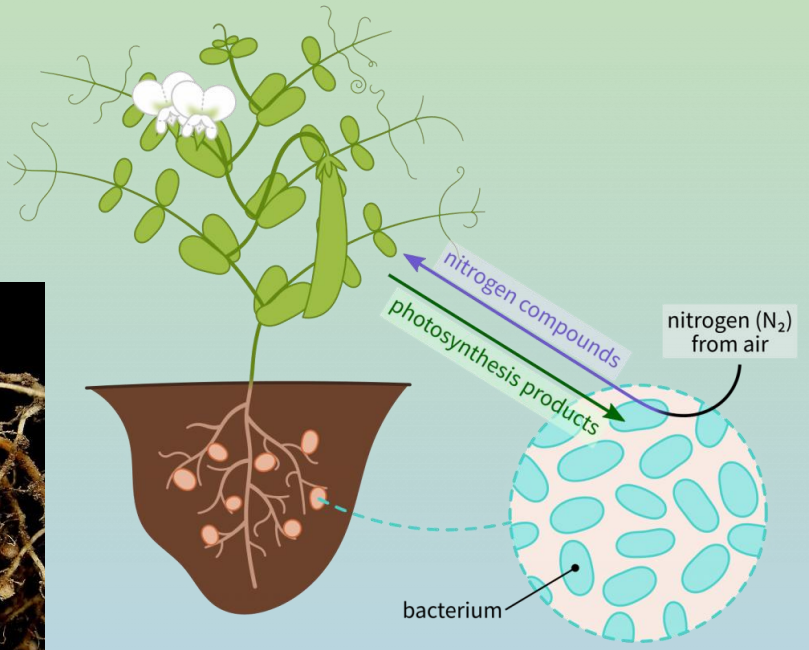
Curso agroecología DOCA MADEZAS microbiomas

Mario Bonillo CEDAF FCA UNJu

Microorganismos “benéficos”

- Desde el punto de vista de la fertilización el mas estudiado y promovido fue Rhizobium spp





- En los 90 toma preponderancia **<u>Trichoderma Spp</u>**
  - 1° Como mico fungicida
  - 2° Como promotor de crecimiento



Hernández-Melchor, D. J., Ferrera-Cerrato, R., & Alarcón, A. (2019). **Trichoderma: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial.** *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, *35*(1), 98-112.

- Trichoderma es un hongo cosmopolita cuya importancia radica en su capacidad de adaptación y producción de metabolitos, como enzimas, compuestos promotores de crecimiento vegetal, y compuestos volátiles, entre otros, de interés biotecnológico y ambiental.

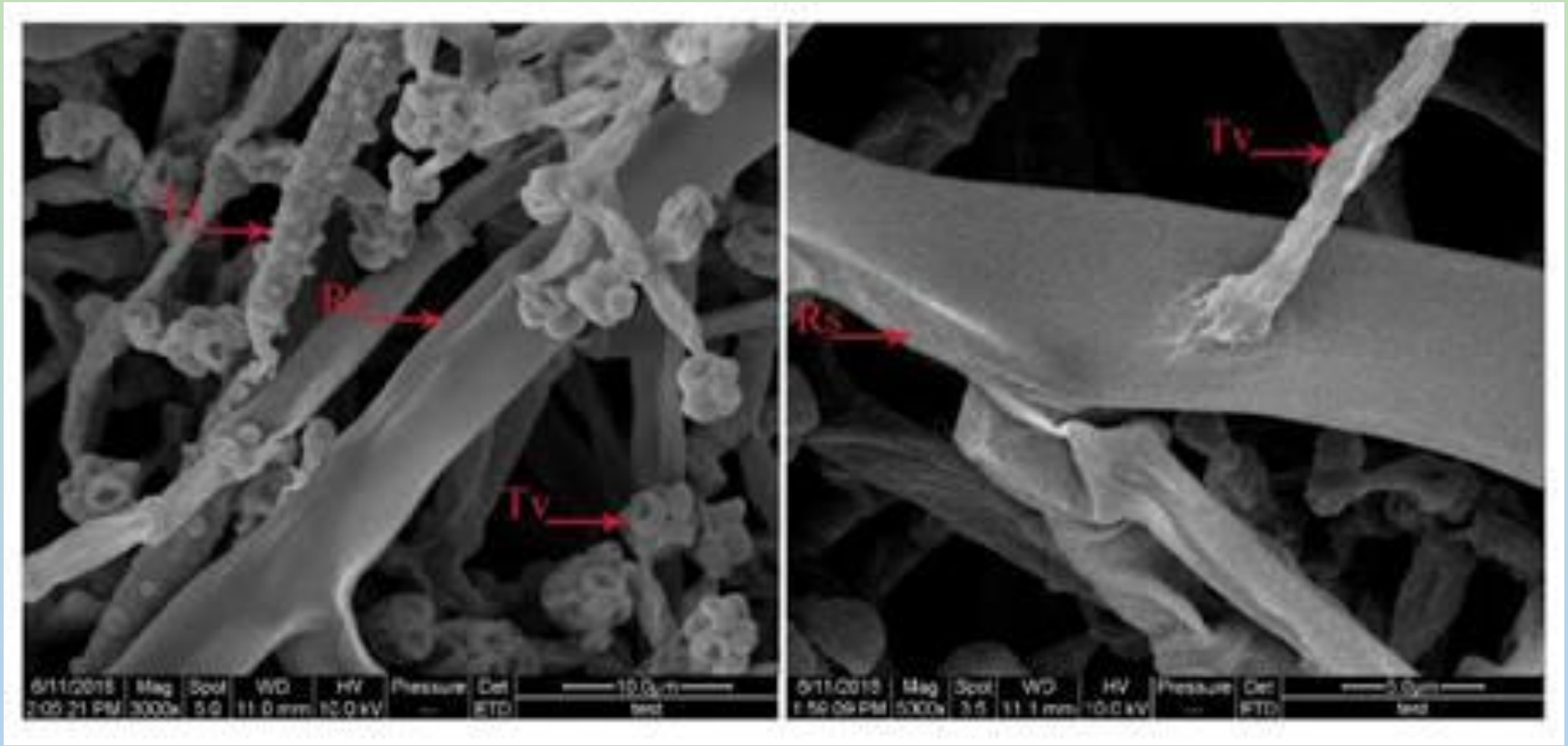
- Este género es utilizado como agente de biocontrol contra hongos fitopatógenos debido a sus múltiples mecanismos de acción, destacando la antibiosis, el micoparasitismo, la competencia por espacio y nutrientes, y la producción de metabolitos secundarios.

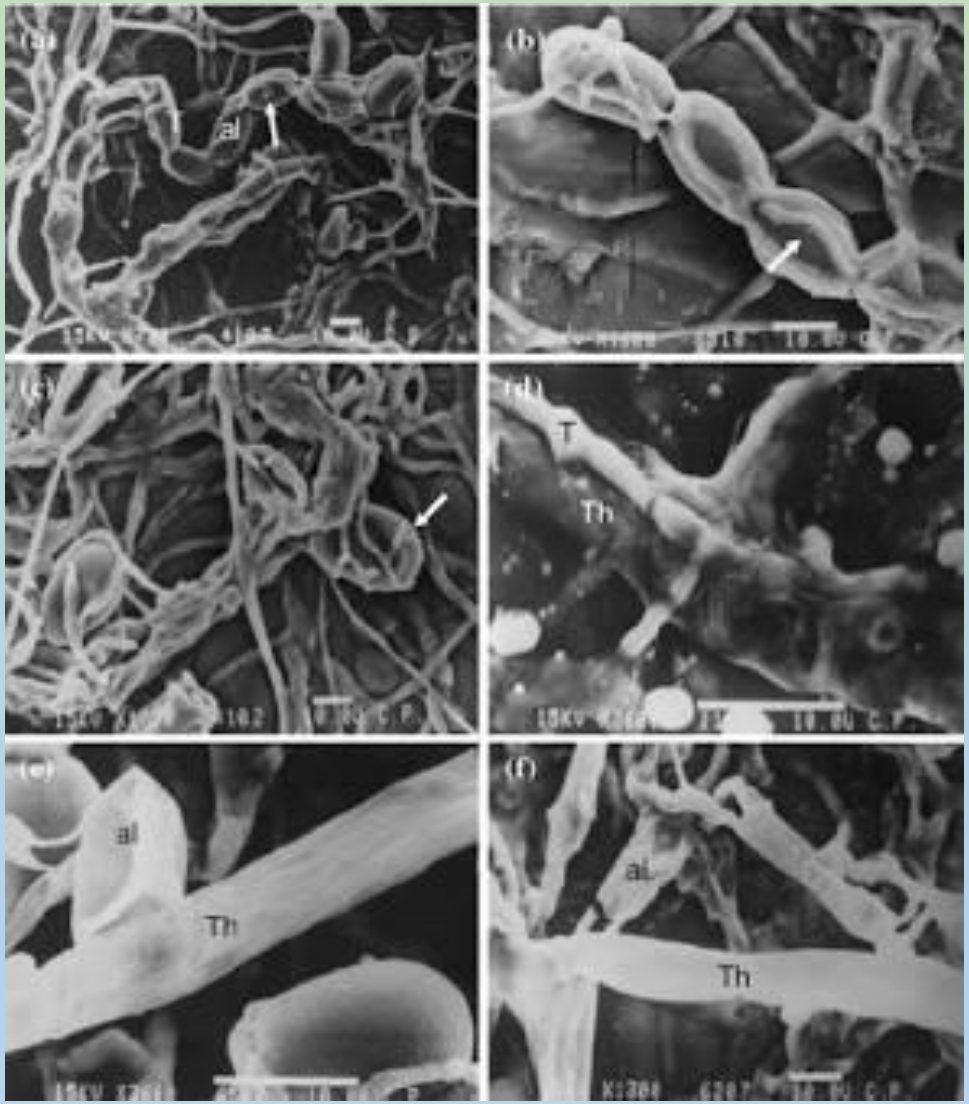
Sharma, K. K. (2018). Trichoderma in agriculture: An overview of global scenario on research and its application. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, *7*, 1922-1933.
Pal, K. K., & Gardener, B. M. (2006). Biological control of plant pathogens. *The plant health instructor*, *2*(5), 1117-1142.

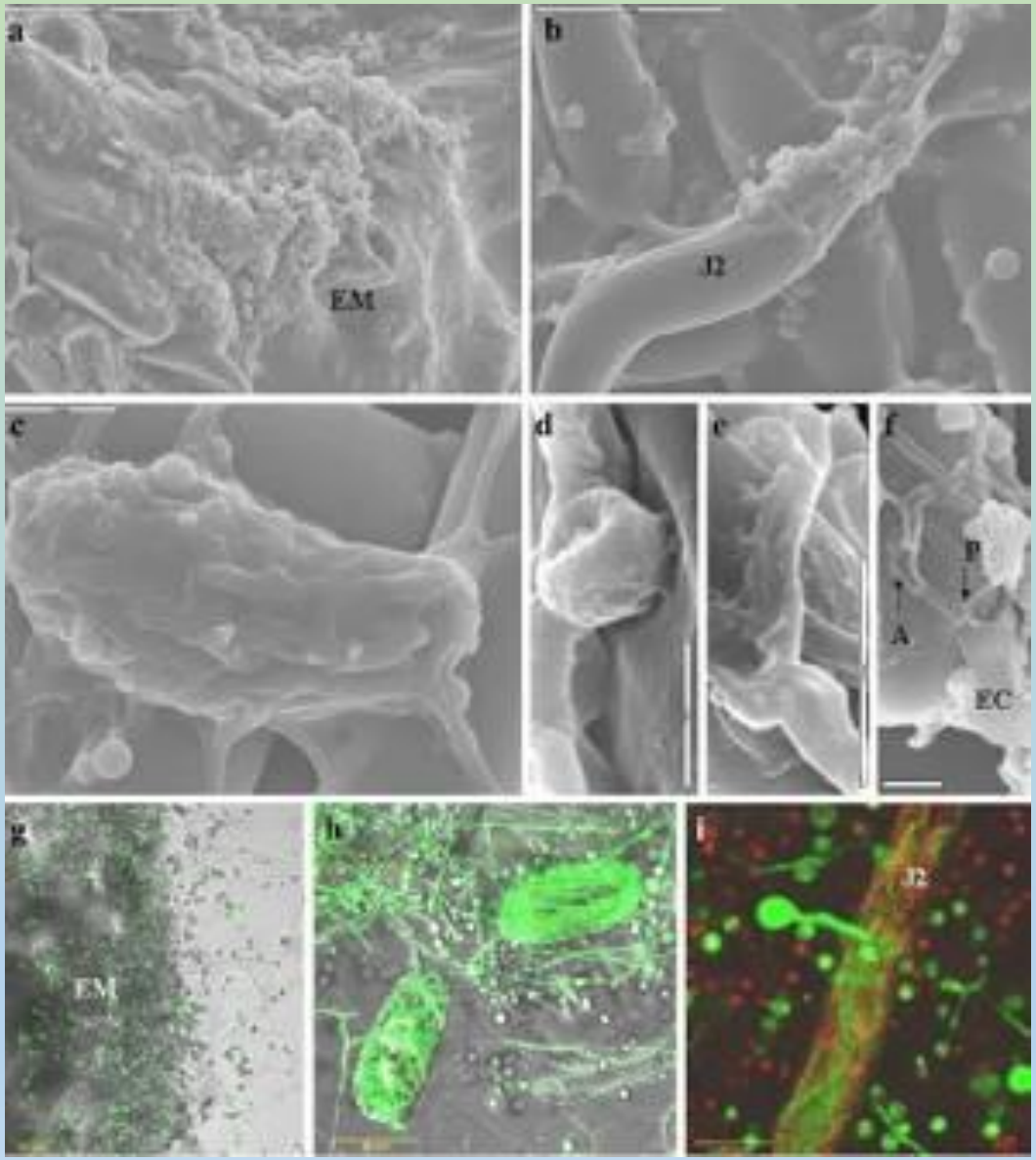
Como favorece a las plantas

- Mecanismos directos
  - **Micoparasitismo e hiperparasitismo**: Alternaria, Botrytis, Sclerotinia, Phytium, Phytophtora … - Meloidogyne, Heterodera …
  - **Competencia por espacio / por nutrients**
  - **Antibiosis:** 373 difernetes metabolites secundarios (peptaibols, NRPs, terpenos volatiles y no volatiles, pyrones y compuestos nitrogenados)

- Mecanismos indirectos
  - **Resistencia Sistema inducida**, por la via del acido jasmonico/etileno.
  - **Promocion de crecimiento**: efecto acumulativo, produccion de hormonas,
  - **Facilitacion en absorcion de nutrientes:** Sideroforos: conocen 3 derivados (hidroxamatos)
  - **suprecion de microflora Perjudicial**,


Tv
Tv
Rs


(a)
al
(b)
(c)
(d)
T
Th
(e)
al
Th
(f)
al
Th


a
EM
b
J2
c
d
e
f
P
A
EC
g
EM
h
i
J2


UGA3036077

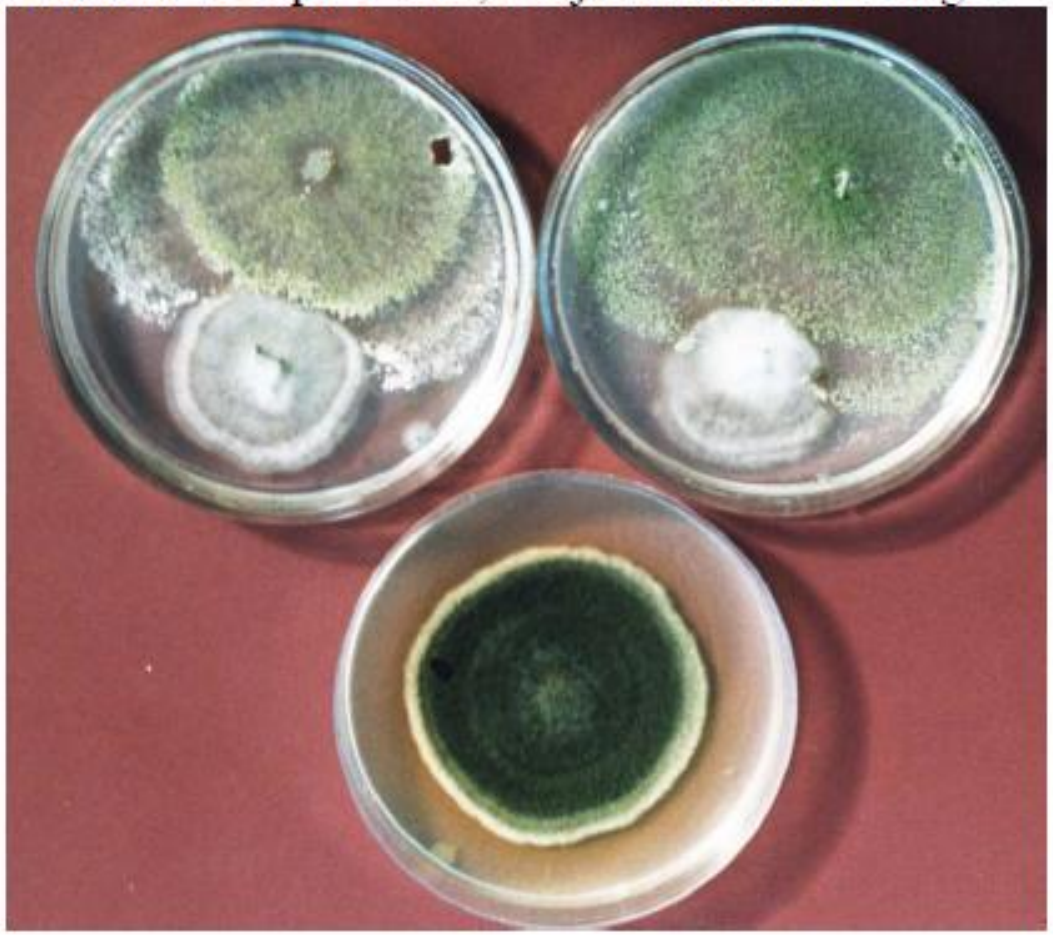
Nunes, A., Santos, A., Piotto, D., Niella, G., Medeiros, J., & Silva, G. (2021). Trichoderma spp. reveals potential as growth bio-promoter in forest seedlings. *Agrotrópica*, *33*, 17-28.



Figure S1. Supplementary material representative of the *Trichoderma* spp. effect on the *Eucalyptus* seedling. On the left the material treated with the fungus and on the right the untreated material. The difference in greenish color is clear and occurred in the same way for all repetitions.

Tesis: saberes campesinos, una estrategia para el desarrollo de tecnología apropiada para la agricultura orgánica realizada por agricultores familiares. M. Bonillo. 2005. UCT. Temuco, Chile

Fotografía N°5: siembras duales o apareadas, arriba a la izquierda ***Alternaria*** vs cepa T-016, a la derecha ***Alternaria*** vs cepa T-017, abajo ***Alternaria*** testigo.



Fotografía N°6: siembras duales o apareadas, arriba a la izquierda ***Phytophthora*** vs cepa T-012 a la derecha ***Phytophthora*** vs cepa T-018, abajo ***Phytophthora*** testigo.








A
T-aloe
S. sclerotiorum
B
SSH
TAH
SSH
TAH
TAH
10 um
SSH
HB

Alternativa de producción artesana vs comercial









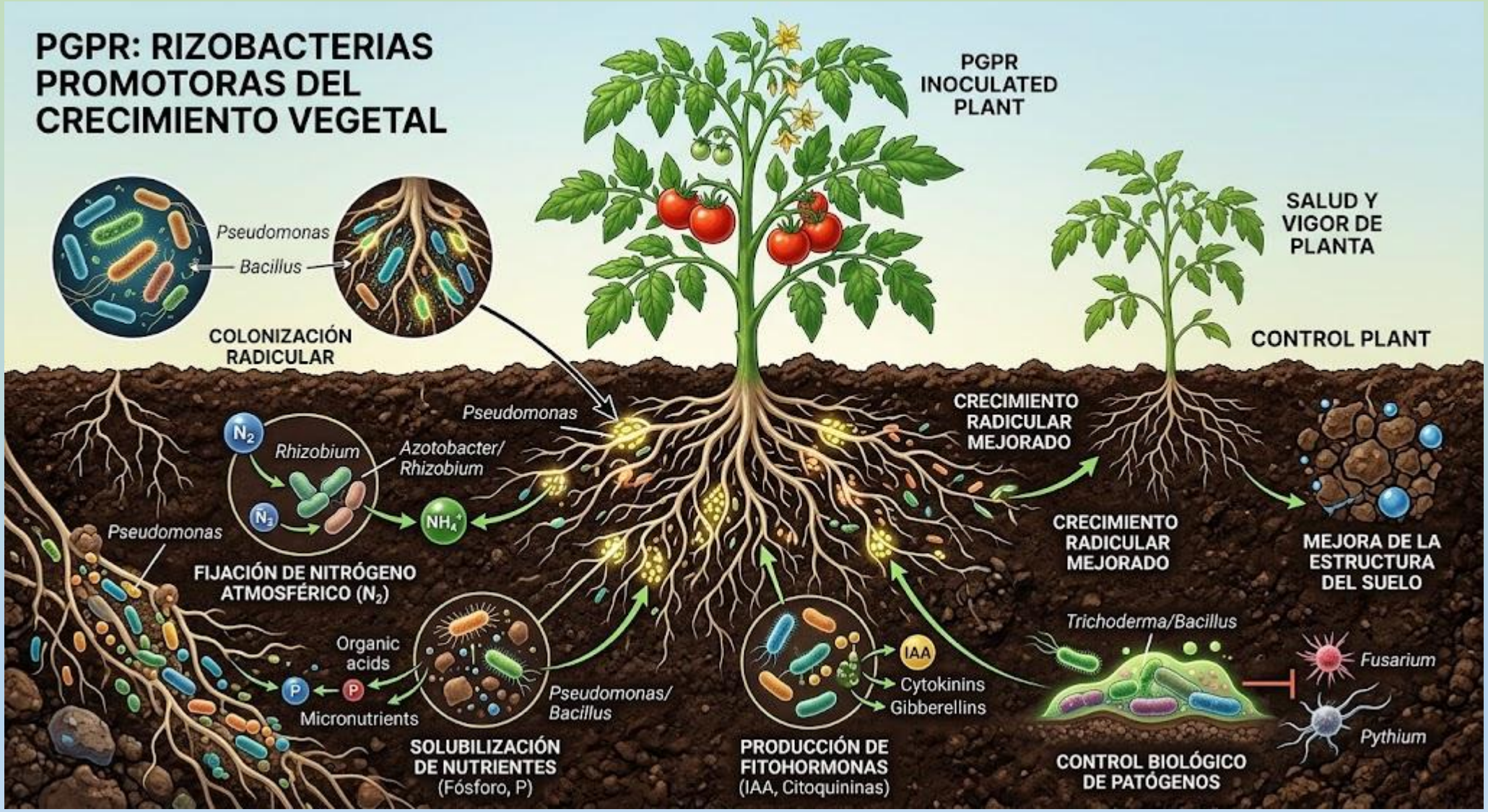



2008.10.23


2008.11

(año 2000)

PGPRs



Domingues Duarte, C. F., Cecato, U., Trento Biserra, T., Mamédio, D., & Galbeiro, S. (2020). **Azospirillum spp. en gramíneas y forrajeras**. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, *11*(1), 223-240.

- Fijación biológica de nitrógeno atmosférico/ gramíneas.
- producción de hormonas auxinas, citocininas y giberilinas,
- absorción nutrientes (P y Fe).

En general

- Las bacterias promotoras de crecimiento tienen la capacidad además de actuar como agentes de control biológico.
- El control biológico puede deberse a:
  - Parasitismo
  - producción de antibióticos
  - toxinas y enzimas, la interferencia en el proceso de reconocimiento planta-huésped
  - inducción de resistencia.

Bashan, Y., Holguin, G., & De-Bashan, L. E. (2004). Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian journal of microbiology*, *50*(8), 521-577.

- Las PGPR representan alrededor del 2 al 5 % de las bacterias rizosféricas

- Algunos géneros de bacterias reportados como PGPR

  Agrobacterium, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Micrococcous*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Serratia*

Moreno Reséndez, A., Carda Mendoza, V., Reyes Carrillo, J. L., Vásquez Arroyo, J., & Cano Ríos, P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *20*(1), 68-83.

Domingues Duarte, C. F., Cecato, U., Trento Biserra, T., Mamédio, D., & Galbeiro, S. (2020). Azospirillum spp. en gramíneas y forrajeras. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, *11*(1), 223-240.

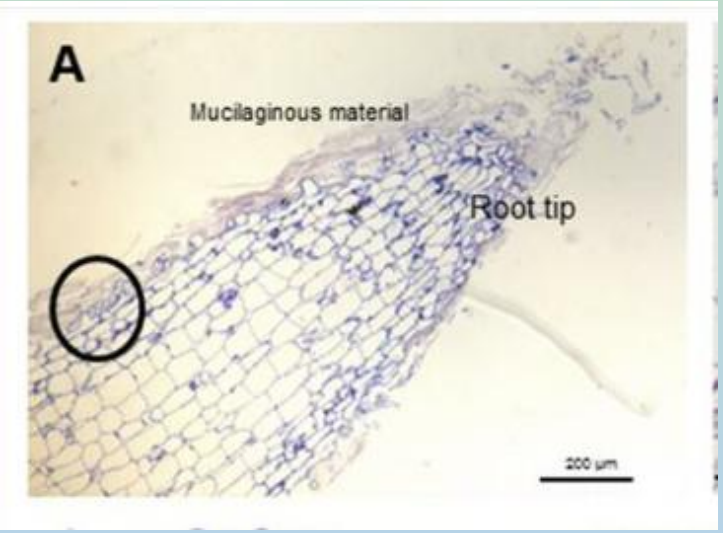
en cultivos de maíz *Azospirillum* incremento un 17 % la longitud media de las espigas y productividad con respecto al testigo.

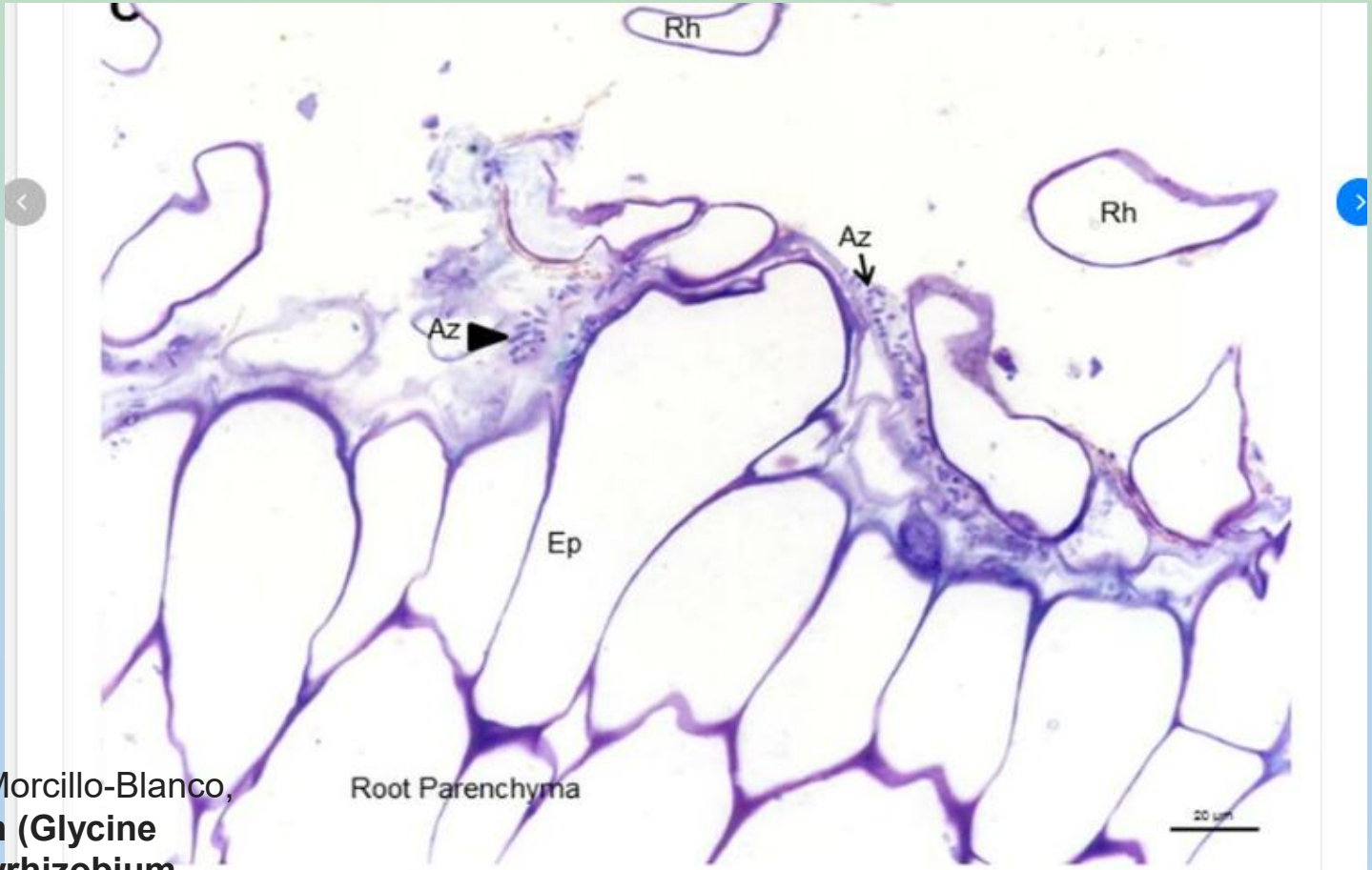
Schultz N, Morais RF, Silva JA, *et al*. Avaliação agronômica de duas variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. Pesq Agropec Bras 2012;(47):261-268.

al inocular con *Azospirillum brasilense se* observaron incrementos del 10 % en la productividad de la caña de azúcar en relación al tratamiento sin N-fertilizante.

Basándose en esto, los autores concluyeron que la inoculación promueve rendimientos similares a la adición de 120 kg ha^{-1} N.

Azospirillum y otras PGPR en la rizósfera, colonizan tanto la capa de mucigel alrededor de las raíces (colonización externa) como los espacios intercelulares de las raíces (colonización interna).





Light micrographs of longitudinal and transverse sections showing A. Brasilense 8-INICA, surface colonization five weeks after inoculation, stained with toluidine blue

Alberto-Casas, M., Pérez, J., Jerez, F., Fajardo-Molina, S., Morcillo-Blanco, C., & Fernández-Pascual, M. (2019). **Response of soybean (Glycine max (L) Merr) to inoculation with Azospirillum and Bradyrhizobium**.

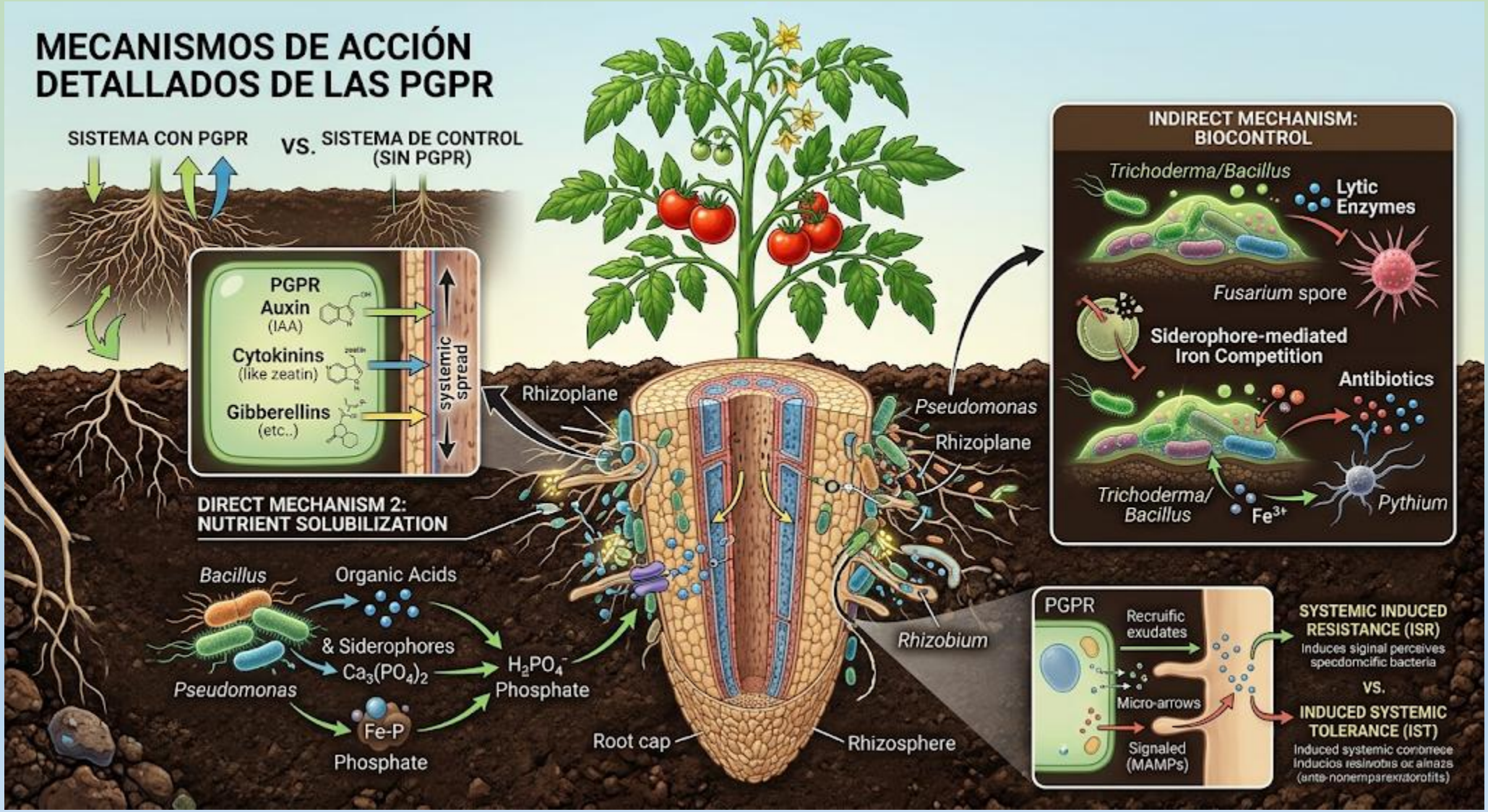
Parray, J. A., Jan, S., Kamili, A. N., Qadri, R. A., Egamberdieva, D., & Ahmad, P. (2016). **Current perspectives on plant growth-promoting rhizobacteria**. *Journal of Plant growth regulation*, *35*, 877-902.

Tabla 1. Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, efectos y cultivos donde se han evaluado.

RPCV	Efecto	Cultivos
Azospirillum spp., *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., *Burkholderia* spp., *Gluconacetobacter* spp., *Herbaspirillum* spp.	Biofertilización Fijan N_2	Maíz, arroz, trigo, sorgo, caña de azúcar.
Bacillis spp., *Pseudomonas* spp., *Streptomyces* spp., *Paenibacillus* spp., *Enterobacter* spp., *Azospirillum* spp.	Biocontrol (enfermedades, patógenos e insectos)	Tomate, tabaco, pepino, pimiento morrón, maní, alfalfa, garbanzo, frijol, ciruelo.
Methylobacterium spp., *Bacullus* spp., *Alcaligenes* spp., *Pseudomonas* spp., *Variovorax* spp., *Enterobacter* spp., *Azospirillum* spp., *Rhizobium* spp., *Klebsiella* spp.	Elongación, crecimiento	Nabo, clavel, canola, soya, frijol, maíz, judías, chicharos.
Aeromonas spp., *Agrobacterium* spp., *Alcaligenes* spp., *Azospirillum* spp., *Bradyrhzobium* spp., *Comamonas* spp., *Enterobacter* spp., *Rhizobium* spp., *Paenibacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp.	Productoras de fitohormonas [ácido-3-indol-acético (AIA), citoquininas, giberelinas]	Arroz, lechuga, trigo, soya, rábano, colza, aliso.

Fuente: Parray *et al.* (2016)

Mecanismos de acción



- **mecanismos directos** :
  - fijación de nitrógeno (N);
  - síntesis de fitohormonas (auxinas – giberelinas –citoquininas)
  - solubilización de fósforo (P) inorgánico y mineralización de fosfato orgánico,
  - oxidación de sulfuros,
  - reducción de la toxicidad por metales pesados
- Actividad de la ACC desaminasa, degrada precursores del etileno, tolerancia al estrés
  - secreción de sideróforos, (Fe)

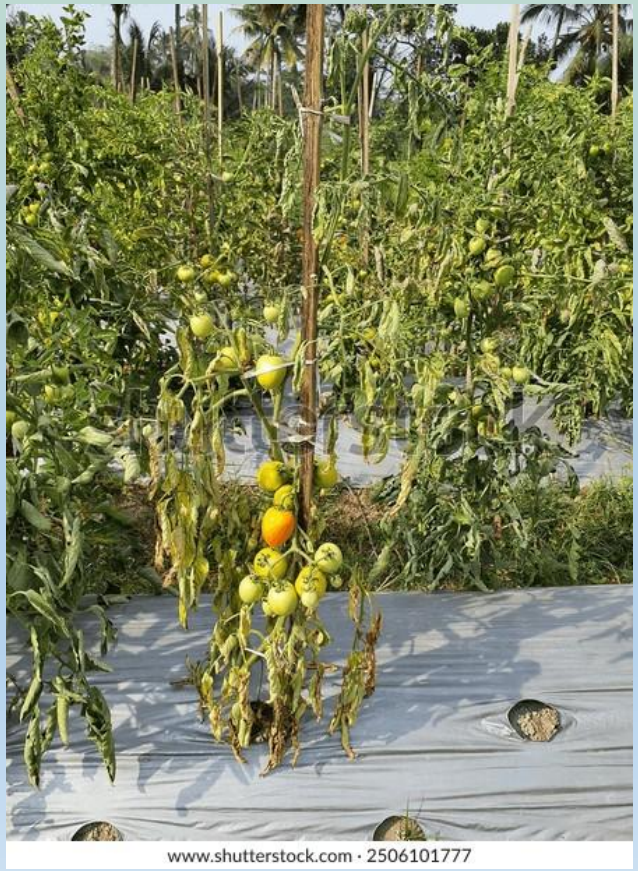
Moreno Reséndez, A., Carda Mendoza, V., Reyes Carrillo, J. L., Vásquez Arroyo, J., & Cano Ríos, P. (2018). **Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable**. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *20*(1), 68-83.

- **mecanismos indirectos:**
    - eliminación de microorganismos fitopatógenos,
    - antibióticos,
    - enzimas líticas
    - competencia de nutrimentos o de espacio (nicho ecológico)
    - Resistencia sistemica
    - secuestro del Fe / limitando el desarrollo fitopatógenos;
    - producción de cianuros de hidrógeno
    - hidrólisis de moléculas como el ácido fusárico*

Moreno Reséndez, A., Carda Mendoza, V., Reyes Carrillo, J. L., Vásquez Arroyo, J., & Cano Ríos, P. (2018). **Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable.** *Revista Colombiana de Biotecnología*, *20*(1), 68-83.

ácido fusárico

El **ácido fusárico** (ácido 5-butilpicolínico) es un metabolito secundario (fitotoxina y micotoxina) producido por hongos del género *Fusarium* (como *Fusarium oxysporum* y *Fusarium fujikuroi*)



- **Efecto fitotóxico:** Altera la permeabilidad de las membranas celulares vegetales, reduce la turgencia, inhibe la respiración mitocondrial y causa marchitez vascular severa en diversos cultivos (tomate, banana, algodón, etc.).
- **Efecto quelante:** Forma complejos estables con cationes metálicos (Fe^{3+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}), alterando la nutrición mineral de la planta.



algunas características - pgpr

- ***Fijación de nitrógeno atmosférico***

- **fijadores en vida libre** podemos encontrar
  - anaerobias estrictas, como *Clostridium*,
  - facultativas, como *Klebsiela*,
  - aerobias como *Azotobacter*, *Beijerinckia* y *Azospirilum*.
  - arqueobacterias como *Methanosarcina* y *Methanococcus*,
  - bacterias fotosintéticas como *Rhodospirillum* y *Chromatium*
  - cianobacterias como *Oscillatoria* y *Gloeothece*)
- **fijadores en simbiosis**
  - denominan genéricamente rizobios (proteobacterias) *Allorhizobium, Azorhizobium, Bradyrhizobium, Mesorhizobium, Rhizobium* y *Sinorhizobium* .
  - algunas simbiosis fijadoras de nitrógeno en no leguminosas y otros organismos procariotas como el actinomiceto *Frankia* y las cianobacterias *Nostoc* y *Anabaena*.

https://www.unavarra.es/herbario/leguminosas/htm/organismos_fijadores_L.htm

- ***Solubilización de fosfatos***

- solubilizan los fosfatos de los suelos y los vuelven disponibles para las plantas.
- Multifuncionales (solubilizan fosfatos también producen AIA, ácido giberélico, cianuro de hidrógeno (HCN), citoquininas, etileno, fijación asimbiótica de N e inducción de resistencia a organismos patógenos del suelo.)
- también son capaces de mineralizar el fosfato orgánico insoluble a través de la excreción de enzimas extracelulares como las fosfatasas.

- Solubilizan los fosfatos gracias a la capacidad de producir ácidos orgánicos (acético, adípico, cítrico, fórmico, fumárico, glicólico, glucónico, indolacético, láctico, málico, malónico, oxálico, propiónico, succínico y 2-ketogluconico)
- La mayoría de los ácidos orgánicos producidos son **alifáticos**, es decir, son ácidos no aromáticos
- Estos ácidos modifican el pH provocando la disolución de fosfatos insolubles de los suelos-
  - Intervienen en: acidificación, la quelación, precipitación y reacciones de óxido – reducción de la rizósfera,
  - forman complejos con metales, solubilizan metales y participan en su transporte.

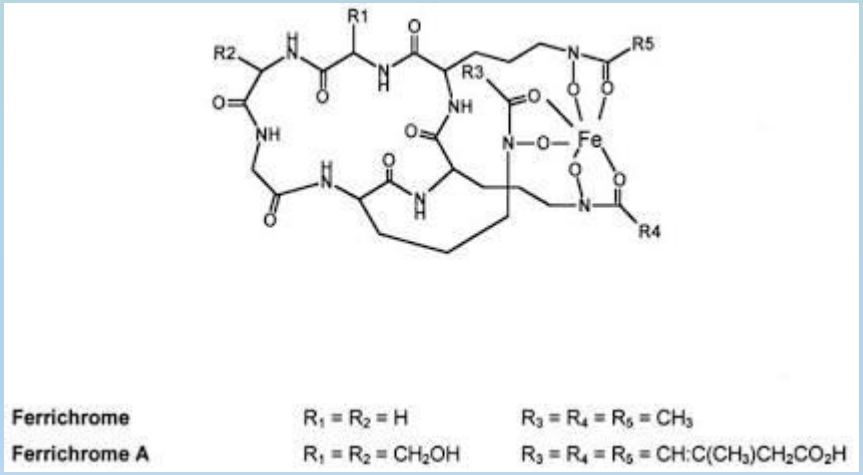
Tabla 2. Principales géneros bacterianos solubilizadores de fosfato.

BSF		
Achromobacter	***Erwinia***	***Rahnella***
Acinetobacter	*Flavobacterium*	*Ralstonia*
Aereobacter	*Gordonia*	*Rhodobacter*
Agrobacterium	*Kitasatospora*	*Rhodococcus*
Arthrobacter	*Klebsiella*	*Serratia*
Bacillus	*Mesorhizobium*	*Sinorhizobium*
Bradyrhizobium	*Micrococcus*	*Streptomyces*
Burkholderia	*Mycobacterium*	*Streptosporangium*
Chryseobacterium	*Pantoea*	*Thiobacillus*
Delftia	*Phyllobacterium*	*Yarowia*
Enterobacter	*Pseudomonas*	

BSF = Bacterias solubilizadoras de fosfato; Fuente: Beltrán (2014).

- ***Producción de sideróforos: quelación de hierro***

- producción de sideróforos
- *Ej Pseudomonas*, *Bacillus* y *Enterobacter* producen sideróforos que quelan el Fe disponible y privan de este elemento a los fitopatógenos respectivos, restringiendo así su proliferación y colonización de la raíz. -competencia por nutrientes



- Los sideróforos se dividen en tres familias principales dependiendo del grupo funcional característico:
  - hidroxamatos,
  - catecolatos
  - carboxilatos

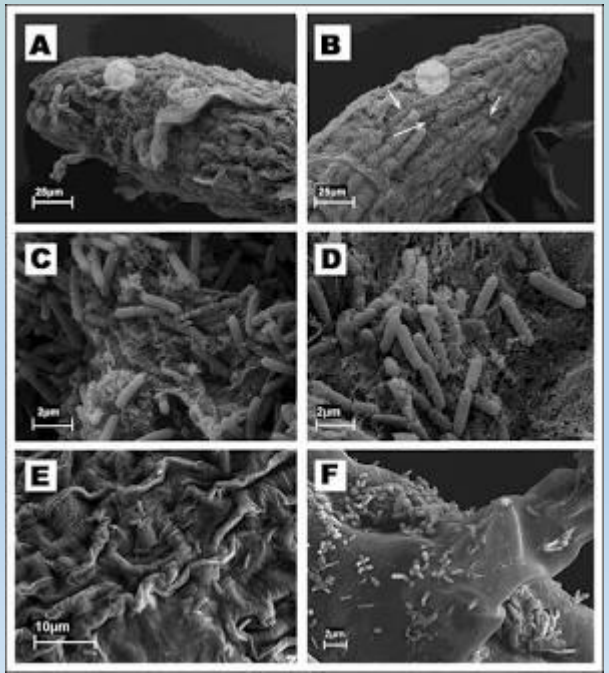
  - A la fecha, son conocidos más de 500 sideróforos

  - Fitopatógenos como Fusarium oxysporum y Rhizoctonia solani dependen del hierro para su metabolismo y germinación de esporas; al ser privados de este nutriente, su crecimiento se inhibe significativamente

Producción de polisacáridos extracelulares (EPS)

- Secreción de polisacáridos (polímeros)
- forman geles alrededor de las células y superfiecies de las raíces
- Estos geles constituyen la interface entre los microorganismos y su entorno inmediato
- La principal contribución de los microorganismos rizosféricos a la estabilidad del suelo está asociada a la producción de estas estructuras de geles

- permite a las plantas soportar mejor los entornos adversos (sequia, anegamiento)
- En la rizósfera los EPS entran en los agregados del suelo y alteran su porosidad.
- En condiciones de estrés salino, los EPS quelan cationes disponibles en la zona de la raíz, contribuyendo así a reducir la salinidad de la rizósfera.



Producción de sustancias promotoras de crecimiento vegetal

capacidad de producir sustancias promotoras de crecimiento, destacan cinco grupos:

1) auxinas (AIA);
2) giberelinas;
3) etileno;
4) citoquininas
5) ácido abscísico (ABA)

la fitoestimulación está dado particularmente por la manipulación de la compleja y balanceada red de hormonas o compuestos similares que influyen directamente sobre el crecimiento de las plantas o estimulan la formación de sus raíces.

- **Mecanismos de biocontrol o antagonismo / control biologico**

  - eliminan fitopatógenos mediante metabolitos secundarios
  - producen antibióticos / compuestos orgánicos volátiles antimicrobianos y enzimas hidrolíticas

Producción de antibióticos

- mecanismos de acción de los antibióticos:
  - a) inhibición de síntesis de pared celular;
  - b) desestabilización estructural de la membrana celular;
  - c) inhibición de la formación del complejo de iniciación de la traducción de los organismos fitopatógenos.

- Las bacterias que reducen la incidencia o la gravedad de las enfermedades de las plantas se denominan agentes de control biológico, mientras que las que exhiben actividad antagónica hacia un patógeno se definen como antagonistas.

- La actividad de biocontrol, debe ser considerada como un modo de comportamiento, dependiente de las condiciones predominantes, más que como una propiedad inherente de una cepa bacteriana



contra los hongos

Producción de enzimas líticas

- capacidad de degradar las paredes celulares de ciertos microorganismos, a través de la producción de enzimas hidrolíticas, tales como β-glucanasas, celulasas, dehidrogenases, exo y endo-poligalacturonasas, fosfatasas, hidrolasas, lipasas, pectinoliasas, proteasas y quitinasas, las cuales actúan fundamentalmente contra los hongos

- ej *B. subtilis/ Fusarium oxysporum*.

También

- Se conoce que las rizobacterias deletéreas son un grupo de patógenos saprófitos, no parasitarios, que excretan exopolísacáridos y sustancias químicas en forma de cianuro y fitotoxinas que pueden afectar negativamente el metabolismo de las plantas,

- recientemente este grupo de microorganismos se ha utilizado como un agente de control biológico de malezas

de los Santos-Villalobos, S., Barrera-Galicia, G. C., Miranda-Salcedo, M. A., & Pena-Cabriales, J. J. (2012). **Burkholderia cepacia XXVI siderophore with biocontrol capacity against Colletotrichum gloeosporioides**. *World J Microbiol Biotechnol*, *28*, 2615-2623.

Síntesis de cianuro de hidrógeno y de compuestos volátiles

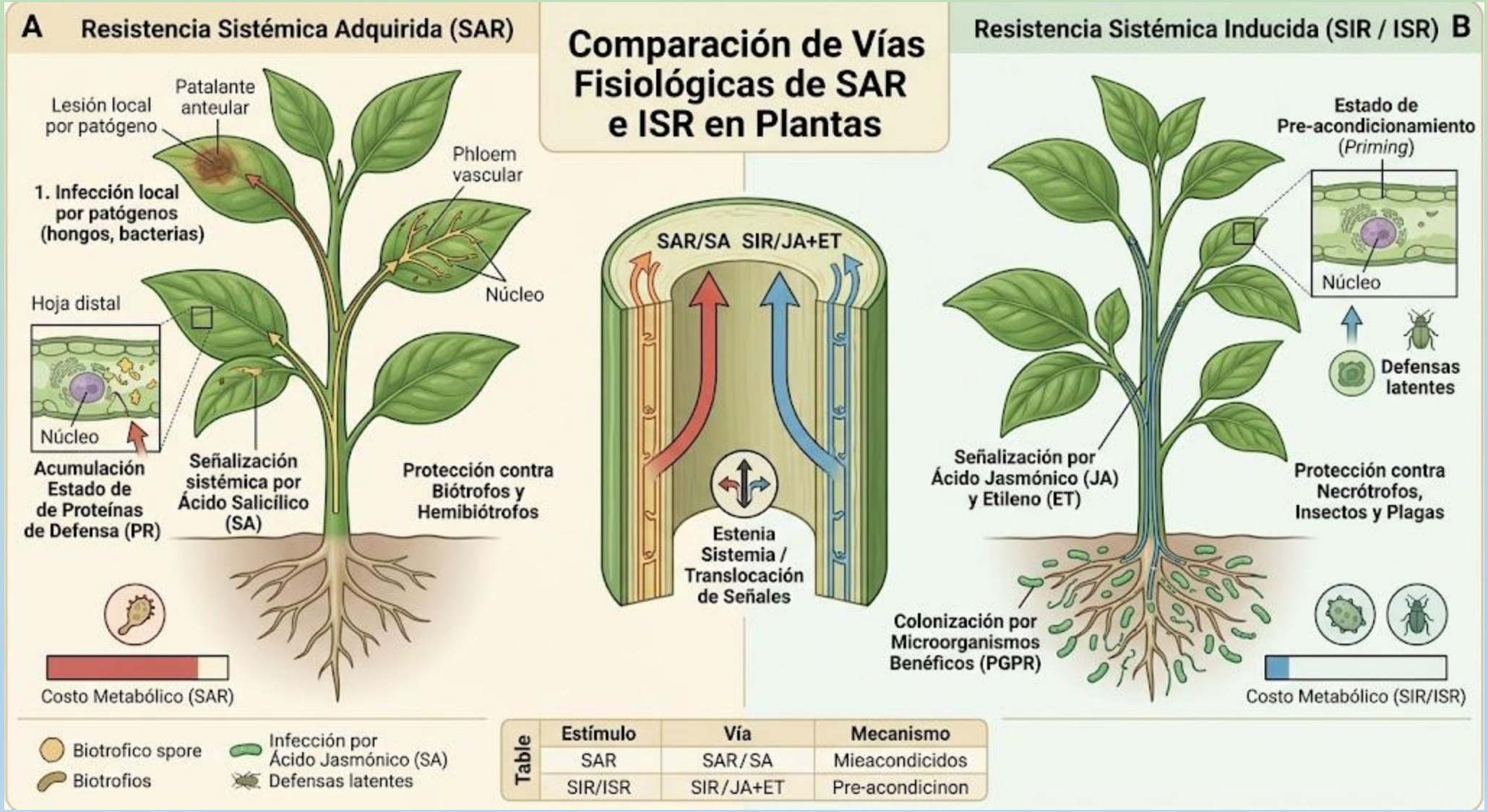
- La actividad antagónica de las pgpr también puede derivar de producción de compuestos volátiles,el más conocido es el cianuro de hidrógeno.
- crean un microambiente bacteriostático

- Ejemplo
  - *Pseudomanas fluorescens* cepa F113rif (F113) es un agente biocontrol aislado de la rizosfera de la remolacha azucarera (*Beta vulgaris* var. *altissima*) capaz de suprimir la enfermedad producida por el oomiceto *Pythium ultimum*,
  - la capacidad de biocontrol de esta cepa se ha relacionado con la producción de metabolitos secundarios, entre los cuales destacan: sideróforos, diacetil-floro-glucinol (DAPG), cianuro y una proteína extracelular (Azo-caseinasa)

Resistencia sistémica inducida y adquirida

- Al igual que todos los seres vivos, las plantas poseen genes que codifican para generar diversas armas químicas
- La resistencia sistémica es un estado fisiológico que mejora la capacidad defensiva, elicitado por estímulos específicos ambientales.
- Este estado mejorado de resistencia es efectivo contra un amplio rango de patógenos, plantas parasitas e insectos herbívoros
- El mecanismo de resistencia, implica dos fenómenos: la resistencia sistémica inducida (RSI) y adquirida (RSA), **fenotípicamente son semejantes**

Comparación de Vías Fisiológicas de SAR e ISR en Plantas



Table

Estímulo	Vía	Mecanismo
SAR	SAR/SA	Mieacondicidos
SIR/ISR	SIR/JA+ET	Pre-acondicinon

- RSA, esta es inducida por un amplio número de elicitores bióticos o abióticos, induce PR y utiliza vías de señalización que pueden involucrar al AS.
- RSI es potencializada por la interacción planta-PGPR, no involucra la síntesis de proteínas PR y la señalización la realiza a través de AJ y ET

Wang S, Wu H, Qiao J, Ma L, Liu J, Xia Y, Gao X. **Molecular mechanism of plant growth promotion and induced systemic resistance to Tobacco Mosaic Virus by *Bacillus* spp.** Journal of Microbiology and Biotechnology. 2009;9(10):1250-1258

“Sistema inmunológico de las plantas”

- Saharan y Nehra (2011) señalan que, provocadas por una infección local, las plantas responden con una cascada de señalización dependiente del AS que conduce a la expresión sistémica de amplio espectro y resistencia a la enfermedad de larga duración que es eficaz contra hongos, bacterias y virus.
- el AS es sintetizado en respuesta a la infección, tanto local como sistemáticamente

Efecto vacuna

- La RSA presenta cuatro características peculiares:
  - 1) es efectiva contra un amplio espectro de organismos patógenos,
  - 2) es de largo plazo;
  - 3) se dispersa en las plantas, principalmente, en dirección apical;
  - 4) se mueve hacia las yemas injertadas: estas dos últimas características sugieren convincentemente que las señales establecidas por la RSA son traslocadas a través de la planta.

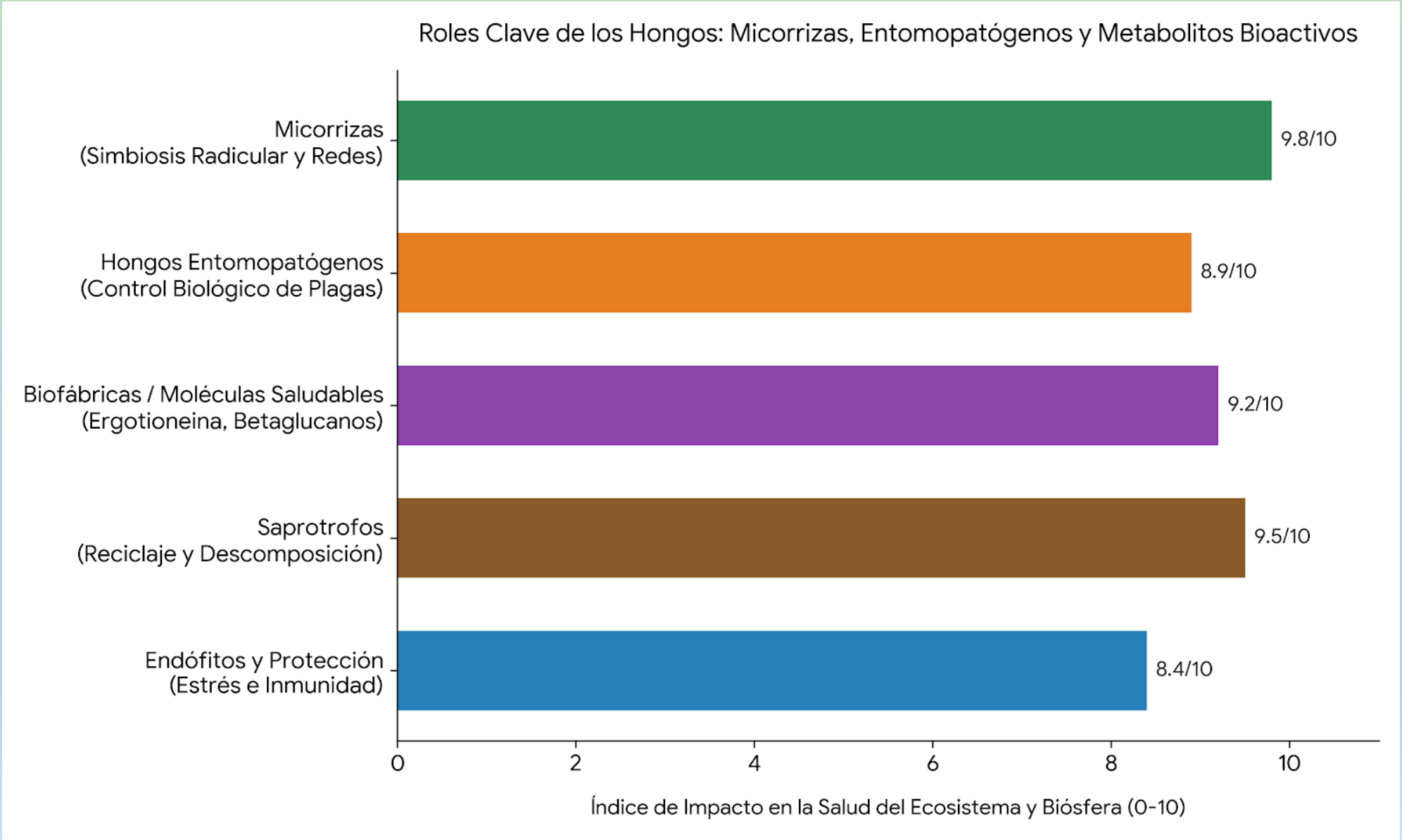
Pgpr – RSI: recientemente se evaluó su efecto como promotoras de RSI hacia virus fitopatógenos

TABLA 1. Especies de *Bacillus* utilizadas en la promoción de los mecanismos de Resistencia Sistémica Inducida contra virus fitopatógenos. /*Bacillus species used to promote mechanisms Induced Systemic Resistance against phytopathogenic viruses*.

Rizobacteria	Hospedante	Virus	Referencia
B. amyloliquefaciens	*Nicotiana benthamiana* y *Capsicum annuum*	*Cucumber mosaic virus*	43
B. pumilus, B. subtilis	*Cucurbita maxima L.*	*Watermelo nmosaic virus*	44
B. amyloliquefaciens	*Capsicum annuum*	*Cucumber mosaic virus*	15
B. subtilis	*Cucumis sativum*	*Cucumber mosaic virus*	45
B. subtilis	*Solanum lycopersicum*	*Cucumber mosaic virus*	39
B. pumilus, B. subtilis	*Nicotiana tabacum*	*Tobacco mosaic virus*	46
B. pumilus, B. subtilis	*Vigna unguiculata*	*Beancom monmosaic virus*	47
B. subtilis, B. pumilus, B. amyloliquefaciens	*Nicotiana tabacum*	*Tobacco mosaic virus*	22
B. cereus	*Chenopodium amaranticolor*	*Tobacco mosaic virus*	48
B. subtilis	*Cucurbita pepo*	*Cucumber mosaic virus*	6
B. pumilus	*Arabidopsis thaliana*	*Cucumber mosaic virus*	49
*Bacillus*spp.	*Solanum lycopersicum*	*Cucumber mosaic virus*	42,50
B. subtilis, B. pumilus, B. amyloliquefaciens	*Solanum lycopersicum*	*Tomato mottle virus*	41

Pendiente

Interacciones hongos



Interacciones fauna benéfica

