

***Pseudomonas putida* KT2440, como una potencial bacteria promotora del crecimiento en cultivos agrícolas**

Luisa Estela Vázquez Martínez **iD**^{1*}, Jesús Muñoz-Rojas^{2**iD}

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Licenciatura en Biotecnología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Blvd. Valsequillo y Av. San Claudio, Ciudad Universitaria, C. P. 72592, Colonia Jardines de San Manuel, Puebla, Puebla, México. ²Grupo Ecología y Supervivencia de Microorganismos, Laboratorio de Ecología Molecular Microbiana, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.

*Email autor para correspondencia: [*luisae.vazquezmartinez@viep.com.mx](mailto:luisae.vazquezmartinez@viep.com.mx);

**jesus.munoz@correo.buap.mx

Recibido: 30 junio 2023. **Aceptado:** 28 julio 2023

RESUMEN

En la actualidad, el "desarrollo sostenible" es uno de los desafíos a enfrentar para un consumo y producción consciente, sin comprometer las necesidades de la vida de las futuras generaciones. Por lo que, en los sectores agroindustriales, cada vez es más demandante sustituir los productos químicos por aquellos que son ecológicos en los sectores industriales. Este cambio ya está siendo evidente en la agricultura donde gradualmente se han ido reemplazando los fertilizantes químicos por tecnologías más amigables con el medio ambiente, como por ejemplo, los inoculantes microbianos sobre todo los basados en rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR por sus siglas en inglés).

En esta revisión, se revela que *Pseudomonas putida* KT2440 tiene ese potencial, pero aún más destacable es que promueve el crecimiento frente a condiciones adversas o extremas. Estudios previos han reportado que *P. putida* KT2440 tolera condiciones salinas y altas temperaturas, razón por la cual puede ser útil aplicarla en zonas de los suelos dañadas por estrés térmico, hídrico, salino o metales pesados. Además, se muestran los posibles mecanismos que podrían estar implicados en su funcionamiento, como por ejemplo el desencadenamiento de la respuesta sistémica en la planta, el antagonismo contra patógenos y la producción de fitohormonas.

Palabras clave: *P. putida* KT2440; rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal; estrés térmico y salino; mecanismos directos e indirectos.

ABSTRACT

Currently, "sustainable development" is one of the challenges to face for conscious consumption and production, without compromising the living needs of future generations. Therefore, it is increasingly demanding to replace chemical products with organic ones in industrial sectors. This change is already being evident in agriculture where little by little chemical fertilizers have been replaced by more environmentally friendly technologies, such as microbial inoculants, especially those based on plant growth promoting rhizobacteria (PGPR).

In this review, it is revealed that *Pseudomonas putida* KT2440 has this potential, but even more remarkable is that it promotes the plant growth under adverse or extreme conditions. Previous studies have reported that *P. putida* KT2440 tolerates saline conditions and high temperatures, which is why it can be useful to apply it in areas of soil damaged by thermal, water, saline or heavy metal stress. In addition, the possible mechanisms that could be involved in its operation are shown. In example, the triggering of the systemic response in the plant, the antagonism against pathogens and the production of phytohormones.

Keywords: *P. putida* KT2440; plant growth promoting rhizobacteria; thermal and saline stress; direct and indirect mechanisms.

INTRODUCCIÓN

La producción agrícola está disminuyendo fuertemente debido al uso excesivo de fertilizantes químicos, al desenfrenado cambio climático, al agotamiento de recursos naturales, a las prácticas agrícolas inadecuadas que afectan a los suelos y a factores de estrés ambiental para las plantas; aspectos que en conjunto, potencian el efecto negativo sobre el crecimiento de los cultivos [1].

De estos factores que amenazan la agricultura, uno de los más prominentes es el constante uso y las altas dosis de fertilizantes químicos, ya que resultan contraproducentes al alterar las

propiedades fisicoquímicas y biológicas de los suelos como su pH, el contenido de su materia orgánica y su microbiota [2]. Además, algunos agroquímicos son perjudiciales por su alto contenido de metales pesados (por ejemplo, cadmio y cromo), que al ser absorbidos por las plantas, pueden entrar en la cadena alimentaria [3]. Todos estos motivos justifican que es esencial encontrarles un reemplazo más sostenible y eficaz.

Una de las alternativas emergentes es el empleo de inoculantes microbianos que son compatibles con el medio ambiente [4]. Por ejemplo, aquellos inoculantes elaborados a base



de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), que actúan a través de diferentes mecanismos: directos e indirectos [5]; que proporcionan nutrientes esenciales o restringen el crecimiento de fitopatógenos.

Las bacterias del género *Pseudomonas* son colonizadores frecuentes de la rizósfera y se ha demostrado que algunas cepas de las especies *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas mendocina* y *Pseudomonas stutzeri* poseen capacidades PGPR [6,7]. Una de las bacterias del género *Pseudomonas* que podría tener un potencial de promoción de crecimiento es *P. putida* KT2440, ya que su uso en la biorremediación y en la colonización de la rizósfera vegetal, la hacen candidata a obtener esa cualidad [6,8]. Es por ello que en este artículo se exponen algunas evidencias que justifican el potencial de PGPR para *P. putida* KT2440.

Características de *P. putida* KT2440

P. putida KT2440 es una rizobacteria saprofita Gram-negativa que deriva de la cepa *P. putida* PWWO; y se caracteriza por no contener el plásmido TOL. La cepa PWWO se aisló de un campo sembrado de hortalizas, la cual utiliza tolueno, xilenos y alquil benzoatos como únicas fuentes de carbono debido a que posee el plásmido TOL para procesarlos [9,10]. Sin embargo, a pesar de la ausencia del plásmido TOL en la cepa KT2440, ésta mantiene la capacidad de degradar compuestos recalcitrantes como el ácido nicotínico y los ácidos nafténicos, además de usar como fuente

de carbono compuestos aromáticos y tolerar entornos contaminados por metales pesados; todas estas características la hacen destacable y deseable en la biorremediación [6].

P. putida KT2440 está certificada como biosegura para mantener y expresar de forma estable genes heterólogos [11]; lo cual la ha hecho una buena candidata para usarla en procesos biotecnológicos y la obtención de cepas recombinantes [12].

Adhesión, colonización y estimulación del crecimiento de plantas por *P. putida* KT2440

En la interacción bacteria-planta está involucrado el reconocimiento inicial de señales moleculares, seguido del movimiento de la bacteria en dirección de la planta hospedera, su adhesión a la superficie de la raíz, la colonización de la superficie y posteriormente mediante mecanismos moleculares diversos, se produce la fitoestimulación [13].

Para determinar si una bacteria puede actuar como promotora del crecimiento de plantas es imprescindible evaluar su adhesión y colonización, luego a través de ensayos de campo o invernadero descubrir su efecto tras su inoculación, para finalmente explorar los mecanismos que podrían estar involucrados en potenciar el crecimiento vegetal [5,13].

Estudios de adhesión y colonización de *P. putida* KT2440 se han llevado a cabo en diversos modelos de plantas [6,14,15]; donde se ha observado que es una excelente colonizadora, además de ver efectos positivos

en el crecimiento de plantas, principalmente bajo condiciones de estrés [8,16]. Por ejemplo, en el estudio publicado en el 2017 por Molina-Romero y cols. [8] se evidenció que *P. putida* KT2440 promueve el crecimiento de plantas de maíz criollo azul bajo condiciones de estrés térmico; observando una mayor altura y diámetro del maíz a los 40 °C, en comparación a los 30 °C. Esto podría deberse a que la bacteria cuando interacciona con las plantas, expresa mejor sus genes de crecimiento en condiciones extremas de temperatura [4].

Una situación parecida en cuanto a promover el crecimiento de plantas bajo condiciones estresantes, se estableció en el artículo de Costa-Gutiérrez y cols. (2020) [17], donde se inoculó a *P. putida* KT2440 en plantas de soya y maíz; solo que ahora las plantas se desarrollaron en ambientes salinos, esto con el fin de incrementar la tolerancia de los cultivos a la presencia de sal y/o remediar suelos contaminados en condiciones de elevada salinidad. La inoculación con *P. putida* KT2440 mejoró significativamente la germinación de las semillas, la longitud de la raíz y el tallo de estas plantas en comparación con las plantas control. Por otro lado, el análisis del genoma de *P. putida* reveló la existencia de genes implicados en vías promotoras del crecimiento vegetal, como en la producción de fitohormonas, como el IAA y el butanediol, y en la producción de sideróforos y ACC desaminasa, entre otras características [7]; que podrían estar implicados en la promoción de crecimiento en condiciones estresantes.

***P. putida* KT2440 como parte de consorcios microbianos y patentes de formulaciones microbianas multiespecies**

Los inoculantes microbianos son productos que tienen en su composición microorganismos vivos capaces de beneficiar el desarrollo de diferentes especies vegetales [18]. Por lo general, éstos contienen un acarreador que protege a las bacterias de las adversidades que sufren desde su producción hasta su aplicación en el campo [19]. Otro aspecto a considerar es que, para que mantengan su efectividad, los microorganismos deben de mantenerse en una cierta concentración, comúnmente por arriba de un millón de bacterias por gramo de suelo [16].

Es cada vez más reconocido que las formulaciones microbianas que contienen 2 o más microorganismos son más efectivas que aquellas que contienen una sola cepa [20,21]. En particular, las formulaciones que contienen 3 o más cepas microbianas se consideran como formulaciones multiespecies y cuando estas formulaciones son diseñadas considerando varios estudios adicionales a las formulaciones compuestas con una sola cepa microbiana, se denominan inoculantes de segunda generación [20,22]. Por ejemplo, se realizan estudios de compatibilidad de las cepas, se analiza su tolerancia a diversos tipos de estrés; como la desecación o la salinidad, se estudia también su dinámica de población en interacción con las plantas cuando están en consorcio y se realiza una caracterización molecular. En la actualidad, cada vez más formulaciones multiespecies de segunda generación se están reportando, especialmente aquellas dedicadas a la

promoción del crecimiento de plantas [21,23,24]. *P. putida* KT2440 también ha sido incluida en formulaciones multiespecies, observando un efecto promotor mejor en el crecimiento de plantas cuando las bacterias están en consorcios. A continuación, se muestran algunos ejemplos:

Ejemplo 1. En el 2021, Capilla-Otero sustentó que, el efecto promotor de crecimiento de *P. putida* KT2440 al incluirla dentro de un consorcio en forma de multiinoculante y al evaluarla individualmente al inocularse en el sistema radicular de *Lactuca sativa* L. [25]. Esta bacteria presentó la mayor capacidad de adhesión con una población promedio de 10^6 UFC/gV, mientras que la del consorcio fue menor 10^5 UFC/ gV. También tuvo una densidad de colonización adecuada (10^6 UFC/gV) a las 24, 60 y 90 horas post-inoculación, siendo similar a lo reportado en las plantas de maíz azul [17,26]. Con la inoculación de esta cepa, se obtuvieron los mayores valores de peso seco tanto de la parte aérea como de la raíz. Además, la intensidad de su efecto individual fue similar o comparable con el del multiinoculante.

Ejemplo 2. En el documento de patente WO2017037501A1 "Formulación multiespecies para mejorar el crecimiento de plantas de zonas semidesérticas" [27], se contempla el desarrollo de un inoculante multiespecies que consta de (1) *Microbacterium* sp. UAPS01200 (RhPf3) aislado de la rizósfera de *Pseudomitrocereus fulviceps*; (2) *Microbacterium* sp. UAPS01203 (4MePi8) aislada de la zona epífita de maíz y

(3) *Pseudomonas putida* KT2440 aislada de tomate; para estimular el crecimiento de plantas de zonas semidesérticas y de plantas como el maíz y el tomate en zonas con escasez de agua. A pesar de que *P. putida* KT2440 no es la bacteria que tolera a la desecación de forma tradicional, es capaz de entrar a un estado de dormancia para poder resistir periodos largos de desecación [28], lo que la hace una excelente candidata para estar dentro de esta formulación destinada para promover el crecimiento de plantas en zonas áridas o semidesérticas. Este estudio comenzó con 23 bacterias, las no compatibles entre sí se descartaron; luego se realizaron pruebas de resistencia al secado para seleccionar las más resistentes, logrando así la formulación EMMIM-2, con tres cepas, que estimula efectivamente el crecimiento del cactus globoso (*E. platyacanthus*); planta conocida como biznaga. De acuerdo con los resultados, se observó que la germinación y brotación de las plantas inoculadas con EMMIM-2 (86 ± 5.47) es significativamente mayor que las no inoculadas (60 ± 5.30), de igual forma esta tendencia se determinó en la longitud de la raíz de los cactus ($1.87 \text{ cm} \pm 0.58$), en comparación con las plantas control ($1.17 \text{ cm} \pm 0.4$) y en el peso fresco de los nopales ($0.26 \text{ g} \pm 0.06$), en comparación con el control ($0.05\text{g} \pm 0.09$).

Ejemplo 3. La patente MX2015014804 (A) [29], publicada el 20 de abril del 2017; divulga un método económico y eficiente, para obtener plantas de papa sanas, libres de contaminación. Primero, se inducen los brotes bajo condiciones de obscuridad, 70% de humedad relativa (HR),

y temperatura de 30 °C; después, se extraen para ser inoculados con una mezcla de tres bacterias benéficas productoras de sustancias inhibitorias contra patógenos (EMMIM-5: conformado por *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAI5^T, *P. putida* KT2440 y *Sphingomonas* sp. OF178) y finalmente, se colocan en frascos con vermiculita estéril, donde crecen bajo condiciones de cámara de plantas, para posteriormente ser trasplantadas a macetas en condiciones de invernadero o bien ser cultivadas en campo. Como resultado, se observó que las plantas no inoculadas fueron más susceptibles al ataque por hongos o insectos, ya que solo el 40% sobrevivió en comparación de las inoculadas, donde el porcentaje de supervivencia fue de alrededor del 80%.

Ejemplo 4. De acuerdo con el documento MX340596B, “Formulación de un inoculante multiespecies para potenciar el crecimiento de plantas” [30], se utilizaron 6 cepas bacterianas: *Azospirillum brasilense* Sp7, *Burkholderia unamae* MT1-641, *P. putida* KT2440, *Sphingomonas* sp. OF 178, *G. diazotrophicus* PAL 5 y *Bradyrhizobium* sp. MS22, para crear un eficaz inoculante que estimula el enraizamiento y crecimiento para plantas de interés agrícola (EMMIM-1). Su potencial como promotor de crecimiento fue evaluado en condiciones de macetas y de invernadero. Para el primer caso las semillas de maíz fueron sumergidas en la suspensión durante una hora y después se colocaron en macetas que contenían 2 L de vermiculita estéril. A los 30 dpi (días posteriores a la inoculación), el peso fresco total

de las plantas inoculadas fue de 12.78 g ± 3.43, mientras que el de controles sin inocular fue de 6.77 g ± 2.55. Para el segundo caso, se usó suelo sin esterilizar y variedades maíz que fueron inoculadas en la suspensión bacteriana (10% UFC/mL de cada especie) y 5 Kg de maíz que solo se sumergieron en agua, durante una hora. Como resultado se observó que las mazorcas de plantas inoculadas (16.43 cm ± 1.97) son de mayor tamaño al de las plantas control (7.53 cm ± 1.81); el rendimiento total de mazorca fue mayor para el tratamiento inoculado con EMMIM-1 (771.3 Kg) en referencia al tratamiento sin bacterias (144.64 Kg). También el inoculante multiespecies EMMIM-1 fue evaluado en plantas de frijol negro criollo donde se observaron resultados del doble de rendimiento y en papa de la variedad Atlantic, donde se obtuvo el mayor tamaño y cantidad de papas.

Sin embargo, a pesar de sus características benéficas *P. putida* KT2440 presenta dificultades para tolerar procesos de desecación, tanto en condiciones de liofilización como en condiciones de desecación ambiental [31]. Esto significa que si ocurre una sequía en alguna fase previa a la colonización; la supervivencia de la bacteria declina, siendo esto una limitante para ejercer sus beneficios [16]. Sin embargo, para sobrevivir a esta condición adversa, la cepa KT2440 es capaz de usar otra estrategia que involucra entrar a una fase de dormancia de la cual regresa cuando las condiciones son de nuevo amigables [28,32,33].



Análisis de genes relacionados con la promoción de crecimiento en plantas en *P. putida* BIRD-1, una cepa cercanamente relacionada a *P. putida* KT2440

Más recientemente, una cepa cercana a *P. putida* KT2440, denominada *P. putida* BIRD-1, fue aislada con propiedades aparentemente mejor desarrolladas para promover el crecimiento de plantas [34]. Con esta cepa se realizó un análisis genómico en relación con sus propiedades PGPR; y de acuerdo con el documento de patente EP3670647A1, en las cepas capaces de producir compuestos estimulantes del crecimiento vegetal, se han identificado genes implicados en la solubilización del fosfato orgánico e inorgánico, en la producción de sideróforos como la pioverdina y en la síntesis de fitohormonas como el IAA. Para probar el efecto estimulante de BIRD-1 sobre el crecimiento de raíces de maíz, se depositaron semillas esterilizadas sobre la superficie de una placa de agar agua inoculada o no con *P. putida* BIRD-1 (10^6 UFC cm^{-2} de superficie de la placa). Esto resultó en un mayor desarrollo de raíces primarias y secundarias en semillas germinadas con bacterias que sin ellas. También, se determinó el crecimiento de la parte aérea de las plantas midiendo su tamaño, y se observó que las plantas que crecían en suelos inoculados con *P. putida* eran más grandes que las que no. Es interesante como esta cepa muestra una alta homología y sintenia con el genoma de KT2440, ya que comparten alrededor del 80% de todos sus genes. Será interesante conocer si esta cepa es mejor para

sobrevivir a la desecación en comparación con *P. putida* KT2440.

Mecanismos de promoción de crecimiento vegetal

El gran desafío restante para el uso de las PGPR en los sistemas agrícolas, es descifrar qué mecanismos ejecuta la bacteria para favorecer la fitoestimulación y decidir qué tipo de microorganismo es mejor usar con qué planta en una situación determinada. Existen 2 tipos de mecanismos implicados en la promoción de crecimiento: los directos e indirectos [5].

Los primeros, promueven el crecimiento al facilitar la adquisición de nutrientes o al modular los niveles de hormonas vegetales, entre los que destacan la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfatos, la producción de vitaminas y de fitohormonas (auxinas, giberelinas, citocininas) [35]. Mientras que los otros, promueven la protección vegetal contra patógenos ya sea por la producción de sustancias inhibitorias como enzimas líticas, antibióticos, cianuros, sideróforos o bacteriocinas, en un mecanismo conocido como biocontrol [36], o bien por el desencadenamiento de una respuesta de defensa protectora mediante el mecanismo de resistencia sistémica inducida (ISR) o adquirida (SAR) [37,38]. Recientemente, se detectó la producción de ACC desaminasa en *P. putida* KT2440; sin embargo, esta molécula presenta un efecto negativo en la germinación de arroz en situaciones de elevada concentración celular [39]; por lo que será importante evaluar los

efectos en el crecimiento de otras plantas asociados con este mecanismo.

Es importante destacar que, aunque mediante análisis bioinformático se han encontrado varias características de promotor de crecimiento en *P. putida* KT2440 [7], no todas han sido exploradas de forma experimental (Tabla 1).

Algunas características PGPR determinadas de forma experimental se muestran a continuación. Molina y cols., (2017) exploraron la producción de compuestos de tipo indol, la solubilización de fosfato y síntesis de

sideróforos [26]. Estos parámetros también se exploraron por Costa-Gutierrez y cols., (2020) [17]; y de acuerdo con los resultados, se observó una mayor producción de compuestos de indol en condiciones no salinas (23.40 ± 9.10) que en las salinas (19.4 ± 0.90), la misma tendencia tuvo la síntesis de sideróforos en condiciones no salinas (19 ± 0.10) y en las salinas (2 ± 0.05), mientras que la solubilización de fosfatos se mantuvo en el mismo rango (1.14 ± 0.01). Esto demuestra que, a pesar de tolerar la sal, *P. putida* KT2440 prefiere condiciones no salinas para promover el crecimiento vegetal.

Tabla 1A. Mecanismos implicados en la promoción del crecimiento de plantas detectados por vía bioinformática y experimental.

	Características PGPR encontradas en el genoma de <i>P. putida</i> KT2440	Características PGPR encontradas vía experimental para <i>P. putida</i> KT2440
Producción de sideróforos	Si (7)	Si (17,26)
Ácido indol acético	Si (7)	Si (17,26)
ACC desaminasa	Si (7)	Si (39)
Síntesis de acetoína y 2,3-butanodiol	Si (7)	No
Respuesta mediada por ácido salicílico (SAR)	Si (7)	No
Respuesta mediada por ácido jasmónico (ISR)	Si (40)	Si (40,41)
Solubilización de fosfatos	No	Si (17,26)

Así es como queda comprobado experimentalmente que *P. putida* KT2440 podría estar utilizando estos 3 mecanismos para favorecer la fitoestimulación en este caso de maíz y soja. Aunque un cuarto mecanismo podría estar implicado según Planchamp y cols., (2015) [40], quienes demostraron que *P. putida* KT2440 aumenta la biomasa de las plantas de maíz var. Jubileo, mediante el desencadenamiento de una respuesta ISR, que fue eficiente para contrarrestar el hongo *Colletotrichum graminicola*, agente causal de antracnosis en el maíz que conduce a importantes pérdidas económicas [42]. Este mecanismo se propuso como resultado de un análisis transcripcional que reveló la expresión de algunos genes implicados en la señalización dependiente de JA y ABA, responsables de la formación de raíces secundarias [40]. Mientras que los genes relacionados con la vía de la auxina y el etileno solo se activaron en las hojas, pero no en las raíces. Además, un estudio previo ya había demostrado que *P. putida* KT2440 podía inducir resistencia sistémica, pero en plantas de *Arabidopsis*, contra el patógeno *Pseudomonas syringae* pv. tomate DC3000 [41] y que la estimulación de la respuesta de defensa del maíz depende de algunos compuestos exudados por las raíces denominados benzoxazinoides [43].

La salinidad es una condición donde el agua no está disponible, similar a lo que ocurre en desecación [44]. A pesar de que los resultados experimentales han indicado que *P. putida* KT2440 produce menor cantidad de sideróforos e indoles bajo condiciones de salinidad [17], se

ha observado que esta bacteria es capaz de promover el crecimiento de las plantas en condiciones salinas y en otras condiciones adversas de baja disponibilidad de agua [8,17,26,27]. Además, se ha registrado que otras cepas de *P. putida* pueden estimular el crecimiento de plantas a pesar de estar en entornos salinos, como por ejemplo la cepa UW4, que mejora el crecimiento de canola, al reducir la síntesis de etileno mediante la actividad de ACC desaminasa en condiciones salinas [45], la cepa GAP-P45, donde a través de EPS alivia el estrés por sequía y aumenta el crecimiento de plantas de maíz y girasol [46] y la cepa Rs-198, que aumenta la prolongación de las raíces del algodón, mediante la síntesis de IAA [47].

CONCLUSIÓN

En esta revisión, se muestra que *P. putida* KT2440 posee los genes relacionados con la fitoestimulación; sin embargo, de forma experimental esa promoción de crecimiento solo se ha demostrado en algunas plantas como el maíz, la biznaga y la papa. Aparentemente, esa fitoestimulación ocurre mediante una combinación de mecanismos que incluyen la producción de compuestos de indol, la solubilización de fosfato, la síntesis de sideróforos y la respuesta de defensa de tipo ISR.

A pesar de que dos de los mecanismos son disminuidos en condiciones de salinidad, es interesante como esta cepa presenta un efecto promotor de crecimiento frente a condiciones adversas o extremas, como por ejemplo

condiciones salinas y altas temperaturas.

Hay varias patentes que se han propuesto donde *P. putida* KT2440 está implicada, especialmente en formulaciones multiespecies. De esta forma, los resultados nos alientan a utilizar esta bacteria por sí sola o como parte de un consorcio en la formulación de inoculantes para mejorar el rendimiento de los cultivos agrícolas, aprovechar las zonas de los suelos estresadas por sequías o sales y reducir la destrucción de bosques autóctonos por cultivos agrícolas.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

AGRADECIMIENTOS

A la VIEP-BUAP por el apoyo para llevar a cabo nuestras investigaciones. A la Dirección de Internacionalización de la Investigación por el soporte para incrementar nuestro conocimiento mediante la interacción con investigadores del extranjero, lo cual es fundamental para tener nuevas ideas, el Dr. JM-R es miembro del S.N.I.; por lo que se agradece a esta institución por su apoyo.

REFERENCIAS

- [1]. Tilman D, Cassman KG, Matson PA, Naylor R, Polasky S. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*. 2002; 418(6898): 671–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nature01014>
- [2]. Pahalvi HN, Rafiya L, Rashid S, Nisar B,

Kamili AN. Chemical Fertilizers and Their Impact on Soil Health BT- Microbiota and Biofertilizers, Vol 2: Ecofriendly Tools for Reclamation of Degraded Soil Environs. In: Dar GH, Bhat RA, Mehmood MA, Hakeem KR, editors. Cham: Springer International Publishing. 2021; 2: 1–20. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-030-61010-4_1

[3]. Savci S. Investigation of Effect of Chemical Fertilizers on Environment. *APCBEE Procedia*. 2012; 1: 287–92. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212670812000486>

[4]. Baez-Rogelio A, Morales-García YE, Quintero-Hernández V, Muñoz-Rojas J. Next generation of microbial inoculants for agriculture and bioremediation. *Microb Biotechnol*. 2017; 10(1): 19–21. Disponible en: <https://ami-journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1751-7915.12448>

[5]. Molina-Romero D, Bustillos-Cristales MR, Rodríguez-Andrade O, Morales-García YE, Santiago-Saenz Y, Catañeda-Lucio M, Muñoz-Rojas J. Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Rev la DES Ciencias Biológico Agropecu*. 2015; 17 (2): 24–34. Disponible en: <https://biologicas.umich.mx/index.php?journal=biologicas&page=article&op=view&path%5B%5D=207>



- [6]. Molina L, Ramos C, Duque E, Ronchel MC, García JM, Wyke L, Ramos JL. Survival of *Pseudomonas putida* KT2440 in soil and in the rhizosphere of plants under greenhouse and environmental conditions. *Soil Biol Biochem.* 2000; 32(3): 315–21. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S003807179900156X>
- [7]. Wu X, Monchy S, Taghavi S, Zhu W, Ramos J, van der Lelie D. Comparative genomics and functional analysis of niche-specific adaptation in *Pseudomonas putida*. *FEMS Microbiol Rev.* 2011; 35(2): 299–323. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00249.x>
- [8]. Molina-Romero D, Morales-García YE, Hernández-Tenorio A-L, Castañeda-Lucio M, Netzahuatl-Muñoz AR, Muñoz-Rojas J. *Pseudomonas putida* estimula el crecimiento de maíz en función de la temperatura. *Rev Iberoam Ciencias.* 2017; 4: 80–8. Disponible en: <http://www.reibci.org/publicados/2017/feb/2100115.pdf>
- [9]. Teruko N, Takeshi Y. Benzoate Metabolism in *Pseudomonas putida* (arvilla) mt-2: Demonstration of Two Benzoate Pathways. *J Bacteriol.* 1973; 115(1): 262–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/jb.115.1.262-267.1973>
- [10]. Williams PA, Keith M. Metabolism of Benzoate and the Methylbenzoates by *Pseudomonas putida* (arvilla) mt-2: Evidence for the Existence of a TOL Plasmid. *J Bacteriol.* 1974; 120(1): 416–23. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/jb.120.1.416-423.1974>
- [11]. Nelson KE, Weinel C, Paulsen IT, Dodson RJ, Hilbert H, Martins dos Santos VAP, *et al.* Complete genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile *Pseudomonas putida* KT2440. *Environ Microbiol.* 2002; 4(12): 799–808. Disponible en: <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2002.00366.x>
- [12]. Muñoz-Rojas J, Ramos-Martin JL. Microorganismos recombinantes que contienen un gen de resistencia a estrés salino y sus aplicaciones. España; ES 2307391 B1, 2009: 27. Disponible en: https://es.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?FT=D&date=20090928&DB=&locale=es_ES&CC=ES&NR=2307391B1&KC=B1&ND=4
- [13]. Lugtenberg B, Kamilova F. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2009;63(1):541–56. Disponible en: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>
- [14]. Santiago-Saenz YO. Efecto de un inoculante multiespecies en papa propagada en laboratorio y crecida en invernadero. 2014. Disponible en: <https://repositorioinstitucional.buap.mx/handle/20.500.12371/5931>
- [15]. de Jesús-Ramos A, Baez A, Molina-Romero D, Muñoz-Rojas J, Morales-García YE. Potenciación del crecimiento de cacahuate criollo Huaquechula por bacterias rizosféricas aplicadas de forma individual o en consorcio. *Alianzas y Tendencias BUAP.* 2020; 5(19): 20–40. Disponible en:



<https://www.aytbuap.mx/publicaciones#h.61yt90j48v73>

[16]. Alonso Torres E, Panecatí Bernal Y, Alvarado-Pulido JJ, Fuentes-Ramírez LE, Martínez-Morales J, Muñoz-Rojas J, Morales-García YE Rumbo a la generación de inoculantes en polvo a base de *Pseudomonas putida* KT2440. Alianzas y Tendencias BUAP. 2022 ;7(27) :87–116. Disponible en: <https://www.aytbuap.mx/aytbuap-727/rumbo-a-la-generación-de-inoculantes-en-polvo-a-base-de-pseudomonas-putida>

[17]. Costa-Gutierrez SB, Lami MJ, Santo MCC-D, Zenoff AM, Vincent PA, Molina-Henares MA, Espinosa-Urgel M, de Cristóbal RE. Plant growth promotion by *Pseudomonas putida* KT2440 under saline stress: role of eptA. Appl Microbiol Biotechnol. 2020; 104(10): 4577–92. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10516-z>

[18]. Santos MS, Nogueira MA, Hungria M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. AMB Express. 2019; 9(1): 205. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0932-0>

[19]. Bashan Y. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. Biotechnol Adv. 1998; 16(4): 729–70. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975098000032>

[20]. Morales-García YE, Juárez-Hernández D, Hernández-Tenorio A-L,

Muñoz-Morales JM, Baez A, Muñoz-Rojas J. Inoculante de segunda generación para incrementar el crecimiento y salud de plantas de jardín. Alianzas y Tendencias BUAP. 2020; 5(20): 136–54. Disponible en: <https://drive.google.com/file/d/1hnGVyOqfJdrs8F-LIXeE5FrL1H6MP6nU/view>

[21]. Morales-García YE, Baez A, Quintero-Hernández V, Molina-Romero D, Rivera-Urbalejo AP, Pazos-Rojas LA, Muñoz-Rojas J. Bacterial Mixtures, the Future Generation of Inoculants for Sustainable Crop Production BT-Field Crops: Sustainable Management by PGPR. In: Maheshwari DK, Dheeman S, editors. Cham: Springer International Publishing. 2019;11–44. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-30926-8_2

[22]. Vivanco-Calixto R, Molina-Romero D, Morales-García YE, Quintero-Hernández V, Munive-Hernández JA, Baez-Rogelio A, Muñoz-Rojas J. Reto agrobiotecnológico: inoculantes bacterianos de segunda generación. Alianzas y Tendencias BUAP. 2016; 1(1): 1–10. Disponible en: <https://www.aytbuap.mx/publicaciones#h.26a62fnd2t88>

[23]. Morales-García YE, Sánchez-Navarrete ET, Romero-Navarro E, Rivera-Urbalejo AP. INOCREP: inoculante de segunda generación Introducción. In: Luna-Méndez N, Castañeda-Antonio MD, Morales-García YE, Muñoz-Rojas J, editors. Inoculación y uso de extractos naturales Una alternativa agroecológica para la prevención de plagas y enfermedades en el



cultivo de maíz en Puebla. Puebla, México: CONCYTEP. 2022: 51–60. Disponible en: <https://sites.google.com/viep.com.mx/bookiue/n/capítulo-iv>

[24]. Vio SA, Galar ML, Gortari MC, Balatti P, Garbi M, Lodeiro AR, Luna MF. Multispecies Bacterial Bio-Input: Tracking and Plant-Growth-Promoting Effect on Lettuce var. sagess. *Plants*. 2023; 12(4): 736. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/4/736>

[25]. Capilla Otero MM. Interacción de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) con lechuga (*Lactuca sativa* L.). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; 2021. Disponible en: <https://repositorioinstitucional.buap.mx/handle/20.500.12371/13548>

[26]. Molina-Romero D, Baez A, Quintero-Hernández V, Castañeda-Lucio M, Fuentes-Ramírez LE, Bustillos-Cristales M del R, Rodríguez-Andrade, Morales-García YE, Munive A, Muñoz-Rojas J. Compatible bacterial mixture, tolerant to desiccation, improves maize plant growth. *PLoS One*. 2017; 12(11): e0187913. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187913>

[27]. Muñoz-Rojas J, Alatorre-Cruz JM, Bustillos-Cristales M del R, Morales-García YE, Hernández-Tenorio A-L, Baez-Rogelio A. Multi-species formulation to improve the growth from plants semi-desertic zones. México; MX20150 14278^a. 2015: 1–28. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/315800535_Multi-

[species_formulation_to_improve_the_growth_from_plants_semi-desertic_zones](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219554)

[28]. Pazos-Rojas LA, Muñoz-Arenas LC, Rodríguez-Andrade O, López-Cruz LE, López-Ortega O, Lopes-Olivares F, Luna-Suarez S, Baez A, Morales YE, Quintero-Hernández V, Villalobos-López MA, de la Torre J, Muñoz-Rojas J. Desiccation-induced viable but nonculturable state in *Pseudomonas putida* KT2440, a survival strategy. *PLoS One*. 2019; 14(7): e0219554. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219554>

[29]. Santiago-Saenz YO, Hernández-Tenorio A-L, Morales-García YE, Quintero-Hernández V, Baez-Rogelio A, Pérez-Santos JLM. Method for obtaining potato plants from the extraction of induced sprouts in controlled conditions. México MX 2015014804. 2017: 1–25. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/320234265_Method_for_obtaining_potato_plants_from_the_extraction_of_induced_sprouts_in_controlled_conditions

[30]. Muñoz-Rojas J, Morales-García YE, Juárez-Hernández D, Fuentes-Ramírez LE, Munive-Hernández JA. Formulación de un inoculante multiespecies para potenciar el crecimiento de plantas. México; MX2013007978A. 2013: 1–36. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/309550250_Formulacion_de_un_inoculante_multiepecies_para_potenciar_el_crecimiento_de_plantas

[31]. Muñoz-Rojas J, Bernal P, Duque E, Godoy P, Segura A, Ramos J. Involvement of



Cyclopropane Fatty Acids in the Response of *Pseudomonas putida* KT2440 to Freeze-Drying Involvement of Cyclopropane Fatty Acids in the Response of *Pseudomonas putida* KT2440 to Freeze-Drying. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72(1): 472–7. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aem.72.1.472-477.2006>

[32]. Bernabé-Allende A. Estado viable no cultivable de *Pseudomonas putida* KT2440. In: Muñoz-Rojas J, editor. Colección de ESMOS. Puebla, México: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 2022: 1–3. Disponible en: <https://sites.google.com/view/esmosbuap/esmos-2022/esmos-17>

[33]. López-Lara LI, Pazos-Rojas LA, López-Cruz LE, Morales-García YE, Quintero-Hernández V, De La Torre J, van Dillewijn P, Muñoz-Rojas J, Baez A. Influence of rehydration on transcriptome during resuscitation of desiccated *Pseudomonas putida* KT2440. *Ann Microbiol.* 2020;70(1). Disponible en: <https://annalsmicrobiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13213-020-01596-3>

[34]. Roca A, Pizarro-Tobías P, Udaondo Z, Fernández M, Matilla MA, Molina-Henares MA, Molina L, Segrua A, Duque E, Ramos JL. Analysis of the plant growth-promoting properties encoded by the genome of the rhizobacterium *Pseudomonas putida* BIRD-1. *Environ Microbiol.* 2013; 15(3): 780–94. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12037>

[35]. Singh I. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and their various mechanisms for plant growth enhancement in stressful conditions: a review. *Eur J Biol Res.* 2018; 8(4): 191–213. Disponible en: <http://journals.tmkarpinski.com/index.php/ejbr/article/view/90>

[36]. Felestrino ÉB, Vieira IT, Caneschi WL, Cordeiro IF, Assis R de AB, Lemes CG de C, *et al.* Biotechnological potential of plant growth-promoting bacteria from the roots and rhizospheres of endemic plants in ironstone vegetation in southeastern Brazil. *World J Microbiol Biotechnol.* 2018; 34(10): 156. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2538-0>

[37]. Annapurna K, Kumar A, Kumar LV, Govindasamy V, Bose P, Ramadoss D. PGPR-Induced Systemic Resistance (ISR) in Plant Disease Management BT - Bacteria in Agrobiolology: Disease Management. In: Maheshwari DK, editor. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 2013: 405–25. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-642-33639-3_15

[38]. Oleńska E, Małek W, Wójcik M, Swiecicka I, Thijs S, Vangronsveld J. Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review. *Sci Total Environ.* 2020; 743: 140682. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720342042>

[39]. Zhou D, Zhao J-Wang R, Wang H,



Herrera-Balandrano DD, Chen T-M, Lu X, Duan X, Shahriar M, Shi X, Laborda P, Wang S. ACC deaminase-encoding *Pseudomonas putida* arrests seed germination: an alternative strategy for grass and weed control. *Plant Soil*. 2022; 480(1): 391–406. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05587-y>

[40]. Planchamp C, Glauser G, Mauch-Mani B. Root inoculation with *Pseudomonas putida* KT2440 induces transcriptional and metabolic changes and systemic resistance in maize plants. *Frontiers in Plant Science*. 2015; 5: 719. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2014.00719>

[41]. Matilla MA, Ramos JL, Bakker PAHM, Doornbos R, Badri D V, Vivanco JM, *et al.* *Pseudomonas putida* KT2440 causes induced systemic resistance and changes in *Arabidopsis* root exudation. *Environ Microbiol Rep*. 2010; 2(3): 381–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00091.x>

[42]. Frey TJ, Weldekidan T, Colbert T, Wolters PJCC, Hawk JA. Fitness Evaluation of Rcg1, a Locus that Confers Resistance to *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W. Wils. Using Near-Isogenic Maize Hybrids. *Crop Sci*. 2011; 51(4): 1551–63. Disponible en: <https://doi.org/10.2135/cropsci2010.10.0613>

[43]. Neal A, Ton J. Systemic defense priming by *Pseudomonas putida* KT2440 in maize depends on benzoxazinoid exudation from the

roots. *Plant Signal Behav*. 2013; 8(1): e22655. Disponible en: <https://doi.org/10.4161/psb.22655>

[44]. Rodríguez-Andrade O, Corral-Lugo A, Morales-García YE, Quintero-Hernández V, Rivera-Urbalejo AP, Molina-Romero D, Martínez-Contreras RD, Bernal P, Muñoz-Rojas J. Identification of *Klebsiella variicola* T29A genes involved in tolerance to desiccation. *Open Microbiol J*. 2019; 13(1): 256–67. Disponible en: <https://openmicrobiologyjournal.com/VOLUME/13/PAGE/256/>

[45]. Cheng Z, Park E, Glick BR. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. *Can J Microbiol*. 2007; 53(7): 912–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1139/W07-050>

[46]. Sandhya V, SK. Z. A, Grover M, Reddy G, Venkateswarlu B. Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45. *Biol Fertil Soils*. 2009; 46(1): 17–26. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00374-009-0401-z>

[47]. Yao L, Wu Z, Zheng Y, Kaleem I, Li C. Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. *Eur J Soil Biol*. 2010; 46(1): 49–54. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1164556309001046>

