

La comunicación entre bacterias y plantas

Gina Holguín Zehfuss

El nacimiento de una sociedad

Hace millones de años, al aparecer las plantas en nuestro planeta, se presentó para los microorganismos una espléndida oportunidad. Las raíces de las plantas y el suelo bajo su influencia (hábitat llamado *rizosfera*) representaba para las bacterias un nuevo nicho que aprovechar, una fuente inagotable de sustancias exudadas por las raíces: aminoácidos, proteínas y enzimas, azúcares, ácidos orgánicos y vitaminas, entre otros. Estas sustancias, llamadas *exudados radicales*, podían ser utilizadas por las bacterias como fuentes de energía o carbono, o como complemento nutricional. Y las bacterias, ¿qué podían dar a cambio de recibir tantas cosas buenas? Ellas podrían ofrecer a las plantas antibióticos u otras sustancias tóxicas que inhiben el crecimiento de organismos patógenos; podrían brindar a la planta nitrógeno a través de la fijación de este gas atmosférico (conversión de nitrógeno gaseoso en amonio), hierro, hormonas vegetales (fitohormonas); podrían ayudarlas a asimilar el fósforo del suelo, etcétera (véase Cuadro 1).

Curiosamente, se ha demostrado que la colonización de raíces por bacterias induce la exudación de sustancias por parte de la planta. Por ejemplo, algunos cereales llegan a exudar hasta un 30 por ciento de sus productos de la fotosíntesis. ¿Puede darse el lujo la planta de ser tan altruista y brindar a las bacterias charolas repletas de alimento sin esperar nada a cambio? Seguramente esa energía es una inversión sabia, ya que las bacterias les corresponden pródigamente. Dicho de otra manera, es posible que tanto la planta como las bacterias reciban grandes beneficios al asociarse, y que esto haya permitido que la evolución favoreciera los mecanismos que promueven la exudación por parte de la planta.

El estudio de bacterias benéficas en plantas se inició en 1886 con el descubrimiento de los *rizobios simbiotes*, bacterias que se asocian a raíces de leguminosas, y que viven dentro de unos órganos que semejan pequeños tumores llamados *nódulos*; ahí, las bacterias se dedican a fijar nitrógeno atmosférico y se lo ofrecen a la planta. A cambio del nitrógeno, las bacterias reci-

Cuadro 1.

¿Qué hacen las bacterias para ayudar a las plantas?

Fijan N_2 (reducen N_2 a NH_3)

Solubilizan fosfato inorgánico u orgánico

Sintetizan sideroforos (moléculas que atrapan hierro)

Producen antibióticos u otras sustancias que inhiben patógenos

Producen fitohormonas

Inducen en la planta resistencia a patógenos

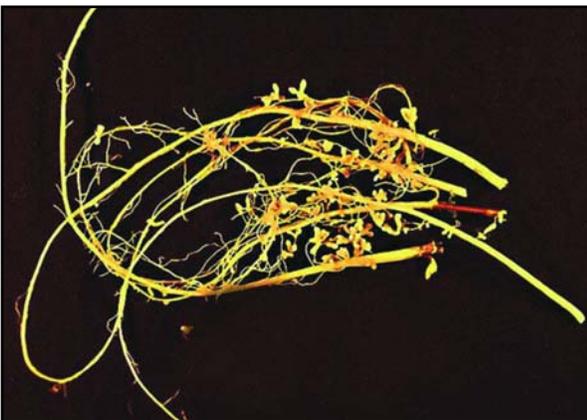
Disminuyen la concentración de etileno dentro de la planta

ben comida por parte de la planta en forma de ácidos dicarboxílicos.

Después se descubrió otro grupo de bacterias benéficas en plantas que también viven asociadas a las raíces, pero no dentro de nódulos. Algunas se adhieren a las raíces produciendo algún tipo de material fibrilar o mucílago, mientras que otras viven libremente dentro de los tejidos vegetales. Este grupo de bacterias, llamadas *promotoras del crecimiento vegetal*, BPCV, benefician a las plantas a través de mecanismos muy diversos. El grupo incluye a los rizobios no simbiotes (Tabla 1).

Lenguaje químico

Imaginémonos a la rizosfera como una fuente de elixir al cual no todas las bacterias tienen acceso. Deberá existir entonces, entre las bacterias que habitan la rizosfera, una estrecha competencia por ocupar ese deseado hábitat. ¿Qué factores pudieran darle a una bacteria ventajas sobre otras? Entre otros, su capacidad de adhesión a las raíces, de formar estructuras de resistencia bajo condiciones adversas (quistes, esporas), de fabricar sustancias que inhiban el crecimiento de otras bacterias u hongos, su capacidad de utilizar a los exudados radicales como fuentes de carbono, su habilidad para interactuar y colaborar con sus compañeras de la rizosfera, etcétera. ¿Participa la planta en la decisión de cuáles bacterias ocuparán sus raíces? Se ha visto que sí: la pareja planta-bacteria se comunica a



Nódulos en las raíces de soja, conteniendo miles de millones de bacterias. <http://es.wikipedia.org/wiki/Imagen:Soybean-root-nodules.jpg>

través de un fascinante y complejo lenguaje que apenas empezamos a descifrar.

¿Qué tipo de moléculas son utilizadas por las plantas y las bacterias para comunicarse? Las leguminosas, por ejemplo, seducen a los rizobios simbiotes exudando compuestos fenólicos del tipo de los flavonoides, que sólo estos rizobios pueden reconocer. Estos flavonoides interactúan con una proteína activadora de transcripción llamada NodD, que induce la expresión de un grupo de genes llamados *nod*, que como su nombre sugiere conllevan a la formación de nódulos (Figura 1). Los genes *nod* permiten la fabricación de unos compuestos llamados *factores de nodulación* (carbohidratos con actividad fitohormonal), los cuales al ser reconocidos por la planta activan la división celular de la corteza, así como la deformación de los pelos que se encuentran en la superficie de la raíz. Al deformarse los pelos radicales se crea una especie de gancho que atrapa a las bacterias, permitiendo que éstas penetren a las raíces. Se cree que con la intervención de otros compuestos producidos tanto por las bacterias como por las plantas se induce la formación del *hilo de infección*, que actúa como un corredor y permite a los rizobios invadir capas más profundas de la raíz, lo cual lleva a la maduración del nódulo (Figura 1).

Es muy interesante notar que en algunos rizobios simbiotes las señales de comunicación entre la bacteria y la planta pueden ser muy específicas: una pareja rizobio-leguminosa puede manejar un lenguaje muy propio que sólo esa pareja conoce. Sin embargo, hay muchos ejemplos de rizobios “promiscuos” que se asocian a dos o más géneros de leguminosas.

Se cree que la especificidad de los rizobios en cuanto a su planta hospedera surgió como una adaptación a determinadas condiciones ambientales, o debido a la competencia por los recursos entre los mismos rizobios. Así nació un complejo lenguaje químico que coordina fina y elegantemente la relación entre el simbiote rizobio y la leguminosa.

Un lenguaje difícil de descifrar

El lenguaje que utilizan las bacterias promotoras del crecimiento vegetal ha sido más difícil de descifrar que el utilizado por los rizobios simbiotes.

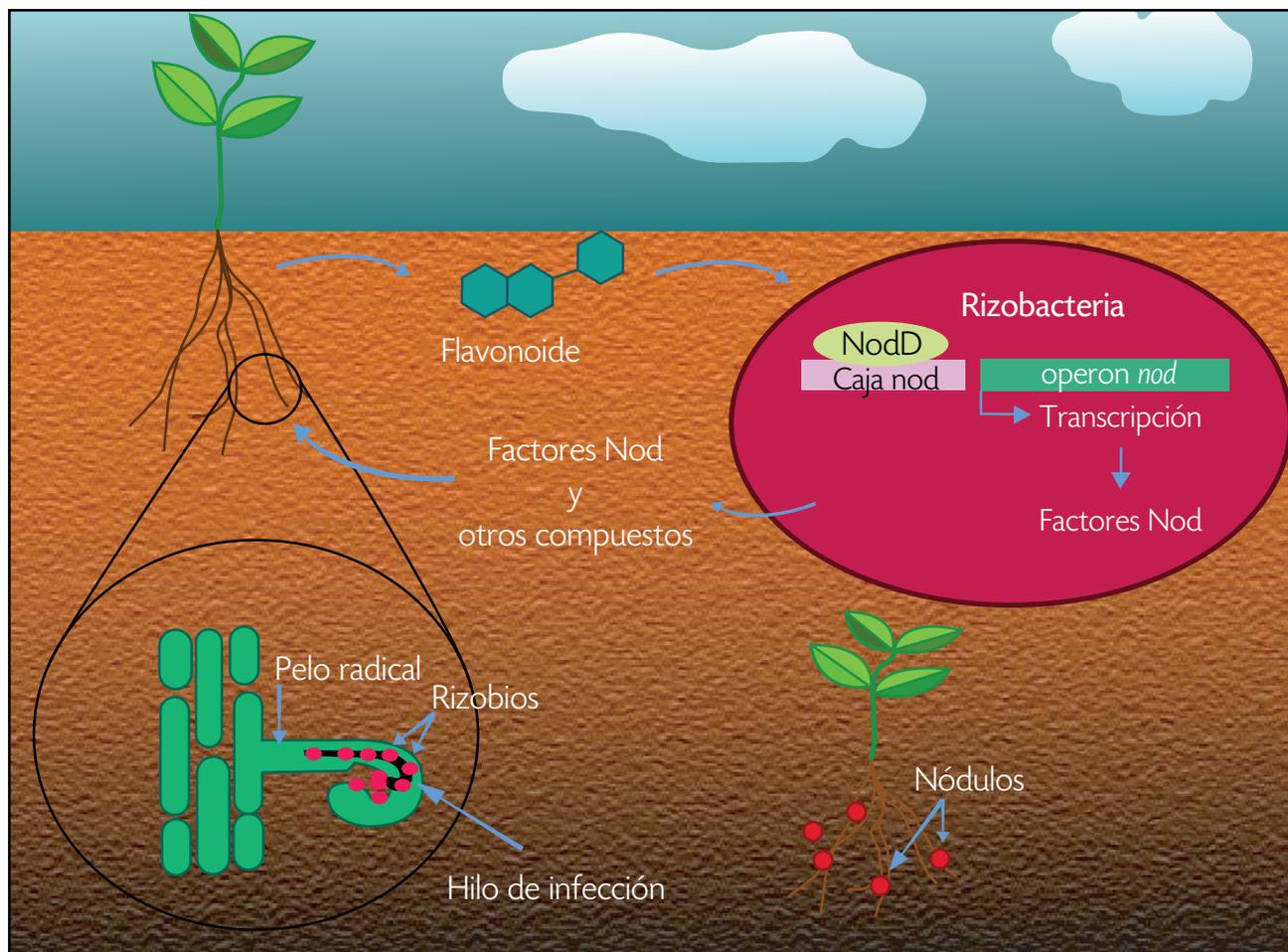


Figura 1. Esquema de comunicación química entre leguminosas y rizobios simbiotes: las plantas seducen a los rizobios exudando flavonoides. Éstos activan en la bacteria la expresión de factores de nodulación, los cuales al ser reconocidos por la planta activan la división celular de la corteza, así como la deformación de los pelos radicales, creando una especie de gancho que atrapa a las bacterias, permitiéndoles penetrar a las raíces. Junto con otros compuestos de origen bacteriano y vegetal, se induce la formación del hilo de infección, que actúa como un corredor y permite a los rizobios invadir capas más profundas de la raíz terminando con la maduración del nódulo.

¿Por qué? En el caso de las leguminosas, la formación de nódulos y de ganchos en los pelos radicales son indicativos de que el rizobio y la planta se están entendiendo, ya que si no se forman estas estructuras significa que no hay comunicación ni transmisión del mensaje. Esto permite al investigador descifrar cuáles moléculas conforman el lenguaje de señalización.

Por ejemplo, si el investigador sospecha que un polisacárido induce la deformación del pelo radical, puede agregar el polisacárido y monitorear por microscopía la formación del gancho. Sin embargo, en bacterias libres no simbióticas, no existen, o no se han detectado, cambios en la planta que indiquen que está habiendo

señalización. Afortunadamente, con los avances de la ingeniería genética se pueden realizar estudios que nos indican cuáles genes se activan al interactuar la planta con la bacteria. Estos estudios empiezan a revelar que entre las plantas y las bacterias promotoras del crecimiento vegetal existe también un lenguaje dinámico y complejo.

Los exudados radicales: un coctel de señales químicas

Las pseudomonas son un grupo importante de bacterias promotoras del crecimiento vegetal que

pueden promover el crecimiento de plantas y protegerlas de patógenos. Por ejemplo, en *Pseudomonas fluorescens*, bacteria que protege a plantas de betabel del hongo patógeno *Pythium ultimum*, algunos genes se expresan en niveles altos cuando la bacteria coloniza la rizosfera. Algunos son altamente similares a otros genes relacionados con procesos de adquisición de nutrientes, como la absorción de aminoácidos o degradación de la xilosa, un azúcar simple presente en exudados.

Otros genes que se indujeron cuando la bacteria colonizó la rizosfera están relacionados con la respuesta al estrés: uno de ellos en la protección contra daño oxidativo (radicales de su peróxido e hidroxilo producidos por otras bacterias de la rizosfera), y otro con resistencia al cobre, el cual puede ser tóxico. Otro gen cuya expresión se elevó está involucrado en la secreción de proteínas y su exportación a las células vegetales.

Se cree que la activación de estos genes mejora el desempeño de la bacteria en la rizosfera. Se desconocen las señales que activan la expresión de estos genes, pero podrían ser moléculas presentes en los exudados.

La prolina, aminoácido muy abundante en exudados del maíz, activa la expresión de los genes *put* en la bacteria promotora del crecimiento vegetal *Pseudomonas putida*. Estos genes son importantes para la bacteria, porque le permiten utilizar la prolina. Es probable que la habilidad para utilizar este aminoácido le confiera ventaja a *P. putida* sobre otras bacterias para colonizar las raíces.

Parece entonces que en las bacterias promotoras del crecimiento vegetal ciertas sustancias presentes en los exudados radicales actúan como moléculas de señalización, que activan la expresión de aquellos genes que les confieren mejor desempeño en la rizosfera. Es interesante comentar que hay *pseudomonas* productoras de sustancias anti-hongos que logran que la planta le dé raciones extra de aminoácidos: la fenazina y el DAPG (diacetilfluoroglucinol), producidos por algunas *pseudomonas*, inducen la exudación de aminoácidos por raíces de alfalfa.

Es claro que las bacterias y plantas, antes de prometerse amor eterno, se cortejan; sólo si la relación es mutuamente benéfica trasciende, forjándose de mecanismos de reconocimiento y colaboración mutua. Algún día conoceremos tan bien el lenguaje bacteria-planta que sabremos cómo convencerlas de asociarse y ayudarse.

En nuestro grupo de investigación trabajamos con mangle, y hemos encontrado que estas plantas exudan una gran variedad de ácidos orgánicos, además de moléculas señal como vanilato, siringato y protocatecuato. Desconocemos si estas moléculas inducen la expresión de genes en bacterias que viven en las raíces de esta planta.

Técnicas útiles

¿Qué técnicas son útiles para descifrar el lenguaje entre bacterias promotoras del crecimiento vegetal y plantas? Se puede utilizar algún tipo de “gen reportero”, cuya expresión se detecte a simple vista o utilizando un aparato. Ejemplos de genes reporteros son el *gfp*, que codifica para la proteína verde fluores-



cente, y hace que la célula brille; el gen *lacZ*, que codifica para la enzima beta-galactosidasa, la cual al degradar el colorante x-gal pinta la célula de azul; y el operón *luxCDABE*, que otorga luminiscencia. Los investigadores reemplazan la región promotora nativa del gen de interés con la región promotora del gen reportero, o sea del gen que se sospecha pudiera activarse por los exudados radicales (Figura 2; la región promotora es la que permite que un gen se active). Una vez que se ha logrado fusionar el gen reportero con la región promotora del gen, se transfiere a la bacteria *Escherichia coli*. Si al cultivar la bacteria y agregar los exudados radicales, ésta presenta fluorescencia (en caso de haber utilizado el gen *gfp*), ello significa que la región promotora de nuestro gen de interés respondió a los exudados, lo cual activó al gen reportero. Existe una correlación entre la fluorescencia y la concentración de la proteína GFP, por lo que se pueden agregar los exudados en diferentes concentraciones y determinar el intervalo de concentración que logra la activación del gen.

Otra elegante manera de dilucidar el lenguaje entre la planta y las bacterias promotoras del crecimiento vegetal es la llamada *promoter trap technology*, tecnología para atrapar regiones promotoras (Figura 3). Ésta nos permite identificar aquellas regiones promotoras de todo el genoma bacteriano que son activadas por los exudados radicales. Para esta técnica se aísla el material genético completo (o genoma) de

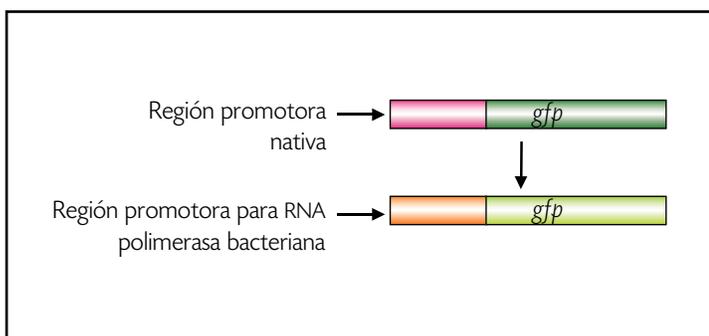
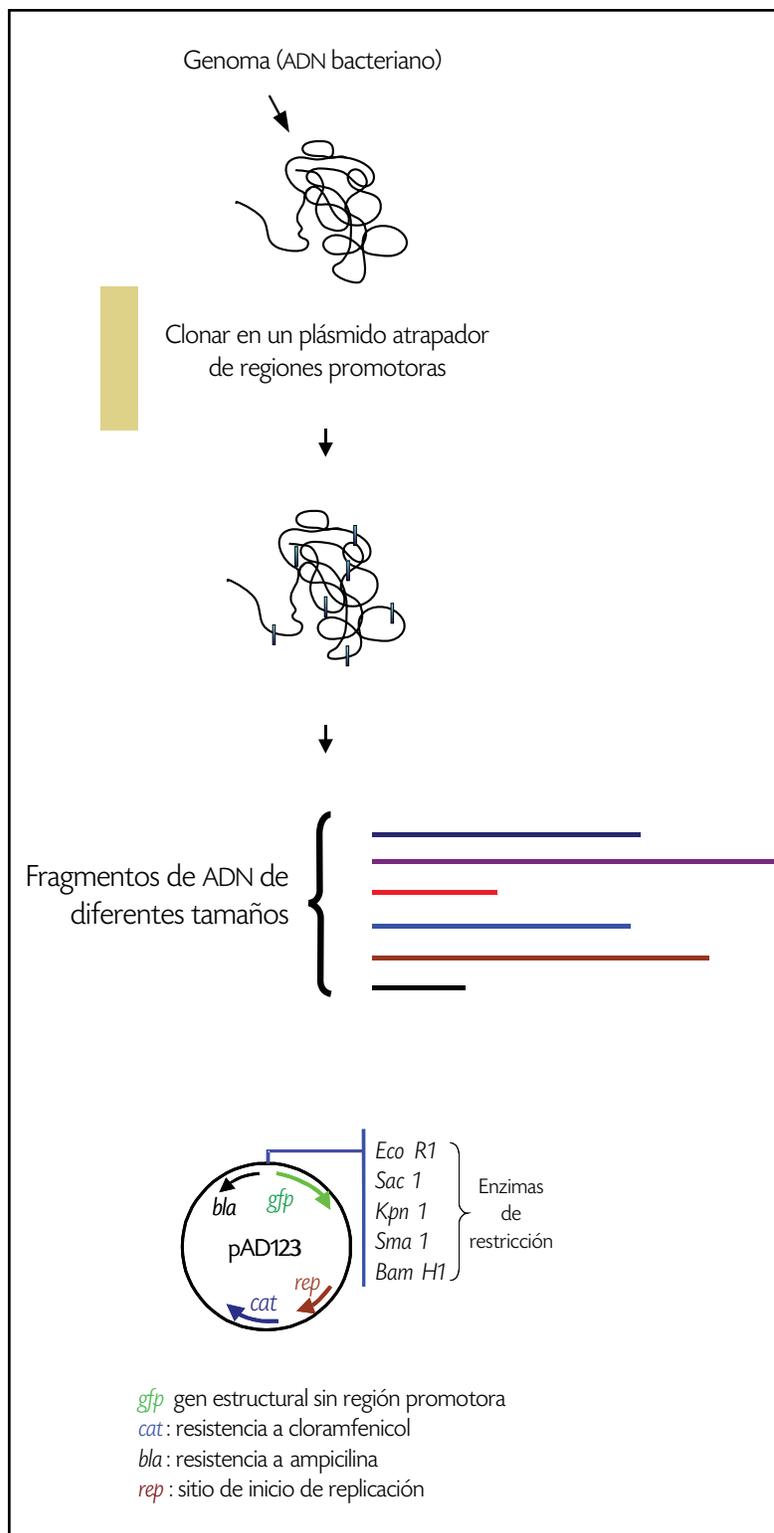
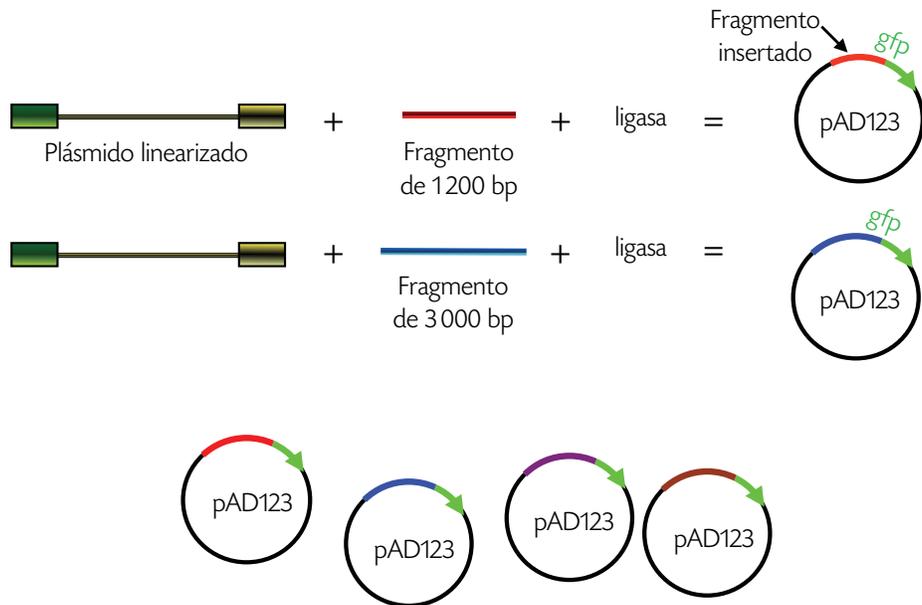


Figura 2. El gen *gfp*, que codifica para la proteína fluorescente verde, es una herramienta que nos sirve para identificar aquellas regiones promotoras que pueden ser activadas por sustancias presentes en exudados radicales. Para utilizarla se reemplaza la región promotora nativa del gen por la región promotora de nuestro interés.



¿Cuáles clones contienen regiones promotoras inducibles por exudado?

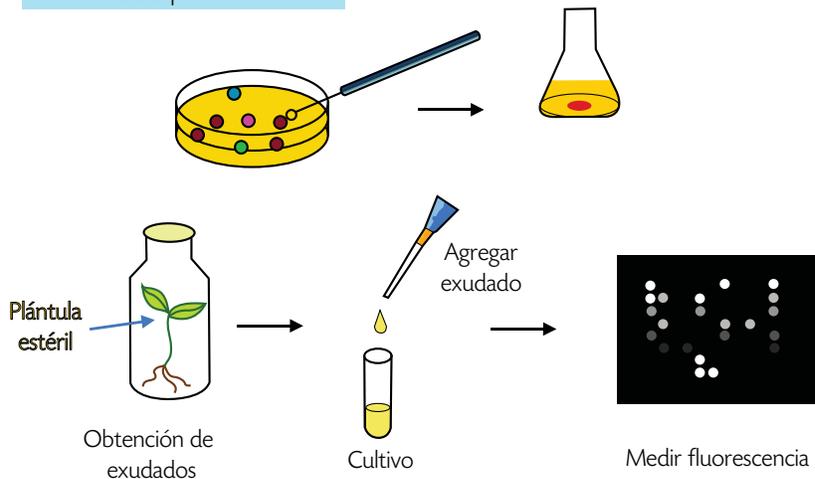


Figura 3. Tecnología para atrapar regiones promotoras: se digiere el genoma bacteriano con enzimas de restricción y se clonan los fragmentos en un plásmido especial, atrapador de regiones promotoras. Este plásmido contiene el gen estructural *gfp*, el cual fue clonado sin su región promotora nativa. Algunos de los fragmentos del genoma bacteriano que se insertarán en este sitio serán regiones promotoras. Si esta región promotora responde a la presencia de exudados radicales, al agregarlos se activará la transcripción del gen *gfp* y la célula se pondrá verde. El término “bp” significa pares de bases.

la cepa de interés, se corta con enzimas especiales que cortan el ácido desoxirribonucleico (ADN) en sitios específicos (enzimas de restricción) y se insertan (clonan) los fragmentos de ADN cortados en un plásmido (pequeño cromosoma circular) especial que “atrapa” regiones promotoras. El plásmido pAD123, por ejemplo, tiene un “sitio de restricción” múltiple que permite cortar el plásmido con distintas enzimas de restricción, dependiendo de la disponibilidad de éstas en el laboratorio. Lo interesante del plásmido pAD123 es que este sitio de restricción está justo antes del gen estructural *gfp*, el cual fue clonado sin su región promotora nativa. Algunos fragmentos del genoma bacteriano que se insertarán en este sitio serán genes estructurales; otros serán regiones que no codifican proteínas, mientras que otros más serán regiones promotoras. Si esta región promotora responde a la presencia de exudados radicales, al agregarlos se iniciará la transcripción del gen *gfp* y ¡la célula brillará en color verde!

Si conocemos la composición química de los exudados radicales de nuestra planta podemos agregar los componentes por separado y descubrir cuál o cuáles de ellos activan la expresión del gen reportero.

Es claro que las bacterias y plantas, antes de prometerse amor eterno, se cortejan; sólo si la relación es mutuamente benéfica, trasciende, forjándose de mecanismos de reconocimiento y colaboración mutua. Algún día conoceremos tan bien el lenguaje bacteria-planta que sabremos cómo convencerlas de asociarse y ayudarse.

Agradecimientos

La autora agradece el financiamiento recibido por Conacyt con el proyecto 41367-Z y dedica este artículo a la memoria del ingeniero Juan Holguín Franco.

Bibliografía

- Bashan, Y., y G. Holguín (1998), “A proposal for two classifications: Biocontrol-PGPB (plant growth promoting bacteria) and PGPB”, *Soil biology and biochemistry*, 30, 1225-1228.
- Broughton, W. J., S Jabbouri y X. Perret (2000), “Keys to symbiotic harmony”, *Journal of bacteriology*, 182, 5641-5652.
- Glick, B. R., C. L. Patten, G. Holguín y D. M. Penrose (1999), *Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria*, Londres, Imperial College Press.
- Lohrke, S. M., J. H. Orf, E. Martínez-Romero, y M. J. Sadowsky (1995), “Host controlled restriction of nodulation by *Bradyrhizobium japonicum* strains in Serogroup 110”, *Applied and environmental microbiology*, 61, 2378-2383.
- Lynch, J. M., y J. M. Whipps (1990), “Substrate flow in the rhizosphere”, *Plant soil*, 129, 1-10.
- Somers, E., J. Vanderleyden y M. Srinivasan (2004), “Rhizosphere bacterial signaling: a love parade beneath our feet”, *Critical reviews in microbiology*, 30, 1-36.
- Sullivan, J. T., H. N. Patrick, W. L. Lowther, D. B. Scott y C. W. Ronson (1995), “Nodulating strains of *Rhizobium loti* arise through chromosomal symbiotic gene transfer in the environment”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92, 8985-8989.

Gina Holguín Zehfuss obtuvo el doctorado en biología molecular microbiana en la Universidad de Waterloo en Ontario, Canadá. Fue investigadora en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, en La Paz, Baja California Sur, donde trabajó desde 1992 hasta su fallecimiento en julio de 2007. Su área de interés fue la ecología microbiana de ambientes terrestres y marinos. Descanse en paz.