



**UNIVERSIDAD MICHOCANA DE SAN NICOLÁS
DE HIDALGO**

Instituto de Investigaciones Químico Biológicas

**“Contribución de *Pseudomonas putida* en la adaptación
de *Arabidopsis thaliana* al estrés alcalino”**

Tesis que presenta:

José López Hernández

Para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Biología Experimental

Director de tesis

D.C. Jesús Salvador López Bucio

Morelia, Michoacán, Julio de 2025.



***“La vida no es de hechos,
es de interpretaciones...”***

Friedrich Nietzsche

...la ciencia también.

DEDICATORIAS

A mis padres por enseñarme a querer y valorar las pequeñas cosas de la vida, gracias por su apoyo, comprensión y paciencia.

A mi abue Berna por todo el apoyo dado en los momentos difíciles donde no podía recurrir a otras personas, gracias por tus palabras y acciones de aliento.

A Alex y Emi, no pude pedir mejores hermanos.

A mi abue Gracia, mi abue Chayo, Toño, Gracia, Geras, Kchus y Luis, por los buenos momentos que he pasado con cada uno de ustedes.

Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por la beca #1276704, sin la cual este trabajo no hubiera podido realizarse.

Al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por permitirme usar las instalaciones necesarias para la realización de este trabajo, así como a toda su comunidad por brindarme retroalimentación en los seminarios de avances.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, que desde hace 10 años he considerado mi segunda casa: gracias por los conocimientos que me ha permitido adquirir y por las personas que pude conocer dentro de sus paredes.

A mi asesor Jesús Salvador López Bucio por abrirme las puertas del laboratorio de “Biotecnología Molecular de Plantas” del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH, para desarrollar el presente trabajo, así como por todas las facilidades otorgadas para la realización del mismo.

A mis sinodales, los doctores Ernesto García Pineda, Lorena Martínez Alcantar, Ramón Pelagio Flores y Homero Reyes de la Cruz, por su amabilidad al revisar esta tesis y por las valiosas observaciones realizadas en cada seminario.

A mis compañeros de los laboratorios de “Biotecnología Molecular de Plantas” y “Biología del Desarrollo Vegetal” del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana.

A los amigos que he tenido a lo largo de mi vida. A veces los caminos se separan, pero llevo un poco de cada uno de ustedes.

ESTE TRABAJO SE REALIZÓ EN LOS LABORATORIOS DE BIOTECNOLOGIA MOLECULAR DE PLANTAS Y BIOLOGÍA DEL DESARROLLO VEGETAL DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO-BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO BAJO LA DIRECCIÓN DEL DR. JESÚS SALVADOR LÓPEZ BUCIO.

Índice

Agradecimientos	4
Índice	6
Índice de figuras.....	8
Resumen.....	9
Abstract.....	11
1. Introducción.....	13
2. Antecedentes	16
2.1. La agricultura y la producción mundial de alimentos.....	16
2.2. Las plantas son la base de las cadenas tróficas	17
2.3. Diversas hormonas participan en el crecimiento de las plantas	20
2.4. El estrés en plantas y mecanismos de resistencia ante el agobio ambiental	22
2.5. La importancia del suelo para el crecimiento de las plantas	24
2.6. El bacterioma vegetal.....	25
2.7. <i>Arabidopsis thaliana</i> en el estudio de las interacciones planta-bacteria	26
2.8. Reconocimiento químico entre plantas y bacterias	28
2.9. Regulación de la arquitectura radicular por rizobacterias	31
2.10. Papel de las rizobacterias en la nutrición de las plantas	33
2.11. Suelos alcalinos y su manejo	36
2.12. Contribución de las rizobacterias en la resistencia vegetal al estrés alcalino	36
3. Hipótesis	38
4. Objetivos	38
4.1. Objetivo general	38
4.2. Objetivos específicos	38
5. Materiales y métodos	39
5.1. Material vegetal y condiciones de crecimiento	39
5.2. Cepas bacterianas	39
5.3. Ensayos de crecimiento in vitro de <i>Arabidopsis thaliana</i>	39
5.4. Ensayos de co-cultivo planta-bacteria.....	40
5.5. Análisis histoquímico de la expresión del gen <i>uidA</i>	41

6. Resultados	41
6.1. Efecto del pH alcalino en el desarrollo de <i>Arabidopsis thaliana</i>	41
6.2. El sistema radicular de <i>Arabidopsis thaliana</i> es sensible al estrés alcalino	43
6.3. El pH alcalino inhibe la expresión de genes relacionados con el ciclo celular y la respuesta hormonal	44
6.4. <i>Pseudomonas putida</i> permite la adaptación de <i>Arabidopsis</i> al estrés alcalino	47
6.5. Los compuestos difusibles de <i>Pseudomonas putida</i> restauran el crecimiento radicular de plántulas de <i>Arabidopsis</i> expuestas a pH alcalino	48
6.6. Los volátiles producidos por <i>Pseudomonas putida</i> restauran el crecimiento de plántulas de <i>Arabidopsis thaliana</i> crecidas en medios alcalinos	50
6.7. Los volátiles de <i>P. putida</i> restauran la expresión inducible por auxinas en la línea transgénica <i>DR5:GUS</i> crecidas en condiciones de alcalinidad	52
6.8. Los volátiles de <i>Solibacillus isronensis</i> no reestablecen el crecimiento de <i>Arabidopsis thaliana</i> expuestas a estrés alcalino	53
7. Discusión y conclusiones	56
8. Referencias	61
9. ADDENDA.....	74

Índice de figuras

Figura 1. Distribución del suelo a escala global con base en la escala de pH.	14
Figura 2. Características de la célula vegetal.....	18
Figura 3. Efectos del incremento en el pH del medio en el crecimiento de <i>Arabidopsis</i>	43
Figura 5. Expresión de genes reporteros relacionados con el ciclo celular y hormonas reguladoras del crecimiento vegetal en follaje en pH neutro y alcalino.	46
Figura 6. Expresión de genes reporteros relacionados con el ciclo celular y hormonas reguladoras del crecimiento vegetal en la raíz bajo pH neutro y alcalino.	47
Figura 7. Respuesta de plántulas de <i>Arabidopsis</i> crecidas en condiciones axénicas en pH neutral y alcalino a la interacción de la raíz con <i>P. putida</i>	48
Figura 9. Efecto de los volátiles de <i>Pseudomonas putida</i> en el crecimiento de la raíz primaria y la formación de raíces laterales en plántulas de <i>Arabidopsis thaliana</i> crecidas en pH alcalino.	52
Figura 10. Efecto de la alcalinidad y los volátiles de <i>Pseudomonas putida</i> en la respuesta auxínica de la raíz primaria de <i>Arabidopsis thaliana</i>	53
Figura 11. Comparación del crecimiento de plantas de <i>Arabidopsis thaliana</i> crecidas en pH neutro y alcalino, expuestas a volátiles de bacterias con características contrastantes.....	56

Resumen

La alcalinidad del suelo es uno de los principales factores que afectan el crecimiento de las plantas, ya que interfiere con el desarrollo de las raíces y afecta su capacidad para adquirir nutrientes y agua. Aunque se han logrado avances significativos en los últimos años en la comprensión de las relaciones de los suelos calcáreos con la disponibilidad de nutrientes como el fósforo, el nitrógeno y el hierro, hasta la fecha no se ha realizado un estudio detallado de cómo las plantas crecen y se adaptan a condiciones de alcalinidad moderada y alta.

En este trabajo, se investigaron los efectos de la alcalinidad sobre el crecimiento y desarrollo de *Arabidopsis thaliana in vitro*. Para ello, analizamos el crecimiento de plantas normales del ecotipo Columbia-0 (Col-0) incrementando el pH del medio de crecimiento desde 7.0 a 9.0. Nuestros resultados muestran que el desarrollo de *A. thaliana* se ve afectado conforme aumenta el pH del medio, ya que la actividad mitótica de los meristemos del follaje y de la raíz se interrumpe, lo que bloquea la organogénesis y con ello la fotosíntesis y el desarrollo general de las plantas.

El análisis se complementó con un estudio de la expresión de genes reporteros de localización en los meristemos (*CYCB1:GUS*, *TOR:GUS*), e inducibles por auxinas (*DR5:GUS*) y citocininas (*ARR5:GUS*) para conocer el estado fisiológico de las plantas. El incremento en el pH disminuyó la expresión de los genes reporteros analizados, sugiriendo que la drástica represión del crecimiento por efecto de la alcalinidad implica una reducción de la actividad meristemática, así como desequilibrios hormonales críticos para la sobrevivencia de las plantas.

Seleccionamos a *Pseudomonas putida* como una bacteria prometedora para ayudar a las plantas a resistir el estrés alcalino, por algunas de sus propiedades como la producción de ciclodipéptidos con actividad auxínica, que promueven el desarrollo de la raíz. La interacción de *Arabidopsis* en tres diferentes sistemas de co-cultivo con la bacteria promovió la resistencia de las plantas a la alcalinidad. El efecto benéfico fue particularmente notable en el sistema de interacción de placas divididas en las que la planta reacciona mediante la liberación de compuestos orgánicos volátiles emitidos por la bacteria, aquí se reactivaron los meristemos, y la raíz y el

follaje reactivaron su crecimiento de manera comparable a las plantas creciendo en pH de 7.0, en los que no se manifiesta el agobio por alcalinidad.

El análisis de la expresión del gen reportero inducible por auxinas *DR5:GUS* en las puntas de las raíces mostró claramente un aumento en la respuesta de auxinas en las plantas inoculadas con *P. putida*, lo que salvaguarda el meristemo bajo pH alcalino y explica la recuperación del crecimiento de las raíces. Este trabajo sienta las bases para un manejo más apropiado del agobio ambiental y recalca la importancia que tienen las bacterias para la sobrevivencia las plantas en suelos alcalinos.

Palabras clave: Rizobacterias · Alcalinidad · Promoción del crecimiento vegetal · Estrés abiótico en plantas.

Abstract

Soil alkalinity is one of the main factors affecting plant growth, as it interferes with root development and affects their ability to acquire nutrients and water. Although significant advances have been made in recent years in understanding the relationships of calcareous soils with the availability of nutrients such as phosphorus, nitrogen, and iron, to date, a detailed study of how plants grow and adapt to moderate and high alkalinity conditions has not been conducted.

In this work, the effects of alkalinity on the growth and development of *Arabidopsis thaliana* in vitro were investigated. To do this, we analyzed the growth of normal plants of the Columbia-0 (Col-0) ecotype by increasing the pH of the growth medium from 7.0 to 9.0. Our results show that *A. thaliana* is unable to grow properly as the pH of the substrate increases, as the mitotic activity of foliage and root meristems is disrupted, which blocks organogenesis. Consequently, photosynthesis and overall plant development are compromised.

The analysis was complemented by a study of the expression of localization reporter genes in meristems (*CYCB1:GUS*, *TOR:GUS*) and inducible by auxins (*DR5:GUS*) and cytokinins (*ARR5:GUS*) to determine the physiological state of the plants. The increase in pH decreased the expression of the four reporter genes analyzed, suggesting that the drastic repression of growth by alkalinity implied a reduction in meristematic activity, as well as hormonal imbalances critical for plant survival.

The microbiome helps plants survive various types of stress. The interactions of bacteria with plants expand the functions performed by each organism, creating great expectations for agricultural improvement through the engineering of the rhizosphere. This is achieved through the inoculation of selected bacterial strains, which, due to their properties such as nutrition, hormonal balance, and growth modulation, can enhance plant growth.

We selected *Pseudomonas putida* as a promising bacterium to help plants resist alkaline stress, due to its properties, including the production of cyclodipeptides with auxin activity, which promote root development. The interaction of *Arabidopsis* in

three different co-culture systems with the bacterium promoted plant resistance to alkalinity. The beneficial effect was particularly noticeable in the split-plate interaction system in which the plant reacts by releasing volatile organic compounds emitted by the bacterium, here the meristems were reactivated, and the root and foliage resumed their growth in a manner comparable to plants growing at pH 7.0, in which the burden of alkalinity is not manifested.

Analysis of the expression of the auxin-inducible reporter gene *DR5:GUS* at root tips clearly demonstrated an increase in auxin response in plants inoculated with *P. putida*, which protects the meristem under alkaline pH conditions and explains the recovery of root growth. This work lays the foundations for more effective management of environmental stress and highlights the importance of bacteria in the survival of plants in alkaline soils.

Keywords: Rhizobacteria · Alkalinity · Plant growth promotion· plant abiotic stress.

1. Introducción

La demanda mundial de alimentos se encuentra en constante aumento debido al incremento de la población que ha alcanzado los 8000 millones de habitantes. La agricultura es la principal actividad que suministra frutos, semillas, tubérculos y fibra, y actualmente enfrenta retos monumentales por el deterioro de los suelos, el calentamiento global, el desfase de las estaciones y condiciones ambientales desfavorables.

El pH del suelo se refiere al nivel de acidez o alcalinidad, que se modifica cuando el agua disuelve componentes del sustrato como materia orgánica, cenizas y minerales. También puede ser modulado dinámicamente por las actividades de las plantas, como la exudación de protones, ácidos orgánicos, azúcares y aminoácidos ([Hinsinger et al., 2003](#); [Korenblum et al., 2020](#); [Esparza-Reynoso et al., 2021](#)). La escala de pH va de 0 a 14, donde los valores óptimos para el crecimiento y productividad de la mayoría de las plantas ocurre entre pH 5.5 a pH 7.5, es decir, ligeramente ácido, ya que la mayoría de los macro y micronutrientes pueden estar disponibles para la absorción por las raíces ([Ramírez-Rodríguez et al., 2007](#); [Rengel, 2015](#)). En los suelos alcalinos se encuentran comunidades vegetales con especies de diversas afinidades ecológicas, que son endémicas o incluyen adaptaciones que les permiten tolerar la alcalinidad ([Lee, 1998](#); [Gentili et al., 2018](#)).

Los suelos alcalinos suelen ser ricos en calcio (Ca) y pobres en fosfato y micronutrientes, incluidos hierro (Fe), zinc (Zn) y manganeso (Mn). Dichas características imponen fuertes presiones de selección y aquellas especies que no logran crecer en ellos se conocen como calcífugas ([Lee, 1998](#)), ya que un desequilibrio nutrimental compromete el crecimiento y la sobrevivencia ([Hayes et al., 2019](#); [Pereira et al., 2021](#); [Kotula et al., 2021](#)). Aspectos muy relevantes, aún no resueltos, es cómo la alcalinidad impacta en la producción de biomasa, el crecimiento, el desarrollo de las raíces y los niveles endógenos de las fitohormonas. Estos parámetros pueden analizarse gracias al estudio de plantas modelo y ayudarían al manejo de los suelos alcalinos que ocupan una gran superficie del planeta (**Figura 1**)

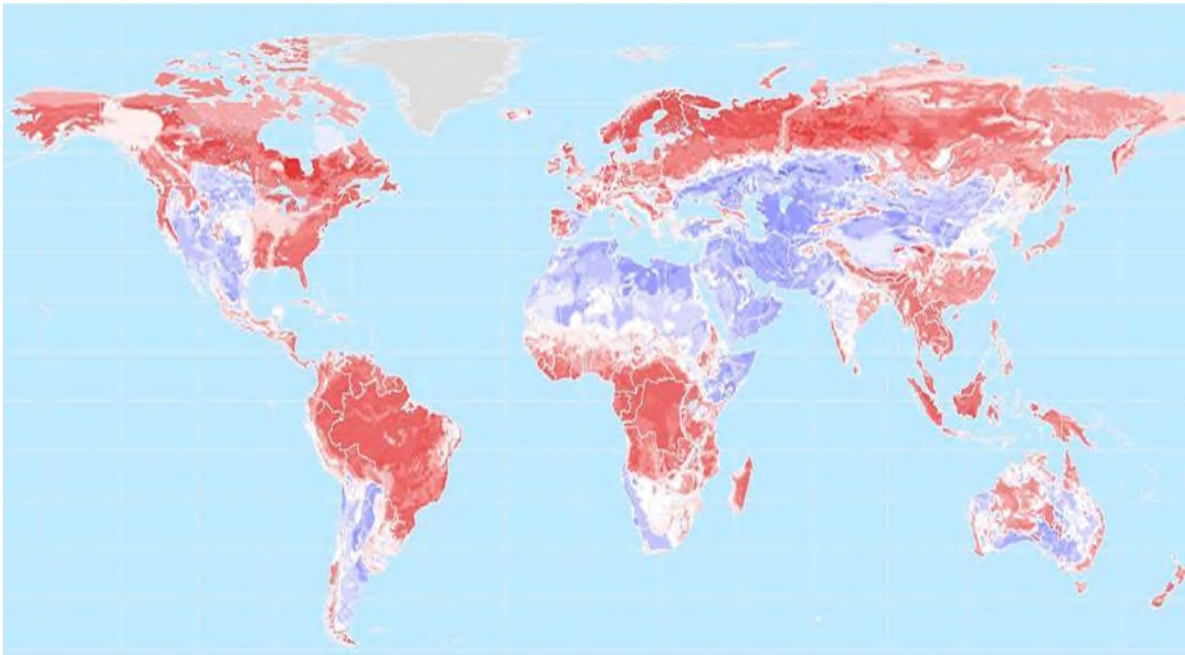


Figura 1. Distribución del suelo a escala global con base en la escala de pH. Los suelos ácidos se muestran en color rojo, en tanto que los alcalinos se presentan en color azul. Imagen tomada con permiso para fines educativos citando la fuente original: IGBP-DIS (1998) SoilData(V.0) A program for creating global soil-property databases, IGBP Global Soils Data Task, France.

Arabidopsis thaliana se ha utilizado durante décadas como organismo de referencia para comprender los mecanismos moleculares, celulares y del desarrollo de las plantas (Krämer 2015). El uso de *Arabidopsis* abrió nuevas áreas de investigación en los campos de la nutrición, la adaptación ambiental y la exploración de microbiomas (López-Bucio *et al.*, 2002; Fitzpatrick *et al.*, 2020; Ruiz-Aguilar *et al.*, 2020). Esta planta puede ayudar en la comprensión de los procesos biológicos relacionados con las propiedades del suelo, los ajustes del crecimiento de las raíces y en última instancia, la acumulación de biomasa, conocimiento que es aplicable a los cultivos y especies hortícolas a través de la “biología traslacional” (Yaschenko *et al.*, 2024).

La raíz es el primer órgano vegetal que emerge después de la germinación y explora el sustrato para esparcirse y absorber nutrientes y agua. El pH ácido puede provocar serios daños en las raíces, ya que en suelos con pH menor a 5 se solubilizan metales tóxicos como el aluminio (Al^{3+}) que reprimen la división y

elongación celular, y puede causar la muerte de las células ([Koyama et al. 2001](#); [Shavrukov y Hirai 2016](#); [Pelagio-Flores et al. 2017](#)). En contraste, a medida que el pH se incrementa a valores superiores a 8.0, las concentraciones de hierro y fosfato (Fe) disminuyen, lo que puede ocasionar, clorosis, necrosis y arresto del crecimiento.

En *Arabidopsis*, la raíz primaria forma un sistema pivotante con un eje dominante a partir del cual se desarrollan extensiones a través de la iniciación reiterativa de primordios de raíces laterales ([Smith y De Smet, 2012](#)). Los procesos de elongación y ramificación radicular están bajo el control de dos fitohormonas principales, las auxinas y las citocininas, que actúan coordinadamente para impulsar el ciclo celular en los meristemos y para activar el periciclo, un tejido interno cuyas células proliferan para dar lugar a nuevos primordios de raíces laterales ([Aloni et al., 2006](#); [Liu et al., 2017](#); [Ogura et al., 2019](#)).

El microbioma asiste a los vegetales en la sobrevivencia a diversos tipos de estrés. Las interacciones de las bacterias con las plantas amplían las funciones que desempeña cada organismo, con lo que se ha creado una gran expectativa para el mejoramiento agrícola a través de la ingeniería de la rizosfera, mediante la inoculación de cepas bacterianas selectas, que, por sus propiedades reguladoras sobre procesos como la nutrición o la homeostasis hormonal pueden incrementar el crecimiento vegetal ([Sánchez-Cañizares et al., 2017](#)).

Un aspecto relevante en investigación agronómica es incrementar la resiliencia de los cultivos ante los efectos cambiantes y adversos del ambiente, como el pH. Entender la influencia que tiene la alcalinidad en la morfogénesis de la raíz proporcionaría conocimiento útil para el manejo de la agricultura en suelos alcalinos, que ocupan alrededor del 25% de la superficie cultivable mundial. En este sentido, la contribución que tienen las bacterias como promotores del crecimiento vegetal abre una ventana de oportunidad para ayudar a las plantas a resistir el estrés alcalino.

2. Antecedentes

2.1. La agricultura y la producción mundial de alimentos

La agricultura representa uno de los más grandes avances de la civilización. La domesticación de especies silvestres, la selección de semilla y su cultivo permitió abarcar grandes extensiones de terreno para producir los satisfactores que obtenemos de las plantas y que son la base de la alimentación mundial, incluyendo tubérculos, granos, frutos y forrajes. Antes de la agricultura, la dieta consistía principalmente de insectos, la cacería de animales y la recolección de frutos silvestres. La agricultura no solo permitió satisfacer la demanda de alimentos de grandes núcleos urbanos, también el surgimiento de las ciudades y excedentes de producción para el sostén del estado y sus gobernantes ([Singh y van der Knaap, 2022](#); [Fuller et al., 2023](#)).

Con el paso del tiempo, diferentes civilizaciones realizaron mejoramiento genético empírico en especies adaptadas localmente, lo que derivó en los principales centros de origen que actualmente se reconocen y que incluyen el delta del Nilo en Egipto, la media luna fértil en Asia, Mesoamérica, China y Perú ([Gutaker y Purugganan, 2024](#)). Entre las características deseables que se seleccionaron destacan un crecimiento más rápido, mayor número y tamaño de frutos, así como resistencia al frío y la sequía, que con el paso del tiempo y miles de años de labor continua condujo a las cerca de 20 especies que actualmente se siembran en monocultivo y de las cuáles depende la alimentación mundial ([Komarnytsky et al., 2022](#)). Para mencionar algunos ejemplos, destaca la amplísima variedad de maíces que se desarrolló en Mesoamérica, papas en Sudamérica, arroces en China, y trigos en Egipto, desde donde se extendieron globalmente. Con la producción sostenida y predecible durante todo el año y el almacenamiento de las cosechas, florece también la ganadería y la domesticación de animales de compañía ([Purugganan, 2022](#)).

A pesar de los notables avances que representaron los centros de origen de la agricultura, a principios del siglo XX la esperanza de vida alcanzaba apenas los 40 años de edad, las personas morían jóvenes manteniendo cierto equilibrio en el

crecimiento de la población. Con los avances en la medicina, la microbiología, la química y especialmente con el aseo, la higiene y los antibióticos, se logran tratar heridas que antes se infectaban y podían resultar mortales, disminuye la incidencia de enfermedades, y en general se mantiene una mejor salud. Así, la esperanza de vida aumentó al doble en solo 70 años ([Laxminarayan et al., 2016](#); [Aburto et al., 2020](#)).

Nuevamente es gracias a la agricultura que se permite el número creciente de individuos en el planeta, gracias a la “Revolución Verde”, concepto que se acuñó para denotar los avances en labranza tecnificada, el uso de monocultivos de distintas especies de vegetales, el desarrollo de fertilizantes químicos, plaguicidas, y técnicas de irrigación para sostener una producción intensiva, que tuvo su máximo impacto a partir de 1960 ([Den Herder et al., 2010](#); [Wang et al., 2021](#); [Dash y Rai, 2022](#)). El éxito de la “Revolución Verde” ha sido innegable, sin embargo, en este año 2025 alcanzamos los 8,200 millones de seres humanos y este número continúa en aumento, el crecimiento de las ciudades nos deja cada vez menos superficie cultivable y la que queda presenta cierto grado de degradación, lo que nos plantea la incesante tarea de buscar alternativas amigables con el medio ambiente que nos permitan optimizar la producción vegetal utilizando una menor superficie.

2.2. Las plantas son la base de las cadenas tróficas

Las plantas son los productores primarios de los ecosistemas y sostienen la producción mundial de alimentos. A pesar de su importancia, nuestro entendimiento sobre la biología vegetal es ínfimo. Esto se explica porque las plantas cumplen su ciclo vital ancladas al suelo, no caminan ni se desplazan, y deben resistir la adversidad mediante estrategias que apenas empezamos a comprender.

Hace unas cuantas décadas, el reino vegetal era considerado más próximo al mundo mineral que al reino animal, por su naturaleza sésil. Afortunadamente, esta mala percepción ha empezado a cambiar, una vez que se ha demostrado que las plantas poseen los mismos, y posiblemente, más sentidos que los animales,

cuentan con movimientos gráciles y dinámicos, algunos imperceptibles al ojo humano y poseen un microbioma altamente sofisticado (Nakamura *et al.*, 2019; Trivedi *et al.*, 2020; Mano *et al.*, 2021; Li y Song, 2024). Esta concepción es muy importante en nuestra búsqueda de una agricultura redituable y amigable con el ambiente.

Las plantas son una rama del árbol de la vida eucariota, que tiene su origen en la diversificación de especies bacterianas que dieron lugar a los organelos como la mitocondria y los cloroplastos mediante eventos de endosimbiosis (Zimorski *et al.*, 2014). Su material genético (ácido desoxiribonucleíco, ADN), su metabolismo, sus rutas de transducción de señales, y los procesos básicos de decodificación de la información genética que subyacen al fenotipo son comparables a la otra gran rama del árbol de la evolución, los animales. Apenas unas cuantas características las hacen diferentes de otros eucariotas multicelulares, 1) la presencia de una pared celular que confiere aislamiento, protección y rigidez al protoplasto, crucial para la resistencia al agobio ambiental, 2) una vacuola que ocupa la mayor parte del citoplasma, esencial para acumular reservas de agua y administrarla apropiadamente en tiempos de sequía, y 3) la presencia de cloroplastos que les otorgan su color verde y posibilitan el proceso de la fotosíntesis (**Figura 2**).

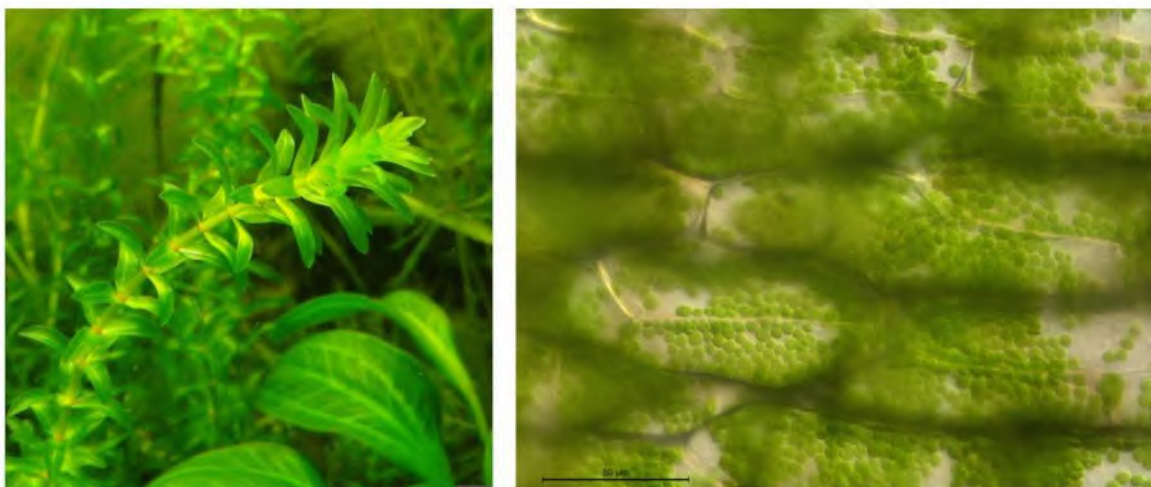


Figura 2. Características de la célula vegetal. Izquierda, rama de *Elodea* sp., una planta acuática, derecha, observación de una hoja bajo el microscopio con la técnica de Nomarski, a una resolución de 50 micras, en donde se aprecia la pared celular y el gran número de cloroplastos que hacen posible el proceso de la fotosíntesis. Imágenes del autor.

Las plantas manifiestan un crecimiento indeterminado gracias a zonas de proliferación celular llamadas meristemos, que se encuentran en las puntas de las raíces y de los tallos, en los que ocurre la división celular ([Eljebbawi et al., 2024](#)). Posterior a la mitosis, las células crecen y se diferencian, posibilitando la formación de órganos y tejidos con actividades específicas, como el parénquima en empalizada de las hojas, responsable de la fotosíntesis, o las raíces laterales que extienden la superficie de absorción para la captación de agua y nutrientes ([Shin et al., 2020](#); [Tourdou et al., 2023](#)). Lo anterior implica una organogénesis continua y un potencial de regeneración sorprendente durante todo el ciclo de vida que puede durar siglos o incluso milenios. Esto ha sido aprovechado ampliamente en la agricultura, ya que la mayoría de las especies frutales son árboles que pueden florecer y producir cosecha una o dos veces por año, algunos durante incontables generaciones ([Tourdou et al., 2023](#)).

Aunque la mayoría de los animales ingieren los nutrientes con su boca, en el caso de las plantas la nutrición es diferente, ya que los toman con su sistema radicular a partir de las partículas del suelo, mediante transportadores específicos ([Robe y Barberon, 2023](#)). Los nutrientes minerales que son esenciales para el crecimiento vegetal se dividen en 2 grandes grupos:

Macronutrientes (ej. C, H, O, N, P, S, K, Ca). Las plantas los necesitan en grandes cantidades, típicamente se acumulan en citoplasma en concentraciones milimolares bajas (entre 1 y 10 mM), y tienen funciones estructurales al ser parte de moléculas biológicas como el ADN, proteínas, lípidos, polisacáridos o moléculas energéticas como el ATP.

Micronutrientes (ej. Fe, Cu, Zn, Na, Mg, Mn, Cl). Se requieren en cantidades pequeñas, por lo que son también conocidos como elementos traza. Se acumulan en el citoplasma en concentraciones micromolares bajas o nanomolares, y se utilizan como cofactores de enzimas o de otras proteínas con funciones celulares relevantes ([Kirkby 2012](#)).

Los nutrientes minerales entran a los pelos radiculares en disolución, es decir, se requiere agua, así la sinergia agua-nutrientes es por definición el recurso más

importante para la agricultura, no solo por su papel en el crecimiento, sino por que posibilita el proceso de la fotosíntesis.

Los cloroplastos tuvieron su origen a partir de cianobacterias fotosintéticas y son estructural y funcionalmente similares a estos procariontes ([Moreira et al., 2000](#)), poseen una doble membrana, la externa e interna, esta última se encuentra plegada y acomoda a los complejos proteínicos responsables de la cosecha de luz y de la generación del gradiente electroquímico para la síntesis de ATP a partir de la ruptura de la molécula de agua. Esta fuente de energía se utiliza posteriormente en las reacciones de oscuridad para la reducción del dióxido de carbono en compuestos energéticos que serán la materia prima para producir azúcar. La glucosa, fructosa y sacarosa se acumulan en hojas, tubérculos, tallos, frutos y semillas, que los organismos consumidores, incluyendo los humanos, aprovechamos para nuestra alimentación.

2.3. Diversas hormonas participan en el crecimiento de las plantas

Los organismos cumplen sus funciones vitales mediante la integración de estímulos en respuestas celulares específicas, y en ellas participan diversas moléculas de señalización conocidas como hormonas. El término deriva del griego que significa “poner en movimiento” o “estimular”, así, en su concepto más amplio, una hormona es un bioestimulante. Las bacterias producen aminolípidos, ciclodipeptidos, y polipéptidos que funcionan en la comunicación célula a célula, y pueden ser reconocidas por los animales y las plantas con los que establecen relaciones de patogenicidad o simbiosis ([Ortiz-Castro y López-Bucio, 2019](#)).

En los animales, las hormonas se producen en un órgano y viajan a través del torrente sanguíneo hasta un tejido blanco en donde ejercen su efecto, es notable mencionar la función de los neurotransmisores como la serotonina, la melatonina y aminoácidos como el glutamato en la sinapsis neuronal para modular el sueño, el hambre y la ansiedad ([Binks et al., 2020](#)). Las plantas no son la excepción en cuanto al funcionamiento hormonal, y se han descubierto una amplia gama de moléculas

de origen volátil o difusible, muchas de ellas funcionan en la atracción de polinizadores, otras fortalecen los sistemas de defensa y algunas más actúan como mitógenos, cuya concentración determina la identidad de células madre, y/o activa la división, elongación y diferenciación celular ([Pieterse et al., 2012](#); [Kieber y Schaller, 2018](#); [Mazzoni-Putman et al., 2021](#)).

Las auxinas y citocininas desempeñan funciones muy importantes para el desarrollo de las plantas. Si bien se han descrito metabolitos correspondientes a cada grupo, sobresalientes por su actividad biológica, o porque han sido estudiados ampliamente, por ejemplo, el ácido indol-3-acético (AIA), y la zeatina, bien conocida por trabajos realizados en maíz, éstas no son exclusivas de las plantas y se pueden producir por organismos de diferentes reinos, como las bacterias y los hongos. Recientemente, se asignó un papel importante al AIA en la respuesta celular a la quimioterapia en pacientes bajo tratamiento contra el cáncer ([Tinteln et al., 2023](#)), con lo que podemos concluir que las auxinas desempeñan una función universal.

Las auxinas y las citocininas se identificaron en las plantas a principios del siglo XX, con el advenimiento de la biología molecular, se han identificado proteínas responsables de transducir sus respuestas celulares, incluidos algunos receptores y varios factores de transcripción, en plantas modelo y en cultivos ([Enders y Strader, 2015](#); [Carrillo-Carrasco et al., 2023](#)). El AIA fue descubierta por el botánico holandés Fritz W. Went en sus estudios sobre la respuesta a la luz en puntas de coleótilos de avena y luego aislada de orina humana, hongos y bacterias ([Enders y Strader, 2015](#); [Carrillo-Carrasco et al., 2023](#)). El descubrimiento de la kinetina, una de las principales citocininas, a partir del ADN de los espermatozoides de arenque esterilizado en autoclave data de 1955 ([Miller et al., 1955](#)). Posteriormente, [Letham \(1963\)](#) aisló la zeatina de granos de maíz inmaduros (leche de elote tierno), y se han caracterizado genes que codifican las enzimas implicadas en su biosíntesis y metabolismo en bacterias y hongos ([Frébortová y Frébort, 2021](#); [Anand et al., 2022](#)).

Aunque el balance entre las concentraciones de auxinas y citocininas puede promover la división celular, el paradigma actual señala a las segundas como reguladores críticos del desarrollo de los brotes ([Howell et al., 2003](#); [Schaller et al.,](#)

2015), mientras que las primeras potencian el desarrollo de la raíz (Roychoudhry y Kepinski, 2022). Estas sustancias controlan el ciclo celular en las células meristemáticas, asegurando la división celular para mantener el crecimiento indeterminado de brotes y raíces (Roychoudhry y Kepinski, 2022). Por otra parte, los factores ambientales y la presencia de microorganismos influyen directamente en los niveles hormonales internos que instruyen el crecimiento de los vegetales.

2.4. El estrés en plantas y mecanismos de resistencia ante el agobio ambiental

La naturaleza sésil de las plantas las hace particularmente sensibles ante los cambios en las condiciones ambientales y en las relaciones que se establecen con otros organismos. El agobio se presenta en los vegetales cuando éstas enfrentan condiciones adversas de tipo biótico y abiótico, que se manifiesta en una merma en el crecimiento y la producción (Du *et al.*, 2024).

Los ataques por herbívoros, insectos, bacterias, y hongos, aunado a las enfermedades virales afectan la calidad y cantidad de la cosecha. Los variados y complejos sistemas de defensa permiten resistir con eficiencia los ataques, pero suelen ser costosos energéticamente. Las células vegetales reaccionan ante la presencia de componentes celulares como la quitina, la flagelina, lipopolisacáridos, proteínas, metabolitos y hormonas de origen microbiano mediante receptores membranales y rutas de transducción de señales de respuesta rápida (Nobori y Tsuda, 2019; Jones *et al.*, 2024). Al igual que los animales, las plantas cuentan con microbiomas robustos consistentes de especies simbiotes o comensales que asisten y confieren protección a patógenos (Chakraborty, 2023). Con la revolución verde, se estableció el uso indiscriminado de herbicidas, insecticidas, fungicidas y otros pesticidas como estrategia para la protección de los cultivos de patógenos y plagas, con un alto impacto negativo en el ambiente, ya que dichos productos matan indiscriminadamente especies microbianas benéficas, polinizadores y disminuyen la biodiversidad en su contexto más amplio (Tudi *et al.*, 2021), por lo que es urgente su remplazo.

En la agricultura, el estrés abiótico es la causa principal del desbalance económico, ya que se requiere una gran inversión de insumos, maquinaria, y labor para alcanzar cosechas redituables. Algunos ejemplos de estrés son el frío, el calor, la sequía, la radiación ultravioleta, la escasez de nutrientes, y el pH ácido o alcalino del suelo (Chang *et al.*, 2023). Las plantas tienen diferentes estrategias para adaptarse al agobio, algunas verdaderamente excepcionales. El crecimiento se potencia en el periodo de lluvias y se detiene durante la estación seca. Cuando hay agua disponible la planta invierte energía en crecer y desarrollarse mientras que cuando experimenta sequía entra en un periodo de latencia o dormancia quedando la fotosíntesis y el metabolismo al mínimo posible, dichas respuestas están controladas por el ácido abscísico (Waadt *et al.*, 2022). La temporada de sequía es la responsable de la mayor mortandad de árboles silvestres, tremendo problema ecológico que nos está perjudicando en todo el mundo (Li *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2023). Las especies agrícolas domesticadas no existían como las conocemos ahora, fuimos modificándolas de sus predecesoras y requieren de nuestro cuidado para su supervivencia. Es necesario disminuir en la mayor medida posible el estrés ambiental mediante un manejo apropiado del ciclo de vida, usualmente aparejado con el ciclo hidrológico.

Una de las principales adaptaciones de las plantas para enfrentar el estrés es la plasticidad fenotípica, que consiste en el crecimiento dinámico de raíces y ramas en función de la disponibilidad de recursos como la luz, el agua y los nutrientes, cuyas respuestas se conocen genéricamente como tropismos (Nicotra *et al.*, 2010; Gilroy, 2008). Aunado a lo anterior, en el reino vegetal existen dos estrategias de crecimiento: determinado e indeterminado. Las plantas con crecimiento determinado cumplen el ciclo de vida en unos pocos meses y es típico de especies hortícolas y cereales como el maíz y el trigo. En cambio, el crecimiento indeterminado posibilita el aumento de biomasa de forma constante y recurrente por la actividad de los meristemas y yemas axilares, ejemplos de plantas con esta estrategia son los árboles frutales y especies silvícolas, se han descrito árboles con una edad de hasta dos mil años (Liu *et al.*, 2022). Las especies de frutales con ciclo de vida indeterminado posibilitan la obtención de una o dos cosechas anuales, con

un manejo apropiado de nutrición, hidratación, control de plagas y patógenos, un ejemplo ilustrativo para el estado de Michoacán, es el cultivo del aguacate (*Persea americana*) que sostiene la economía de miles de familias en esta región de México.

Se han descrito diversas adaptaciones para tolerar el agobio, algunas estructurales como la presencia de tricomas en las hojas y el reforzamiento de paredes celulares, y otras fisiológicas, como la apertura y cierre de estomas (Du *et al.*, 2022). En la raíz, la deficiencia de nutrientes activa la expresión de transportadores de manera específica y se induce la secreción de ácidos orgánicos que facilitan la solubilización y el transporte de elementos como el fosfato y el hierro (Robe y Barberon, 2023; Seregin y Kozhevnikova, 2024). Estas estrategias suelen ser también útiles para disminuir el impacto negativo cuando aumenta la concentración de metales, ya sea por causas naturales o antropocéntricas.

2.5. La importancia del suelo para el crecimiento de las plantas

El suelo tal y como lo conocemos en nuestro tiempo tardó millones de años para formarse a partir de la degradación de la roca madre y la acumulación de materia orgánica proveniente de las actividades de los organismos. La profundidad del suelo, cantidad y tipo de nutrientes que contiene está directamente relacionada con eventos geológicos, cambios en el clima, cataclismos, erosión hídrica y eólica, y las diferentes comunidades que lo han habitado a lo largo del tiempo (Ponomarenko, 2015).

El suelo y la vegetación se pueden considerar como la piel del planeta, ya que es gracias a esta cubierta que se logra mantener cierta protección y equilibrar el clima mundial. Esta capa externa de la corteza terrestre les sirve a las plantas para anclarse y crecer, estableciéndose una relación íntima con diferentes grupos de organismos que viven en torno a la rizósfera, sitio influenciado por la secreción de azúcares, ácidos orgánicos y mucílago (Pantigoso *et al.*, 2022). En esta zona se alberga a millones de especies de bacterias, hongos y protozoarios que interactúan con las plantas, con las que han co-evolucionado para sobrevivir a los ambientes

extremos en donde se encuentran, resistiendo los cambios bruscos en la temperatura, la escasez de recursos como nutrientes y agua, o condiciones establecidas por la naturaleza fisicoquímica del suelo como el pH ([López-Hernández et al., 2023](#)). En la siguiente sección, me enfocaré en describir algunos de los componentes conocidos del bacterioma vegetal, con énfasis particular en las especies que se han caracterizado en interacción con *Arabidopsis*, nuestro modelo de estudio.

2.6. El bacterioma vegetal

El bacterioma comprende miles de especies que se asocian con las plantas, colonizando la rizósfera o viviendo como endófitos dentro de los tejidos. Las bacterias son organismos unicelulares que habitan nuestro planeta desde hace al menos 4000 millones de años y han sido capaces de adaptarse a todos los ambientes conocidos, desde las profundidades de los océanos hasta los grandes desiertos ([Vos et al., 2023](#)). A finales del siglo XIX y principios del XX, los eminentes microbiólogos Louis Pasteur y Robert Koch destacaron el papel de las bacterias en la causa de enfermedades. Así, durante mucho tiempo, estos microorganismos se consideraron agentes peligrosos. Más de 100 años después del descubrimiento de las bacterias, se ha comenzado a reconocer la importancia del bacterioma con el hospedero multicelular, al cual proporcionan beneficios adaptativos ([Petipas et al., 2021](#)).

Los primeros estudios con plantas leguminosas como el frijol, el chícharo y el cacahuate, indicaron la importancia de las bacterias del género *Rhizobium* para la nutrición de las plantas. Estas bacterias forman estructuras especializadas en las raíces llamadas nódulos, donde viven, proliferan y brindan varios beneficios, incluida una mejor nutrición de nitrógeno, fósforo y hierro a través de cambios en la arquitectura de las raíces ([Concha y Doerner 2020](#)). En este sentido, el nódulo representa un nicho donde las relaciones planta-bacteria adquieren tal sofisticación que permite a las plantas sobrevivir sin necesidad de fertilizantes químicos. Las ventajas de la nodulación fueron reconocidas por las antiguas civilizaciones de

Mesoamérica, ya que diferentes grupos de agricultores combinaron la siembra de frijol con maíz y calabaza, obteniendo mayores rendimientos sobre la siembra individual de cada cultivo ([Fonteyne et al., 2023](#)).

Las bacterias que habitan en las raíces o viven en el interior de tallos, hojas, flores, semillas y su hospedero conforman el "holobionte", un sistema ecológico que proporciona innumerables beneficios tanto al hospedero vegetal como a los microorganismos ([Sánchez-Cañizares et al. 2017](#)). A través de los avances de la secuenciación genómica, la metabolómica y la proteómica, se han comenzado a desvelar los mecanismos moleculares por los cuales las especies bacterianas promueven la adaptación y la productividad de las plantas, se ha resaltado la importancia de un número cada vez mayor de géneros, incluidos *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Azospirillum* y *Micrococcus* ([Méndez-Gómez et al., 2020; 2021; Barrera-Ortiz et al., 2023; García-Cárdenas et al., 2022; 2023; Esparza-Reynoso et al., 2024; Jiménez-Vázquez et al., 2020; 2024](#)).

Las interacciones de las bacterias con las plantas amplían las funciones que desempeña cada organismo, con lo que se ha creado una gran expectativa para mejoramiento agrícola a través de la ingeniería de la rizosfera, mediante la inoculación de cepas bacterianas selectas, que, a través de propiedades como la nutrición, el equilibrio hormonal y la modulación del crecimiento y la defensa permitirían el ahorro de insumos con un impacto positivo para el productor, el consumidor y el ambiente.

2.7. *Arabidopsis thaliana* en el estudio de las interacciones planta-bacteria

El uso de *Arabidopsis*, una pequeña maleza para estudios de laboratorio, ha permitido avanzar en el entendimiento de los mecanismos moleculares por los cuales las plantas reaccionan a la presencia de bacterias, básicamente debido a las técnicas de secuenciación masiva desarrolladas a finales del siglo pasado, que permitieron conocer sus casi 25, 000 genes ([Arabidopsis Genome Initiative, 2000](#)), el desarrollo de técnicas de transformación para sobreexpresar genes

seleccionados y estudiar su regulación a través de la fusión de sus promotores con genes reporteros, como los que codifican la β -glucuronidasa de *E. coli* y la proteína verde fluorescente (GFP) de la medusa *Aequorea victoria* ([Huttly, 2009](#)).

Se han diseñado tres métodos de interacción: en el primero se utilizan cajas de Petri divididas, con una separación en el centro que impide la difusión de las moléculas a través del medio. Así, las plantas y las bacterias se colocan en lados opuestos de la caja de Petri, y se permite la comunicación a través de la emisión de compuestos orgánicos volátiles que se propagan en la atmósfera interior de la caja, sellada con cinta plástica ([Pérez-Flores et al., 2017](#)).

El segundo método de interacción implica la germinación de las semillas de *Arabidopsis* formando una fila en un extremo de la placa de Petri, las placas se inclinan verticalmente para permitir el crecimiento de la planta en la superficie del medio nutritivo y se hace una estría con el inóculo bacteriano a una distancia definida (es decir, 3 o 5 cm) del sitio de crecimiento de la planta. Este sistema permite analizar el crecimiento radicular como respuesta a los compuestos difusibles emitidos por bacterias como las citocininas, las auxinas, ciclodipeptidos y *N*-acil-L-homoserina lactonas ([Ortiz-Castro et al., 2020](#)).

En el tercer método, se coloca una estría bacteriana en la superficie del medio y se transfieren plantas de 5 días después de la germinación, colocando la raíz directamente sobre el inóculo. Tanto el crecimiento de las bacterias como las plantas en interacción se pueden monitorear durante varios días ([Jiménez-Vázquez et al., 2020](#)). Este último sistema permite el contacto directo y la diseminación de las bacterias por toda la raíz durante su crecimiento, ayudando en la colonización de los meristemos, las raíces laterales y los pelos radiculares, así, la planta puede reconocer elementos estructurales de la bacteria, como el flagelo y los lipopolisacáridos de la pared celular, que actúan como estimuladores del desarrollo y la defensa. En los últimos años, el ensayo de la placa de Petri ha sido muy valioso para evaluar la respuesta de las plantas a diversas rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal ([Barrera-Ortiz et al., 2023](#); [García-Cárdenas et al., 2023](#);

Jiménez-Vázquez *et al.*, 2024; López-Hernández *et al.*, 2023; Tinoco-Tafolla *et al.*, 2024).

El sistema *in vitro* demostró su valor en la caracterización de un gran número de aislados bacterianos distinguiendo a las bacterias promotoras del crecimiento vegetal de patógenos como *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, *Enterobacter* sp. y *Pseudomonas lurida* que inhiben el crecimiento de las plantas pocas horas después de la inoculación (González-Ista *et al.*, 2023; López-Bucio *et al.*, 2023; López-Hernández *et al.*, 2023).

Las bacterias que son benéficas promueven notoriamente la formación de follaje y raíces laterales, sin comprometer el crecimiento de las raíces primarias, como *Bacillus* sp. (García-Cárdenas *et al.*, 2023) y *Burkholderia phytofirmans* PsJN (Poupin *et al.*, 2013). Sin embargo, un grupo bastante definido rompe la dominancia apical de la raíz primaria, lo que potencia el desarrollo de las raíces laterales al activar sus meristemas como *Micrococcus luteus* (García-Cárdenas *et al.*, 2022), *Pseudomonas brassicae* (López-Hernández *et al.*, 2023), *P. putida*, *P. fluorescens* (Ortiz-Castro *et al.*, 2020) y *Azospirillum* spp. (Méndez-Gómez *et al.*, 2021; Mora *et al.*, 2023; Spaepen *et al.*, 2014). Se cree que la formación de un sistema radicular más denso y poco profundo facilita la adquisición de nutrientes, principalmente fósforo y micronutrientes, que se precipitan fácilmente y tienden a acumularse en las capas superiores del suelo.

2.8. Reconocimiento químico entre plantas y bacterias

Las plantas poseen sistemas de reconocimiento altamente sofisticados para reconocer a las bacterias benéficas o patógenas a través de la detección de componentes estructurales de las células y diversas moléculas secretadas, incluyendo toxinas, hormonas bacterianas, y compuestos orgánicos volátiles. Los lipopolisacáridos (LPS), son componentes principales de la membrana externa de las bacterias Gram-negativas que afectan el crecimiento y la inmunidad en plántulas

de *Arabidopsis* en interacciones con *Azospirillum brasilense* Sp245 (Méndez-Gómez *et al.*, 2020) y *Herbaspirillum* sp. Root189 (Vanacore *et al.*, 2022).

Las *N*-acil-*L*-homoserina lactonas (AHL), una clase de pequeños compuestos lipídicos, controlan la proliferación celular, la formación de biopelículas y la virulencia en las bacterias. Las AHLs modulan el crecimiento radicular en función de la especie química y la concentración aplicada, por ejemplo, la *N*-hexanoil-*L*-homoserina lactona y la 3-oxo-decanoil-*L*-homoserina lactona promueven el crecimiento radicular (Pazarlar *et al.*, 2020), mientras que las moléculas con fracciones de ácidos grasos más largas, como la *N*-dodecanoil-*L*-homoserina lactona y la 3-oxo-dodecanoil-*L*-homoserina lactona, reprimen el crecimiento radicular de forma dosis-dependiente (Ortiz-Castro *et al.*, 2008; 2011).

Las AHL también refuerzan la defensa de las plantas, actuando como inductores de la biosíntesis de ácido salicílico o ácido jasmónico, y contribuyen a la resistencia contra *Pseudomonas syringae* en *Arabidopsis* (Liu *et al.*, 2020) y *Pseudoperonospora cubensis* en pepino (Pazarlar *et al.*, 2020). Recientemente, Duan *et al.* (2023), mediante análisis transcriptómicos y hormonales demostraron que la reacción de las plantas expuestas a una mezcla de AHL difiere ante su exposición a AHL individuales, y que la combinación de AHL modifica el metabolismo de los jasmonatos a través del monofosfato de adenosina cíclico (AMPC), como un segundo mensajero (Zhao *et al.*, 2024).

La biosíntesis de ciclodipéptidos (CDPs), como el ciclo(L-Pro-L-Val), el ciclo(L-Pro-L-Phe) y el ciclo(L-Pro-L-Tyr) está reprimida por la 3-oxo-C12-HL (Ortiz-Castro *et al.*, 2011), lo que sugiere que la señalización de AHL y CDP actúa de manera antagónica en la fisiología bacteriana. De manera opuesta a las AHLs, que pueden actuar como señales de alarma para las células vegetales, los CDPs inducen una respuesta auxínica en la raíz al actuar directamente sobre los receptores de la familia TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1 (TIR1), que conducen a una mejor producción de biomasa a través de la formación de pelos radicales y raíces laterales en *Arabidopsis*. Ortiz-Castro *et al.*, (2020) demostraron que la producción de ciclodipéptidos por *Pseudomonas putida* y *Pseudomonas fluorescens* ejerce

efectos positivos sobre el crecimiento de *Arabidopsis*, y estas moléculas pueden promover la fosforilación de la proteína cinasa ribosómica S6 (S6K), un sustrato que actúa cascada abajo de la cinasa TOR, lo que indica que los CDP son factores mitogénicos que contribuyen a la adaptación metabólica de las plantas ([Calderán-Rodríguez et al., 2021](#); [González-López et al., 2021](#)).

Los sistemas de reconocimiento químico presentes en las células vegetales pueden detectar toxinas y hormonas bacterianas, un ejemplo es la percepción de coronatina, una toxina producida por el patógeno bacteriano *Pseudomonas syringae* que llevó al descubrimiento del receptor de ácido jasmónico CORONATINE INSENSITIVE 1 (COI). La coronatina es muy potente y actúa imitando moléculas de señalización de defensa ([Gao et al., 2021](#)), que ayudan a las plantas a reaccionar correctamente bajo estrés biótico. En cuanto a los productos químicos de las plantas reconocidos por las bacterias, los fotosintatos exportados desde el follaje al sistema radicular y, en última instancia, secretados al suelo, ejercen una quimiotaxis positiva que atrae a las bacterias, cuya proliferación influye en la rizosfera. Es en esta región donde la raíz cambia su arquitectura al responder localmente a la acumulación de moléculas de origen microbiano a través de crecimiento diferencial, patrones de ramificación y formación de pelos radiculares ([Garnica-Vergara et al., 2016](#); [Esparza-Reynoso et al., 2021](#); [García-Cárdenas et al., 2022](#)).

Los compuestos orgánicos volátiles pueden tener distintas funciones en los seres vivos, desde mejorar el crecimiento de las plantas como el 2,3-butanediol producido por bacterias del género *Bacillus*, hasta aumentar la resistencia de la planta ante ciertos patógenos. Los VOCs provocan cambios en la estructura de las comunidades microbianas del suelo ([Wheatley, 2002](#)). Las bacterias pueden colonizar varias zonas de las plantas como las hojas, los frutos o las raíces, pero los volátiles producidos por las plantas, pueden inhibir el crecimiento de ciertos grupos de bacterias y promover el de otros ([Junker y Tholl, 2013](#)).

2.9. Regulación de la arquitectura radicular por rizobacterias

La raíz es el órgano de la planta responsable de absorber el agua y los nutrientes. En las dicotiledóneas, el sistema radicular es típicamente una raíz pivotante, formada por el crecimiento predominante del eje principal que aumenta en extensión a lo largo del ciclo de vida. A partir de la raíz principal, emergen ramificaciones a partir de una capa celular interna denominada periciclo y se extienden longitudinalmente, lo que permite un aumento en la capacidad de absorción (Du y Scheres 2018; Torres-Martínez *et al.*, 2022). Tanto en la raíz principal como en las raíces laterales, los pelos radiculares se forman a partir de células epidérmicas llamadas tricoblastos (Herburger *et al.*, 2022).

Las raíces adventicias se pueden desarrollar desde el tallo e incluso las hojas, y son particularmente abundantes en las plantas monocotiledóneas, como el maíz, y su proliferación confiere un fuerte anclaje al suelo. Tanto las raíces laterales como las adventicias se forman después de la germinación y se consideran estructuras postembrionarias. La configuración tridimensional del sistema radicular, sus principales ejes de crecimiento y sus grados de ramificación se define como arquitectura radicular (Abbas *et al.*, 2022; Maqbool *et al.*, 2022). Este es un concepto de gran valor debido a sus importantes aplicaciones para la agricultura.

Las bacterias promueven la ramificación de las raíces, lo que conduce a un mejor desarrollo y productividad, frecuentemente a través de la producción diferencial de sustancias bioactivas y metabolitos secundarios, incluidos los mencionados anteriormente. Entre los géneros más conocidos con efectos probióticos, encontramos especies de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Azospirillum* y *Rhizobium* (Ortiz-Castro *et al.*, 2020; García-Cárdenas *et al.*, 2022; 2023).

Las especies de *Pseudomonas* establecen una comunicación íntima con las plantas y pueden ser patógenos como *P. aeruginosa* y *P. syringae*, o promotores del crecimiento que contribuyen no solo a la inmunidad a través de la resistencia sistémica adquirida (SAR) y la resistencia sistémica inducida (ISR), sino también a la plasticidad fenotípica (Schikora *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2020; Solís-Ortiz *et al.*,

2022). En relación con la morfogénesis de la raíz, la inoculación de plántulas de *A. thaliana* en placas de Petri con dos especies promotoras del crecimiento de las plantas, *P. putida* y *P. fluorescens*, disminuyó la dominancia apical de la raíz primaria y promovió la formación de raíces laterales (Ortiz-Castro *et al.*, 2020).

Las cepas de *Pseudomonas* CM11 y WCS417 influyen en el crecimiento de las raíces de una manera muy contrastante, por ejemplo, la inoculación de CM11 conduce a la inhibición del crecimiento de la raíz principal, mientras que WCS417 manifestó la tendencia opuesta y promovió la elongación de las raíces. A pesar de los efectos contrarios sobre la extensión de la ramificación, la mayoría de las *Pseudomonas* promotoras del crecimiento tienen la propiedad común de inducir la ramificación de las raíces (Ortiz-Castro *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022; López-Hernández *et al.*, 2023; Tinoco-Tafolla *et al.*, 2024).

P. aeruginosa y *P. chlororaphis* 3T4-12 provocaron síntomas de enfermedad en las plantas, e inhibición general del crecimiento y la ramificación de las raíces (Ortiz-Castro *et al.*, 2014; López-Hernández *et al.*, 2023). Los efectos deletéreos que ambas especies provocaron en las plantas desaparecen al disminuir la producción de factores de virulencia. En *P. aeruginosa*, la mutación del gen *LasI* que codifica la 3-oxo-*N*-dodecanoil-*L*-homoserina lactona sintasa disminuyó la virulencia y aumentó la producción de ciclodipéptidos que promueven la formación de pelos radiculares y raíces laterales, que en general extienden la superficie radicular (Ortiz-Castro *et al.*, 2011; 2020). La virulencia de *P. chlororaphis* 3T4-12 se pudo revertir parcialmente aumentando la concentración de sacarosa en el medio, teniendo un efecto positivo incrementando la biomasa de las plantas (Tinoco-Tafolla *et al.*, 2024).

Los cambios fenotípicos inducidos en *A. thaliana* por *Pseudomonas* pueden ocurrir a través de la modulación de una vía hormonal de auxinas, como se observa tras la aplicación de AHLs o CDPs (Ortiz-Castro *et al.*, 2008; Yin *et al.*, 2022). Además de la exudación bacteriana de señales de detección de quórum, la liberación de fitohormonas como las auxinas es responsable de la regulación del crecimiento de las raíces, *P. putida* PCI2, por ejemplo, produce ácido indol-3-acético cuyos niveles

aumentan tras la suplementación con *L*-triptófano (Pastor *et al.*, 2014), mientras que las especies de *Bacillus* aumentan la capacidad de ramificación modulando la señalización de auxinas o citocininas (García-Cárdenas *et al.*, 2023; Barrera-Ortiz *et al.*, 2023).

La represión bacteriana del crecimiento radicular también puede atribuirse a la producción de moléculas bioactivas, como lo demuestra la regulación de la arquitectura radicular por *Micrococcus luteus* LS570, aunque el crecimiento de la raíz primaria de las plantas inoculadas con esta bacteria se inhibe, la formación de raíces laterales aumenta (García-Cárdenas *et al.*, 2022). La acumulación de auxinas dentro de las puntas de las raíces de *Arabidopsis* inhibió tanto la división celular como la elongación, interrumpiendo la dominancia apical. Esta información sugiere que la modulación del desarrollo de las plantas por parte de las rizobacterias se basa en la capacidad de producir un amplio número de sustancias bioactivas, incluidas hormonas vegetales y compuestos que imitan la acción de las fitohormonas. Sin embargo, la mayoría de los elementos moleculares que median el reconocimiento de compuestos bacterianos por parte de las células vegetales aún no se han identificado.

2.10. Papel de las rizobacterias en la nutrición de las plantas

La alta demanda de nutrientes para cultivos como el maíz, el trigo, el arroz, la cebada, y para la producción de frutas tropicales se logra mediante la aplicación de fertilizantes químicos o enmiendas orgánicas. Cada año, los agricultores aplican millones de toneladas de estos productos para aumentar el rendimiento, lo que implica inversiones monetarias muy elevadas y fuertes costos ambientales, ya que el exceso de nutrientes puede provocar la salinización del suelo y la contaminación de las aguas subterráneas, lagos y ríos que finalmente llegan al océano (Chand, 2023). Por estas razones, es esencial desarrollar nuevas estrategias efectivas, económicas y ambientales para optimizar el uso de fertilizantes.

Las raíces manifiestan un comportamiento muy dinámico para descubrir y absorber nutrientes minerales. La secreción radicular de protones, mucílago, ácidos orgánicos y aminoácidos, permite, por un lado, solubilizar nutrientes y, por otro, promover la proliferación de bacterias que ayudan a la planta en diversas funciones adaptativas, incluida la absorción de nutrientes (Giehl y von Wirén 2014).

El fósforo es uno de los elementos más limitantes para la agricultura debido a su alta reactividad con cationes como el calcio, el magnesio y el aluminio (López-Arredondo *et al.*, 2014). Este elemento es químicamente asimilable como ion fosfato, pudiendo establecerse en formas orgánicas o inorgánicas, que con frecuencia son insolubles (López-Hernández *et al.*, 2023). Las raíces acceden al fosfato a través de una combinación de mecanismos bioquímicos, fisiológicos y moleculares que involucran transportadores de fosfato de baja y alta afinidad y la secreción de malato y citrato por parte de las raíces o por las bacterias y hongos asociados a la raíz, particularmente bajo escasez nutrimental (López-Bucio *et al.*, 2019; Raya-González *et al.*, 2021; Naumann *et al.*, 2022; Esparza-Reynoso *et al.*, 2024). Por lo tanto, la eficiencia de la absorción y movilización de fosfato dentro del suelo implica una interacción de factores endógenos y ambientales modulados por el microbioma. En dicha interacción, los minerales del suelo actúan no solo como elementos nutritivos, sino también como factores de señalización (López-Bucio *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2021).

Las propiedades de solubilización de fosfato se han descrito ampliamente en *Pseudomonas* y otras bacterias. De hecho, algunos ejemplos seleccionados de la literatura sugieren una correlación positiva para *Pseudomonas lutea* OK2 aislada de la rizosfera de pastos silvestres (Peix *et al.*, 2004), *Pseudomonas putida* PCI2 identificada en muestras de raíces de tomate (Pastor *et al.*, 2014), *Pseudomonas argentinensis* SA90 de la raíz de una palmera del desierto (Lafi *et al.*, 2016) y *Pseudomonas koreensis* P2 (Srivastava *et al.*, 2019) con una mejor nutrición de las plantas inoculadas bajo condiciones limitantes de fosfato.

En un trabajo reciente, se identificaron seis especies de *Pseudomonas*, incluidas *P. brassicae*, *P. baetica*, *P. laurylsulfatiphila*, *P. chlororaphis*, *P. lurida* y *P.*

extremorientalis con una alta capacidad de solubilización de fosfato (López-Hernández *et al.*, 2023). Sin embargo, se observaron efectos positivos o negativos sobre la biomasa, el crecimiento radicular y la ramificación en plantas inoculadas con cultivos puros de cada una de las especies, lo que indica que no todas las bacterias que solubilizan fosfato pueden considerarse benéficas para las plantas. De hecho, algunas de estas especies podrían ser patógenas, lo que hace necesarios protocolos para separar claramente los aislados del suelo que manifiestan especialmente rasgos benéficos sobre los deletéreos.

La solubilización del fosfato parece estar bajo control hormonal, ya que el ácido indol-3-acético (IAA) induce los genes que codifican enzimas responsables de la síntesis de ácidos orgánicos que hacen disponible el fósforo para la nutrición. Un análisis de 841 rizobacterias identificó 15 géneros, incluyendo especies solubilizadoras de fosfato, capaces de producir IAA. El precursor de auxinas *L*-triptófano mejoró aún más la solubilización del fosfato debido a una mayor producción de IAA, la acidificación del pH y la liberación de una alta concentración de ácidos orgánicos como el α -cetoglutarato, cis-aconitato, citrato, malato y succinato (Alemneh *et al.*, 2021). Por otro lado, *Bacillus amyloliquefaciens*, una bacteria resistente a pH alcalino, solubiliza el fosfato mediante la producción de ácido tartárico, ácido cítrico y ácido succínico (Zhang *et al.*, 2023).

En un estudio de interacción de plantas con *Pseudomonas putida*, Esparza-Reynoso y col. (2024) demostraron que la colonización de raíces por la bacteria en medio con alto contenido de fosfato indujo la expresión de genes que normalmente se activan bajo la escasez de fosfato. *P. putida* también promovió la acumulación de hierro y la expresión de genes inducibles por carencia de hierro, lo que indica la integración de mecanismos para la adquisición simultánea de fosfato y hierro. La mutación de genes maestros para la nutrición del hierro, incluida la proteína ligasa BRUTUS (BTS), y los factores de transcripción bHLH POPEYE (PYE) e IAA-LEUCINA RESISTANT3 (ILR3) comprometieron la ramificación radicular inducida por *P. putida*, lo que implica un papel para una bacteria benéfica en la mejora de la nutrición de las plantas a través de la modulación de la señalización celular.

López-Bucio y col. (2023) mostraron la inducción del transportador de nitrato CHL1/AtNRT1/NPF6.3 y las nitrato-reductasas NIA1 y NIA2 en plántulas de *Arabidopsis* en interacción con la mutante $\Delta lasI$ de *P. aeruginosa*. La interacción mejoró la nutrición por nitratos y condujo a una mejor ramificación de las raíces y la producción de biomasa, así como al fortalecimiento de la inmunidad de las plantas.

2.11. Suelos alcalinos y su manejo

La alcalinidad del suelo compromete el crecimiento y la sobrevivencia y representa un reto poder manejar la productividad vegetal, particularmente en especies como los cereales y cítricos que son altamente sensibles a dicho agobio (Hayes *et al.*, 2019; Pereira *et al.*, 2021; Kotula *et al.*, 2021). El manejo agronómico que se considera adecuado incluye la aplicación de enmiendas, abonos y compostas que contienen ácidos húmicos y que disminuyen el pH del suelo, así como la aplicación de microorganismos que acidifican la rizósfera mediante la secreción de protones y ácidos orgánicos, por ejemplo, bacterias que solubilizan fosfato y hongos del género *Trichoderma* (López-Hernández *et al.*, 2023; Pelagio-Flores *et al.*, 2017).

2.12. Contribución de las rizobacterias en la resistencia vegetal al estrés alcalino

Las bacterias pueden extender las propiedades adaptativas de la planta a través de varios mecanismos. Sin embargo, queda por aclarar hasta qué punto la aplicación de cultivos bacterianos puros puede ser determinante en una mayor producción de biomasa por parte de las plantas que se cultivan en suelos con condiciones adversas. Un ejemplo de estos suelos son los suelos calcáreos salinos y alcalinos que están ampliamente distribuidos por todo el mundo.

Jiménez-Vázquez *et al.* (2020) aislaron *Achromobacter* sp. 5B1 del suelo adherido a las raíces de un árbol de mezquite que habita en cercanía a una poza salada en el desierto de Chihuahua. La inoculación de cultivos puros de *Achromobacter* sp. 5B1 a plántulas de *Arabidopsis* in vitro y en el suelo mejoró el crecimiento y la

producción de biomasa, y ayudó a resistir el estrés salino y alcalino. Una característica muy interesante de este aislado fue la propiedad de dirigir los movimientos de las raíces interfiriendo con la respuesta normal de la gravedad, por lo que las raíces inoculadas formaron ondas, vueltas y espirales, que, a su vez, inducen la formación de raíces laterales y se pensó que esta respuesta ayudaba a las plantas a explorar mejor las capas del suelo y a absorber más agua y nutrientes. Cabe destacar que *Achromobacter* sp. 5B1 permite crecer a *Arabidopsis* en un medio alcalino (pH 9.0), aliviando la clorosis de las hojas y activando los meristemos de los brotes y las raíces. Se observó que una condición alcalina perjudica la mitosis en los meristemos debido a la disminución de la homeostasis de las auxinas en las plántulas cultivadas axénicamente, y la bacteria podría normalizar el crecimiento y el desarrollo al incrementar la acumulación de auxinas ([Jiménez-Vázquez et al., 2024](#)).

La secuenciación del genoma de *Achromobacter* sp. 5B1 reveló genes que codifican para proteínas potencialmente involucradas en la adaptación al estrés alcalino que influyen en procesos como la percepción de quórum, la biosíntesis de auxinas y la absorción de nutrientes que contribuyen en la producción de biomasa bajo estrés. En otro trabajo, [Zhuang et al. \(2023\)](#) compararon los efectos de *S. rhizophila* y una cepa mutante *rpfF*- afectada en el sistema de quorum sensing DSF-QS en *Brassica napus* L. con respecto a la germinación de semillas, la producción de biomasa, la capacidad antioxidante y el contenido de clorofila. DSF mejoró la adaptación y la tasa de supervivencia de *S. rhizophila*, y promovió el crecimiento de la germinación de las plantas bajo estrés salino-alcalino y dichos beneficios se comprometieron al afectar la percepción de quorum en la bacteria.

Este proyecto plantea el uso de *Arabidopsis thaliana*, para estudiar los efectos adversos de la alcalinidad sobre el crecimiento, desarrollo, y respuesta hormonal, así como el impacto que tiene la inoculación con *Pseudomonas putida* en la adaptación a dicha condición adversa.

3. Hipótesis

Pseudomonas putida confiere tolerancia al pH alcalino a plantas de *Arabidopsis thaliana*.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Caracterizar el efecto de la inoculación con *Pseudomonas putida* a plantas de *Arabidopsis thaliana* expuestas a condiciones de alcalinidad.

4.2. Objetivos específicos

- Caracterizar los efectos del incremento en el pH del medio sobre el crecimiento, desarrollo, y arquitectura de la raíz de *Arabidopsis* en un sistema in vitro y en interacción con *Pseudomonas putida* y *Solibacillus isronensis*
- Analizar los cambios en la expresión de los transgenes *CycB1:GUS*, *TOR:GUS*, *ARR5:GUS* y *DR5:GUS* en follaje y raíz en respuesta al estrés alcalino y en interacción con *Pseudomonas putida* y *Solibacillus isronensis*
- Comparar el impacto benéfico que tiene *Pseudomonas putida* sobre la resistencia de *Arabidopsis* al estrés alcalino en tres sistemas de interacción in vitro.

5. Materiales y métodos

5.1. Material vegetal y condiciones de crecimiento

El material vegetal incluyó semillas de *Arabidopsis thaliana* del ecotipo Columbia 0 (Col-0), y las líneas transgénicas *DR5:GUS*, *CYCB1:GUS*, *TOR:GUS* y *ARR5:GUS*. Las semillas se procesaron para eliminar agentes contaminantes mediante tratamientos con etanol (96°) e hipoclorito de sodio al 20% (v/v) por 5 minutos c/u, y varios enjuagues con agua destilada, previamente esterilizada en autoclave. Las semillas se introdujeron en un refrigerador (4 °C) por 48 h, para homogenizar y sincronizar la germinación, y al cabo de este tiempo fueron sembradas en cajas de Petri conteniendo medio MS al 0.2X (Murashige y Skoog, 1962) solidificado con agar. La mezcla de sales basales de Murashige y Skoog, carente de amino ácidos y vitaminas, se adquirió en la casa comercial Phytotechnology y se aplicó en concentración de 0.9 g/l. Los experimentos se condujeron en un gabinete para crecimiento de plantas (Percival Scientific AR-95L) con un fotoperiodo ajustado de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, una intensidad de luz de 100 moles/m² s y una temperatura de 22 °C.

5.2. Cepas bacterianas

Los aislados de *Pseudomonas putida* y *Solibacillus isronensis* fueron obtenidos de la colección del Laboratorio de Biología del Desarrollo Vegetal, compilados previamente mediante exploraciones de la biodiversidad de diferentes ambientes. Cada cepa fue reactivada a partir de stocks almacenados a -80 °C (50% Medio LB líquido + 50 % glicerol), se tomaron 10 µl de cada stock para su siembra en cajas de Petri con medio sólido, para lograr un óptimo crecimiento cada cepa fue incubada a 30 °C.

5.3. Ensayos de crecimiento in vitro de *Arabidopsis thaliana*

Las plantas de 5 días después de la siembra fueron transferidas a medio MS 0.2X con distinto pH (7, 7.5, 8, 8.5 y 9) el cual fue ajustado agregando gotas de hidróxido de potasio. Se marcó la base de la caja para señalar la punta de la raíz primaria y

se midió la longitud de la misma una vez pasados los 7 días de tratamiento, se contabilizó el número de raíces laterales y se tomaron imágenes representativas de los tratamientos. Para medir el crecimiento de la raíz primaria se utilizó una regla y se analizaron al menos 24 plantas provenientes de 3 cajas de Petri diferentes. Las raíces laterales fueron contabilizadas con la ayuda de un microscopio estereoscópico Leica MZ6/L2 (Leica Microsystems, Wetzlar Germany).

5.4. Ensayos de co-cultivo planta-bacteria

Las plantas de 5 días después de la siembra fueron transferidas a medio MS 0.2X a los que previamente se les aplica un estriado de inóculo bacteriano a partir de colonias aisladas en medio Luria-Bertani (LB) solidificado con agar. Las plantas se colocaron sobre la superficie del medio en donde se realizó la estría, quedando el follaje aproximadamente a 1 cm del inóculo, mientras que la raíz se mantuvo en contacto directo con las colonias. Se marcó la base de la caja para señalar la punta de la raíz primaria y se midió la longitud de la misma una vez pasados los 7 días de tratamiento, también se contabilizó el número de raíces laterales y se tomaron imágenes representativas de los tratamientos. Para medir el crecimiento de la raíz primaria se utilizó una regla y se analizaron al menos 18 plantas provenientes de 3 cajas de Petri diferentes. Las raíces laterales se contabilizaron con la ayuda de un microscopio estereoscópico Leica MZ6/L2 (Leica Microsystems, Wetzlar Germany). Para estudiar el efecto que tuvieron los compuestos difusibles de cada especie de *Pseudomonas*, las estrías bacterianas se colocaron a 4 cm de distancia de la punta de la raíz primaria.

Para analizar si los compuestos orgánicos volátiles mejoraban el crecimiento de *Arabidopsis*, se utilizaron cajas divididas que permiten la separación del medio donde se encuentran las plantas y el medio donde se inocula cada cepa bacteriana.

5.5. Análisis histoquímico de la expresión del gen *uidA*

Las plantas transgénicas que expresan el gen reportero *uidA*, y codifica para la proteína β -glucuronidasa (GUS), se transfirieron a cajas de micro-título conteniendo el substrato X-Gluc al 0.1% (5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glucoronido) en amortiguador de fosfatos (NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , 0.1 M, pH 7) y se incubaron por 6 horas a 37 °C. Posteriormente, se retiró la solución de X-Gluc y las plantas se clarificaron con una solución de HCl 0.24 N en metanol al 20% (v/v) durante 60 minutos a 62 °C, la solución fue removida para agregar NaOH al 7% (v/v) en metanol al 60% (v/v) por 25 minutos a temperatura ambiente. La solución fue retirada y el tejido se deshidrató con tratamientos seriados de etanol al 40, 20 y 10% (v/v) por 20 minutos. Una vez retirado el etanol al 10%, se adicionó glicerol al 50% (v/v) y las plantas fueron colocadas en portaobjetos para su análisis por microscopia de Nomarski.

6. Resultados

6.1. Efecto del pH alcalino en el desarrollo de *Arabidopsis thaliana*

El estrés alcalino es perjudicial para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Lee, 1998). Para analizar los efectos de la alcalinidad durante el crecimiento temprano, plántulas de *Arabidopsis* de 4 días de edad, fueron transferidas a cajas de Petri con medio Murashige y Skoog 0. 2x ajustando el pH a 7.0, 7.5, 8.0, 8.5 y 9.0 con gotas de hidróxido de potasio, y solidificado con agar. Las plántulas del ecotipo Columbia-0 se analizaron a los 8 días después de la transferencia (**Fig. 3 a-c**). El aumento del pH disminuyó la acumulación de biomasa en el follaje y la raíz, consecuente con una marcada clorosis en las hojas. En particular, el pH de 8 y 8.5 reprimió en un 50% el crecimiento de la raíz primaria, y esta inhibición se magnificó en pH de 9.0 (**Fig. 3 a-c**).

Gracias a que el medio de crecimiento es casi transparente, se visualizó el fenotipo de raíces y follajes (**Fig. 3 d-g**). Junto con la drástica reducción del tamaño de la planta a pH 9.0, las raíces primarias fueron más cortas, el número de raíces laterales

disminuyó y se presentaron ondulaciones cuando se compara con plantas cultivadas en medio con pH 7.0 (**Fig. 3 h, i**).

El fenotipo de los follajes y raíces de las plantas crecidas en los medios alcalinos indica que la producción de biomasa y el metabolismo energético pueden verse comprometidos. Se observó presencia de clorosis en las hojas a pH 8.5 y 9.0, que puede deberse a una disminución en los niveles de clorofila en la planta (**Fig. 3e**).

Los resultados en conjunto muestran la interrupción del crecimiento vegetal y la organogénesis como consecuencia del estrés alcalino, lo cual podría estar relacionado con la clorosis foliar.

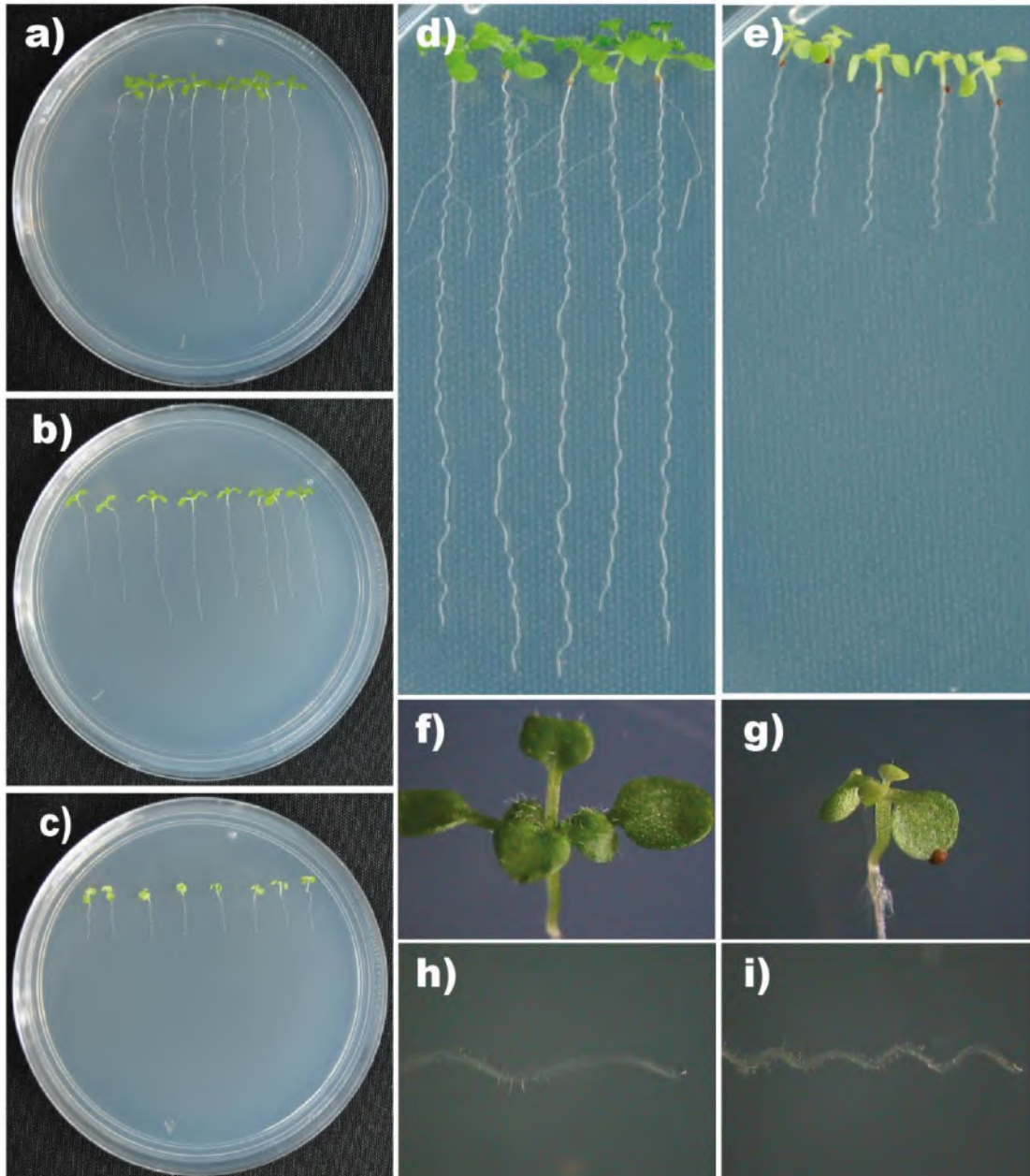


Figura 3. Efectos del incremento en el pH del medio en el crecimiento de *Arabidopsis*. Plantas transferidas a medio MS 0.2X y pH de 7.0 (a), 8.5 (b), y 9.0 (c). Acercamientos del follaje y raíz de plantas de *Arabidopsis* crecidas en pH de 7 (d, f, h) y pH de 9 (e, g, i). El experimento incluyó tres cajas de Petri por tratamiento y en cada caja se transfirieron 8 plantas, y se repitió al menos tres veces.

6.2. El sistema radicular de *Arabidopsis thaliana* es sensible al estrés alcalino

El sistema radicular proporciona sostén a la planta y contribuye con la absorción de agua y nutrientes (Yokawa y Baluska, 2018). El siguiente objetivo de nuestra

investigación fue comprender el impacto que tenía el pH en 2 parámetros importantes del sistema radicular, el crecimiento de la raíz primaria y la formación de raíces laterales. La raíz primaria de las plántulas cultivadas en medio MS 0.2X con pH 7.0 corresponde a 2.5 cm al quinto día después de la transferencia, no se observaron diferencias estadísticamente significativas a pH 7.5, sin embargo, sí las hubo en los medios alcalinos (pH 8.0-9.0), los cuales disminuyeron el crecimiento (**Fig. 4a**). El número de raíces laterales también disminuyó de una manera dosis dependiente por la alcalinidad (**Fig. 4b**), lo que indica que el proceso de ramificación de la raíz es muy sensible al pH alcalino y dicho estrés perjudica tanto el crecimiento como la ramificación de las raíces.

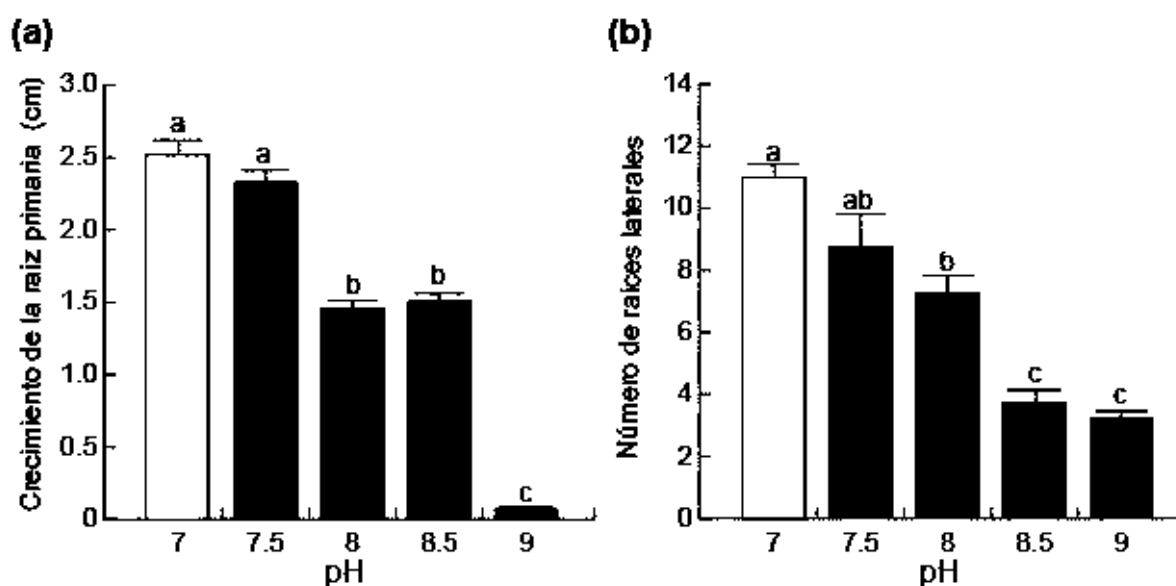


Figura 4. Efecto del pH alcalino en la modificación del sistema radicular de plántulas de *Arabidopsis thaliana*. a) Crecimiento de la raíz primaria, b) Número de raíces laterales. El experimento incluyó tres cajas de Petri por tratamiento y en cada caja se transfirieron 8 plantas, y se repitió al menos tres veces.

6.3. El pH alcalino inhibe la expresión de genes relacionados con el ciclo celular y la respuesta hormonal

La acumulación de biomasa de las plantas depende de la producción celular en los meristemos del follaje y de la raíz, y la formación de nuevos primordios (Huerta-Venegas et al., 2022). En este trabajo observamos que una elevada alcalinidad (pH

9.0) detiene el desarrollo de los primordios de hojas. Para entender a qué se debía esta represión en el crecimiento, analizamos el crecimiento de las líneas transgénicas de *Arabidopsis* *CycB1:GUS*, *TOR:GUS*, *ARR5:GUS* y *DR5:GUS* en pH neutro (7.0) (**Fig. 5 a-d**) y pH alcalino (9.0) (**Fig. 5 e-h**). Como se esperaba, el follaje de las plántulas de todas las líneas transgénicas crecidas en pH 9.0 mostró una inhibición en el desarrollo de primordios de hoja cuando las comparamos con las crecidas en pH de 7.0 (**Fig. 5 a-h**).

El análisis histoquímico de la expresión de GUS no reveló una clara expresión de CYCB1 en el sistema aéreo independientemente de la condición donde fueron crecidas las plantas (**Fig. 5 a, e**), en cambio la expresión de TOR fue claramente detectada en primordios de hoja en desarrollo en pH 7 y 9 como se puede observar por el color azul manifiesto en los tejidos de la planta (**Fig. 5 b, f**), mientras que los reporteros inducibles por citocininas y auxinas ARR5 y DR5, respectivamente, fueron dramáticamente inhibidos en pH de 9.0, esto correlaciona con la inhibición en el desarrollo de los primordios de hoja (**Fig. 5 c,d,g,h**).

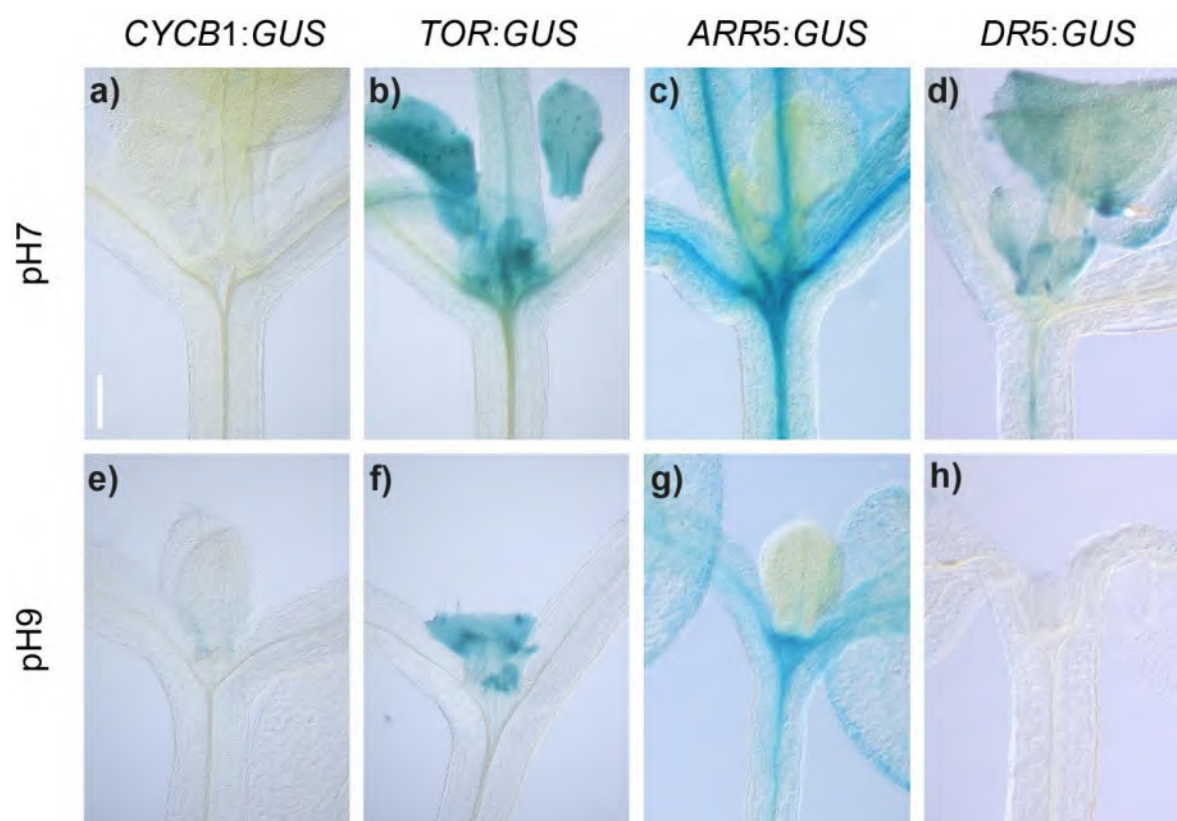


Figura 5. Expresión de genes reporteros relacionados con el ciclo celular y hormonas reguladoras del crecimiento vegetal en follaje en pH neutro y alcalino. Plántulas transgénicas de *Arabidopsis* expresando *CYCB1:GUS*, *TOR:GUS*, *ARR5:GUS* y *DR5:GUS* fueron transferidas a los 3 días después de la germinación a medios con pH 7.0 o pH 9.0 y crecidas durante 7 días adicionales. La expresión de GUS en pH 7 (a, b, c, d) o 9 (e, f, g, h) se muestra en el follaje. Las fotografías fueron tomadas con ayuda de un microscopio Leica DM 5000B con óptica Nomarski y son representativas de 12 ejemplares examinados.

La punta de la raíz incluye la zona meristemática y la zona de elongación, que producen la biomasa celular necesaria para la organogénesis (Salvi *et al.*, 2020). Se realizaron ensayos para monitorear los cambios en la expresión génica de *CYCB1:GUS*, *TOR:GUS*, *ARR5:GUS*, y *DR5:GUS* en la raíz incrementando el pH de 7.0 hasta 9.0, lo cual nos permitió corroborar el dominio de expresión de cada promotor, donde *CYCB1* se expresó en el meristemo de la raíz (**Fig. 6 a**), *TOR* fue localizado en la zona meristemática y la zona de elongación (**Fig. 6 b**), *ARR5* y *DR5* tuvieron su máxima expresión en la columela de la punta de la raíz (**Fig. 6 c, d**). En comparación, en las plántulas de las 4 líneas crecidas en pH de 9.0 sus dominios de expresión disminuyen drásticamente (**Fig. 6 e-h**), lo cual correlaciona con la detención del crecimiento de la raíz impuesto por el estrés al pH alcalino.

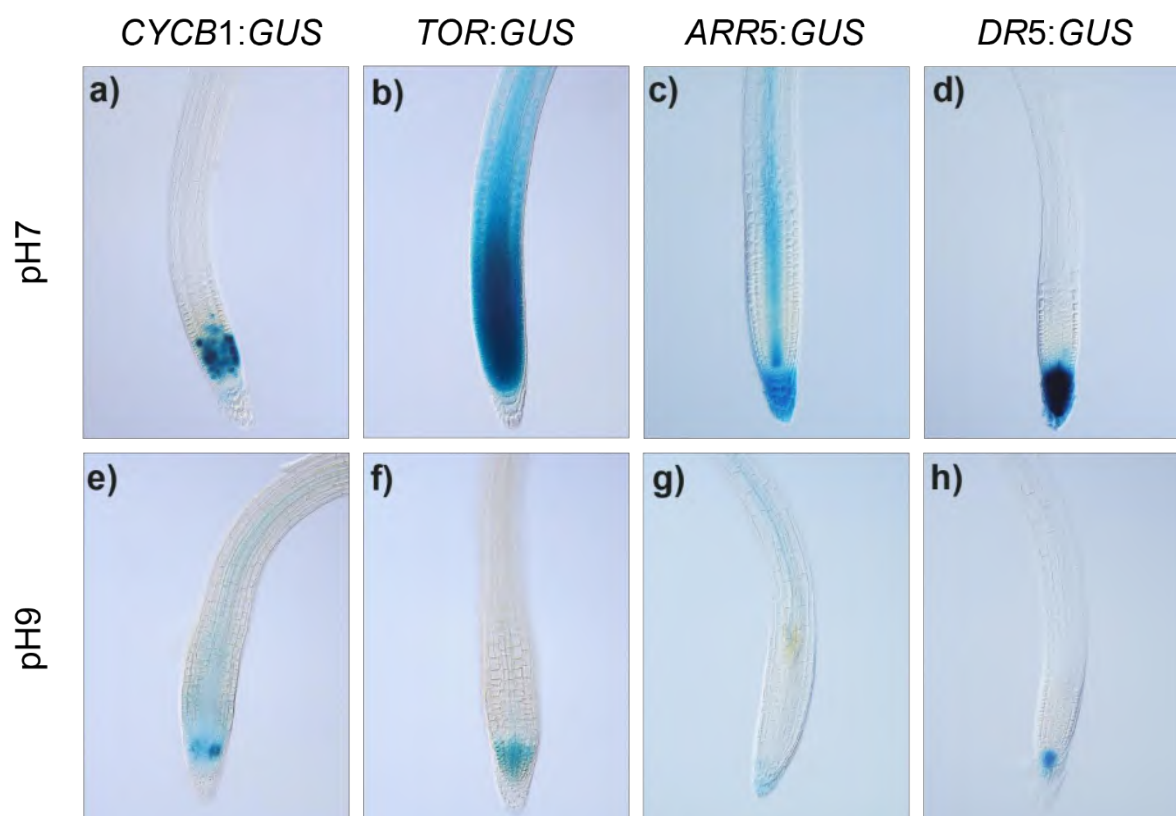


Figura 6. Expresión de genes reporteros relacionados con el ciclo celular y hormonas reguladoras del crecimiento vegetal en la raíz bajo pH neutro y alcalino. Las plántulas transgénicas de *Arabidopsis* expresando *CYCB1:GUS*, *TOR:GUS*, *ARR5:GUS* y *DR5:GUS* fueron transferidas a los 3 días después de la germinación a medios con pH 7.0 o pH 9.0 y crecidas durante 7 días adicionales. Expresión de GUS en la raíz de plántulas crecidas en pH 7.0 (a, b, c, d) o pH 9.0 (e, f, g, h). Las fotografías fueron tomadas con ayuda de un microscopio Leica DM 5000B con óptica de Nomarski.

6.4. *Pseudomonas putida* permite la adaptación de *Arabidopsis* al estrés alcalino

Las bacterias colonizan los tejidos de las plantas y les confieren diversas ventajas adaptativas que podrían contribuir a la resistencia al estrés alcalino. Se ha demostrado que especies del género *Pseudomonas* pueden modificar el sistema radicular de las plantas, producir fitohormonas y solubilizar nutrientes que normalmente son difíciles de asimilar (López-Hernández *et al.*, 2023). Con el objetivo de investigar si *Pseudomonas putida* podría mejorar el crecimiento de *Arabidopsis* ante condiciones de estrés, plántulas de 3 días después de la germinación fueron transferidas a cajas de Petri estriadas con *Pseudomonas putida*. Aunque la inoculación de *Pseudomonas putida* en pH 7.0 y pH 9.0 provoca una inhibición del crecimiento de la raíz primaria comparada con las plantas control, las plántulas crecidas en pH de 7.0 y colocadas en contacto directo con la estría bacteriana generaron 10 veces más raíces laterales comparadas con las plantas control, las plántulas crecidas en pH 9.0 e inoculadas con *Pseudomonas putida* también lograron formar más raíces laterales, en comparación con las plantas control y las plantas crecidas en pH de 9.0 sin inocular (Fig. 7). La clorosis foliar (Fig. 7 c) disminuyó en las plantas crecidas en pH alcalino inoculadas con *P. putida* y se obtuvo una restauración en la formación de primordios de hojas, comparado con las plántulas no inoculadas (Fig. 7 d).

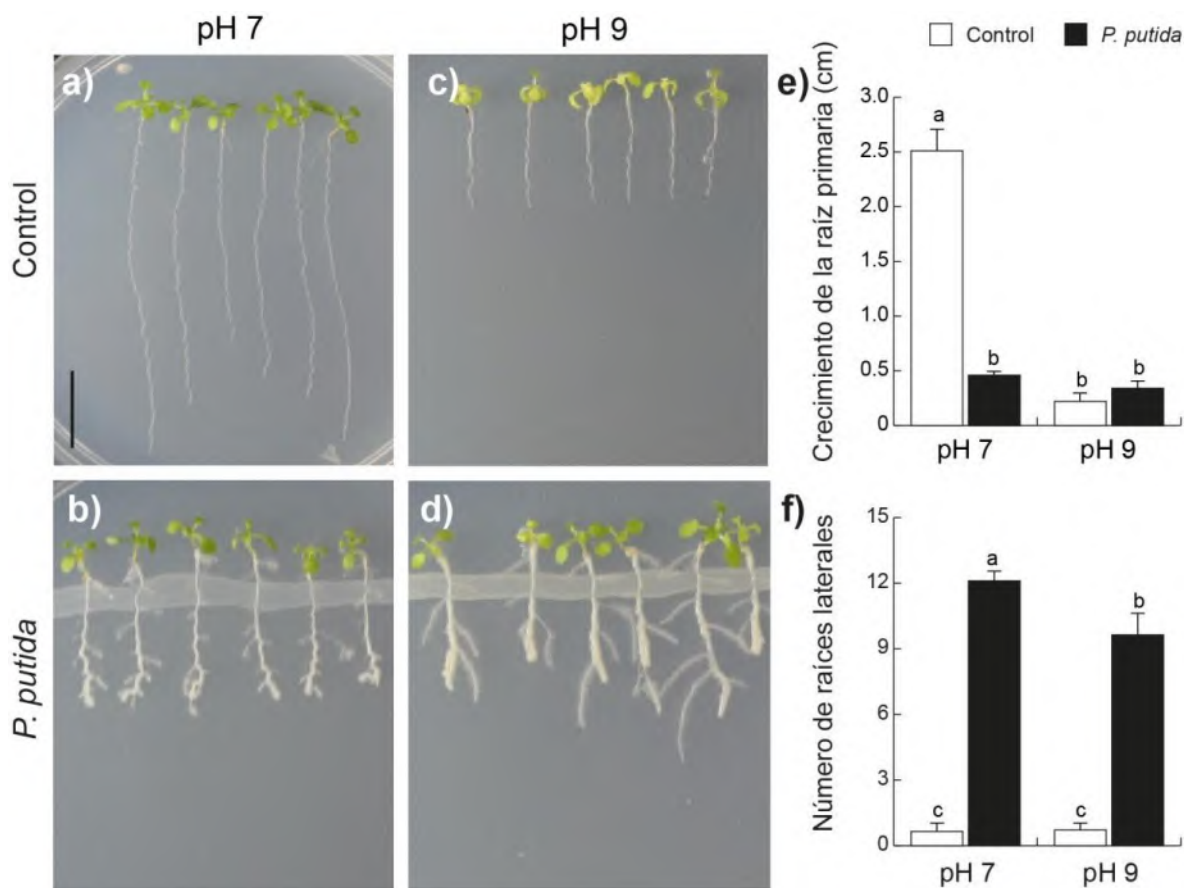


Figura 7. Respuesta de plántulas de *Arabidopsis* crecidas en condiciones axénicas en pH neutral y alcalino a la interacción de la raíz con *P. putida*. (a) Plantas axénicas en pH 7. (b) pH 7 inoculadas con *Pseudomonas putida*, (c) pH 9 en condiciones axénicas, (d) pH 9 inoculadas con *Pseudomonas putida*. Análisis de la arquitectura radicular, crecimiento raíz primaria (e), número de raíces laterales (f). El experimento incluyó 24 plantas por tratamiento.

6.5. Los compuestos difusibles de *Pseudomonas putida* restauran el crecimiento radicular de plántulas de *Arabidopsis* expuestas a pH alcalino

Las plantas pueden percibir si un microorganismo patógeno o promotor del crecimiento vegetal se encuentra a su alrededor gracias a los metabolitos que éstos producen. Las bacterias secretan moléculas de comunicación con los vegetales pudiendo promover su crecimiento y desarrollo (Ortiz-Castro *et al.*, 2011). Para conocer si los compuestos difusibles producidos por *Pseudomonas putida* podían brindar una ventaja adaptativa a *Arabidopsis* crecidas bajo estrés alcalino, transferimos plántulas de *Arabidopsis* 5 días después de la siembra a cajas de Petri con medio MS 0.2x con pH contrastante 7 y 9 (Fig. 8 a, c), colocamos estrías de

Pseudomonas putida a 4 cm de distancia de la raíz primaria (**Fig. 8 b, d**) y se analizó la arquitectura radicular de plántulas a los 8 días después de la transferencia a medios con bacteria y sin bacteria. En el caso de la raíz primaria, las plantas control en pH 7 (**Fig. 8 a**) se mantienen más grandes que los tratamientos (**Fig. 8 b, d**), en cambio las plantas crecidas en el medio con pH 9 (**Fig. 8 c**) presentan una inhibición casi completa en el crecimiento de la raíz primaria, las cuales al ser inoculadas con *Pseudomonas putida* logran crecer hasta 8 veces más comparadas con pH 9 sin bacterias (**Fig. 8 d**). Las plantas tratadas con *P. putida* formaron entre 4 y 8 veces más raíces laterales comparadas con sus respectivos controles (**Fig. 8 f**).

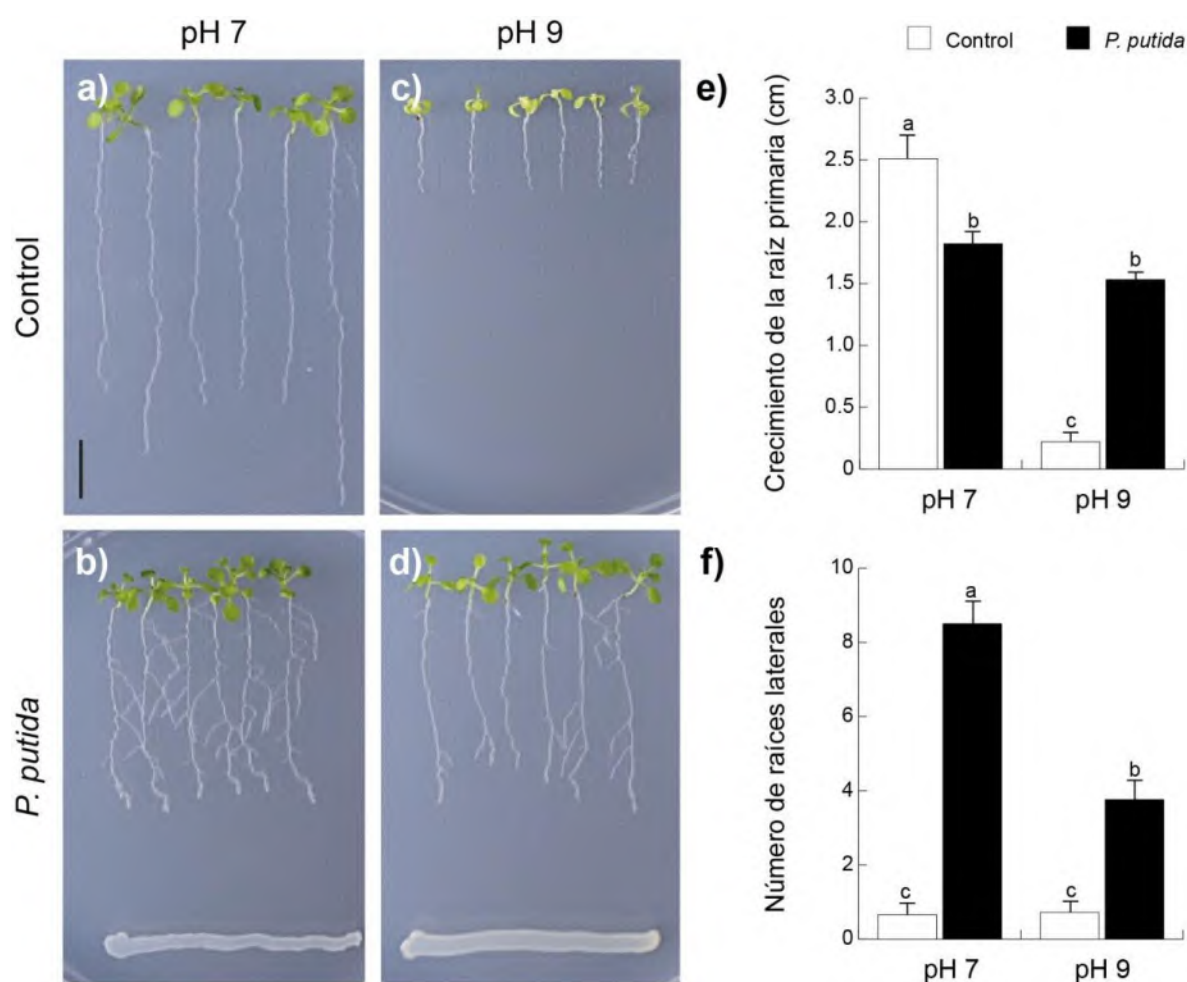


Figura 8. Efecto de la inoculación a distancia de *P. putida* en *Arabidopsis* crecidas en condiciones axénicas en pH neutral y alcalino. (a) pH 7 en condiciones axénicas (b) pH 7 inoculadas con *Pseudomonas putida*, (c) pH 9 en condiciones axénicas, (d) pH 9 inoculadas con *Pseudomonas putida*. Análisis de la arquitectura radicular, crecimiento raíz primaria (e), número de raíces laterales (f). El experimento incluyó 24 plantas por tratamiento.

6.6. Los volátiles producidos por *Pseudomonas putida* restauran el crecimiento de plántulas de *Arabidopsis thaliana* crecidas en medios alcalinos

Las bacterias producen compuestos orgánicos volátiles que utilizan para establecer comunicación con otros grupos de seres vivos como los hongos o las plantas, se ha demostrado que estos compuestos contribuyen con la adaptación ante condiciones adversas (Audrain *et al.*, 2015). Para determinar si los volátiles emitidos por *P. putida* contribuyen en la tolerancia de *Arabidopsis* al estrés alcalino, se utilizaron cajas de Petri con medio MS al 0.2X con 1 división en el centro de la caja, la cual separa físicamente el medio donde se encuentran las plantas, del sitio de inoculación de la bacteria para evitar que los difusibles producidos por ellas tengan influencia sobre el medio donde está creciendo la planta, las únicas moléculas que pueden pasar de un lado a otro son los volátiles (**Fig. 9 a, b, c, d**). Utilizando este sistema obtuvimos los mejores resultados en promoción del crecimiento y adaptación al pH alcalino. Las plantas inoculadas en pH 7 tuvieron significativamente mayor crecimiento de la raíz primaria comparadas con las plantas control, las crecidas en pH 9 sin inocular tuvieron una marcada inhibición en el crecimiento consistentemente con los experimentos anteriores, interesantemente al inocular con *Pseudomonas putida* conseguimos restaurar completamente el crecimiento de la raíz primaria comparado con las plantas control crecidas en pH neutro (**Fig. 9 e**). En el caso de la formación de raíces laterales, las plantas inoculadas en pH 7 y 9 presentan 8 y 10 veces más raíces laterales comparadas con sus respectivos controles sin inocular (**Fig. 9 f**).

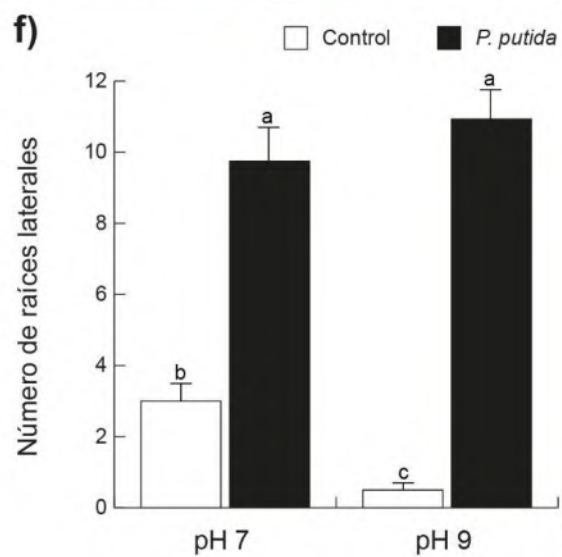
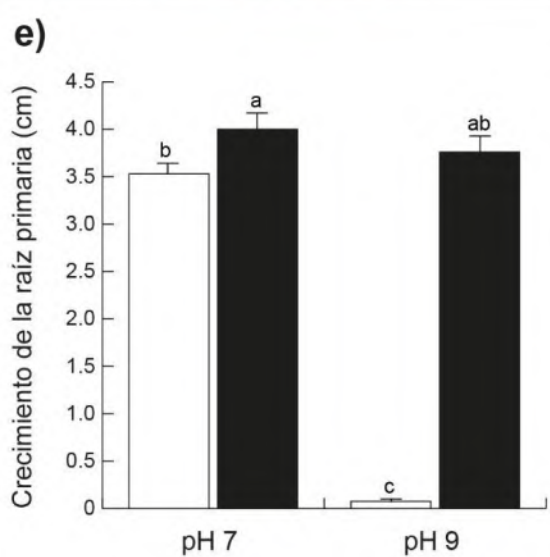
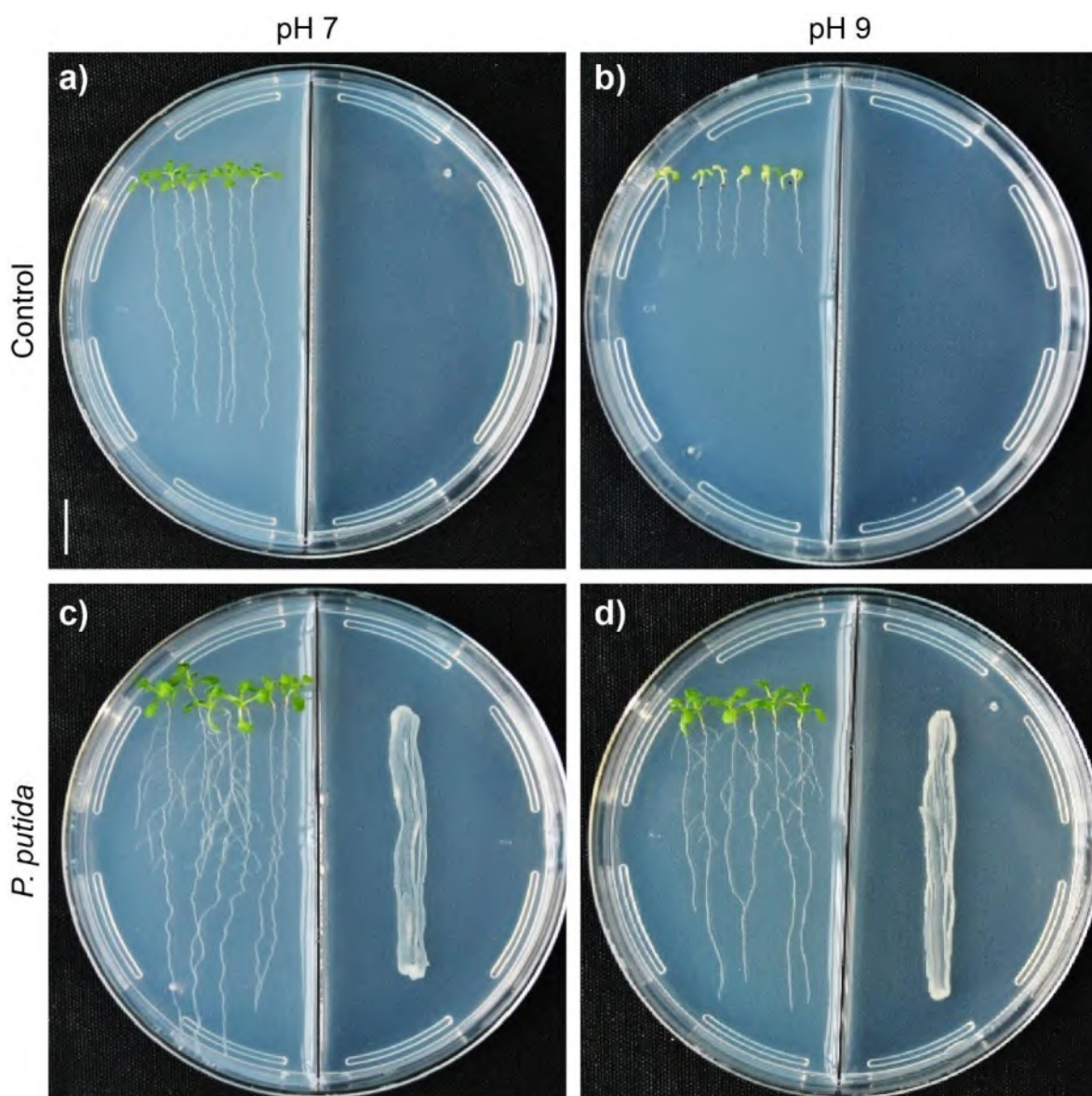


Figura 9. Efecto de los volátiles de *Pseudomonas putida* en el crecimiento de la raíz primaria y la formación de raíces laterales en plántulas de *Arabidopsis thaliana* crecidas en pH alcalino. Plántulas de *Arabidopsis thaliana* crecidas en pH 7 sin inocular (a), inoculadas con *P. putida* (c). Plántulas crecidas en pH 9 sin inocular (b), e) inoculadas con *P. putida* (d). Crecimiento de la raíz primaria (e), cuantificación de raíces laterales (f). El experimento incluyó 24 plantas por tratamiento.

6.7. Los volátiles de *P. putida* restauran la expresión inducible por auxinas en la línea transgénica *DR5:GUS* crecidas en condiciones de alcalinidad

Los metabolitos difusibles de bacterias como *P. putida* o *P. fluorescens* pueden incrementar los niveles auxínicos, promoviendo la formación de raíces laterales y la acumulación de biomasa tanto de follaje como de raíz ([Ortiz-Castro et al., 2020](#)). Para determinar si la estimulación del crecimiento mediada por volátiles en pH neutro y el restablecimiento del crecimiento de *Arabidopsis* en pH alcalino podía deberse a un incremento en los niveles de auxinas, se analizó la expresión del gen reportero *DR5:GUS*, observando que las plantas expuestas a los volátiles de *P. putida* presentan un incremento de la expresión en la punta de la raíz primaria como puede verse en color azul. Comparada con la expresión basal de las plantas crecidas en condiciones de pH neutro (**Fig. 10 a**) la respuesta auxínica desaparece en las plantas expuestas a pH 9 (**Fig. 10 c**), interesantemente al crecer las plantas en interacción con los volátiles de *P. putida* los niveles auxínicos se restauran en la punta de la raíz, lo cual puede explicar la recuperación en el crecimiento de la raíz primaria (**Fig. 10 b, d**).

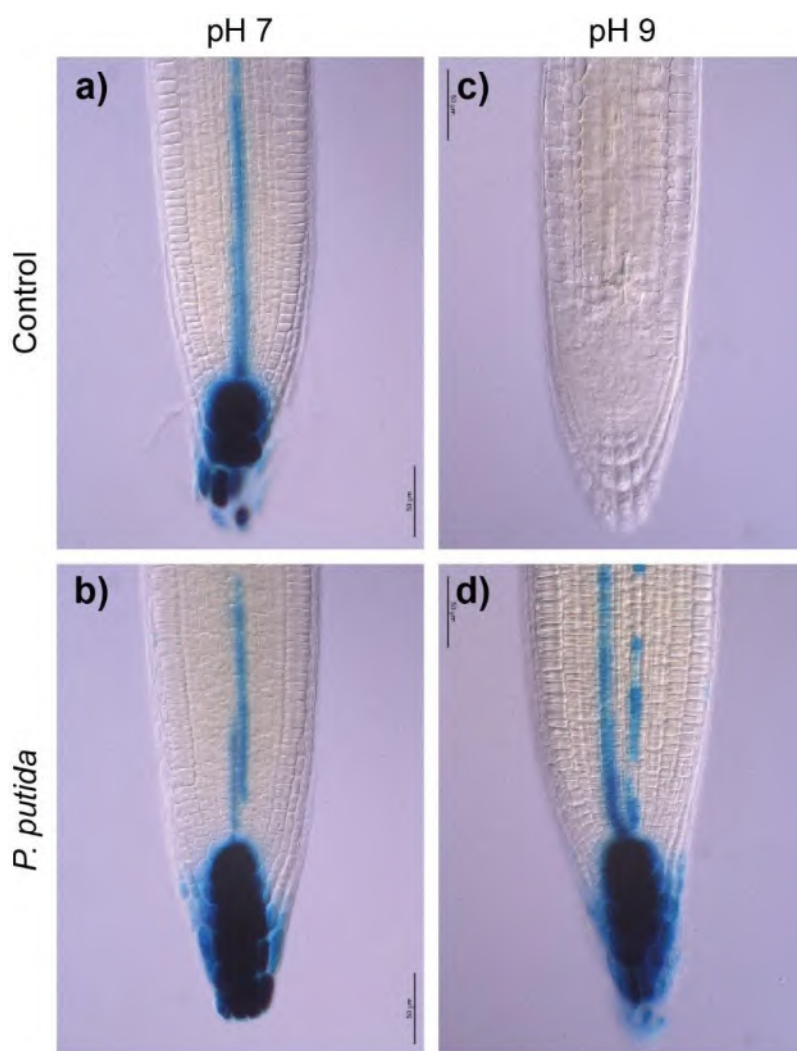


Figura 10. Efecto de la alcalinidad y los volátiles de *Pseudomonas putida* en la respuesta auxínica de la raíz primaria de *Arabidopsis thaliana*. Plantas transgénicas de *Arabidopsis* con el marcador *DR5:GUS* fueron transferidas a los 5 días después de la siembra a nuevas cajas de Petri con y sin inocular en pHs contrastantes. Expresión de GUS en la raíz primaria de plantas crecidas en pH 7 sin inocular (a), pH 9 sin inocular (c), pH 7 inoculadas con *P. putida* (b), pH 9 inoculadas con *P. putida* (d). Se muestran imágenes representativas de 12 individuos.

6.8. Los volátiles de *Solibacillus isronensis* no reestablecen el crecimiento de *Arabidopsis thaliana* expuestas a estrés alcalino

Cada microorganismo produce distintos compuestos orgánicos volátiles que pueden tener influencia en el crecimiento de la raíz primaria de las plantas, formación de raíces laterales y acumulación de biomasa foliar (Sharifi y Ryu 2018). Para establecer la especificidad de la respuesta mediada por volátiles bacterianos,

utilizamos cajas de Petri divididas a las cuales transferimos plántulas de 3 días de edad a medios con pH neutro y alcalino sin inocular e inoculadas con una bacteria Gram negativa (*P. putida*) o una bacteria Gram positiva (*S. isronensis*). Se observa que en contraste con los volátiles de *P. putida* (**Fig. 11 c**), los volátiles de *S. isronensis* (**Fig. 11 e**) no promueven el crecimiento de la raíz primaria comparado con las plantas control crecidas en un pH neutro (**Fig. 11 a**). Al hacer la interacción en pH 9, los volátiles de *S. isronensis* (**Fig. 11 f**) aunque si mejoran significativamente el crecimiento de la raíz primaria comparado con las plantas sin inocular (**Fig. 11 b**) el follaje sigue presentando problemas de clorosis y la raíz sigue siendo 4 veces más pequeña comparada con las de las plantas control crecidas en pH neutro. En contraste los volátiles de *P. putida* (**Fig. 11 d**) no solamente eliminan los síntomas de clorosis en el follaje si no que la raíz primaria crece más comparado con las plantas crecidas en pH neutro.

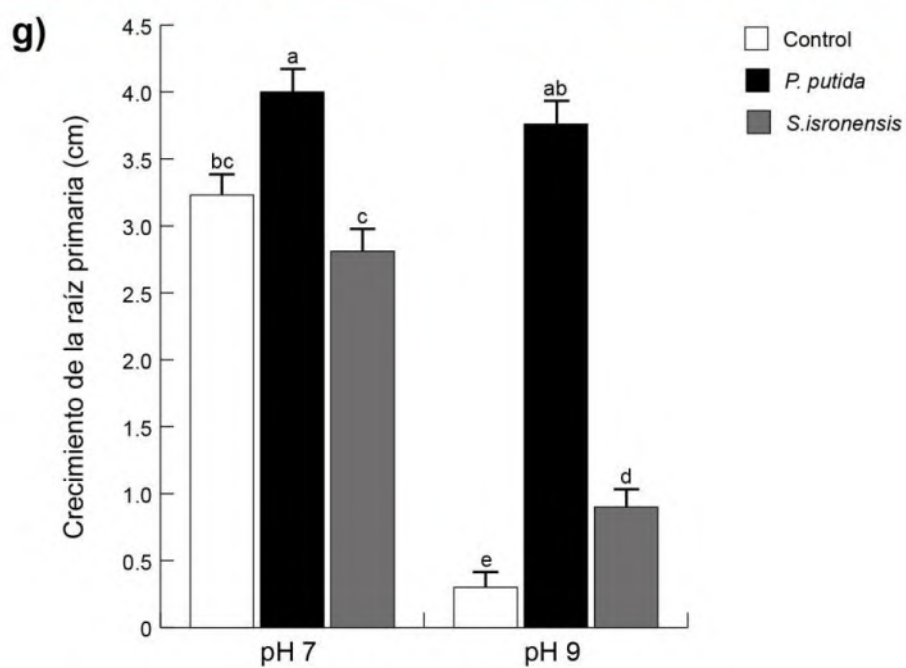
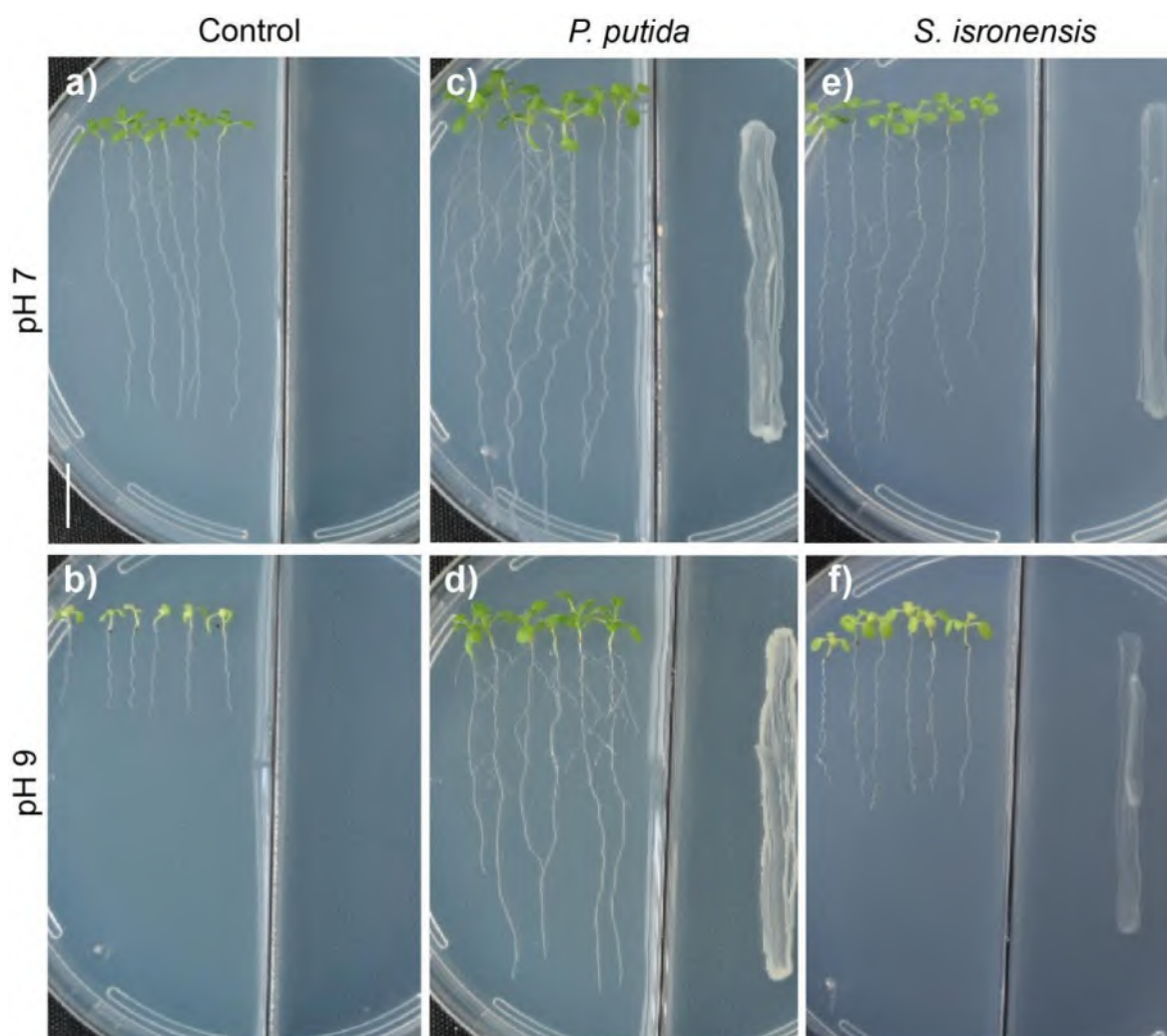


Figura 11. Comparación del crecimiento de plantas de *Arabidopsis thaliana* crecidas en pH neutro y alcalino, expuestas a volátiles de bacterias con características contrastantes. Plantas crecidas en pH neutro 7 sin inocular (a), pH 7 con volátiles de *P. putida* (c), pH 7 con volátiles de *S. isronensis* (e), pH 9 sin inocular (b), pH 9 con volátiles de *P. putida* (d), pH 9 con volátiles de *S. isronensis* (f), cuantificación del crecimiento de la raíz primaria (g). El experimento incluyó tres cajas de Petri independientes, conteniendo seis plantas cada una y el experimento se repitió tres veces con resultados similares.

7. Discusión y conclusiones

En los últimos años se han logrado avances importantes para entender el impacto que tiene el pH del suelo en el crecimiento y desarrollo de las plantas, así como los mecanismos que permiten la adaptación a la alcalinidad. La aplicación en el campo de la agricultura de estos avances es fundamental para alcanzar un manejo eficiente de los cultivos e incrementar la productividad bajo estrés ambiental. Un problema común tanto en suelos ácidos como alcalinos es la deficiencia de fosfato, ya que este anión se precipita con metales como el aluminio, que es abundante en suelos ácidos, y se combina con el calcio en suelos alcalinos causando su insolubilidad, lo que implica la necesidad de aplicar miles de toneladas de fertilizantes a nivel mundial ([Agegnehu et al., 2021](#)).

En este trabajo estudiamos como la alcalinidad del sustrato impacta sobre el crecimiento y desarrollo de *Arabidopsis thaliana*, con la finalidad de generar conocimientos extrapolables a otras especies, resaltando que aproximadamente el 25% de los suelos utilizados por los agricultores, principalmente en regiones áridas y semiáridas, tienen un pH alcalino ([Ramírez-Rodríguez et al., 2007](#); [Rengel 2015](#)). Se utilizó un sistema *in vitro* de cajas de agar con medio nutritivo MS 0.2x, ajustando el pH a 7.0, 7.5, 8.0, 8.5 y 9.0.

La condición de pH 7.0 se encuentra en un pH neutro y no causa estrés a *Arabidopsis* por lo cual nos sirvió de referencia para describir los efectos negativos del incremento en el pH del medio sobre las plantas, que incluyen la reducción del crecimiento tanto del follaje como de la raíz. Aunado a lo anterior, se observó la aparición de un color amarillento (clorosis) principalmente notorio en las plantas crecidas en pH de 9. Estos efectos del estrés alcalino se han documentado en

muchas especies de cultivos, particularmente en cereales y cítricos, y se cree que son causados por la formación de hidróxido férrico insoluble, así como la carencia de nitrato y fosfato (Li *et al.*, 2021; Lopes *et al.*, 2021). Aún queda por determinarse la forma como el pH afecta la nutrición mineral de *Arabidopsis* en las condiciones en que fue realizado este trabajo.

Las plantas pueden adaptarse a suelos alcalinos/calcareos mediante varias estrategias, incluida la disminución del pH a través de la exudación de protones o ácidos orgánicos como citrato, malato y oxalato, los efectos metabólicos de las comunidades microbianas también pueden contribuir en esta adaptación (López-Bucio *et al.*, 2000). En un estudio reciente, se caracterizaron las poblaciones microbianas asociadas a plantas cultivadas en suelos neutros y fuertemente alcalinos provenientes de dunas de arena mediante secuenciación de amplicones de ARNr 16S (Lopes *et al.*, 2021). El efecto más notable de las plantas ocurrió en la composición de sus microbiomas, lo que sugiere que factores fisiológicos de las plantas moldean las poblaciones microbianas para resistir el estrés alcalino. De hecho, hongos simbioses del género *Trichoderma* manifiestan una fuerte capacidad de acidificación del suelo a través de la extrusión de protones (Pelagio-Flores *et al.*, 2017), lo que puede ser parte del comportamiento adaptativo que mejora la supervivencia de las especies vegetales con las que se asocian.

Trabajos publicados recientemente se enfocaron en las respuestas adaptativas de las plantas ante el estrés alcalino (Li *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2012), sin embargo, hasta donde sabemos, no se habían realizado estudios previos para analizar la influencia del estrés alcalino en procesos críticos para la configuración de la arquitectura de la raíz, como la formación de raíces laterales. El uso de un medio semitransparente solidificado con agar para ajustar el pH permitió una caracterización detallada del crecimiento y la capacidad de ramificación de las raíces de las plántulas de *Arabidopsis* en condiciones de alcalinidad. Nuestros resultados muestran con claridad la reducción del crecimiento de la raíz primaria, lo cual nos indica que la alcalinidad modifica la disponibilidad de nutrientes del entorno y la capacidad general de las plantas para absorberlos del medio. Así, la disfunción

de la raíz también puede explicar por qué el follaje crece lentamente y no produce hojas en las plantas creciendo en un medio con pH de 9.0.

La revolución verde implementada en el siglo pasado contribuyó con la producción mundial de alimentos. No obstante, se ha señalado la importancia de la arquitectura de la raíz en la búsqueda de nuevas estrategias productivas ([Den Herder et al. 2010](#)), ya que una adecuada ramificación de las raíces puede optimizar el uso de fertilizantes, lo que conduce a un aumento en la biomasa foliar y producción de frutos y semillas, algo que se necesita con urgencia no solo en las regiones geográficas en los que predominan suelos marginales, sino también en suelos fértiles en los que se ha implementado el monocultivo.

La evaluación de los patrones de expresión de *CycB1:GUS*, *TOR:GUS*, *DR5:GUS* y *ARR5:GUS* en follaje y raíz, utilizando plántulas transgénicas que expresan estos reporteros, indicó cambios importantes en sus dominios de expresión correspondientes. *CycB1* es una ciclina mitótica que actúa en la transición G2-M del ciclo celular y se expresa específicamente en los meristemos de la raíz, mientras que *TOR* es una cinasa que responde a los azúcares y auxinas necesarios para la mitosis en los meristemos ([Li et al., 2017](#)). El hecho de que tanto la expresión de *CycB1* como la de *TOR* desaparecieran en las raíces primarias de *Arabidopsis* cultivadas en un medio con pH 9.0 indica el impacto negativo del estrés alcalino sobre la continuidad del ciclo celular y la señalización dependiente de *TOR* en los meristemos. La reducción de la expresión de los transgenes inducibles por auxinas (*DR5*) y citocininas (*ARR5*) indica además que las plantas bajo estrés alcalino pueden tener problemas para sostener la síntesis de estas fitohormonas, tal vez debido a la escasa producción de biomasa, lo que explicaría el nulo desarrollo de las hojas con el consecuente impacto negativo en la fotosíntesis. Algunos factores adicionales, como la indisponibilidad de fosfato, nitrato o hierro podrían ser críticos para mantener el crecimiento bajo estrés alcalino, ya que estos nutrientes se requieren para la producción de biomoléculas importantes para el funcionamiento de las células.

En su entorno natural, las plantas no están aisladas, sino que están colonizadas por una gran cantidad de especies de bacterias, protozoos y hongos que utilizan los exudados radiculares como fuente de carbono ([Lugtenberg y Kamilova 2009](#)). Estos microbios pueden contribuir a la resiliencia de las plantas bajo condiciones de crecimiento adversas, como la alcalinidad, mediante la liberación de una serie de compuestos promotores del crecimiento de las plantas ([Ravelo Ortega et al., 2023](#)). En este trabajo seleccionamos a *Pseudomonas putida* como una bacteria prometedora para ayudar a las plantas a resistir el estrés alcalino, por su propiedad de producir ciclodipéptidos con actividad auxínica, que promueven el desarrollo de la raíz ([Ortiz-Castro et al., 2019](#)). La interacción de *Arabidopsis* en tres diferentes sistemas de co-cultivo con la bacteria promovió la resistencia de las plantas a la alcalinidad. El efecto benéfico fue particularmente evidente en el sistema de interacción de placas divididas en las que la planta reacciona mediante la liberación de compuestos orgánicos volátiles emitidos por la bacteria. La naturaleza química de dichos volátiles aún queda por determinarse.

El análisis de la expresión del gen reportero inducible por auxinas *DR5:GUS* en las puntas de las raíces mostró claramente un aumento en la respuesta de auxinas en las plantas inoculadas con *P. putida*, lo que salvaguarda el meristemo bajo pH alcalino y explica la recuperación del crecimiento de las raíces. Queda pendiente evaluar el crecimiento de *Arabidopsis* en condiciones de alcalinidad en presencia de otros microorganismos probióticos que liberan volátiles y/o metabolitos que reducen el estrés oxidativo, mejoran la ramificación radicular y promueven el crecimiento de las plantas a través de la señalización de auxinas y TOR como *Azospirillum* ([Méndez-Gómez et al., 2020](#); [Mora et al., 2023](#)) y otras especies de *Pseudomonas* como las identificadas previamente en nuestro grupo ([López-Hernández et al., 2023](#)).

P. putida es una bacteria Gram negativa que utiliza un sistema de comunicación celular basado en la producción de AHLs ([Ortiz-Castro et al., 2019](#)). Las AHL están formadas por una cadena de ácido graso de longitud variable y un grupo homoserina lactona. La liberación celular de AHLs ocurre a alta densidad poblacional y ayuda a

las bacterias para sincronizar el crecimiento, la producción de biopelículas y comportamientos como la virulencia o la simbiosis. El tratamiento de plántulas de *Arabidopsis* con AHLs modifica la arquitectura de la raíz (Ortiz-Castro *et al.*, 2008), por lo que consideramos que la respuesta de crecimiento de *Arabidopsis* ante la inoculación con *P. putida* dependería, al menos en parte, de la secreción de AHLs. Esta hipótesis se fortalece con el hecho de que las plantas poseen metabolitos bioactivos comparables en estructura con las AHL, como las alcanidas y las *N*-acil-etanolaminas (Ramírez-Chávez *et al.*, 2004; Blancaflor *et al.*, 2014), las cuáles regulan el crecimiento y ramificación de la raíz, y abren la posibilidad de que esta familia de lípidos contribuya con el reconocimiento entre organismos de diferentes reinos. Hasta qué punto el tratamiento con AHLs y/o ciclodiéptidos contribuye con la resistencia al estrés ambiental, y en particular en un ambiente alcalino queda por esclarecerse.

En conclusión, nuestro trabajo avanza el conocimiento de las interacciones planta-bacteria en la adaptación de las plantas a la alcalinidad. Es posible que *P. putida* modifique el medio circundante a través de la secreción de protones y/o ácidos orgánicos, disminuyendo de esta manera el pH de la rizosfera y haciéndola favorable para el crecimiento de las plantas. La secreción de IAA en sí misma puede ayudar a reducir el pH y, al mismo tiempo, estimular la ramificación de las raíces, lo que contribuye a una exploración más eficiente del suelo y a la extracción de nutrientes, en particular fosfato y hierro, que son fuertemente limitantes a medida que aumenta el pH del medio.

8. Referencias

- Abbas M, Abid MA, Meng Z, Abbas M, Wang P, Lu C, Askari M, Akram U, Ye Y, Wei Y, Wang Y, Guo S, Liang C, Zhang R. 2022. Integrating advancements in root phenotyping and genome-wide association studies to open the root genetics gateway. *Physiol Plant* 174(6):e13787. doi:10.1111/ppl.13787.
- Aburto JM, Villavicencio F, Basellini U, Kjærgaard S, Vaupel JW. 2020. Dynamics of life expectancy and life span equality. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 117(10):5250-5259. doi: 10.1073/pnas.1915884117.
- Agegnehu, G, Amede T, Erkossa T, Yirga C, Henry C, Tyler R, Nosworthy MG, Beyene S, Sileshi GW. 2021. Extent and management of acid soils for sustainable crop production system in the tropical agroecosystems: a review, *Acta Agriculturae Scandinavica*, 71:9, 852-869.
- Alemneh AA, Cawthray GR, Zhou Y, Ryder MH, Denton MD. 2021. Ability to produce indole acetic acid is associated with improved phosphate solubilising activity of rhizobacteria. *Arch Microbiol* 203(7):3825-3837. doi:10.1007/s00203-021-02364-w.
- Aloni R, Aloni E, Langhans M, Ullrich CI. 2006. Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. *Ann Bot* 97(5):883-893.
- Anand G, Gupta R, Marash I, Leibman-Markus M, Bar M. 2022. Cytokinin production and sensing in fungi. *Microbiol Res*. 262:127103. doi: 10.1016/j.micres.2022.127103.
- Arabidopsis Genome Initiative. 2000. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408:796–815. <https://doi.org/10.1038/35048692>.
- Audrain B, Farag MA, Ryu CM, Ghigo JM. 2015. Role of bacterial volatile compounds in bacterial biology, *FEMS Microbiology Reviews*, 39, 222–233.
- Barrera-Ortiz S, Balderas-Ruíz KA, López-Bucio JS, López-Bucio J, Flores C, Galindo E, Serrano-Carreón L, Guevara-García AA. 2023. A *Bacillus velezensis* strain improves growth and root system development in *Arabidopsis thaliana* through cytokinin signaling, *Rhizosphere* 28:100815. doi:10.1016/j.rhisph.2023.100815.
- Binks H, E Vincent G, Gupta C, Irwin C, Khalesi S. 2020. Effects of diet on sleep: a narrative review. *Nutrients*. 12(4):936. doi: 10.3390/nu12040936.
- Blancaflor EB, Kilaru A, Keereetawee J, Khan BR, Faure L, Chapman KD. 2014. *N*-Acylethanolamines: lipid metabolites with functions in plant growth and development. *Plant J*. 79, 568-583. doi: 10.1111/tpj.12427.

Calderán-Rodríguez MJ, Luzarowski M, Monte-Bello CC, Minen RI, Zühlke BM, Nikoloski Z, Skirycz A, Caldana C. 2021. Proteogenic dipeptides are characterized by diel fluctuations and target of rapamycin complex-signaling dependency in the model plant *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci* 12:758933. doi:10.3389/fpls.2021.758933.

Carrillo-Carrasco VP, Hernandez-Garcia J, Mutte SK, Weijers D. 2023. The birth of a giant: evolutionary insights into the origin of auxin responses in plants. *EMBO J*. 42(6):e113018. doi: 10.15252/embj.2022113018.

Chakraborty J. 2023. Microbiota and the plant immune system work together to defend against pathogens. *Arch Microbiol*. 205(10):347. doi: 10.1007/s00203-023-03684-9.

Chand A. 2023. Fertilizer use and ocean eutrophication. *Nat Food* 4(5):351. doi:10.1038/s43016-023-00763-4.

Chang YY, Mitra S, Yu SJ. 2023. Maintenance of abiotic stress memory in plants: Lessons learned from heat acclimation. *Plant Cell*. 35(1):187-200. doi: 10.1093/plcell/koac313.

Chen Z, Wang L, Cardoso JA, Zhu S, Liu G, Rao IM, Lin Y. 2023. Improving phosphorus acquisition efficiency through modification of root growth responses to phosphate starvation in legumes. *Front Plant Sci* 14:1094157. doi:10.3389/fpls.2023.1094157.

Concha C, Doerner P. 2020. The impact of the rhizobia-legume symbiosis on host root system architecture. *J Exp Bot* 71:3902-3921. doi:10.1093/jxb/eraa198.

Dash PK, Rai R. 2022. Green revolution to grain revolution: Florigen in the frontiers. *J Biotechnol* 343:38-46. doi: 10.1016/j.jbiotec.2021.10.002.

Den Herder G, Van Isterdael G, Beeckman T, De Smet I. 2010. The roots of a new green revolution. *Trends Plant Sci*. 15(11):600-7. doi: 10.1016/j.tplants.2010.08.009.

Du Y, Scheres B. 2018. Lateral root formation and the multiple roles of auxin. *J Exp Bot* 69(2):155-167. doi:10.1093/jxb/erx223.

Du B, Haensch R, Alfarraj S, Rennenberg H. 2024. Strategies of plants to overcome abiotic and biotic stresses. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 99(4):1524-1536. doi: 10.1111/brv.13079.

Duan Y, Han M, Grimm M, Ponath J, Reichelt M, Mithöfer A, Schikora A. 2023. Combination of bacterial *N*-acyl homoserine lactones primes *Arabidopsis* defenses via jasmonate metabolism. *Plant Physiol* 191:2027-2044. doi:10.1093/plphys/kiad017.

Eljebbawi A, Dolata A, Strotmann VI, Stahl Y. 2024. Stem cell quiescence and dormancy in plant meristems. *J Exp Bot.* 75(19):6022-6036. doi: 10.1093/jxb/erae201.

Enders TA, Strader LC. 2015. Auxin activity: Past, present, and future. *Am J Bot.* 102(2):180-96. doi: 10.3732/ajb.1400285.

Esparza-Reynoso S, Ruíz-Herrera LF, Pelagio-Flores R, Macías-Rodríguez LI, Martínez-Trujillo M, López-Coria M, Sánchez-Nieto S, Herrera-Estrella A, López-Bucio J. 2021. *Trichoderma atroviride*-emitted volatiles improve growth of *Arabidopsis* seedlings through modulation of sucrose transport and metabolism. *Plant Cell Environ.* 44(6):1961-1976.

Esparza-Reynoso S, Ayala-Rodríguez JA, López-Bucio J. 2024. *Pseudomonas putida* configures *Arabidopsis* root architecture through modulating the sensing systems for phosphate and iron acquisition. *Plant Sci* 342:112028. doi:10.1016/j.plantsci.2024.112028.

Fitzpatrick CR, Salas-González I, Conway JM, Finkel OM, Gilbert S, Russ D, Teixeira PJPL, Dangl JL. 2020. The plant microbiome: From ecology to reductionism and beyond. *Annu Rev Microbiol.* 74:81-100.

Fonteyne S, Castillo Caamal JB, Lopez-Ridaura S, Van Loon J, Espidio Balbuena J, Osorio Alcalá L, Martínez Hernández F, Odjo S and Verhulst N. 2023. Review of agronomic research on the milpa, the traditional polyculture system of Mesoamerica. *Front Agron* 5:1115490. doi:10.3389/fagro.2023.1115490.

Frébortová J, Frébort I. 2021. Biochemical and structural aspects of cytokinin biosynthesis and degradation in bacteria. *Microorganisms.* 9(6):1314. doi: 10.3390/microorganisms9061314.

Fuller DQ, Denham T, Allaby R. 2023. Plant domestication and agricultural ecologies. *Curr Biol.* 33(11):R636-R649. doi: 10.1016/j.cub.2023.04.038.

Gao M, Zhang C, Lu H. 2020. Coronatine is more potent than jasmonates in regulating *Arabidopsis* circadian clock. *Sci Rep* 10:12862. doi:10.1038/s41598-020-69627-2.

García-Cárdenas E, Ortiz-Castro R, Ruiz-Herrera LF, Valencia-Cantero E, López-Bucio J. 2022. *Micrococcus luteus* LS570 promotes root branching in *Arabidopsis* via decreasing apical dominance of the primary root and an enhanced auxin response. *Protoplasma* 259:1139-1155. doi:10.1007/s00709-021-01724-z.

García-Cárdenas E, Ortiz-Castro R, Ruiz-Herrera LF et al. 2023. *Bacillus* sp. LC390B from the Maize rhizosphere improves plant biomass, root elongation, and

branching and requires the phytochromes PHYA and PHYB for phytostimulation. J Plant Growth Regul 42:3056-3070. doi:10.1007/s00344-022-10770-7.

Garnica-Vergara A, Barrera-Ortiz S, Muñoz-Parra E, Raya-González J, Méndez-Bravo A, Macías-Rodríguez L, Ruiz-Herrera LF, López-Bucio J. 2016. The volatile 6-pentyl-2H-pyran-2-one from *Trichoderma atroviride* regulates *Arabidopsis thaliana* root morphogenesis via auxin signaling and ETHYLENE INSENSITIVE 2 functioning. New Phytol 209:1496-512. doi:10.1111/nph.13725.

Gentili R, Ambrosini R, Montagnani C, Caronni S, Citterio S. 2018. Effect of soil pH on the growth, reproductive investment and pollen allergenicity of *Ambrosia artemisiifolia* L. Front Plant Sci. 20:1335.

Giehl RF, von Wirén N. 2014. Root nutrient foraging. Plant Physiol 166:509-517. doi:10.1104/pp.114.245225.

Gilroy S. 2008. Plant tropisms. Curr Biol. 18(7):R275-7. doi: 10.1016/j.cub.2008.02.033.

González-Ista NS, Castro-Mercado E, la Cruz HR, Campos-García J, López-Bucio J, García-Pineda E. 2023. Comparison of the rhizobacteria *Serratia* sp. H6 and *Enterobacter* sp. L7 on *Arabidopsis thaliana* growth promotion. Current Microbiol 80:117. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03227-x>.

González-López O, Palacios-Nava B, Peña-Urbe CA, Campos-García J, López-Bucio J, García-Pineda E, Reyes de la Cruz H. 2021. Growth promotion in *Arabidopsis thaliana* by bacterial cyclodipeptides involves the TOR/S6K pathway activation. J Plant Physiol 257:153343. doi:10.1016/j.jplph.2020.153343.

Gutaker RM, Purugganan MD. 2024. Adaptation and the geographic spread of crop species. Annu Rev Plant Biol. 2024 Jul;75(1):679-706. doi: 10.1146/annurev-arplant-060223-030954.

Hayes PE, Guilherme Pereira C, Clode PL, Lambers H. 2019. Calcium-enhanced phosphorus toxicity in calcifuge and soil-indifferent Proteaceae along the Jurien Bay chronosequence. New Phytol 221:764-777.

Herburger K, Schoenaers S, Vissenberg K, Mravec J. 2022. Shank-localized cell wall growth contributes to *Arabidopsis* root hair elongation. Nat Plants 8:1222-1232. doi:10.1038/s41477-022-01259-y.

Hinsinger P, Plassard C, Tang C, Jaillard B. 2003. Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. Plant and Soil 248:43–59.

Howell SH, Lall S, Che P. Cytokinins and shoot development. 2003. Trends Plant Sci. 8(9):453-9. doi: 10.1016/S1360-1385(03)00191-2.

Huerta-Venegas PI, Raya-González J, López-García CM, Barrera-Ortiz S, Ruiz-Herrera LF, López-Bucio J 2022. Mutation of MEDIATOR16 promotes plant biomass accumulation and root growth by modulating auxin signaling. Plant Sci 314:111117.

Huttly A 2009. Reporter Genes. In: Jones H, Shewry P (eds) Transgenic wheat, barley and oats. Methods in molecular biology, Humana Press, p 39-69.

IGBP-DIS (1998) SoilData(V.0) A program for creating global soil-property databases, IGBP Global Soils Data Task, France.

Jiménez-Vázquez KR, García-Cárdenas E, Barrera-Ortiz S, Ortiz-Castro R, Ruiz-Herrera LF, Ramos-Acosta BP, Coria-Arellano JL, Sáenz-Mata J, López-Bucio J. 2020. The plant beneficial rhizobacterium *Achromobacter* sp. 5B1 influences root development through auxin signaling and redistribution. Plant J 103:1639-1654. doi:10.1111/tbj.14853.

Jiménez-Vázquez KR, López-Hernández J, García-Cárdenas E, Pelagio-Flores R, López-Bucio JS, Téxon AC, Ibarra-Laclette E, López-Bucio J. 2024. The plant growth promoting rhizobacterium *Achromobacter* sp. 5B1, rescues Arabidopsis seedlings from alkaline stress by enhancing root organogenesis and hormonal responses. Microbiol Res 281:127594. doi: 10.1016/j.micres.2023.127594.

Jones JDG, Staskawicz BJ, Dangl JL. 2024. The plant immune system: From discovery to deployment. Cell. 187(9):2095-2116. doi: 10.1016/j.cell.2024.03.045.

Junker RR, Tholl D. 2013. Volatile organic compound mediated interactions at the plant-microbe interface. 2013. J Chem Ecol 39, 810–825. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0325-9>.

Kieber JJ, Schaller GE. 2018. Cytokinin signaling in plant development. Development. 145(4):dev149344. doi: 10.1242/dev.149344.

Kirkby E. 2012. Chapter 1 - Introduction, definition and classification of nutrients. En P. Marschner (Ed.), *Marschner's mineral nutrition of higher plants* (3.^a ed., pp. 3–5). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00001-7>

Komarnytsky S, Retchin S, Vong CI, Lila MA. 2022. Gains and losses of agricultural food production: Implications for the twenty-first century. Annu Rev Food Sci Technol. 13:239-261. doi: 10.1146/annurev-food-082421-114831.

Korenblum E, Dong Y, Szymanski J, Panda S, Jozwiak A, Massalha H, Meir S, Rogachev I, Aharoni A. 2020. Rhizosphere microbiome mediates systemic root

metabolite exudation by root-to-root signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 117(7):3874-3883.

Kotula L, Clode PL, Ranathunge K, Lambers H. 2021. Role of roots in adaptation of soil-indifferent Proteaceae to calcareous soils in south-western Australia, *Journal of Experimental Botany* 72: 1490-1505.

Koyama H, Toda T, Hara T. 2001. Brief exposure to low-pH stress causes irreversible damage to the growing root in *Arabidopsis thaliana*: pectin–Ca interaction may play an important role in proton rhizotoxicity, *Journal of Experimental Botany* 52: 361-368.

Krämer U. 2015. Planting molecular functions in an ecological context with *Arabidopsis thaliana*. *Elife*;4:e06100.

Laxminarayan R, Matsoso P, Pant S, Brower C, Røttingen JA, Klugman K, Davies S. 2016. Access to effective antimicrobials: a worldwide challenge. *Lancet*. 387(10014):168-75. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00474-2.

Lee JA. 1998. The Calcicole-Calcifuge problem revisited. *Advances in Botanical Research*, 29: 1-30.

Letham DS. 1963. Zeatin, a factor inducing cell division isolated from *Zea mays*. *Life Sci*. 8(8), 569-573.

Li J, Cao X, Jia X, Liu L, Cao H, Qin W, Li M. 2021. Iron deficiency leads to chlorosis through impacting chlorophyll synthesis and nitrogen metabolism in *Areca catechu* L. *Front Plant Sci* 12:710093.

Li X, Xi B, Wu X, Choat B, Feng J, Jiang M, Tissue D. 2022. Unlocking drought-induced tree mortality: physiological mechanisms to modeling. *Front Plant Sci*. 13:835921. doi: 10.3389/fpls.2022.835921.

Li J, Song Y. 2024. Plant thermosensors. *Plant Sci*. 342:112025. doi: 10.1016/j.plantsci.2024.112025.

Liang G. 2022. Iron uptake, signaling, and sensing in plants. *Plant Commun* 3:100349. doi:10.1016/j.xplc.2022.100349.

Liu J, Moore S, Chen C, Lindsey K. 2017. Crosstalk complexities between auxin, cytokinin, and ethylene in *Arabidopsis* root development: From experiments to systems modeling, and back again. *Mol Plant* 10(12):1480-1496.

Liu J, Xia S, Zeng D, Liu C, Li Y, Yang W, Yang B, Zhang J, Slik F, Lindenmayer DB. 2022. Age and spatial distribution of the world's oldest trees. *Conserv Biol*. doi: 10.1111/cobi.13907.

- Liu Y, Mu C, Du D, Yang Y, Li L, Xuan W, Kircher S, Palme K, Li X, Li R. 2022. Alkaline stress reduces root waving by regulating PIN7 vacuolar transport. *Front Plant Sci.* 13, 1049144. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1049144>.
- Liu Q, Peng C, Schneider R, Cyr D, McDowell NG, Kneeshaw D. 2023. Drought-induced increase in tree mortality and corresponding decrease in the carbon sink capacity of Canada's boreal forests from 1970 to 2020. *Glob Chang Biol.* 29(8):2274-2285. doi: 10.1111/gcb.16599.
- López-Arredondo DL, Leyva-González MA, González-Morales SI, López-Bucio J, Herrera-Estrella L. 2014. Phosphate nutrition: improving low-phosphate tolerance in crops. *Annu Rev Plant Biol* 65:95-123. doi:10.1146/annurev-arplant-050213-035949.
- López-Bucio J, Hernández-Abreu E, Sánchez-Calderón L, Nieto-Jacobo MF, Simpson J, Herrera-Estrella L. 2002. Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. *Plant Physiol.* 129(1):244-256.
- López-Bucio J, Ortiz-Castro R, Magaña-Dueñas V, García-Cárdenas E, Jiménez-Vázquez KR, Raya-González J, Pelagio-Flores R, Ibarra-Laclette E, Herrera-Estrella L. 2023. *Pseudomonas aeruginosa* LasI-dependent plant growth promotion requires the host nitrate transceptor AtNRT1.1/CHL1 and the nitrate reductases NIA1 and NIA2. *Planta* 258:80. <https://doi.org/10.1007/s00425-023-04236-7>.
- López-Bucio JS, Salmerón-Barrera GJ, Ravelo-Ortega G, Raya-González J, León P, Reyes de la Cruz H, Campos-García J, López-Bucio J, Guevara-García AA. 2019. Mitogen-activated protein kinase 6 integrates phosphate and iron responses for indeterminate root growth in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 250:1177-1189. doi:10.1007/s00425-019-03212-4.
- López-Hernández J, García-Cárdenas E, López-Bucio JS *et al.* 2023. Screening of phosphate solubilization identifies six *Pseudomonas* species with contrasting phytostimulation properties in *Arabidopsis* seedlings. *Microb Ecol* 86, 431–445 <https://doi.org/10.1007/s00248-022-02080-y>.
- Lopes LD, Hao J, Schachtman DP. 2021. Alkaline soil pH affects bulk soil, rhizosphere and root endosphere microbiomes of plants growing in a sandhills ecosystem. *FEMS Microbiol Ecol.* 97(4):fiab028.
- Lugtenberg B, Kamilova F. 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu Rev Microbiol.* 63, 541-56. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>.
- Mano H, Hasebe M. 2021. Rapid movements in plants. *J Plant Res.* 134(1):3-17. doi: 10.1007/s10265-020-01243-7.

Maqbool S, Hassan MA, Xia X, York LM, Rasheed A, He Z. 2022. Root system architecture in cereals: progress, challenges and perspective. *Plant J* 110(1):23-42. doi:10.1111/tpj.15669.

Mazzoni-Putman SM, Brumos J, Zhao C, Alonso JM, Stepanova AN. 2021. Auxin interactions with other hormones in plant development. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 13(10):a039990. doi: 10.1101/cshperspect.a039990.

Méndez-Gómez M, Castro-Mercado E, Peña-Urbe CA, Reyes de la Cruz H, López-Bucio J, García-Pineda E. 2020. *Azospirillum brasilense* Sp245 lipopolysaccharides induce target of rapamycin signaling and growth in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Physiol* 253:153270. doi:10.1016/j.jplph.2020.153270.

Méndez-Gómez M, Barrera-Ortiz S, Castro-Mercado E, López-Bucio J, García-Pineda E. 2021. The nature of the interaction *Azospirillum-Arabidopsis* determines the molecular and morphological changes in root and plant growth promotion. *Protoplasma* 258:179-189. doi:10.1007/s00709-020-01552-7.

Miller CO, Skoog F, Okumura FS, von Saltza MH, Strong FM. 1955. Structure and synthesis of kinetin. *J. Am. Chem. Soc.* 78, 2662-2663.

Mora V, López G, Molina R, Coniglio A, Nievas S, De Diego N, Cavar Zeljković S, Salcedo Sarmiento S, Spíchal L, Robertson S, Wilkins O, Elías J, Pedraza R, Estevez JM, Belmonte MF, Cassán F. 2023. *Azospirillum argentinense* modifies *Arabidopsis* root architecture through auxin-dependent pathway and flagellin. *J Soil Sci Plant Nutr* 234:543.4557. <https://doi.org/10.1007/s42729-023-01371-8>.

Moreira D, Le Guyader H, Philippe H. 2000. The origin of red algae and the evolution of chloroplasts. *Nature* 405(6782):69-72. doi: 10.1038/35011054.

Nakamura M, Nishimura T, Morita MT. 2019. Gravity sensing and signal conversion in plant gravitropism. *J Exp Bot.* 70(14):3495-3506. doi: 10.1093/jxb/erz158.

Naumann C, Heisters M, Brandt W, Janitza P, Alfs C, Tang N, Toto Nienguesso A, Ziegler J, Imre R, Mechtler K, Dagdas Y, Hoehenwarter W, Sawers G, Quint M, Abel S. 2022. Bacterial-type ferroxidase tunes iron-dependent phosphate sensing during *Arabidopsis* root development. *Curr Biol* 32:2189-2205.e6. doi: 10.1016/j.cub.2022.04.005.

Nicotra AB, Atkin OK, Bonser SP, Davidson AM, Finnegan EJ, Mathesius U, Poot P, Purugganan MD, Richards CL, Valladares F, van Kleunen M. 2010. Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends Plant Sci.* 15(12):684-92. doi: 10.1016/j.tplants.2010.09.008.

Nobori T, Tsuda K. 2019. The plant immune system in heterogeneous environments. *Curr Opin Plant Biol.* 50:58-66. doi: 10.1016/j.pbi.2019.02.003.

Ogura T, Goeschl C, Filiault D, Mirea M, Slovak R, Wolhrab B, Satbhai SB, Busch W. 2019. Root system depth in *Arabidopsis* is shaped by EXOCYST70A3 via the dynamic modulation of auxin transport. *Cell* 178:400-412.e16.

Ortíz-Castro R, Martínez-Trujillo M, López-Bucio J. 2008. *N*-acyl-*L*-homoserine lactones: a class of bacterial quorum-sensing signals alter post-embryonic root development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ* 31:1497-509.

Ortiz-Castro R, Díaz-Pérez C, Martínez-Trujillo M, del Río RE, Campos-García J, López-Bucio J. 2011. Transkingdom signaling based on bacterial cyclodipeptides with auxin activity in plants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:7253-7258.

Ortiz-Castro R, López-Bucio J. 2019. Review: Phytostimulation and root architectural responses to quorum-sensing signals and related molecules from rhizobacteria. *Plant Sci.* 284:135-142. doi: 10.1016/j.plantsci.2019.04.010.

Ortiz-Castro R, Campos-García J, López-Bucio J. 2020. *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* influence *Arabidopsis* root system architecture through an auxin response mediated by bioactive cyclodipeptides. *J Plant Growth Regul* 39:254-265. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09979-w>.

Pantigoso HA, Newberger D, Vivanco JM. 2022. The rhizosphere microbiome: Plant-microbial interactions for resource acquisition. *J Appl Microbiol.* 133(5):2864-2876. doi: 10.1111/jam.15686.

Pastor N, Rosas S, Luna M, Rovera M. 2014. Inoculation with *Pseudomonas putida* PCI2, a phosphate solubilizing rhizobacterium, stimulates the growth of tomato plants. *Symbiosis* 62(3):157-167. doi:10.1007/s13199-014-0281-3.

Pazarlar S, Cetinkaya N, Bor M, Kara RS. 2020. *N*-acyl homoserine lactone-mediated modulation of plant growth and defense against *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber. *J Exp Bot* 71:6638-6654. doi:10.1093/jxb/eraa384.

Peix A, Rivas R, Santa-Regina I, Mateos PF, Martínez-Molina E, Rodríguez-Barrueco C, Velázquez E. 2004. *Pseudomonas lutea* sp. nov., a novel phosphate-solubilizing bacterium isolated from the rhizosphere of grasses. *Int J Syst Evol Microbiol* 54(Pt 3):847-850. doi:10.1099/ijs.0.02966-0.

Pelagio-Flores R, Esparza-Reynoso S, Garnica-Vergara A, López-Bucio J, Herrera-Estrella A. 2017. *Trichoderma*-induced acidification is an early trigger for changes in *Arabidopsis* root growth and determines fungal phytostimulation. *Front Plant Sci.* 17;8:822.

Pereira C, Hayes PE, Clode PL, Lambers H. 2021. Phosphorus toxicity, not deficiency, explains the calcifuge habit of phosphorus-efficient Proteaceae. *Physiol Plant* 172:1724-1738.

- Pérez-Flores P, Valencia-Cantero E, Altamirano-Hernández J, Pelagio-Flores R, López-Bucio J, García-Juárez P, Macías-Rodríguez L. 2017. *Bacillus methylotrophicus* M4-96 isolated from maize (*Zea mays*) rhizoplane increases growth and auxin content in *Arabidopsis thaliana* via emission of volatiles. *Protoplasma* 254:2201-2213. <https://doi.org/10.1007/s00709-017-1109-9>.
- Petipas RH, Geber MA, Lau JA. 2021. Microbe-mediated adaptation in plants. *Ecol Lett* 24:1302-1317. doi:10.1111/ele.13755.
- Pieterse CM, Van der Does D, Zamioudis C, Leon-Reyes A, Van Wees SC. 2012. Hormonal modulation of plant immunity. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 28:489-521. doi: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154055.
- Ponomarenko AG. 2015. Early evolutionary stages of soil ecosystems. *Biol Bull Rev* 5, 267–279. <https://doi.org/10.1134/S207908641503007X>.
- Poupin MJ, Timmermann T, Vega A, Zuñiga A, González B. 2013. Effects of the plant growth-promoting bacterium *Burkholderia phytofirmans* PsJN throughout the life cycle of *Arabidopsis thaliana*. *PLOS ONE*. 15:e69435. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069435>.
- Purugganan MD. 2022. What is domestication? *Trends Ecol Evol*. 37(8):663-671. doi: 10.1016/j.tree.2022.04.006.
- Ramírez-Chávez E, López-Bucio J, Herrera-Estrella L, Molina-Torres J. 2004. Alkamides isolated from plants promote growth and alter root development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*. 134, 1058-1068. doi: 10.1104/pp.103.034553.
- Ramírez-Rodríguez V, López-Bucio J, Herrera-Estrella L. 2007. Adaptive responses in plants to nonoptimal soil pH. In *Plant Abiotic Stress*. eds. M. A. Jenks and P. M. Hasegawa (Oxford: Blackwell Publishing Ltd.), 145–170.
- Ravelo-Ortega G, Raya-González J, López-Bucio J. 2023. Compounds from rhizosphere microbes that promote plant growth. *Curr Opin Plant Biol*. 73, 102336. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2023.102336>.
- Rengel Z. 2015. Availability of Mn, Zn and Fe in the rhizosphere. *J. Soil Sci. Plant Nutr*. 15, 397-409.
- Riaz N, Gueriot ML. 2021. All together now: regulation of the iron deficiency response. *J Exp Bot* 72:2045-2055. doi:10.1093/jxb/erab003.
- Robe K, Barberon M. 2023. Nutrient carriers at the heart of plant nutrition and sensing. *Curr Opin Plant Biol*. 74:102376. doi: 10.1016/j.pbi.2023.102376.
- Roychoudhry S, Kepinski S. 2022. Auxin in root development. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 14(4):a039933. doi: 10.1101/cshperspect.a039933.

Ruiz-Aguilar B, Raya-González J, López-Bucio JS, Reyes de la Cruz H, Herrera-Estrella L, Ruiz-Herrera LF, Martínez-Trujillo M, López-Bucio J. 2020. Mutation of MEDIATOR 18 and chromate trigger twinning of the primary root meristem in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ.* 43:1989-1999.

Salvi E, Rutten JP, Di Mambro R, Polverari L, Licursi V, Negri R, Dello Ioio R, Sabatini S, Ten Tusscher KA. 2020. Self-organized PLT/auxin/ARR-B network controls the dynamics of root zonation development in *Arabidopsis thaliana*. *Dev Cell* 53(4):431-443.e23.

Sánchez-Cañizares C, Jorrín B, Poole PS, Tkacz A. 2017. Understanding the holobiont: the interdependence of plants and their microbiome. *Curr Opin Microbiol* 38:188-196. doi:10.1016/j.mib.2017.07.001.

Schaller GE, Bishopp A, Kieber JJ. 2015. The yin-yang of hormones: cytokinin and auxin interactions in plant development. *Plant Cell.* 27(1):44-63. doi: 10.1105/tpc.114.133595.

Schikora A, Schenk ST, Stein E, Molitor A, Zuccaro A, Kogel KH. 2011. *N*-acyl-homoserine lactone confers resistance toward biotrophic and hemibiotrophic pathogens via altered activation of AtMPK6. *Plant Physiol* 157(3):1407-1418. doi:10.1104/pp.111.180604.

Sharifi R, Ryu CM. 2018. Sniffing bacterial volatile compounds for healthier plants. *Curr Opin Plant Biol.*44:88-97. doi: 10.1016/j.pbi.2018.03.004.

Seregin IV, Kozhevnikova AD. 2024. The role of low-molecular-weight organic acids in metal homeostasis in plants. *Int J Mol Sci* 25(17):9542. doi: 10.3390/ijms25179542.

Shavrukov Y, Hirai Y. 2016. Good and bad protons: genetic aspects of acidity stress responses in plants, *Journal of Experimental Botany* 67:15-30.

Shin J, Bae S, Seo PJ. 2020. De novo shoot organogenesis during plant regeneration. *J Exp Bot.* 71(1):63-72. doi: 10.1093/jxb/erz395.

Singh J, van der Knaap E. 2022. Unintended consequences of plant domestication. *Plant Cell Physiol.* 63(11):1573-1583. doi: 10.1093/pcp/pcac083.

Smith S, De Smet I. 2012 Root system architecture: insights from *Arabidopsis* and cereal crops. *Phil. Trans. R. Soc.* B367:1441–1452.

Solis-Ortiz CS, Gonzalez-Bernal J, Kido-Díaz HA, Peña-Urbe CA, López-Bucio JS, López-Bucio J, Guevara-García AA, García-Pineda E, Villegas J, Campos-García J, Reyes de La Cruz H. 2022. Bacterial cyclodipeptides elicit *Arabidopsis thaliana* immune responses reducing the pathogenic effects of *Pseudomonas aeruginosa*

PAO1 strains on plant development. J Plant Physiol 275:153738. doi:10.1016/j.jplph.2022.153738.

Spaepen S, Bossuyt S, Engelen K, Marchal K, Vanderleyden J. 2014. Phenotypical and molecular responses of *Arabidopsis thaliana* roots as a result of inoculation with the auxin-producing bacterium *Azospirillum brasilense*. New Phytol 201:850-861. <https://doi.org/10.1111/nph.12590>.

Stanton C, Sanders D, Krämer U, Podar D. 2022. Zinc in plants: Integrating homeostasis and biofortification. Mol Plant 15:65-85. doi:10.1016/j.molp.2021.12.008.

Tinoco-Tafolla HA, López-Hernández J, Ortiz-Castro R, López-Bucio J, Reyes de la Cruz H, Campos-García J, López-Bucio JS. 2024. *Pseudomonas chlororaphis*-*Arabidopsis thaliana* interaction via decreasing the production of phenazines and enhancing the root auxin response. J Plant Physiol. 297, 154259.

Tintelnot J, Xu Y, Lesker TR, Schönlein M, Konczalla L, Giannou AD, Pelczar P, Kylies D, Puelles VG, Bielecka AA, Peschka M, Cortesi F, Riecken K, Jung M, Amend L, Bröring TS, Trajkovic-Arsic M, Siveke JT, Renné T, Zhang D, Boeck S, Strowig T, Uzunoglu FG, Güngör C, Stein A, Izbicki JR, Bokemeyer C, Sinn M, Kimmelman AC, Huber S, Gagliani N. 2023. Microbiota-derived 3-IAA influences chemotherapy efficacy in pancreatic cancer. Nature. 615(7950):168-174. doi: 10.1038/s41586-023-05728-y.

Torres-Martínez HH, Napsucialy-Mendivil S, Dubrovsky JG. 2022. Cellular and molecular bases of lateral root initiation and morphogenesis. Curr Opin Plant Biol 65:102115. doi:10.1016/j.pbi.2021.102115.

Tourdot E, Mauxion JP, Gonzalez N, Chevalier C. 2023. Endoreduplication in plant organogenesis: a means to boost fruit growth. J Exp Bot. 74(20):6269-6284. doi: 10.1093/jxb/erad235.

Trivedi P, Leach JE, Tringe SG, Sa T, Singh BK. 2020. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health. Nat Rev Microbiol. 18(11):607-621. doi: 10.1038/s41579-020-0412-1.

Tudi M, Daniel Ruan H, Wang L, Lyu J, Sadler R, Connell D, Chu C, Phung DT. 2021. Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. Int J Environ Res Public Health. 18(3):1112. doi: 10.3390/ijerph18031112.

Vanacore A, Vitiello G, Wanke A, Cavasso D, Clifton LA, Mahdi L, Campanero-Rhodes MA, Solís D, Wuhrer M, Nicolardi S, Molinaro A, Marchetti R, Zuccaro A, Paduano L, Silipo A. 2022. Lipopolysaccharide O-antigen molecular and

supramolecular modifications of plant root microbiota are pivotal for host recognition. *Carbohydr Polym* 277:118839. doi:10.1016/j.carbpol.2021.118839.

Vos M, Padfield D, Quince C, Vos R. 2023. Adaptive radiations in natural populations of prokaryotes: innovation is key. *FEMS Microbiol Ecol* 99:fiad154. doi:10.1093/femsec/fiad154.

Waadt R, Seller CA, Hsu PK, Takahashi Y, Munemasa S, Schroeder JI. 2022. Plant hormone regulation of abiotic stress responses. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 23(10):680-694. doi: 10.1038/s41580-022-00479-6.

Wang F, Yoshida H, Matsuoka M. 2021. Making the 'Green Revolution' Truly Green: Improving Crop Nitrogen Use Efficiency. *Plant Cell Physiol*. 62(6):942-947. doi: 10.1093/pcp/pcab051.

Wheatley R. 2002. The consequences of volatile organic compound mediated bacterial and fungal interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81, 357–364 <https://doi.org/10.1023/A:1020592802234>.

Xu W, Jia L, Baluška F, Ding G, Shi W, Ye N, Zhang J. 2012. PIN2 is required for the adaptation of Arabidopsis roots to alkaline stress by modulating proton secretion. *J Exp Bot*. 63, 6105-6114. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers259>.

Yaschenko AE, Alonso JM, Stepanova AN. 2024. Arabidopsis as a model for translational research, *The Plant Cell*, koae065, <https://doi.org/10.1093/plcell/koae065>.

Yin L, Chen X, Chen Q, Wei D, Hu XY, Jia AQ. 2022. Diketopiperazine modulates *Arabidopsis thaliana* root system architecture by promoting interactions of Auxin Receptor TIR1 and IAA7/17 proteins. *Plant Cell Physiol* 63:57–69.

Yokawa K, Baluška F. 2018. Sense of space: Tactile sense for exploratory behavior of roots. *Commun Integr Biol*. 11(2):1-5.

Zhang C, Chen H, Dai Y, Chen Y, Tian Y, Huo Z. 2023. Isolation and screening of phosphorus solubilizing bacteria from saline alkali soil and their potential for Pb pollution remediation. *Front Bioeng Biotechnol* 11:1134310. doi:10.3389/fbioe.2023.1134310.

Zhao X, Li W, Li X, Jia Z, Song S, Zhao Q. 2024. The effect of bacterial AHL on the cyclic adenosine monophosphate content in plants according to high-performance liquid chromatography. *Molecules* 29:1074. doi:10.3390/molecules29051074.

Zhuang X, Liu Y, Fang N, Bai Z, Gao J. 2023. Quorum sensing improves the plant growth-promoting ability of *Stenotrophomonas rhizophila* under saline-alkaline

stress by enhancing its environmental adaptability. Front Microbiol 14:1155081. doi:10.3389/fmicb.2023.1155081.

Zimorski V, Ku C, Martin WF, Gould SB. 2014. Endosymbiotic theory for organelle origins. Curr Opin Microbiol. 22:38-48. doi: 10.1016/j.mib.2014.09.008.

9. ADDENDA

Relación de artículos publicados como parte integral de la tesis, colaboraciones y actividades complementarias:

1. Jiménez-Vázquez KR, **López-Hernández J**, García-Cárdenas E, Pelagio-Flores R, López-Bucio JS, Téxon AC, Ibarra-Laclette E, López-Bucio J. 2024. The plant growth promoting rhizobacterium *Achromobacter* sp. 5B1, rescues *Arabidopsis* seedlings from alkaline stress by enhancing root organogenesis and hormonal responses. Microbiol Res 281:127594. doi: 10.1016/j.micres.2023.127594.

En este trabajo participo como primer autor junto con Kirán Jiménez Vázquez y se presentan una parte de los resultados de esta tesis.

2. Tinoco-Tafolla HA, **López-Hernández J**, Ortiz-Castro R, López-Bucio J, Reyes de la Cruz H, Campos-García J, López-Bucio JS. 2024. *Pseudomonas chlororaphis*-*Arabidopsis thaliana* interaction via decreasing the production of phenazines and enhancing the root auxin response. J Plant Physiol. 297, 154259.

En este trabajo participo como colaborador del artículo.

3. **López-Hernández J**, López-Bucio J, López-Bucio JS. 2025. Strong dissuasive effect of a synthetic capsaicinoid against whitefly infestation in avocado trees under field conditions. Ciencia Nicolaita 93, 10-17.

En este trabajo en que se evalúa la actividad de un capsaicinoide contra la mosquita blanca participo como primer autor y forma parte de actividades complementarias realizadas durante la Maestría.

4. **López-Hernández J**, López-Bucio JS, Reyes de la Cruz H, López-Bucio J (2025). Plant growth promoting rhizobacteria: an integration of the mechanisms behind their agricultural application. En "Microbial allies:

Understanding plant-microbe interactions in sustainable agriculture.
Olubukola O. Babalola Ed. Springer.

**Capítulo de libro sobre el tema principal de la tesis en que participo
como primer autor y se encuentra en prensa.**

José López Hernández

Contribución de Pseudomonas putida en la adaptación de Arabidopsis thaliana al estrés alcalino.pdf

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:466862041

Fecha de entrega

13 jun 2025, 11:25 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

13 jun 2025, 11:39 a.m. GMT-6

Nombre de archivo

Contribución de Pseudomonas putida en la adaptación de Arabidopsis thaliana al estrés alcalino.pdf

Tamaño de archivo

2.3 MB

74 Páginas

20.450 Palabras

113.748 Caracteres

37% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Fuentes principales

- 36%  Fuentes de Internet
- 30%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Maestría en Ciencias en Biología Experimental	
Título del trabajo	Contribución de <u>Pseudomonas putida</u> en la adaptación de <u>Arabidopsis thaliana</u> al estrés alcalino	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	José López Hernández	1542018f@umich.mx
Director	Jesús Salvador López Bucio	salvador.bucio@umich.mx
Codirector		
Coordinador del programa	Mauro Manuel Martínez Pacheco	mae.cs.biologia.experimental@umich.mx

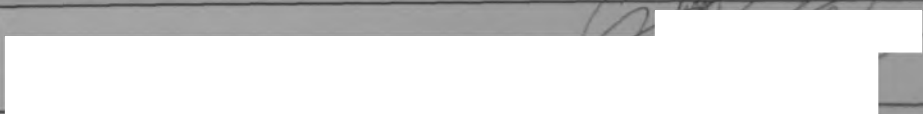
Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	No	

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	No	
Traducción a otra lengua	No	
Revisión y corrección de estilo	No	
Análisis de datos	No	
Búsqueda y organización de información	No	
Formateo de las referencias bibliográficas	No	
Generación de contenido multimedia	No	
Otro	No	

Datos del solicitante	
Nombre y firma	
Lugar y fecha	Morelia Michoacan 12 de junio del 2025

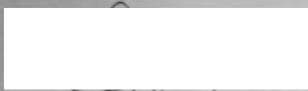
Morelia, Michoacán, a 18 de junio de 2025.

A quien corresponda

Después de haber recibido el dictamen de la originalidad según el reporte generado por "Turnitin iThenticate" les comento que, el porcentaje de similitud obtenido se incrementa por que se escribe de manera literal los títulos y autores de trabajos que se incluyen en el archivo de tesis como referencias bibliográficas, si se omite esta sección del texto, el porcentaje de similitud disminuye más del 30%. El otro porcentaje corresponde a palabras clave que se mencionan en el texto tales como nombres científicos, nombres comunes, frases cortas de 2 a 5 palabras las cuales escribir como parte del contexto del escrito, así como las propias citas referidas en el texto. Es importante mencionar que, a lo largo del texto, no hay párrafos que hayan sido textualmente incorporados de otros trabajos y si fuera el caso se incluye la respectiva referencia, lo que guarda el reconocimiento de quien lo mencionó previamente.

Esperando contar con su comprensión, me despido enviándole un cordial saludo y quedamos a sus órdenes ante cualquier duda.

Atentamente


Jesús salvador López Bucio
Director de tesis


José López Hernández
Estudiante MCBE IIQB UMSH