

Bacterias rizosféricas como fuente de antibióticos

Rhizospheric bacteria as a source of antibiotics

Resumen

La rizosfera comprende el volumen de suelo que se encuentra bajo la influencia de las raíces vegetales. Dicha región presenta una extraordinaria diversidad y actividad microbiana; principalmente debido al alto contenido en nutrientes que proceden de los exudados radiculares. Entre las bacterias colonizadoras de la rizosfera (rizobacterias) algunas pueden promover el crecimiento vegetal o actuar como agentes de biocontrol protegiendo frente a múltiples patógenos vegetales. En este artículo se contempla la producción de metabolitos secundarios bioactivos (antibióticos) como uno de los principales mecanismos a través de los cuales las rizobacterias pueden proteger a las plantas frente a enfermedades o patógenos potenciales. A su vez, se discute la utilización de dichos agentes de biocontrol como biopesticidas en estrategias de agricultura sostenible.

ABSTRACT

The rhizosphere comprises the volume of soil that is under the influence of plant roots. This region presents an extraordinary diversity and microbial activity; mainly due to the high nutrient content that comes from the root exudates. Among the bacteria colonizing the rhizosphere (rhizobacteria) some can promote plant growth or act as biocontrol agents protecting against multiple plant pathogens. This article contemplates the production of bioactive secondary metabolites (antibiotics) as one of the main mechanisms through which rhizobacteria can protect plants against potential diseases or pathogens. In turn, the use of these biocontrol agents as biopesticides in sustainable agriculture strategies is discussed.

Keyword: antibiotic, biocontrol, phytopatogen, polyketides, Non-ribosomal synthesis protein, rizobacteria

Miguel A Matilla^{a*}
Tino Krell^a

^a Departamento de protección Ambiental,
Estación Experimental del Zaidín,
Consejo Superior de Investigaciones Científicas,
Granada, Spain

*miguel.matilla@eez.csic.es

Matilla, MA., Krell T. Bacterias rizosféricas como fuente de antibióticos. Alianzas y Tendencias. 2017, 2 (1): 14-21.

Recibido: 10 febr 2017. Aceptado: 24 febr 2017.

INTRODUCCIÓN

El término rizosfera [del griego, rhiza (raíz) y sphere (zona de influencia)] se acuñó por primera vez por el fisiólogo vegetal Lorenz Hiltner para definir la región de suelo próxima a las raíces vegetales que soporta altos niveles de actividad microbiana [1]. En la actualidad se considera a la rizosfera como el volumen de suelo que se encuentra bajo la influencia física, química y biológica de la raíz; incluyendo además los tejidos vegetales colonizados por los microorganismos [2]. Aunque la rizosfera está sometida a fuertes variaciones en el contenido en agua [3], oxígeno [4] o valores de pH [5], su alto nivel de nutrientes la convierten en una región altamente favorable para el soporte de vida microbiana. Así, se estima que hasta el 40-60% del carbono fijado por las plantas en la fotosíntesis se libera al medio en forma de exudados radiculares [6]. Dentro de los compuestos exudados por las raíces se encuentran nutrientes fácilmente asimilables como los azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos y vitaminas (revisado en la referencia [6]). La presencia de estos nutrientes en el entorno radicular favorece la aparición de una compleja comunidad de organismos que incluye bacterias, hongos, oomicetos, protozoos o nematodos [2, 7, 8]. Entre ellos, las bacterias rizosféricas (rizobacterias) pueden alcanzar densidades tan elevadas como 10^{11} bacterias por gramo de suelo rizosférico; lo que equivale a 2-3 órdenes de magnitud con respecto al suelo no rizosférico [9, 10]. Sin embargo, aunque se han identificado hasta 30000 especies de procariontes distintas en una misma muestra rizosférica [11], aspectos inherentes a la especie en cuestión como el genotipo y el estado fisiológico de la planta o la composición de sus exudados radiculares ejercen una presión selectiva que, en general, resulta en una disminución de la diversidad bacteriana en la rizosfera [12-14].

PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO Y BIOCONTROL MEDIADO POR BACTERIAS RIZOSFÉRICAS

Las bacterias rizosféricas se pueden clasificar como beneficiosas, perjudiciales o neutras en función de su impacto en la vitalidad de la planta [15, 16]. Dentro de esta heterogeneidad, las rizobacterias pertenecientes a géneros tales como *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas* o *Serratia* incluyen algunas de las especies bacterianas habitualmente consideradas como promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, plant growth promoting rhizobacteria). Dichas bacterias son responsables de favorecer el crecimiento y productividad vegetal; incluyendo multitud de especies con alto interés agrícola. Así, las rizobacterias pueden llevar a cabo

su actividad promotora del crecimiento a través de mecanismos directos (i-ii) o indirectos (iii-vi) tales como: (i) la mejora del estado nutricional de la planta mediante el aporte de nutrientes limitantes para la planta (ej. solubilización de fosfato; fijación de nitrógeno); (ii) producción de hormonas vegetales (ej. etileno, auxinas, citoquininas, ácido abscísico); (iii) competición por el nicho y nutrientes con organismos fitopatógenos; (iv) inducción en las plantas de respuestas de defensas sistémicas frente a patógenos; (v) síntesis de enzimas líticas activas frente a hongos fitopatógenos, nematodos o insectos; (vi) producción de compuestos con actividades antibióticas (ej. compuestos volátiles, bacteriocinas, péptidos de síntesis no ribosómica, poliquétidos) [2, 17, 18]. En general, se considera que para que las bacterias PGPRs puedan ejercer dichos efectos beneficiosos para la planta, se requiere una colonización eficiente y en altas densidades de la rizosfera [2, 19, 20].

SÍNTESIS DE COMPUESTOS VOLÁTILES Y METABOLITOS SECUNDARIOS CON PROPIEDADES ANTIBIÓTICAS POR RIZOBACTERIAS

Como se ha mencionado en la sección anterior, las bacterias PGPR pueden promover el crecimiento vegetal indirectamente a través de su capacidad para proteger a plantas frente al ataque de fitopatógenos. Uno de los mecanismos que emplean es la síntesis de compuestos volátiles y metabolitos secundarios bioactivos (antibióticos). Dentro de los compuestos antibióticos sintetizados por las bacterias PGPR, en este artículo se prestará especial atención a los péptidos de síntesis no ribosómica y poliquétidos; principalmente por sus implicaciones potenciales dentro del área de la agrobiotecnología y farmacología.

Es frecuente que las rizobacterias sintetizen y liberen compuestos volátiles con una función en el biocontrol de fitopatógenos. Uno de los compuestos volátiles bioactivos mejor caracterizados es el ácido cianhídrico (HCN); el cual presenta un amplio espectro de actividades antibióticas, principalmente como consecuencia de su capacidad para inhibir la citocromo-c oxidasa y otras metaloenzimas [20, 21]. La importancia de este compuesto volátil para la vida en la rizosfera queda reflejada en un estudio realizado por Bakker y Schippers [22] en el cual estimaban que entorno al 50% de las bacterias rizosféricas del género *Pseudomonas* presentaban la capacidad de producir HCN. Así, la primera evidencia que demostró el papel de HCN en el biocontrol de fitopatógenos (ej. *Thielaviopsis basicola*) se obtuvo estudiando la PGPR *Pseudomonas protegens* CHA0 [23]. Sin embargo, actualmente existen múltiples estudios que demuestran la producción de HCN no

está restringida a bacterias del género *Pseudomonas*, además de reflejar el papel determinante de la cianogénesis para las propiedades de biocontrol de las bacterias productoras [21, 24]. Por otro lado, las bacterias rizosféricas sintetizan y liberan multitud de compuestos orgánicos volátiles (COVs). Así, actualmente se han descrito alrededor de 1500 COVs de origen fúngico y bacteriano [25]. Sin embargo, se ha llegado a determinar la producción de más de 100 COVs distintos por una única rizobacteria [26]. Aunque se han aislado una gran diversidad de COVs que inhiben el crecimiento de fitopatógenos bacterianos y fúngicos [27, 28], actualmente se desconoce el papel biológico de la mayor parte de los COVs identificados y esta línea de investigación representa un campo de trabajo de extraordinaria relevancia y con enorme aplicabilidad en áreas como la agricultura sostenible.

Los poliquétidos (PQs) y péptidos de síntesis no ribosómica (PSNRs) constituyen los principales metabolitos secundarios con actividades antibióticas sintetizados por bacterias PGPR. En general, los metabolitos secundarios bacterianos se definen como compuestos no esenciales para el crecimiento cuyo papel fisiológico estaría asociado a favorecer la supervivencia y competitividad bacteriana en un nicho determinado. La síntesis de estos metabolitos se produce generalmente durante la fase estacionaria de crecimiento y el coste energético derivado de su producción suele ser elevado. De esta forma, su síntesis está generalmente muy regulada y suele ser extremadamente dependiente de diferentes condiciones ambientales tales como la temperatura, aireación o la presencia de nutrientes determinados [29, 30]. Así, bajo las condiciones experimentales estándar que se cultivan las bacterias, se ha demostrado que la mayor parte de los genes implicados en la síntesis de metabolitos secundarios son silentes o crípticos [31, 32]. Es por ello que estimaciones recientes indican que únicamente se han identificado el 10% de los metabolitos secundarios producidos por las bacterias analizadas y que potencialmente el 99% de los metabolitos secundarios de origen microbiano estén pendientes de identificación [33].

La diversidad química y estructural de PQs y PSNRs es extraordinaria; lo que es fiel reflejo del amplio espectro de actividades biológicas que presentan. Así, estos metabolitos pueden presentar actividades tales como quelantes de hierro (sideróforos), antibacterianas, antifúngicas, anti-oomicetos, nematocidas o antitumorales, entre otras [18, 20, 21, 34, 35, 36]. PQs y PSNRs constituyen dos amplios grupos de metabolitos secundarios los cuales están normalmente sintetizados por grandes complejos

multimodulares denominados poliquétidos sintetasas (PKS) y sintetasas de péptidos no ribosómicos (NRPS). Sin embargo, estudios *in silico* publicados recientemente indican que existe una gran abundancia de PKS y NRPS no modulares codificados por los genomas bacterianos [37]. La síntesis de PQs y PSNRs en los complejos multimodulares PKS y NRPS es un proceso secuencial en el que cada módulo es responsable, en general, de un único ciclo de extensión del metabolito. Así, cada módulo añadiría las unidades estructurales correspondientes que finalmente conformarán la estructura definitiva del metabolito. Dichas unidades estructurales son aminoácidos en el caso de PSNRs; mientras que malonil-CoA o acetyl-CoA son los constituyentes mayoritarios en PQs [34, 35]. Sin embargo, existen metabolitos secundarios híbridos de PSNRs y PQs, los cuales están sintetizados de manera conjunta por PKS y NRPS [38]. Igualmente, merece la pena destacar que la enorme diversidad estructural y funcional de PSNRs, PQs e híbridos PSNR/PQ es el resultado de la acción de una serie de enzimas accesorias. Estas enzimas accesorias poseen un amplio espectro de actividades (ej. hidroxilasas, halogenasas y glicosilasas, entre otras) y normalmente actúan una vez se ha generado el esqueleto estructural del metabolito (Figura 1). Generalmente, la introducción de estas modificaciones es de vital importancia para la actividad biológica del metabolito [34, 35, 39].



Fig. 1. Representación esquemática del proceso biosintético de poliquétidos (PQ), péptidos de síntesis no ribosómica (PSNR) e híbridos PQ/PSNR.

El análisis de 2478 genomas bacterianos ha permitido determinar la identificación de 2976 conjuntos génicos diferentes responsables de la síntesis de PQs y PSNRs; de todos ellos, el 16%, 48% y 36% corresponden a PKS, NRPS e híbridos NRPS/PKS, respectivamente [37]. Sin embargo, el análisis en profundidad de ciertos genomas ha permitido determinar que algunas bacterias como por ejemplo la rizobacteria *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42

pueden dedicar alrededor a un 10% de su información genética a las síntesis de metabolitos secundarios [36, 40]. Además, la progresión en el desarrollo de tecnologías de secuenciación de genomas junto con el desarrollo de herramientas bioinformáticas y métodos analíticos ha permitido determinar el enorme potencial de síntesis de PQs y PSNRs que presentan múltiples bacterias rizosféricas [18, 21, 36, 41]. Así, diferentes estudios han asociado la síntesis de metabolitos secundarios bioactivos por PGPRs con su eficiencia colonizadora de raíces de plantas y con sus propiedades de biocontrol frente a fitopatógenos [18, 21, 36, 42]. De hecho, se han identificado conjuntos génicos que codifican PKS y NRPS en aislados bacterianos provenientes de suelos que suprimen enfermedades de plantas [11, 43]. Además, se ha demostrado la producción de PQs y SPNRs bioactivos por rizobacterias durante la colonización radicular [44, 45, 46]; lo que sugiere el papel de dichos metabolitos durante la interacción con plantas. Actualmente, bacterias pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Serratia* se consideran las PGPRs con mayor potencial biosintético de PQs y PSNRs. Algunos ejemplos se reflejan en la Tabla 1.

Tabla 1: Ejemplos de antibióticos producidos por rizobacterias

Antibiótico	Tipo de molécula	Función	Rizobacteria productora	Referencia
“Andrimid”	Híbrido PQ/PSNR	Antibacteriana	<i>Serratia plymuthica</i> A153	[30]
“Bacillaene”	PQ	Antibacteriana	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42	[36]
“Difficidin”	PQ	Antibacteriana	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42	[36]
“Oocydin A”	PQ	Antifúngico y anti-oomycete	<i>Serratia plymuthica</i> A153	[47]
“Pyoluteorin”	PQ	Antifúngico y anti-oomycete	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Pf-5	[60]
“Rhizoxin”	Híbrido PQ/PSNR	Antifúngico	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Pf-5	[61]
“Zeamine”	Híbrido PQ/PSNR	Antibacteriana y nematocida	<i>Serratia plymuthica</i> A153	[52]
“Zwittermicin A”	PSNR	Antifúngico y anti-oomycetes	<i>Bacillus cereus</i> UW85	[62]

CASO DE ESTUDIO DE LA RIZOBACTERIA MODELO *Serratia plymuthica* A153

Las cepas bacterianas pertenecientes a la especie *Serratia plymuthica* presentan una amplia distribución, pudiendo aislarse de muestras de suelo, agua, aire o incluso de insectos. Sin embargo, se aíslan frecuentemente de la rizosfera de plantas de interés agrícola tales como maíz, cebolla, tomate, trigo o patata [42]. Igualmente, se ha demostrado el papel de múltiples cepas de *S. plymuthica* en el biocontrol *in vivo* e *in vitro* de numerosos patógenos

vegetales que incluyen *Botrytis cinerea*, *Phytophthora cactorum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Verticillium dahliae*, entre otros [42, 47]. Así, la cepa *S. plymuthica* HRO-C48 protege a plantas de fresa frente a hongos y oomicetos como *Verticillium dahliae* y *Phytophthora cactorum* [48] y es la base de RhizoStar® (patente EP 98124694.5); un producto que prevé comercializar HRO-C48 como un agente de biocontrol de plagas vegetales. Igualmente, se ha demostrado que algunas cepas de *S. plymuthica* son eficientes en el biocontrol de fitopatógenos responsables de enfermedades post-cosecha. De hecho, existen varias patentes para el desarrollo de productos biológicos basados en cepas de *S. plymuthica* que están orientadas al control de plagas post-cosecha en cultivo como col (patentes US5869038 y US5597565) [42].

En nuestro laboratorio, una de nuestras cepas modelo en estudios orientados al control de organismos fitopatógenos es la rizobacteria *S. plymuthica* A153. La cepa A153 se aisló de la rizosfera de trigo en Suecia [49] y presenta diferentes propiedades antibióticas frente a un amplio espectro de hongos, oomicetos y bacterias fitopatógenas [30, 47, 50]. Así, en 2002, Thaning y colaboradores [51] determinaron que esta bacteria produce el compuesto antifúngico y anti-oomycetos, oocydin A. Posteriormente, se identificó que A153 producía diferentes derivados químicos de oocydin A; todos ellos presentando actividades antifúngicas [53]. Debido a la facilidad de manipular genéticamente la cepa *S. plymuthica* A153 en comparación con otras bacterias productoras de oocydin A [47], el aislado A153 se empleó como bacteria modelo para el estudio de la biosíntesis y regulación del antibiótico. Así, la secuenciación del genoma de *S. plymuthica* A153 [41] y el uso de diferentes aproximaciones genéticas y de química analítica permitieron identificar por primera vez el conjunto génico responsable de la producción del antibiótico oocydin A [47]. A su vez, también se propuso un modelo para la biosíntesis de dicho antibiótico [47]. Alternativamente, el análisis *in silico* del genoma de *S. plymuthica* A153 permitió identificar al menos 8 conjuntos génicos presumiblemente implicados en la síntesis de PQs y PSNRs [41]. Entre dichos conjuntos génicos se identificó que A153 presenta información genética para la síntesis de los antibióticos híbridos de PSNR/PQ, andrimid y zeamine [41]. Estos antibióticos son responsables de la mayor parte de las propiedades antibacterianas observadas en este aislado rizosférico, las cuales incluyen propiedades de biocontrol frente a bacterias fitopatógenas tales como *Xanthomonas campestris* [30; 52]. A su vez, utilizando el nematodo modelo *Caenorhabditis*

elegans se ha demostrado recientemente que las propiedades nematocidas observadas en A153 son principalmente consecuencia de la producción de zeamine; siendo las larvas en estadios tempranos más sensibles al antibiótico que los organismos adultos [52]. Adicionalmente, varios estudios han demostrado la capacidad de la rizobacteria A153 de sintetizar pyrrolnitrin, un compuesto antifúngico de amplio espectro [41, 53]. Dicho lo anterior, estamos ante una bacteria rizosférica productora de múltiples antibióticos, con gran diversidad estructural y que presentan diferentes propiedades biológicas (Figura 2); lo que resalta la importancia de dichos metabolitos secundarios bioactivos en la biología de bacterias que viven asociadas a raíces de plantas.

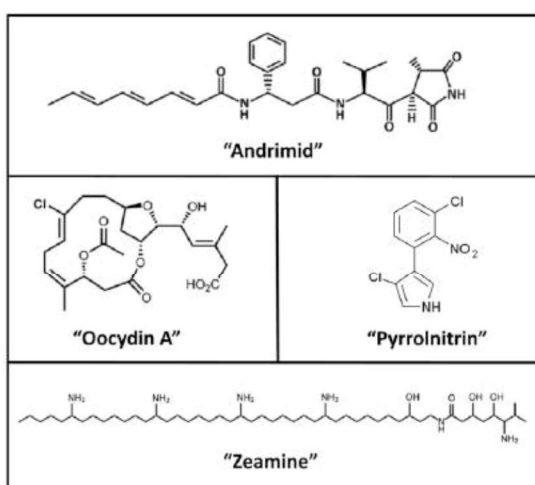


Figura 2: Diversidad estructural de antibióticos producidos por la rizobacteria *Serratia plymuthica* A153.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

La población mundial está incrementando a pasos acelerados y se estima que pueda alcanzar los 9 billones de habitantes en 2050; lo que implicará un incremento de hasta el 100% en la producción de alimentos básicos como los cereales [54]. Sin embargo, las cosechas están sometidas a múltiples estreses bióticos y abióticos. De hecho, se estima que los fitopatógenos son responsables de pérdidas de hasta el 40% de las cosechas mundiales [55, 56]. Desafortunadamente, la principal estrategia para el control de estas patologías está actualmente enfocada a la utilización de pesticidas químicos; los cuales representan un acuciante problema para el medioambiente y para la salud humana [57]. Es por ello que los gobiernos están empezando a legislar con el objetivo de limitar el uso de pesticidas químicos [56, 57] y el uso de microorganismos beneficiosos para el control de enfermedades (biopesticidas) representa una alternativa real al uso agroquímicos. Entre estos microorganismos, las bacterias PGPRs pueden promover el crecimiento vegetal directamente

actuando como biofertilizantes o fitoestimulantes, o indirectamente, antagonizando el crecimiento de organismos fitopatógenos. Por ello, el uso de biopesticidas representa actualmente entorno al 4% del mercado total de pesticidas [58]; con estimaciones a alcanzar los 4 billones de dólares en valor de mercado en el presente año 2017 [59]. El futuro de la agricultura moderna debe de estar enfocado al desarrollo de una producción sostenible y el uso de biofertilizantes, fitoestimulantes y biopesticidas permitirá sentar las bases para la sostenibilidad global del sistema agrícola [63, 64].

CONFLICTO DE INTERES

El autor declara la ausencia de conflicto de interés.

AGRADECIMIENTOS

Miguel A. Matilla es investigador post-doctoral perteneciente al programa Juan de la Cierva, correspondiente al plan estatal de Investigación Científica, Técnica y de Innovación del Ministerio Español de Economía y Competitividad (Referencia JCI-2012-11815).

REFERENCIAS

- [1]. Hiltner L. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie unter besonderden berücksichtigung und Brache. Arb Dtsch Landwirtsch Gesellschaft 1904; 98: 59–78.
- [2]. Lugtenberg B., Kamilova F. Plant-growth-promoting rhizobacteria. Annu Rev Microbiol 2009; 63: 541-56.
- [3]. Ishikawa C.M., Bledsoe C.S. Seasonal and diurnal patterns of soil water potential in the rhizosphere of blue oaks: Evidence for hydraulic lift. Oecologia 2000; 125: 459-465.
- [4]. Højberg O., Sorensen J. Microgradients of microbial oxygen consumption in a barley rhizosphere model system. Applied Environ Microbiol 1993; 59: 431-437.
- [5]. Schaller G. pH changes in the rhizosphere in relation to the pH-buffering of soils. Plant and Soil 1987; 97: 439-444.
- [6]. Uren N.C. Types, amounts and possible functions of compounds released into rhizosphere by soil-grown plants. In: Pinton R, Varanini Z, Nannipieri P (eds.) The Rhizosphere: Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface. CRC Press 2007; New York, pp. 1-21.
- [7]. Bais H.P., Weir T.L., Perry L.G., Gilroy S., Vivanco J.M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. Annu Rev Plant Biol 2006; 57: 233–266.
- [8]. Huang X-F., Chaparro J.M., Reardon K.F.,

- Zhang R., Shen Q., Vivanco J.M. Rhizosphere interactions: root exudates, microbes, and microbial communities. *Botany* 2014; 92: 267–275.
- [9]. Molina L.A., Ramos C., Duque E., Ronchel M.C., García J.M., Wyke L. et al. Survival of *Pseudomonas putida* KT2440 in soil and in the rhizosphere of plants under greenhouse and environmental conditions. *Soil Biol and Biochem* 2000; 32: 315-321.
- [10]. Egamberdieva D., Kamilova F., Validov S., Gafurova L., Kucharova Z., Lugtenberg B. High incidence of plant growth-stimulating bacteria associated with the rhizosphere of wheat grown on salinated soil in Uzbekistan. *Environ Microbiol* 2008; 10: 1-9.
- [11]. Mendes R., Kruijt M., de Bruijn I., Dekkers E., van der Voort M., Schneider J.H., et al. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science* 2001; 332: 1097-1100.
- [12]. Marilley L., Hartwig U.A., Aragno M. Influence of an elevated atmospheric CO₂ content on soil and rhizosphere bacterial communities beneath *Lolium perenne* and *Trifolium repens* under field conditions. *Microb Ecol* 1999; 38: 39-49.
- [13]. Doornbos L., Van Loon L., Bakker P.A.H.M. Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agron Sustain Dev* 2012; 32: 227-243.
- [14]. García-Salamanca A., Molina-Henares M.A., van Dillewijn P., Solano J., Pizarro-Tobías P., Roca A., et al. Bacterial diversity in the rhizosphere of maize and the surrounding carbonate-rich bulk soil. *Microb Biotechnol* 2013; 6: 36-44.
- [15]. Somers E., Vanderleyden J., Srinivasan M. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Crit Rev Microbiol* 2004; 30: 205–240.
- [16]. Berendsen R.L., Pieterse C.M.J., Bakker P.A.H.M. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci* 2012; 17: 478–486.
- [17]. Berg G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *App Microbiol Biotech* 2009; 14: 11-18.
- [18]. Mousa W.K., Raizada M.N. Biodiversity of genes encoding anti-microbial traits within plants associated microbes. *Front Plant Sci* 2015; 6: 231.
- [19]. Bull C.T., Weller D.M., Thomashow L.S. Relationship between root colonization and suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* strain 2-79. *Phytopathology* 1991; 81: 954-959.
- [20]. Haas D., Défago G. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Rev Microbiol* 2005; 3: 307-319.
- [21]. Gross H., Loper J.E. Genomics of secondary metabolite production by *Pseudomonas spp.* *Nat Prod Rep* 2009; 26: 1408-1446.
- [22]. Bakker A.W., Schippers B. Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas spp.*-mediated plant growth-stimulation. *Soil Biol Biochem* 1987; 19: 451-457.
- [23]. Voisard C., Keel C., Haas D., Défago G. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO J* 1989; 8: 351-358.
- [24]. Zdor R.E. Bacterial cyanogenesis: impact on biotic interactions. *J Appl Microbiol* 2015; 118: 267-74.
- [25]. Lemfack M.C., Nickel J., Dunkel M., Preissner R., Piechulla B. mVOC: a database of microbial volatiles. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: D744-8.
- [26]. Kai M., Crespo E., Cristescu S.M., Harren F.J., Francke W., Piechulla B. *Serratia odorifera*: analysis of volatile emission and biological impact of volatile compounds on *Arabidopsis thaliana*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2010; 88: 965-76.
- [27]. Dandurishvili N., Toklikishvili N., Ovadis M., Eliashvili P., Giorgobiani N., Keshelava R., et al. Broad-range antagonistic rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Serratia plymuthica* suppress *Agrobacterium* crown gall tumours on tomato plants. *J Appl Microbiol* 2011; 110: 341-352.
- [28]. Kanchiswamy C.N., Malnoy M., Maffei M.E. Chemical diversity of microbial volatiles and their potential for plant growth and productivity. *Front Plant Sci* 2015; 6: 151.
- [29]. Liu G., Chater K.F., Chandra G., Niu G., Tan H. Molecular regulation of antibiotic biosynthesis in *Streptomyces*. *Microbiol Mol Biol Rev* 2013; 77: 112-143.
- [30]. Matilla M.A., Nogellova V., Morel B., Krell T., Salmond G.P. Biosynthesis of the acetyl-CoA carboxylase-inhibiting antibiotic, andrimid in *Serratia* is regulated by Hfq and the LysR-type transcriptional regulator, AdmX. *Environ Microbiol* 2016; 18: 3635-3650.
- [31]. Scherlach K., Hertweck C. Triggering cryptic natural product biosynthesis in microorganisms. *Org Biomol Chem* 2009; 7: 1753-1760.
- [32]. Luo Y., Huang H., Liang J., Wang M., Lu L., Shao Z., et al. Activation and characterization of

- a cryptic polycyclic tetramate macrolactam biosynthetic gene cluster. *Nat Commun* 2013; 4: 2894.
- [33]. Fischbach M.A., Walsh C.T. Antibiotics for emerging pathogens. *Science* 2009; 325: 1089-1093.
- [34]. Sattely E.S., Fischbach M.A., Walsh C.T. Total biosynthesis: *in vitro* reconstitution of polyketide and nonribosomal peptide pathways. *Nat Prod Rep* 2008; 25: 757-793.
- [35]. Hertweck, C. The biosynthetic logic of polyketide diversity. *Angew Chem Int Ed Engl* 2009; 48: 4688-4716.
- [36]. Chowdhury S.P., Hartmann A., Gao X., Borriss R. Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 - a review. *Front Microbiol* 2015; 6: 780.
- [37]. Wang H., Fewer D.P., Holm L., Rouhiainen L., Sivonen K. Atlas of nonribosomal peptide and polyketide biosynthetic pathways reveals common occurrence of nonmodular enzymes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: 9259-9264.
- [38]. Fisch K.M. Biosynthesis of natural products by microbial iterative hybrid PKS–NRPS. *RSC Advances* 2013; 3: 18228-18247.
- [39]. Till M., Race P.R. Progress challenges and opportunities for the re-engineering of trans-AT polyketide synthases. *Biotechnol Lett* 2014; 36: 877-888.
- [40]. Udway D.W., Zeigler L., Asolkar R.N., Singan V., Lapidus A., Fenical W., et al. Genome sequencing reveals complex secondary metabolome in the marine actinomycete *Salinispora tropica*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 10376-10381.
- [41]. Matilla M.A., Drew A., Udaondo Z., Krell T., Salmond G.P.C. Genome sequence of *Serratia plymuthica* A153, a model rhizobacterium for the investigation of the synthesis and regulation of haterumalides, zeamine, and andrimid. *Genome Announcements* 2016; 4: e00373-16.
- [42]. De Vleeschauwer D., Hofte M. Using *Serratia plymuthica* to control fungal pathogens of plants. *CAB Rev Perspect Agric Vet Sci Nutr Nat Resour* 2007; 2: 1-12.
- [43]. Van Der Voort M., Meijer H.J., Schmidt Y., Watrous J., Dekkers E., Mendes R., et al. Genome mining and metabolic profiling of the rhizosphere bacterium *Pseudomonas sp.* SH-C52 for antimicrobial compounds. *Front Microbiol* 2015; 6: 693.
- [44]. Ongena M., Jourdan E., Adam A., Paquot M., Brans A., Joris B., et al. Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. *Environ Microbiol* 2007; 9: 1084-1090.
- [45]. Debois D., Jourdan E., Smargiasso N., Thonart P., De Pauw E., Ongena M. Spatiotemporal monitoring of the anti-biome secreted by *Bacillus* biofilms on plant roots using MALDI mass spectrometry imaging. *Anal Chem* 2014; 86: 4431-4438.
- [46]. Chowdhury S.P., Uhl J., Grosch R., Alquéres S., Pittroff S., Dietel K., et al. Cyclic Lipopeptides of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. plantarum colonizing the lettuce rhizosphere enhance plant defense responses toward the bottom rot pathogen *Rhizoctonia solani*. *Mol Plant Microbe Interact* 2015; 28: 984-995.
- [47]. Matilla M.A., Stöckmann H., Leeper F.J., Salmond G.P.C. Bacterial biosynthetic gene clusters encoding the anti-cancer haterumalide class of molecules: biogenesis of the broad spectrum antifungal and antioomycete compound, oocydin A. *J Biol Chem* 2012; 287: 39125-39138.
- [48]. Kurze, S., Bahl, H., Dahl, R., Berg, G. Biological control of fungal strawberry diseases by *Serratia plymuthica* HRO-C48. *Plant Disease* 2001; 85: 529-34.
- [49]. Åström, B., Gerhardson, B. Differential reactions of wheat and pea genotypes to root inoculation with growth-affecting rhizosphere bacteria. *Plant Soil* 1988; 109: 263-269.
- [50]. Matilla M.A., Leeper F.J., Salmond G.P. Biosynthesis of the antifungal haterumalide, oocydin A, in *Serratia*, and its regulation by quorum sensing, RpoS and Hfq. *Environ Microbiol* 2015; 17: 2993-3008.
- [51]. Thaning C., Welch C.J., Borowicz J.J., Hedman R., Gerhardson B. Suppression of *Sclerotinia sclerotiorum* apothecial formation by the soil bacterium *Serratia plymuthica*: identification of a chlorinated macrolide as one of the causal agents. *Soil Biol Biochem* 2001; 33: 1817-26.
- [52]. Hellberg J.E., Matilla M.A., Salmond G.P. The broad-spectrum antibiotic, zeamine, kills the nematode worm *Caenorhabditis elegans*. *Front Microbiol* 2015; 6: 137.
- [53]. Levenfors J.J., Hedman R., Thaning C., Gerhardson B., Welch C.J. Broad-spectrum antifungal metabolites produced by the soil bacterium *Serratia plymuthica* A153. *Soil Biol Biochem* 2004; 36: 677-685.
- [54]. Godfray H.C., Beddington J.R., Crute I.R., Haddad L., Lawrence D., Muir J.F., et al. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science* 2010; 327: 812-8.
- [55]. Oerke E.C., Dehne H.W. Safeguarding production – losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Prot* 2004; 23: 275–285.

- [56]. Glare T., Caradus J., Gelernter W., Jackson T., Keyhani N., Köhl J., et al. Have biopesticides come of age? *Trends Biotechnol* 2012; 30: 250-258.
- [57]. Pimentel D. Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. *Environ Dev Sustain* 2005; 7: 229-252.
- [58]. Thakore,, Y. The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology* 2006; 2: 194-208.
- [59]. Velivelli S.L., De Vos P., Kromann P., Declerck S., Prestwich B.D. Biological control agents: from field to market, problems, and challenges. *Trends Biotechnol* 2014; 32: 493-496.
- [60]. Nowak-Thompson B., Chaney N., Wing J.S., Gould S.J., Loper J.E. Characterization of the pyoluteorin biosynthetic gene cluster of *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *J Bacteriol* 1999; 181: 2166-2174.
- [61]. Loper J.E., Henkels M.D., Shaffer B.T., Valeriote F.A., Gross H. Isolation and identification of rhizoxin analogs from *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 by using a genomic mining strategy. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74: 3085-93.
- [62]. Lozano G.L., Holt J., Ravel J., Rasko D.A., Thomas M.G., Handelsman J. Draft Genome Sequence of Biocontrol Agent *Bacillus cereus* UW85. *Genome Announc* 2016; 4: e00910-16.
- [63]. Baez-Rogelio A., Morales-García Y. E., Quintero-Hernández V., Muñoz-Rojas J. Next generation of microbial inoculants for agriculture and bioremediation. *Microb Biotechnol* 2017; 10: 19-21.
- [64]. Vivanco-Calixto R., Molina-Romero D., Morales-García Y. E., Quintero-Hernández V., Munive-Hernández A., Baez-Rogelio A., et al. Reto agrobiotecnológico: Inoculantes bacterianos de segunda generación. *Alianzas y Tendencias* 2016; 1: 9-19.