



Trabajo de Fin de Grado



Compuestos orgánicos volátiles (COV) en las interacciones planta-microorganismo

Autor: M^a Carmen Sánchez Aguilar
Tutor: María del Rosario Espuny Gómez
Departamento de Microbiología

Grado en Biología
Facultad de Biología
Universidad de Sevilla
Curso 2020-2021

Índice

Resumen	1
1. Introducción	2
2. Compuestos orgánicos volátiles de la planta	3
2.1. Tipos de COV vegetales	4
2.2. Niveles funcionales de los COV vegetales	5
3. Técnicas para medir los COV vegetales.....	7
4. COV de las bacterias (BVC).....	8
4.1. Propiedades químicas y diversidad de los BVC	9
5. Métodos de estudio de los BVC	10
6. Interacciones debidas a los BVC	13
6.1. Interacciones intermicrobianas	13
7. Interacciones planta-microorganismo debidas a los COV	17
7.1. Interacciones establecidas entre los microorganismos y las distintas partes de la planta	19
7.2. Efectos de los COV vegetales sobre los microorganismos.	21
7.3. Rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas	21
7.3.1. Importancia de la ingeniería metabólica en la síntesis de 2,3-butanodiol	22
7.4. Los COV como bioestimulantes y bioprotectores.....	23
7.5. Los BVC y los COV vegetales que influyen en los hongos	24
7.6. Interacción de los COV vegetales, de los hongos y las bacterias con organismos de otros niveles tróficos	25
8. Conclusiones y perspectivas futuras	26
9. Bibliografía	28

Resumen

Los compuestos orgánicos volátiles (COV) son moléculas de bajo peso molecular que permiten a las plantas y a los microorganismos establecer interacciones, beneficiosas o perjudiciales, entre sí y con otros organismos. Entre otras, los COV producidos por las bacterias (BVC) les sirven para realizar diversas funciones, como modificar su crecimiento y su diferenciación, aumentar su resistencia a los antibióticos y al estrés, la formación de biopelículas, contribución a la patogénesis, etc. En la interacción planta-microorganismo, los COV sirven a la planta para reconocer a los patógenos, aumentar su resistencia e inmunidad, etc. Esto se debe a que los BVC cambian la fisiología de la planta y, a su vez, los COV vegetales pueden modificar la comunidad bacteriana que se establece en ella. Además, las plantas y los microorganismos pueden establecer a su vez interacciones con distintos niveles tróficos, lo que hace posible que se cree una gran red en la que todos los organismos están conectados entre sí. El mayor y mejor conocimiento de los COV producidos tanto por plantas como bacterias y otros microorganismos puede constituir una nueva herramienta que permita comprender sus impactos y adoptar posibles soluciones en distintos ámbitos, como en el cambio climático, en el control de patógenos fúngicos y bacterianos, la fabricación de bioestimulantes, bioprotectores y biocombustibles o la alteración del aroma de las flores para favorecer su polinización.

1. Introducción

Las plantas constituyen comunidades complejas formadas por una gran variedad de organismos, tanto beneficiosos como perjudiciales, desde microorganismos unicelulares a vertebrados multicelulares. Estas comunidades se clasifican en dos grandes grupos: el microbioma, formado por los microorganismos, y el macrobioma. Así, las plantas están rodeadas por un fitobioma que consta de organismos de muy diversos tamaños. Aquellas plantas que se desarrollan, sobreviven y se reproducen mejor, pasan sus genes a una nueva generación y, por tanto, tienen más éxito reproductivo. Para conseguirlo, las plantas necesitan minimizar las interacciones con organismos perjudiciales como patógenos, herbívoros y competidores y maximizar interacciones con organismos beneficiosos como micorrizas, rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR), herbívoros y polinizadores.

La percepción y el reconocimiento de los herbívoros y patógenos por la planta se basa en gran medida en señales químicas, como los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), los patrones moleculares asociados a microorganismos (MAMP), patrones moleculares asociados a daño endógeno (DAMP) y los patrones moleculares asociados a herbívoros (HAMP). Los PAMP incluyen, por ejemplo, la flagelina, la quitina, las glicoproteínas y los lipopolisacáridos. Los DAMP incluyen fragmentos de pared celular, por ejemplo, oligogalacturonidos y señales endógenas surgidas tras el daño causado por la infección por patógenos o el ataque de herbívoros. Las raíces de las plantas que están expuestas a los microorganismos pueden utilizar variaciones en el flagelo para diferenciar entre bacterias patógenas y bacterias mutualistas de la rizosfera.

Los compuestos orgánicos volátiles (COV) son metabolitos secundarios de bajo peso molecular y con alta presión de vapor emitidos por los seres vivos, que tienen un papel ecológico fundamental, ya que influyen en la química atmosférica, la comunicación entre ellos y en el comportamiento de los diferentes niveles tróficos. Al conjunto de COV de un organismo se le conoce como volatilo (Cagliero y otros, 2020). Se considera que la evolución de los COV de las plantas está estrechamente asociada con la defensa contra los herbívoros y otros parásitos. También se ha observado una alta relación con microorganismos que favorecerán su crecimiento y su defensa, para que finalice en una interacción beneficiosa. Los COV emitidos por las plantas muestran una gran diversidad y pueden formarse como subproductos de los procesos de la planta y pueden emitirse a la atmósfera debido a su volatilidad. Como resultado

de la selección natural, algunos COV se han convertido en señales para la protección y comunicación de las plantas.

Un grupo de COV muy importante para las plantas son los relacionados con la herbivoría. Se denominan volátiles vegetales inducidos por herbívoros (HIPV) o compuestos orgánicos volátiles inducibles (COVI) y los emiten las hojas después del daño de los herbívoros (Holopainen, 2004). Además, otros miembros del fitobioma, que no participan directamente en la interacción, pueden modular la inducción de la emisión de HIPV en la planta, así como responder a los volátiles. Cabe destacar que cuando dos o más organismos atacan a una planta, el efecto total rara vez es la suma de los efectos individuales de cada atacante. Los herbívoros pueden atenuar o acentuar los efectos de otros herbívoros y modular así los efectos de la HIPV en los miembros del fitobioma. Otro grupo importante de COV son los que se producen en la interacción planta-microorganismo, pues son capaces de modificar la fisiología, la bioquímica, el desarrollo y la defensa de la planta, determinando qué comunidades microbianas se encontrarán en ellas y en el suelo, modificando sus condiciones y sus ecosistemas. Además, las bacterias también son capaces de generar sus propios COV interactuando con un gran número de organismos. Muchas especies bacterianas coexisten en comunidades donde los metabolitos secundarios bacterianos (BVC) les sirven como señales que pueden estar involucradas en la competencia y la cooperación, lo que les permite adaptarse al estrés biótico y abiótico (Audrain y otros, 2015).

El resultado colectivo de la emisión de COV modulados por el fitobioma determinará si, y bajo qué circunstancias, puede tener un beneficio neto para la planta, ya que esta es capaz de reconocer diferentes miembros del fitobioma y responder con cambios en su fenotipo. Esta plasticidad fenotípica permite maximizar las interacciones con los organismos beneficiosos, minimizando las de los perjudiciales (Dicke, 2016).

2. Compuestos orgánicos volátiles de la planta

Los COV vegetales se producen en diferentes órganos de la planta (hojas, flores, frutos y raíces) y se pueden almacenar en diferentes compartimentos dentro de la célula e incluso en estructuras secretoras especializadas, como tricomas glandulares y conductos de resina (Cagliero y otros, 2020). Se han identificado más de 1.700 COV de más de 90 familias de

plantas y constituyen aproximadamente el 1% de todos los metabolitos secundarios vegetales conocidos actualmente.

Algunas mezclas de COV vegetales se producen tras un daño en la planta, ya sea mecánico o biológico, y su composición depende de si es por una sola herida o una herida continua, del patrón de alimentación del herbívoro, de la disposición de los huevos, de la entrada de un patógeno en concreto, etc. Algunos COV emitidos después de la alimentación por los insectos no solo sirven para activar la defensa directa de la planta, repeliéndolos, sino que también actúan como una defensa indirecta, atrayendo a los enemigos naturales de estos. Por otro lado, las plantas intactas también liberan volátiles, como ocurre en la mayoría de las flores (Maffei y otros, 2011). Se ha visto que juegan un papel fundamental en la atracción de polinizadores y dispersores de semillas y como señales entre plantas, que pueden ser beneficiosas o perjudiciales para la planta vecina (alelopatía). Cabe destacar su importancia ecológica y su amplia gama de actividades biológicas útiles para los humanos, lo que los convierte en una fuente, poco explotada, de compuestos bioactivos (Cagliero y otros, 2020).

Las plantas no son los únicos seres vivos productores de COV. Todos los organismos producen volátiles que a menudo participan en procesos biológicos. Debido a que algunos de ellos interactúan con las plantas en sus hábitats naturales y agrícolas, no es sorprendente que puedan detectar y responder a algunos de los COV que producen otros organismos (Cofer y otros, 2018).

2.1. Tipos de COV vegetales

Los compuestos orgánicos volátiles se pueden clasificar de diferentes formas:

Atendiendo a si estaban en la planta antes o después de la interacción, se observan dos tipos:

- Los COV constitutivos (COVC) son los que siempre están presentes, haya o no interacción con otro organismo. Cada planta tiene un perfil diferente, aunque hay compuestos que están en todas (Egea-Cortines y otros, 2020) como las fitohormonas, como el etileno y el ácido jasmónico (Cofer y otros, 2018).
- Los COV inducibles (COVI) son los producidos tras la interacción con otro organismo. Son más específicos del tipo de planta y del tipo de interacción, por ejemplo, la mentona.

No obstante, la diferencia entre ambos es ambigua, pues la mayoría de los COVC se pueden volver COVI después de la interacción, aumentando sus cantidades o cambiando sus proporciones. Por otro lado, los COV inducibles tienen como ventaja que solo se sintetizan cuando es necesario y, por tanto, son más económicos en términos de uso de carbono, lo que beneficia a la planta (Holopainen, 2004).

Atendiendo a su origen biosintético los COV vegetales (Figura 1) se clasifican en:

- Los terpenoides son la clase más abundante de COV. Derivan de dos precursores comunes interconvertibles de cinco carbonos, el isopentenil difosfato (IPP) y su isómero el dimetilalil difosfato (DMAPP) (McGarvey y Croteau, 1995). Dentro de este grupo existen cuatro subgrupos que son volátiles: los hemiterpenos, como el isopreno, los monoterpenos, como el geranial, los sesquiterpenos, como el α -pineno y la parte volatilizable de los diterpenos (Muhlemann y otros, 2014).
- Los fenilpropanoides y benzenoides representan la segunda clase más abundante de COV vegetales y derivan exclusivamente de aminoácidos aromáticos. Se sintetizan a través de dos vías alternativas, la vía del ácido siquímico y la vía del ácido malónico (Knudsen y Gershenzon, 2006). Dependiendo de la composición de su estructura carbonatada, esta clase se divide en tres subclases: fenilpropanoides (C6C3), benzenoides (C6C1) y compuestos relacionados con fenilpropanoides (C6C2) (Maeda y Dudareva, 2012).
- La tercera clase de COV vegetales son los que derivan de los ácidos grasos insaturados C18, linolénico y linoleico. Estos sufren una oxigenación estereoespecífica, catalizada por una lipoxigenasa (LOX), lo que conduce a la formación de intermedios de 9 y 13 hidroperoxi (Feussner y Wasternack, 2002). Estos pueden entrar en dos ramas de la vía de LOX, lo que conduce a la formación de los COV. La primera rama da lugar al ácido jasmónico (JA) y la segunda, a aldehídos saturados o insaturados, que dan lugar a alcoholes volátiles. Los dos últimos se conocen como volátiles de hojas verdes (GLV), pues se sintetizan en tejidos vegetativos (Muhlemann y otros, 2014).

2.2. Niveles funcionales de los COV vegetales

Se distinguen cuatro niveles funcionales (Figura 2):

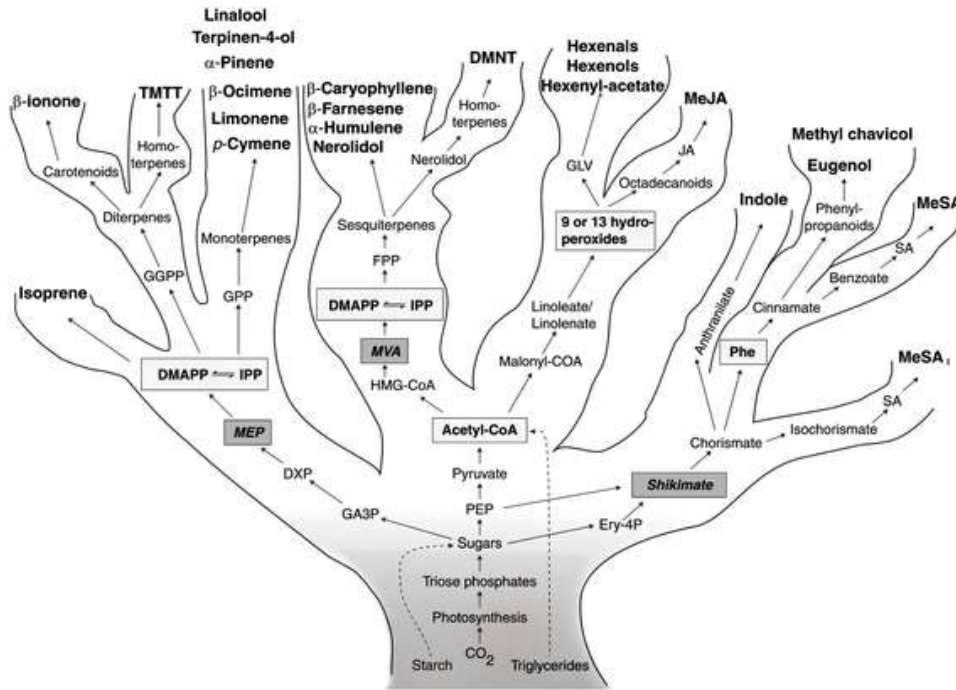


Figura 1: Árbol biosintético de los compuestos orgánicos volátiles. Se representan las rutas de los terpenos (1ª y 2ª rama del árbol empezando por la izquierda), son producidos por diferentes vías bioquímicas. Las vías MEP dan lugar a la formación de monoterpenos y diterpenos. Estos últimos son precursores del homoterpeno TMTT y de la β -ionona derivada de carotenoides. El isopreno se genera a partir de DMAPP. Los sesquiterpenoides son generados por el farnesil difosfato (FPP) derivado de la vía citosólica del ácido mevalónico (MVA). El homoterpeno DMTT se deriva del sesquiterpeno nerolidol. La ruta de los ácidos grasos (3ª rama) da lugar a las oxilipinas, que se generan a partir de ácidos grasos que se escinden en derivados de GLV y JA. La ruta de los fenilpropanoides y bencenoides (4ª rama) dan lugar a los COV aromáticos que derivan de los fenilpropanoides y el metilsalicilato, que deriva del ácido salicílico (SA), que se genera a partir del ácido benzoico (Maffei y otros, 2011).

- Nivel 1: Es el que se corresponde con los COV que se producen en el espacio intercelular, por ejemplo, en las hojas, los monoterpenos y otros COV actúan como antioxidantes internos contra el estrés oxidativo inducido y la herbivoría.
- Nivel 2: Es el que corresponde con la capa límite de la planta (delgada capa de aire no agitado que rodea a las hojas de las plantas y que ofrece una resistencia a la pérdida de agua por transpiración). Aquí los COV reducen el crecimiento de fitopatógenos y disuaden la alimentación de los herbívoros.
- Nivel 3: Es el que corresponde con las interacciones ecológicas de los COV. En este apartado se incluye la atracción de enemigos naturales de los herbívoros, la inducción de la producción de COV en plantas intactas cercanas, la atracción o disuasión de patógenos, entre otros (Holopainen, 2004).

- Nivel 4: Es el que corresponde con las reacciones atmosféricas de los COV, que pueden inducir la formación de más COV, como, por ejemplo, cuando sube la temperatura, una planta sintetiza y libera mayor cantidad de isopreno (Peñuelas y otros, 2005).

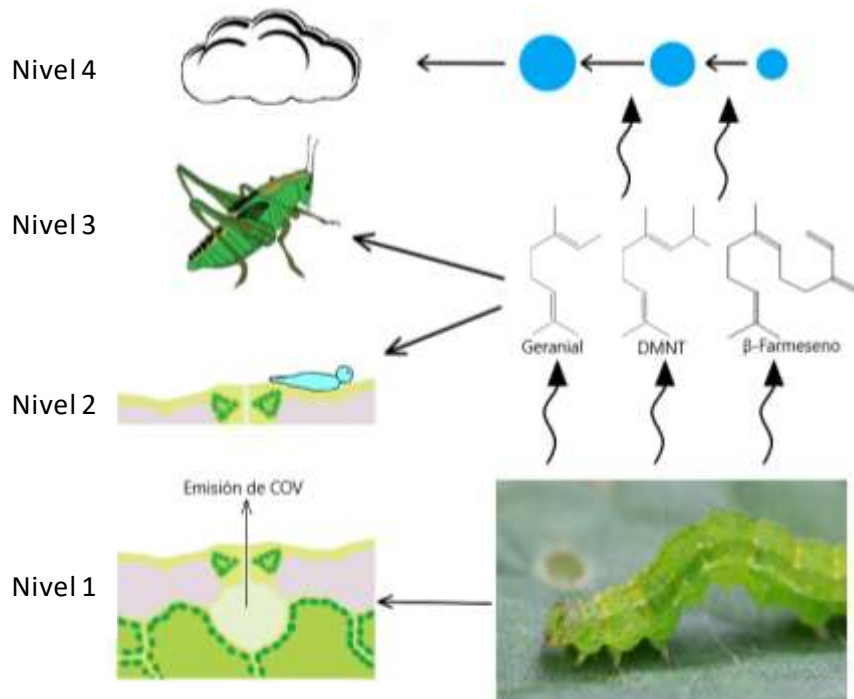


Figura 2: Cuatro niveles funcionales de compuestos orgánicos volátiles. Nivel 1: tejido vegetal, protección contra el daño celular, por ejemplo, estos COV actúan como antioxidantes internos contra el estrés y la herbivoría. Nivel 2: superficie de la planta, protección contra gases nocivos y organismos bióticos, pues los COV reducen el crecimiento de patógenos de las plantas y disuaden la alimentación de los herbívoros. Nivel 3: participan en los ecosistemas, comunicación con otras especies y otros niveles tróficos. Nivel 4: atmosfera, control de temperatura, humedad e irradiación (Holopainen, 2004).

3. Técnicas para medir los COV vegetales

Los métodos convencionales, por ejemplo, la extracción con disolventes y/o la destilación, son técnicas destructivas y lentas que pueden crear artefactos. Además, la recolección de las partes de una sola planta (flores, hojas, frutos, raíces, tallos) puede inducir estrés y alterar el perfil de COV. Por este motivo, se usan para controlar las emisiones de volátiles bajo factores de estrés, principalmente debido a la alimentación de insectos, el daño mecánico y los suplementos de micro/macronutrientes.

El análisis de los sistemas vivos proporciona emisiones de COV más representativas y datos fiables, pues son menos invasivos y más representativos de los sistemas de vida del mundo real, ya que minimiza la perturbación causada por factores externos. Sin embargo, requieren

la creación de sistemas de muestreo (cerramiento, tanques de gas, bombas y trampas) en campo abierto (Cagliero y otros, 2020). Existen distintas técnicas para la medida de COV *in situ*, destacando tres: *Dynamic-headspace* (D-HS), *static-headspace* (S-HS) y el contacto directo (Figura 3). Este último tiene una mayor sensibilidad, porque su mecanismo elimina el equilibrio de interacción planta-aire, reduciendo el número de fases implicadas. Además, minimiza la contaminación por volátiles emitidos por otras plantas en experimentos en el campo y permite tomar muestras simultáneamente en más de una parte de la planta, por lo que actualmente es el método más eficiente (Kfoury y otros, 2017).

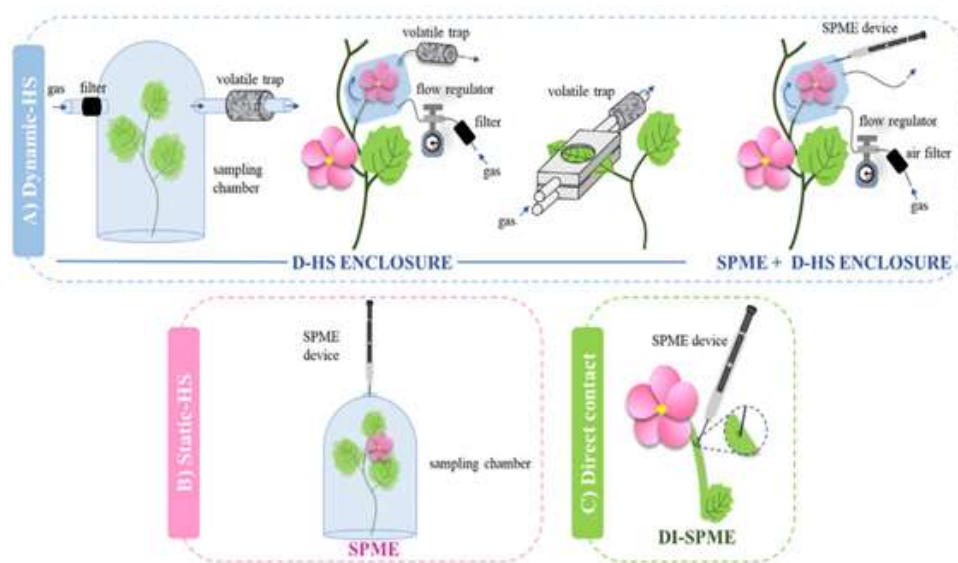


Figura 3: Esquema de las técnicas de muestreo *in vivo* de los COV de plantas más utilizadas: A) *Dynamic-headspace* (D-HS) se basa en un flujo de gases controlado e inerte que pasa a través o sobre la muestra de la planta y se dirige hacia un sistema de captura, donde los COV se concentran. Su análisis es por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS). Esta técnica requiere equipos relativamente complejos y la estandarización de varios parámetros para que se pueda considerar fiable, B) *Static-headspace* (S-HS) se utiliza cuando una muestra líquida o sólida alcanza el equilibrio con su fase de vapor y los metabolitos diana se transfieren al "espacio de cabeza" de acuerdo con sus coeficientes de partición. El término "estático" implica la ausencia de flujo de aire en la cámara de muestreo, haciendo que el "espacio de cabeza" sea representativo de las emisiones de la muestra y C) Contacto directo (DC) se utiliza para la investigación *in vivo* de la emisión de COV por las plantas (Cagliero y otros, 2020).

4. COV de las bacterias (BVC)

Las bacterias producen una gran cantidad de metabolitos secundarios que utilizan como señales, normalmente de alerta temprana, que les permiten adaptarse a su medio en condiciones de estrés abiótico y biótico. Entre ellos se encuentran unas moléculas de bajo

peso molecular con hasta dos grupos funcionales y con alta presión de vapor que pueden difundir fácilmente a través de medios sólidos, líquidos y gaseosos, los compuestos orgánicos volátiles bacterianos (BVC) (Audrain y otros, 2015; Weisskopf y otros, 2021). Son moléculas que van desde el amoníaco hasta los hidrocarburos diterpénicos. Normalmente, se emiten en fase gaseosa, pero pueden ser liberados en fase acuosa (Weisskopf y otros, 2021).

4.1. Propiedades químicas y diversidad de los BVC

Los BVC pertenecen a la mayoría de las clases químicas como alcoholes, compuestos carbonílicos, hidrocarburos, compuestos aromáticos, incluso existen compuestos que contiene azufre y nitrógeno, por lo que tienen una gran variabilidad estructural (Schulz y Dickschat, 2007).

Las principales rutas biosintéticas de los BVC son el metabolismo primario, los productos de fermentación, el metabolismo del azufre, la vía biosintética de los ácidos grasos y la vía de los terpenos:

- En el metabolismo primario se incluyen compuestos derivados de la valina, leucina e isoleucina, ácidos 2-metilbutanoico, 3-metilbutanoico y metilpropanoico, así como sus productos de reducción y los alcoholes que se forman por esta. También se pueden formar otros BVC como alcoholes simples, ésteres, ácido acético, cianuro de hidrógeno o amoníaco. Hay que tener en cuenta que no todos los organismos emiten todos los tipos, ni tan siquiera los emiten al mismo tiempo, lo que permite poder diferenciar entre las distintas especies e incluso entre sus cepas (Weisskopf y otros, 2021).
- En las fermentaciones se encuentran la acetoína o compuestos relacionados con el α -hidroxicarbonilo y α -aminocarbonilo, que son citotóxicos (Weisskopf y otros, 2021). Estos compuestos se pueden convertir en pirazinas mediante las reacciones de condensación, que son producidos con gran frecuencia por las bacterias en la naturaleza (Weisskopf y otros, 2021).
- Al igual que en las plantas, existen compuestos aromáticos, que se sintetizan a partir de la vía del siquímico, como el indol y el 2-feniletanol.
- Los compuestos que contienen azufre derivan principalmente del sulfuro de hidrógeno y del metanotiol. Entre ellos se encuentran el dimetildisulfuro (Weisskopf y otros, 2021).
- Entre los BVC de los productos de la vía biosintética de ácidos grasos están los hidrocarburos, los alcoholes alifáticos, las cetonas, entre otros (Schulz y Dickschat, 2007).

- Los BVC terpénicos constituyen el grupo más estudiado y con mayor número de compuestos conocidos.

Todos estos grupos se pueden clasificar en compuestos comunes, de grupo y específicos (Figura 4) (Weisskopf y otros, 2021).

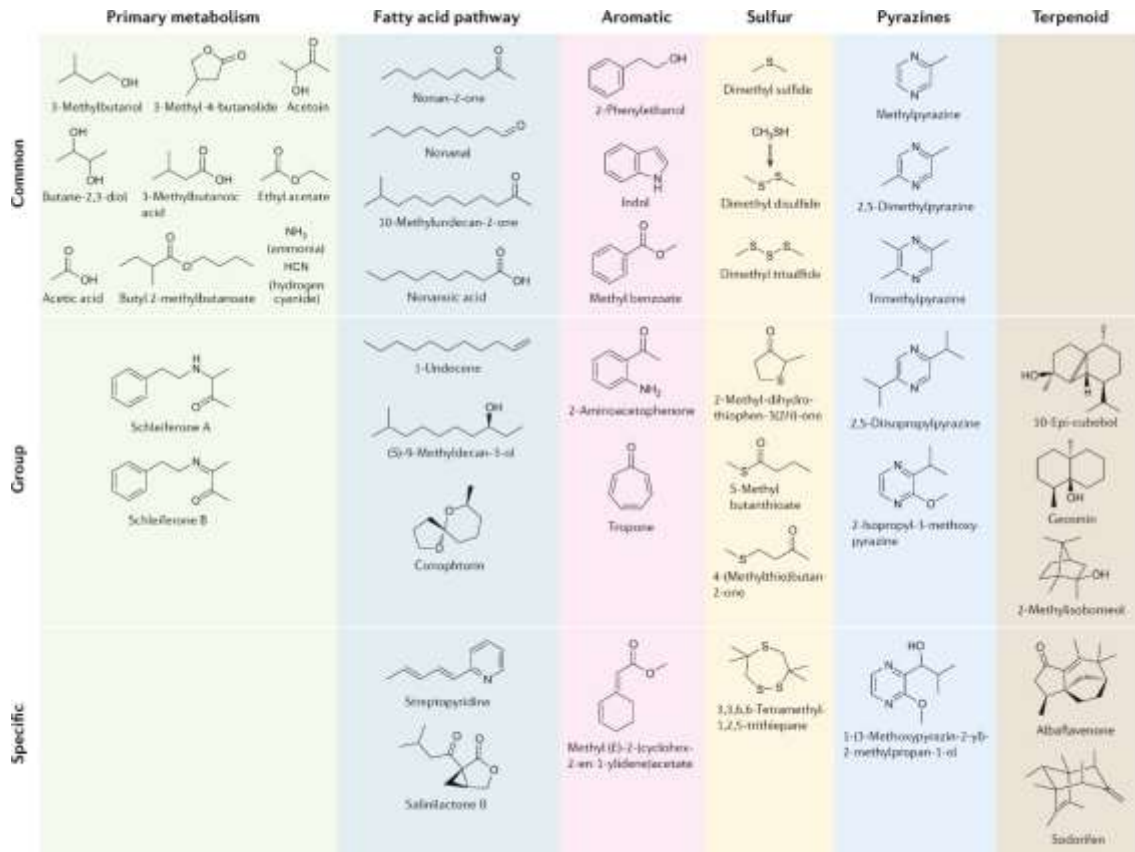


Figura 4: Ejemplos de compuestos volátiles bacterianos comunes, de grupo y específicos. No se conocen BVC específicos del metabolismo primario ni terpénicos comunes. Los compuestos comunes se encuentran en muchas cepas diferentes de forma más o menos aleatoria en todo el reino bacteriano. Incluyen todos los productos básicos de fermentación y compuestos primarios derivados del metabolismo. Algunos ejemplos son el disulfuro de dimetilo, el 2-feniletanol y las metilcetonas alifáticas. Los compuestos del grupo se encuentran preferentemente dentro de ciertos géneros o especies. Algunos ejemplos son la geosmina y el 2-metilisoborneol, pues solo se han descrito en actinobacterias, mixobacterias y cianobacterias. Los compuestos específicos son producidos por solo una o unas pocas cepas estrechamente relacionadas, como la estreptopiridina en *Streptomyces* (Weisskopf y otros, 2021).

5. Métodos de estudio de los BVC

Para poder detectar los BVC se han desarrollado una gran variedad de sistemas de captura. Entre los métodos de extracción más utilizados se encuentran la microextracción en fase única (MEFU), que combina el muestreo, la extracción, la concentración y la introducción de BVC; el

aparato de extracción de circuito cerrado (CLSA), que preconcentra los BVC en muestras líquidas; el espacio de cabeza (HS) y la destilación en paralelo a la extracción con solvente de metabolitos de bajo peso molecular solubles en agua (Figura 5).

Para el análisis químico de BVC se utilizan técnicas como la GC-MS fuera de línea o *in situ*, reacción multicapilar columna-ion-molécula (IMR-MS), SIFT-MS, SESI-MS y la reacción de transferencia de protones MS (PTR-MS). Para el análisis de metabolitos solubles en agua, se adopta una cromatografía líquida de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas (UPLC-MS) o GC-MS después de la derivatización de los BVC (Figura 5).

Los datos se extraen y analizan mediante análisis quimiométricos que incluyen el análisis de componentes principales (PCA), el análisis de conglomerados jerárquicos (HCA) y el análisis discriminante de mínimos cuadrados ortogonales parciales (OPLS-DA). Para analizar combinación de BVC, deben utilizarse los datos derivados de los análisis químicos y los de metabolitos solubles en agua (I y II) y analizarlos en multibloque con PCA o OPLS (Figura 5) (Audrain y otros, 2015).

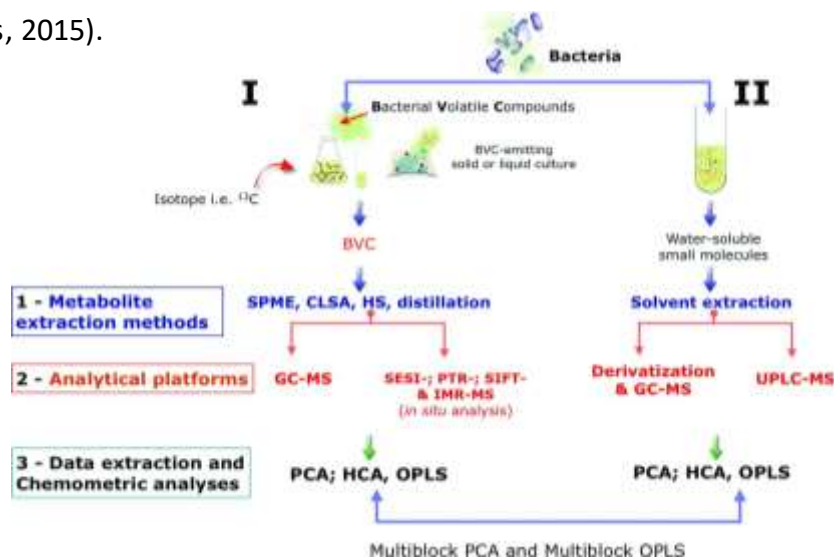


Figura 5: Técnicas de extracción, análisis e identificación de BVC, tanto en análisis químicos como en medios acuosos. (1) Extracción de volátiles usando SPME, CLSA, espacio de cabeza (HS) o destilación en paralelo a la extracción con solvente de metabolitos de bajo peso molecular solubles en agua. (2) Análisis químico de BVC utilizando GC-MS fuera de línea o *in situ*, reacción multicapilar columna-ion-molécula (IMR-MS), SIFT-MS, SESI-MS y reacción de transferencia de protones MS (PTR-MS) y cromatografía líquida de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas (UPLC-MS) o GC-MS después de la derivatización. (3) Los datos de BVC se extraen y analizan mediante análisis quimiométricos que incluyen PCA, análisis de conglomerados jerárquicos (HCA) y análisis discriminante de mínimos cuadrados ortogonales parciales (OPLS-DA) y para analizar combinación de BVC, deben utilizarse los datos derivados de los análisis químicos y los de metabolitos solubles en agua (I y II) y analizarlos en multibloque con PCA o OPLS.

Los cambios en los BVC dentro de una misma especie se deben a las variaciones genómicas que alteran la vía metabólica que conduce a los BVC. Las variaciones en la disponibilidad de metabolitos según la fase de crecimiento, la concentración de oxígeno o el inóculo inicial también influyen en la producción y emisión de BVC. No obstante, la mayoría de los *software* y el procesamiento de datos comerciales modernos pueden quitar señales de fondo debidas a los medios bacterianos, lo que simplifica significativamente el cromatograma (Audrain y otros, 2015). Los COV producidos no solo dependen del género y de la especie bacteriana que los producen también se han observado diferencias en sus cepas. Shestivska y otros (2012) analizaron mediante CG-MS las variaciones en las concentraciones de metabolitos volátiles de 36 cepas diferentes de *Pseudomonas aeruginosa* (especie genotípicamente muy heterogénea) cultivadas en medios líquidos y sólidos. Los datos indicaron que los COV de *P. aeruginosa* variaban en dos órdenes de magnitud entre las diferentes cepas cultivadas en las mismas condiciones. Además, se observó una variabilidad similar para medios líquidos y sólidos, concluyendo que la variabilidad genotípica entre las cepas influye en las concentraciones de los COV producidos.

Aparte de las diferencias debidas al uso de distintos métodos de recolección y análisis, el medio de cultivo tiene un papel importante en la producción y función de los volátiles debido a su composición. Por ejemplo, las bacterias del género *Lysobacter* forman productos de fermentación que incluyen indol cuando se cultiva en agar-dextrosa, mientras que las pirazinas las emiten cuando las bacterias crecen en agar nutritivo. También influyen parámetros ambientales como la temperatura, la humedad, el pH y los niveles de oxígeno. La especie *Bacillus subtilis*, que produce potentes compuestos volátiles antimicóticos (AFV), tiene menor actividad antifúngica volátil *in vitro* sobre agar nutritivo, que si a éste se le adiciona D-glucosa, carbohidratos complejos y peptonas. Además, si la adición es de L-glucosa conduce a una actividad de AFV significativamente menor que los niveles con D-glucosa (Fiddaman y Rossall, 1994).

Además, los BVC cambian a lo largo de la etapa de crecimiento de una bacteria, por ejemplo, *Serratia odorífera*, emite más volátiles y con mayor diversidad en su fase estacionaria temprana. Las interacciones entre especies pueden desencadenar o silenciar la emisión de compuestos volátiles de otras, por lo que el aumento de la diversidad de la comunidad puede promover o restringir la producción de BVC (Weisskopf y otros, 2021).

6. Interacciones debidas a los BVC

6.1. Interacciones intermicrobianas

Las principales funciones de los compuestos volátiles microbianos en la interacción con otras bacterias incluyen la modulación de la movilidad, la virulencia, la formación de biopelículas, la producción de metabolitos secundarios, resistencia a los antibióticos y el crecimiento. Entre las funciones que se producen en una interacción unidireccional se encuentran:

- Alteración del crecimiento y la diferenciación de las bacterias. Los BVC se relacionan con la esporulación bacteriana, pueden tener actividad antimicrobiana, efectos bacteriostáticos contra patógenos bacterianos, etc. Se ha observado que las bacterias de la microbiota intestinal de los animales se caracterizan por tener una mezcla de BVC en fase sólida, líquida y gaseosa que pueden inhibir el crecimiento de bacterias patógenas como *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *E. coli* y *P. aeruginosa* (Figura 7) (Audrain y otros, 2015).
- Aumento de la resistencia a los antibióticos y al estrés. Existe un canal de comunicación intercelular entre las bacterias que les confiere una ventaja en la supervivencia. Hay bacterias que emiten BVC que ayudan a la resistencia al estrés de otras que crecen cerca de su colonia y/o a la resistencia a los antibióticos (Figura 7). Por ejemplo, cultivos de *E. coli*, que están en presencia de BVC producidos por otra bacteria, les confiere un efecto promotor del crecimiento en un medio con una concentración de ampicilina que de otra manera se vería inhibido (Curar y Parsons, 2002). Para demostrarlo estos autores sembraron 3 placas de Petri con una pared divisoria de plástico, donde en el compartimento 1 de la primera placa se sembró una población señal que emite BVC (*E. coli JM109*) y en el compartimento 2, una población receptora de esta señal (*E. coli BL21*) con una concentración de ampicilina que, sin ninguna señal, sería inhibitoria del crecimiento (500ng/ml ampicilina). En el compartimento 1 de la segunda placa se sembró la población señal, mientras que en el 2 no se sembró nada ni se puso antibiótico. En el compartimento 1 de la tercera placa se sembró una población no emisora de señal, mientras que en el 2 se sembró *E. coli BL21* con la misma concentración de ampicilina que en la primera placa. Observaron que, en la primera placa, en el compartimento 2, hubo crecimiento de colonias de la población receptora, demostrando que tenía que haber una señal que le otorgara una resistencia a dicho antibiótico, pero que no podía ser una molécula soluble sino volátil, pues de otra manera no podría entrar en contacto con la

bacteria receptora debido a la pared divisoria. En la segunda placa se demostró como, efectivamente, la pared divisoria no permite el paso de las bacterias y por eso en el compartimento 2, aunque no hay antibiótico, no crece ninguna bacteria. Por último, en la tercera placa se observó que, aunque se ha sembrado de igual manera que en la primera, al haber en el compartimento 1 una población no emisora de señal, en el compartimento 2 las bacterias sembradas no crecieron, pues el antibiótico inhibió su crecimiento (Figura 6) (Curar y Parsons, 2002).

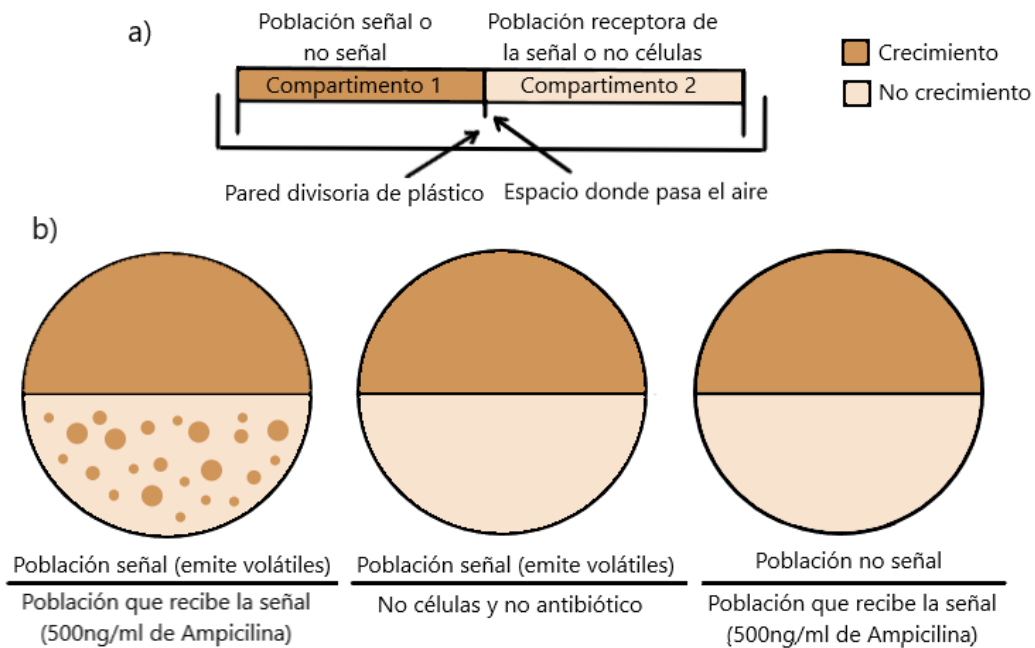


Figura 6: *Escherichia coli* BL21 cultivada en un sustrato no permisivo recibe una señal promotora del crecimiento de una población de señalización vecina. (a) Configuración experimental para el análisis de los efectos promotores del crecimiento. (b) 1) Se cultivó una población señal (*E. coli JM109*) en agar nutritivo en el compartimento 1 de una placa de Petri bipartita. Después de 48 h, se inoculó *E. coli* BL21 en fase logarítmica en agar nutritivo suplementado con ampicilina en el compartimento 2. 2) Se cultivó *E. coli* BL21 en el compartimento 1 y nada en el compartimento 2. 3) Se cultivó *E. coli* BL21 con ampicilina en el compartimento 2 y una población no señal en el compartimento 1. Se evaluó el crecimiento celular después de una incubación durante la noche (Curar y Parsons, 2002).

Estos autores propusieron que la posible molécula señal podía ser el indol, pero, hasta ahora, ningún dato experimental ha confirmado su papel como una señal volátil que afecte a la resistencia a los antibióticos, mientras que sí se ha demostrado que es un compuesto señal cuando es soluble en el medio de cultivo (Audrain y otros, 2015).

- Formación de biopelículas bacterianas. Los BVC tienen influencia en diferentes etapas del desarrollo de las biopelículas, tanto en la movilidad como en su dispersión, pudiendo inhibir o aumentar sus efectos. Además, como los antibióticos pueden aumentar o disminuir su formación, los BVC, al aumentar la resistencia a antibióticos, pueden influir de manera indirecta a la formación de biopelículas (Figura 7) (Audrain y otros, 2015).
- Contribución de los BVC a la patogénesis bacteriana. Los BVC promueven la virulencia de las bacterias, ya que hacen que dure más porque retrasan el final de la patogénesis. También, influyen en el desarrollo de la infección al afectar a la fisiología de la célula hospedadora, lo que ocasiona señales de alarma para el reconocimiento de la bacteria y modula la respuesta frente a ellas. Por ejemplo, esto ocurre en la interacción que se da entre las plantas y las bacterias con la activación de la respuesta sistémica inducida. Además, los BVC emiten olores que pueden atraer invertebrados y crear interacciones con las bacterias (Figura 7).

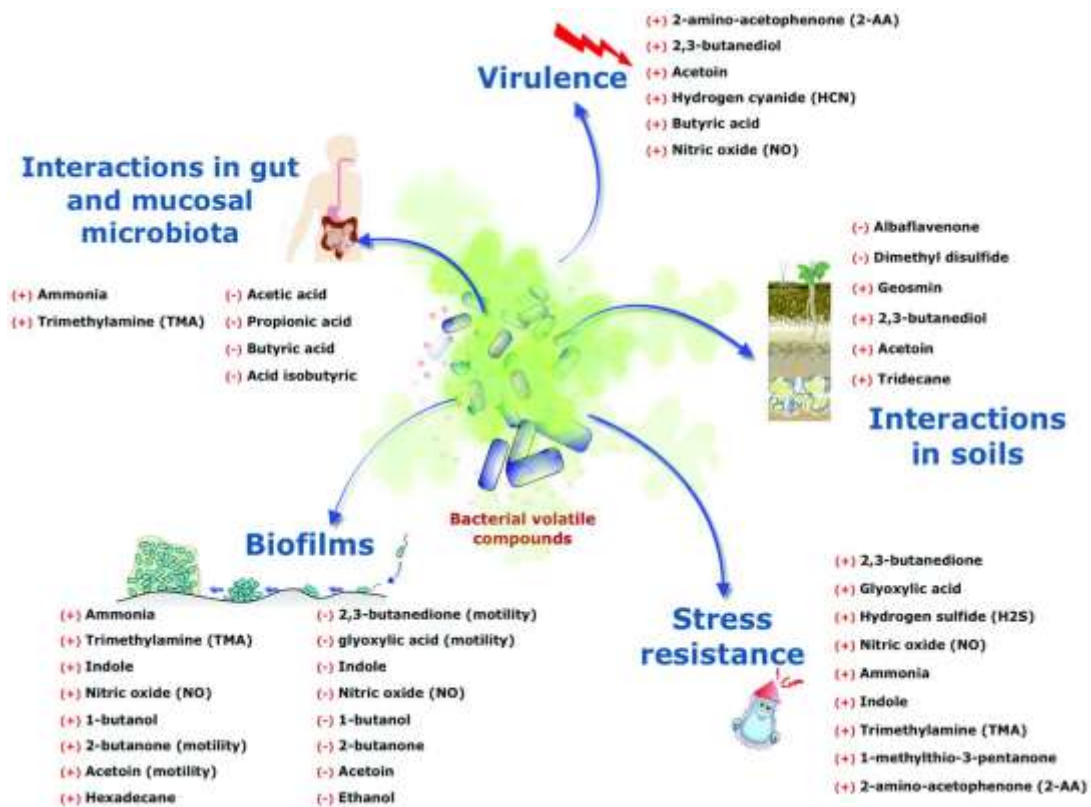


Figura 7: Consecuencias fenotípicas de la exposición a los BVC en diversos entornos. Los BVC se enumeran según su influencia positiva y/o negativa sobre diferentes fenotipos bacterianos en diversos entornos. +: estimulación; - : inhibición. Estimulan o inhiben procesos como la interacción con otros organismos, la creación de biopelículas, la resistencia al estrés, la virulencia y en el crecimiento y diferenciación de las bacterias (Audrain y otros, 2015).

Cabe destacar que un mismo BVC puede tener distintos efectos dependiendo del microorganismo diana (Weisskopf y otros, 2021).

Las interacciones bidireccionales están mucho menos estudiadas, pero se sabe que se pueden establecer entre diferentes microorganismos. Rybakova y otros (2017) vieron como *Verticillium longisporum*, un hongo patógeno de las plantas, y *Paenibacillus polymyxa* estaban en un diálogo constante gracias a sus COV. Este diálogo específico da como resultado la inhibición del metabolismo celular de *V. longisporum*, lo que produce una reducción de su crecimiento, mientras que *P. polymyxa*, aumenta su actividad metabólica y se regulan positivamente los genes relacionados con la respuesta al estrés y la producción de BVC. Este efecto antagonista conduce a un efecto positivo general sobre el crecimiento de la planta infectada (Figura 8). Los resultados de este estudio indican que los COV contribuyen a la interacción entre los patógenos y sus antagonistas naturales y pueden controlar los patógenos de una manera novedosa y respetuosa con el medio ambiente (Rybakova y otros, 2017).

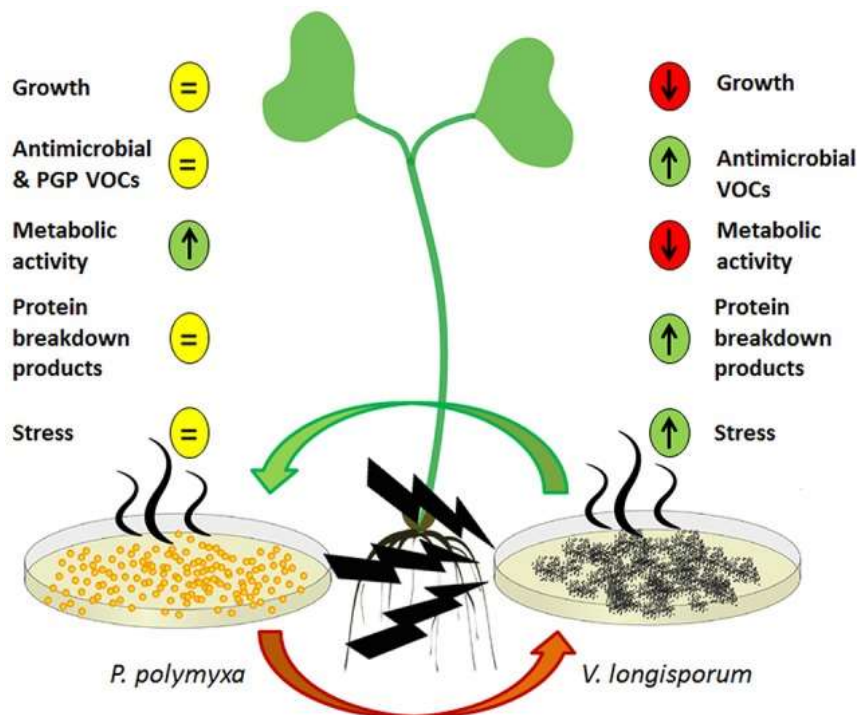


Figura 8: Modelo de diálogo entre *P. polymyxa* y *V. longisporum* a través de sus COV y su influencia en la planta hospedadora. Los procesos que se vean afectados aumentando su actividad se representan con una flecha hacia arriba y, con una flecha hacia abajo, los que se vean afectados de manera negativa. Los procesos no regulados se representan como un símbolo igual. Así *P. polymyxa* no influye en la mayoría de los factores, pero aumenta la actividad metabólica, mientras que *V. longisporum* disminuye el crecimiento, y la actividad metabólica y aumenta los VOC vegetales antimicrobianos, el estrés y se acumulan componentes de rotura de proteínas (Rybakova y otros, 2017).

Los BVC pueden tener un papel importante en las interacciones depredador-presa, por ejemplo, ayudando al depredador a detectar a su presa a largas distancias. Se sabe que muchos protistas son depredadores de bacterias y dan forma a las comunidades bacterianas mediante la alimentación selectiva. Esta interacción es específica y proporciona a los protistas información sobre qué bacteria es más adecuada. Los terpenos se encuentran entre los BVC que permiten a los protistas detectar bacterias. Las respuestas específicas de los protistas a los BVC sugieren una posible dinámica coevolutiva en las interacciones depredador-presa, por lo que se pueden usar volátiles específicos para activar depredadores protistas cuya presa sea un patógeno, lo que podría servir como un nuevo método para el control biológico (Schulz-Bohm y otros, 2017).

7. Interacciones planta-microorganismo debidas a los COV

La interacción entre las plantas y los microorganismos mediada por los COV es bidireccional, es decir, existe una carrera evolutiva que consiste en ir cambiando el volatiloma, de tal manera que la planta pueda conseguir más interacciones beneficiosas, mientras que los microorganismos que son perjudiciales cambiarán el volatiloma para poder sortear las defensas que crea la planta y poder infectarla.

La emisión de COV por las plantas desempeña un papel fundamental a la hora de determinar las diferentes comunidades microbianas que habitarán una determinada superficie vegetal, debido a sus efectos antimicrobianos, al papel que juega como fuente de nutrientes, sobre todo de carbono, etc. (Figura 9) (Farré-Armengol y otros, 2016). Los microorganismos pueden afectar a la fisiología vegetal y modificar su bioquímica para que se produzcan elementos (como pueden ser nutrientes) que mejoren su desarrollo. Un ejemplo es el que se produce en los microorganismos que se encuentran entre la superficie de la planta y la atmósfera; estos intercambian gases con la planta, emitiendo una parte a la atmósfera, lo que provoca que se modifiquen las condiciones específicas del hábitat llegando a interferir con las emisiones de COV de la planta y provocando su modificación (Figura 9) (Bringel y Couèe, 2015). Las bacterias asociadas con las plantas tienen la capacidad de utilizar COV como recursos y alterar su perfil, lo que puede tener consecuencias para las interacciones de las plantas con otros organismos (Giudice y otros, 2008). Algunos COV microbianos son reguladores del crecimiento de la planta y de la resistencia al estrés, pues pueden alterar las propiedades físico-químicas del entorno para aumentar la disponibilidad de los nutrientes. Otros pueden

prevenir la colonización de los tejidos vegetales por patógenos fúngicos y bacterianos, pues pueden actuar como antibióticos o fungicidas, pero también pueden mediar interacciones entre bacterias y hongos que tienen efectos negativos o neutros en las plantas.

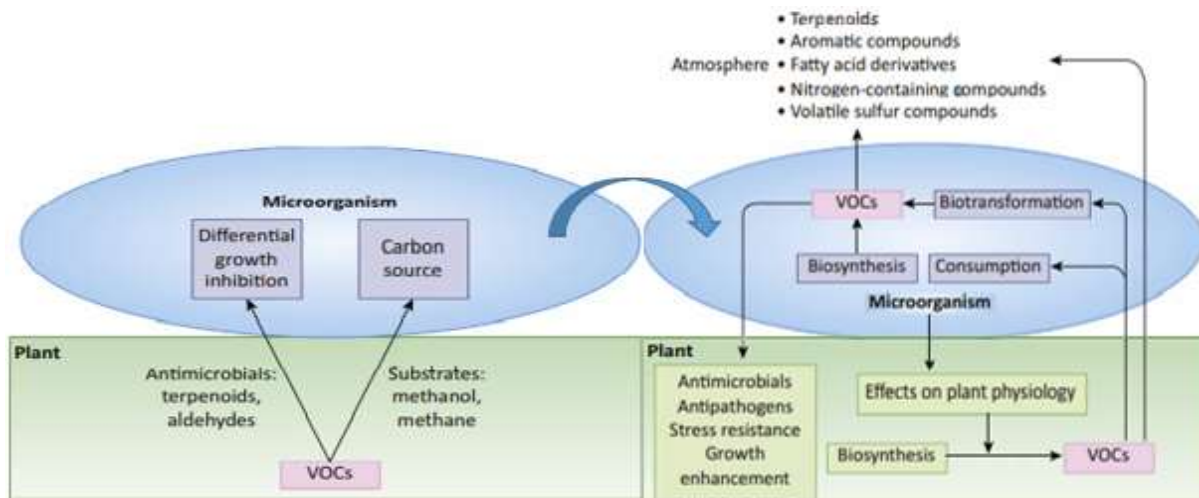


Figura 9: Efectos de los COV en la interacción planta-microorganismo. Los COV vegetales con propiedades antimicrobianas, como algunos terpenoides y aldehídos, pueden inhibir el crecimiento de microorganismos en la filosfera. Otros, como el metanol, pueden servir como sustratos para bacterias y hongos que los utilizan como fuente de carbono. Los microorganismos filosféricos pueden consumir COV de las plantas o transformarlos en nuevos COV. Los microorganismos pueden afectar a la fisiología de la planta hospedadora, con los cambios resultantes en sus emisiones de COV, y también pueden producir y emitir sus propios COV. Los COV microbianos pueden tener efectos antimicrobianos sobre posibles patógenos vegetales que pueden colonizar la filosfera y también pueden mejorar el crecimiento de las plantas y la resistencia al estrés (Farré-Armengol y otros, 2016).

Los microorganismos patógenos son capaces de secretar COV que permiten cambiar el pH del medio, lo que facilita la patogénesis y pueden actuar como moléculas que coordinan la simbiosis o la percepción del quórum (Bitas y otros, 2013). También pueden alterar las emisiones de COV de la planta induciéndole respuestas defensivas, provocándoles una respuesta inmune. Entre los COV que emite la planta tras la infección por patógenos están los terpenoides o los COV de la vía de la lipoxigenasa, que desempeñan un papel en la inducción de respuestas defensivas en plantas vecinas, que son capaces de cambiar la composición del volatiloma, creando nuevos compuestos que no estaban en él y que las hacen más resistentes a dicho patógeno (Farré-Armengol y otros, 2016). Por ejemplo, la bacteria endofítica del maíz, *Enterobacter aerogenes* emite 2,3-butanodiol, que es un COV que actúa como fitohormona, pues afecta al crecimiento de la planta y, además, aumenta la resistencia a los patógenos vegetales desencadenando una respuesta de defensa similar a la resistencia sistémica

inducida, pero disminuye la resistencia a herbívoros e influye en la interacción tritrófica de esta planta (D'Alessandro y otros, 2014).

Las plantas también albergan hongos endofíticos que pueden proporcionar diversas formas de protección, como la emisión de volátiles constitutivos por las raíces de plantas infectadas y pueden establecer interacción con hongos que forman micorrizas (Dicke, 2016)

7.1. Interacciones establecidas entre los microorganismos y las distintas partes de la planta

Las raíces liberan compuestos orgánicos de alto y bajo peso molecular que sirven como nutrientes para los microorganismos, que se asocian por diferentes zonas de la raíz. Los COV producidos por las raíces pueden ejercer efectos a corta y larga distancia sobre los microorganismos. Los terpenos y los compuestos fenólicos están asociados a efectos inhibidores del crecimiento (Junker y Tholl, 2013). Los primeros son diferentes en las raíces que en las hojas, reflejando la importancia de mantener distintos perfiles químicos en los diferentes tejidos a lo largo del ciclo de vida de la planta para mediar actividades atrayentes, repelentes o defensivas en interacción con diferentes microorganismos (Bodenhausen y otros, 2013). No obstante, la riqueza y la diversidad de comunidades bacterianas son similares en ambas partes, siendo diferente la composición (Junker y Tholl, 2013).

Las hojas emiten una gran variedad de COV que crean un hábitat para las bacterias (filosfera). Las bacterias que se encuentran en la superficie foliar suelen ser transportadas por el aire, aunque solo algunas pueden establecerse (Junker y Tholl, 2013). Eso es debido a que algunas plantas, como las coníferas, emiten COV que inhiben el crecimiento bacteriano. Además, estos COV pueden reducir la densidad bacteriana en la periferia de las plantas que los emiten. Por lo que, la capacidad para poder protegerse de los COV es una adaptación importante de las bacterias epífitas que les confiere ventajas frente a otras (Gao y otros, 2005).

Los COV terpénicos y aromáticos pueden actuar de forma aditiva o de forma sinérgica sobre la supervivencia y el crecimiento de las bacterias, como consecuencia se reduce la posibilidad de que las bacterias puedan adaptarse y esquivar la defensa producida por los COV. Al almacenarse los terpénicos en tricomas su distribución no es homogénea, por lo que hay más bacterias en las partes de la hoja donde no hay tricomas (Karamanoli y otros, 2012).

Las flores forman distintos microhábitats para que los microorganismos se establezcan en ellas, pues tienen diferentes estructuras que proporcionarán diversas condiciones físico-químicas para un gran número de bacterias (Junker y Tholl, 2013). Estas tienen mucha influencia en los procesos ecológicos relacionados con las flores y la polinización y pueden afectar a las recompensas y las señales florales. Dos ejemplos de estos impactos son:

- Los COV emitidos por las bacterias pueden formar parte de los aromas florales. Los que no lo hacen, juegan un papel importante en las interacciones establecidas entre las flores y los polinizadores debido a que modifican el olor del ambiente, favoreciendo los mutualistas y repeliendo a los organismos perjudiciales para la planta, que podrían ser atraídos por el aroma floral.

Las comunidades bacterianas pueden verse afectadas y transmitidas por estos polinizadores, por lo que es beneficioso para ellas y, como los insectos tienen un espectro de flores que colonizan restringido, favorecen la dispersión de las bacterias que forman parte de esas flores. Un ejemplo es el que se observa en la capacidad de diferentes especies de abejas para propagar bacterias antagonistas de fitopatógenos y permitir, cuando polinizan a las flores, el asentamiento de las bacterias, lo que beneficia a ambas partes (Junker y otros, 2011).

- Las bacterias que colonizan las superficies de las flores pueden emitir COV que modifican la composición nutricional del néctar o el polen, haciendo que ya no sea apetecible para los organismos colonizadores (Herrera y otros, 2008), e incluso, como en el caso del etanol, pueden acumularse en el néctar y aumentar su toxicidad potencial para los polinizadores (Junker y otros, 2011). El efecto de la modificación nutricional se ha observado en las levaduras que habitan en el néctar (Herrera y otros, 2008).

Una diferencia notable entre flores y hojas es la permanencia del hábitat. Las flores son estructuras efímeras, lo que puede provocar que algunas bacterias de crecimiento lento no puedan establecerse en ellas (Junker y Tholl, 2013). Otra diferencia es el perfil de metabolitos secundarios volátiles que emiten. En el caso de las flores emiten una gran variedad con actividad antimicrobiana, para que de este modo no sean modificadas, y sean atractivos para los polinizadores. Mientras que las hojas emiten COV que, aunque inhiben el crecimiento de las bacterias, lo hacen en menor medida, pues su modificación no conlleva una pérdida en la reproducción (Junker y otros, 2011). Las cepas bacterianas que sean capaces de tolerar los

que inhiben el crecimiento y colonizar sus superficies tienen una dimensión de nicho más amplia que aquellas cuyo crecimiento se inhiba (Junker y Tholl, 2013).

7.2. Efectos de los COV vegetales sobre los microorganismos.

Los COV con actividades antimicrobianas tienen propiedades lipofílicas, su mecanismo principal es interactuar con la membrana plasmática afectando a su estructura y estabilidad, provocando su alteración y un aumento de su permeabilidad. También, pueden llegar a cambiar proteínas, procesos metabólicos o reguladores de los microorganismos y tener efectos negativos en la agregación bacteriana (Parveen y otros, 2004). Algunas especies de microorganismos son capaces de degradar o eliminar los COV enzimáticamente o mediante bombas de expulsión, lo que les influyen en la capacidad de poder establecerse en nichos de tejido particulares (Junker y Tholl, 2013).

En la Tabla 1, se muestran algunos ejemplos de COV vegetales y el efecto que tienen en los microorganismos.

Tabla 1: Efectos y acciones de COV de las plantas en microorganismos. La información de los efectos que producen se han sacado de Junker y Tholl (2013) y de Radulovic y otros (2013). La tabla es de elaboración propia.

COV vegetal	Acción y efecto en el microorganismo
El carvacrol (monoterpeno), el timol (monoterpeno), Monoterpenos hidroxilados, algunos fenilpropanoides, γ-terpineno y el limoneno (más potentes y de flores y hojas)	Actividad inhibitoria del crecimiento microbiano, aumenta la fluidez y la permeabilidad de la membrana al insertarse entre las cadenas de acilo de los fosfolípidos, salida de iones y ATP y alteración del potencial de membrana y el gradiente
α-terpineno	Cambios transcripcionales de genes relacionados con el metabolismo de los lípidos, la estructura y función de la pared celular, la desintoxicación y el transporte celular y efectos inhibidores sobre la formación de ergosterol
COV con azufre: - Alicina (COV del aceite de ajo) - Isotiocianato de alilo (descomposición volátil del glucosinolato alifático sinigrina)	Inhibición de las actividades enzimáticas al reaccionar con los residuos de tiol de aminoácidos libres y afecta a la función de las proteínas mediante la ruptura oxidativa de los enlaces disulfuros

7.3. Rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas

Ryu y otros (2003) demostraron que las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR) son capaces de producir COV responsables de la señalización química que desencadena el crecimiento vegetal, entre los que se encuentran el 2,3-butanodiol y la acetoína (Ryu y otros, 2003). Estos autores hicieron pruebas con diferentes estereoisómeros

de 2,3-butanodiol y observaron que solo (2R, 3R)-2,3-butanodiol promovía el crecimiento de la planta e inducía su resistencia y tolerancia. Algunos insectos utilizan la acetoina y el 2,3-butanodiol como feromonas, por lo que estos COV participan en la atracción de estos insectos (Ryu y otros, 2004).

Tanto las bacterias que aportan resistencia a las plantas como las fitopatógenas sintetizan 2,3-butanodiol, pero en cada caso tiene una función totalmente distinta en la planta. En el primero, le aporta resistencia e inmunidad frente a los patógenos, mientras que en el segundo favorece el crecimiento de patógenos bacterianos de la pudrición. Esto es debido a que las enzimas responsables de la degradación de la pared celular y que producirán la pudrición de la planta, necesitan un pH más alcalino que el que se encuentra normalmente en el apoplasto vegetal. Gracias al 2,3-butanodiol, los patógenos alcalinizan el medio, permitiendo la activación de los mecanismos de patogénesis (Chung y otros, 2016). El factor que marca la diferencia entre que la planta reciba o no la resistencia y la inmunidad, cuando ambas bacterias están presentes, es el tiempo (Ryu y otros, 2004).

7.3.1. Importancia de la ingeniería metabólica en la síntesis de 2,3-butanodiol

La ingeniería metabólica se utiliza para mejorar, expandir o producir más cantidad de COV. La producción de 2,3-butanodiol y acetoina por las PGPR es muy importante para la planta, por lo que se ha aplicado este tipo de ingeniería para introducir esta ruta biosintética en bacterias que no la tenían, modificando alguna que, sí la tienen, o se ha utilizado para potenciar la producción de este compuesto, pues algunas bacterias, aunque sí tienen la ruta biosintética, la producción es muy escasa y no alcanzan los niveles necesarios para realizar una acción beneficiosa para la planta.

Un ejemplo de bacteria que no tiene la ruta biosintética es *E. coli*, en ella se le han introducido los genes implicados en la formación del estereoisómero de 2,3-butanodiol que produce la resistencia e inmunidad. De este modo *E. coli* puede producir la forma correcta de 2,3-butanodiol y se convierte en una PGPR (Chung y otros, 2016). Un ejemplo de bacteria que se le ha estimulado la producción de 2,3-butanodiol es *Enterobacter cloacae*. Se le aplicaron tres modificaciones que consiguieron aumentar en un 16% la producción de 2,3-butanodiol, lo que le permite sintetizar la cantidad necesaria para tener una acción beneficiosa para la planta (Chung y otros, 2016).

7.4. Los COV como bioestimulantes y bioprotectores

Los COV de las bacterias son capaces de aportarles inmunidad (bioprotectores) y crecimiento a la planta (bioestimulantes) (Sharifi y Ryu, 2018). En la tabla 2, se exponen algunos ejemplos de bioestimulantes y bioprotectores y los efectos que tienen en las plantas.

Tabla 2: Algunos ejemplos de bioestimulantes y bioprotectores y los efectos que tienen en las plantas. La información está sacada de Sharifi y Ryu, 2018 y de Chung y otros, 2016. La tabla es de elaboración propia.

Bioestimulantes	
Dimetilhexadecilamina (DMHDA)	Aumenta la longitud de la raíz primaria, la longitud del tallo y la biomasa vegetal
Indol	Reduce del tamaño del meristemo en la punta de la raíz primaria, aumenta el número y la longitud de las raíces laterales y modula la señalización de auxinas, interrumpiendo la maquinaria
COV de Bacillus subtilis (GB03)	Aumentan el contenido de biomasa y de aceites esenciales en plantas medicinales, reducen la biosíntesis de ABA y mejora la absorción de metales
2-Pentilfurano	Promueve el crecimiento de la planta
3-pentanol y la 2-pentanona	Aumentan la producción de frutos
Bioprotectores	
Indol	Tiene múltiples funciones en la formación de esporas, la señalización, la estabilidad de los plásmidos, la resistencia a los fármacos, la formación de biopelículas y la virulencia y activa la defensa a través del ácido jasmónico
Disulfuro de dimetilo	Induce la resistencia sistémica inducida
Tridecano	Activa la defensa a través del ácido salicílico, el ácido jasmónico y el etileno
Pentanol y sus derivados	Activa la defensa a través del ácido salicílico, el ácido jasmónico y el etileno
1-octen-3-ol	Mejora la expresión de genes vegetales dependientes de ácido jasmónico, etileno y de heridas, y reduce los síntomas de enfermedades
Acetoína y 2,3-butanodiol	Induce la resistencia sistémica inducida

Los BVC bioestimulantes son capaces de afectar a la raíz, pueden mejorar la calidad y el rendimiento de los cultivos, tanto en las semillas, los frutos, los tubérculos, la biomasa, los aceites esenciales, los metabolitos secundarios y los azúcares. Pueden inducir la floración, la producción de los frutos, aumenta el tiempo de floración y la producción de semillas. Los BVC de algunas cepas de PGPR mejoran la absorción de macronutrientes y micronutrientes, como

el hierro, el cobre, el selenio y el azufre, mejorando procesos metabólicos de la planta (Briat, 2007; Sharifi y Ryu, 2018). Algunas BVC regulan el crecimiento de las plantas modulando la biosíntesis, percepción y homeostasis de las hormonas vegetales. Por ejemplo, en el caso de las citoquininas pueden aumentar la fotosíntesis y la producción de flores y en el caso del ABA, lo regulan negativamente, favoreciendo la fotosíntesis.

Los BVC bioprotectores pueden inducir la resistencia sistémica inducida de la planta y otros son muy tóxicos para patógenos. Pueden inducir tolerancia sistémica a la salinización del suelo y estrés por sequía, pues al poder estimular el crecimiento de las raíces, pueden llegar a más zonas y conseguir así el agua. También, confieren tolerancia sistémica al estrés abiótico, pues modulan la producción de prolina, antioxidantes y hormonas y reducen la acumulación de sodio en las plantas; por lo que, indirectamente, mejoran el crecimiento de la planta al aliviar el estrés biótico y abiótico (Sharifi y Ryu, 2018).

7.5. Los BVC y los COV vegetales que influyen en los hongos

En el caso de las bacterias con los hongos, los BVC juegan papeles muy diferentes en función de la disponibilidad de nutrientes en el medio y del tipo de bacteria u hongo que se encuentre en él. Así cuando los nutrientes escasean, las bacterias y los hongos que utilizan los COV de las raíces para nutrirse, compiten. Las bacterias comienzan a sintetizar COV que son fungicidas, inhibiendo el crecimiento, la esporulación y la germinación del hongo, incluso llegan a modificar la morfología del hongo provocándole la lisis del micelio. Por el contrario, si no tienen que entrar en competencia, las bacterias pueden llegar a potenciar el crecimiento de los hongos, pero esto no suele ocurrir.

Los BVC pueden tener influencia a la hora de formar micorrizas, dado que son moléculas bioactivas que desempeñan un papel en el establecimiento de estas, se consideran bacterias auxiliares de micorrizas. Estos BVC promueven el crecimiento del hongo micorrízico y la germinación de este, mientras inhibe el de posibles hongos competidores. Todo esto proporcionará un correcto microhábitat para una red de bacterias y hongos mutualistas con las plantas. También estos volátiles están involucrados en una interacción tritrófica, pues gracias a ellos se reducen las infecciones de nematodos en las plantas (Effmert y otros, 2012).

Vespermann y otros (2007) vieron como varias especies de bacterias, entre las que se encuentran *Stenotrophomona*, *Serratia* y *Bacillus*, son capaces de inhibir el crecimiento

micelial de varios hongos, inhiben la germinación, causando deformaciones estructurales e inhiben la formación y extensión de las hifas. Además, son capaces de promover el crecimiento y la resistencia sistémica en *Arabidopsis thaliana*. La fuerza de la inhibición del crecimiento fúngico depende del aislado rizobacteriano que se emplee en cada experimento. Destacar que estas observaciones tienen aplicaciones agronómicas y aplicaciones medicinales, pues pueden servir como agentes de control biológico y para controlar infecciones producidas por los hongos (Vespermann y otros, 2007).

7.6. Interacción de los COV vegetales, de los hongos y las bacterias con organismos de otros niveles tróficos

Los COV vegetales, de los hongos y de las bacterias pueden cambiar a su vez los COV de la planta, provocando una mejor respuesta y repulsión ante las plagas. También sirven como señales químicas para los insectos, ya sea como señal de recursos o señal de atracción hacia un organismo del que es depredador (Figura 10). Los animales superiores, por su parte, pueden reconocer estos COV producidos en la interacción planta-microorganismo y reconocer ambas partes. Por ejemplo, algunas aves los reconocen y ponen sus nidos en función de los COV que haya, pues algunos son capaces de inhibir a patógenos de las aves (Junker y Tholl, 2013).

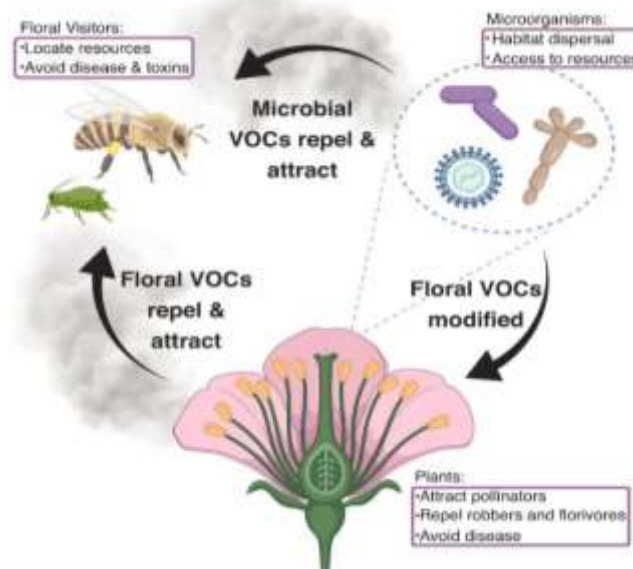


Figura 10: Conjunto de interacciones establecidas entre las plantas, los microorganismos, los insectos y las plagas. Los COV vegetales tienen grandes impactos de las comunidades microbianas florales. Los COV producidos por las plantas median la percepción de los insectos y la selección del hospedador. Las comunidades microbianas asociadas a las plantas modifican las mezclas de volátiles de las plantas, lo que afecta a las interacciones con los insectos, por sus efectos repelentes o atrayentes (Crowley-Gall y otros, 2021).

8. Conclusiones y perspectivas futuras

Los compuestos orgánicos volátiles, tanto de la planta como de los microorganismos, favorecen las interacciones que se establecen entre estos dos grupos, lo que afecta de diferentes formas a ambos. Los COV que emiten las diferentes partes de la planta (raíz, parte aérea y flores) crean hábitats que albergan un gran número de microorganismos beneficiosos, y a su vez, repelen a aquellos que son perjudiciales para ellas, es decir, son capaces de afectar tanto a las comunidades microbianas como a su composición.

Se ha observado como la existencia de los BVC puede afectar al crecimiento de la planta, cambiándolo y a su inmunidad frente a patógenos y plagas. Los PGPR emiten COV bioestimulantes y/o COV bioprotectores, como el 2,3-butanodiol, que son capaces de modificar la fisiología vegetal, su bioquímica y su desarrollo, y pueden activar la resistencia y la inmunidad de la planta.

Las interacciones que se producen entre las plantas y los microorganismos influyen en muchos niveles tróficos. Los COV que se crean en esta interacción son capaces de establecer una compleja red entre los diferentes niveles tróficos, modificando a organismos pertenecientes a cada uno de esos niveles.

Sería de importancia explorar estudios más diversos para poder abarcar un mayor número de COV y conocer los diferentes COV que provocan las diferentes interacciones de los distintos niveles tróficos, para poder controlarlas y es fundamental conocer qué parte de la planta es la que emite estos COV, para conocer en profundidad las redes alimentarias que se establecen.

Cabe plantear un estudio acerca del por qué se establece una comunidad bacteriana u otra, y qué factores hacen que unas puedan proliferar mejor que otras y si existen efectos combinados entre las bacterias establecidas, ya sea de forma aditiva o sinérgica. Se deben comparar las bacterias que se han seleccionado por estos COV, ya sean aquellas que les han permitido colonizar la superficie o las que han sufrido una inhibición del crecimiento, y si estas interferían de manera positiva o negativamente a la planta, tanto en su crecimiento como en su reproducción.

Asimismo, sería interesante conocer los cambios transcripcionales que se producen en las plantas cuando están expuestas a una mezcla particular de COV y que pueden ser importantes para establecer o minimizar interacciones con diferentes microorganismos.

Se podrían realizar estudios para estudiar los COV que crean modificaciones fisiológicas en las plantas, como el desarrollo de raíces laterales o de la raíz principal, pues podrían utilizarse como fertilizantes en la agricultura biológica. Se podrían hacer más estudios para identificar volátiles que pudieran ser más efectivos y para determinar las concentraciones más efectivas, así como los efectos de las mezclas de volátiles sobre el crecimiento de las plantas en condiciones de invernadero y de campo. Dada su diversidad, los compuestos orgánicos volátiles pueden llegar a utilizarse en distintos ámbitos:

En las ciencias ambientales la existencia de COV que se producen en la interacción planta-microorganismos que se emiten a la atmósfera e intercambian gases con esta, afectando a la composición de estos, requiere de futuras investigaciones para comprender de qué modo puede afectar a posibles cambios climáticos y como se podrían regular gracias a estos COV. En un futuro, un mayor conocimiento de los COV vegetales y de los BVC podría abrir nuevas visiones en las ciencias ambientales.

En la agricultura e industria agroalimentaria se debería estudiar con detenimiento cómo los COV vegetales afectan a las comunidades microbianas y cómo estas alteran, tanto la estabilidad física de la planta como las condiciones del medio en el que se encuentran, como el pH, la disponibilidad de nutrientes, etc., permitiría conocer con más detalle aspectos ecológicos de estos medios. Podría permitir una determinación de los roles biológicos y ecológicos que estos microorganismos establecen en el suelo y cómo se podrían utilizar como indicadores de los ecosistemas microbianos. Estos descubrimientos podrían ser usados en las industrias agroalimentarias y en la agricultura, pues serían un comienzo para poder favorecer el crecimiento de determinadas plantas y evaluar tratamientos para controlar los patógenos fúngicos y bacterianos de las plantas aplicados en los cultivos. Otro punto que sería interesante sería el de la modificación que sufre el aroma de las flores por los BVC, pues podrían hacerse más atractivas para determinador polinizadores y para la venta al público.

Sería de interés desarrollar con más detenimiento la ingeniería metabólica, pues permitiría mejorar, expandir o producir las COV de mayor interés para cada situación. Tendría aplicaciones agrícolas e industriales, de tal manera que se podría aumentar la productividad de una planta y fabricar nuevos bioestimulantes, bioprotectores y biocombustibles y explotar dichos recursos sobre los efectos frente a insectos, nematodos, etc, en el campo.

9. Bibliografía

- Audrain, B., Farag, M., Ryu, C., & Ghigo, J. (2015). Role of bacterial volatile compounds in bacterial biology. *FEMS Microbiology Reviews*, 39(2), 222-233. doi:<https://doi.org/10.1093/femsre/fuu013>
- Bitas, V., Kim, H.-S., Bennett, J., & Kang, S. (2013). Sniffing on Microbes: Diverse Roles of Microbial Volatile Organic Compounds in Plant Health. *MPMI*, 26(8), 835-843. doi:<http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-10-12-0249-CR>.
- Bodenhausen, N., Horton, M., & Bergelson, J. (2013). Bacterial communities associated with the leaves and the roots of *Arabidopsis thaliana*. *Plos One*, 8(2), e56329. doi:10.1371 / journal.pone.0056329.
- Briat, J. (2007). Iron dynamics in plants. *Advances in Botanical Research*, 46, 137-180. doi:[https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(07\)46004-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(07)46004-9)
- Bringel, F., & Couèe, I. (2015). Pivotal roles of phyllosphere microorganisms at the interface between plant functioning and atmospheric trace gas dynamics. *Frontiers in Microbiology*, 6, 486. doi:10.3389 / fmicb.2015.00486
- Cagliero, C., Mastellone, G., Marengo, A., Bicchi, C., Sgorbini, B., & Rubiolo, P. (2020). Analytical strategies for in-vivo evaluation of plant volatile emissions- A review. *Analytica Chimica Acta*, 1147, 240-258. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.11.029>.
- Chung, J., Song, G., & Ryu, C. (2016). Sweet scents from good bacteria: Case studies on bacterial volatile compounds for plant growth and immunity. *Plant Molecular Biology*, 90, 677-687. doi:DOI 10.1007/s11103-015-0344-8
- Cofer, T., Seidl-Adams, I., & Tumlinson, J. (2018). From Acetoin to (Z)-3-Hexen-1-ol: The Diversity of Volatile Organic Compounds that Induce Plant Responses. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66, 11197-11208. doi:10.1021/acs.jafc.8b03010
- Crowley-Gall, A., Rering, C., Rudolph, A., Vannette, R., & Beck, J. (2021). Volatile microbial semiochemicals and insect perception. *Current Opinion in Insect Science*, 44, 1-12. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cois.2020.10.004>
- Curar, R., & Parsons, E. (2002). Novel intercellular communication system in *Escherichia coli* that confers antibiotic resistance between physically separated populations. *Journal of Applied Microbiology*, 92(6), 1116-1122. doi:<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01647.x>
- D'Alessandro, M., Erb, M., Ton, J., Brandenburg, A., Karlen, D., Zopfi, J., & Turlings, T. (2014). Volatiles produced by soil-borne endophytic bacteria increase plant pathogen resistance and affect tritrophic interactions. *Plant Cell Environ*, 37(4), 813-826. doi:10.1111/pce.12220
- Dicke, M. (agosto de 2016). Plant phenotypic plasticity in the phytobiome: a volatile issue. *Current Opinion in Plant Biology*, 32, 17-23. doi:<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.05.004>
- Effmert, U., Kalderás, J., Warnke, R., & Piechulla, B. (2012). Volatile Mediated Interactions Between Bacteria and Fungi in the Soil. *Journal of Chemical Ecology*, 38, 665-703. doi:<https://doi.org/10.1007/s10886-012-0135-5>

- Egea-Cortines, M., Pérez, F., Ruiz-Hernández, V., Terry, M., Arce-Gallego, S., Weiss, J., & Navarro, P. (2020). *Automatic classification of constitutive and non-constitutive metabolites with gcProfileMaker*. doi:10.1101/2020.02.24.963058
- Farré-Armengol, G., Filella, I., Llusia, J., & Peñuelas, J. (2016). Bidirectional Interaction between Phyllospheric Microbiotas and Plant Volatile Emissions. *Trends in Plant Science*, 21(10), 854-860. doi:0 http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2016.06.005
- Feussner, I., & Wasternack, C. (2002). The lipoxygenase pathway. *Annual Review of Plant Biology*, 53, 275-297. doi:10.1146 / annurev.arplant.53.100301.135248
- Fiddaman, P., & Rossall, S. (1994). Effect of substrate on the production of antifungal volatiles from *Bacillus subtilis*. *J Appl Bacteriol*, 76(4), 395-405. doi:10.1111/j.1365-2672.1994.tb01646.x.
- Gao, Y., Jin, Y., Li, H., & Chen, H. (2005). Volatile Organic Compounds and Their Roles in Bacteriostasis in Five Conifer Species. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47(4), 499-507. doi:https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2005.00081.x
- Giudice, L., Massardo, D., Pontieri, P., Bertea, C., Mombello, D., Carata, E., . . . Alifano, P. (2008). The microbial community of Vetiver root and its involvement into essential oil biogenesis. *Environment Microbiology*, 10(10), 2824-2841. doi:10.1111 / j.1462-2920.2008.01703.x.
- Herrera, C., García, I., & Pérez, R. (2008). Invisible floral larcenies: microbial communities degrade floral nectar of bumble bee-pollinated plants. *Ecology*, 89(9), 2369-2376. doi:10.1890/08-0241.1.
- Holopainen, J. (2004). Multiple functions of inducible plant volatiles. *Trends in Plant Science*, 9(11), 529-533. doi:https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.09.006
- Junker, R., & Tholl, D. (2013). Volatile Organic Compound Mediated Interactions at the Plant -Microbe Interface. *Journal of Chemical Ecology*, 39, 810-825. doi:10.1007/s10886-013-0325-9
- Junker, R., Loewel, C. G., Dötterl, S., Keller, A., & Blüthgen, N. (2011). Composition of epiphytic bacterial communities differs on petals and leaves. *Plant Biology*, 13(6), 918-924. doi:https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2011.00454.x
- Karamanoli, K., Thalassinos, G., Karpouzias, D., Bosabalidis, A., Vokou, D., & Constantinidou, H. (2012). Are leaf glandular trichomes of *Oregano* hospitable habitats for bacterial growth? *Journal of Chemical Ecology*, 38(5), 476-485. doi:10.1007/s10886-012-0117-7.
- Kfoury, N., Scott, E., Orians, C., & Robbat, A. J. (2017). Direct Contact Sorptive Extraction: A Robust Method for Sampling Plant Volatiles in the Field. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(38), 8501-8509. doi:10.1021/acs.jafc.7b02847
- Knudsen, J., & Gershenzon, J. (2006). The chemical diversity of floral scent. In *Biology of Floral Scent* (eds N. Dudareva & E. Pichersky), 27-52.
- Maeda, H., & Dudareva, N. (2012). The Shikimate Pathway and Aromatic Amino Acid Biosynthesis in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 63, 73-105. doi:https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105439
- Maffei, M., Gertschb, J., & Appendinoc, G. (agosto de 2011). Plant volatiles: Production, function and pharmacology. *Natural Product Reports: Current developments in natural products chemistry*, 28(8), 1337-1474. doi:10.1039/c1np00021g

- McGarvey, D., & Croteau, R. (1995). Terpenoid metabolism. *The Plant Cell*, 7, 1015-1026. doi:10.1105 / tpc.7.7.1015
- Muhlemann, J., Klempien, A., & Dudareva, N. (2014). Floral volatiles: from biosynthesis to function. *Plant, Cell & Environment*, 37(8), 1936-1949. doi:https://doi.org/10.1111/pce.12314
- Parveen, M., Hasan, M., Takahashi, J., Murata, Y., Kitagawa, E., Kodama, O., & H, I. (2004). Response of *Saccharomyces cerevisiae* to a monoterpene: evaluation of antifungal potential by DNA microarray analysis. *The journal of antimicrobial chemotherapy*, 54(1), 46-55. doi:10.1093/jac/dkh245.
- Peñuelas, J., Llusia, J., Asensio, D., & Munné-Bosch, S. (2005). Linking isoprene with plant thermotolerance, antioxidants and monoterpene emissions. *Plant, Cell and Environment*, 28, 278-286.
- Rybakova, D. R.-W., Cernava, T., Schaefer, A., Schmuck, M., & Berg, G. (2017). Aerial Warfare: A Volatile Dialogue between the Plant Pathogen *Verticillium longisporum* and Its Antagonist *Paenibacillus polymyxa*. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1294. doi:https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01294
- Ryu, C., Farag, M., Hu, C., Reddy, M., Kloepper, J., & Pare, P. (2004). Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 134, 1017-1026. doi:10.1104/pp.103.026583
- Ryu, C., Farag, M., Hu, C., Reddy, M., Wei, H., Paré, P., & Kloepper, J. (2003). Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100(8), 4927-4932. doi:10.1073/pnas.0730845100
- Schulz, S., & Dickschat, J. (2007). Bacterial volatiles: the smell of small organisms. *Natural product reports*, 24(4), 814-842. doi:10.1039/b507392h
- Schulz-Bohm, K., Geisen, S., Wubs, E. R., Song, C., de Boer, W., & Garbeva, P. (2017). The prey's scent – Volatile organic compound mediated interactions between soil bacteria and their protist predators. *The ISME journal*, 11(3), 817-820. doi:https://doi.org/10.1038/ismej.2016.144
- Sharifi, R., & Ryu, C. (2018). Revisiting bacterial volatile-mediated plant growth promotion: lessons from the past and objectives for the future. *Annals of Botany*, 122(3), 349-358. doi:10.1093/aob/mcy108
- Vespermann, A., Kai, M., & Piechulla, B. (2007). Rhizobacterial Volatiles Affect the Growth of Fungi and *Arabidopsis thaliana*. *Appl Environ Microbiol*, 73(17), 5639-5641. doi:10.1128/AEM.01078-07
- Weisskopf, L., Schulz, S., & Garbeva, P. (2021). Microbial volatile organic compounds in intra-kingdom and inter-kingdom interactions. *Nature Reviews Microbiology*. doi:https://doi.org/10.1038/s41579-020-00508-1