

LOS MICROORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FÓSFORO (MSF): UNA ALTERNATIVA BIOTECNOLÓGICA PARA UNA AGRICULTURA SOSTENIBLE¹

PHOSPHATE-SOLUBILIZING MICROORGANISMS (PSM):
A BIOTECHNOLOGICAL ALTERNATIVE SOLUTION FOR A
SUSTAINABLE AGRICULTURE

OS MICROORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FÓSFORO
(MSF): UMA ALTERNATIVA BIOTECNOLÓGICA PARA UMA
AGRICULTURA SOSTENIBILE

Carlos Omar Patiño-Torres

Doctor en Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia- Sede Palmira. Magister en Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín. Director Grupo de Investigación Rizobiom. Profesor asistente Departamento de Suelos y Aguas, Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad del Tolima - Colombia
copatinot@ut.edu.co.

Oscar Eduardo Sanclemente-Reyes

Doctor en Agroecología, Magíster en Ciencias Agrarias e Ingeniero Ambiental de la Universidad Nacional de Colombia- Sede Palmira. Director Grupo de Investigación Producción Sostenible. Docente ocasional de la Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente, Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, Palmira - Colombia.
oscar.sanclemente@unad.edu.co.

RESUMEN

El presente artículo pretende revisar de manera detallada la biología de la solubilización de fosfatos en el suelo, efectuada por microorganismos de muy variada taxonomía y estilo de vida, que sirva como marco teórico para el desarrollo de alternativas de biofertilización fosfórica basadas en bioinsumos. Se revisaron diferentes fuentes de información, primarias y secundarias, referidas a los diversos aspectos de la biosolubilización de fósforo en el suelo, con prioridad, aunque no exclusividad, a las publicadas en los últimos quince años. Se muestra una revisión de la dinámica del P en el suelo, la taxonomía de los microorganismos solubilizadores de fósforo, los mecanismos implicados en la solubilización y se hace un análisis crítico de la tecnología a partir de algunos resultados relevantes de ensayos en campo. Se concluye que la solubilización de fosfatos es un proceso de amplia dispersión en los suelos del mundo, cuyas bases biológicas están relativamente bien entendidas, lo que puede apoyar en un futuro inmediato el desarrollo de biotecnologías eficientes y sostenibles para la nutrición fosfórica de los cultivos.

ABSTRACT

This article reviews in detail the biology of phosphate solubilizing microbes in the soil, to serve as a framework for the development of alternatives for the extensive use of phosphate biofertilizers. Different sources of information, primary and secondary, addressing the various aspects of biosolubilization of phosphorus in the soil, giving priority, but not exclusively, to those published in the last fifteen years, were reviewed. A review of the dynamics of soil phosphorus, the taxonomy of phosphorus solubilizing microorganisms, the mechanisms involved in the solubilization and critical analysis of technology from some relevant results of field tests is presented. It is concluded that phosphate solubilization process is a wide dispersion in the soils of the world, whose biological bases are relatively well understood, which can support in the near future the development of efficient and sustainable biotechnologies for phosphorus nutrition.

KEYWORDS

Phosphate solubilization, PGPR, soil phosphorus, biofertilizers

PALABRAS CLAVE

Solubilización de fosfatos, PGPR, biofertilización

RESUMO

Este artigo revê em detalhes a biologia de microrganismos solubilizadores de fosfato do solo feitas pela taxonomia e estilo de vida variadas, para servir como um marco para o desenvolvimento da alternativa biofertilizantes fosfato de base biológica. Diferentes fontes de informação, primárias e secundárias, que abordam os diversos aspectos da biosolubilização de fósforo no solo, dando prioridade, mas não exclusivamente, aos publicados nos últimos 15 anos, foram revisados. Uma análise da dinâmica do P no solo, a taxonomia de microrganismos solubilizadores de fósforo, os mecanismos envolvidos na solubilização e análise crítica da

tecnologia de alguns resultados relevantes de testes de campo é apresentado. Conclui-se que processo de solubilização de fosfato é uma grande dispersão nos solos do mundo, cujas bases biológicas são relativamente bem entendido, que podem suportar em um futuro próximo o desenvolvimento de biotecnologias culturas fosfato nutrição eficientes e sustentáveis.

PALAVRAS-CHAVE

Solubilização de P, microrganismos solubilizadores de fosfato, fosfato do solo

Introducción

Uno de los nutrientes más necesarios y, paradójicamente, más deficitarios para los cultivos es el fósforo (P). A pesar de un relativo alto contenido de P total en la mayoría de los suelos, el 98% tienen un inadecuado suplemento de P disponible para la nutrición de los cultivos, condición que induce deficiencias en distinto grado de severidad, con graves repercusiones en los niveles de productividad y rendimiento (Awasthi y otros, 2011). Esta condición de deficiencia es superada normalmente con la aplicación de fertilizantes fosfóricos de síntesis química, alternativa que pese a su eficiencia implica enfrentarse a varios problemas: a) altos costos energéticos y económicos, b) muy baja eficiencia (5-30%), c) acumulación crónica de fosfatos en el ambiente, y d) escasez global de roca fosfórica, insumo esencial para la producción de fertilizantes fosfóricos.

En estas condiciones, la utilización biotecnológica de microorganismos con capacidad para solubilizar las reservas fosfóricas del suelo, merece especial atención por sus múltiples ventajas (Antoun, 2012; Zaidi y otros, 2014). En este documento se analizan la biología de la capacidad solubilizadora y su relación con la dinámica del P del suelo, la distribución taxonómica del fenotipo y se exponen los resultados de algunas experiencias prácticas.

1. La naturaleza y dinámica del P en el suelo

El contenido de P en los suelos varía entre 200 y 5000 mg kg⁻¹, con un promedio de 600 mg kg⁻¹ (Arai y Sparks,

2007; Sharpley, 2012), incluyendo formas inorgánicas (Pi) y formas orgánicas de P (Po). En la mayoría de los suelos el Pi comprende el 50%-70% del P total, aunque la fracción puede variar entre el 10% y el 90%, dependiendo del tipo de suelo. En las rocas primarias y en los suelos jóvenes, el P se encuentra unido principalmente al Ca y Mg, dando al P una solubilidad típica que se estima entre 0.01 y 0.1 mg L⁻¹ (Sharpley, 2012), mientras, en los suelos altamente lavados como los del trópico, el P se une principalmente al Fe y Al, formando fosfatos de Fe (Fe-P) y de aluminio (Al-P), de solubilidad mucho más baja que la de los fosfatos de Ca (Ca-P) (Arai y Sparks, 2007; Sharpley, 2012; Tiessen, 2008).

En la solución del suelo, las formas iónicas del Pi son dependientes del pH. A valores de pH entre 4.0 y 6.0, la mayoría del Pi está presente como ion H₂PO₄⁻, a pH entre 6.5 y 7.5, el Pi en la solución del suelo está presente principalmente como H₂PO₄⁻ y HPO₄²⁻ mientras, a pH entre 8.0 y 10.0, el ion HPO₄²⁻ es dominante. En suelos altamente ácidos con pH ≤ 3.0, el P está presente como H₃PO₄, una forma química extremadamente reactiva, por lo que en estos suelos, la fijación del fosfato es bastante rápida, al producirse reacciones de precipitación que forman Al-P y Fe-P insolubles, no asimilables para las plantas (Arai y Sparks, 2007; Prasad y Power, 1997; Vance y otros, 2003; Pigna y Violante, 2003). Estas reacciones de precipitación son usualmente las responsables de la muy baja eficiencia de la fertilización fosfatada, la cual en casos extremos puede ser de tan solo 5 a 10%.

Por su parte, la contribución del Po dentro del P total del suelo generalmente es de al menos 30%, aunque ocasionalmente puede alcanzar valores de hasta 80% (Richardson, 2007; McKelvie, 2005).

De manera general, la disponibilidad del P del suelo para la nutrición de las plantas depende de tres procesos principales que afectan la concentración del P en la solución del suelo (Pierzynski y otros, 2005): a) disolución/ precipitación (equilibrio mineral), b) adsorción/ desorción (interacciones entre el P en solución y las superficies sólidas del suelo) y c) mineralización / inmovilización (conversiones mediadas biológicamente entre formas orgánicas e inorgánicas del P).

Desde una perspectiva nutricional, el P disponible para las plantas es el fosfato inorgánico (Pi) presente en la solución del suelo como iones ortofosfato, procedentes de la mineralización de materiales orgánicos y la solubilización de fuentes minerales (Gojon, 2009), cuya concentración, como se mencionó, varía en forma considerable temporal y espacialmente (200 - 5000 mg P kg⁻¹) (Arai y Sparks, 2007; Sharpley, 2012; Gojon y otros, 2009; Robinson, 2005).

Como respuesta evolutiva a la baja disponibilidad del P en los suelos, las plantas desarrollaron diferentes estrategias morfológicas, bioquímicas y simbióticas adaptativas para incrementar la adquisición del Pi y/o para mejorar la eficiencia de su utilización interna (Vance y otros, 2003; Lambers y otros, 2006; Lambers y otros, 2011), siendo una de las más importantes la asociación de la raíz con microorganismos del suelo, capaces de mineralizar y/o solubilizar las fuentes de P orgánicas e inorgánicas, respectivamente.

2. Los microorganismos como fuente y dinamizadores del fósforo en el suelo

Los organismos involucrados en las transformaciones del P en el suelo incluyen bacterias, hongos, cromista, protozoos y algunos nematodos (Awasthi y otros, 2011; Oberson y Joner, 2005; Bünemann y otros, 2011; Jones y Oburger, 2011). En general, los microorganismos del suelo dinamizan el ciclo del P a través de procesos de mineralización, inmovilización y solubilización, los cuales están relacionados con su metabolismo nutricional.

Debido a que las fuentes orgánicas no son utilizadas directamente para la nutrición microbiana, éstas deben primero hidrolizarse por la acción de enzimas fosfatasa, producidas y secretadas al suelo por los microorganismos (Singh y Satyanarayana

2012). La revisión de Nannipieri y otros (2011) analiza exhaustivamente la naturaleza y roles de las fosfatasa en el suelo. Entre los factores que influyen la mineralización e inmovilización del Po en el suelo se incluyen la naturaleza química de la materia orgánica y su reactividad asociada, la cantidad de Po, la proporción C:P y N:P de los materiales orgánicos, la temperatura, la humedad, la aireación, el pH, la intensidad de cultivo y la fertilización con P (Condrón, 2004; Sims y Vadas, 2005).

Es importante considerar que, además de mediar varios procesos clave en el ciclo biogeoquímico del P, los microorganismos constituyen en sí mismos una importante reserva de P en el suelo (Chuang y otros, 2007).

3. Solubilización de fosfatos en el suelo. Naturaleza y taxonomía

La solubilización del P del suelo es el proceso por el cual las reacciones de precipitación se revierten, liberando P en la solución del suelo, mediado generalmente por la acción metabólica de los microorganismos y las raíces de las plantas. La solubilización del P como una capacidad bacteriana se reconoció ya hace más de un siglo (Goldstein y Krishnaraj, 2007), y Gerretsen compiló en una revisión de 1948 (Gerretsen, 1948), lo que se conocía hasta entonces. Durante las décadas siguientes, varios estudios pusieron en evidencia la capacidad solubilizadora de fosfatos de: *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Klebsiella*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Arthrobacter*, *Rhodobacter*, *Pantotea* y *Klebsiella*, entre las bacterias y, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Fusarium* entre los hongos (Awasthi y otros, 2011; Khan y otros, 2007; Sharan y otros, 2008; Khan y otros, 2010; Zaidi y otros, 2009).

Las estimaciones de la microflora del suelo con capacidad para solubilizar fosfatos varían ampliamente. Mientras Chabot y otros (1993) estimaron que los MSF representaban entre el 26% y el 46% de la microflora total de un suelo en Quebec, Bouchard (2002) encontró que en suelos cultivados con papa esta población podría representar entre del 4% al 30% de la población total. En suelos Mollisoles del Canadá, Kucey y Legget (1989) hallaron que ésta proporción era del 0.5% entre poblaciones de bacterias y 0.1% de la

población total de hongos. En un Typic Argiudoll, Azziz y otros (2011) encontraron que las poblaciones de bacterias solubilizadoras de fosfato daban cuenta del 0.18% al 13.3% de las bacterias heterotróficas totales, con una media de 3.8%, sin que se evidenciaran diferencias estadísticas significativas entre suelos con diversas prácticas de manejo. En cualquier caso, es evidente que la capacidad solubilizadora de fosfatos está ampliamente distribuida dentro de la taxonomía bacteriana y edáfica.

4. Mecanismos responsables de la solubilización de fosfatos

Los mecanismos más ampliamente aceptados como responsables de la solubilización microbiana del P mineral son: a) la producción de ácidos orgánicos, b) la producción de protones (normalmente asociada a la asimilación de NH_4^+ y/o a los procesos respiratorios), y c) la producción de ácidos inorgánicos y CO_2 .

4.1. SOLUBILIZACIÓN DE P_i POR ÁCIDOS ORGÁNICOS

En la mayoría de las bacterias se ha demostrado que la capacidad de solubilización del P_i está estrechamente relacionada con la producción de ácidos orgánicos, resultantes de la respiración oxidativa o de procesos fermentativos microbianos. Desde una perspectiva mecanicista, la acción de los ácidos orgánicos sobre la solubilización del P resulta de tres procesos generales (Antoun, 2012; Chuang y otros, 2007; Paredes Mendoza y Espinoza, 2010; Archana y otros, 2012; Khan y otros, 2014):

- La disociación de los ácidos orgánicos libera protones que contribuyen a reducir el pH del suelo y favorecen la disolución de los minerales fosfóricos;
- las reacciones de quelatación en las cuales los componentes aniónicos de los ácidos orgánicos se intercambian por el grupo ortofosfato de los fosfatos de Ca^{2+} , Fe^{3+} y Al^{3+} , liberándolo en la solución del suelo, y;
- el desplazamiento de los fosfatos adsorbidos no específicamente sobre las partículas sólidas del suelo, por las componentes aniónicas de los ácidos orgánicos

Varios estudios señalan que en términos de eficiencia solubilizadora, el número de grupos carboxilo del ácidos orgánicos guarda relación directa con la capacidad solubilizadora, debido a que un número mayor de grupos carboxilo significa un mayor poder de quelatación y/o un mayor número de protones liberados en los procesos de disociación, en consecuencia, el orden de efectividad solubilizadora es: ácidos monocarboxílicos < dicarboxílicos < tricarboxílicos.

El ácido glucónico es uno de los ácidos orgánicos reportados con mayor frecuencia en los estudios de solubilización y su biología se conoce con un gran nivel de detalle. Goldstein (1996) propuso la oxidación directa de la glucosa a ácido glucónico como uno de los principales mecanismos para la solubilización del fosfato mineral en las bacterias Gram negativas, hipótesis que ha sido confirmada por muchos estudios posteriores (Miller y otros, 2008; Sashidhar y Podile, 2010).

En algunas bacterias, la reacción de oxidación de la glucosa a ácido glucónico ocurre por acción de la enzima extracelular glucosa deshidrogenasa (GDH, E.C. 1.1.99.17), la cual requiere invariablemente la pirroloquinolina quinina (PQQ) como coenzima. En este punto, es importante considerar que muchas bacterias del suelo son incapaces de producir el cofactor PQQ.

Otros ácidos orgánicos reportados como mediadores del proceso de solubilización son: ácido oxálico, cítrico, butírico, malónico, láctico, succínico, málico, glucónico, acético, glicólico, fumárico, adípico, indolacético y 2-cetoglucónico (Paredes Mendoza y Espinoza, 2010).

Es evidente que la producción de ácidos orgánicos está fuertemente regulada por la fuente de carbono y nitrógeno disponibles para la nutrición del microorganismo. Patel y otros (2008) aislaron, a partir de la rizosfera de plantas de caña de azúcar, un aislado bacteriano de *Citrobacter* sp., el cual fue capaz de crecer en medio con sucrosa y roca fosfórica como fuentes únicas de C y P, respectivamente. La bacteria aislada también fue capaz de utilizar fructosa como fuente de C. Este azúcar, junto con la sucrosa, no son sustrato de la enzima glucosa deshidrogenasa. Cuando la bacteria creció en medio de cultivo que contenía sucrosa o fructosa, el análisis por HPLC de los filtrados demostró la producción de ácido acético. Se detectó, además, un bajo nivel de ácido pirúvico cuando la

bacteria creció sobre fructosa. En medio con glucosa o maltosa, sólo se reveló la producción de ácido glucónico; sin embargo, este ácido no se evidenció en los sobrenadantes de medio con sucrosa o fructosa.

La importancia de este estudio radica en que en condiciones *in situ*, las plantas exudan a través de la raíz gran cantidad de fuentes de C, entre las que destacan la fructosa y en menor proporción la sucrosa, además de la glucosa. La versatilidad de algunas cepas de microorganismos para utilizar varias fuentes de C, como *Citrobacter* sp. cepa DHRSS, hace de estos mejores candidatos para aplicaciones prácticas de biofertilización, debido a sus ventajas competitivas en la rizosfera.

Chuang y otros (2007) y experiencias en el laboratorio de uno de los autores, demostraron además, que la fuente de P insoluble utilizada en el medio de cultivo, determina el tipo de ácidos orgánicos producido por el hongo responsable de la solubilización. Los investigadores observaron que cuando el P era suministrado como Ca-P, el principal ácido orgánico producido era el ácido glucónico, mientras que cuando el P se suministró como Al-P o Fe-P, la mayor producción de ácido correspondió al ácido oxálico y no se detectó producción del ácido glucónico. Cuando se adicionaron los ácidos orgánicos solos a los medios de cultivo en concentraciones similares a las producidas por el hongo, no se encontró, sin embargo, un nivel de solubilización similar, sino mucho más bajo que aquel que se obtenía en presencia del hongo. El estudio de qué factores podrían estar incrementando la solubilización del P bajo la presencia del hongo, demostró que en el sobrenadante del cultivo, se presentaban metabolitos con peso molecular mayor a 500 Da, los cuales fueron responsables del 48% y 33% del P solubilizado para los aislados 1B y 6A de *A. niger*, respectivamente.

Chuang y otros (2007), demostraron que *Aspergillus* spp. solubilizó P insoluble en medio de cultivo, con una reducción concomitante en el valor del pH, sin importar la fuente de Pi usada. Según los autores, el mayor contenido de protones responsable de la reducción del pH del medio pudo deberse a la producción de ácidos orgánicos y/o a la excreción de H⁺ que acompaña a la asimilación del NH₄⁺ presente en el medio. Se observó igualmente que la presencia de NH₄⁺ en lugar de NO₃⁻ en el medio de cultivo, originaba mayor nivel de solubilización del AlPO₄.

4.2. OTROS MECANISMOS INVOLUCRADOS EN LA SOLUBILIZACIÓN DE P_i

Se ha demostrado que algunos microorganismos pueden solubilizar fosfatos insolubles, sin producir cualquier tipo de ácidos orgánicos. En estos casos, se ha propuesto que el mecanismo principal responsable de la solubilización es la producción de protones durante la asimilación del NH₄⁺, o resultantes de las actividades respiratorias (Mullen, 2005), pues la reducción concomitante del pH de la solución del suelo favorece la solubilización de los fosfatos precipitados.

En otro estudio, Yi y otros (2007) demostraron que la producción de exopolisacáridos por los aislados *Enterobacter* sp. EnHy-401, *Arthrobacter* sp. ArHy-505 y *Azotobacter* sp. AzHy-510, confería a estos microorganismos mayor capacidad de solubilización de fosfatos insolubles en relación en la cepa *Enterobacter* sp. EnHy-402, la cual no produce exopolisacáridos.

Otros mecanismos propuestos como responsables de la solubilización de fosfatos insolubles son la producción de ácidos inorgánicos como el ácido nítrico y el ácido sulfúrico, generados, respectivamente, por las bacterias nitrificantes y *Thiobacillus* sp., durante la oxidación de compuestos nitrogenados o del azufre inorgánico, los cuales reaccionan con los fosfatos insolubles tornándolos biodisponibles (Yi y otros, 2007).

5. Aproximaciones moleculares a la solubilización de fosfatos

Se ha avanzado en forma considerable en la comprensión de los procesos moleculares que subyacen a la solubilización de P_i, lo cual ha llevado a la manipulación genética del proceso de solubilización. En este sentido, la introducción o sobreexpresión de los genes involucrados en la solubilización del P del suelo en bacterias nativas de la rizosfera es una aproximación muy atractiva para mejorar la capacidad de los microorganismos para ser utilizados como inoculantes. La inserción de genes que determinen la capacidad solubilizadora de fosfatos en microorganismos que no la poseen, puede evitar la necesidad de mezclar dos poblaciones microbianas, por ejemplo, cuando se usan como biofertilizantes con capacidad para fijar N₂ atmosférico y solubilizadora de P (Rodríguez y otros, 2006). Sin embargo, cabe recordar que muchos de los

MPCV combinan naturalmente estas dos habilidades. Los siguientes son algunos ejemplos de avances hechos en la biotecnología de la solubilización de fosfatos.

E. coli puede sintetizar glucosa deshidrogenasa (GDH), pero no PQQ, de tal manera que en condiciones naturales no produce ácido glucónico. Goldstein y Liu (1987) fueron los primeros en clonar un gen involucrado en la solubilización del Pi a partir de la bacteria *Erwinia herbicola*. La incorporación y expresión de este gen en el genoma de *E. coli* HB101 permitió la producción de ácido glucónico y le confirió habilidad para solubilizar hidroxapatita.

Igualmente, algunas otras bacterias Gram negativas como *Azospirillum*, no poseen los genes *ppq* que les confieran la habilidad para solubilizar fosfatos. Vikram y otros (2007) produjeron transconjugantes en *Azospirillum* sp., usando el constructo pMCG 898. Este plásmido artificial contiene los genes *ppq* necesarios para la biosíntesis del cofactor PQQ, responsable del ensamblaje de la holoenzima glucosa-deshidrogenasa. Al contrario de la cepa nativa, los transconjugantes mostraron actividad solubilizadora de fosfatos *in vitro*, cuando se utilizó fosfato bicálcico y fosfato tricálcico como fuente de P en el medio de cultivo. Los transconjugantes conservaron intacta su capacidad para fijar N₂, al mismo nivel que la cepa nativa.

6. Factores que determinan la eficacia de la bioinoculación

Cualquier acción práctica de biofertilización que pretenda ser efectiva debe considerar invariablemente la ecología de la rizosfera, en la cual se desenvuelven los MSF, pues en condiciones de campo, la efectividad de los inoculantes depende de la capacidad de los aislados para colonizar la rizosfera y mantener en ella una alta actividad.

Las características identificadas como importantes para la competencia de los aislados inoculados en la rizosfera incluyen: motilidad, alta tasa de crecimiento, habilidad para sintetizar aminoácidos y vitamina B1, habilidad para utilizar ácidos orgánicos y ciertas proteínas de superficie celular, así como rápido ajuste a las condiciones cambiantes del ambiente edáfico (Marschner, 2007). En relación con las condiciones del suelo, el pH, salinidad y temperatura, entre otros, especialmente en condiciones de estrés, determinan en

buena medida la estabilidad y el adecuado desempeño de las bacterias solubilizadoras de fosfato (Sharan y otros, 2008; Marschner, 2007).

7. Resultados de experiencias de inoculación con MSF en laboratorio y campo

Varios ensayos han demostrado que la inoculación con hongos y bacterias solubilizadoras de P pueden incrementar el rendimiento o el crecimiento de las plantas en invernadero y campo (Chuang y otros, 2007; Valverde y otros, 2007). Supanjani y otros (2006) y Han y otros (2006) encontraron que la aplicación de *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* (Bmp) junto con roca fosfórica (RF) produjo incrementos en varios parámetros de crecimiento y rendimiento, en cultivos de ají y pepino, en condiciones de invernadero y campo. Cuando en invernadero el sustrato de siembra se inoculó con la bacteria y se fertilizó con RF 3 g kg⁻¹, los contenidos de N, P y K en la materia seca del tallo y la raíz del ají fueron mayores y significativamente diferentes de los obtenidos por el tratamiento control sin RF ni Bmp. También se obtuvieron incrementos significativos, pero menores a los anteriores, cuando sólo se aplicó Bmp. Si además de RF y Bmp se inoculó con bacterias solubilizadoras de K (BSK) y se adicionó illita (como polvo), el tratamiento incrementó los contenidos de N, P y K en los tallos y en las raíces. Este último tratamiento también aumentó la fotosíntesis foliar en 20% en el ají y 16% en las plantas de pimentón en relación con el control (Han y otros, 2006).

En el mismo experimento, los ensayos en campo, demostraron también un efecto benéfico de las MSF. Cuando se aplicó RF y Bmp como inoculante al suelo en dos años consecutivos, se obtuvieron en ají, incrementos significativos en la biomasa total y rendimiento de fruta. Estos rendimientos no fueron estadísticamente diferentes de los logrados con la aplicación de un fertilizante altamente soluble, los cuales incrementaron las variables entre el 21% y el 35% (Han y otros, 2006). Solas o en combinación con BSK, RF y polvo de Illita, las Bmp aumentaron además, la tasa fotosintética, el área foliar y los contenidos de N, P y K en las plantas tratadas.

Otros resultados demuestran además que con frecuencia, la inoculación con mezclas de microorganismos de

diferentes características, tales como solubilizadores de P, combinados con diazótrofos o con hongos micorrícicos arbusculares, arrojan efectos superiores a la inoculación con únicamente el MSF (Valverde y otros, 2007; Babana y Antoun, 2007).

Leaungvutiviroj y otros (2010) hallaron que en invernadero, la inoculación de maíz y brócoli chino con una mezcla de una cepa solubilizadora de P de *Burkholderia unamae* + *Bacillus subtilis* (BSK) + el diazótrofo *Azotobacter tropicalis* + la cepa KJB9, productora de auxinas, generó un incremento del peso seco de 4.14 a 8.76 g planta⁻¹ en el caso del maíz, y de 11.1 a 40.8 g planta⁻¹ en el caso del brócoli. Cuando, además de la mezcla de los microorganismos se adicionó RF y polvo de feldspatos, la masa seca aumentó a 10.2 g planta⁻¹ en el maíz, y 79.9 g planta⁻¹ en el caso del brócoli, un aumento de casi 4 y 7 veces, respectivamente.

En frijol, Collavino y otros (2010) no encontraron efectos sobre el peso de la materia seca de la raíz o del tallo, o sobre el tamaño del área foliar, cuando *Burkholderia* se aplicó sola o en combinación con una fuente de fósforo. Sin embargo, la relación de materia seca de la raíz/materia seca del tallo presentó un menor valor absoluto, lo que hace presumir que la planta invirtió menos fotosintatos en desarrollo del sistema radical, dado que había mayor disponibilidad de nutrientes, especialmente P, en la zona rizosférica.

Valverde y otros (2007) estudiaron el efecto de la inoculación con *Pseudomonas jessenii* PS06, bacteria solubilizadora de P, y el diazótrofo *Mesorhizobium ciceri* C-2/2, solos o en combinación, sobre el crecimiento de garbanzo. En invernadero, la inoculación con sólo C-2/2 produjo la más alta masa seca en la planta (24% mayor al testigo sin inocular) y la inoculación con PS06 resultó en una masa seca 14% mayor que el testigo no inculado, aunque no se detectó correlación con el contenido de P en los tallos. La coinoculación con las dos cepas produjo a su vez reducción en la masa seca del garbanzo, en relación con la inoculación con únicamente C-2/2. En condiciones de campo, las plantas inculadas con C-2/2 solo o en combinación, produjeron una mayor masa fresca de los nódulos, mayor número de nódulos y más alto contenido de N. Aunque la inoculación con PS06 no tuvo efecto significativo sobre el crecimiento de las plantas, la coinoculación produjo mayor rendimiento en semillas (54% mayor al testigo sin inocular) y mayor masa fresca de los nódulos. Los resultados contrastantes

de la coinoculación en invernadero y campo pueden deberse, según los autores, a diferencias en el sustrato (perlita vs. suelo) de siembra y/o a las condiciones climáticas.

Estudios registrados por Babana y Antoun (2007), demostraron que el uso simultáneo de hongos vesículo arbusculares (VAM) y diferentes MSF como inoculantes, produjo respuestas positivas en varios parámetros agronómicos evaluados sobre plantas de trigo fertilizadas con roca fosfórica. Otros resultados similares han sido informados por Rodríguez y Fraga (1999) para el caso de bacterias y por Whitelaw (2000), Khan y otros (2007; 2010) y Sahoo y Gupta (2014) en el caso de hongos solubilizadores de fosfato.

Por último, conviene señalar que el potencial de uso de los MSF como alternativas a la fertilización tradicional ya ha tenido éxito comercial en varios casos. En Australia, *Penicillium bilaiae* y *Penicillium radicum* se han liberado exitosamente como inoculantes comerciales (Wakelin y otros, 2004) y en Canadá, *Penicillium bilaiae*, se comercializó bajo la marca JumpStart®. El producto comercial se registró para uso en trigo en 1990, año en el cual sólo se utilizó en unas pocas hectáreas. Para el 2002, aproximadamente un millón de hectáreas sembradas con los principales cultivos de Canadá utilizaban el biofertilizante (Leggett y otros, 2007). En Cuba, Fosforina® es un bioinoculante a base de *Pseudomonas fluorescens* aplicado principalmente en tomate (Uribe y otros, 2010). En Colombia, actualmente se comercializa Fosfosol®, cuyo ingrediente activo es *Penicillium janthinellum*, dirigido especialmente al cultivo del arroz, con incrementos del rendimiento entre el 5% y el 38%, con respecto a cultivos no inculados (Rojas y Moreno, 2008; Moreno y otros, 2007).

8. Conclusiones y recomendaciones

La solubilización de los fosfatos no biodisponibles del suelo por diferentes microorganismos es una capacidad natural que por sus características y ventajas, puede explotarse como una tecnología alternativa o subsidiaria a la fertilización química tradicional, dentro del contexto de una agricultura sostenible. El amplio conocimiento de las bases biológicas de la solubilización del P alcanzado en las últimas décadas, hace prever una utilización más generalizada, debida a los mayores esfuerzos para el mejoramiento de la capacidad a través de prácticas de mejoramiento

tradicional, y también por medio de aproximaciones de ingeniería genética.

Aunque en el país se ha avanzado en algunos estudios básicos y de aplicación práctica, es necesario profundizar en los aspectos básicos de distribución biogeográfica de los taxones, ecología, genética y efecto agronómico en diferentes cultivos, entre otros, sólo así se puede suponer un adecuado desarrollo de la tecnología, que redunde en una mayor competitividad de nuestra producción agrícola. ≡

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

NOTAS

1. Artículo de revisión asociado al proyecto de investigación "Solubilización de fosfatos por poblaciones bacterianas aisladas de un suelo del Valle del Cauca. Análisis genético y de biodiversidad"

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANTOUN, Hani. Beneficial microorganisms for the sustainable use of phosphates in agriculture. *In: Procedia Engineering*, 2012, vol. 46, p. 62 – 67.
2. ARAI, Yuji and SPARKS, Donald. Phosphate reaction dynamics in soils and soil components: a multiscale approach. *In: Advances in Agronomy*, 2007, vol. 94, p. 135-179.
3. ARCHANA, Gayatri; BUCH, A. and KUMAR, Naresh. Pivotal Role of Organic Acid Secretion by Rhizobacteria in Plant Growth Promotion. *In: Microorganisms in Sustainable Agriculture and Biotechnology*, 2012. p. 35-53.
4. AWASTHI, Rashmi; TEWARI, R. and NAYYAR, Harsh. Synergy between plants and P-solubilizing microbes in soils: effects on growth and physiology of crops. *In: International Research Journal of Microbiology*, 2011, vol. 2, no. 12, p. 484-503.
5. AZZIZ, Gaston; BAJSA, Natalia; HAGHJOU, Tandis; TAULÉ, Cecilia, VALVERDE, Ángel and IGUAL, José Mariano. Abundance, diversity and prospecting of culturable phosphate solubilizing bacteria on soils under crop–pasture rotations in a no-tillage regime in Uruguay. *In: Appl. Soil Ecol.*, 2012, vol. 61, p. 320-326.
6. BABANA, A. H. and ANTOUN, Hani. 2007. Effect of Tilemsi phosphate rock-solubilizing microorganisms on phosphorus uptake and yield of field-grown wheat (*Triticum aestivum* L.) in Mali. *In: First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization*. Springer, 2007. p. 51-58.
7. BOUCHARD, Daniel. Influence des propriétés physico-chimiques et biochimiques du sol sur la présence des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. *Mémoire de maîtrise, Université Laval*, 2002. p. 109.
8. BÜNEMANN, Else; PRUSISZ, Bartłomiej and EHLERS, Knut. Characterization of phosphorus forms in soil microorganisms. *In: Phosphorus in Action*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2011, p. 37-57.
9. CHABOT, Rock; ANTOUN, Hani and CESCAS, Michael. Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. *In: Can. J. Microbiol.*, 1993, vol. 39. p. 941-947.
10. CHUANG, Chun Chao, KUO, Yu Lin; CHAO, Chen Ching and CHAO, Wei Liang. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by *Aspergillus niger*. *In: Biol. Fert. Soils*, 2007, vol. 43. p. 575-584.
11. COLLAVINO, Mónica; SANSBERRO, Pedro; MROGINSKI, Luis and AGUILAR, Mario. Comparison of in vitro solubilization activity of diverse phosphate-solubilizing bacteria native to acid soil and their ability to promote *Phaseolus vulgaris* growth. *In: Biology and Fertility of Soils*, 2010, vol. 46, no. 7. p. 727-738.
12. CONDRON, Leo. Phosphorus – surplus and deficiency. *In: Managing Soil Quality: Challenges in Modern Agriculture: CAB International*, 2004. p. 69-84.
13. GERRETSEN, F. C. The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant. *In: Plant Soil*, 1948, vol. 1. p. 51-81.
14. GOJON, Alain; NACRY, Philippe and DAVIDIAN, Jean Claude. Root uptake regulation: a central process for NPS homeostasis in plants. *In: Current Opinion in Plant Sciences*, 2009, vol. 12. p. 328-338.
15. GOLDSTEIN, Alan. Involvement of the quinoprotein glucose dehydrogenase in the solubilization of exogenous phosphates by Gram-negative bacteria. *In: Phosphate in Microorganisms: Cellular and Molecular Biology*. ASM Press, Washington, DC, 1996. p. 197-203.
16. GOLDSTEIN, Alan and KRISHNARAJ, P. Phosphate solubilizing microorganisms vs. phosphate mobilizing microorganisms: what separates a phenotype from a trait? *In: First International meeting on microbial phosphate solubilization: Springer, Dordrecht*, 2007, p. 203–213.
17. GOLDSTEIN, Alan and LIU, S. Molecular cloning and regulation of a mineral phosphate solubilizing (mps) gene from *Erwinia herbicola*. *In: Bio/technology*, 1987, vol. 5. p. 72-74.
18. HAN, Hyo-Shim; SUPANJANI, S and LEE, Kyung. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *In: Plant Soil Environ*, 2006, vol. 52, no. 3. p. 130–136.
19. JONES, David and OBURGER, Eva. Solubilization of phosphorus by soil microorganism. *In: Phosphorus in Action*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2011, vol. 26. p. 169–198.
20. KHAN, Mohammad Saghir; ZAIDI, Almas and WANI, Parvaze. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable

- agriculture – a review. In: *Agron. Sustain. Dev.*, 2007, vol. 27. p. 29-43.
21. KHAN, Mohammad Saghir; ZAIDI, Almas; AHMED, Munees; OVES, Mohammad and AHMAD, Pervaze. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi – current perspective. In: *Arch Agron Soil Scien*, 2010, vol. 56, no. 1. p. 73–98.
 22. KUCEY, R. M. and LEGGETT, M. E. 1989. Microbial mediated increases in plant available phosphorus. In: *Adv. Agron.* 42: p. 199–228.
 23. LAMBERS, Hans; FINNEGAN, Patrick; LALIBERTÉ, Etienne; PEARSE, Stuart J.; RYAN, Megan H., SHANE, Michael W. and VENEKLAAS, Erik J. Phosphorus nutrition of Proteaceae in severely phosphorus-impooverished soils: are there lessons to be learned for future crops? In: *Plant Physiology*, 2011, vol. 156. p. 1058–1066.
 24. LAMBERS, Hans; SHANE, Michael W.; CRAMER, Michael D.; PEARSE, Stuart J. and VENEKLAAS, Erik J. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits. In: *Annals Bot.*, 2006, vol. 98. p. 693-713.
 25. LEANGVUTIVIROJ, Chaveevan; RUANGPHISARN, Pimtida; HANSANIMITKUL, Pikul; SHINKAWA, Hidenori and SASAKI, Ken. Development of a new biofertilizer with a high capacity for N₂ fixation, phosphate and potassium solubilization and auxin production. In: *Biosci Biotechnol Biochem.*, 2010, vol. 74, no. 5. p. 1098-1101.
 26. LEGGETT, Mary; CROSS, Jack; HNATOWICH, Garry and HOLLOWAY, Greg. Challenges in commercializing a phosphate-solubilizing microorganism: *Penicillium bilaiae*, a case history. In: *First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization*. Springer, 2007. p. 215-222.
 27. MARSCHNER, Petra. Plant-microbe interactions in the rhizosphere and nutrient cycling. In: *Nutrient cycling in terrestrial ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin, 2007. p. 159-181.
 28. MCKELVIE, Ian D. Separation, preconcentration and speciation of organic phosphorus in environmental samples In: *Organic phosphorus in the environment*. CAB International, 2005. p. 1-20.
 29. MILLER, Simon; MARK, George, FRANKS, Ashley and O’GARA, Fergal. *Pseudomonas-Plant Interactions*. In: *Pseudomonas: Model organism, pathogen, cell factory*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany, 2008. p.353-376.
 30. MORENO, Nubia; MORENO RODRÍGUEZ, Luz y URIBE-VÉLEZ, Daniel. Biofertilizantes para la agricultura en Colombia. En: *Biofertilizantes en Iberoamérica: una visión técnica, científica y empresarial*. Imprenta Denad Internacional, Montevideo, 2007. p. 38-45.
 31. MULLEN, Michael. Phosphorus in soils: biological interactions. In: *Encyclopedia of Soils in the Environment*, Vol.3. Academic Press, Elsevier, Ltd, Oxford, 2005. p: 210-215.
 32. NANNIPIERI, Paolo; GIAGNONI, Laura; LANDI, Loretta and RENELLA, Giancarlo. Role of Phosphatase Enzymes in Soil. In: *Phosphorus in Action*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2011, vol. 26. p. 215-243.
 33. OBERSON, Astrid and JONER, Emmanuel. Microbial turnover of phosphorus in soil. In: *Organic phosphorus in the environment*. CAB International, 2005. p. 133-160.
 34. PAREDES MENDOZA, Marianela y ESPINOSA, Victoria. Ácidos orgánicos producidos por rizobacterias que solubilizan fosfato: una revisión crítica. In: *Terra Latinoamericana*, 2010, vol. 28, no. 1. p. 61-70.
 35. PATEL, Devendra; ARCHANA, Gattupalli and KUMAR, N. Variation in the nature of organic acid secretion and mineral phosphate solubilization by *Citrobacter* sp. DHRSS in the presence of different sugars. In: *Curr. Micro.*, 2008, vol. 56. p. 168–174.
 36. PIERZYNSKI, Gary; SIMS, J Thomas and VANCE, George. *Soils and environmental quality*. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL, 2005. p. 584.
 37. PIGNA, Massimo and VIOLANTE, Antonio. Adsorption of sulfate and phosphate on Andisols. In: *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2003, vol. 34, no. 15-16. p. 2099–2113.
 38. PRASAD, Rajendra and POWER, James. Phosphorus. In: *Soil fertility management for sustainable agriculture*. CRC Press LLC, Boca Raton Florida, 1997. p. 171-209.
 39. RICHARDSON, Alan; GEORGE, Timothy and RICHARD J Simpson. Utilization of soil organic phosphorus by higher plants. In: *Organic phosphorus in the environment*. CAB International, 2005. p. 165-184.
 40. ROBINSON, David. Integrated root responses to variations in nutrient supply. In: *Nutrient acquisition by plants, an ecological perspective*. In: *Ecological Studies*, Vol. 181. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2005. p. 43-61.
 41. RODRIGUEZ, Hilda and FRAGA, Reynaldo. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. In: *Biotechnol. Adv.*, 1999, vol. 17. p. 319–339.
 42. RODRÍGUEZ, Hilda; FRAGA, Reynaldo and BASHAN, Yoav. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. In: *Plant Soil*, 2006, vol. 56, no. 3. p. 492-504.
 43. ROJAS, Johanna y MORENO, Nubia. Producción y formulación de prototipos de un biofertilizante a partir de bacterias nativas asociadas al cultivo de arroz (*Oryza sativa*). En: *Rev. Colomb. Biotecnol.*, 2008, vol. 10, no. 2. p. 50-62.
 44. SASHIDHAR, Burla and PODILE, Appa Rao. Mineral phosphate solubilization by rhizosphere bacteria and scope for manipulation of the direct oxidation pathway involving glucose dehydrogenase. In: *J Appl Microbiol*, 2010, vol. 109. p. 1–12.
 45. SHARAN, Adhyayan; SHIKHA; SINGH DARMWAL, Nandan and GAUR, Rajeeva. *Xanthomonas campestris*, a novel stress tolerant, phosphate-solubilizing bacterial strain from saline-alkali soils. In: *World J. Microbiol Biotech*, 2008, vol. 24, no. 6. p. 753-759.
 46. SHARPLEY, Andrew. Phosphorus availability. In: *Handbook of soil sciences*, 2012. vol. 2. p. 11.14 – 11.37.
 47. SIMS, J Thomas and VADAS, Peter Alexander. Phosphorus in soils. Overview. In: *Encyclopedia of soils in the environment*. Vol. 3, Academic Press. 2005. p. 202-210.

48. SINGH, Bijender and SATYANARAYANA, T. Production of phytate-hydrolyzing enzymes by thermophilic moulds. *In: African Journal of Biotechnology*, 2012, vol. 11, no. 59. p. 12314-12324.
49. SMITH, Frank; MUDGE, Stephen; RAE, Anne and GLASSOP, Donna. Phosphate transport in plants. *In: Plant Soil*, 2003, vol. 248. p. 71-83.
50. SUPANJANI; SHIM, Hio Shim; JUNG, Jae Sung and LEE, Kiung Dong. Rock phosphate potassium and rock-solubilising bacteria as alternative, sustainable fertilizers. *In: Agronomy for Sustainable Development*, 2006, vol. 26, no. 4. p. 233-240.
51. TIESSEN, Holm. Phosphorus in the global environment. *In: The ecophysiology of plant-phosphorus interactions*. Springer, 2008. p. 1-7.
52. TRIVEDI, Pankaj and SA, Tongmin. *Pseudomonas corrugata* (NRRL B-30409) mutants increased phosphate solubilization, organic acid production, and plant growth at lower temperatures. *In: Curr. Micro.*, 2008, vol. 56. p. 140-144.
53. URIBE, Daniel; SÁNCHEZ-NIEVES, Jimena and VANEGAS, Javier. Role of Microbial biofertilizers in the development of a sustainable agriculture in the tropics. *In: Soil biology and agriculture in the tropics*. Soil Biology 21, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2010. p. 235-250.
54. VALVERDE, Angel; BURGOS, Aracely; FISCELLA, Tiziana; RIVAS; Raúl; VELASQUEZ, Encarna, RODRIGUEZ Claudino, CERVANTES, Emilio; CHAMBER; Manuel and IGUAL, José. Differential effects of coinoculations with *Pseudomonas jessenii* PS06 (a phosphate-solubilizing bacterium) and *Mesorhizobium ciceri* C-2/2 strains on the growth and seed yield of chickpea under greenhouse and field conditions. *In: First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization*. Springer, 2007. p. 43-50.
55. VANCE, Carrol; UHDE-STONE, Claudia and ALLAN, Deborah. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants securing a nonrenewable resource. *In: New Phytol.*, 2003, vol. 157. p. 423-447.
56. VIKRAM, Appanna; ALAGAWADI, Ajjanna; KRISHNARAJ, P. U. and KUMAR, Manesh. Transconjugation studies in *Azospirillum* sp. negative to mineral phosphate solubilization. *In: World J. Microbiol. Biotech.*, 2007, vol. 23. p. 1333-1337.
57. WAKELIN, Steven; WARREN, Rosemary; HARVEY, Paul and RYDER, Maarten. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. *In: Biol. Fert. Soils*, 2004, vol. 40. p. 36-43.
58. WHITELAW, Melanie Antonine. Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. *In: Adv. Agron.*, 2000, vol. 69. p. 99-151.
59. YI, Yanmei; HUANG, Weiyi and GE, Ying. Exopolysaccharide: a novel important factor in the microbial dissolution of tricalcium phosphate. *In: World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2008. p. 1059-1065.
60. ZAIDI, Almas; KHAN; Mohammad; AHMAD; Munees; OVES, Mohd and WANI; P. Recent advances in plant growth promotion by phosphate-solubilizing microbes. *In: Microbial strategies for crop improvement*. Springer-Verlag, Berlin, 2009. p. 23-50.
61. ZAIDI, Almas; Mohammad and AHMAD, Ees. Microphos: principles, production and application strategies. *In: M.S. Khan et al. (eds.), Phosphate Solubilizing Microorganisms*, DOI 10.1007/978-3-319-08216-5_1, Springer International Publishing Switzerland, 2014. p. 1-30.
62. KHAN, Mohammad; ZAIDI, Almas and AHMAD, Ees. 2014 Mechanism of phosphate solubilization and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms. *In: M.S. Khan et al. (eds.), Phosphate Solubilizing Microorganisms*, DOI 10.1007/978-3-319-08216-5_1, Springer International Publishing Switzerland; 2014. p. 31-62.
63. SAHOO, Hruda and GUPTA, Nibha. 2014. Phosphate-solubilizing fungi: impact on growth and development of economically important plants. *In: M.S. Khan et al. (eds.), Phosphate Solubilizing Microorganisms*. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-08216-5_1 Springer International Publishing Switzerland.