

## Libерación de fósforo a partir de la fosforita por bacterias que actúan sobre los fosfatos

por

A. Ramos C.\* J. M. Barea y V. Callao

### Resultados

Este trabajo forma parte de una serie de estudios que realizamos de la acción solubilizadora sobre minerales de fósforo (principalmente fosfatos) por gérmenes del suelo, que hace presumible una aplicación práctica de los mismos como fertilizantes bacterianos. Concretamente en el presente nos referimos a la posible liberación de fósforo a partir de la fosforita.

(Nota: Este mineral fue cedido por la Cátedra de Geología de la Facultad de Farmacia de Granada, y fue recogido en Logrosán, provincia de Cáceres).

### Material y Métodos

Estudiamos 68 razas diferentes, aisladas en tierras de cultivo de la provincia de Granada, capaces de solubilizar el fosfato bicálcico. Para el aislamiento realizamos una suspensión de tierra al 10% p/v, en solución salina estéril, que sometimos a sucesivas agitaciones; una vez filtrada, centrifugamos e hicimos siem-

bras por diseminación en el medio de Bunt y Rovira modificado por LOUW y WEBLEY (1959), al que agregamos 1 ml. de fosfato bicálcico (una suspensión al 1% en goma arábica al 0,5%) por 10 ml. de medio.

Las razas solubilizadoras del fosfato bicálcico fueron ensayadas por un procedimiento similar frente a la fosforita, y aquellas de acción positiva se estudiaron cuantitativamente después de una selección previa de las razas de mayor poder. La selección se hizo por cultivos en medios líquidos (en tubos de ensayo) con fosforita en polvo. (La suspensión del polvo de fosforita se realizó en goma arábica, al 2,5% —más concentrada que el fosfato bicálcico, para apreciar más claramente la formación de halos verdaderos— manteniéndola constantemente en agitación durante 24 hr., en un agitador BTL).

Con las razas seleccionadas hicimos un estudio cuantitativo del poder de solubilización sobre la fosforita en el medio aconsejado por WE-

(\*) Actualmente en la Estación Experimental del Zaidín, Departamento de Microbiología. Granada.



BLEY y DUFF (1965), que es el que venimos utilizando RAMOS y CALLAO (1965).

Los resultados obtenidos fueron expresados en microgramos de fósforo libre, que determinamos colorimétricamente por el color azul que se origina con el molibdato; las lecturas se hicieron con filtro rojo en un Hilger. Para la construcción de la curva estandard utilizamos fosfato monopotásico, de acuerdo con el método descrito por BRAY y KURTZ (1945).

### *Resultados:*

De las 68 razas ensayadas, tan sólo fueron 12 las que produjeron zona de aclaramiento alrededor de la colonia, que fue interpretado como acción solubilizadora. Ocho produjeron un halo francamente manifiesto, mientras que las otras cuatro lo produjeron con menor intensidad. Comparados estos resultados con los de selección practicados en tubos, vimos que ocurrió algo semejante, siendo en este caso de cinco que tuvieron nula solubilización, y siete en las que se obtuvieron resultados apreciables.

Los resultados cuantitativos obtenidos con estas siete razas los hemos expuesto en la tabla I, en ella se aprecia la intensa acción de dos microorganismos, la BM274 y la B-5 (siglas que corresponden con la numeración de nuestras colecciones), razas que fueron ensayadas frente a la fosforita roca y cuyos resultados van expuestos en la tabla II. La determinación del pH, realizada por el papel indicador, nos indicó los casos en que hubo un descenso acusado en el mismo. Precisamente las cifras bajas de pH correspondieron con

las razas más solubilizadoras, descendiendo hasta  $\text{pH} = 3$  en la BM 274, y a  $\text{pH} = 4$  en la B-5, en las demás razas el valor del pH más bajo fue de 5 o próximo a 5 (como excepción en la cepa bM 274 el valor mínimo de pH fue igual a seis).

En las experiencias hechas con la fosforita-roca, no esterilizamos el mineral, con el fin de observar la influencia de otros gérmenes posiblemente presentes en el citado mineral, limitándonos a realizar un flameado superficial del mineral para evitar otros gérmenes contaminantes. Correspondientemente con cada lectura, realizamos aislamiento de los gérmenes presentes en medio de cultivo, y observamos si existía predominio del germen inoculado o de los contaminantes, procedentes de la fosforita roca; en los primeros días el predominio fue del germen inoculado, cambiándose al germen contaminante sobre el noveno y décimo días, es de destacar que cuando esto ocurrió, se produjo un ascenso brusco del pH hacia la neutralidad, disminuyendo también el contenido en fósforo soluble.

### *Comentarios y discusión:*

Fácilmente puede apreciarse que la liberación de fósforo útil para los vegetales (valores teóricos) es baja, con la excepción de dos cepas, sin embargo incluso siendo alta la cifra de fósforo liberado se observó una regresión. En primer lugar se inicia una solubilización de fósforo para detenerse en una cifra máxima y volver a decrecer. Así pues, las razas ensayadas son capaces de liberar el fósforo mineral existente en el suelo, aunque posteriormente utilizan ese fósforo liberado, lo que dis-



minuye su valor de aplicación directa sobre el terreno del suelo como fertilizantes bacterianos. Por otra parte, no se consigue solubilización si no existen glúcidos sobre los que sean capaces de actuar formando ácidos causales de la disolución del fosfato.

La liberación de fósforo a partir de la fosforita roca, muestra unas cifras de solubilización bastante elevadas; no pudimos hacer comparativos los resultados porque en las fosforitas empleadas variaban (aunque no en elevada proporción) las cantidades de piedra y de mineral sin que existiera uniformidad, por tal motivo no puede directamente deducirse, el que una cepa fuera más activa que otra, aunque nosotros particularmente estemos en la creencia de que es más activa la BM-274, por bajar más la cifra pH. Hecho destacable es el de la posible interferencia en las cifras de fósforo liberado por gérmenes procedentes de la fosforita-roca, pues precisamente cuando empezó a existir predominio del germen contaminante decrecieron rápidamente las cantidades de fósforo útil, lo que está relacionado con un hecho observado, CALLAO y RAMOS (1966), de que muchas veces los gérmenes normales existentes en un suelo utilizan el fósforo soluble pasándolo a fósforo orgánico; y aunque esta sea una forma cierta de reserva, para los vegetales no es la más conveniente, pues tal contenido orgánico de fósforo no es utilizado directamente por las plantas, según el esquema de fijación de fósforo en el suelo realizado por WILLIAMS E. G. (1943). Sí que sería útil para los vegetales si conjuntamente a esta acción existiera otra debida a bacterias capaces de actuar sobre el fósforo

orgánico almacenado por este procedimiento. Pueden formularse varias hipótesis, referentes a la elevación brusca del pH en las experiencias realizadas con la fosforita-roca: por el consumo de glucosa, puede cesar la formación de ácidos, y entonces los gérmenes contaminantes, e incluso el propio inoculado, producen alcalis a partir de las proteínas del medio; otra posibilidad ya apuntada, es la utilización del fósforo soluble por las bacterias contaminantes; el fósforo soluble facilita el desarrollo de éstos gérmenes que alcalinizan el medio, inhibiendo en su crecimiento el desarrollo del inoculante. Quizá la unión de ambas hipótesis pueda ser cierta.

Es muy posible que los suelos ácidos, des deficientes en fósforo y ricos en materia orgánica sean los más idóneos para agregarles fosfatos minerales del tipo de la fosforita, ya que probablemente éstos suelos contienen bacterias capaces de liberar el fósforo necesario (a partir del mineral insoluble agregado) para una óptima cosecha.

#### *Resumen:*

Se estudia la acción de 68 gérmenes solubilizadores del fosfato bicálcico, sobre la fosforita; resultando tan sólo 12 liberadoras de fósforo.

Con las razas más activas se ensayó la movilización de fósforo, a partir de la fosforita en medios líquidos, comprobándose la liberación de fósforo de una forma manifiesta.

#### *Summary:*

A study of the action of 68 different bacteria dissolving dicalcium



phosphate was made on phosphorite; it only resulted in 12 phosphorus releasing strains.

The mobilization of phosphorus

by the more active strains from phosphorite in liquid medium was studied, and a significant release of phosphorus was observed.

TABLA I.—Liberación de fósforo a partir de la fosforita por las bacterias.

Microorganismo	µg de Fósforo liberado por los de medio a los		
	2 días	8 días	15 días
B-5	20,5	27,6	5,6
bM-274	6,5	13,5	3
aM-274	3,5	13	3
M-22	6,5	19,5	9
bM-270	4	13,5	4
C-1	10	28,5	9
BM-274	20	50	13
Testigo	—	—	—

TABLA II.—Liberación de fósforo a partir de la fosforita-roca por los gérmenes B-5, y BM-274

Tiempo transcurrido		Microorganismo ensayado	
Días		B-5	BM-274
		0	L } 0,5
		—	—
1	L } 5	P } 13	
	P } 3,5	P } 13	
2	L } 17,0	P } 16	
	P } 20,0	P } 19	
3	L } 22,5	P } 20	
	P } 25,5	P } 23,5	
4	L } (No realizada)	P } (No realizada)	
	P } (No realizada)	P } (No realizada)	
5	L } 5,0 ??	P } 22,5	
	P } 3,5	P } 25,5	
6	L } 28,5	P } 29,0	
	P } 33,5	P } 34	



Tiempo transcurrido		Microorganismo ensayado	
7	{ L	40,0	44
	{ P	48	53,5
8	{ L	37,5	48
	{ P	44,5	58,5
9	{ L	37,5	48,5
	{ P	44,5	58,5
9	{ L	37	44,5
	{ P	44	54
10	{ L	(No realizada)	
	{ P	(No realizada)	
11	{ L	15	34,5
	{ P	17	41,5
12	{ L	13	14
	{ P	15	16,5

Clave: L = lectura obtenida en el Hilger.

P = fósforo libre expresado en microgramos por ml de medio de cultivo.

BIBLIOGRAFIA

BRAY, R. H., and KURTZ, L. T. (1945). «Determination of Total Organic and available phosphorus in soils». *Soil Sci.* 59, 39-45.

CALLAO, V. y RAMOS, A. (1966). En prensa.

LOUW, H. A., and WEBLEY, D. M. (1959). «A study of soil Bacteria dissolving certain mineral phosphate fertilizers and related compounds». *J. appl. Bact.* 22, 227-33.

RAMOS, A., y CALLAO, V. (1965). «Estudio preliminar de solubilización de fosfatos por las bacterias». *Ars. Pharm.*, V, 237-42.

WEBLEY, D. M., and DUFF (1965). «The incidence, in soils and other habitats of microorganisms producing 2-keto gluconic acid». *Plant and Soil*, 12, 307-13.

WILLIAMS E. G., (1943). «Citado por Sauchelli V. en «Phosphates in Agriculture». Reinhold Publishing Corporation, New York (1965).