

Seminarios virtuales “BPA-CI en sistemas agroalimentarios andinos basados en papa”.

Papa, Familia y Clima

Proyecto Regional

Webinar 7.
Gestión Sostenible de Suelo
y de la Tierra

2021

Modulo 2
Prácticas y tecnologías de agricultura climáticamente
inteligentes para la producción de papa

Este proyecto forma parte de



Financiado por
la Unión Europea

Agencias implementadoras



giz Deutsche Gesellschaft
für Internationale
Zusammenarbeit (GIZ) GmbH

Entidades solicitantes





Efecto de los Microorganismos en la Solubilidad y Disponibilidad del Fósforo¹

Jimmy Ciancas

Oscar Navia

Antonio Gandarillas

FUNDACIÓN PROINPA

Cochabamba, Bolivia 2018

¹Documento publicado en el Manual de difusión técnica de soya 2018/2019-FUNDACRUZ, se encuentra disponible en: <https://www.fundacruz.org.bo/web/publicaciones/manual-de-difusion-tecnica-de-soya-20182019/>



Contenido

I.	Introducción	4
II.	Argumento de tesis	4
	Investigación de microorganismos	4
	Solubilización del fósforo	6
	Fuentes de fósforo en el suelo	7
	Microorganismos que solubilizan el fósforo, producen fitohormonas y biocontroladores	8
III.	CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES GENERALES.....	10
IV.	BIBLIOGRAFÍA	10



I. Introducción

El suelo debe entenderse como un sistema complejo con propiedades físicas, químicas y biológicas, donde su buen manejo da lugar a un suelo saludable y un desarrollo óptimo de los cultivos. Se conoce que el aporte adecuado de macro y micronutrientes es fundamental para optimizar el rendimiento de los cultivos, por ello es común el suministro de nutrientes al suelo mediante la aplicación de fertilizantes. La disponibilidad de los nutrientes está relacionada con condiciones físico-químicas del suelo, parámetros ambientales, estacionales e interacciones biológicas. El rol de los microorganismos es esencial para mantener la fertilidad, capacidad productiva, salud y sostenibilidad del suelo. Por ello, la Fundación PROINPA ha realizado una importante inversión en el estudio de los microorganismos del suelo asociados a procesos de mineralización, solubilización, compostaje, etc. En esta oportunidad se presenta un resumen de los estudios que se encuentran en desarrollo sobre los microorganismos que permiten hacer más disponible al fósforo, un macronutriente esencial para las plantas. El fósforo es uno de los nutrientes que puede ser más deficitario para las plantas. Esto debido a que con frecuencia los suelos tienen grandes cantidades de fosfato, pero en formas no disponibles para las plantas. Incluso, cuando se aplica un fertilizante de fosfato, puede ligarse rápidamente a los minerales calcio, magnesio y hierro o ser adsorbido por la materia orgánica, resultando inaccesible para el cultivo. Varios microorganismos del suelo, incluyendo bacterias, hongos y actinomicetos, han sido estudiados por su capacidad de solubilizar fosfatos insolubles, poniéndolos en formas disponibles para las plantas (HPO_4^{2-} y H_2PO_4^-), mediante diferentes mecanismos como la acidificación, quelación y reacción de intercambio iónico (Richardson et al., 2011).

II. Argumento de tesis

Investigación de microorganismos

Los trabajos, siguen un protocolo de colecta, aislamiento e identificación de cepas de microorganismos nativos en diferentes pisos altitudinales de Bolivia, tanto de suelo como de tejido vegetal. Los aislamientos se conservan en un banco de germoplasma para ser evaluados por sus diferentes funciones. A continuación, se describen brevemente, los análisis de laboratorio que se siguen en PROINPA para la selección de las mejores cepas de hongos y bacterias para la solubilización de fósforo, pero que además presentan funciones como biocontroladoras de fitopatógenos y productoras de fitohormonas. Screening de cepas nativas biocontroladoras: Para esto se utiliza la técnica de los enfrentamientos duales, donde se provoca el estrés biológico a través de enfrentamientos duales en placas Petri, entre las cepas fúngicas y bacterianas contra diferentes fitopatógenos, como *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia* spp. Estos enfrentamientos son evaluados in vitro por un tiempo de ocho días. El principal factor de evaluación es la patogenicidad de los biocontroladores, tomando en cuenta: velocidad de crecimiento, producción de antibióticos,



parasitismo y competencia por sustrato. En la Figura 1, se observan los halos de inhibición que impiden el crecimiento de los fitopatógenos.

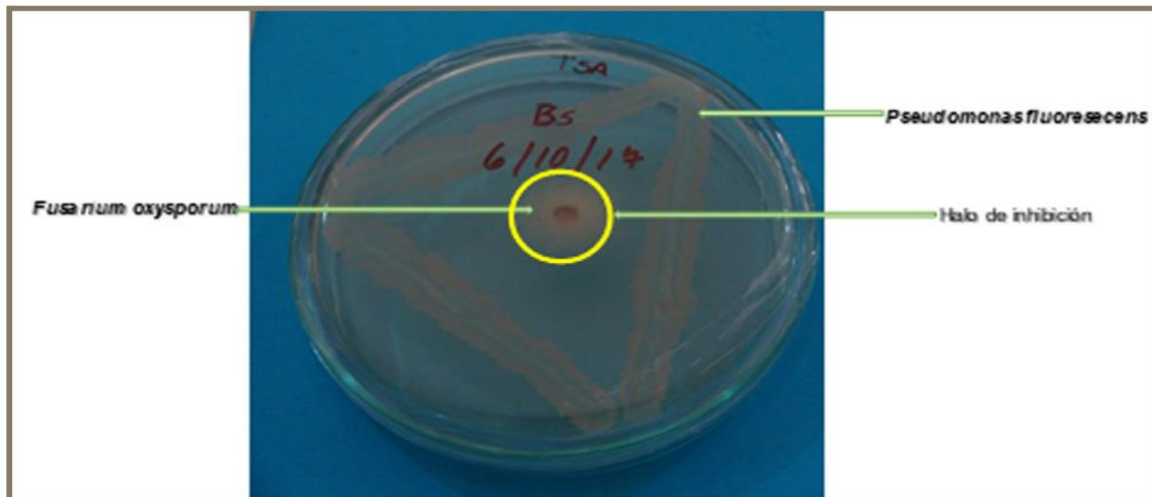
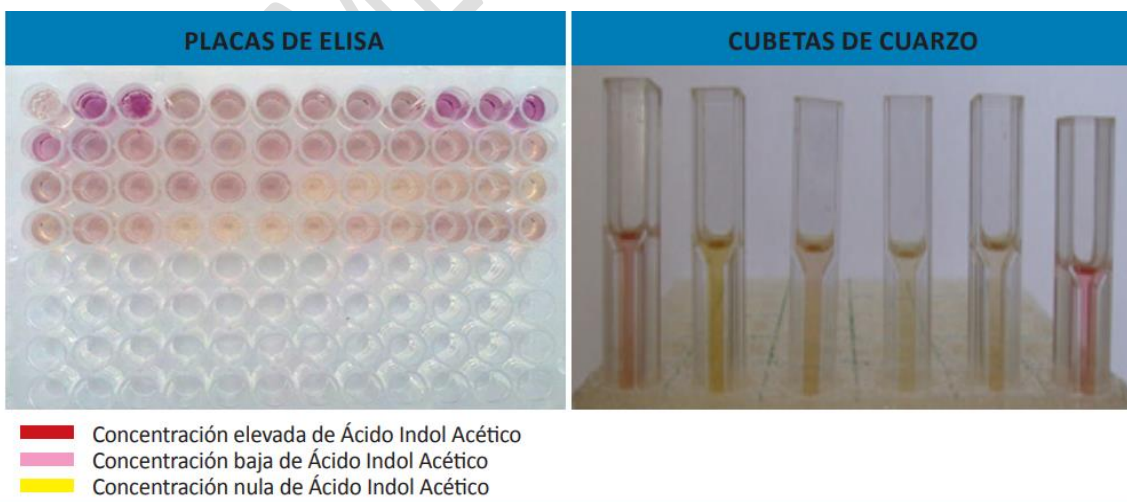


Imagen 1.- Efecto Biocontrolador de la bacteria *Pseudomonas fluorescens* sobre el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* mediante la formación de halos de inhibición que impiden su crecimiento, bajo condiciones de laboratorio.

Screening de cepas nativas productoras de fitohormonas: Esto se logra mediante pruebas bioquímicas para determinar el potencial de las cepas de sintetizar la fitohormona Ácido Indol Acético (AIA), una importante inductora del crecimiento vegetal de todos los cultivos agrícolas. Estimaciones cuantitativas y cualitativas de la fitohormona AIA se realizan utilizando la técnica colorimétrica de Salkowski. El reactivo de Salkowski lleva en su composición ácido perclórico, este ácido oxida las moléculas de indol presentes en el AIA, generando una coloración que va de rosado a fucsia (Imágenes 2 y 3).



Imágenes 2 y 3.- Determinación de la auxina Ácido Indol Acético utilizando el reactivo de Salkowski. a) Los niveles de intensidad de colores (niveles de concentración) determinan el nivel de reactividad de la hormona AIA en placas de ELISA b) A través de la técnica espectrofotométrica se determina los niveles de concentración de la auxina AIA, utilizando las cubetas de cuarzo. Síntesis de AIA a partir de *Bacillus pumilus*.

La coloración diferenciada determina el nivel de concentración cualitativa, siendo el color rosado de menos concentración hasta la coloración fucsia de elevada concentración. Screening de cepas nativas solubilizadoras de fosfatos: La solubilización de fosfatos es uno de los parámetros más importantes en el análisis bioquímico de las cepas de microorganismos. Para esto, las cepas son evaluadas mediante el indicador de síntesis de ácidos orgánicos que participan en la hidrólisis y solubilización de los grupos fosfato en los suelos agrícolas en favor de las plantas. La técnica para la estimación cualitativa de la eficiencia de actividad hidrolítica de solubilización de fosfatos por hongos y bacterias, es a través de la utilización del medio de cultivo NBRIP. El indicador que expresa la actividad solubilizadora de fosfatos en el medio NBRIP es suplementado con una fuente de fosfatos (puede ser Fosfato Tricálcico, Fosfato Dicálcico o Roca Fosfórica) y es expresado por la formación de halos de hidrólisis de color amarillo alrededor de la colonia microbiana. Este resultado indica, que tanto las bacterias y hongos solubilizadores de fosfatos, llevaron a cabo una reacción de catálisis hidrolítica por el cambio de coloración azul (medio de cultivo NBRIP) a la formación de halos de color amarillo (Imagen 4).

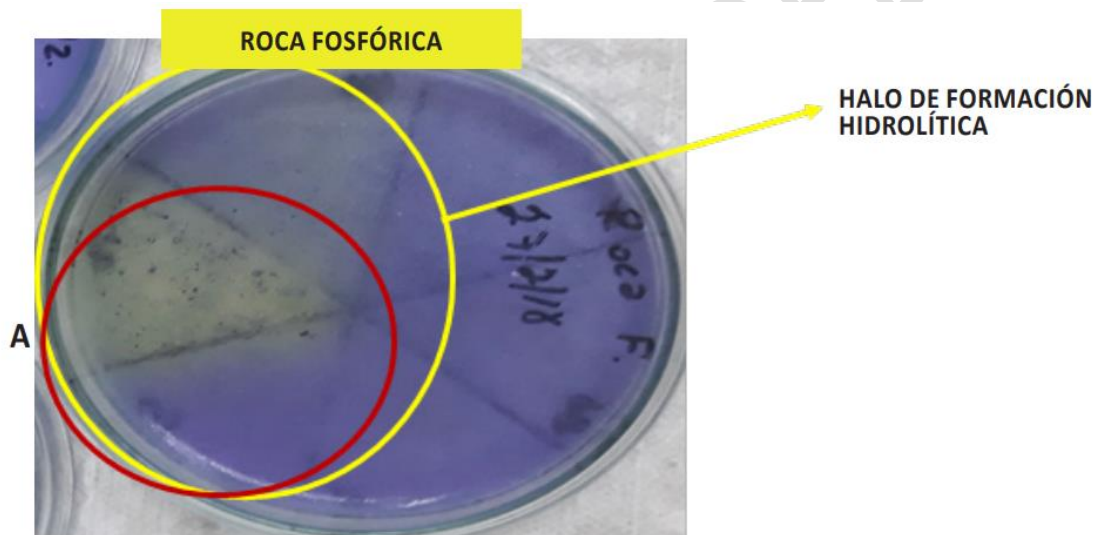


Imagen 4.- Evaluación cualitativa de la solubilización de fosfatos a partir de *Penicillium bilaii*. Formación de halos con pigmentación amarilla, expresando claramente la hidrólisis del medio de cultivo NBRIP (suplementado con roca fosfórica), tornando de un color azul a amarillo.

Solubilización del fósforo

El fósforo es un nutriente esencial para el desarrollo de las plantas, desempeña un papel fundamental en la síntesis de proteínas, biosíntesis de lípidos, síntesis de clorofila, compuestos carotenoides, metabolismos de los ácidos orgánicos, biogénesis de los glúcidos, entre otros. Después del N y debido a su gran insolubilidad, el P es el segundo elemento limitante en las cosechas. Para que pueda ser asimilado, es necesario que se encuentre en una de las formas de

ortofosfato: PO_4H_2^- ó PO_4H^-_2 en la disolución del suelo. La mayor parte del fósforo inorgánico es absorbido por las plantas en forma de PO_4H^-_2 y en menor proporción como PO_4^- .

PROINPA aisló y seleccionó el hongo *Penicillium bilaii* y las bacterias *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus pumilus* como potenciales solubilizadores de fosfato, que ayudan con el reciclado del P y promueven el crecimiento de las plantas al ser utilizados como biofertilizantes (ENERGY TOP), ponen el fósforo insoluble a disposición de la planta haciendo que los rendimientos incrementen en más de 10%.

Fuentes de fósforo en el suelo

El fósforo se encuentra en el suelo en cinco formas (Figura 1):

1. Incorporado como fertilizante sintético.
2. Como materia orgánica (residuos de animales y vegetales, estos se deben mineralizar a través de microorganismos).
3. Fósforo inorgánico fijado en las arcillas, es insoluble.
4. Roca madre, se debe meteorizar para hacerse disponible.
5. Las formas solubles de fosfato asimilable por la planta se encuentran como fosfato monobásico (PO_4H_2^-) y fosfato dibásico (PO_4H^-).

En los suelos de Santa Cruz, es común que el P se encuentre en la materia orgánica en forma de fósforo orgánico y fijado en las arcillas. Para que este P se haga disponible para la planta, es decir que la planta lo pueda absorber, es necesaria la intervención de los microorganismos (vía biológica), que no siempre se encuentran en las poblaciones óptimas en los suelos.

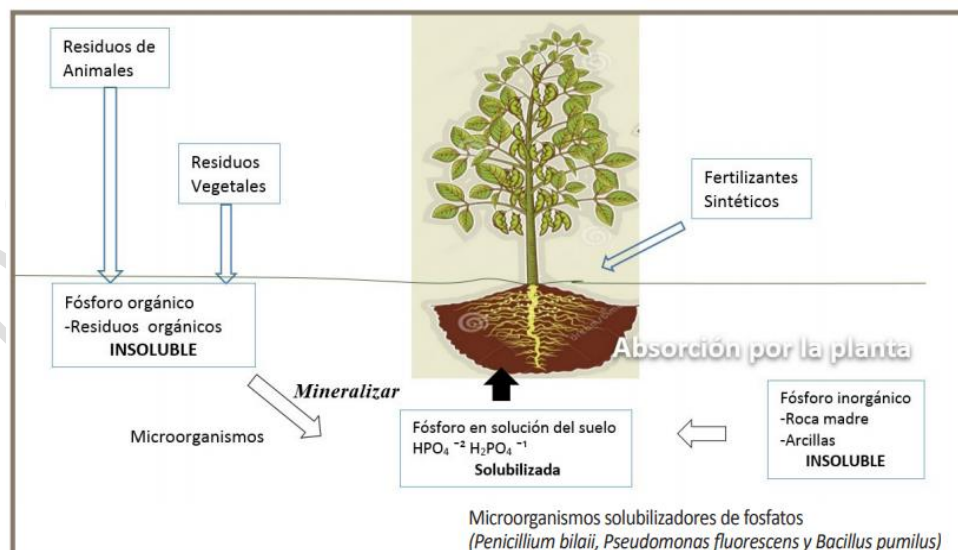


Figura 1.- Diferentes formas en las que el fósforo se encuentra en el suelo y los microorganismos asociados a su disponibilidad para las plantas. Foto adaptada (Arévalo et al., 2013).



Microorganismos que solubilizan el fósforo, producen fitohormonas y biocontroladores

Los microorganismos solubilizadores de fósforo se encuentran en casi todos los suelos, pueden llegar a ser hasta un 50% de la población microbiana en la rizosfera. Sin embargo esta población es afectada por varios factores, entre ellos: tipo de suelo, vegetación natural, pH, temperatura, contenido de materia orgánica, presencia de fosfatos naturales y uso de pesticidas.

a) *Penicillium bilaii*

Solubilizador de fosfatos, este hongo ha sido ampliamente estudiado por su habilidad de mejorar el desarrollo de los cultivos. Es un reconocido solubilizador que permite incrementar la disponibilidad del P que se encuentra unido (fijado y no disponible) a Ca, Fe y Al. La cantidad de fósforo solubilizado o asimilado por las plantas, especialmente en gramíneas y leguminosas oscila alrededor del 41%, gracias a la acción solubilizadora de *P. bilaii* (Chandra et al, 2016). *P. bilaii* solubiliza el fósforo a una tasa de 2 a 4 veces mayor que otros hongos y bacterias. En las evaluaciones se ha observado que las esporas de *P. bilaii*, correctamente formuladas, pueden ser inoculadas sobre las semillas y ser capaces de mantener su viabilidad hasta el momento de siembra. Luego las esporas germinan acompañando a la raíz en su crecimiento: el hongo y la planta forman una relación mutuamente beneficiosa. El hongo vive y se multiplica en las exudaciones de las raíces, liberando ácidos orgánicos, acidificando la rizósfera, provocando la ruptura de los enlaces que mantienen los nutrientes en una forma mineral, solubilizándolo el fósforo y pasándolo a formar la fracción soluble y disponible para las plantas en activo crecimiento. Producción de fitohormonas, la presencia de *P. bilaii* en la rizosfera favorece un mayor crecimiento de las raíces, debido a su capacidad de síntesis de algunas fitohormonas como etileno y auxinas. Esto lleva a que las raíces puedan explorar un área más amplia del suelo, facilitando el transporte de agua hacia la planta y brindándole una mayor capacidad de absorción de los demás nutrientes.

b) *Pseudomonas fluorescens*

Solubilizador de fosfatos, esta bacteria es frecuente en la rizosfera de las plantas (Lambert et al., 1987; Lamanceau et al., 1995), donde es capaz de promover el crecimiento de las plantas a través de la solubilización de fosfatos inorgánicos presentes en el suelo Figura 1.- Diferentes formas en las que el fósforo se encuentra en el suelo y los microorganismos asociados a su disponibilidad para las plantas. Foto adaptada (Arévalo et al., 2013). Microorganismos solubilizadores de fosfatos (*Penicillium bilaii*, *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus pumilus*) 2018 / 2019 5353 y a través de la protección de las plantas contra las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos (Thomashow y Weller, 1988). La capacidad solubilizadora ocurre por diferentes mecanismos según se trate del fósforo orgánico o fósforo inorgánico del suelo. En el primer caso *P. fluorescens* genera enzimas del tipo fosfatasa que hidrolizan los enlaces orgánicos fosfatados liberando aniones fosfato a la solución del suelo, de donde los microorganismos y las raíces de las plantas se nutren. En el segundo caso, del fósforo inorgánico, su solubilización es lograda por las bacterias es mediante la producción de ácidos orgánicos, como el ácido glucónico que libera fosfatos y cationes de Ca^{++} , Fe^{++} y Al^{++} a la solución del suelo. La producción de ácidos orgánicos da como resultado la acidificación de la célula microbiana y su entorno, de esta manera, el ácido glucónico es el agente más frecuente de solubilización del fosfato mineral. Por otro lado, la producción de sustancias quelantes como ácidos



inorgánicos (ácido sulfhídrico, ácido nítrico y ácido carbónico) y la mineralización del fósforo orgánico, están relacionados a la producción de fosfatasa ácidas y alcalinas que hidrolizan los enlaces fosfoéster o fosfoanhídrido de los compuestos, para una mejor asimilación del P por la planta. Producción de fitohormonas; es capaz de sintetizar varias fitohormonas, auxinas que inducen a la iniciación de las raíces y de los pelos absorbentes, giberelinas que actúan promoviendo el alargamiento de las células que componen la raíz y citoquininas que activan la división celular y retardan la senescencia radicular. Efecto biocontrolador; produce un amplio rango de enzimas y metabolitos que presentan un efecto antagónico sobre diversos fitopatógenos, esto mediante la inducción de resistencia sistémica, al activar la producción en todo la planta de compuestos de defensa, como el ácido salicílico. También, tiene un efecto directo como biocontrolador mediante la producción de antibióticos y un efecto indirecto a través del secuestro de sustancias nutritivas para los patógenos, como el hierro.

c) *Bacillus pumilus*

Solubilizador de fosfatos: esta es la bacteria más representativa del género *Bacillus* como solubilizadora de fosfato, se encuentra presente en el suelo, agua, vegetales y aire, posee diversos mecanismos de supervivencia como la formación de esporas centroméricas, que son estructuras de conservación y resistencia ante situaciones adversas, hasta encontrar las condiciones favorables para su crecimiento, con una gran capacidad metabólica que conlleva a que su colonización en la rizosfera sea exitosa. Su efecto favorable sobre las plantas es debido a varios mecanismos, entre ellos: la solubilización de fósforo, la fijación biológica de nitrógeno, la producción de quelantes de hierro, la producción de fitohormonas y la inhibición del crecimiento de microorganismos fitopatógenos. La inhibición de los fitopatógenos ocurre mediante la exudación de sustancias al suelo, como: antibióticos, sideróforos y enzimas con actividad lítica sobre la pared de muchos hongos y bacterias. *B. pumilus*, sintetiza fitasas para la solubilización de fosfato. Al poseer esporas que las hacen resistentes a condiciones adversas, como en suelos de origen volcánico que tienen un pH altamente ácido y que contienen grandes cantidades de fitato. Estas bacterias son 54 MANUAL DE DIFUSIÓN TÉCNICA DE SOYA capaces de utilizar el fitato como única fuente de fósforo, ya que son portadores de genes que codifican para las enzimas fitasas y pueden sobrevivir mejor que las bacterias Gram negativas. Por otro lado, el ácido fítico facilita que en las semillas de las plantas se almacenen iones de Mg^{+2} y K^{+} y en menor proporción de Ca^{+2} , Mn^{+2} , Ba^{+2} , y Fe^{+2} . Producción de fitohormonas; es considerada una bacteria promotora del crecimiento, que produce hormonas en el medio de cultivo y tiene influencia en el desarrollo de diversas gramíneas. Cuando se asocia a la rizosfera puede modificar la actividad fisiológica de las plantas mejorando el crecimiento de éstas. Tiene la capacidad de sintetizar la auxina Ácido Indol Acético. De esta forma, el AIA bacteriano estimula el desarrollo del sistema radical y el crecimiento general de la planta huésped. Al mismo tiempo, el consecuente incremento en la producción de metabolitos vegetales, utilizados por las bacterias para su propio crecimiento, pone de manifiesto un beneficio recíproco en la relación planta-bacteria Efecto Biocontrolador; presenta dos mecanismos de control biológico de fitopatógenos:

1) Producción de aminoazúcares.- Trabaja mediante la producción de un aminoazúcar que interrumpe el metabolismo celular y destruye las paredes celulares de los fitopatógenos.



2) Antibiosis.- Impide la germinación de esporas por la formación de una barrera física y, posteriormente, las coloniza; actúa interrumpiendo el metabolismo celular destruyendo las paredes celulares de los patógenos en diferentes sitios.

III. CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES GENERALES

En el contexto de la agricultura sostenible, la biofertilización cada día cobra mayor importancia, al ser una excelente alternativa que puede actuar directamente o complementar a la fertilización química tradicional, con la utilización de los microorganismos que se involucran en poner disponible el fósforo para las plantas. En ese sentido, PROINPA comprometida con la agricultura sostenible de país, en los últimos años ha trabajado en el desarrollo de tecnologías ecológicas, orientadas a la sostenibilidad de los suelos, de los procesos productivos y la protección del medio ambiente, para la agricultura cruceña. Ha priorizado la investigación de microorganismos de suelo, logrando con éxito aislar 3 cepas solubilizadoras de fosfatos, el hongo saprofito *P. bilaii*, que tienen la capacidad solubilizadora de fosfatos hasta en 41% y además de ser, cosmopolita y de fácil adaptación a diversos ambientes. La bacteria *P. fluorescens*, que garantiza a través de su rápida colonización la proliferación de ácidos orgánicos exudados con el fin de optimizar la solubilización de los grupos fosfato, su inducción a un crecimiento acelerado de los tejidos 2018 / 2019 55 vegetales y su acción biocontroladora contra fitopatógenos. *B. pumilus* una bacteria de vida libre que le confiere ventajas a la planta, en relación a otras bacterias solubilizadoras de naturaleza simbiote, asegura gracias a su mecanismo de producción de enzimas específicas una óptima solubilización de fosfatos, síntesis de fitohormonas y protección vegetal.

IV. BIBLIOGRAFÍA

- Arévalo et al., 2013. Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. Bogotá – Colombia.
- Chandra et al., 2016. Effect of *Penicillium bilaii* inoculation and phosphorus fertilization on root and shoot parameters of field-grown pea. *Canadian Journal of Plant Science*.
- Lambert, M. G.; Clark, D. A.; Grant, D. A.; Costall, D. A.; Fletcher, R. W. 1983: Influence of fertiliser and grazing management on North Island hill country. 1. Herbage accumulation. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 26: 95-108.
- Richardson et al., 2011. Fifty years of invasion of ecology. The legacy of Charles Elton.
- Richardson, D.M. (ed.) (2011a) Fifty years of invasion ecology.
- Richardson, D.M. (ed.) (2011a) Fifty years of invasion ecology.
- Richardson, D.M. (ed.) (2011a) Fifty years of invasion ecology.



The legacy of Charles Elton. Wiley-Blackwell, Oxford

The legacy of Charles Elton. Wiley-Blackwell, Oxford

The legacy of Charles Elton. Wiley-Blackwell, Oxford

Wiley- Blackwell, Oxford.

DOCUMENTO DE DEBATE