

FÓSFORO LIBERADO POR BACTERIAS NATIVAS DE LAS ROCAS FOSFÓRICAS DE RIECITO (ESTADO FALCON) Y NAVAY (ESTADO TÁCHIRA) EN VENEZUELA

Janeth Portilla †¹, Ricardo Ramirez² y Zenaida Lozano²

RESUMEN

Los suelos ácidos en Venezuela son en general deficientes en fósforo (P), por lo que es necesario usar fertilizantes fosfatados, de alto costo, para lograr buenas cosechas. El uso de roca fosfórica como fuente de P es una alternativa, pero es de baja solubilidad y lenta liberación del P disponible. El objetivo de este trabajo fue identificar bacterias capaces de solubilizar las rocas fosfóricas de Riecito y Navay y liberar P. Para el estudio se usaron 26 cepas colectadas en diferentes lugares en Venezuela, de las cuales 14 fueron utilizadas para medir, en diferentes momentos, el crecimiento bacteriano en función de la densidad óptica. Para determinar la cantidad de P liberado al medio por acción de las cepas, se realizó un experimento *in vitro* utilizando 100 µL de suspensión bacteriana concentrada en 10 mL de medio cultivo NBRIP (National Botanical Research Institute's Phosphate growth liquid médium) bajo condiciones estériles. Las fuentes de P fueron: fosfato tricálcico (FTC), roca fosfórica Navay (RFN) y roca fosfórica Riecito (RFR) y sin fósforo (OP), más los testigos no inoculados. Los valores más altos de P, en µg.mL⁻¹ correspondieron al FTC con 320 a 500 seguido por RFN con 133 a 210 y RFR entre 62 y 72. Las cepas G166, La37-26 y Ar146 mostraron los niveles de pH más bajos en los medios de crecimiento enriquecidos con RFN y RFR y se correspondieron con los niveles más altos de P solubilizado. Este comportamiento demuestra que las bacterias con mayor capacidad de acidificación son potencialmente más efectivas solubilizando el P no disponible de las rocas fosfóricas.

Palabras clave adicionales: Crecimiento bacteriano, densidad óptica, liberación de fósforo

ABSTRACT

Phosphorus released by native bacteria from Riecito (Falcon State) and Navay (Táchira State) phosphate rocks in Venezuela

Phosphorus (P) deficiency in acid soils in Venezuela is frequent, to achieve good crop production farmers applied high-cost phosphate fertilizers. The use of phosphate rock as a source of P is an alternative, but it has low solubility and slow release of available P. The objective of this work was to identify bacteria capable to solubilizing Riecito and Navay phosphate rocks and release P. A total of 26 strains collected in different places in the country were used to find out the amount of P released into the medium by the action of the strains, and 14 of which were used to measure bacterial growth at different times, according their optical density. An *in vitro* experiment was carried out using 100 µL of concentrated bacterial suspension in 10 mL of NBRIP culture medium under sterile conditions. The sources of P were: tricalcium phosphate (FTC), Navay phosphate rock (RFN) and Riecito phosphate rock (RFR) and OP, plus the non-inoculated controls. The highest values of P, in µg.mL⁻¹ corresponded to the FTC with 320 to 500 followed by RFN with 133 to 210 and RFR between 62 and 73. Strains G166, La37-26 and Ar146 showed the lowest pH levels in the growth media enriched with RFN and RFR and corresponded to the highest levels of solubilized phosphorus. This behavior demonstrates that bacteria with higher acidification capacity are potentially more effective in solubilizing unavailable P from phosphate rocks.

Additional Keywords: Bacterial growth, optical density, phosphorus release

INTRODUCCIÓN

El fósforo es uno de los nutrientes más requerido por las plantas y constituye uno de los factores limitantes más importantes para la producción vegetal en la mayoría de los suelos ácidos tropicales, como el caso de los Oxisoles

(Fageria y Baligar, 2008). El fósforo en el suelo se encuentra en forma inorgánica y orgánica; de esta última, una considerable proporción no está disponible para la planta.

Existen varios grupos microbianos capaces de solubilizar el fósforo edáfico, así como el aplicado en forma de fertilizante, entre ellos se destacan los

Recibido: Junio 17, 2024

Aceptado: Noviembre 18, 2024

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Maracay, Venezuela

² Postgrado en Ciencia del Suelo, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela.
e-mail: abisam28@gmail.com. (autor de correspondencia); zenaida.lozano@ucv.ve

hongos de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Sclerotium*; los Actinomicetos y las bacterias. Se han aislado, de distintos suelos, bacterias solubilizadoras de fosfato pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium* y *Erwinia* (Rodríguez y Fraga, 1999; Kumar et al., 2001; Fernández et al., 2007). Estos microorganismos son considerados beneficiosos en la biota del suelo (Karunai y Ravindran, 2012), y son capaces de solubilizar los fosfatos en los suelos ácidos, como los Oxisoles (Moreno et al., 2021).

El principal mecanismo microbiológico por el cual los compuestos fosfatados son movilizados de las formas no lábiles es la acidificación del medio, producto de la liberación de ácidos orgánicos e inorgánicos y de fitohormonas capaces de estimular el desarrollo radical (Traverso et al., 2017).

Las bacterias producen ácidos orgánicos de bajo peso molecular que atacan la estructura del fosfato y convierten el fósforo no disponible en disponible para las plantas (Ivanova et al., 2006). La roca fosfórica con la ayuda de microorganismos solubilizadores puede liberar P disponible para la planta (Amarasinghe et al., 2022) y sustituir, al menos en parte, al fertilizante fosfatado soluble que es más costoso.

La aplicación de roca fosfórica, como fertilizante, por su baja solubilidad es frecuentemente inefectiva para la mayoría de los cultivos anuales (Goenadi y Siswanto, 2000), pero existen microorganismos capaces de mejorar su reactividad como las bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSF) (Kim et al., 1997; Gyaneshwar et al., 1998; Rebi et al., 2022), las cuales han mostrado capacidad de solubilización de P inorgánico entre 25-42 $\mu\text{g P.mL}^{-1}$ y una mineralización del P orgánico desde 8 a 18 $\mu\text{g P.mL}^{-1}$ (Guang, 2008). Rodríguez y Fraga (1999) indicaron que las bacterias de los géneros *Pseudomonas striata* y *Bacillus polymyxa* alcanzaron valores de solubilización entre 156 y 116 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Sin embargo, la efectividad de liberación de fósforo por acción bacteriana varía con la fuente de fósforo (Khan et al., 2009; Zhu et al., 2018).

En el presente trabajo se propuso evaluar la capacidad de algunas cepas bacterianas,

colectadas en Venezuela, para solubilizar y liberar fósforo de la roca fosfórica de Riecito (estado Falcón) y Navay (estado Táchira) bajo condiciones *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en los laboratorios de suelos del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA), en Maracay, Venezuela, con 26 cepas bacterianas (Cuadro 1) proporcionadas por el cepario del Laboratorio de Biofertilizantes del referido instituto.

Actualmente, las cepas no tienen identificación taxonómica, por lo que se utilizó el código establecido por el laboratorio para identificarlas. Las letras corresponden a los estados donde fueron colectadas y los números al experimento del cual provienen.

El ajuste de la concentración bacteriana se logró por medio de curvas de crecimiento, para cada cepa, utilizando valores de absorbancia como densidad óptica (DO) en diferentes tiempos. El aumento de células en el medio de cultivo produjo una turbidez que se detectó en tiempo real con un espectrofotómetro UV-VIS 8 (Perkin Elmer Fias 300, Ueberlinegen).

Los medios de cultivo puros o inóculos se prepararon con 14 cepas de diferente origen y ambiente en el país. Éstas fueron identificadas como Ap156, Ar146.1, Ar152, Ba01, Ba06, Ba07.1, Co 101, Fa133, G158.1, G166, La060, P3, Ya125 y Z043.1; cada cepa fue sembrada por duplicado en tubos inclinados (cuñas) con medio sólido (Pikovskaya, 1948) e incubada a 30 °C por 48 horas, para obtener una población densa de células frescas (Martínez et al., 2006).

El contenido bacteriano, de las cuñas, fue transferido asépticamente a fiolas que contenían 60 mL de caldo nutritivo estéril y se sometieron a una agitación constante de 150 rpm a 30 °C por 48 horas. Durante el período de agitación (fermentación) se tomaron muestras a las 3, 4, 6, 8, 15, 19, 22, 24, 27, 31,40 y 48 horas, para determinar su respectiva densidad óptica (DO) a 600 nm, usando el espectrofotómetro. Debido a que éstas son medidas indirectas del crecimiento bacteriano fue necesaria una calibración con el método de conteo de células

viales en placa, la cual se realizó solamente para los tiempos de 8, 16 y 24 horas. Para la determinación de la densidad óptica en el resto de

las 12 cepas las muestras se tomaron solamente a las 15 horas durante el período de agitación.

Cuadro 1. Cepas solubilizadoras de fósforo suministradas por el laboratorio de Biofertilizantes del INIA-CENIAP.

Número	Estado	Cepas	Número	Estado	Cepas
1	Anzoátegui	An7.1	14	Falcón	Fa133
2	Apure	Ap2	15	Guárico	G166
3		Ap154	16		G123
4		Ap156	17		G158.1
5		Ar152	18		G116.2
6	Aragua	Ar145	19	Lara	La060
7		Ar165.1	20		La37-26
8		Ar146.1	21	Mérida	Me110
9		Ar149.1	22	Monagas	MG048.2
10		Barinas	Ba01	23	Portuguesa
11	Ba06		24	P051.1	
12	Ba07.1		25	Yaracuy	Y125
13	Cojedes	Co101	26	Zulia	Z043.1

Las unidades formadoras de colonias (UFC) fueron contabilizadas por el método de recuento en placa. Las diluciones del inóculo en NaCl (0,85%) utilizadas para el recuento microbiano fueron de 10^7 , 10^8 y 10^9 , de las que se tomaron alícuotas de 0,1 mL para ser uniformemente distribuidas en cápsulas de Petri con medio sólido de NBRIP constituido por: 5 g de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ identificado como FTC, 10 g de Glucosa; 5 g de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,25 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,2 g de KCl; 0,1 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y 40 g de agar, por litro a un pH de 7,0 (Nautiyal, 1999; Metha y Nautiyal, 2001); para el testigo se utilizó 0,1 mL de agua destilada estéril. Las cápsulas de Petri se colocaron en posición invertida dentro de una incubadora a una temperatura de 30 °C por cinco días; al culminar este tiempo se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias.

Para determinar la cantidad de P liberado al medio por acción de las cepas, se realizó un experimento *in vitro* utilizando 100 μL de suspensión bacteriana concentrada en 10 mL de medio cultivo NBRIP (P equivalente a 0,1%), dispuesto en tubos de ensayo bajo condiciones estériles.

Los tratamientos consistieron en 26 cepas, como inóculos, y tres de fósforo: FTC, RFR, y RFN. El diseño experimental correspondió a un modelo completamente aleatorizado con tres repeticiones.

Los tratamientos fueron incubados por tres días a 30 °C con agitación continua de 180 rpm, luego se filtraron a través de papel filtro de 0,28 micras, para determinar el pH y el fósforo disuelto en el medio por el método colorimétrico de Murphy y Riley (1962).

Los datos obtenidos se sometieron a la prueba de la normalidad. El análisis de varianza y separación de medias se hizo por la prueba de Tukey para $p \leq 0,05$ usando el programa estadístico InfoStat 2009.

RESULTADOS

Crecimiento bacteriano: El examen preliminar del comportamiento de la DO, desarrollado por las 14 cepas, en relación con el tiempo permitió visualizar la formación de tres grupos con comportamientos diferentes, con base en la pendiente de sus líneas y el mayor valor alcanzado:

-Primer grupo: Fa133, G158.1, G166, Z043.1, Ya125, y Ar146.1.

-Segundo grupo: Ar152, La060 y Co101.

-Tercer grupo: Ap156, y Ba07.1.

Las cepas Ba06, Ba01 y P3 mostraron un crecimiento atípico, por lo que no se tomaron en cuenta para la estimación de la DO máxima.

Para determinar, dentro de cada grupo, el mayor tiempo de crecimiento celular se usó el

criterio de intersección de rectas perpendiculares que permite separar la mayor cantidad de observaciones en los cuadrantes positivos, para su posterior uso.

Las curvas de crecimiento, en el tiempo, de los tres grupos de cepas se ajustaron mejor a una

forma logarítmica. En el primer grupo el coeficiente de determinación R^2 resultó ser 0,81 (Figura 1) en el segundo grupo 0,82 (Figura 2) y en el tercer grupo 0,85 (Figura 3), valores correspondientes a la fracción de variación en el tiempo que produjo respuesta en el crecimiento.

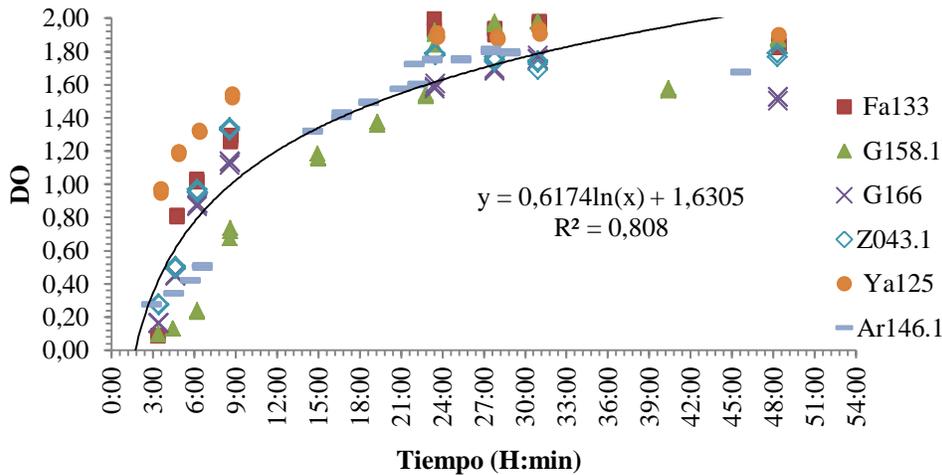


Figura 1. Crecimiento bacteriano medido como densidad óptica (DO) de cepas pertenecientes al grupo 1 (Fa133, G158.1, G166, Z043.1, Ya125 y Ar146.1).

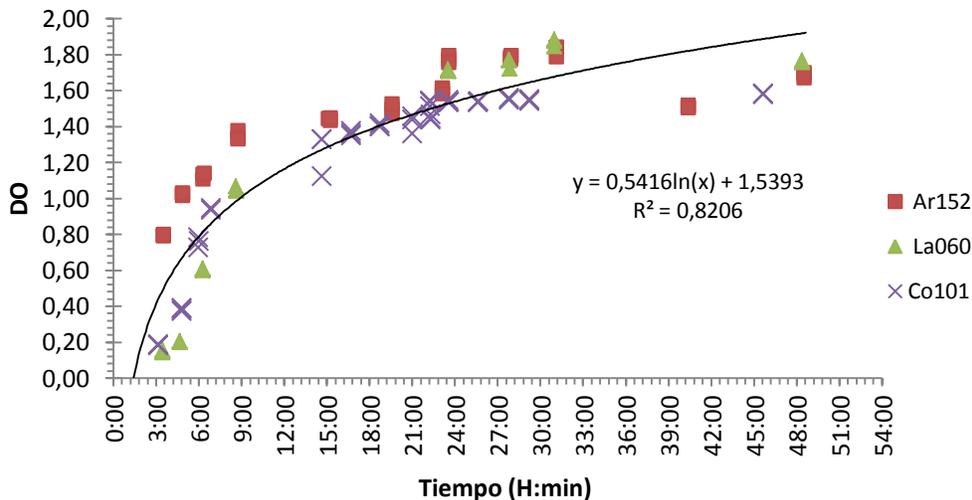


Figura 2. Crecimiento bacteriano medido como densidad óptica (DO) de las cepas pertenecientes al grupo 2 (Ar152, La060 y Co101).

El promedio de DO_{max} fue parecido en los tres grupos: 1,52 a las 23 horas en el grupo uno, 1,52 a las 22 horas en el grupo dos y 1,50 a las 25 horas en el grupo tres.

El tiempo de mayor concentración bacteriana, en los tres grupos, se registró entre las 23 y 26 horas. Sin embargo, para realizar el experimento

in vitro se usó un tiempo menor de 15 a 20 horas, debido a que este lapso correspondió a la zona intermedia entre el crecimiento exponencial y el inicio de la estabilización de la curva de crecimiento. Siguiendo este criterio se trató de garantizar mejores condiciones de vitalidad celular en la inoculación.

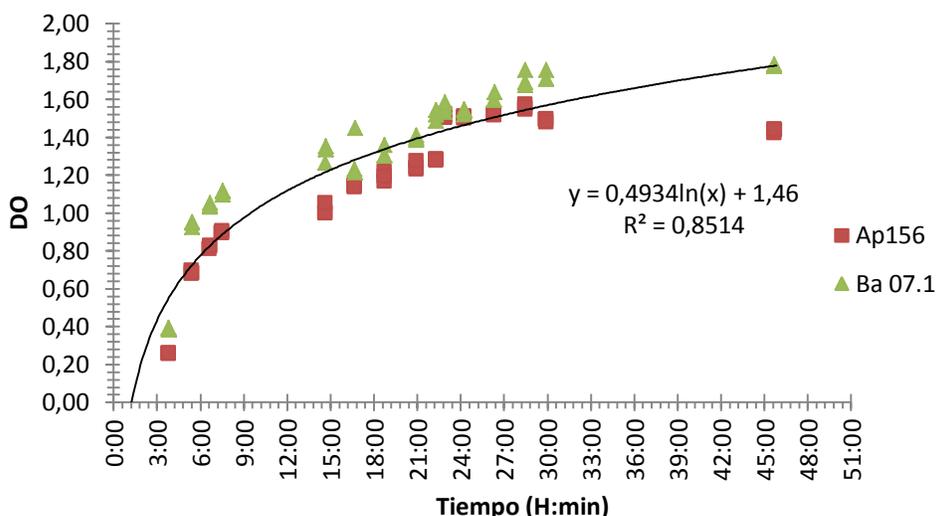


Figura 3. Crecimiento bacteriano medido como densidad óptica (DO) de las cepas del grupo 3 (Ap156 y Ba07.1).

Las medidas de DO fueron relacionadas con las unidades formadoras de colonias observadas en las 26 cepas. En la Figura 4 se presentan las cepas con los mayores valores y se puede ver que a valores de DO mayores de 1,5 les corresponden concentraciones bacterianas en el orden de 10^9 y 10^{10} UFC.mL⁻¹, lo que hace que las cepas Ar145, Ar149.1, Ar152, Ar165.1 y G166 sean elegibles para futuros experimentos de incubación.

Solubilización de fósforo: La evaluación de la capacidad de solubilización del fósforo de tres fuentes de P por las 26 cepas de bacterias, en el medio de cultivo NBRIP, dio resultados que variaron con las fuentes. Cuando se usó FTC,

como fuente de P, la cepa con mayor poder de solubilización resultó ser Ar149 con 500 $\mu\text{g P.mL}^{-1}$, significativamente igual al de las tres cepas que la siguieron: Ar146.1 con 346 $\mu\text{g P.mL}^{-1}$, La37-26 con 328 $\mu\text{g P.mL}^{-1}$ y la Ar145 con 320 $\mu\text{g P.mL}^{-1}$ (Figura 5). Cuando la fuente de P en el medio de cultivo fue la RFR se encontraron cuatro cepas significativamente iguales en su capacidad de solubilizarían de la roca: Ar146.1 y Ap2 con 73 $\mu\text{g P.mL}^{-1}$, La37-26 con 68 $\mu\text{g P.mL}^{-1}$ y G166 con 66 $\mu\text{g P.mL}^{-1}$ (Figura 6). El resto de las cepas mostraron menor capacidad, significativa, para solubilizar P de la RFR.

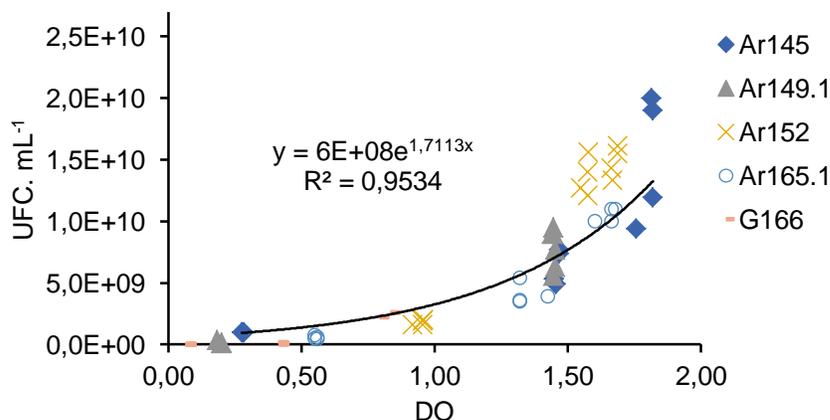


Figura 4. Relación de las unidades formadoras de colonias (UFC.mL⁻¹) con la densidad óptica (DO) en mediciones realizadas a las 15 horas

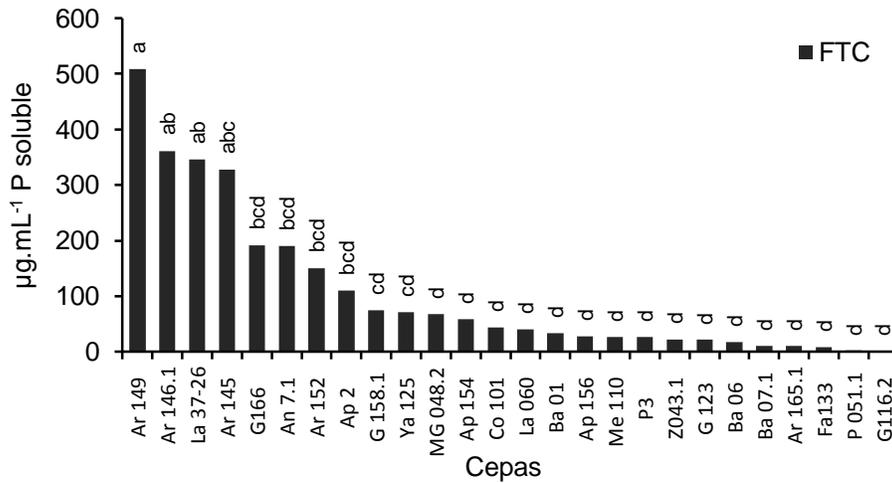


Figura 5. Solubilización del fosfato tricálcico (FTC) por bacterias en medio de cultivo NBRIP. Barras con letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

En el caso en que la fuente de P en el medio de cultivo fue la RFN (Figura 7), la cepa Ar146.1 fue la que produjo mayor solubilización al superar significativamente al resto de las cepas. En esta prueba, se reportó como perdido el valor correspondiente a la cepa bacteriana G166, por lo que esta cepa no pudo ser incluida en la figura. Los valores de solubilización de fósforo observados en las Figuras 5, 6 y 7 por las cuatro mejores cepas en cada fuente de fósforo permite resumir las cepas que fueron más eficientes (Cuadro 2). El volumen de fósforo solubilizado varió con la fuente usada y los valores más altos de P, en $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ correspondieron al FTC con 320

a 500 seguido por RFN con 133 a 210 y, finalmente, RFR entre 62 y 73. Es notoria la diferencia del comportamiento entre las dos rocas fosfóricas, en el caso de Navay el P liberado fue, aproximadamente, 2 a 3 veces más alto que el encontrado en Riecito.

Las tres cepas más eficientes para liberar P de la RFR (Ar146.1, Ap2 y La37-26) mostraron el mismo comportamiento con RFN; solo dos cepas, Ar146.1 y La37-26 fueron más eficientes con las tres fuentes de fósforo. En todos los casos, la Ar145 mostró los valores más bajos, mientras que la Ar149 fue superior con la fuente FTC.

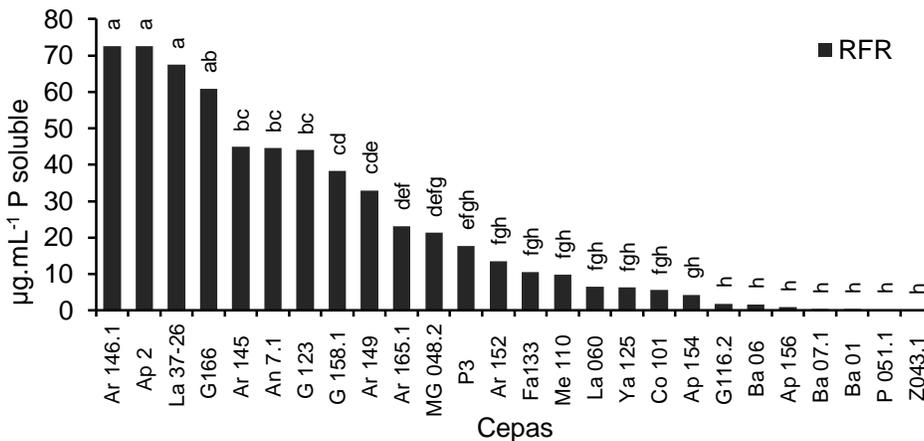


Figura 6. Solubilización de la roca fosfórica de Riecito (RFR) por bacterias en medio de cultivo NBRIP. Barras con letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

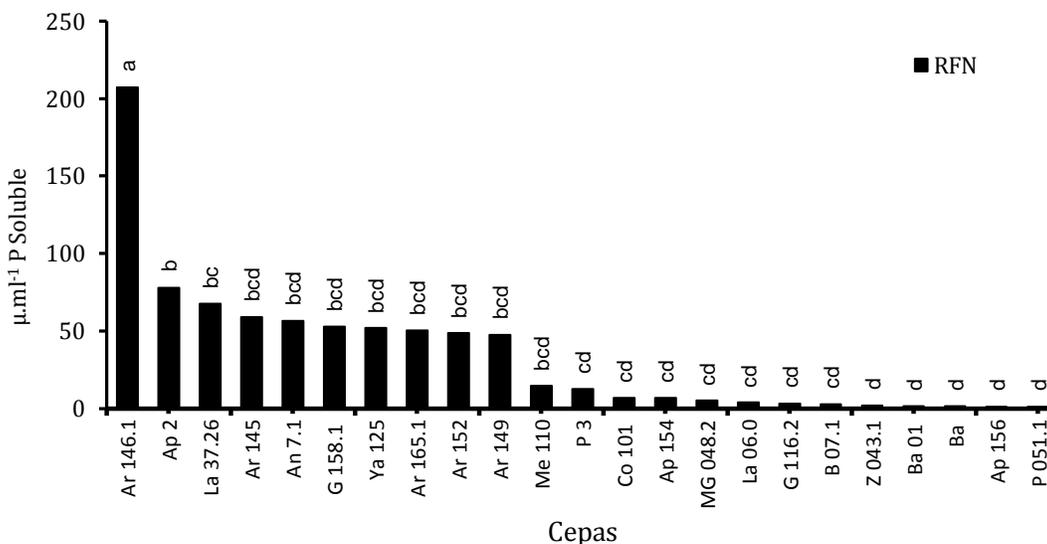


Figura 7. Solubilización de la roca fosfórica de Navay (RFN) por bacterias en medio de cultivo NBRIP. Letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Cuadro 2. Resumen de los valores de solubilización de P, obtenidos a partir de las Figuras 5, 6 y 7, por las cuatro cepas más eficientes en los medios de cultivo con fosfato tricálcico (FTC), roca fosfórica de Riecito (RFR) y roca fosfórica de Navay (RFN).

Fuente de P	Cepa	P solubilizado ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
FTC	Ar149	500
	Ar146.1	346
	La37-26	328
	Ar145	320
RFR	Ar146.1	73
	Ap2	73
	La37-26	68
	G166	62
RFN	Ar146.1	210
	Ap2	140
	La37-26	139
	Ar145	133

Acidificación del medio de cultivo por las bacterias: La solubilización de las fuentes de fósforo como las rocas fosfóricas, por la acción de las bacterias podría estar relacionada con la

capacidad de dichas bacterias de acidificar su medio de crecimiento, por lo que es importante determinar la relación entre la acidificación del medio y la liberación de fósforo.

Cuando se usó FTC, como fuente de P (Figura 8), se encontró una variación en el pH del medio de crecimiento, desde 4,13 con la cepa Ar149 hasta 6,82 con la cepa P3. Los valores de pH entre 4,13 y 4,82 correspondieron a un grupo de 13 cepas que fueron significativamente iguales entre sí; dentro de ellas, el pH más bajo lo presentaron las cepas Ar149 con pH 4,13, MG 048.2 con pH 4,19 y G166 con pH 4,26.

En el caso de la RFR el pH más bajo de 3,90 correspondió a la cepa G166 y el más alto de 7,72 a la cepa Ba07.1 (Figura 9). Los valores de las once cepas con pH más bajo fueron significativamente iguales, con una variación entre 3,90 y 5,20. Los niveles de pH más bajos entre 3,90 y 4,30 correspondieron a las cepas G166, La37-26, Ar141.6, Ar165, An7.1 y Ar149.

El pH más bajo de 3,17 encontrado con la RFN correspondió a la cepa Ar146.1 y el más alto de 6,05 a la cepa G116.2 (Figura 10). El pH de la primera cepa fue significativamente menor que los correspondientes a las demás cepas. Un segundo grupo de cepas formado por G 166 con pH 3,45 y Ar147 con pH 3,57 resultó ser significativamente menor al de las capes restantes.

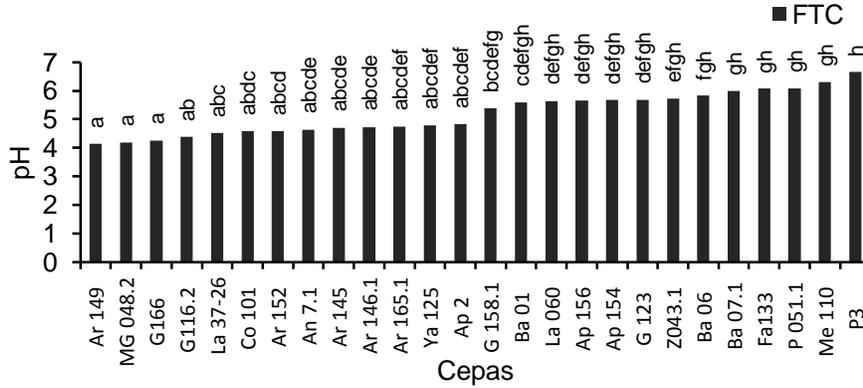


Figura 8. Efecto de las cepas bacterianas sobre el pH del medio de crecimiento enriquecido con fosfato tricálcico (FTC). Barras con letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

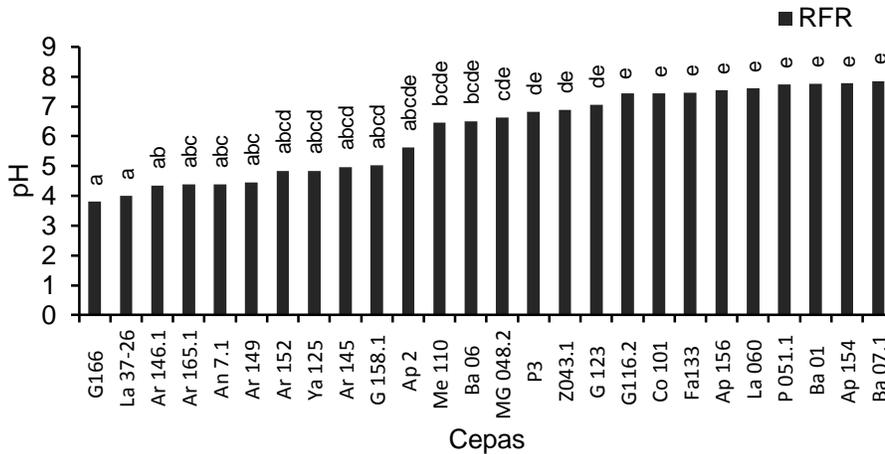


Figura 9. Efecto de las cepas bacterianas sobre el pH del medio de crecimiento enriquecido con roca fosfórica de Riecito (RFR). Barras con letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

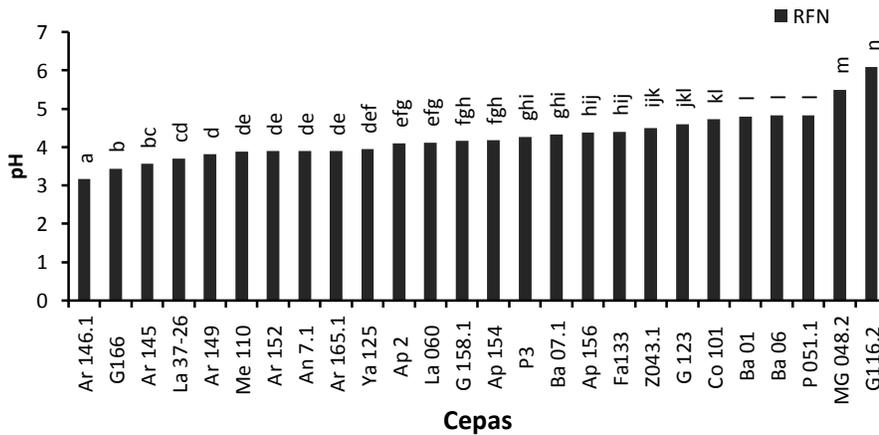


Figura 10. Efecto de las cepas bacterianas sobre el pH del medio de crecimiento enriquecido con roca fosfórica de Navay (RFN). Barras con letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

DISCUSIÓN

La acidez de los medios de cultivo mostrada en las figuras 8, 9 y 10 podría ser atribuida a la producción de ácidos orgánicos a partir de la glucosa presente en los medios de cultivo (Hwangbo et al., 2003; Gunnarsson et al., 2004; Wang, et al. 2020). La solubilización del P puede ser atribuida a varios mecanismos, pero el más importante es vía la producción de ácidos orgánicos (Mander et al., 2012; Tian et al., 2021). La producción de ácidos orgánicos o bioacidificación, dependerá de la forma y cantidad de carbono (C), de la falta de P soluble en el medio y del nitrógeno (N) presente en el medio de cultivo (Osorno y Osorio, 2017; Gyaneshwar et al., 1998).

Las cepas G166, La37-26 y Ar146 mostraron los niveles de pH más bajos en los medios enriquecidos con RFN y RFR y se correspondieron con los niveles más altos de fósforo solubilizado en ambos medios. Este comportamiento demuestra que las bacterias con mayor capacidad de acidificación son potencialmente más efectivas solubilizando el P no disponible de las rocas fosfóricas. García et al. (2023) señalaron que la solubilización de la roca fosfórica por las bacterias está íntimamente relacionada con la producción de ácidos orgánicos.

En términos de promedio, las bacterias fueron más eficientes con la RFN acidificando el medio de crecimiento (pH 4,27) y liberando fósforo ($70,53 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) que con la RFR (pH de 6,21 y $23,8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de fósforo). El fósforo liberado de la RFN fue aproximadamente 3,04 veces mayor que el correspondiente a la RFR.

El orden de acidificación obtenido de los medios de cultivo varió según la fuente RFN>FTC>RFR. La RFR mostró una capacidad buffer que no posee la RFN, condición que puede deberse al alto contenido de Dahllita presente en la RFR. Este mineral es una forma de carbonato de calcio distinta a la calcita que tiene una reactividad moderada (Casanova y Elizalde, 1988). La RFN tiene 27,5 % de CaO y 35 % de SiO₂ mientras que la RFR tiene 38,6 % de CaO y 27,4 % de SiO₂ (León et al., 1986); estas diferencias afectan la reactividad de cada una de ellas al ser menor el contenido de CaO y mayor el

contenido de SiO₂; en la RFN el poder de acidificación es mayor.

El experimento *in vitro* permitió determinar la eficiencia de las cepas a través de la obtención de rangos de P solubilizado y acidez con cada tratamiento. Con la FTC se obtuvo un rango de P entre 1,54 y 508 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ a la que le correspondieron valores de pH entre 6,66 y 4,13. Con la RFN se obtuvo un rango de P más amplio, entre 0,90 y 2,10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ asociado a valores de pH entre 3,01 y 6,09, mientras que las concentraciones de P en el medio con RFR no superaron los 89 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, a pesar del amplio intervalo de pH alcanzado (3,81 a 7,85). Estos resultados son congruentes con los rangos de P obtenidos por Chen et al. (2006) de 31.5-519.7 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ a pH desde 6,0 a 4,9 y por Zhao et al. (2014) de 154-452 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ a pH entre 3,12 y 4,95; esto ratifica la relación inversa entre el pH y la concentración de P. Por su parte, Ivanova et al. (2006) encontraron una correlación negativa entre el nivel P₂O₅ extraído y el pH del medio de cultivo, y una correlación positiva entre la acidez titulable y la cantidad de fosfato liberado.

La solubilización del P de las rocas fosfóricas mostró estar relacionada con las características de las mismas y con el género o especie de las bacterias. Panhwar et al. (2012) reportaron un comportamiento parecido en sus experiencias; por su parte, Cisneros y Menijivar (2017) señalaron que la concentración de ácidos orgánicos producidos por las bacterias estaría relacionada con las fuentes de P usadas. García et al. (2023) reportaron que la solubilización de la roca fosfórica estaba íntimamente relacionada con la producción de ácidos orgánicos por la bacteria solubilizadora. Por su parte, Mander et al. (2021) encontraron que en el suelo la solubilidad del P puede ser atribuida a diferentes mecanismos siendo el principal la producción de ácidos orgánicos. Ramírez (2022) también encontró que la disponibilidad de fósforo en el suelo está correlacionada con el decrecimiento del pH del suelo. Taalab y Badr (2007) mostraron que al aplicar nitrógeno en forma de amonio combinado con roca fosfórica se incrementó la acidez de la rizosfera del sorgo y la disponibilidad de fósforo para la planta. Tian et al. (2021) han probado que el uso de microorganismos solubilizadores de P es una solución efectiva para solubilizar la roca fosfórica.

CONCLUSIÓN

Son pocas las cepas capaces de solubilizar en forma eficiente el P de las rocas de Navay y Riecito. Solo tres cepas: Ar146, Ap2 y La37-26, de las 26 probadas, mostraron la máxima capacidad, significativa en la liberación de P de ambas rocas fosfóricas. Estas tres cepas fueron más eficientes en la liberación de P de la RFN que en el caso de la RFR.

LITERATURA CITADA

1. Amarasinghe, T., C. Madhusha, L. Munaweera. y N. Rottegod. 2022. Review of mechanisms of phosphate solubilization in rock phosphate fertilizer. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 53: 944-960.
2. Casanova, E. y G. Elizalde. 1988. Caracterización mineralógica de algunas rocas fosfóricas venezolanas. *Agronomía Tropical* 38: 97-107.
3. Chen, Y.P., P.D. Rekka, A.B. Arun, F.T. Shen, W.A. Lai y C.C. Young. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium Phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology* 34: 33-41.
4. Cisneros, C.P. y J.C. Menijivar. 2017. Efecto de bacterias solubilizadoras de fosfatos sobre el desarrollo de plántulas de café. *Agronomía Mesoamericana* 28: 149-158.
5. Fageria, N.K. y V.C. Baligar 2008. Ameliorating Soil Acidity of Tropical Oxisols by Liming for Sustainable Crop Production. *Advances in Agronomy* 99: 345-399.
6. Fernández, L.A., P. Zalba, M.A. Gomez y M.A. Sargardoy. 2007. Phosphate solubilizing activity of bacterial strains in soil and their effect on soybean growth under greenhouse conditions. *Biol. Fert. Soils* 43: 805-809.
7. García-Sánchez, M., I. Bertran, A. Barakat, Y. Zeroual, A. Oukarroum y C. Plessard, 2023. Improved rock phosphate dissolution from organic acids is driven by nitrate assimilation of bacteria isolated from nitrate and CaCO₃ rich soil. *PLoS ONE* 18: 283-437.
8. Guang-Can, T.A.O., T.I.A.N Shu-Jun, C.A.I. Miao-Ying y X.I.E. Guang-Hui. 2008. Phosphate-solubilizing and-mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. *Pedosphere* 18(4): 515-523.
9. Goenadi, D.H. y Y.S. Siswanto 2000. Bioactivation of poorly soluble phosphate rocks with a phosphorus-solubilizing fungus. *Soil Science Society American Journal* 64: 927-932.
10. Gunnarsson, N., U.H. Mortenson, M. Socio, y J. Nielsen. 2004. Identification of the Entner-Doudoroff pathway in an antibiotic-producing Actinomycete species. *Molecular Microbiology* 52: 895-902.
11. Gyaneshwar, P., G. Naresh Kumar y L.J. Parekh. 1998. Effect of buffering on the phosphate-solubilizing ability of microorganisms. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 14: 669-673.
12. Hwangbo, H., R.D. Park, Y.W. Kim, Y.S. Rim, K.H. Park, T.H. Kim et al. 2003. 2-ketogluconic acid production and phosphate solubilization by *Enterobacter intermedium*. *Current Microbiology* 47: 87-92.
13. Ivanova, R., D. Bojinova, D. y K. Nedialkova. 2006. Rock phosphate solubilization by soil bacteria. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 43: 297-302.
14. Karunai, S. y A.D. Ravindran. 2012. Influence of different carbon and nitrogen sources on insoluble inorganic phosphate solubilization by *Bacillus subtilis*. *Int. J. Adv. Biol. Res.* 2: 441-445.
15. Khan, A.A., G. Jilani, M.S. Akhtar, S.M.S. Naqvi y M. Rasheed. 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: Occurrence, mechanisms, and their role in crop production. *Journal of Agriculture and Biology Science* 1: 48-58.
16. Kim, K.Y., D. Jordan y H.B. Krishnan. 1997. *Rahnella aquatilis*, a bacterium isolated from soybean rhizosphere, can solubilize hydroxyapatite. *FEMS Microbiology Letters* 153: 273-277.

17. Kumar, V., R.K. Behl y N. Narula. 2001. Establishment of phosphate-solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* in the rhizosphere and their effect on wheat cultivars under greenhouse conditions. *Microbiol. Res.* 156: 87-93.
18. León, I.A., W.E. Fenster y L.L. Hammond. 1986. Agronomic potential of eleven phosphate rocks from Brazil, Colombia and Peru. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50: 798-802.
19. Mander, C., S. Wakelin, S. Young, L. Condron y M. O'Callaghan. 2012. Incidence and diversity of phosphate-solubilizing bacteria are linked to phosphorus status in grassland soils. *Soil Biol. Biochem.* 44: 93-101.
20. Martínez, V.R., M. López, F.M. Brossard, G.G. Tejada, A.H. Pereira y Z.C. Parra. 2006. Procedimientos para el estudio y fabricación de biofertilizantes bacterianos. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Maracay, Venezuela. Serie B. N° 11, 88 p.
21. Metha, S. y C.S. Nautiyal. 2001. An efficient method for qualitative screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Current Microbiology* 43: 51-56.
22. Moreno-Conn, L.M., M. López-Casallas y F.M. Cruz Barrera. 2021. Solubilización de fosfatos por bacterias del género *Burkholderia* aisladas de Oxisoles de la Altillanura Colombiana. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 22(2): e1897.
23. Murphy, J. y J.P. Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 27: 31-36.
24. Nautiyal, C.S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS. Microbiology Letters* 170: 265-270.
25. Osorno, B.L. y N.W. Osorio-Veja. 2017. Evaluación de factores que afectan la bioacidulación de roca fosfórica bajo condiciones *in vitro*. *Revista Colombiana de Biotecnología* 19: 53-62.
26. Panhwar, Q.A., R. Othaman, Z.A. Rahman, S. Meon y M.R. Ismal. 2012. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from aerobic rice. *African Journal of Biotechnology* 11: 2711-2727.
27. Pikovskaya, R. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya* 17: 362-370.
28. Ramírez, R. 2022. Contaminación de suelos y cultivos con metales pesados y nutrientes en Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (UCV)* 48: 1-17.
29. Rebi, A., H.M. Kashif, U.F. Chaudhry, M. Zaib, M.Z. Shahid, M. Safdar et al. 2022. Phosphorus availability in soil and uptake by maize from rock phosphate inoculated with PGPR: a review. *Nveo-Natural Volatiles & Essential Oils Journal| NVEO*. pp. 341-355.
30. Rodríguez, H. y R. Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biothec. Adv.* 17: 319-339.
31. Taalab, A.S., y M.A. Badr. 2007. Phosphorus availability from compacted rock phosphate with nitrogen to sorghum inoculated with phospho-bacterium. *Journal of Applied Sciences Research* 3(3): 195-201.
32. Tian, J., F. Ge., D. Zhang, y X. Liu, 2021. Roles of phosphate solubilizing microorganisms from managing soil phosphorus deficiency to mediating biochemical P cycle. *Bio.* 10: 158-166.
33. Traverso D., A. Cherni, A.B. Zineb, S.F. Dhane y R. Mhamdi 2017. Fertilization of *Phaseolus vulgaris* with the Tunisian rock phosphate affects richness and structure of rhizosphere bacterial communities *Applied Soil Ecology* 114: 1-8.
34. Wang, J., R. Li, H. Zhang, G. Wei, y Z. Li. 2020. Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application. *BMC microbiology* 20: 1-12.
35. Zhao, K., P. Penttinen, X. Zhang, X. Ao, M. Liu, X. Yu y Q. Chen. 2014. Maize rhizosphere in Sichuan, China, hosts plant growth promoting *Burkholderia cepacia* with phosphate solubilizing and antifungal abilities. *Microbiological Research* 169: 76-82.

36. Zhu, J., M. Li y M. Whelan. 2018. Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: A review. *Science of the Total Environment* 612: 522-537